



УДК 543.54:547.973

Определение антоцианов плодов некоторых видов калины методом ВЭЖХ

Дейнека В.И.¹, Чулков А.Н.², Дейнека Л.А.¹, Жандармова П.А.¹,
Сорокопудов В.Н.¹, Рыбицкий С.М.¹

¹ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет», Белгород

²ФГБУ Белгородский филиал «Центр оценки качества зерна и продуктов его переработки», Белгород

Поступила в редакцию 14.02.2014 г.

Аннотация

Показана эффективность использования параметров относительного удерживания антоцианов для оценки характера гликозилирования цианидина и предварительной идентификации компонентов антоциановых комплексов (АК) в условиях обращенно-фазовой хроматографии. Метод применен для анализа плодов некоторых видов калины. В работе предлагается согласовывать результаты хроматографического определения с условной активностью ферментов, отвечающих за биосинтез антоцианов для исключения ошибок определения полного набора аналитов. Найденное в работе принципиальное различие антоциановых комплексов связано с различием в путях биосинтеза антоцианов в плодах калины обыкновенной (*Viburnum opulus*), калины зубчатой (*V. dentatum*) и калины гордовины (*V. lantana*) при едином антоцианидине – цианидине.

Ключевые слова: обращенно-фазовая ВЭЖХ, карты удерживания, относительное удерживание, гликозиды цианидина, ферменты, плоды, *Viburnum opulus*, *V. dentatum*, *V. lantana*.

The effectiveness of utilization of anthocyanins relative retention parameters in RP HPLC for cyanidin acylation type estimation has been shown in the present investigation. The method has been applied for some *Viburnum* sp. fruits analysis. It is proposed to verify chromatographically determined types of anthocyanin with that may be synthesized by relative activity of enzyme involved in the biosynthesis to escape mistakes of anthocyanin types determination. The great difference in series of anthocyanin species of the *Viburnum opulus*, *V. dentatum*, and *V. lantana* fruits is a consequence of different routes of anthocyanins biosynthesis, though all having one common anthocyanidin - cyanidin.

Keywords: reversed phase HPLC, retention maps, relative retention, cyaniding glycosides, enzymes, fruits, *Viburnum opulus*, *V. dentatum*, *V. lantana*

Введение

Одна из двух основных задач аналитической химии (определение качественного и количественного состава многокомпонентных смесей) может быть определяющей в различных ситуациях. Для целей хемосистематики растений принципиально важен качественный состав аналитов различных классов, включая антоцианы [1], поскольку этот набор отражает биосинтез ферментов, наследуемых растениями. Количественные соотношения в данном случае вторичны, поскольку активность различных ферментов может не одинаково зависеть от большого числа

параметров, включая погодные и климатические. Именно для этих целей наиболее удобно использовать высокоэффективную жидкостную хроматографию.

Удерживание аналитов при заданной температуре и выбранной марке стационарной фазы в ВЭЖХ зависит от состава подвижной фазы, вследствие чего хроматографический профиль сложных смесей (используемый в методе «отпечатков пальцев») может изменяться из-за совпадения или инверсий времен удерживания. Поэтому даже определение числа близких по свойствам компонентов сложных смесей может быть сложной хроматографической проблемой. В этом случае для анализа эффективности хроматографических систем большое значение приобретают карты разделения. Они могут быть построены в традиционных координатах «удерживание – состав подвижной фазы», но вследствие нелинейности таких зависимостей их удобнее строить в координатах относительного удерживания [2]. Преимущество второго метода состоит в том, что он позволяет проводить не только интерполяцию, но и экстраполяцию далеко за пределы использованных составов подвижных фаз. Так, в работах [3, 4] было показано, что анализ координат точек конвергенции позволяет определить число ненасыщенных двойных связей в радикалах высших жирных кислот в составе молекул триацилглицеринов.

Выбор калины в качестве объекта исследования связан с тем, что хотя это растение трудно назвать экзотическим, работ по исследованию видового состава антоцианового комплекса плодов растений удивительно мало, а найденные в литературе результаты исследований порой противоречивы. Задача данной работы – показать возможности ВЭЖХ в дифференциации структур аналитов по контролю изменения их удерживания для выбранной хроматографической системы и сопоставить калины из коллекции Ботанического сада БелГУ на основе полученных результатов.

