



Липиды

ISSN 0023 - 1150

АКАДЕМИЯ НАУК
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

Химия Природных Соединений

*Chemistry of
Natural Compounds*

1 2016 стр.1-164

НОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ КУТИКУЛЯРНЫХ ЛИПИДОВ КОЖУРЫ ПЛОДОВ *Lycopersicon esculentum*

Ш. У. Йулдашев, Н. Т. Ульченко, Ш. К. Хидоятова, Ф. Ю. Газизов, С. Д. Гусакова*, Ш. Ш. Сагдуллаев

Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова АН РУз,
100170, Ташкент, e-mail: s.gusakova2004@mail.ru

Из обезжиренной кожуры зрелых плодов томата *Lycopersicon esculentum* ферментализмом, кислотным и щелочным гидролизами выделены кутикулярные липиды. Установлен их состав и состав жирных кислот ацилсодержащих компонентов. В кутикулярных липидах кожуры, выделенных ферментализмом, кроме известных компонентов идентифицированы стерилглицозиды и их сложные эфиры с жирными кислотами (ЖК), лизо-фосфатидилэтаноламины и лизо-фосфатидилинозитолы. В составе ЖК продуктов ферментализма и кислотного гидролиза найдены кислоты не только ряда С16 и С18, но и кислоты с длиной цепи 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 17:0, 20:0, 20:1, 22:0 и 24:0.

Ключевые слова: *Lycopersicon esculentum*, томат, кожура плодов, кутикулярные липиды, ферментализм, кислотный и щелочной гидролиз, жирные кислоты.

Lycopersicon esculentum Mill. (синоним *Solanum lycopersicum*) – одна из важнейших овощных культур мирового земледелия. Крупнотоннажным отходом переработки томатов на томатный сок, кетчупы, томат-пюре и прочее является кожура плодов, которая не утилизируется полноценно, хотя является востребованным вторичным сырьем для получения фармацевтических препаратов, биодизеля и других продуктов народнохозяйственного значения.

Кожура зрелых плодов томата состоит из клеток эпидермиса и гиподермы и легко отделяется от внутренней мясистой части (мезокарпа) [1]. Снаружи эпидермис покрыт восковым налетом, или кутикулой, представляющей собой полимерный матрикс из ω -гидроксигирных кислот, содержащий кутикулярный воск, достаточно легко извлекаемый органическими растворителями [2].

Химический состав кутикулярных липидов плодов и овощей играет ключевую роль в снижении потерь транспирационной воды через поверхностный слой кутикулы [3], влияет на степень адгезии кутикулой воды, пестицидов, спор грибов и других содержащихся в воздухе веществ. От состава липидов кутикулы зависит также степень сохранности качества сельскохозяйственной продукции при ее хранении и переработке [2, 3].

Из кутикулы плодов *Solanum lycopersicum*, энзиматически выделенной с помощью пектиназы и целлюлазы, хлороформом экстрагирован воск, в составе которого идентифицированы углеводороды, пентациклические тритерпеноиды, жирные кислоты (ЖК) ряда С16 и С18 и другие липофильные компоненты [4].

В кутикулярном воске плодов томата сорта «Мисготом», извлеченном выдерживанием их в хлороформе в течение 2 мин, обнаружены кроме перечисленных выше компонентов производные стеролов, первичные насыщенные и ненасыщенные алканола и жирные дигидроксикислоты [2].

Высказано мнение, что химический состав относительно простого кутикулярного воска кожуры зрелых плодов томата изучен недостаточно [4].

Ранее мы сообщали о содержании и составе нейтральных и полярных липидов (НЛ, ПЛ) кожуры зрелых плодов *L. esculentum*, извлеченных многократным настаиванием измельченной кожуры сначала с бензином, а затем со смесью хлороформа с метанолом [5]. Продолжая эти исследования, мы выделили из шрота кожуры томата, полученного после удаления НЛ и ПЛ, дополнительно липиды. Для этого шрот обработали сначала комплексом экзоферментов микроскопических грибов рода *Aspergillus*, после удаления продуктов ферментализма (липиды I) твердый остаток далее подвергли кислотному гидролизу (липиды II), затем провели жесткий щелочной гидролиз остаточного шрота (липиды III).

С помощью ферментализма из кутикулы кожуры томата выделено 0.9% липидов (липиды I, гидролиз 3 ч), при этом основное их количество сорбировалось на твердой фазе. Кислотный гидролиз, разрушив, вероятно, химические связи липидов с кутиновым матриксом, позволил высвободить еще 0.37% липидов (липиды II, гидролиз 18 ч). Результаты щелочного гидролиза показали, что после ферментализма и кислотного гидролиза в коже томата остаются следовые количества (0.03% от массы шрота) кутикулярных липидов (липиды III). Таким образом, суммарный выход липидов из воздушно-сухой кожуры плодов *L. esculentum*, извлеченных последовательно бензином (1.25%), смесью хлороформа с метанолом (1.75%) [5], ферментализмом, кислотным и жестким щелочным гидролизами (1.30%), составил 4.3%.

