



УДК 543.421/424:543.544

## БЕТАЦИАНИНЫ КОРНЕПЛОДОВ КРАСНОЙ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ<sup>1</sup>

**И.И. Саенко**  
**О. В. Тарасенко**  
**В.И. Дейнека**  
**Л.А. Дейнека**

Белгородский государственный  
 национальный исследовательский  
 университет,  
 Россия, 308015, г. Белгород,  
 ул. Победы, 85  
 E-mail: deineka@bsu.edu.ru

В работе методом ВЭЖХ и спектрофотометрическим методом исследован, бетаиновый состав корнеплодов восьми сортов красной столовой свеклы, *Beta vulgaris* L. («Красный шар», «Мулатка», «Цилиндра», «Кубинка», «Тема Потема», «Голландская», «Цыганочка» и «Бордо»). Наивысший уровень накопления суммы бетаина и изобетанина найден для сорта «Красный шар» (195 мг/100 г ± 12%), а наивысший уровень накопления бетаксантинов (в пересчете на вульгаксантин-1) обнаружен в корнеплодах сорта «Цилиндра» (45 мг/100 г ± 12%). Обнаружено, что часть бетаксантинов при стоянии превращается в бетаин.

Ключевые слова: ВЭЖХ, спектрофотометрия, бетацианины, бетаксантины, *Beta vulgaris*, сорта.

### Введение

Среди плодов, листьев и др. частей растений, окрашенных в красные тона, можно найти такие, окраска которых обусловлена биосинтезом соединений из класса флавоноидов – антоцианов. При этом ряд объектов может иметь близкую окраску, обусловленную присутствием в тканях принципиально иных природных колорантов – бетацианинов [1, 2]. Не удивительно, что даже в научной литературе встречается путаница – в фитолакке определяют антоцианы [3], хотя в этом растении синтезируются исключительно бетацианины [4], а к настоящему времени не найдены растительные объекты, содержащие одновременно и бетацианины и антоцианы.

Предложено несколько схем биосинтеза бетацианинов, одна из которых приведена на рисунке 1 [4, 5].

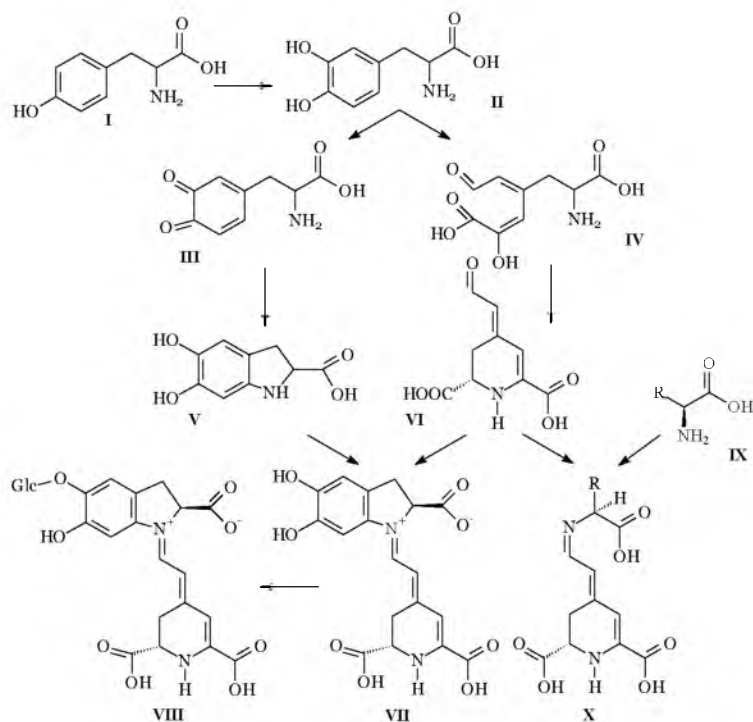


Рис.1. Схема биосинтеза бетацианинов

<sup>1</sup> Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ «Государственное задание вуза на 2012 г., проект 3.1785. 2011 г.

