

## ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ (СПИРТО- И ВОДОРАСТВОРИМЫХ АНТИОКСИДАНТОВ) В СЕМЕНАХ СОИ ОВОЩНОЙ

Д.Р. Шафигуллин<sup>1</sup>, кандидат сельскохозяйственных наук, М.С. Гинс<sup>1,2</sup>, член-корреспондент РАН,  
Е.П. Пронина<sup>1</sup>, кандидат сельскохозяйственных наук, А.А. Байков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научный центр овощеводства,  
143080, Московская обл., Одинцовский р-н, пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14

<sup>2</sup>Российский университет дружбы народов,  
117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6  
E-mail: shafigullin89@yandex.ru

*Исследования проводили с целью изучения суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов, полифенольных соединений и флавоноидов в семенах сои овощной в фазе технической (R6) и биологической спелости (R8). В фазе технической спелости овощных форм сои величины этих показателей составили соответственно 2,6 мг-экв галловой кислоты/г, 4,1 мг-экв галловой кислоты/г и 0,69 мг-экв кверцетина/г. При этом содержание суммы водорастворимых антиоксидантов у зерновых и овощных образцов находилось на одном уровне, полифенольных соединений у овощных форм было выше, чем у зерновых сортов, на 36,6 %, а накопление изофлавонов ниже на 16,6 %. В период перехода растений от технической спелости к биологической наблюдался рост аккумуляции спирторастворимых антиоксидантов, в то время как доля водорастворимой фракции уменьшалась. В фазе биологической спелости содержание суммы водорастворимых антиоксидантов, полифенольных соединений и флавоноидов у сои овощной составило соответственно 2,2 мг-экв галловой кислоты/г, 4,8 мг-экв галловой кислоты/г, 0,90 мг-экв кверцетина/г. Это выше, чем у зерновых сортов, на 10,0 %, 26,3 % и 9,7 % соответственно. В фазе биологической спелости выявлены достоверные взаимосвязи между суммарным содержанием водорастворимых антиоксидантов и полифенольных соединений ( $r=0,80 \pm 0,14$ ), полифенольных соединений и изофлавонов ( $r=0,81 \pm 0,12$ ). В условиях Центрального района Нечерноземной зоны накопление водо- и спирторастворимых антиоксидантов в семенах сои овощной типа, отличается от сортов сои зерновой.*

## ONTOGENETIC CHANGES IN THE CONTENT OF SECONDARY METABOLITES (ETHANOL AND WATER-SOLUBLE ANTIOXIDANTS) IN VEGETABLE SOYBEAN SEEDS

Shafigullin D.R.<sup>1</sup>, Gins M.S.<sup>1,2</sup>, Pronina E.P.<sup>1</sup>, Baikov A.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal Scientific Vegetable Center,  
143080, Moskovskaya obl., Odintsovskiy r-n, pos. VNISSOK, ul. Selektionnaya, 14

<sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia,  
117198, Moskva, ul. Miklucho-Maklaya, 6  
E-mail: shafigullin89@yandex.ru