Качественный состав липидов I–III анализировали методом восходящей ТСХ в слое силикагеля и на пластинах Silufol (Чехословакия) в системах растворителей 1–4. Для идентификации соединений использовали известные компоненты растительных липидов и качественные реакции со специфическими реагентами [6].

В составе липидов I обнаружили свободные жирные кислоты (ЖК), тритерпеновые спирты, фитостеролы, стерилгликозиды и их сложные эфиры, фитостеролы, фосфатидилэтаноламины и лизо-фосфатидилинозитолы, липиды II состояли только из метиловых эфиров ЖК, а липиды III – из ЖК. Далее провели щелочной гидролиз выделили ЖК и перевели их, как и ЖК липидов III, в эфиры ЖК I–III анализировали методом ГХ и используемых условиях ГЖХ. Данные о составе ЖК липидов I и II представлены в табл. 1.

ТАБЛИЦА 1. Состав жирных кислот кутикулярных липидов, выделенных после ферментализации (I) и кислотного гидролиза (II) кожуры плодов томата, ГХ, % от массы

Жирная кислота	RT	Липиды I	Липиды II
10:0	3.031–3.069	0.23	0.22
12:0	5.569–5.581	0.21	0.55
14:0	9.618–9.629	0.29	3.27
15:0	11.897–11.908	0.31	0.75
16:1(9)	13.660–13.733	6.85	5.08
16:0	14.220–14.289	45.66	48.22
17:0	16.483–16.493	0.63	0.81
18:2(9,12)	17.983–18.009	20.65	17.72
18:1(9)	18.122–18.164	17.60	13.08
18:0	18.703–18.723	4.96	7.92
20:1(11)	22.362–22.394	0.45	0.53
20:0	22.909–22.918	0.59	0.95
22:0	26.815–26.828	0.33	0.56
24:0	30.443–30.463	0.24	0.34
Σ насыщ.		54.45	63.59
Σ ненасыщ.		45.55	36.41

Как видно из табл. 1, ЖК липидов I и II состоят из 14 компонентов, среди которых доминируют насыщенные кислоты, суммарное содержание которых выше в липидах II. В составе ЖК этих липидов преобладали в сопоставимых количествах кислота 16:0 (45.7 и 48.2%), однако в липидах II ЖК 12:0 и 15:0 присутствовали в количестве более чем в 2 раза, а кислота 14:0 более чем в 10 раз превышающем таковое в липидах I.

В липидах III из ЖК присутствовала только пальмитиновая кислота (16:0).

Таким образом, в кутикулярных липидах кожуры зрелых плодов томата дополнительно к известным компонентам обнаружены стерилгликозиды, сложные эфиры стерилгликозидов с ЖК, лизо-фосфатидилэтаноламины и лизо-фосфатидилинозитолы, а в составе жирных кислот найдены кислоты не только ряда C16 и C18, но и кислоты с длиной цепи 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 17:0, 20:0, 20:1, 22:0 и 24:0.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ГХ метиловых эфиров ЖК проводили на приборе Agilent 6890 N с пламенно-ионизационным детектором по методу FAMES.M, используя капиллярную колонку 30 м × 0.32 мм с неподвижной фазой HP-5, газ-носитель – гелий, температура программирования от 150 до 270°C.

Компоненты идентифицировали сравнением их времени удерживания (мин) (RT) с таковым известных ЖК, выделенных из растительных источников [7].

Аналитическую ТСХ выполняли на силикагеле и пластинках Silufol UV-254 в системах растворителей гексан–диэтиловый эфир 4:1 (1); 3:2 (2); хлороформ–ацетон–метанол–уксусная кислота 65:20:10:10:3 (3); хлороформ–метанол–28%NH₄OH 15:10:1 (4). Пятна соединений проявляли в парах J₂, опрыскиванием пластинок 50% водным раствором H₂SO₄ с последующим нагреванием.

Для идентификации фосфолипидов использовали индивидуальные метчики и качественные реакции с нингидрином (на наличие аминогруппы), реактивами Васковского на фосфолипиды и Драгендорфа на холинсодержащие фосфолипиды. Гликолипиды (стерилгликозиды и их сложные эфиры) обнаруживали α-нафтолом и смесью концентрированной H₂SO₄ с ледяной уксусной кислотой (1:1) [6].

