

Коняев Игорь Сергеевич

канд. биол. наук, старший научный сотрудник, доцент

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный

педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

Калиновская Ольга Владимировна

старший научный сотрудник

Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных

проблем биоэкологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Ульяновский

государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

Безрукова Ульяна Алексеевна

студентка

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный

педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

ИССЛЕДОВАНИЕ СУММАРНОГО СОДЕРЖАНИЯ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У РАЗНЫХ ВИДОВ РОДА ЛУК (ALLIUM L.)

Аннотация: проведено определение оксидиметрическим методом суммарного содержания веществ антиоксидантной системы у четырех видов лука *Allium L.*, выращенных в условиях открытого грунта. Представлена сравнительная характеристика накопления компонентов АОС на начальных этапах развития растений от прорастания до формирования луковицы. Показана видовая специфичность темпов накопления суммы антиоксидантов в подземных и надземных частях исследуемых растений.

Ключевые слова: антиоксиданты, аскорбиновая кислота, титриметрия, род *Allium L.*, фазы развития.

Антиоксиданты относятся к важнейшим компонентам биорегуляторной системы, обеспечивающей защитные свойства организма. Известным источником биологически активных веществ, в т.ч. антиоксидантов, считаются представители рода *Allium L.* [11]. Человек издавна использует как культурные, так и некоторые дикорастущие виды лука не только в пищу, но и в качестве лекарственного сырья в народной медицине [5].

Одним из важнейших антиоксидантов является аскорбиновая кислота (АК, витамин С), которая в органах лука накапливается в очень больших количествах (до 90мг%) [8]. АК – это метаболит с высокой биологической активностью, выполняет множество функций: регуляцию активности ферментов в качестве кофермента; участие в ферментативных окислительно-восстановительных превращениях органических кислот; формирование устойчивости и сопротивляемости к неблагоприятным внешним факторам, в т.ч. патогенам, и др. [9; 10; 12; 13]. До сих пор полностью метаболическая роль АК кислоты не изучена. Известно, что человек – один из немногих видов, не способных к синтезу АК, и получение витамина С организмом человека может происходить только с продуктами растительного происхождения [3]. Кроме того, в разных частях растений рода лук накапливаются другие ферментные антиоксиданты (полифенолы, флавоноиды, каротиноиды, дубильные вещества и др.) [8].

Существует несколько методов количественного определения компонентов антиоксидантной системы (АОС) в растительном материале: хроматографические методы, колориметрический, спектрофотометрический, методы кислотно-основного титрования (оксидиметрия) и др. [4; 7]. Некоторые методические приемы количественного определения и анализа функционирования АОС не требуют сложного лабораторного оборудования, поэтому могут быть реализованы студентами биологических специальностей вузов в рамках учебного процесса, а также школьниками старших классов при углубленном изучении биологии и химии [1; 4].

Определение витамина С основано на его способности легко вступать в окислительно-восстановительные реакции. В нашей работе мы использовали титрование 2,6-дихлофенолиндофенолом натрия (краской Тильманса) для оценки содержания одного из самых распространенных компонентов АОС в растениях лука – аскорбиновой кислоты. Метод основан на экстрагировании витамина С раствором соляной кислоты с последующим титрованием раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до установления светло-розовой окраски. Используемая для экстракции соляная кислота извлекает из исследуемого материала как свободную, так и связанную аскорбиновую кислоту, а также способствует устойчивости аскорбиновой кислоты в экстрактах. Данный способ стандартизован и представляется достаточно точным и доступным для количественного определения витамина С [2].

В данном исследовании была поставлена цель – проанализировать количественное распределение суммы компонентов АОС в разных частях растений четырех видов лука (род *Allium*) в процессе развития при традиционном выращивании в условиях открытого грунта. Были поставлены следующие задачи:

- 1) выбор метода определения содержания компонентов АОС у исследуемых видов растений;
- 2) изучение особенностей развития (прохождения фенофаз) у исследуемых видов лука;
- 3) количественный анализ АОС в формирующихся луковичах и надземной части исследуемых растений.