Начальным субстратом в данной схеме является тирозин (**I**), хотя его может заменить и тиронин. **I** на первой стадии под действием фенолоксидазы (медьсодержащего бифункционального фермента) окисляется до ДОФА (3,4-дигидроксифенилаланин, **II**). Далее **II** превращается по трем направлениям, в одном из которых под действием того же фермента образуется хинон **III** (dopaquinone), а другая часть **II** превращается в *секо*-производное **IV** (4,5-*seco*-DOPA). Третье направление связано с декарбоксилированием **II** и с рядом соответствующих метаболитов. Далее **III** самопроизвольно циклизуется до производного дигидроиндола **V** (*cyclo*-DOPA), а **IV** также самопроизвольно преобразуется в беталамовую кислоту **VI**. Объединение двух фрагментов по самопроизвольной реакции приводит к синтезу бетанидина (**VII**), который под действием бетанидин 5-О-глюкозилтрансферазы превращается в бетанин (**VIII**). Конденсация беталамовой кислоты с другими аминокислотами **IX** приводит к синтезу бетаксантинов (**X**). Среди приведенных на схеме веществ с красной окраской (**бетацианинов**) обладают соединения **VII** и **VIII**, а соединения типа **X** (у которых отсутствует дополнительная делокализация на ароматическом кольце дигидроиндольного фрагмента) имеют желтую окраску и называются **бетаксантинами**. Сумма этих пигментов в англоязычной литературе называется **беталаинами**. Отметим, что в корнеплодах золотистой свеклы – разновидности красной, *B. vulgaris var. lutea* [6], основной компонент, отвечающий за окраску – вульгаксантин-I (**XI**), рис. 2. Наконец, в сумме красных пигментов присутствует изомер **VIII**, – изобетанин, **XII** [7].

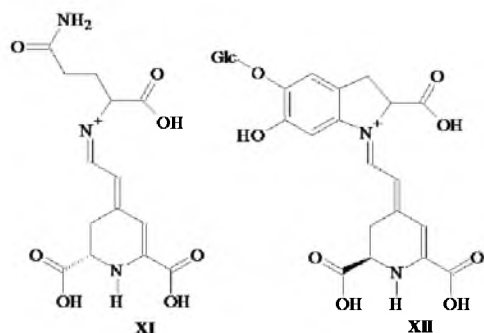


Рис.2. Дополнительные компоненты пигментного комплекса свеклы

Бетацианины помимо красящей способности обладают широкой и разнообразной биологической активностью благодаря высоким антиоксидантным свойствам: способствуют расщеплению и усвоению белков пищи [8], активно участвуют в образовании холина, повышающего жизнедеятельность клеток печени, ингибируют процессы пролиферации раковых клеток, препятствуя возникновению злокачественных опухолей [2] и т.д.

К одним из важнейших овощных растений нашего региона, богатых именно бетацианинами, относится красная столовая свекла, *Beta vulgaris* L., издавна выращиваемая как на промышленных плантациях, так и на частных огородах. За многие годы усилиями селекционеров создано множество разнообразных сортов, но информация об уровне накопления бетацианинов в них в доступной нам литературе не обнаружена.

Целью работы явилось исследование уровня накопления бетацианинов в нескольких сортах красной столовой свеклы, доступных на рынке Белгорода.

### Материалы и методы исследования

Для обобщенного количественного определения беталаиновых пигментов использовали спектрофотометрический метод. Навеску мелко измельченной свеклы в диапазоне 0.50–1.00 г исчерпывающе (до обесцвечивания исходного материала) экстрагировали порциями 2 % раствора муравьиной кислоты в воде при гомогенизации в фарфоровой ступке под слоем экстрагента; порции фильтровали через бумажный фильтр и собирали в мерной колбе объемом V, мл, доводя до метки экстрагентом.

Фильтрат фотометрировали относительно экстрагента в кварцевых кюветах при  $\lambda = 400\text{--}700$  нм (спектрофотометр СФ-56). Суммарное содержание бетацианинов,



$\alpha_1$  (мг/г), определяли (в пересчете на бетанин), используя коэффициент молярного погашения  $\varepsilon=60000$  [7] при  $\lambda_{\max}$  по формуле:

$$\alpha_1 = \frac{A(535\text{нм})}{\varepsilon_1(535\text{нм}) \cdot l} \cdot \frac{V \cdot M \cdot 1000}{1000 \cdot m}, \text{ мг/г}$$

где:  $A(535\text{нм})$  – оптическая плотность раствора в максимуме абсорбции бетацианинов;

$\varepsilon_1(535\text{нм})$  – коэффициент молярного погашения бетацианинов на этой длине волны;

$l$  – длина оптического пути, см;

$V$  – объём экстракта, мл,

$M$  – молярная масса бетанина, 550 г/моль,

$m$  – масса навески, г.