Эксперимент

Экстракцию антоцианов из плодов калины (видов и сортов из коллекции Ботанического сада НИУ БелГУ и с частных хозяйств, приобретенных на рынках Белгорода) проводили 0.1 М раствором соляной кислоты. Для этого свежесобранные плоды разминали стеклянной палочкой и настаивали в солянокислом растворе в течение примерно суток. Экстракт отделяли от остатка на бумажном фильтре и антоцианы в фильтрате отделяли от сопутствующих экстрактивных веществ сорбцией на патронах ДИАПАК С18 (БиоХимМак СТ, Москва, РФ). Для контроля положения точки конвергенции использовали производные цианидина, выделенные из плодов вишни и ирги [5, 6].

Для разделения антоцианов и их идентификации использовали жидкостной хроматограф Agilent Infinity 1200 со спектрофотометрическим (диодно-матричным) и масс-спектрометрическим детекторами. Это позволяло записывать (и анализировать) электронные спектры индивидуальных соединений непосредственно в кювете спектрофотометрического детектора. Для записи масс-спектров использовали квадрупольный масс-спектрометр Agilent 6130 LC/MS в режиме ESI (ионизация распылением в электрическом поле) в позитивном режиме сканирования в диапазоне масс 250-1200. Напряжение на фрагменторе – 200 В. Ток на короне составлял 4 мкА. Давление газа-распылителя 30 psi, скорость газа осушителя 10 л/мин, температура газа осушителя 350 °С, температура испарителя 250 °С.

В качестве подвижной фазы использовали растворы системы «ацетонитрил : муравьиная кислота : вода», в соотношении 8 ÷ 6 : 10 : 92 ÷ 94 об. % в

изократическом режиме в изотермических условиях (40 °С). В работе использовали хроматографические колонки 4.6×250 мм Symmetry® C18, 5 мкм и 4.6× 250 мм Reprosil-Pur C18-AQ, 5 мкм при скорости подачи подвижной фазы 1 мл/мин – для изучения закономерностей удерживания аналитов и для записи электронных спектров. Для записи масс-спектров использовали микроколону 2.1×250 мм SB C18, 3.5 мкм при скорости подачи подвижной фазы 150 мкл/мин.

Обсуждение результатов

Карта разделения всех найденных в работе компонентов антоциановых комплексов плодов различных видов калины, представленная на рис.1, указывает на необходимость тщательной проработки условий хроматографического разделения для получения разделенных пиков индивидуальных антоцианов. Она свидетельствует также и о том, что данный род растений (по крайней мере, на примере доступных для нас видов калин) характеризуется большим разнообразием строения основных компонентов (табл.1). Но, как следует из анализа масс-спектров с частичной фрагментацией (или из ВЭЖХ анализа продуктов полного омыления), все обнаруженные в работе антоцианы построены лишь на одном агликоне – цианидине.

Наш многолетний опыт исследования антоцианов и анализ литературных данных свидетельствует о том, что удерживание антоцианов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ очень чувствительно к типу гликозилирования. Так, во всех известных нам работах (вне зависимости от марки обращенной фазы и состава элюентов) было найдено, что 3-галактозиды любых антоцианидинов элюируются существенно раньше аналогичных 3-глюкозидов [7 - 10], хотя число полярных и неполярных групп в гликозидном фрагменте и, следовательно, липофильность в этом случае (как и параметры масс-спектров!) эквивалентны. Аналогично среди пентопиранозидов 3-ксилозиды элюируются всегда существенно позднее 3-арабинозидов.

Таблица 1. Параметры относительного удерживания некоторых 3-гликозидов цианидина

№ п/п	Гликозид цианидина	Тип гликозидного радикала	Спектральные характеристики		Параметры уравнения (1)			
					Настоящая работа		[5]	
			λ_{\max} , нм*	M/Z**	a	b, ± 0.025	a	b
1	3-Gala	моно-гликозиды	517	449.1	-0.135	0.976	-0.093	0.937
2	3-Glu		517	449.1	0	1	0	1
3	3-Ara		517	419.0	0.141	0.932	0.145	0.948
4	3-XylGala	ди-гликозиды	518	581.2	-0.115	1.145	-	-
5	3-AraGlu		517	581.2	-0.110	1.138	-	-
6	3-XylGlu		518	581.2	-0.066	1.148	-0.071	1.144
7	3-Rut		518	595.2	0.099	1.131	0.064	1.144
8	3-GRut	три-гликозиды	519	757.2	-0.185	1.308	-0.235	1.248
9	3-XRut		519	727.2	-0.017	1.285	-0.057	1.226

