

Научная статья

УДК 615.322: 66.061.3: 633.854.78

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-1-o2



Определение алломеланинов в лузге подсолнечника весовым методом

В.С. Попов, Д.Л. Корнюхин, Т.В. Шеленга, В.А. Гаврилова, В.И. Хорева

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Виталий Сергеевич Попов, popovitaly@yandex.ru

Актуальность. Меланины – группа пигментов со сложной кристаллической структурой и большой молекулярной массой, имеющие широкое применение в современном медицинском, парфюмерном, пищевом, полимерном производстве. Обладают выраженным противовирусным, антибактериальным, антигрибковым, противолучевым действием и антиоксидантной активностью. Различают меланины животного (меланины), микробного (микомеланины) и растительного (фитомеланины) происхождения. В настоящий момент актуальным является поиск новых источников растительных меланинов и простых методов их определения, позволяющих в дальнейшем выявлять образцы с повышенным содержанием этих веществ для различного использования. Важным значением меланина, накапливающегося в плодовой оболочке семян подсолнечника, является его роль в обеспечении устойчивости этой культуры к подсолнечной огневке (*Homoeosoma nebulella* Hb.). Задача исследования – разработка метода определения меланинов и демонстрация его возможностей на примере коллекции подсолнечника ВИР. **Материалы и методы.** В работе представлен модифицированный метод определения алломеланинов (фитомеланинов) в лузге и семенах подсолнечника из коллекции ВИР: отработаны оптимальные режимы экстракции, фильтрования, осаждения и промывания алломеланинов от примесей. **Результаты.** Содержание алломеланинов в лузге подсолнечника в среднем составило 5,7%, при этом минимальное количество – 1,5%, максимальное – 8,7%. Доля этих пигментов в исследуемых семенах подсолнечника находилась в диапазоне 0,4%–2,7% при среднем значении 1,7%. Выделены образцы с повышенным содержанием пигментов в лузге: к-2776, к-3511, к-3892, к-3901, к-641884 и с пониженным – к-3568, к-3647, к-3649, к-3760, к-3762. Между содержанием алломеланинов в лузге и в семенах обнаружена высокая положительная корреляция ($r=0,83$). **Заключение.** Разработан простой метод выделения алломеланинов, который дает хорошо воспроизводимые результаты и может быть использован для скрининга коллекции генетических ресурсов растений, направленного на выявление образцов, характеризующихся высоким содержанием меланина. Метод позволяет выявлять наиболее перспективные образцы для селекции по признаку устойчивости к повреждающему действию гусениц подсолнечной огневки.

Ключевые слова: *Helianthus annuus* L., фитомеланины, лузжистость, пигменты, количественное определение

Благодарности: работа выполнена в рамках Государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № FGEM – 2022-0005 «Растительные ресурсы масличных и прядильных культур ВИР как основа теоретических исследований и их практического использования». Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Попов В.С., Корнюхин Д.Л., Шеленга Т.В., Гаврилова В.А., Хорева В.И. Определение алломеланинов в лузге подсолнечника весовым методом. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(1):23-32. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-1-o2

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Попов В.С., Корнюхин Д.Л., Шеленга Т.В., Гаврилова В.А., Хорева В.И., 2025

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-1-o2

Determination of allomelanins in sunflower husk by the gravimetric method

Vitaliy S. Popov, Dmitry L. Korniyukhin, Tatiana V. Shelenga, Vera A. Gavrilova, Valentina I. Khoreva

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia**Corresponding author:** Vitaliy S. Popov, popovitaly@yandex.ru

Background. Melanins are a group of pigments with a complex crystalline structure and high molecular weight, which are widely used in modern medical, perfume, food, and polymer production. They have pronounced antiviral, antibacterial, antifungal, antiradiation effects, and antioxidant activity. Melanins of animal (melanin), microbial (mycomelanin), and plant (phytomelanin) origin are distinguished. At present, the search for new sources of plant melanins and simple methods for their determination is relevant, allowing for the further identification of accessions with a higher content of these substances for various uses. An important role of melanin, which accumulates in the sunflower seed coat, is its role in ensuring the resistance of this crop to the sunflower moth (*Homoeosoma nebulella* Hb.). The present study was aimed at developing a method and demonstrating its capabilities using accessions from the VIR sunflower collection. **Materials and methods.** The paper presents a modified method for determining allomelanins (phytomelanins) in husk and seed of sunflower accessions from the VIR collection. Optimal modes of allomelanin extraction, filtration, precipitation and washing from impurities have been developed. **Results.** The allomelanin content in sunflower husk averaged 5.7% with a minimum of 1.5% and a maximum of 8.7%. The fraction of pigment in the studied sunflower seeds ranged from 0.4% to 2.7% and averaged 1.7%. The accessions with a higher pigment content in husk are k-2776, k-3511, k-3892, k-3901, and k-641884, and those with a lower pigment content are k-3568, k-3647, k-3649, k-3760, and k-3762. A high positive correlation was found between the allomelanin content in husk and seed ($r=0.83$). **Conclusion.** A simple method for isolating allomelanins has been developed. It yields highly reproducible results and can be used to screen a collection of plant genetic resources to identify accessions with high melanin content. This method allows the identification of the most promising accessions which can be involved in breeding for resistance to the damaging effects of sunflower moth caterpillars.