*The work reflects the results of a three-year study of the total content of water-soluble antioxidants, polyphenolic compounds and flavonoids in seeds in the phase of technical (R6) and biological ripeness (R8) of vegetable soybean. The accumulation of the total water-soluble antioxidant content, the polyphenolic content and flavonoid content in the phase of R6 of vegetable soybeans samples were, respectively, 2.6 mg GAE/g DW, 4.1 mg GAE/g DW and 0.69 mg QE/g DW, while the content of water-soluble antioxidants in grain and vegetable samples was at the same level, the content of polyphenolic compounds in vegetable forms were higher than in grain varieties by 36.6 %, and the accumulation of isoflavones in grain soybean varieties exceeded their content in vegetable forms by 16.6 %. During the period of plant development from R6-phase to R8, an increase in the accumulation of ethanol-soluble antioxidants was observed, while the content of the water-soluble fraction decreased. In R8-phase, the total water-soluble antioxidant content, the polyphenolic content and flavonoid content in vegetable soybean seeds were, respectively, 2.2 mg GAE/g DW, 4.8 mg GAE/g DW, 0.90 mg QE/g DW, which exceeded grain soybean varieties by 10.0 %, 26.3 % and 9.7 %, respectively. In R8-phase, significant relationships were revealed between the content of ethanol- and water-soluble antioxidants: between the total content of water-soluble antioxidants and polyphenolic compounds ( $r=0.80 \pm 0.14$ ), as well as between the content of the polyphenolic compounds and isoflavones ( $r=0.81 \pm 0.12$ ). The data obtained allow us to conclude that under the conditions of the Central Region of the Non-Chernozem Zone, vegetable-type of soybean has other patterns of accumulation of the water- and ethanol-soluble antioxidants in the seeds, which are different from the grain-type varieties of soybean.*

**Ключевые слова:** соя овощная, *Glycine max* (L.) Merr., антиоксиданты, вторичные метаболиты, полифенольные соединения, изофлавоны, функциональные продукты

**Key words:** vegetable soybean, *Glycine max* (L.) Merr., antioxidants, secondary metabolites, polyphenolic compounds, isoflavones, functional products

Под состоянием окислительного стресса имеют в виду нарушение равновесия, ведущее к избытку содержания в клетках активных форм кислорода (АФК), в числе которых – синглетный кислород, супероксидрадикал, пероксид кислорода, гидроксильный радикал. Это сильные окислители, способные повреждать структуру ДНК, клеточных мембран, белков, липидов [1, 2].

Антиоксидантами (АО) принято считать химические соединения, которые могут останавливать сво-

боднорадикальное окисление веществ органической природы АФК или способствовать образованию менее токсичных продуктов. Они регулируют реакции окисления в большинстве метаболических процессов. Под влиянием АО создаются условия для нормального роста клеток и тканей [3, 4]. Известно, что АО играют положительную роль в профилактике болезней, связанных с антиокислительным стрессом [5], вследствие чего использование компонентов, обладающих антиок-

сидантными свойствами, в функциональном питании – необходимый элемент предотвращения заболеваний и усиления иммунной системы организма [6, 7].

К водорастворимым антиоксидантам относят аскорбиновую кислоту, витамины группы В, полифенольные соединения, ароматические амины [8]. Спирторастворимые антиоксиданты, содержащиеся в растениях, в основном, принадлежат к числу полифенольных соединений вторичной природы [9]. Это одна из самых больших и распространенных групп биоорганических соединений, которые проявляют физиолого-биохимическую активность. Полифенольные соединения содержат бензольные кольца с гидроксильной группой. В растительных организмах фенольные соединения находятся в свободном состоянии или в виде гликозидов [10, 11]. Полифенольные соединения – необходимая составляющая растений. Важно отметить, что в организме человека они не синтезируются и поступают, в основном, в составе растительной пищи [12]. Особую ценность среди фенольных соединений представляют флавоноиды [13, 14].

Изофлавоны (ИФ) относятся к подгруппе флавоноидов – продуктов вторичного метаболизма растений. Соя – природный источник ИФ. Их содержание в семенах варьирует в пределах 0,1-5, мг/г, в зависимости от типа изофлавонов и условий выращивания [15]. Они привлекают большое внимание из-за важных физиологических функций в профилактике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний, остеопороза и старческого слабоумия. Изофлавоны играют огромную роль в качестве антиоксидантов [16]. Продукты из сои обладают профилактическим действием в отношении онкологических заболеваний, подавляя рост раковых опухолей благодаря высокому содержанию генистеина, который служит природным ингибитором тирозинспецифической протеинкиназы, вследствие чего продукты из соевых бобов рассматривают как функциональные [17].