* - в растворе, содержащем 10 об.% муравьиной кислоты и 8 об.% ацетонитрила; ** - во всех масс-спектрах обнаруживался сигнал от цианидина с M/z = 287.0

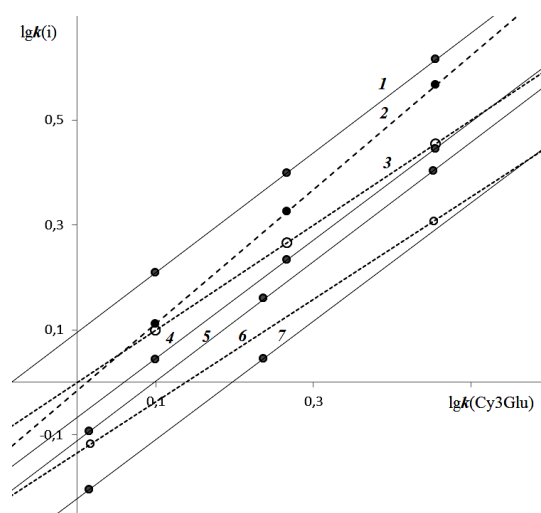


Рис. 1. Карта разделения гликозидов цианидина из плодов различных видов калины

Колонка: 250×4.6 мм Symmetry C18; Подвижные фазы системы ацетонитрил – 10 об.% НСООН – вода. Антоцианы: 1 – Cy3Rut; 2 – Cy3^{2X}Rut; 3 – Cy3Glu; 4 – Cy3XylGlu; 5 – Cy3AraGlu; 6 – Cy3Gala; 7 – Cy3XylGala.

Координаты точек конвергенции точно определить в данном случае невозможно из-за отсутствия гомологов, но возможна оценка их относительного положения. Для этого можно предположить, что ординаты точек конвергенции находятся в интервале от -1.50 до -2.00 (обычный диапазон для гидрофильных соединений), рис. 2.

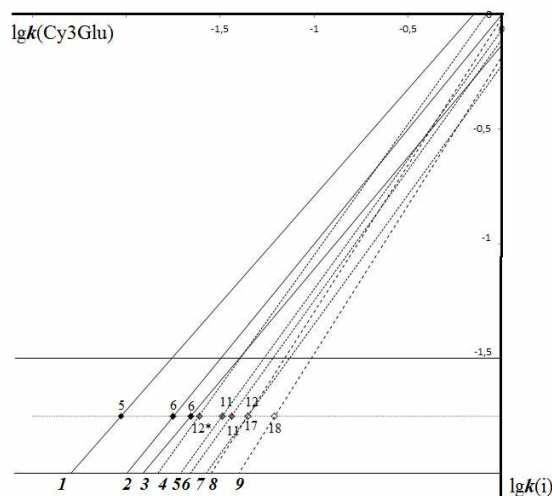


Рис. 2. Оценка положения точек конвергенции для некоторых 3-гликозидов цианидина

Условия те же, что и на рис.1. Антоцианы: 1 - Cy3Ara, 2 - Cy3Glu, 3 - Cy3Gala, 4 - Cy3Rut, 5 - Cy3XylGlu, 6 - Cy3AraGly, 7 - Cy3GluGlu, 8 - Cy3^{2Xyl}Rut, 9 - Cy3^{2Glu}Rut.

Удерживание в обращенно-фазовой хроматографии определяется не только неполярными, но и полярными взаимодействиями. При этом, чем большее число гидрофильных групп содержится в молекуле, тем правее на графике относительного удерживания должна находиться точка конвергенции. Но удерживание антоцианов обладает нехарактерной для обращенных фаз чертой – зависимостью от строения при данном наборе функциональных групп. По этой причине наблюдается большой разброс абсцисс точек конвергенции, но общая тенденция очевидна –

моногликозиды имеют абсциссы меньше, чем дигликозиды и еще больше этот параметр у тригликозидов, рис.2.

С ростом числа атомов в молекуле анализа должна возрасти и сумма парциальных энергий дисперсионных взаимодействий со стационарной обращенной фазой, и, следовательно, параметр b для относительного удерживания должен увеличиваться при переходе от моно- к ди- и к тригликозидам.

$$\lg k(i) = a + b \cdot \lg k(\text{Cy3Glu}), \quad (1)$$

где $\lg k(i)$ – логарифм фактора удерживания исследуемого гликозида цианидина, $\lg k(A)$ – логарифм фактора удерживания вещества сравнения, в качестве которого выбран цианидин-3-глюкозид.

