

УДК 663.051.2

<https://doi.org/10.21603/-I-IC-110>

ПРОЕКТИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *VACCINIUM VITIS-IDAEA* МЕТОДОМ *IN VITRO*

В.Г. Попов, В.В. Аксентьева

Тюменский индустриальный университет, Тюмень, Россия

Аннотация

Разработка комплексных пищевых добавок на основе ценного арктического растительного сырья, полученных методом каллусогенеза *in vitro*, продуцирующих полифенольные соединения. Рассматриваемый процесс позволяет получать качественные фенольные соединения в достаточном количестве с наименьшими экономическими затратами в сравнении с традиционным плантационным методом.

Ключевые слова: комплексные пищевые добавки, каллусные культуры, вторичные метаболиты, ягоды брусники, полифенольные соединения.

С развитием генной инженерии появилась возможность использовать для производства пищевых субстанций, в том числе комплексных пищевых добавок (КПД) местные ценные растительные системы *in vitro*, формирующие безопасный биосинтез важнейших метаболитов в стерильных лабораторных условиях, позволяющие качественно заменить трудоёмкие традиционные методы их получения плантационным способом, тем более не зависеть от внешних факторов.

Цель исследований – получение полифенольных соединений методом *in vitro* в стерильных лабораторных условиях из дикорастущих ягод брусники.

Культуры клеток и тканей, полученные *in vitro*, как и клетки интактного растения, могут синтезировать вторичные метаболиты [1]. Исследователями доказано, что каллусные культуры синтезируют вторичные метаболиты в меньших количествах, чем целые растения, однако рост биомассы может быть значительным по продолжительности в сравнении с ростом растения при использовании микроорганизмов в ферментере [2]. В результате исследований установлено, что доля флавоноидов в полифенольном комплексе микрорастений может составлять до 97,0% методом *in vitro* и накапливать фенольные соединения не меньше, чем в *in vivo* [3].

Использование ягод брусники обусловлено наличием в них значительного количества биологически активных компонентов, особенно полифенолов, которые обладают важными физиологическими свойствами [4]

В таблице 1 представлено содержание полифенольных соединений в дикорастущих ягодах брусники и клюквы, собранной в районе п. Пурпе Пуровского района ЯНАО и на юге Тюменской области.

Таблица 1

Содержание полифенольных соединений в ягодах брусники (сорт Костромичка) и клюквы (сорт Алая заповедная), собранной в различных районах Тюменской области

Наименование полифенолов	ЯНАО		Тюменская область	
	Ягоды брусники	Ягоды клюквы	Ягоды брусники	Ягоды клюквы
Антоцианы, мг/100	370,5	224,7	205,2	97,8
Лейкоантоцианы, мг/100	450,7	480,2	352,7	459,6
Катехины, мг/100	97,6	54,3	87,6	22,6
Флавонолы, мг/100 в т.ч. кверцетин	44,7	258,5	39,0	104,8
	5,6	2,1	5,0	1,88
мирицетин	2,7	2,2	-	1,84

кемпферол	0,6	0,1	0,14	-
Гидроксibenзойные кислоты	15,7	2,8	13,0	3,4
Гидроксикоричные кислоты	64,5	87,2	79,4	115,0

В качестве объекта исследований использовали арктические ягоды брусники, собранные на территории ЯНАО. В растениях на бедных почвах накопление в ягодах вторичных метаболитов фенольной природы зачастую выше, чем у растений на почвах, богатых минеральными элементами [5]. Важнейшим процессом культивирования клеток и тканей в лабораторных условиях *in vitro* для роста продуцента, является питательная среда. Для нахождения оптимальной питательной среды и получения максимального прироста полифенольных соединений в клетках растений были приготовлены две среды промышленного изготовления, первая – агаризованная среда Мурасиге-Скуга, вторая Андерсона, третья разработанная авторами - Эксперимент.

Каллусы клеток инициировали из стерильных ягод и культивировали на свету под лампами дневного света с освещением 100 мкмоль квантов/м² фотопериодом: 20 ч – день, в питательных средах (рН=5), объёмом 25 мл. обогащённых ауксинами (α -нафтилуксусная кислота (НУК), 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д)) и цитокининами (кинетин (Кин), 6-бензиламинопуридин (БАП), 2-изопентениладенин (иП)) в концентрации по 0.5 мг/л. Для регуляции синтеза вторичных метаболитов в культуре использовали фитогормоны Kundu.

Коэффициент всхожести каллусогенеза составил в питательной среде Андерсона – 62,4%, Мурасиге – Скуга – 52,8%, в Эксперименте – 42,2%.