При интродукции новых форм культурных растений необходимо проводить скрининг исходного материала на содержание вторичных метаболитов, поскольку их накопление подвержено значительной изменчивости в зависимости от эколого-географической зоны выращивания [18].

Цель исследований – изучение закономерностей изменения содержания полифенольных соединений, в том числе флавоноидов и водорастворимых антиоксидантов, в семенах сои овощного типа в динамике в условиях Центрального района Нечернозёмной зоны для выделения образцов с повышенным накоплением вторичных метаболитов и их последующего использования в селекционных программах.

**Методика.** Объектом исследований были 10 образцов *Glycine max* (L.) Merr., в том числе два масличного, два универсального и шесть овощного типа (табл. 1). Изучение селекционного материала проводили в лаборатории физиологии и биохимии Федерального научного центра овощеводства в 2016–2018 гг.

Принадлежность к овощным формам определяли в соответствии со сформированной моделью сортоотбора: по морфологическим и хозяйственным признакам, биологическим особенностям, биохимическим параметрам [19]; к универсальным отнесены формы, проявлявшие признаки, присущие как овощным, так и масличным сортам; к зерновым – сорта масличного направления. В качестве стандарта выбран сорт Окская, допущенный к использованию, в том числе в Центральном регионе.

**Табл. 1. Происхождение образцов сои и направление использования**

Образец	Происхождение	Направление использования
Окская (стандарт)	Россия	зерновое (масличное)
Соер 5	Россия	зерновое (масличное)
Gokuwase Hayabusa Edamame	Япония	овощное
Образец А	Япония	овощное
Hidaka	Япония	овощное
740-1	Швеция	овощное
Fiskeby III	Швеция	овощное
Cha Kura Kake	Япония	овощное
Tundra	Канада	универсальное
Нордик	Россия	универсальное

Посев проводили вручную в 2016 и 2018 гг. в третьей декаде мая в открытом грунте, в 2017 г. – в первой декаде июля в защищенном грунте (теплице) в три ряда длиной 1,5 м (густота стояния – 55 шт./м<sup>2</sup>).

Содержание фенольных соединений определяли методом Фолина-Чокальтеу [20]. Их экстрагировали раствором С<sub>2</sub>Н<sub>5</sub>ОН (70 %) на водяной бане при 70 °С в течение 45 мин. Калибровку проводили по галловой кислоте (безводная), степень чистоты – «чистая для анализа» (ЧДА). Концентрацию изофлавонов определяли по цветной реакции с треххлористым железом с построением калибровочного графика по стандартным растворам дигидрохверцетина (химически чистый) [21]. Экстракцию проводили 70 %-ным раствором С<sub>2</sub>Н<sub>5</sub>ОН на водяной бане при 70 °С в течение 45 мин. Суммарное содержание антиоксидантов измеряли амперометрическим методом на приборе «ЦветЯуза 01-АА» [22]. Экстракцию проводили бидистиллированной водой при температуре 20 °С. Калибровку осуществляли по галловой кислоте (безводная), ЧДА.

Содержание вторичных метаболитов в семенах анализировали в динамике: в фазе технической (R6) и биологической (R8) спелости. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили методом дисперсионного анализа с использованием программ Microsoft Office Excel (2010) и Origin 9.1.

**Результаты и обсуждение.** В фазе R6 образцы масличной и овощной форм характеризовались почти одинаковым суммарным содержанием водорастворимых антиоксидантов (САО) – 2,63 мг-экв галловой кислоты/г. У сорта Окская, а также овощных образцов Gokuwase Hayabusa Edamame и Cha Kura Kake сумма водорастворимой фракции антиоксидантов была на 34,7 % выше, чем у остальных образцов, они быстрее перешли к интенсивному накоплению АО в семенах в фазе технической спелости.

