

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПИГМЕНТА НОВОГО ШТАММА МИКОФИЛЬНОГО ГРИБА *HYROMYCES ROSELLUS*

В настоящей работе рассматриваются результаты по выделению, химическому составу и структурные особенности пигмента, выделенного из биомассы нового штамма микофильного гриба *Hyromyces rosellus*. Методами спектрального анализа установлено, что в составе нейтральных липидов содержатся жирные кислоты. Показано, что наряду с образованием жирных кислот происходит биосинтез пигмента. Согласно спектральным данным (ЯМР ¹H, ИК-, хромато-масс-спектрометрии), качественным реакциям пигмент относится к красителям антрахинонового ряда.

Ключевые слова: микофильный гриб *Hyromyces rosellus*, антрахиноновые пигменты, липиды, жирные кислоты.

Интерес к пигментам природного происхождения обусловлен возможностью их использования в пищевой и медицинской практике как нетоксичные и биосовместимые с живыми организмами красители. Источниками пигментов ароматической природы являются растения и мицелиальные грибы. Установлено, что биосинтез антрахиноновых и феноловых пигментов у растений протекает по шикиматному пути, а в грибах – по поликетидному [1], [2].

С целью биосинтеза новых типов хиноновых пигментов нами изучен новый штамм *Hyromyces rosellus* в микробиологических трансформациях на питательных средах на основе отходов агропромышленного комплекса.

Объект и методы исследований

В работе использовался штамм микофильного гриба *Hyromyces rosellus* №500 КММГУ и хранящийся в музее чистых культур кафедры микробиологии Биологического факультета МГУ.

Способ культивирования гриба, состав питательных сред описаны ранее [3]. Для проведения экстракции были использованы следующие растворители: хлороформ, этилацетат, ацетон, формамид, этиловый спирт, хлористый метилен, четыреххлористый углерод, толуол, гексан, петролейный эфир, метил-трет-бутиловый эфир [4]. Для хроматографии в тонких слоях в качестве проявителей использовали йодную камеру, анисовый проявитель, ванилиновый проявитель. Для колоночной хроматографии было взято 100 мг исследуемого вещества (красные кристаллы), 3000 мг силикагеля активированного. Хроматографическую

колодку промывали петролейным эфиром, после чего нанесли исследуемое вещество и элюировали его петролейным эфиром, затем смесью петролейный эфир – хлороформ (9:1). Пробы приобретали желтую окраску, тогда элюирование вели до исчезновения окраски. Затем использовали системы петролейный эфир – хлороформ (7:3; 5:5; 3:7). После элюирования проводили хлороформом, при этом пробы имели интенсивно желтую окраску, затем после исчезновения окраски разделение вели последовательно следующими системами растворителей: хлороформ – метанол (30:1; 20:1; 15:1; 10:1; 7:1; 2:1; 1:1), метанол.

Контроль вели методом ТСХ в различных системах: хлороформ – метанол (20:1; 12:1; 5:1; 1:1; 1:2), гексан – этилацетат (3:1), хлористый метилен – метанол (5:1), гексан – этилацетат – метанол (7:3:2), хлороформ – петролейный эфир (12:1), хлороформ – этилацетат (12:1; 4:1). Наилучшее разделение наблюдалось в системах хлороформ – метанол (5:1; 1:1) [5,6].

Пробы, полученные элюированием хлороформ – метанол (30:1; 20:1; 15:1; 10:1) проанализировали методом ЯМР.

ИК-спектры полученных соединений снимали на спектрофотометре «Specord» IR-75 в области частот 500–4000 см⁻¹. УФ-спектр полученных соединений снимали на спектрофотометре «Specord» М-40, растворитель хлороформ, метанол. Спектры ЯМР растворов записаны на спектрометре Tesla BS-487 В (60 МГц), растворитель CDCl₃, внутренний стандарт ТМС. Элементный анализ органических соединений (С, Н, N, S) проводился на элементном анализаторе Karlo Erba модели 1106.