Для количественного определения бетаксантинов,  $\alpha_2$  (мг/г), в пересчете на вульгаксантин I с коэффициентом молярного погашения  $\varepsilon=48000$  [7], использовали абсорбцию экстракта на двух длинах волн по формуле, учитывающей остаточное поглощение бетаксантинов при 469 нм:

$$\alpha_2 = \frac{A(469\text{нм}) - k \cdot A(535\text{нм})}{\varepsilon_2(469\text{нм}) \cdot l} \cdot \frac{V \cdot M \cdot 1000}{1000 \cdot m}, \text{ мг/г,}$$

где:  $A(469\text{нм})$  – оптическая плотность раствора в максимуме абсорбции бетаксантинов;

$A(535\text{нм})$  – оптическая плотность раствора в максимуме абсорбции бетацианинов;

$k = \varepsilon_1(469\text{нм})/\varepsilon_1(535\text{нм})$  – коэффициент пересчета, принятый в настоящей работе равным 0.323;

$\varepsilon_2(469\text{нм})$  – коэффициент молярного погашения бетацианинов при 469 нм;

$l$  – длина оптического пути, см;

$V$  – объём экстракта, мл,

$M$  – молярная масса вульгаксантина I, 339 г/моль,

$m$  – масса навески, г.

Для разделения комплекса беталаинов на бетацианины и бетаксантины использовали метод твердофазной экстракции на патронах ДИАПАК С18. Экстракты пропускали через подготовленный активацией ацетоном и кондиционированием экстрагентом патрон. Первые порции элюата имели желтую окраску и содержали практически не сорбирующиеся в использованных условиях бетаксантины. Пропускание экстракта прекращали до начала проскока бетацианинов. Патрон промывали небольшой порцией экстрагента (5–15 мл) для удаления бетаксантинов – до исчезновения желтой окраски элюата. Бетацианины десорбировали раствором, содержащим 50% ацетонитрила и 2 % муравьиной кислоты (по объему) в воде.

### Результаты исследования и обсуждение

Бетаксантины и бетацианины обладают разными размерами систем сопряженных двойных связей, и, как следствие, различными электронными спектрами поглощения. Добавление ароматического кольца дигидроиндольного фрагмента при переходе от бетаксантинов к бетацианинам приводит к батохромному смещению максимумов абсорбции от 469 нм до 535 нм. Поэтому в исходном экстракте обычно обнаруживается наличие двух перекрывающихся полос; причем, как следует из полученных в настоящей работе результатов соотношение между бетацианинами и бетаксантинами различно для различных сортов свеклы, (рис. 3).

Для использования литературных значений коэффициентов молярного погашения ( $\varepsilon_{ij}$ ,  $i$ -го компонента на  $j$ -ой длине волны) аналитов для количественного определения их концентрации ( $c_i$ ) в сложных смесях необходимо убедиться в отсутствии перекрывания полос абсорбции при аналитической длине волны, или учесть вклад каждого из компонентов (по методу Фирордта): для  $n$ -компонентной смеси задача

может быть решена определением суммарной абсорбции ( $A_i$ ) при (минимум)  $n$  различных аналитических длинах волн, решением системы линейных уравнений:

$$\begin{cases} A_1 = \varepsilon_{11} \cdot c_1 + \varepsilon_{21} \cdot c_2 + \dots + \varepsilon_{n1} \cdot c_n \\ A_2 = \varepsilon_{12} \cdot c_1 + \varepsilon_{22} \cdot c_2 + \dots + \varepsilon_{n2} \cdot c_n \\ \dots \\ A_n = \varepsilon_{1n} \cdot c_1 + \varepsilon_{2n} \cdot c_2 + \dots + \varepsilon_{nn} \cdot c_n \end{cases}$$