В качестве объектов исследования использовали четыре вида растений лука – *Allium fistulosum* (лук-батун, сорт «Апрельский»), *Allium schoenoprasum* (шнитт-лук, сорт «Чемал»), *Allium cepa* (лук репчатый, сорт «Салатный красный»), *Allium ampeloprasum* (лук-порей, сорт «Победитель»).

Исследования проводили в 2018–2019 гг. на участке опытного поля МУП «Кузоватовский лесхоз» МО «Кузоватовский район» Ульяновской области. Растения выращивали по общепринятой агротехнике [6]. Перед посадкой в грунт семена проращивали во влажной камере при температуре +25 °С граду-

сов в течение 3-х суток. Проросшие семена высаживали в грунт (5 июня) на делянки площадью 5 м², расстояние между рядами 15 см, расстояние между лунками 5 см, глубина – 2 см. Уход – традиционный (полив, рыхление почвы, удаление сорняков и больных растений). В фазе 4–5 настоящих листьев проводили прореживание для обеспечения оптимальной густоты стояния (45–50 растений/м²). Фенологические наблюдения за фазами роста и развития: появление 1–2 листьев, стрелкование (появление цветочных стеблей), формирование луковиц (до цветения). Повторность опыта 2-кратная.

При достижении фенофаз отбирали часть опытных растений (не менее 20 растений каждого вида) для дальнейшего определения содержания витамина С. Опытные растения помещали в герметичные пакеты и хранили до момента биохимического анализа в морозильной камере при температуре -65°C.

Исследовали суммарное содержание компонентов АОС (мг/100 г сырой массы) в формирующихся луковицах и надземной части растения. Для подготовки материала к исследованию требуемую часть растения (не менее 1 г сырой биомассы) измельчали с помощью диспергатора HS-30E-Unit. К измельченной массе добавляли порциями по 4–5 мл раствора соляной кислоты (с массовой долей 2%) до получения однородной жидкой кашицы. Смесь переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и общий объем экстракта доводили до метки тем же раствором кислоты. Содержимое хорошо перемешивали, настаивали 5–7 мин и фильтровали через бумажный фильтр. Отбирали 10 мл отфильтрованного экстракта и переносили в коническую колбу (×25 мл). Титровали раствором индофенолового реактива до слабо-розового цвета, удерживающегося в течение 30 секунд. Определяли содержание аскорбиновой кислоты по формуле:

$$Q_{(\text{мг}\%)} = (V_0 \times V_1 \times 100) / (m \times V_2), \text{ где}$$

$Q_{(\text{мг}\%)}$ – количественное содержание витамина С;

V_0 , мл – объем индофенолового реактива, истраченного на титрование пробы;

V_1 , мл – общий объем экстракта;

V_2 , мл – объем экстракта, используемого для титрования;

m, г – масса навески.

Результаты исследований показали заметные различия в скорости роста и развития у исследуемых видов. Если прорастание семян происходило у всех видов в приблизительно одинаковые сроки (на 3 сутки), то наибольшей скоростью роста отличался лук-батун (*Allium fistulosum*) сорта «Апрельский», более поздними сроками наступления фенофаз характеризовался лук-порей (*Allium ampeloprasum*) сорта «Победитель». Формирование луковицы у *Allium fistulosum* отмечено на 50 сутки после посева, у *Allium cepa* – на 60 сутки, у *Allium schoenoprasum* – на 67 сутки, у *Allium ampeloprasum* – на 73 сутки (табл. 1).