Keywords: *Helianthus annuus* L., phytomelanins, huskness, pigments, quantitative determination

Acknowledgements: The research was performed within the framework of the State Assignment according to the theme plan of VIR, Project № FGEM – 2022-0005 «Plant resources of oil and fiber crops at VIR as the basis of theoretical research and their practical utilization».

For citation: Popov V.S., Korniyukhin D.L., Shelenga T.V., Gavrilova V.A., Khoreva V.I. Determination of allomelanins in sunflower husk by the gravimetric method. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(1):23-32. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-1-o2

Financial transparency: The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Popov V.S., Korniyukhin D.L., Shelenga T.V., Gavrilova V.A., Khoreva V.I., 2025

Введение

Меланины (от греческого *melanos* – черный) – высокомолекулярные пигменты от темно-коричневого до черного цвета – широко распространены среди живых организмов и различаются как вещества животного (меланины), микробного (микомеланины) и растительного (фитомеланины) происхождения (Liakh et al., 2007).

Желто-коричневые разновидности пигментов животных обычно называют феомеланинами, а черные известны под названием эумеланины. Имеющие некоторое сходство с ними безазотистые черные пигменты растений часто называют алломеланинами. Они обуславливают цвет семян, зерновок, кожицы фруктов и овощей, защищают растение от негативного действия ультрафиолета, придают им механическую прочность (Rogers, Kreitner, 1983; Duran, Retamal, 1989; Baraboi, 2001; Prutenskaia et al., 2016).

Полимерная фактура меланина и его структурная формула окончательно не установлены, хотя экспериментальные исследования по изучению природы меланина проводятся с 60-х годов 20 века (Solano, 2014; Vorontsova et al., 2016). Известно, что синтезируются меланины из фенольных предшественников, которые окисляются под действием полифенолоксидазы в хинон, который, в свою очередь, полимеризуется в меланины. Также предшественниками темноокрашенных веществ могут быть такие фенолсодержащие соединения, как тирозин и хлорогеновая кислота (Gerdemann et al., 2002).

Все меланиновые пигменты являются длинноцепочечными полимерами со сложной кристаллической структурой и большой молекулярной массой, проявляющими высокую биологическую активность (Liakh et al., 2007). Хорошо известно ингибирующее действие меланинов на процесс перекисного окисления липидов, вызванное различными прооксидантами. Также выявлена противовирусная, антибактериальная, антигрибковая, антиоксидантная активность меланинов и их способность нейтрализовать токсическое действие металлов (Hill, 1992; Alekseeva et al., 2001; Gashnikova et al., 2014; Chu et al., 2016). В реализации противолучевого действия меланина важную роль, вероятно, играет его выраженная антиоксидантная активность, связанная со структурными особенностями (Novikov et al., 2001).

Меланины могут быть использованы в качестве пищевого красителя. Сырьем для его изготовления чаще всего становится лузга гречихи (Alekseeva et al., 2008; Shkolnikova, Kadritskaya, 2020). Рассмотрена возможность получения биоактивных полимерных пленок для производства пищевой упаковки и медицинских целей на основе меланинов семян арбуза (Łopusiewicz et al., 2020).

Однако, несмотря на полифункциональность, применение меланинов ограничивается сложностью их выделения из биологических объектов, очистки от белковых и химических примесей, а также высокой стоимостью получения синтетических аналогов. В каче-

стве перспективного источника алломеланинов выступает растительное темноокрашенное сырье: а) отходы растительного происхождения – лузга подсолнечника, гречихи, черного риса, выжимки винограда и свеклы, ячменя и овса; б) растительное сырьё – грецкий орех, семена арбуза, кунжута, (Gracheva, Zheltobriukhov, 2016; Varga et al., 2016; Łopusiewicz et al., 2020; Shoeva et al., 2020).