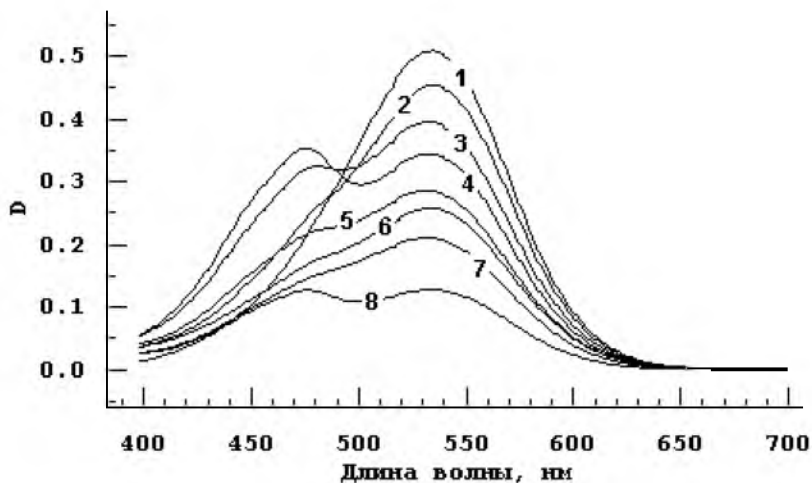


Рис.3. Спектры экстрактов корнеплодов некоторых сортов красной столовой свеклы: Сорта *Beta vulgaris* L.: 1 – «Красный шар»; 2 – «Мулатка»; 3 – «Цилиндра»; 4 – «Кубинка»; 5 – «Тема Потема»; 6 – «Голландская», 7 – «Цыганочка»; 8 – «Бордо»

Анализ спектров бетаксантинов и бетацианинов проводили после их разделения методом твердофазной экстракции на патронах ДИАПАК С18. Спектры несорбированной части экстракта, содержащей желтые пигменты (бетаксантины), представлены на рис. 4. Полнота извлечения в этой фракции бетаксантинов подтверждается отсутствием соответствующей полосы абсорбции в спектрах очищенных бетацианинов, рис. 5.

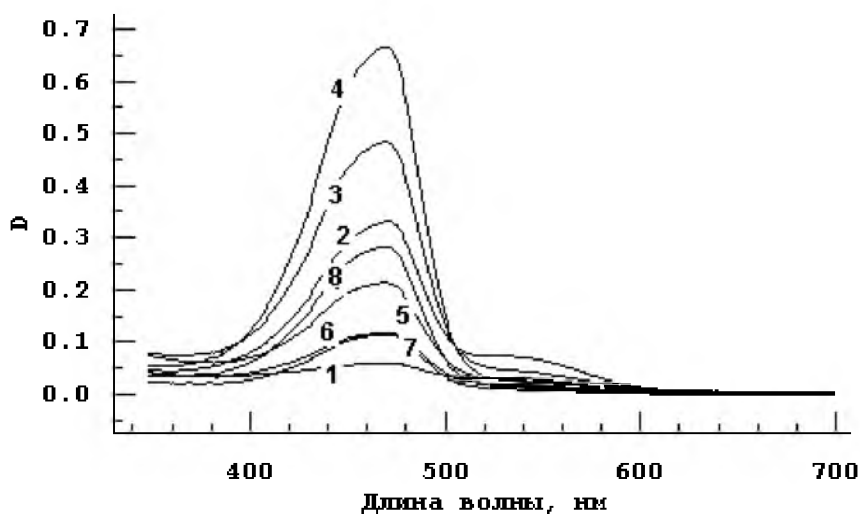


Рис. 4. Спектры бетаксантинов. Номера сортов см. рис. 1

Спектры бетаксантинов экстрактов всех исследованных сортов свеклы оказались однотипными (в смысле совпадения в нормированном виде), что не удивительно для соединений, в которых цепь сопряжения заканчивается на атоме азота иминного



типа. И хотя иминная составляющая бетаксантинов может быть различной, расчет удобно производить на один конкретный бетаксантин, в качестве которого можно использовать, например, вульгаксантин I. При этом интенсивность полосы абсорбции бетаксантинов после максимума при 469 нм с ростом длин волн быстро уменьшается. Однако на спектрах обнаруживается небольшое количество некоторого компонента с параметрами, подобными спектрам бетацианинов. Этот компонент по нашим данным постепенно образуется из желтых исходных веществ: при хранении несорбированной на патроне С18 части исходного экстракта чисто желтого цвета через несколько часов раствор приобретает красно-оранжевую окраску. Нам удалось методом ВЭЖХ обнаружить, что образующиеся бетацианины неотличимы от бетанина, поэтому бетацианины могут быть определены непосредственно по абсорбции при 535 нм без поправок на другие компоненты.

Спектры бетацианинов всех образцов также оказались подобными, хотя на хроматограммах обнаруживали пики двух изомеров (С15 эпимер бетанина, VIII) в разных соотношениях, рис. 6.