Биохимические процессы, связанные с созреванием растений, отразились на накоплении гидрофильных антиоксидантов в семенах. К фазе биологической спелости оно в большинстве образцов снижалось, в сравнении с технической, на 14,3 %. Этот факт обусловлен общим уменьшением суммы водорастворимых антиоксидантов к концу вегетации на фоне значительного снижения влажности семян (в несколько раз). В этой фазе овощные образцы отличались большим САО, чем масличные сорта (на 15,0 %), кроме генотипов Нордик

Табл. 2. Содержание основных антиоксидантов в обезжиренных семенах сои (среднее за 2016–2018 гг.), мг-экв/г сухой массы

Название	САО, мг-экв галловой кислоты/г*	Vσ, %	ФС, мг-экв галловой кислоты/г	Vσ, %	ИФ, мг-экв кверцетина/г	Vσ, %
Окская	3,2 ± 0,1 1,9 ± 0,3	26,6	3,0 ± 0,1 3,6 ± 0,3	15,2	0,8 ± 0,0 0,8 ± 0,0	9,1
Соер-5	2,3 ± 0,1 2,1 ± 0,3	25,3	3,1 ± 0,1 3,9 ± 0,5	23,2	0,8 ± 0,0 0,8 ± 0,0	10,1
Gokuwase Hayabusa Edamame	3,1 ± 0,1 2,3 ± 0,4	33,0	3,8 ± 0,1 4,9 ± 0,4	14,3	0,8 ± 0,0 0,9 ± 0,1	13,1
Образец А	н/д 2,2 ± 0,3	26,1	н/д 5,0 ± 0,6	21,1	н/д 9,0 ± 0,1	12,5
Hidaka	2,3 ± 0,1 2,1 ± 0,4	37,7	4,3 ± 0,1 4,7 ± 0,5	20,1	0,7 ± 0,0 0,9 ± 0,0	1,4
740-1	2,2 ± 0,1 2,3 ± 0,3	21,3	3,8 ± 0,1 4,7 ± 0,2	8,1	0,6 ± 0,0 0,9 ± 0,0	9,1
Fiskeby III	2,4 ± 0,1 2,2 ± 0,2	17,8	3,2 ± 0,1 4,7 ± 0,4	13,8	0,6 ± 0,0 0,9 ± 0,0	7,2
Cha Kura Kake	3,2 ± 0,1 1,5 ± 0,2	22,4	5,6 ± 0,2 4,1 ± 0,4	18,7	0,7 ± 0,0 0,9 ± 0,0	9,8
Tundra	2,3 ± 0,1 2,5 ± 0,4	30,1	3,7 ± 0,1 5,5 ± 0,4	13,0	0,7 ± 0,0 1,0 ± 0,0	10,4
Нордик	2,4 ± 0,1 1,7 ± 0,5	45,7	4,2 ± 0,1 3,7 ± 0,5	21,2	0,7 ± 0,0 0,8 ± 0,0	7,0

\*числитель – в фазе технической спелости, знаменатель – в фазе биологической спелости.

и Cha Kura Kake, у которых оно было ниже на 25 %, по-видимому, вследствие причин наследственного характера. Содержание водорастворимых антиоксидантов значительно варьировало по годам, тем не менее, выявлены генотипы со стабильно повышенным САО в семенах в фазе биологической спелости. Это Gokuwase Hayabusa Edamame, Образец А, Fiskeby III и Tundra, у которых оно составляло в среднем 2,3 мг-экв галловой кислоты/г (табл. 2). Их целесообразно использовать в качестве источника признака высокого содержания АО в селекционных программах по созданию новых сортов для производства функциональных продуктов питания с более высоким содержанием компонентов, обладающих антиоксидантной активностью.