Наиболее перспективным для получения меланинов представляется использование вторичных сырьевых ресурсов, в том числе лузги подсолнечника, что обусловлено ежегодными значительными объемами этого сырья, его низкой ценой (от 0 до 2500 р/т), высокой биологической активностью и рядом фармакологических свойств (Iuasifov, 1987; Gracheva, Zheltobriukhov, 2016). Содержание алломеланинов в цельных семенах подсолнечника составляет примерно 1,4% (Jana, Mukherjee, 2004; Park et al., 2007).

Существует несколько способов выделения и определения меланинов, в том числе экспресс-методы, которые являются весьма неточными и субъективными (Perestova, 1988). Стандартный протокол включает их щелочную экстракцию и последующее осаждение в кислой среде (Sava et al., 2001). Диффузия меланина через клеточные стенки слабо выражена. Для полноты извлечения пигмента из растительного сырья нужно стремиться к максимально возможному измельчению материала, чтобы нарушить целостность большинства клеток, что способствует оптимальному выходу меланинов. В щелочной среде они обладают наибольшей растворимостью, то есть с увеличением pH среды увеличивается степень их диссоциации (Grossi et al., 1998).

Для идентификации и количественного определения меланинов применяется метод спектроскопии. Меланины различного происхождения характеризуются высокой поглотительной способностью в видимом и ультрафиолетовом диапазоне спектра с максимумом при 196-300 нм (Pralea et al., 2019). Для идентификации основных функциональных групп в макромолекулах меланина используется инфракрасная (ИК) спектроскопия с преобразованием Фурье (Shoeva et al., 2020).

При анализе спектра меланина лузги подсолнечника обнаружено, что в состав соединений входят конденсированные бензольные кольца (1500 см^{-1}), фенольные структуры и карбонильные группы ($1600\text{--}1700\text{ см}^{-1}$), тройные связи между атомами углерода $\text{C}\equiv\text{C}$ (2300 см^{-1}), алифатические углеродные фрагменты (2900 см^{-1}) (Pralea et al., 2019).

Ядерный магнитно-резонансный (ЯМР) анализ подтверждает наличие в меланинах ароматических, метильных или метиленовых групп. Меланины являются парамагнитными биополимерами, которые из-за наличия стабильных свободных радикалов могут быть обнаружены с помощью электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) (Butterfield, 1982). Обобщенные результаты исследований и анализ данных литературы позволяют отнести меланины лузги подсолнечника к алломеланинам, моле-

кулы которых могут быть образованы пирокатехиновыми и/или периленовыми мономерами (Prutenskaia et al., 2016; Kablov et al., 2019).

У подсолнечника меланиновый слой между гиподермой и склеренхимой в плодовой оболочке семян повышает устойчивость к повреждениям гусеницами подсолнечной огнёвки (*Homoeosoma nebulella* Нб.), являясь, таким образом, основой природной устойчивости подсолнечника к этому вредителю. За свою защитную функцию меланиновый слой получил название «панцирный» (Perestova, 1988). Образцы подсолнечника с повышенным содержанием пигментов в лузге являются основой селекции по этому признаку. Из изложенного выше следует, что меланины имеют широкий спектр применения. Поэтому актуальной является оптимизация способа выявления источников их высокого содержания с целью сделать методику доступной и эффективной. Задачей работы являлась разработка весового метода количественного определения алломеланинов в лузге и семенах подсолнечника на основе существующего протокола с использованием образцов коллекции ВИР.

Материалы и методы

Объект исследования – лузга подсолнечника, полученная после очистки семян 30 образцов репродукции Пушкинских опытных лабораторий ВИР 2023 года. В выборку вошли семена с лузгой от светло-серого до почти черного цвета различного происхождения, различной лузжистости и разного размера. Список и характеристика исследо-

ванных образцов приведены в Приложении/ Supplement¹.

Перед проведением анализа лузгу измельчали с помощью лабораторной мельницы LabMill-1 (LaborMim, Венгрия) до состояния мелкодисперсной муки с размером частиц до 10 мкм. Алломеланины экстрагировали на кипящей водяной бане с шейкером (GFL 1092, Германия). Отделение меланинов от примесей осуществляли с помощью центрифуги для больших объемов (SL16R, Thermo FS, Германия). Навески выделенных алломеланинов высушивали при температуре 95-100°C до постоянной массы в сушильном шкафу (Mettler, Германия). Поглощение света выделенными алломеланинами измеряли на спектрофотометре (UNICO-2802S, США) в диапазонах УФ и видимого света (200-700 нм) в кварцевой кювете с рабочей длиной 10 мм.

Определение изученных признаков проводили в двух повторностях, результаты представлены в виде: среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (SD). Статистический анализ осуществляли, используя программное обеспечение Microsoft Office 2016.