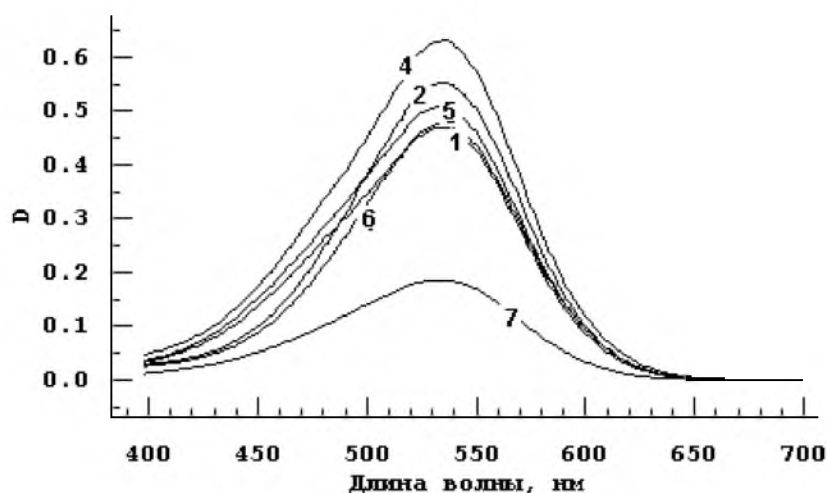


Рис. 5. Спектры растворов очищенных бетацианинов. Номера сортов см. рис.1

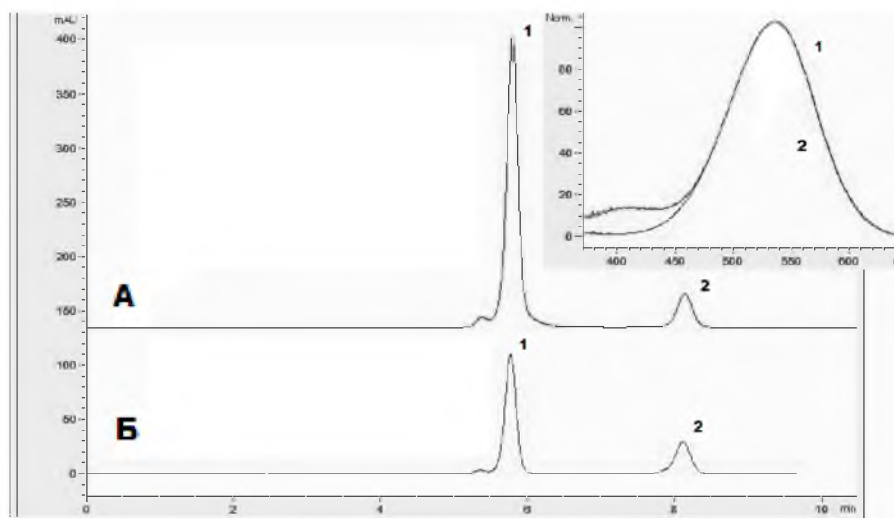


Рис. 6. Разделение и спектры изомеров бетанина

Хроматограммы очищенных экстрактов свеклы сортов А – «Тема» и Б – «Цилиндра»:

1 – бетанин, 2 – изобетанин

Но если бетаксантины не мешают количественному определению бетацианинов спектрофотометрическим методом, то абсорбция бетацианинов при 469 нм не может считаться пренебрежимо низкой, поэтому система линейных уравнений для спектрофотометрического определения бетацианинов и бетаксантинов при совместном присутствии упрощается:

$$\begin{cases} A(535) = \varepsilon_{11} \cdot c_1 + 0 \cdot c_2 \\ A(469) = \varepsilon_{12} \cdot c_1 + \varepsilon_{22} \cdot c_2 \end{cases}$$

Обобщенный уровень накопления бетацианинов и бетаксантинов в исследованных в настоящей работе сортах *Beta vulgaris* L. представлен в табл. 1. Разброс в найденных значениях связан с различным уровнем накопления веществ в различных частях одного даже одного и того же корнеплода.