При этом чувствительность удерживания различных гликозидов от строения углеводного радикала позволяет дифференцировать гликозиды одного и того же агликона, тогда как по масс-спектрам, во-первых, не удастся различить вещества с одинаковым атомарным составом, во-вторых, нельзя определить ни изомеры, ни положение присоединения углеводов друг к другу, в третьих, нельзя установить тип циклизации углевода и дифференцировать аномеры.

Для решения этих вопросов можно использовать серию химических превращений индивидуально выделенных антоцианов и/или анализ ЯМР-спектров [1] соответствующих продуктов, но это – трудоемкий и дорогостоящий эксперимент. Альтернатива – использование доступных в научной литературе результатов исследований, выполненных ранее с привлечением всего арсенала необходимых методов и контроль параметров относительного удерживания антоцианов [11].

В работе [11] было установлено, что на графике относительного удерживания линии трендов моногликозидов отличаются от линий трендов ди- и тригликозидов увеличением параметра b уравнения относительного удерживания примерно на $0.14 \div 0.15$ на каждый добавляемый радикал мономерного углевода, табл.1. Эта закономерность, сохраняется, по крайней мере, для всех исследованных нами марок обращенных стационарных фаз, несмотря на то, что свойства стационарных фаз различных производителей различаются по множеству параметров удерживания [12]. Отметим, что в работе [3] было показано, что для неполярных соединений параметры линий тренда относительного удерживания мало зависят от марки использованной стационарной обращенной фазы (т.е. совпадают оба параметра уравнения относительного удерживания для любой фазы). Но переход от одной фазы к другой в случае полярных соединений осложнен влиянием остаточных силанольных групп, которое приводит к необходимости введения поправок в основном в виде параллельного переноса линий тренда [13]. Поэтому должны быть близкими параметры b уравнений типа (1) для любых обращенных стационарных фаз, удерживающих антоцианы по одному и тому же механизму.

Это позволило нам в настоящей работе для отнесения пиков антоцианов использовать литературные данные с контролем по относительному удерживанию и по данным масс-спектров, используя в качестве «стандарта» предложенный нами ранее легкодоступный экстракт из плодов черной смородины [14].

Антоциановые комплексы плодов калины обыкновенной (*Viburnum opulus* L.) мы исследовали в течение нескольких лет. Дело в том, что вместо декларированных в одной из наиболее обстоятельных работ по растениям семейства жимолостные [1] антоцианов: цианидин-3-глюкозида (Cy3Glu, I), цианидин-3-(6''-арабинозилглюкозида) (Cy3AraGlu, II) и цианидин-3-(2''-ксилозил-6''-рамнозилглюкозида) (Cy3^{2Xyl}Rut, III), мы для подавляющего большинства плодов калины из частных садов обнаруживали также три пика, рис.3, А. Однако один из них принадлежал цианидин-3-(6''-рамнозилглюкозиду) (Cy3Rut, IV), другой по

временам удерживания совпадал с Cy3Glu, а третий по параметрам относительного удерживания и вследствие уникальности времен был отнесен нами к Cy3AraGlu.