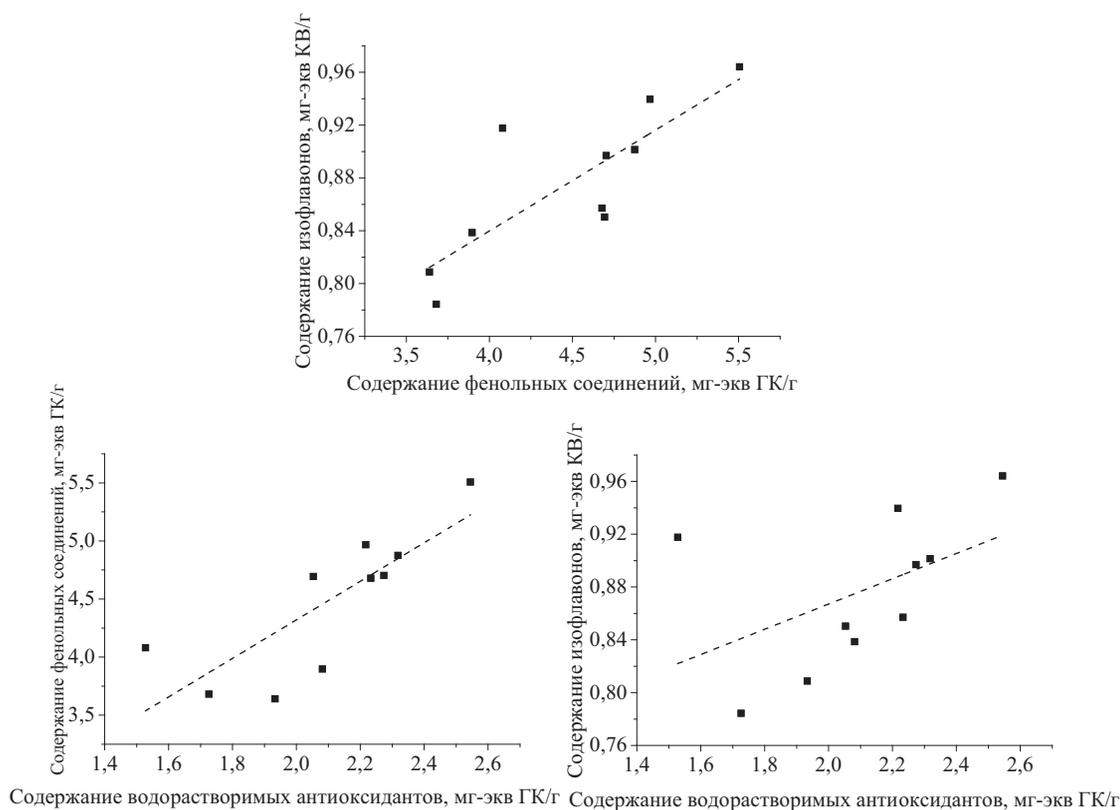
Содержание фенольных компонентов в фазе R6 у овощных и зерновых форм в среднем составляло соответственно 4,1 и 3,0 мг-экв галловой кислоты/г; в фазе R8 – 4,8 и 3,8 мг-экв галловой кислоты/г. Таким образом, сумма фенольных соединений (ФС) в семенах овощных образцов в оба периода развития была выше, чем у масличных сортов, соответственно на 36,6 % и 26,3 %. У образцов Нордик, Cha Kura Kake выявлено их снижение, по сравнению с фазой технической спелости, на 8,9 % и 24,4 % соответственно, что может свидетельствовать о разрушении фенольных соединений, вероятно, вследствие теплового стресса. Среди овощных образцов высоким накоплением ФС в фазе биологической спелости отличались Gokuwase Hayabusa Edamame, Образец А и Tundra – в среднем 5,1 мг-экв галловой кислоты/г. Изменчивость содержания ФС была невысокой (см. табл. 2).

В процессе генеративного развития отмечено увеличение накопления ИФ во всех образцах. Так, в фазе R6 у масличных сортов их сумма была больше, чем у овощных, на 16,6 %, за исключением Gokuwase Hayabusa Edamame. К периоду полной биологической спелости эти различия нивелировались из-за более интенсивного синтеза изофлавонов у овощных форм на поздних этапах развития.