Таблица 1  
**Уровень накопления беталаинов в корнеплодах некоторых сортов *Beta vulgaris* L.**

Сорт	Содержание компонентов, мг/100 г, ± 12%	
	VIII*	X**
Красный шар	195	0.0
Мулатка	167	17
Бордо	68	25
Цилиндра	143	45
Цыганочка	85	19
Голландская	45	8
Кубинка	33	21
Тема Потема	47	13

\* – содержание бетацианинов в пересчете на бетанин;  
\*\* – содержание бетаксантинов в пересчете на вальгаксантин I

Как видно из представленных данных, соотношение между бетанином и изобетанином различно для исследованных сортов свеклы: доля изомера варьирует от 10 до 26 %. Отметим, что отмеченное выше спонтанное превращение желтого пигмента в бетанин может указывать на то, что в цепи метаболизма имеется некоторое гликозилированное соединение с хромофором бетаксантинового типа, которое может далее превращаться в бетанины.

### Выводы

Из восьми сортов свеклы красной столовой, выращенной в Белгороде в 2011 году, наивысший уровень накопления бетацианинов найден для сорта «Красный шар», несколько уступают им по данному показателю сорта «Мулатка» и «Цилиндра». Наивысший уровень накопления бетаксантинов обнаружен для корнеплодов сорта «Цилиндра».

### Список литературы

1. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов: Пер. с англ. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
2. Henriette M.C. Betalains: properties, sources, applications, and stability // Intern. J. Food Sci. Technol. – 2009. – V. 44. – P. 2365–2376.
3. Куликов Ю.И., Дадян Н.К. Перспективы использования натурального красителя «Лаконос американский» при производстве колбасных изделий // Вестник Северо-Кавказского государственного университета. – 2008. – №3 (16). – P. 1997–9541.

В сорте «Красный шар» бетаксантинов практически не остается, а в корнеплодах сорта «Кубинка» доля желтых пигментов немногим превышает 39 % (от суммы пигментов), хотя максимальный уровень накопления бетаксантинов найден для корнеплодов сорта «Цилиндра».

С использованием метода ВЭЖХ были определены соотношения между бетанином и изобетанином в очищенных экстрактах, табл. 2.

Таблица 2  
**Соотношение основных компонентов бетацианинов в корнеплодах различных сортов красной свеклы**

Сорт	Бетанин, %	Изобетанин, %
Красный шар	73.78	16.24
Мулатка	77.58	17.73
Бордо	86.78	10.36
Цилиндра	71.92	26.15
Цыганочка	55.70	20.53
Голландская	76.21	23.79
Кубинка	74.97	23.04
Тема Потема	84.83	12.34



4. Kirsten M.H., Florian C.S., Reinhold C. Betalain Stability and Degradation—Structural and Chromatic Aspects//J. Food Sci. – 2006. – V. 71. – P. 41-50.
5. Pavokovic D., Krsnik-Rasol M. Biotechnological Production of Betalains // Food Technol. Biotechnol. – 2011. – V.49. – P. 145–155.
6. Savolainen K., Pyysalo H., Kallio H. The influence of water activity on the stability of vulgaxanthin I // Z. Lebensm. Unters. Forsch. – 1978. – V.167. – P.250-251.
7. Stitzing F.C., Carle R. Analysis of betalains / In: Food colorants. Chemical and functional properties. Ed. C. Socaciu. CR Press Taylor & Francis Group. 2008. P. 507-520.
8. Bohm H. “Opuntia dillenii” – An Interesting and Promising Cactaceae Taxon // J. Profess. Assoc. Cactus Develop. – 2008. – V.10. – P. 148-170.

## BETACYANINS OF RED BEETROOT ROOT

**I.I. Saenko**  
**O. V. Tarasenko**  
**V.I. Deineka**  
**L.A. Deineka**

Belgorod State National Research  
University  
Pobedy St., 85, Belgorod, 308015,  
Russia  
E-mail: [deineka@bsu.edu.ru](mailto:deineka@bsu.edu.ru)

HPLC and spectrophotometrical method were used for investigation of red beetroot root, *Beta vulgaris* L., cultivars («Krasny shar», «Mulatka», «Tsylyndra», «Kubinka», «Toma Pot'oma», «Gollandskaya», «Tsyganochka» and «Bordo»). The upmost level of betanine isomers accumulation has been found for cv. «Krasny shar» (195 mg/100 g ± 12%), while that of betaxanthines (as vulgaxanthin I) has been found for cv. «Cylindra» (45 mg/100 g ± 12%). Some betaxanthine component was determined to gradually convert into betanine.

Key words: HPLC, spectrophotometry, betacyanines, betaxanthines  
*Beta vulgaris*, cultivars.