

КЛЯЧЕНКО О. Л.^{1✉}, ЯНСЕ Л. А.², ЛІХАНОВ А. Ф.³

¹ Національний університет біоресурсів і природокористування України, Україна, 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15, e-mail: klyachenko@ukr.net

² Національна академія аграрних наук України, Україна, 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, 9, e-mail: liliya.janse@gmail.com

³ Науково-дослідний інститут прикладної екології НАНУ, Україна, 03141, м. Київ, вул. Лебедева, 37, e-mail: likhanov.bio@gmail.com

✉ klyachenko@ukr.net, (067) 453-74-05

ЕКСТРАКЦІЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ІЗ РЕШТОК ПЕРИКАРПІЇВ БУРЯКІВ ЦУКРОВИХ (*BETA VULGARIS* L. ssp. *VULGARIS*)

У регуляції проростання насіння, росту і розвитку проростків важлива роль належить біологічно активним речовинам, які в буряків цукрових (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) знаходяться переважно в оплоднях. **Мета.** Екстракція вторинних метаболітів та вивчення впливу багатоконпонентної системи ендометаболітів перикарпіїв буряків цукрових на проростання насіння рослин. **Методи.** Хімічний склад метаболітів плодів і перикарпіїв буряків цукрових визначали методом тонкошарової хроматографії; диференційоване їх розділення здійснювали з використанням колонкової хроматографії і гельфільтрації; загальний вміст фенольних сполук у плодах і перикарпіїв – спектрофотометрично. **Результати.** Установлено, що в перикарпіїв буряків цукрових міститься значна кількість фенольних сполук. Виділено чотири групи фенольних сполук із різною молекулярною масою, частка яких складає в середньому 5–10 %. У ході вивчення впливу водних екстрактів на насіння редису встановлено, що елюенти перших об'ємів води (3–5 мл) проявляли виражену стимулюючу дію, тоді як подальші об'єми елюентів (8–9 мл) характеризувалися гальмівною дією. **Висновки.** В екстрактах перикарпіїв буряків цукрових виявлено феноли, флавоноїди та їх глікозиди, які є високоактивними інгібіторами й стимуляторами росту і можуть бути використані як природні біологічно активні речовини.

Ключові слова: буряки цукрові, перикарпії, біологічно активні сполуки, феноли, флавоноїди.

У регуляції проростання насіння, росту і розвитку проростків важлива роль належить біологічно активним речовинам, зокрема гормонам (АБК, етилен) [1, 2], поліфенолам (оксикоричні кислоти, флавоноїди, таніни, флаволіг-

нани) [3, 4], кумаринам [5] і сапонінам [6]. Перикарпії плодів буряків цукрових, що утворюються із стінок зав'язі в процесі формування зародка, диференціюються з утворенням різних тканинних структур: екзо-, мезо- і ендокарпії [7], функції яких зумовлені особливостями анатомічної будови, хімічною природою і розподілом метаболітів. Встановлено, що високоактивні сполуки, які здатні істотно впливати на проростання насіння буряків цукрових (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*), знаходяться переважно в оплоднях [4] і особливо в тканинах мезокарпії [8].

Відомі вторинні метаболіти буряків цукрових представлені головним чином ізофлавононами, флавононами, дигідрофлавононами і їх глікозидами (бетавульгарин, бетагарин, ірізон В), що проявляють властивості фітоалексинів (антифунгальна і антимікобактеріальна активність); беталаїновими алкалоїдами (беталамова кислота як попередник беталаїнів, ксантинів), яким притаманна властивість барвників і антиоксидантів; простими індолами і *bis*-індольними алкалоїдами, ізоіндолами (інгібітори проростання *Beta sp.*); ди- і тритерпеноїдами (сапонінами), наприклад, глікозидами олеїнової кислоти, карофіліну, гедерагеніну і *bis*-десмозидами (з антибактеріальними, іхтіотоксичними протівиразковими властивостями) [9].