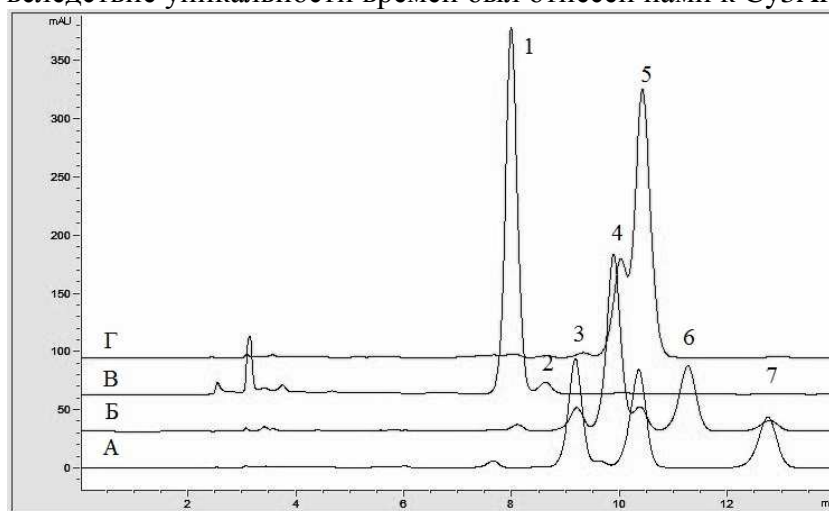


Рис. 3. Разделение антоцианов плодов некоторых видов калины
Колонка: 250×4.6 мм Symmetry C18; Подвижная фаза 7 об.% CH₃CN – 10 об.% HCOOH – вода, 1 мл/мин. λ регистрации 515 нм. Экстракты плодов: А – *Viburnum opulus*, Б – *V. opulus* (?), В – *V. lantana*; Г – *V. dentatum*. Антоцианы: 1 – Cy3XylGala; 2 – Cy3Gala; 3 – Cy3AraGlu; 4 – Cy3XylGlu; 5 – Cy3Glu; 6 – Cy3^{2X}Rut; 7 – Cy3Rut.

Уникальность объекта (или ошибка авторов) работы [1] кажется очевидной, поскольку для биосинтеза (Cy3^{2Xyl}Rut) необходима активность двух ферментов: рамнозил-6''-трансферазы (RT) и ксилозил-2''-трансферазы (ХТ). В этом отношении мы предлагаем сопоставлять найденный набор антоцианов с возможной активностью ферментов, обеспечивающих их биосинтез, табл.2. Так, по нашему многолетнему опыту исследования антоциановых комплексов растений плодов и цветков растений многих семейств, родов и видов в таком случае среди продуктов должны находиться Cy3Rut, Cy3XylGlu (V) - цианидин-3-(2''-ксилозилглюкозид) и цианидин-3-(2''-ксилозил-6''-арабинозилглюкозид), о которых авторы работы [1] не сообщали. Поэтому можно констатировать, что в плодах калины обыкновенной функционируют два фермента: рамнозил-6''-трансфераза (RT) и арабинозил-6''-трансфераза (AT).

Совместное действие этих ферментов может привести к биосинтезу (из цианидин-3-глюкозида) только двух основных антоцианов, что было подтверждено нами во всех случаях кроме одного при анализе антоцианового состава плодов калины народной селекции. Но при исследовании плодов калины обыкновенной из коллекции Ботанического сада НИУ БелГУ (БС БелГУ) антоциановый комплекс существенно усложнялся благодаря действию ХТ, - появлялась пара гликозидов: Cy3XylGlu и Cy3^{2Xyl}Rut, рис.3, Б, табл.2. Для оценки относительной активности ферментов необходимо суммировать доли всех антоцианов, синтезируемые с участием этого фермента. Например, для оценки активности RT:

$$\text{активность (RT)} = \alpha(\text{III}) + \alpha(\text{IV}) \quad (2)$$

$$\text{активность (ХТ)} = \alpha(\text{III}) + \alpha(\text{V}) \quad (3)$$

Действие ХТ характерно для плодов калины зубчатой (*V. dentatum*) также из коллекции БС БелГУ, накапливающей в иссиня-черных в зрелом состоянии плодах на порядок больше антоцианов (до 600 мг на 100 г свежих плодов с косточками) по сравнению с калиной обыкновенной (лишь не более 50 мг на 100 г свежих плодов), и для плодов недоступной для нас *V. dilatatum* [15]. Поэтому, возможно, что появление Cy3XylGlu и Cy3XRut в исследованных нами плодах калины обыкновенной может

быть следствием переопыления из-за нахождения калин других видов в близком соседстве. Кстати, тогда понятно, почему такое явление не характерно для растений народной селекции. Впрочем, с определенной натяжкой все можно списать и на биоизменчивость вида *V. opulus* [16], поскольку, например, в плодах, завязывающихся после цветения все-таки не полностью стерильных крупных белых цветков высокодекоративной разновидности *V. opulus*, называемой калиной «Бульденеж» (БС БелГУ), видовой состав антоцианов включает продукты активности ХТ, табл.2.

Таблица 2. Состав антоциановых комплексов плодов некоторых видов калины *Viburnum* sp.