Результаты и обсуждение

Лузжистость у исследуемых семян подсолнечника находилась в диапазоне от 21,1% (к-3693) до 48,0% (к-3894), в среднем – 29,6%.

Наиболее низкую лузжистость имели образцы к-2776, к-3643, к-3693, к-3761; наибольшую – к-2936, к-3417, к-3513, к-3894 (рис. 1).

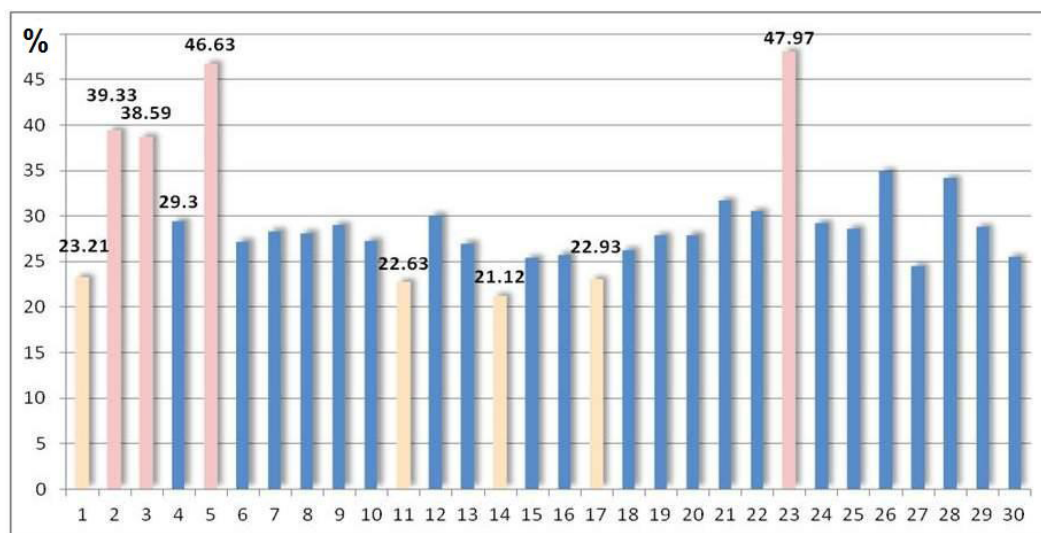


Рис. 1. Лузжистость (ось Y) у исследуемых семян подсолнечника (ось X, см. Приложение)

Fig. 1. Huskiness (Y-Axis) of the studied sunflower seeds (X-Axis, see the Supplement)

¹ Приложение доступно в онлайн версии статьи/ The supplement is available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2025-1-02

Экстракцию и определение алломеланинов проводили согласно методу, предложенному в работе Ивановой и др. (Ivanova et al., 2019) с внесёнными нами модификациями.

Этапы извлечения и определения алломеланинов:

1) К навескам измельченной лузги подсолнечника добавляли одномолярный раствор гидроксида натрия (1:40 m:V) и выдерживали образцы в конических колбах на 150 см³ с обратным холодильником в кипящей водяной бане в течение одного часа, затем отфильтровывали тёмноокрашенный экстракт через стеклянные фильтры №3 в колбы Бунзена, соединённые с водоструйным насосом. Осадок переносили с фильтра таким же объемом щело-

чи и в те же конические колбы, затем вновь кипятили на водяной бане в течение одного часа. После третьей экстракции фильтрат становился прозрачным, то есть практически не содержал алломеланинов. Все три фильтрата после каждой экстракции объединяли в отдельной колбе.

2) Для получения алломеланинов фильтраты подкисляли 20% раствором соляной кислоты до pH 1-1,5, при этом раствор светлел и постепенно наблюдалось образование «творожистого» осадка (рис. 2). Для полноты образования осадка растворы выдерживали в колбах при комнатной температуре не менее двух, но не более 20 часов.



Рис. 2. Щелочной экстракт алломеланинов (слева) и после подкисления (справа)

Fig. 2. Alkaline extract of allomelanins (left) and that after acidification (right)

3) Для отделения осадка, содержащего алломеланины, от фугата, экстракт центрифугировали в течение 10 мин при 8 тыс. об/мин. Для последующих промывок использовали тот же режим центрифугирования. Это позволяет отделить алломеланины от низкомолекулярных и растворимых в кислой среде высокомолекулярных соединений (Fomenko et al., 2021).