Матеріали і методи

Хімічний склад метаболітів плодів і перикарпіїв буряків цукрових визначали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на шарі сілікагелю (Sorbfil F₂₅₄) в системі двох типів розчинників: 1) хлороформ : оцтова кислота : метанол : вода (60 : 32 : 12 : 8); 2) етилацетат : оцтова кислота : мурашина кислота : вода (100 : 11 : 11 : 26) [10]. Для з'ясування хімічної природи речовин

хроматограми обробляли проявляючими реагентами [10]. Біологічну активність екстрагованих речовин оцінювали за зоною пригнічення розвитку тест-культури на 5-, 7- і 12-ту доби. Алелопатичний потенціал водних витяжок визначали за силою впливу біологічно активних речовин на динаміку росту коренів проростків редису (сорт Червоний із білим кінчиком) [11]. Морфометричні показники довжини коренів паростків редису і результати біотестів аналізували в спеціалізованих програмах Image Pro-Premier 9.1 і AxioVision 4.7 Carl Zeiss.

Загальний вміст фенольних сполук у плодах і перикарпіїх буряків цукрових визначали спектрофотометричним методом (СФ Optizen Pop, Південна Корея) за допомогою реактиву Фоліна-Чекольтеу (Folin & Ciocalteu's phenol reagent) [12].

Результати та обговорення

За науковими літературними даними відомо, що полярні хімічні сполуки перикарпіїх буряків цукрових проявляють здатність до уповільнення проростання насіння багатьох видів рослин. До середньополярних інгібіторів буряків відносяться флавоноїди, бісалкалоїди та ізоіндольні сполуки [13]. У попередніх дослідженнях нами встановлено, що в більшості вивчених генотипів буряків цукрових у перикарпіїх плодів містяться комплекси сполук із вираженою біологічно активною дією [14]. Більшу частину цих сполук становлять солі карбонових кислот і фенольні сполуки: конденсовані дубильні речовини (проантоціанідини, ізофлаволи,

дигідрофлавоноли, флаволи, флавоноли і їх глікозиди, а також прості індоли, ізоіндоли (інгібітори проростання), *bis*-індольні алкалоїди, ди- і тритерпеноїди (глікозиди карофіліну, гедерагеніну і *bis*-десмозиди). Акумуляючись у тканинах мезо- і ендокарпіїв плодів, біологічно активні речовини формують ендogenous (тканинні) і екogenous (фітогенні) сфери, біохімічні бар'єри, екологічне значення яких полягає в активному регулюванні процесів пробудження насіння і пригніченні фітопатогенних мікроорганізмів на стадії формування проростків буряків цукрових [14]. Однак кількісні показники не дають однозначної відповіді на питання щодо впливу багатокомпонентної системи ендометаболітів перикарпіїв буряків цукрових на проростання насіння, що зумовлює необхідність проведення їх диференціального розділення.

У проведених нами дослідженнях водних екстрактів перикарпіїв для розподілу їх ендометаболітів за використання методів колонкової хроматографії і гел'єфільтрації при пропусканні водного екстракту через колонку, заповнену сефадексом G 25, було вперше виділено 4 групи фенольних речовин за їх молекулярною масою (рис.).

За співвідношенням між загальним пулом фенольних сполук і флавоноїдами під час проходження води через гель виявлено певні закономірності, на підставі яких визначено, що в екстрактах плодів їх частка досягає у середньому 5–10 % (табл.). Інші сполуки представлені фенолкарбоновими кислотами і проантоціанідинами.

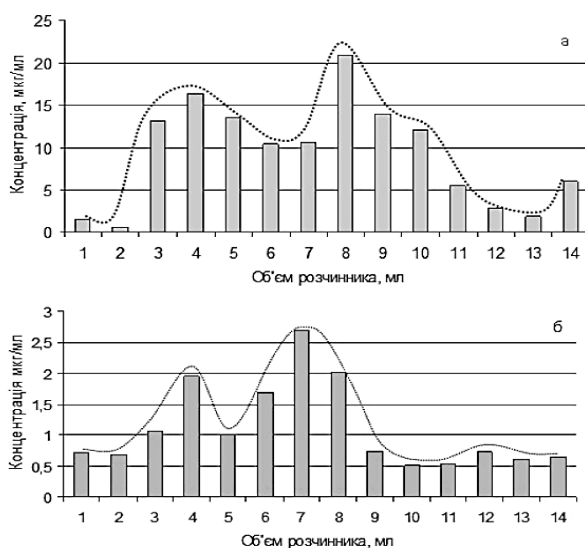


Рис. Розділення фенолів (а) і флавоноїдів (б) водних екстрактів перикарпіїв буряків цукрових на колонці із сефадексом G 25.