Результаты анализа аккумуляции изофлавонов в фазе биологической спелости свидетельствуют о более высоком содержании ИФ у овощных форм, по сравнению с зерновыми (на 9,7 %). Коэффициент вариации признака был низким. Стабильно повышенным накоплением изофлавонов за три года наблюдений отличались Образец А, Tundra, Cha Kura Kake, величина этого показателя у них была больше, чем в среднем по овощной группе, на 9,6 %. Овощные формы, в среднем, к концу вегетации синтезировали 0,90 мг-экв кверцетина/г. Величину этого показателя можно использовать при оценке селекционного материала сои овощного направления для повышения пищевого качества семян.

Установлена значимая взаимосвязь между суммарным содержанием водорастворимых антиоксидантов и полифенольных соединений ( $r=0,80 \pm 0,14$ ), что вполне закономерно, поскольку фенольные соединения, отчасти, относятся к группе водорастворимых АО (см. рисунок). Содержание фенольных соединений также тесно связано с накоплением, входящих в эту группу, изофлавонов ( $r=0,81 \pm 0,12$ ). Корреляция между аккумуляцией водорастворимых антиоксидантов и изофлавонов была более слабой, так как водная экстракция не позволяет полностью извлекать флавоноиды ( $r=0,49 \pm 0,15$ ).

Таким образом, содержание водорастворимых антиоксидантов в семенах сои овощной в фазе технической спелости составляет 2,6 мг-экв галловой кислоты/г, в фазе биологической спелости в семенах овощных форм оно на 15,0 % выше, чем у масличных сортов, и в среднем достигает 2,2 мг-экв галловой кислоты/г. Суммарная количество полифенольных соединений в семенах образцов овощной сои по фазам развития находится на уровне 4,1 и 4,8 мг-экв галловой кислоты/г соответственно, что было выше, чем у масличных, на 36,6 и 26,3 %. Накопление изофлавонов в семенах сои в фазе технической спелости составляет 0,69 мг-экв кверцетина/г. В процессе развития растений к концу фазы биологической спелости оно увеличивается у



**Корреляционные взаимосвязи между содержанием спирто- и водорастворимых антиоксидантов у образцов сои.**

овощных сортов до 0,90 мг-экв кверцетина/г, что больше, чем у зерновых, на 9,7 %.

Полученные результаты позволяют рекомендовать использование овощных форм *Glycine max* (L.) Merr. в селекционных программах на повышенное накопление водо- и спирторастворимых антиоксидантов.