Результаты и обсуждение

На первом этапе с небольшим количеством мицелия провели качественную реакцию на содержание 1,8-диоксиантрохинонов, после реакции исследуемое вещество приобрело вишневую окраску, что и свидетельствует о наличии 1,8-диоксиантрохинонов. Экстракцию пигмента вели из разрушенных клеток мицелия по схеме 1:

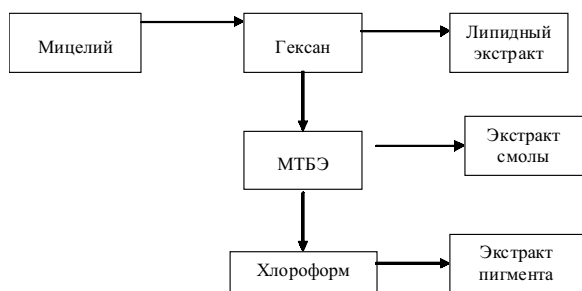


Схема 1. Экстракция пигмента

Полученный гексановый экстракт сконцентрировали и проанализировали методом ИК-спектроскопии. ИК-спектр гексановой фракции: 690–750 см^{-1} (область отпечатков пальцев); 1100–1050 см^{-1} (эфир ароматических кислот); 1465–1440 см^{-1} (колебания ароматического коль-

ца); $\approx 1750 \text{ см}^{-1}$ (сложные эфиры алифатических кислот); 2940–2915 см^{-1} (асимметричная CH_2 группа).

После этого сухую массу мицелия экстрагировали метил-трет-бутиловым эфиром в течение 3,5 часов, после отгона растворителя была получена проба, которая также была проанализирована методами ИК-спектроскопии и УФ-спектроскопии (рисунок 1, 2).

После экстракции пигмент многократно пересаждали диэтиловым эфиром до получения красных кристаллов. Исследуемое вещество было проанализировано методами ИК-, УФ-спектроскопии (рисунок 3, 4).

В результате чего была выделена сумма веществ в количестве 15% от веса сухого мицелия, которую разделяли методом колоночной хроматографии и проанализированы спектральными методами. ИК-спектры свидетельствовали о наличии ароматических соединений (1465–1440 см^{-1}), жирных кислот (1750–1700 см^{-1}), алифатики (2940–2910 см^{-1}), причем спектры отличались лишь по интенсивности пиков, что доказывает присутствие идентичной молекулы. С использованием спектральных методов установлено, что в составе продуцентов гриба содержатся жирные

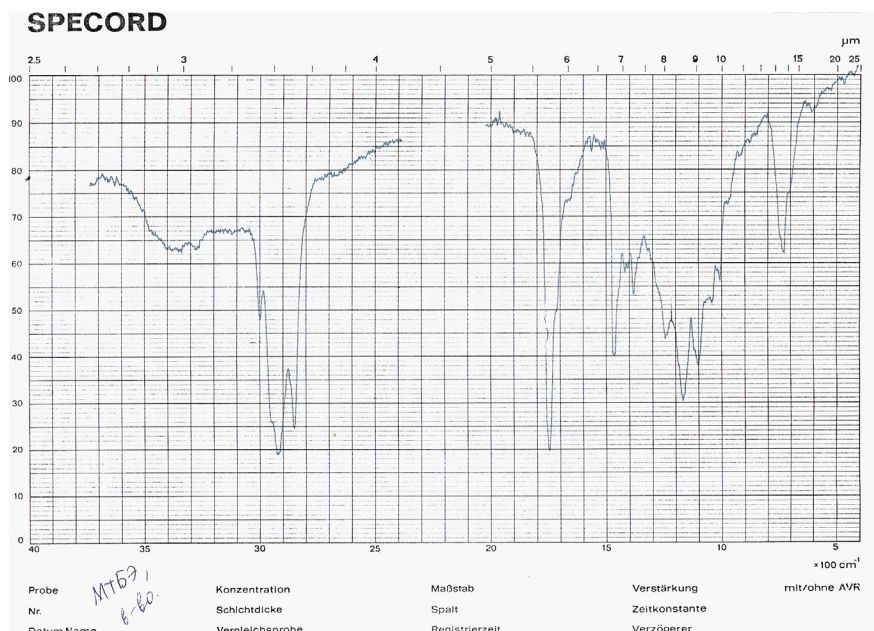


Рисунок 1. ИК-спектр метилтретбутиловой фракции: 690–750 см^{-1} (область отпечатков пальцев); 1100–1050 см^{-1} (эфир ароматических кислот); 1465–1440 см^{-1} (колебания ароматического кольца); около 1750 см^{-1} (сложные эфиры алифатических кислот); 2940–2915 см^{-1} (асимметричная CH_2 группа)