	Доля антоцианов (по площадям пиков), α, %, (± 1.5 отн.%)							Относительная активность ферментов		
	I*	II	III	IV	V	VI	VII	RT	AT	XT
<i>V. opulus</i> L.										
Сорта народной селекции, Белгород										
1	51.2	34.9	-**	12.8	-	-	-	12.8	34.9	0
2	48.5	26.1	-	13.8	-	-	-	13.8	26.1	0
3	53.4	29.5	-	10.8	-	-	-	10.8	29.5	0
4	49.5	35.1	-	13.4	0.7	-	-	13.4	35.9	0.7
5	68.1	29.0	-	1.4	0.8	-	-	1.4	29.0	0.8
6	38.8	35.9	4.4	10.2	15.7	-	-	14.6	35.9	20.1
Растения ботанического сада НИУ БелГУ										
1	37.4	36.6	-	23.0	1.0	-	-	23.0	36.6	1.0
2	37.0	35.3	-	24.6	1.1	-	-	24.6	35.3	1.1
3	27.2	44.1	-	25.9	1.0	-	-	25.9	44.1	1.0
4	46.3	40.6	-	10.8	1.0	-	-	10.8	40.6	1.0
5	23.4	10.2	13.6	13.1	38.3	-	-	26.8	10.2	52.0
6	15.3	9.7	17.6	10.6	44.7	-	-	28.2	9.7	62.2
7	15.2	8.2	12.9	4.4	57.7	-	-	17.4	8.2	70.6
8	3.6	7.3	25.8	3.3	57.5	-	-	29.1	7.3	83.3
9	12.3	6.6	6.5	2.2	71.6	-	-	8.6	6.6	78.0
10	6.3	6.9	24.2	4.5	56.1	-	-	28.7	6.9	80.4
11	2.4	2.2	12.7	0.9	80.4	-	-	13.6	2.2	93.0
12	1.9	1.8	13.5	0	81.5	-	-	13.5	1.8	95.0
<i>V. opulus</i> f. <i>roseum</i> L. «Бульденеж»										
	20.0	12.5	10.9	7.7	47.4	-	-	18.6	12.5	58.3
Растения Национального ботанического сада, г. Киев										
1	38.3	42.8	-	18.6	-	-	-	18.6	42.8	0
2	21.2	52.4	-	24.1	-	-	-	24.1	52.4	0
<i>V. lantana</i> L.										
	-	-	-	-	-	3.2	96.4	0	0	96.4
<i>V. dentatum</i> L.										
	76.6	4.3	16.6	1.0	-	-	-	1.0	4.3	16.6

** - расшифровка обозначений антоцианов I-VII приведена в тексте; * - содержание не превышает 0.1%.

Наконец, принципиально иной состав антоцианового комплекса имеют плоды калины гордовины (*V. lantana*) (БС БелГУ). Впрочем, у этого вида калины имеется одна любопытная особенность: незрелые твердые красные плоды в жаркую погоду за несколько часов полностью чернеют и становятся мягкими; при этом ферментная система плодов полностью уничтожает антоцианы. Из двух антоцианов незрелых плодов один является моногексозидом (цианидин-3-галактозидом, Су3Gala, VI), а второй (основной) по параметрам относительного удерживания и по данным масс-спектрометрии является дигликозидом – пентозилгексозидом. Это согласуется с информацией о присутствии в плодах цианидин-3-(2''-ксилозилгалактозида) (Су3XylGala, VII [1]).

Заключение

Контроль относительного удерживания антоцианов в условиях обращенно-фазовой хроматографии является эффективным методом дифференциации по типам гликозилирования.

Между видами калин существуют значительные различия в наборе синтезируемых в плодах антоцианов, что может быть использовано для систематизации растений в пределах рода, для установления наследования признаков при гибридизации.