Объектом исследования служила кожура зрелых плодов томата смешанных местных сортов, снятая с плодов вручную и высушенная на воздухе до остаточной влажности 12.3%. Кожуру измельчали на кофемолке, просеивали через сито и отбирали проход с размером частиц 0.5 мм.

Выделение экзоферментного комплекса. Для ферментативного гидролиза использовали комплекс экзоферментов микроскопических грибов рода *Aspergillus*. Для выделения экзоферментного комплекса 10 г сухой биомассы (культуры) влажностью 14% помещали в фарфоровую ступку, заливали 10% раствором ацетатного буфера (pH 5.0) в количестве 100 мл, перемешивали, выдерживали эту смесь 30 мин в термостате при 30°C, после чего смесь отфильтровывали через складчатый бумажный фильтр и фильтрат использовали в качестве основного ферментного комплекса. Активность ферментов целлюлазы, протеазы и липазы, входящих в состав комплекса, определяли по методике [8] (она составила соответственно 25; 15 и 10 ед/мл при pH 5.0 и 45°C).

Липиды выделяли из продуктов реакции смесью хлороформа с метанолом (2:1, v/v) 4-кратной экстракцией настаиванием по 6 ч при комнатной температуре. Нелипидные примеси удаляли из объединенного экстракта промывкой 0.04% водным раствором CaCl₂.

Ферментализация тонко измельченного обезжиренного образца воздушно-сухой кожуры томата вели в среде ацетатного буфера (pH 5.0) при фермент-субстратном соотношении 1:20, температуре реакционной среды 40–45°C, с постоянным перемешиванием в течение 3 ч. По окончании ферментализации водную фазу отделяли от твердой фазы фильтрованием через бумажный фильтр, липиды из водной фазы трехкратно экстрагировали хлороформом; липиды из твердой фазы извлекали смесью хлороформа с метанолом (2:1). Экстракты липидов промывали водой до нейтральной реакции, сушили безводным сернокислым натрием и упаривали на роторном испарителе.

На ТСХ стерилгликозиды имели R_f 0.45, сложные эфиры стерилгликозидов с жирными кислотами R_f 0.89 в системе растворителей 3; давали положительные реакции с α -нафтолом и смесью концентрированной H_2SO_4 с ледяной CH_3COOH .

На ТСХ лизо-фосфатидилхолины имели R_f 0.15 и лизо-фосфатадиллинозитолы R_f 0.12 в системе растворителей 4; положительные реакции с реактивами Васьяковского и Драгендорфа.

Кислотный гидролиз твердого остатка после ферментализации проводили по [9] в среде хлороформ-метанол-концентрированная соляная кислота в соотношении 2:1:0.03 v/v при комнатной температуре путем 3-кратного настаивания по 6 ч. По окончании гидролиза шрот отделяли от раствора фильтрованием через бумажный фильтр, липиды из водной фазы экстрагировали хлороформом, а из шрота – смесью хлороформа с метанолом (2:1).

Щелочной гидролиз шрота проводили 20% водным раствором гидроксида калия при кипячении в течение 2 ч, после гидролиза охлажденный гидролизат профильтровывали и подкисляли 10% HCl. Выделившиеся жирные кислоты извлекали из раствора в делительной воронке диэтиловым эфиром, эфирные вытяжки промывали водой до нейтральной реакции, эфир отгоняли на ротационном испарителе [10].

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Никитина, И. А. Папкина, *Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений*, Наука, Ленинград, 1982, 620 с.
2. J. Leide, U. Hildebrandt, K. Reussing, M. Riederer, G. Vogg, *Plant Physiol.*, **144** (3), 1667 (2007)
3. A. Szakiel, C. Paczkowski, F. Pensec, Ch. Bertsch, *Phytochem. Rev.*, **11** (2–3), 263 (2012)
4. T. H. Yeats, G. J. Buda, Zhonghua Wang, N. Chehanovsky, L. C. Moyle, R. Jetter, A. A. Schaffer, J. K. C. Rose, *Plant J.*, **69** (4), 655 (2012)
5. N. T. Ul'chenko, S. D. Gusakova, Sh. K. Khidoyatova, *Chem. Nat. Compd.*, **50**, 72 (2014)
6. М. Кейте, *Техника липидологии*, Мир, Москва, 1975, 322 с.
7. N. T. Ul'chenko, *Chem. Nat. Compd.*, **48**, 1067 (2013)
8. Ф. В. Церевитинов, *Химия и товароведение свежих плодов и овощей*, т. 2, Госторгиздат, Москва, 1949, 513 с.
9. A. I. St Angelo, E. Graves, *J. Agr. Food Chem.*, **34**, 643 (1986)
10. *Руководство по методам исследования, техникохимическому контролю и учету производства в масложировой промышленности*, кн. 1, Ленинград, 1967, с. 197

Поступило в редакцию 18.06.15