Полученные каллусные культуры различались по цвету, по объёму в зависимости от питательной среды. Каллусы имели плотную консистенцию: на среде Андерсона они были мельче, чем на средах Мурасиге – Скуга и Эксперимент. Каллусы на среде Андерсона содержали значительное количество светло-коричневых участков на поверхности, чем каллусы конкуренты. Максимум накопления каллусных масс и в т.ч. полифенольных соединений приходился на 35-37 дни в питательной среде Андерсона, на других средах максимум достиг на 45-48 дни. Прирост полифенольных соединений в каллусной массе на питательной среде Андерсона составил от 0,9 до 4,5 – 2,4 мг/г, на питательной среде Мурасиге – Скуга от 0,8 до 2,2 мг/г, в Эксперименте от 0,5 до 1,2, что явилось минимальным показателем (таблица 2).

Для оценки динамики накопления каллусной биомассы каждые пять дней в течение пассажа определяли сырую и сухую массу. Высушивание каллусов проводили в термостате при 60°C до постоянной массы.

Таблица 2

Содержание полифенольных соединений в каллусах, культивируемых на различных питательных средах после одного пассажа в максимальный период роста

Наименование полифенолов	Питательная среда		
	Мурасиге - Скуга	Андерсона	Эксперимент
Антоцианы, мг/100	2,2	4,5	1,2
Лейкоантоцианы, мг/100	1,7	3,2	1,0
Катехины, мг/100	2,0	4,1	0,8
Флавонолы, мг/100 в т.ч.	1,9	3,7	1,1
	кверцетин	1,0	1,1
мирицетин	1,2	1,4	0,7
кемпферол	-	-	-
Гидроксibenзойные кислоты	1,0	0,9	0,5
Гидроксикоричные кислоты	0,8	1,2	-

Полученные полифенольные соединения методом каллусогенеза из культуры клеток *Vaccinium vitis-idaea* позволили использовать высушенные массы для проектирования КПД с иммунокорректирующими свойствами в виде микрокапсул с дальнейшим применением в производстве функциональных продуктов питания.

Список литературы

1. Mulabagal, V. Plant cell cultures – an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. // *International Journal of Applied Science and Engineering*. - 2004. - Vol. 2. P. 29–48.
2. Березина Е.В., Брилкина А.А., Щурова А.В., Веселов А.П. Накопление биомассы и фенольных соединений каллусами *Oxycoccus palustris* Pers. и *O. macrocarpus* (Ait.) Pers. в присутствии разных цитокининов. *ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ*, 2019, том 66, № 1, с. 35–45.
3. Костина, М.В. Генеративные побеги древесных покрытосеменных растений умеренной зоны: автореф. дис. ... доктора биол. наук: 03.00.05 / Костина Марина Викторовна. - М., 2009. - 40 с.
4. Особенности химического состава брусники обыкновенной и перспективы ее применения в медицине и здоровом питании / И. В. Сафронова, И. А. Гольдина, К. В. Гайдуль, В. А. Козлов // *Инновации и продовольственная безопасность*. – 2015. – № 4(10). – С. 63-73. – EDN VVNRQV.
5. Никитина, В.С. Поиск новых подходов в физиолого-биохимическом исследовании лекарственных растений / В.С. Никитина // *Вестн. Башкирского ун-та*. - 2001. - №2 (II). - С. 110-113.

DESIGN OF COMPLEX FOOD SUPPLEMENTS BASED ON POLYPHENOL COMPOUNDS OBTAINED FROM CALLUS CULTURES VACCINIUM VITIS-IDAEA IN VITRO METHOD

V.G. Popov, V.V. Aksentieva
Tyumen Industrial University, Tyumen, Russia

Annotation

Development of complex food additives based on valuable Arctic plant raw materials obtained by in vitro callusogenesis, producing polyphenolic compounds. The process under consideration makes it possible to obtain high-quality phenolic compounds in sufficient quantity with the lowest economic costs in comparison with the traditional plantation method.

Keywords: complex nutritional supplements, callus cultures, secondary metabolites, cranberries, polyphenolic compounds.

References

1. Mulabagal, V. Plant cell cultures – an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. // *International Journal of Applied Science and Engineering*. - 2004. - Vol. 2. P. 29–48.
2. Berezina E.V., Brilkina A.A., Shchurova A.V., Veselov A.P. Accumulation of biomass and phenolic compounds by calluses *Oxycoccus palustris* Pers. and *O. macrocarpus* (Ait.) Pers. in the presence various cytokinins. *PLANT PHYSIOLOGY*, 2019, Volume 66, No. 1, p. 35–45.
3. Kostina, M.V. Generative shoots of woody angiosperms of the temperate zone: author. dis. ... doctor of biol. Sciences: 03.00.05 / Kostina Marina Viktorovna. - М., 2009. - 40 p.
4. Safronova I. V., Goldina I. A., Gaidul K. V., Kozlov V. A. Features of the chemical composition of cowberry and the prospects for its use in medicine and healthy nutrition // *Innovations and food security*. - 2015. - No. 4(10). – S. 63-73. – EDN VVNRQV.
5. Nikitina V.S. Search for new approaches in the physiological and biochemical study of medicinal plants / V.S. Nikitina // *Vestn. Bashkir University*. - 2001. - No. 2 (II). - S. 110-113.