Список литературы

1. Jordheim M., Harald Giske N., Andersen M. Anthocyanins in Caprifoliaceae // *Biochemical Systematics and Ecology*. 2007. Vol. 35. P. 153-159.
2. Дейнека В.И. Карта хроматографического разделения и инкрементные зависимости в методе относительного анализа удерживания в ВЭЖХ // *Журн. физ. химии*. 2006. Т. 80. №3. С. 511-516.
3. Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Туртыгин А.В. Метод относительного анализа удерживания: обращено-фазовая ВЭЖХ триглицеридов // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2008. Т.8, Вып.3. С.465-477.
4. Туртыгин А.В., Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Трусков Н.А., Третьяков М.Ю. Определение моноацетил-диацилглицеролов масел семян растений семейства *Celastraceae* // *Аналитика и контроль*. 2012. Т. 16, № 1. С.91-95.
5. Дейнека Л.А., Чулков А.Н., Дейнека В.И., Сорокопудов В.Н., Шевченко С.М. Антоцианы плодов вишни и родственных растений // *Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки*. 2011. № 9 (104). Вып. 15/1. С.364-370.
6. Чулков А.Н., Дейнека В.И., Сорокопудов В.Н., Дейнека Л.А., Степанова Ф.И. Антоцианы плодов шести видов *Amelanchier* sp. // *Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки*. 2011. № 9 (104). Вып. 15/2. С. 208-214.
7. Barnes J.S., Nguyen H.P., Shen S., Schug K.A. General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography–electrospray ionization-ion trap-time of flight-mass spectrometry // *J. Chromatogr.* 2009. V. 1216. P. 4728–4735.
8. Ichiyangi T., Hatano Y., Matsugo S., Konishi T. Structural Dependence of HPLC Separation Pattern of Anthocyanins from Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) // *Chem. Pharm. Bull.* 2004. V.52. P. 628-630.

9. Lee J., Finn C.F., Wrolstad R.E. Anthocyanin Pigment and total phenolic content of three *Vaccinium* species native to the pacific northwest of North America // HortSci. 2004. V.39. P. 959-964.
10. Burdulis D., Ivanauskas L., Dirsė V., Kazlauskas S., Ražukas A. Study of diversity of anthocyanin composition in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruits // Medicina (Kaunas). 2007. V.43. P. 971-977.
11. Дейнека В.И., Григорьев А.М. Относительный анализ удерживания гликозидов цианидина. // Журн. физ. химии. 2004. Т. 78. №5. С.923-926.
12. Certificate of Analysis. SRM 870, Column Performance Test Mixture for Liquid Chromatography, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg. MD. 2000.
13. Дейнека В.И. Оценка влияния остаточных силанольных групп на суммарное удерживание в обращено-фазовой хроматографии // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81. №3. С. 473-476.
14. Дейнека Л.А., Шапошник Е.И., Гостищев Д.А., Дейнека В.И. и др. ВЭЖХ в контроле антоцианового состава плодов черной смородины // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т.9. Вып.4. С. 529-536.
15. Kim M.-Y., Iwai K., Onodera A., Matsue H. Identification and Antiradical Properties of Anthocyanins in Fruits of *Viburnum dilatatum* Thunb // J. Agric. Food Chem. 2003. V. 51. P. 6173-6177.
16. Česonienė L., Daubaras R., Vencloviene J., Viškelis P. Biochemical and agrobiological diversity of *Viburnum opulus* genotypes // Cent. Eur. J. Biol. 2010. V.5. P. 864-871.

Дейнека Виктор Иванович – д.х.н. профессор кафедры общей химии НИУ БелГУ, Белгород

Чулков Андрей Николаевич – сотрудник Белгородского филиала «Центр оценки качества зерна и продуктов его переработки», Белгород

Дейнека Людмила Александровна – к.х.н. доцент кафедры общей химии НИУ БелГУ, Белгород

Жандармова Полина Александровна – магистрант кафедры общей химии НИУ БелГУ, Белгород

Сорокопудов Владимир Николаевич – д.с.н. профессор кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Медицинского института НИУ БелГУ, Белгород

Рыбицкий Сергей Михайлович – аспирант кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Медицинского института НИУ БелГУ, Белгород

Deineka Victor I. - Dr.Sci. (Chemistry), professor, Belgorod National Research University, Belgorod, E-mail: deineka@bsu.edu.ru

Chulkov Andrey N. – Belgorod Branch of Federal State-Funded Institution «Federal Centre of Quality and Safety Assurance for Grain and Grain products», Belgorod, E-mail: Ach87@mail.ru.

Deineka Ludmila A. - Ph.D. (Chemistry) Belgorod National Research University, Belgorod, E-mail: deineka@bsu.edu.ru

Gandarmova Polina A. – student of magistrate, Common Chemistry Chair, Belgorod National Research University

Sorokopudov Vladimir N. - Dr.Sci. (Agriculture), professor Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Chair, Belgorod National Research University, E-mail: sorokopudov@bsu.edu.ru

Rybitskyi Sergei M. - Postgraduate of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Chair, Belgorod National Research University