Таблица 1

Наступление фенофаз у исследуемых видов лука

Вид	Фенофазы (сутки после посева)		
	появление 1–2 настоящего листа	стрелкование	образование луковицы
<i>Allium fistulosum</i> лук-батун	15	15	50
<i>Allium schoenoprasum</i> шнитт-лук	24	24	67
<i>Allium cepa</i> лук репчатый	20	20	60
<i>Allium ampeloprasum</i> лук-порей	35	35	73

Анализ накопления веществ антиоксидантной системы по фазам развития показало, что шнитт-лук в период от прорастания до стрелкования сравнительно медленно накапливает антиоксиданты в надземной части (4,7%), а у остальных видов этот показатель составляет 9,7–10% (рис. 1). В период от стрелкования до формирования луковиц наибольшие темпы накопления антиоксидантов наблюдаются у лука-батуна и шнитт-лука – соответственно, на 23,6% и 15%; у лука репчатого и лука-порея – соответственно, на 7,35% и 7,6% (рис. 1).

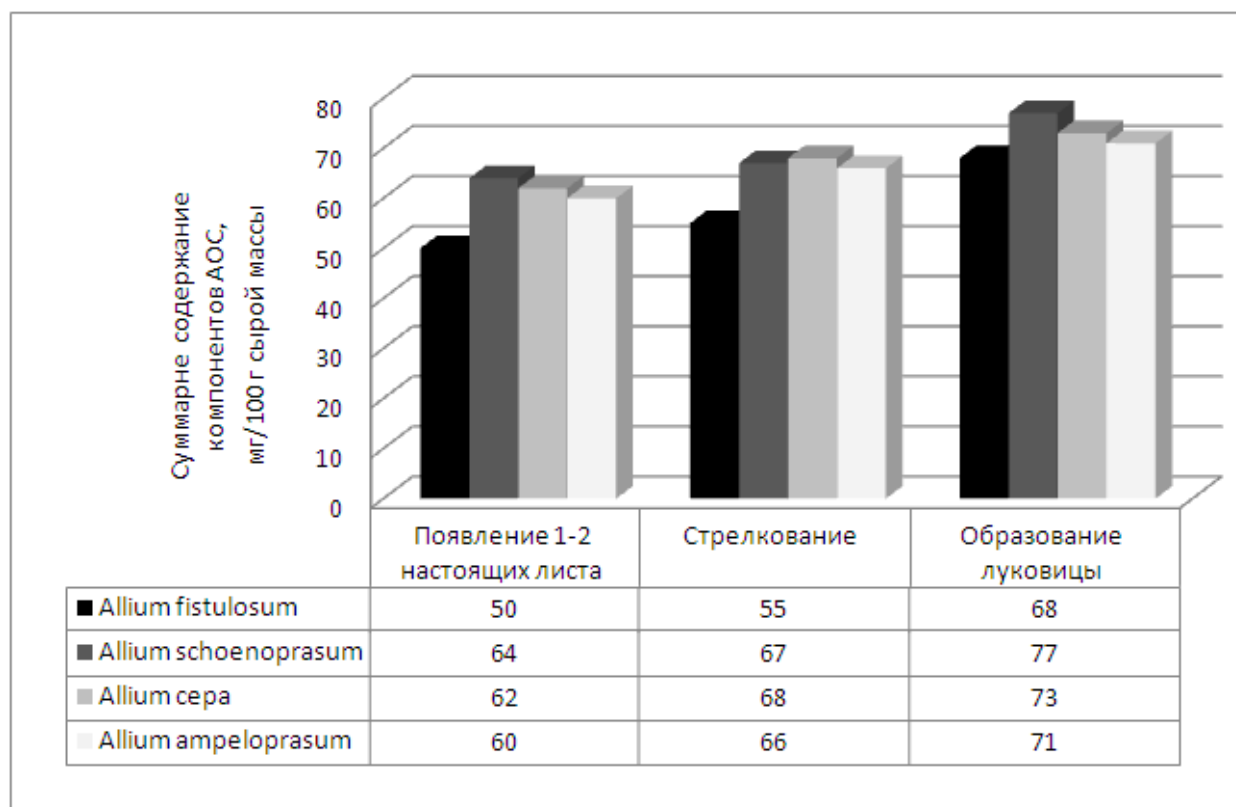


Рис. 1. Содержание компонентов АОС (Σ) в надземной части у видов *Allium L.* по фенофазам