Таблиця. Розподіл фенолів і флавоноїдів за об'ємом розчинника

V, мл	Пл*			Пер*			Пер/Пл	
	Фн*	Фл*	Фн / Фл	Фн	Фл	Фн / Фл	Фн	Фл
1	1,6 ± 0,06	0,7 ± 0,03	2,2 ± 0,09	3,6 ± 0,15	1,1 ± 0,04	3,4 ± 0,14	2,3 ± 0,09	1,5 ± 0,06
2	0,7 ± 0,03	0,7 ± 0,03	1,0 ± 0,04	18,4 ± 0,74	2,2 ± 0,09	8,4 ± 0,33	28,2 ± 1,13	3,2 ± 0,13
3	13,1 ± 0,52	1,1 ± 0,04	12,2 ± 0,49	99,0 ± 3,96	10,7 ± 0,43	9,3 ± 0,37	7,6 ± 0,30	10,0 ± 0,4
4	16,4 ± 0,65	2,0 ± 0,08	8,4 ± 0,34	77,8 ± 3,11	7,0 ± 0,28	11,1 ± 0,44	4,8 ± 0,19	3,6 ± 0,14
5	13,6 ± 0,54	1,0 ± 0,04	13,4 ± 0,54	35,1 ± 1,40	2,8 ± 0,11	12,4 ± 0,50	2,6 ± 0,10	2,8 ± 0,11
6	10,4 ± 0,42	1,7 ± 0,07	6,2 ± 0,25	31,3 ± 1,25	1,7 ± 0,07	18,9 ± 0,76	3,0 ± 0,12	1,0 ± 0,04
7	10,6 ± 0,42	2,7 ± 0,11	4,0 ± 0,16	36,9 ± 1,48	2,4 ± 0,10	15,3 ± 0,61	3,5 ± 0,14	0,9 ± 0,04
8	20,9 ± 0,84	2,0 ± 0,08	10,4 ± 0,42	41,4 ± 1,66	2,4 ± 0,10	16,9 ± 0,68	2,0 ± 0,08	1,2 ± 0,05
9	14,0 ± 0,56	0,7 ± 0,03	19,1 ± 0,76	45,0 ± 1,80	2,8 ± 0,11	15,9 ± 0,64	3,2 ± 0,13	3,8 ± 0,15
10	12,1 ± 0,49	0,5 ± 0,02	23,6 ± 0,94	35,7 ± 1,43	1,9 ± 0,08	18,6 ± 0,74	2,9 ± 0,12	3,7 ± 0,15
11	5,4 ± 0,22	0,5 ± 0,02	10,2 ± 0,41	22,5 ± 0,90	1,2 ± 0,05	19,5 ± 0,78	4,2 ± 0,17	2,2 ± 0,09
12	2,8 ± 0,11	0,7 ± 0,03	3,8 ± 0,15	20,4 ± 0,82	1,9 ± 0,07	10,9 ± 0,44	7,3 ± 0,29	2,5 ± 0,10
13	1,9 ± 0,08	0,6 ± 0,02	3,1 ± 0,12	9,4 ± 0,38	1,0 ± 0,04	9,4 ± 0,38	4,9 ± 0,20	1,6 ± 0,06
14	6,0 ± 0,24	0,6 ± 0,03	9,3 ± 0,37	9,2 ± 0,37	0,7 ± 0,03	13,0 ± 0,52	1,5 ± 0,06	1,1 ± 0,04

Примітки: *Фн – фенольні сполуки; Фл – флавоноїди; Пл – плоди; Пер – перикарпії; p < 0,05.