4) Очистку осадка, содержащего алломеланины, от примесей осуществляли посредством последовательного промывания его горячей водой, 80% этанолом и ацетоном. Для этого к осадку добавляли нагретую воду, имеющую температуру 50°C (1:120 m:V), перемешивали стеклянной палочкой и центрифугировали. Однократная водная промывка позволяет сохранить кислое состояние раствора с pH<7 и тем самым избежать потерь алломеланинов. Фугат сливали, а осадок последовательно промывали двукратно 80% этанолом (1:80 m:V) и однократно ацетоном (1:80 m:V) с последующим центрифугированием после каждого этапа промывки.

5) Количественное определение алломеланинов осуществляли методом гравиметрии. Для этого осадок алломеланинов переносили из центрифужных пробирок небольшими объемами 80% этанола в предварительно высушенные и взвешенные фарфоровые чашечки и затем содержимое высушивали при температуре не выше 100°C до постоянного веса. Чашки охлаждали в эксикаторе и затем взвешивали (рис. 3).

6) Расчёт содержания алломеланинов в лузге и в цельных семенах, учитывая процент лузжистости, осуществляли по формулам 1 и 2:

$$X_{\text{лузга}} (\%) = \frac{(m_{\text{после}} - m_{\text{до}})}{m} \cdot 100 \quad (1)$$

$$X_{\text{семена}} (\%) = \frac{X_{\text{лузга}} \cdot X_{\text{лузжистость}}}{100} \quad (2)$$

где, $m_{\text{до}}$ – масса навески алломеланинов до высушивания, г;
 $m_{\text{после}}$ – масса навески алломеланинов после высушивания, г;
 $X_{\text{лузга}}$ – содержание алломеланинов в лузге подсолнечника, %;
 $X_{\text{лузжистость}}$ – лузжистость у семян подсолнечника, %;
 m – масса навески лузги, г

Чистый высушенный алломеланин представляет собой тёмный с глянцевым оттенком порошок, нерастворимый в воде и большинстве органических растворителей, частично растворимый в концентрированных серной и азотной кислотах и полностью растворимый в 0,1 М растворе гидроксида натрия. Средний размер частиц меланина лузги подсолнечника является минимальным по сравнению с меланинами другого происхождения и составляет 136,1 нм. Размер частиц микробного меланина – 228,8 нм, меланина чаги – 206,8 нм (Prutenskaia et al., 2016).

Существует несколько качественных реакций с мела-

нинами, которые необходимо использовать для подтверждения природы выделенного в результате экстракции соединения. При воздействии сильных окислителей пигменты теряют цвет в результате окисления гидрохиновых фрагментов меланинов и дальнейшей деградации полимера меланинов (Korytowski, Sarna, 1990).

Для проведения качественных реакций навеску выделенных алломеланинов предварительно растворяли в 0,1 М гидроксиде натрия (1:200 m:V) (рис. 4а). При

добавлении к раствору с пигментом 10 % перекиси водорода происходит обесцвечивание раствора (рис. 4б). При взаимодействии с раствором хлорида железа образуется коричневый осадок хлопьевидной основной структуры (рис. 4в), а в присутствии перманганата калия растворы меланинов изменяют окраску с красно-коричневой на зелёную в результате восстановления перманганата (рис. 4г).

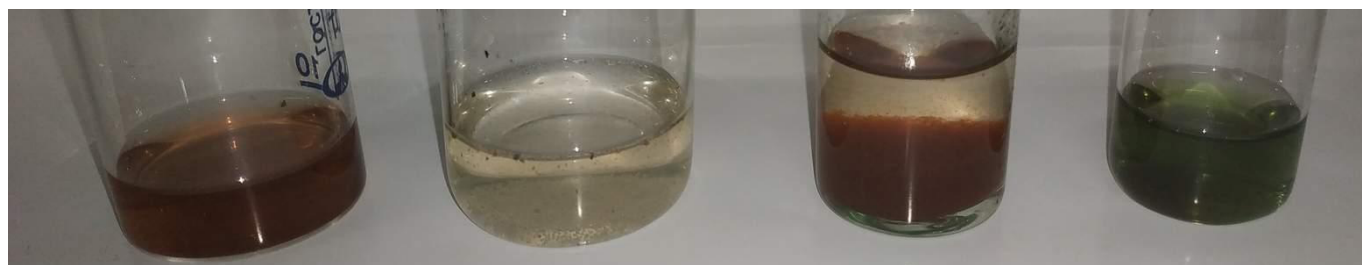


а)

б)

Рис. 3. Спиртовой экстракт алломеланинов до (а) и после высушивания (б)

Fig. 3. Alcohol extract of allomelanins before (a) and after drying (b)



а)

б)

в)

г)

Рис. 4. Качественные реакции на меланины (пояснения в тексте)

Fig. 4. Qualitative reactions to melanins (see text for comments)

Согласно проведенным ранее исследованиям, такое поведение пигментов характерно для меланинов и свидетельствует о присутствии в их структуре хиноидных и фенольных компонентов (Kartushina et al., 2016).