Изучение содержания компонентов АОС в подземной части растений (формирующихся луковицах) показал, что наибольшие темпы накопления характерны для лука-батуна: от появления листьев до начала формирования стрелки содержание антиоксидантов увеличивается на 26,7%, в последующий период до образования луковиц – на 31,6%. У шнитт-лука в период от прорастания до стрелкования накопление компонентов АОС составляет 33,3%, затем темпы снижаются и в период до формирования луковицы этот показатель составляет 10,7%. У лука репчатого суммарное количество антиоксидантов в подземной части от появления листьев до стрелкования увеличивается на 8%, затем ко времени формирования луковицы – на 11,1%. Лук-порей на первых этапах развития накапливает компоненты АОС медленнее всего – на 4,5% от появления листьев до стрелкования, затем накопление возрастает до 21,7% к периоду развития луковиц (рис. 2).

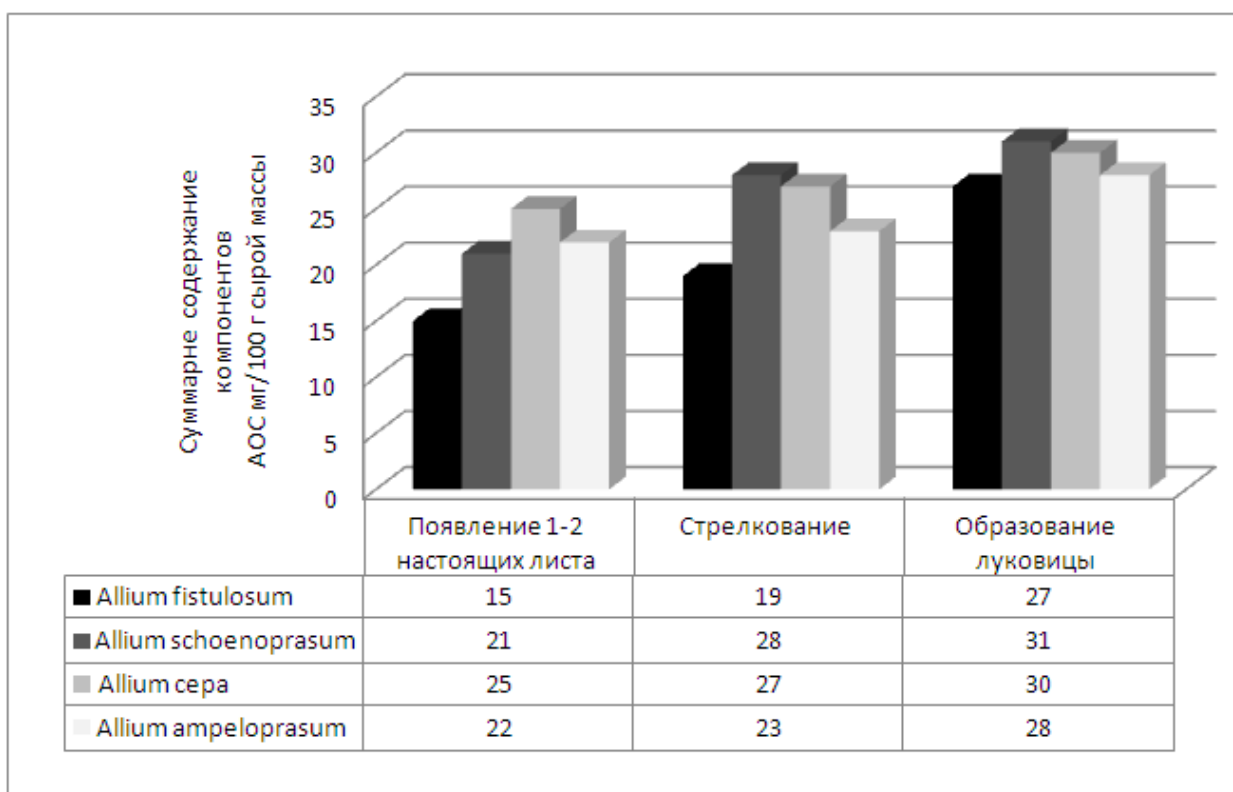


Рис. 2. Содержание компонентов АОС (Σ) в формирующихся луковицах у видов *Allium* L. по фенофазам