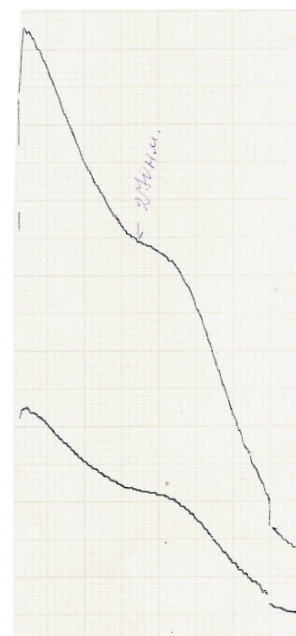


Рисунок 2. УФ-спектр смолоподобных веществ: 270 нм – сложноэфирные группировки

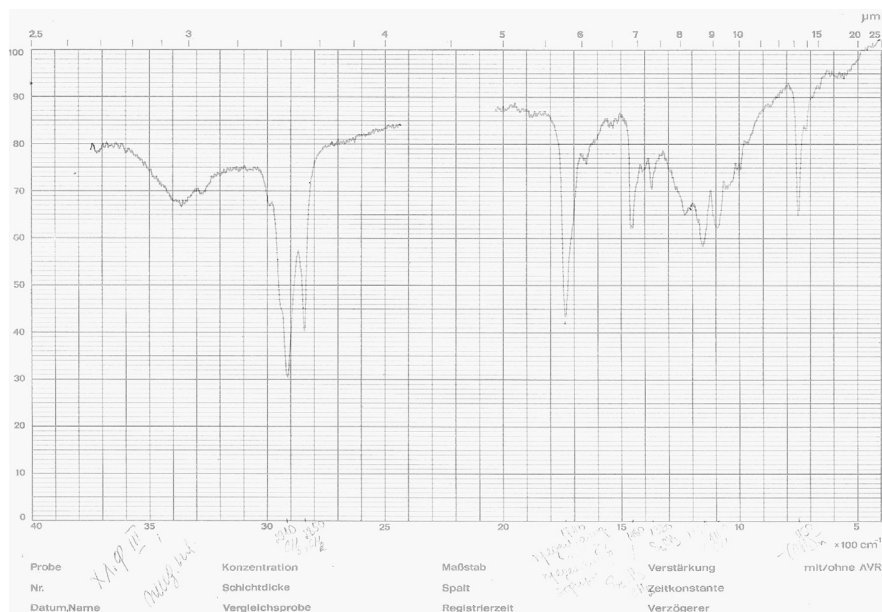


Рисунок 3. ИК-спектр кристаллов: 690–750 cm^{-1} (область отпечатков пальцев); 1100–1050 cm^{-1} (эфир ароматических кислот); 1480–1440 cm^{-1} (CH_2 группа, ножничное); 1750–1735 cm^{-1} (предельные алифатические эфиры $\text{CH}_2\text{--C--COOR}$); 2870–2845 cm^{-1} (симметричная CH_2 - для насыщенных углеводородов)