Збільшення вмісту фенолів у водних екстрактах решток оплоднів, порівняно з плодами, зумовлено поліпшенням розчинення вторинних метаболітів у воді за подрібнення перикарпіїв у ході технологічного процесу очищення насіння буряків цукрових. Біологічна активність виділених сполук відрізнялася за типом дії. Так, встановлено, що елюенти перших об'ємів (3 мл) води проявляли на насіння редису виражену стимулюючу дію, що відображалось у пришвидшенні проростання насіння. Речовини, що містилися в подальших об'ємах елюентів (8–9 мл), характеризувалися гальмівною дією. Це свідчить про те, що серед ендометаболітів перикарпіїв плодів буряків цукрових містяться природні біологічно активні сполуки як високоактивні інгібітори, так і стимулятори росту. Вміст у перикарпіїх буряків цукрових біологічно активних речовин, які проявляють властивості фітоелісаторів (ізофлавонони, флаванони, дигідрофлавонони і їх глікозиди) та інгібіторів проростання насіння (прості індоли і біс-індольні алкалоїди), дозволяє розглядати можливість переробки від-

ходів, які залишаються в процесі очищення насіння від оплоднів.

Відомо, що в середньому маса решток оплоднів становить 75–85 % від загальної маси плодів [15]. Оскільки (згідно з нашими попередніми дослідженнями) 1 г перикарпіїв містить 20–40 мг/г фенольних сполук [14], з 1 кг решток перикарпіїв можна екстрагувати до 40 г фенольних метаболітів, індольних алкалоїдів і тритерпенових сапонінів. У процесі очищення і дражування насіння відходи складатимуть до 800 г/кг, а максимальна кількість вторинних метаболітів, яку можна виділити з 1 кг, буде становити відповідно 15–30 г цінних органічних сполук, які представляють комерційний інтерес і можуть бути використані як природні біологічно активні речовини.

Висновки

В екстрактах решток перикарпіїв буряків цукрових виявлено феноли, флавоноїди та їх глікозиди, які є високоактивними інгібіторами й стимуляторами росту і можуть бути використані як природні біологічно активні речовини.

References

1. Alberdi M., Corcuera L.J. Cold acclimation in plants. *Phytochemistry*. 1991. Vol. 30. P. 3177–3184.
2. Hermann K., Meinhard J., Dobrev P., Linkies A., Pesek B., Hess B., Machácková I., Fischer U., Leubner-Metzger G. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid and abscisic acid during the germination of sugar beet (*Beta vulgaris* L.): a comparative study of fruits and seeds. *Journ. of Experimental botany*. 2007. Vol. 58, № 11. P. 1–14. doi: 10.1093/jxb/erm162.
3. Blazhej A., Shutyy L. Fenol'nye soedineniia rastitel'nogo proiskhozhdeniia. M.: Mir, 1977. 239 s. [in Russian] / Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М.: Мир, 1977. 239 с.