Таким образом, наблюдается видовая специфика характера накопления компонентов антиоксидантной системы среди представителей рода *Allium* L. по фазам роста и развития. Высокая вариабельность у представителей данного рода количества биологически активных веществ, включая компоненты АОС, в том числе аскорбиновую кислоту, отмечается и другими авторами [8]. В начальный период развития накопление антиоксидантов происходит, главным образом, в надземных органах. Наиболее высокие темпы накопления антиоксидантов отмечены у видов с меньшим сроком вегетации (лук-батун, шнитт-лук), однако это, по-видимому, не связано со способностью накапливать большее количество веществ АОС. Наибольшей способностью к суммарному накоплению компонентов АОС в период формирования луковицы и максимального развития биомассы характеризуются шнитт-лук (*Allium schoenoprasum*) и лук репчатый (*Allium cepa*) (рис. 1, 2).

У вида с более продолжительным сроком вегетации (лук-порей *Allium ampeloprasum*) отмечены невысокие темпы накопления антиоксидантов по фазам развития и сравнительно невысокий суммарный уровень этих веществ.

Список литературы

1. Благородов С.Г. Определение антиокислительной активности химических соединений [Текст] / С.Г. Благородов, А.П. Шепелев, Н.А. Дмитриева // Химико-фармацевтический журнал. – 1987. – Т. 21, №3. – С. 292–294.
2. ГОСТ 24556–89 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С».
3. Коноплева М.М. Фармакогнозия: природные биологически активные вещества [Текст]: учеб. пособие / М.М. Коноплева, Н.С. Гурина, В.А. Куликов. – Витебск: Изд-во ВГМУ, 2006. – 85 с.
4. Методы биохимического исследования растений [Текст] / под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
5. Селютина И.Ю. Биологически активные вещества видов рода *Allium* L. (*Alliaceae*) [Текст] / И.Ю. Селютина // Сибирский ботанический вестник. – 2007. – Т. 2, вып. 2. – С. 79–86.
6. Тараканов Г.И. Овощеводство [Текст] / Г.И. Тараканов, В.Д. Мухин, К.А. Шуин [и др.]; под ред. Г.И. Тараканова, В.Д. Мухина. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: КолосС, 2003. – 472 с.
7. Физиологические и биохимические методы анализа растений: практикум [Текст] / авт.-сост. Г.Н. Чупахина. – Калининград, 2000. – 59 с.
8. Фомина Т.И. Содержание биологически активных веществ в надземной части некоторых видов лука (*Allium* L.) [Текст] / Т.И. Фомина, Т.А. Кукушкина // Химия растительного сырья. – 2019. – №3. – С. 177–184.
9. Чупахина Г.Н. Система аскорбиновой кислоты растений [Текст] / Г.Н. Чупахина. – Калининград: Изд-во КГУ, 1997. – 122 с.
10. Шарова Е.И. Антиоксиданты растений [Текст]: учеб. пособие / Е.И. Шарова. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2016. – 140 с.
11. Ширшова Т.И. Представители рода *Allium* как перспективный источник биологически активных веществ и микронутриентов [Текст] / Т.И. Ширшова, И.В. Бешлей, Н.В. Матистов // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. – 2011. – №10–11. – С. 15–21.

12. Davey M.V. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing [Текст] / M.V. Davey, M.V. Montagu, D. Inzé, M. Sanmartin, A. Kanellis, N. Smirnoff, I.J.J. Benzie, J.J. Stain, D. Favell, J. Fletcher // J. Sci. Food Agric. – 2000. – Vol. 80. – P. 825–860.

13. Smirnoff N. The function and metabolism of ascorbic acid in plants [Текст] // Ann. Bot. – 1996. – Vol. 78. – P. 661–669.