#### Литература.

1. Владимиров Ю. А., Проскурина Е. В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // *Успехи биологической химии*. 2009. Т. 49. № 7. С. 341–388.
2. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений / В. Д. Креславский, Д. А. Лось, С. И. Аллахвердиев и др. // *Физиология растений*. 2012. Т. 59. № 2. С. 163–163.
3. Antioxidants: scientific literature landscape analysis / A. W. K. Yeung, N. T. Tzvetkov, O. S. El-Tawil, et al. // *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2019. Vol. 2019. URL: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/8278454>.
4. Содержание антиоксидантов в лекарственных и овощных растениях, проявляющих противоопухолевую активность / М.С. Гинс, В.К. Гинс, А.А. Байков и др. // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2013. № 2. С. 010–015.
5. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases / Z. Liu, Z. Ren, J. Zhang, et al. // *Frontiers in physiology*. 2018. Vol. 9. P. 477.
6. Исследование суммарного содержания антиоксидантов в семенах овощных бобовых культур, выращенных в условиях Московской области / Д.Р. Шафигуллин, А.А. Байков, Е.П. Пронина и др. // *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2018. № 4 (28). С. 103–109.
7. Food antioxidants and their anti-inflammatory properties: a potential role in cardiovascular diseases and cancer prevention / K. Griffiths, B. B. Aggarwal, R. B. Singh, et al. // *Diseases*. 2016. Vol. 4. No. 3. URL: <https://www.mdpi.com/2079-9721/4/3/28#>. doi: 10.3390/diseases4030028.
8. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources / D. P. Xu, Y. Li, X. Meng, et al. // *International journal of molecular sciences*. 2017. Vol. 18. No. 1. URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/1/96>. doi: 10.3390/ijms18010096.
9. Предрасположенность накопления фенольных соединений у сои (*Glycine max* (L.) Merr.) в зависимости от овощного направления использования / Д.Р. Шафигуллин, Е.П. Пронина, М.С. Гинс и др. // *Российская сельскохозяйственная наука*. 2020. № 4. С. 22–24.
10. Olszowy M. What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. Vol. 144. P. 135–143.
11. Ganesan K., Xu B. A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans // *Nutrients*. 2017. Vol. 9. No. 5. URL: <https://www.mdpi.com/2072-6643/9/5/455#>. doi: 10.3390/nu9050455.
12. Profile analysis and correlation across phenolic compounds, isoflavones and antioxidant capacity during germination of soybeans (*Glycine max* L.) / F. A. Guzmán-Ortiz, E. San Martín-Martínez, M. E. Valverde, et al. // *CyTA-Journal of Food*. 2017. Vol. 15. No. 4. P. 516–524.

13. Pal D., Verma P. *Flavonoids: A powerful and abundant source of antioxidants // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013. Vol. 5. No. 3. P. 95–98.
14. Pérez-Cano F. J., Castell M. *Flavonoids, inflammation and immune system. Nutrients*. 2016. Vol. 8. No.10. URL: <https://www.mdpi.com/2072-6643/8/10/659/htm#>. doi: 10.3390/nu8100659.
15. *Extracted or synthesized soybean isoflavones reduce menopausal hot flash frequency and severity: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / K. Taku, M. K. Melby, F. Kronenberg, et al. // Menopause*. 2012. Vol. 19. No. 7. P. 776–790.
16. *Soy isoflavones: a safety review / I. C. Munro, M. Harwood, J. J. Hlywka, et al. // Nutrition Reviews*. 2003. Vol. 61. No. 1. URL: <https://academic.oup.com/nutritionreviews/article/61/1/1/1824597>. doi: 10.1301/nr.2003.janr.1-33.
17. *Biochemistry and use of soybean isoflavones in functional food development / C. Hu, W. T. Wong, R. Wu, et al. // Critical reviews in food science and nutrition*. 2020. Vol. 60. No. 12. P. 2098–2112.
18. *Analysis of isoflavones and phenolic compounds in Korean soybean [Glycine max (L.) Merrill] seeds of different seed weights / S.J. Lee, J.J. Kim, H.I. Moon, et al., Chung I.M. // Journal of agricultural and food chemistry*. 2008. Vol. 56. No. 8. P. 2751–2758.
19. *Накопление сырого белка образцами сои овощного типа в условиях Центрального района Нечерноземной зоны России / Д.Р. Шафигуллин, М.С. Гинс, Е.П. Пронина и др. // Российская сельскохозяйственная наука*. 2020. № 2. С. 13–16.
20. *Ainsworth E.A., Gillespie K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent // Nature protocols*. 2007. Vol. 2. No. 4. P. 875–877.
21. *Получение фракций олигосахаридов и изофлавоноидов из соевой мелассы / Н. В. Хабибулина, А. А. Красноштанова, Т. М. Бикбов и др. // Химия растительного сырья*. 2014. №. 4. С.115–124.
22. *Яшин А. Я., Яшин Я. И., Черноусова Н. И. Определение природных антиоксидантов амперометрическим методом // Пищевая промышленность*. 2006. №. 2. С. 10–12.

Поступила в редакцию 21.12.2020

После доработки 03.02.2021

Принята к публикации 12.03.2021