4. Chiji H., Tanaka S., Izawa M. Phenolic germination inhibitors in the seed balls of red beet (*Beta vulgaris* L. var. *rubra*). *Agric. Biol. Chem.* 1980. 44, № 1. P. 205–207.
5. Adkins S.W., Bellairs S.M., Loch D.S. Seed dormancy mechanisms in warm season grass species. *Euphytica*. 2002. Vol. 126, № 1. P. 13–20.
6. Vasil'eva I.S., Paseshnichenko V.A. Steroidnye glikozidy rasteniy i kul'tury kletok dioskorei, ikh metabolizm i biologicheskaya aktivnost'. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2000. T. 40. S. 153–204. [in Russian] / Васильева И.С., Пасешниченко В.А. Стероидные гликозиды растений и культуры клеток диоскореи, их метаболизм и биологическая активность. *Успехи биологической химии*. 2000. Т. 40. С. 153–204.
7. Takhtadzhian A.L. Sravnitel'naja anatomija semjan. T. 3. Dvudol'nye. Caryophyllidae – Dilleniidae. L.: Nauka, 1991. S. 77–78 [in Russian] / Тахтаджян А.Л. Сравнительная анатомия семян. Том 3. Двудольные. Caryophyllidae – Dilleniidae. Л.: Наука, 1991. С. 77–78.
8. Junttila O. Germination inhibitors in fruit extracts of red beet (*Beta vulgaris* cv. *rubra*). *Journal of Experimental Botany*. 1976. Vol. 27, № 99. P. 827–836.
9. Dictionary of Natural Products, ver.22. 2014. Taylor and Francis Group. URL: [http://dnp.chemnetbase.com\(2014\)](http://dnp.chemnetbase.com(2014)) (Last accessed: 1.04.2019).
10. Kovalev V.N., Popova N.V., Kislichenko V.S. i dr. Praktikum po farmakognozii: ucheb. posobie dlja stud. vuzov / pod obshch. red. V.N. Kovaleva. Kh.: Izd-vo NFaU; Zolotyje stranitsy, 2003. 512 s. [in Russian] / Ковалев В.Н., Попова Н.В., Кисличенко В.С. и др. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студ. вузов / под общ. ред. В.Н. Ковалева. Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. 512 с.
11. Grodzinskiy D.M. Nadezhnost' rastitel'nykh sistem. K.: Naukova dumka, 1983. 368 s. [in Russian] / Гродзинский Д.М. Надежность растительных систем. К.: Наукова думка, 1983. 367 с.
12. Maluszynski M., Ahloowalia B.S., Sigurbjörnsson B. Application of *in vitro* mutation techniques for crop improvement. *Euphytica*. 1995. 85. P. 303–315. doi: 10.1007/BF00023960.
13. Morris P.C., Grierson D., Whittington W.J. Endogenous inhibitors and germination of *Beta vulgaris*. *Journal of Experimental Botany*. 1984. Vol. 35, № 7. P. 994–1002. doi: 10.1093/jxb/35.7.994.
14. Klyachenko O.L., Likhonov A.F., Grakhov V.P. Bar'ernye funktsii perikarpiev sakharnoy svekly razlichnykh genotipov. *Fiziologija rasteniy i genetika*. 2015. 47, № 5. S. 420–429. [in Russian] / Кляченко О.Л., Лиханов А.Ф., Грахов В.П. Барьерные функции перикарпиев сахарной свеклы различных генотипов. *Физиология растений и генетика*. 2015. 47, № 5. С. 420–429.
15. Oehme J. Rüben. Zuckerrübe. In: Seiffert M. (Hrsg.) Pflanzenproduktion. Drusch- und Harkfrucht Produktion. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin, 1981. S. 302–374.

KLYACHENKO O. L.¹, JANSE L. A.², LIKHANOV A. F.³

¹ National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Ukraine, 03041, Kyiv, Heroev Oborony str., 15, e-mail: klyachenko@ukr.net

² National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Ukraine, 01010, Kyiv, Omelianovycha-Pavlenka str., 9, e-mail: liliya.janse@gmail.com

³ Institute for evolution ecology NAS Ukraine, Ukraine, 03141, Kyiv, Lebedeva str., 37, e-mail: likhanov.bio@gmail.com

EXTRACTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS FROM THE RESIDUES OF PERICARPS OF SUGAR BEET (*BETA VULGARIS* L. ssp. *VULGARIS*)

Aim. In the regulation of germination of seeds and of growth and development of seedlings, an important role belongs to biologically active substances that are found in the root of sugar beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*), mainly in the pericarp. Extraction of secondary metabolites and study of the influence of a multicomponent system of endometabolites (phenolic compounds) of sugar beet pericarps on germination of plant seeds. **Methods.** The chemical composition of the metabolites of fruits and pericarps of sugar beet was determined by thin-layer chromatography; their differentiated isolation was carried out using column chromatography and gel filtration; The total content of phenolic compounds in fruits and pericarps was determined spectrophotometrically. **Results.** It was found that sugar beet pericarps contain a considerable amount of phenolic compounds (5-10 %). Four groups of phenolic compounds with different molecular masses were detected. By studying the influence of aquatic extracts on radish seeds, it was found that the eluents of the first volumes of water (3-5 ml) showed a pronounced stimulating effect, whereas further volumes of eluents (8-9 ml) were characterized by inhibitory action. **Conclusions.** Phenols, flavonoids and their glycosides were detected in extracts of sugar beet pericarps, which can be characterized as highly active inhibitors and growth promoters, therefore they could be used as natural biologically active substances.

Keywords: sugar beet, pericarp, biologically active compounds, phenols, flavonoids.