Поглощение выделенными алломеланинами света в диапазонах УФ и видимой части спектра (200-700 нм) представлено на рисунке 5.

В ходе исследования отмечено, что выделенное вещество демонстрирует сильное поглощение света в УФ-области с постепенным уменьшением оптической плотности по мере увеличения длины волны. Максимальный пик поглощения наблюдался при 220 нм в УФ области поглощения. Кроме того, не наблюдалось дополнитель-

ных пиков поглощения при 260 нм и 280 нм, что указывает на отсутствие нуклеиновых кислот, липидов и других белков в пигментах, выделенных из лузги подсолнечника (Saha et al., 2021).

Таким образом, результаты качественных реакций и спектрофотометрии подтверждают, что выделенное вещество является алломеланином высокой степени очистки.

На основе разработанного нами весового метода определения алломеланинов проведено изучение выборки семян подсолнечника из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова. Результаты по определению содержания пигментов в лузге и семенах представлены в таблице.

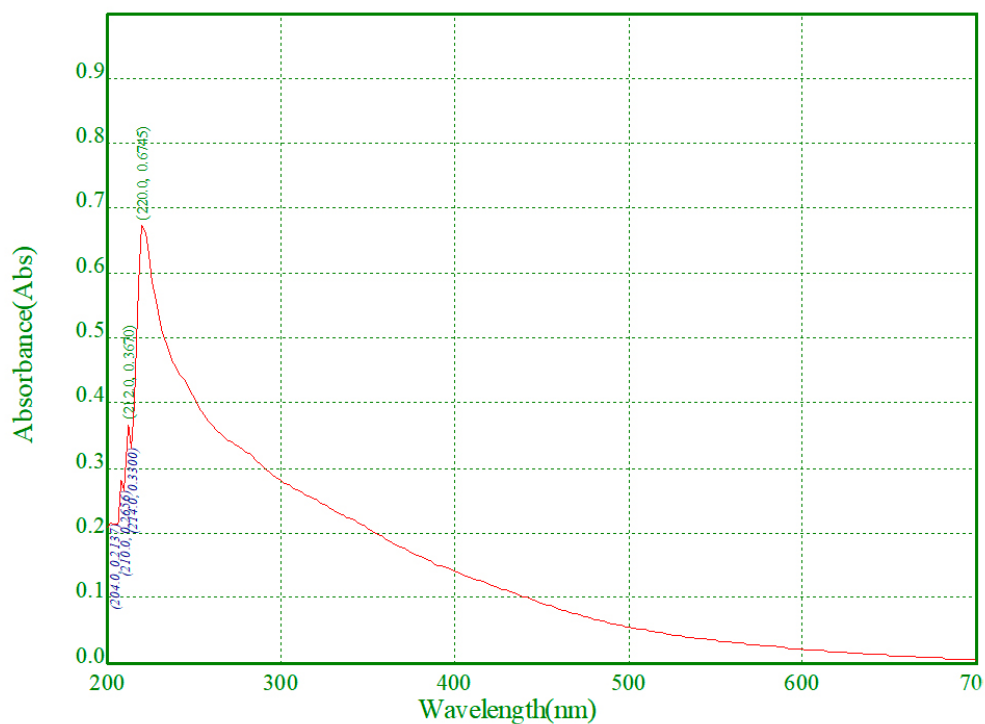


Рис. 5. Спектральные характеристики света, поглощаемого раствором алломеланинов в УФ и видимом диапазоне

Fig. 5. Spectral characteristics of light absorbed by allomelanin solution in the UV and visible ranges

Таблица. Содержание алломеланинов в исследуемых образцах

Table. Allomelanin content in the studied accessions

№/ No.	№ кат. ВИР, к-/ VIR cat. No., k-	Алломеланины/ Allomelanins, %		№/ No.	№ кат. ВИР, к-/ VIR cat. No., k-	Алломеланины/ Allomelanins, %	
		лузга/ husk	семена/ seeds			лузга/ husk	семена/ seeds
1	2776	8,67	2,01	18	3762	3,50	0,92
2	2936	5,67	2,23	19	3775	6,17	1,71
3	3417	4,50	1,74	20	3885	6,33	1,76
4	3511	7,83	2,30	21	3892	8,67	2,74
5	3513	4,83	2,25	22	3893	6,33	1,93
6	3515	4,17	1,13	23	3894	4,50	2,16
7	3554	5,17	1,46	24	3901	8,17	2,38
8	3568	3,50	0,98	25	641880	6,00	1,71
9	3606	6,83	1,97	26	641883	7,50	2,61
10	3639	5,83	1,59	27	641884	8,17	1,99
11	3643	5,00	1,13	28	641885	7,50	2,55
12	3647	3,00	0,90	29	641964	6,83	1,96
13	3649	1,50	0,40	30	641965	6,83	1,73
14	3693	6,00	1,27	Среднее/ Mean		5,73	1,69
15	3713	5,67	1,43	Мин/ Min		1,50	0,40
16	3760	3,50	0,90	Макс/ Max		8,67	2,74
17	3761	3,67	0,84	Стандартное отклонение/ Standard deviation		1,82	0,60