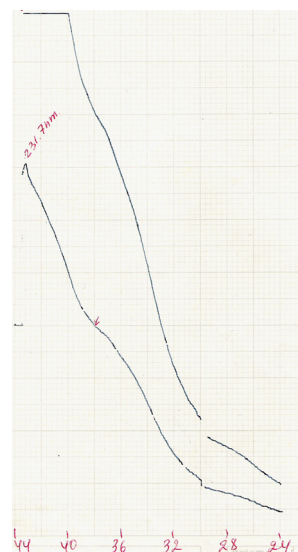


Рисунок 4. 230 нм и 231 нм: CH_2 группы

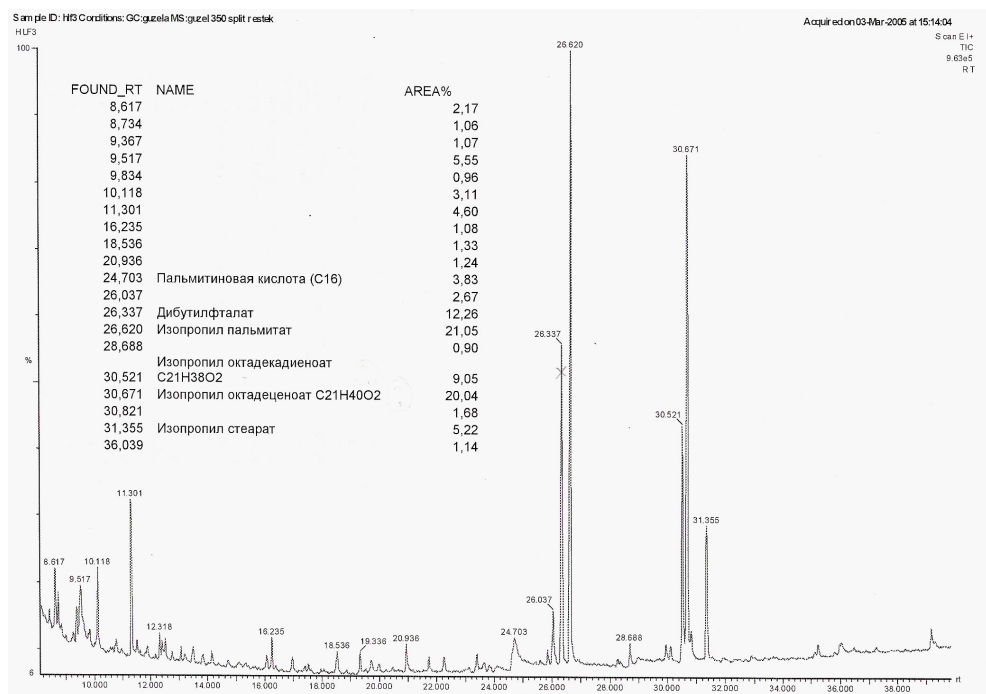


Рисунок 5. Данные хромото-масс-спектрологии

кислоты: пальмитиновая (21,05%), олеиновая (20,04%), линолевая (9,05%), стеариновая (5,22%), для которых была разработана методика выделения (рисунок 5).

По данным ЯМР-спектров установлен приблизительная структура выделенного вещества: замещенный антрохинон, со следующими функциональными группами –ОН, CH_3 –, – CH_2 – (рисунок 6). Однако на данный момент какое расположение заместителей однозначно не установлено. Дальнейшее исследование структуры соединения будет продолжено с привлечением ЯМР ^{13}C , хромато-масс-спектров.

Таким образом, наряду с жирными карбоновыми кислотами происходит биосинтез антрохинона. Мы полагаем, так как хлороформный экстракт содержит 4 жирные кислоты, то отсюда следует, что в состав экстракта также возможно входят 4 разных по структуре антрохинона. Можно предположить, что в данном случае именно поликетид-

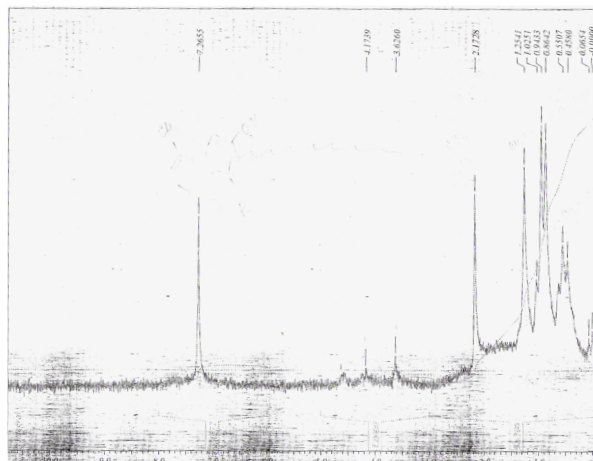


Рисунок 6. ЯМР ^1H – спектр пигмента: 0,8–1,0; 1,0–1,4 – алканы; 3,4–3,8 – ОН группа; 2,1–2,5 – CH_3 –Ar; 7,26 – ароматическое кольцо [35]