Содержание алломеланинов в лузге подсолнечника составило в среднем 5,73%, при этом минимальное количество – 1,5%, максимальное – 8,7%. В цельных семенах подсолнечника – от 0,4% до 2,7%, в среднем – 1,7%. Образцы с повышенным содержанием этих пигментов в лузге: к-2776, к-3511, к-3892, к-3901, к-641884; с пони-

женным содержанием – к-3568, к-3647, к-3649, к-3760, к-3762 (рис. 6). Между содержанием алломеланинов в лузге и цельных семенах обнаружена высокая положительная корреляция ($r = 0,83$). Полученные нами данные соответствуют результатам других исследователей (Özdemir, Keleş, 2018).

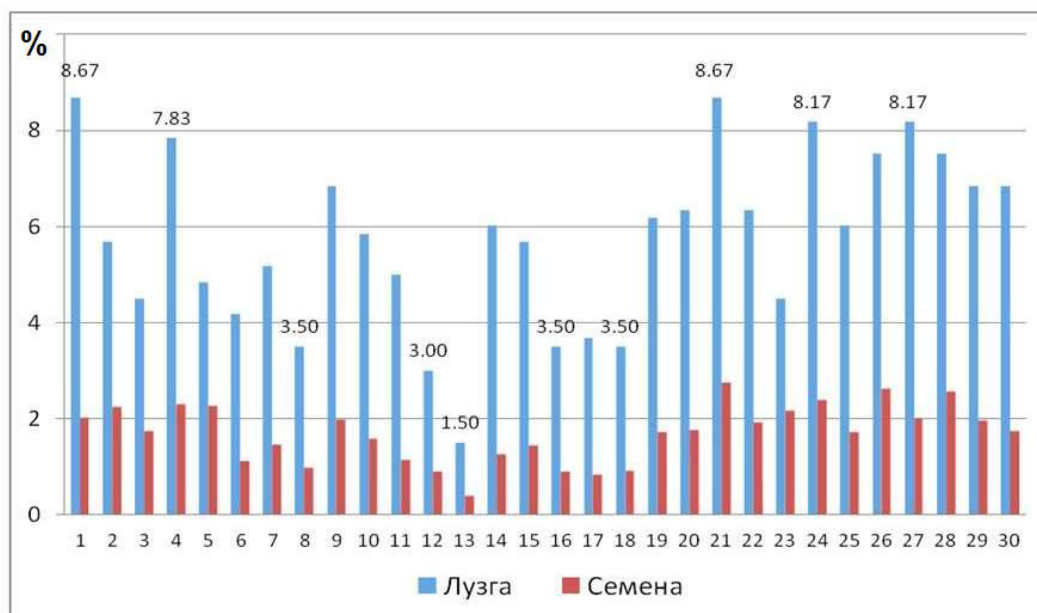


Рис. 6. Алломеланины (ось Y) в лузге и семенах образцов подсолнечника (ось X, см. Приложение)

Fig. 6. Allomelanins (Y-Axis) in husk and seed of sunflower accessions (X-Axis, see the Supplement)

Закключение

Алломеланины – это группа растительных пигментов, востребованных в различных отраслях современной промышленности (пищевой, косметической, фармацевтической, упаковочной). Оценка содержания меланинов в растительном сырье остается актуальной. В отличие от работы Ивановой и др. (Ivanova et al., 2019), предложенный нами модифицированный метод определения меланинов проводят без применения автоклава при атмосферном давлении, а осадок алломеланинов промывают до слабокислой среды, тем самым предотвращая их потери. Кроме того, для очистки выделенных алломеланинов применяют 80% этанол и 100% ацетон. Количественное определение меланинов осуществляется путем взвешивания очищенного осадка. Между содержанием алломеланинов в лузге и семенах обнаружена высокая положительная корреляция ($r = 0,83$). Метод позволяет проводить скрининговые исследования коллекционных образцов генетических ресурсов растений, выявлять образцы с высоким содержанием алломеланинов и в дальнейшем использовать их в качестве высоко меланинового сырья. Образцы подсолнечника с повышенным содержанием пигментов в лузге (к-2776, к-3511, к-3892, к-3901,

к-641884) являются источниками устойчивости к повреждению гусеницами подсолнечной огневки. Образцы с пониженным содержанием меланина к-3568, к-3647, к-3649, к-3760, к-3762 не рекомендуется использовать в дальнейшем селекционном процессе для закрепления устойчивости к этому вредителю.