ный путь синтеза антрахинона довольно близок к ступенчатому удлинению цепи при биосинтезе жирных кислот.

2.09.2013

Список литературы:

1. Беккер З.Э. Физиология грибов и их практическое использование. М.: изд-во МГУ, 1963. С.267-279.
2. Bennett J.W. Mycotechnology: The role of fungi in biotechnology. 1998, v. 66, №2, С. 101-107
3. Способ получения красителя. Патент РФ №2065462, опубл.20.08.96, бюл.№23
4. Куковинец О.С., Ахметова В.Р. и др. «Методические указания по выполнению лабораторных работ на тему: методы выделения, очистки и идентификации органических соединений», Уфа, 1997 г., С.24.
5. Никольский Б.П. и др. «Справочник химика: основные свойства неорганических и органических соединений», изд-во «Химия», Л., М., 1964 г., с. 758, 852, 858, 956.
6. Васильева Н.В., Смолина Т.А. и др. «Органический синтез», изд-во «Просвещение», 1986 г., с. 25.
7. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. «Применение УФ-, ИК- и ЯМР спектроскопии для органических соединений» М., 1979 г., с. 235-258.

Сведения об авторах:

Буракаева Айгуль Дикатовна, доцент кафедры технологии пищевых производств и техносферной безопасности НОУ МТИ «ВТУ» Филиал в г. Оренбурге, кандидат биологических наук

Сираева Римма Радиковна, заведующая лабораторией кафедры общей биологии Оренбургского государственного университета, e-mail: aigulburakaeva@mail.ru

UDC 576 (07)

Burakaeva A.D., Siraeva R.R.

Orenburg state university, e-mail: aigulburakaeva@mail.ru

CHEMICAL COMPOSITION AND STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF THE PIGMENT OF A NEW STRAIN OF THE FUNGUS MIKOFILNOGO HYPOMYCES ROSELLUS

This paper discusses the results on the isolation, chemical composition and structural characteristics of the pigment extracted from the biomass of a new strain of the fungus mikofilnogo Hypomyces rosellus. Methods of spectral analysis revealed that the composition of the neutral lipids contain fatty acids. It is shown that along with the formation of fatty acid biosynthesis occurs pigment. According to the spectral data (^1H NMR, IR, GC-MS), high-quality pigment reactions related to dyes anthrohinonovogo series.

Key words: mikofilny fungus Hypomyces rosellus, anthraquinone pigments, lipids, fatty acids.

Bibliography:

1. Becker Z.E. Physiology of fungi and their practical use. Moscow: Moscow State University Press, 1963. P.267-279.
2. Bennett J.W. Mycotechnology: The role of fungi in biotechnology. 1998, v. 66, №2, pp. 101-107.
3. A process for preparing dye. RF patent number 2065462, opubl.20.08.96, Bull. № 23.
4. Kukovinets O.S., Akhmetov V.R. and others, «Guidelines for the laboratory works on the topic: Methods of isolation, purification and identification of organic compounds», Ufa, 1997, p.24.
5. Nicholas BP etc. «Handbook of chemical: the basic properties of inorganic and organic compounds», publishing house «Chemistry», L., M., 1964, p. 758, 852, 858, 956.
6. Vasilyev N.V., Smolin T.A. etc. «Organic Synthesis», publishing house «Education», 1986, p. 25.
7. Kazitsyna L.A., N.B. Kupletskaya «Application of UV-, IR- and NMR spectroscopy of organic compounds», Moscow, 1979, p. 235-258.