References/Литература

- Alekseeva T.N., Oganessiants L.A., Krasnikova E.V., Rudometova N.V. Study of plant melanin as a food coloring agent for soft drinks (Issledovanie rastitel'nogo melanina kak pishchevogo krasitelya dlya bezalkogol'nykh napitkov). *Hranenie i pererabotka sel'khozsyrya* = Storage and processing of agricultural raw materials. 2008;7:40-43. [in Russian] (Алексеева Т.Н., Оганесянц Л.А., Красникова Е.В., Рудометова Н.В. Исследование растительного меланина как пищевого красителя для безалкогольных напитков. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2008;7:40-43).
- Alekseeva T.N., Oreshchenko A.V., Kulakova A.V., Durnev A.D., Samusenok L.V., Ogarkov B.N. Effect of plant melanin pigment on the clastogenic effects of chemical mutagens in mice (Vliyanie rastitel'nogo melaninovoogo pigmenta na klastogennyye efekty khimicheskikh mutagenov u myshey). *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* = Experimental and clinical pharmacology. 2001;6:56-59. [in Russian] (Алексеева Т.Н., Орещенко А.В., Кулакова А.В., Дурнев А.Д., Самусенок Л.В., Огарков Б.Н. Влияние растительного меланинового пигмента на кластогенные эффекты химических мутагенов у мышей.

- Экспериментальная и клиническая фармакология. 2001;6:56-59).
- Baraboi V.A. Structure, biosynthesis of melanins, their biological role and application prospects (Struktura, biosintez melaninov, ih biologicheskaya rol' i perspektivy primeneniya). *Uspekhi sovremennoy biologii = Advances in Current Biology*. 2001;12:1-12. [in Russian] (Барабой В.А. Структура, биосинтез меланинов, их биологическая роль и перспективы применения. *Успехи современной биологии*. 2001;12:1-12).
- Butterfield D.A. Spin labeling in disease. In: *Biological Magnetic Resonance*. L.J. Berliner, J. Reuben (eds.). New York: Springer Science and Business Media; 1982. Vol. 4. p.1-78. DOI: 10.1007/978-1-4615-6540-6_1
- Chu M., Hai W., Zhang Z., Wo F., Wu Q., Zhang Z., Shao Y., Zhang D. Sh.-zi, Jin L., Shi D. Melanin nanoparticles derived from a homology of medicine and food for sentinel lymph node mapping and photothermal *in vivo* cancer therapy. *Biomaterials*. 2016;91:182-199. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.03.018
- Duran J.M., Retamal N. Coat structure and regulation of dormancy in *Sinapis arvensis* L. seeds. *Plant Physiology*. 1989;135:218-222.
- Fomenko I.A., Ivanova L.A., Churmasova L.A., Degtyarev I.A. Production of water-soluble phytomelanins using various mineral acids. *Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov*. 2021;17(2):64-68. [in Russian] (Фоменко И.А., Иванова Л.А., Чурмасова Л.А., Дегтярев И.А. Получение водорастворимых фитомеланинов с использованием различных минеральных кислот. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2021;17(2):64-68).
- Gashnikova N.M., Balakhnin S.M., Teplyakova T.V., Anan'ko G.G., Kosogova T.A., Suhli A.S. Antiretroviral activity of melanins from natural and cultivated chaga (*Inonotus obliquus*) (Antiretrovirusnaya aktivnost' melaninov iz prirodnoy i kul'tiviruemy chagi (*Inonotus obliquus*)). *Uspekhi meditsinskoj mikologii = Advances in Medical Mycology*. 2014;12:299-301. [in Russian] (Гашикова Н.М., Балахнин С.М., Теплякова Т.В., Ананько Г.Г., Косогова Т.А., Сухих А.С. Антиретровирусная активность меланинов из природной и культивируемой чаги (*Inonotus obliquus*). *Успехи медицинской микологии*. 2014;12:299-301).
- Gerdemann C., Eicken C., Krebs B. The crystal structure of catechol oxidase: new insight into the function of type-3 copper proteins. *Accounts of Chemical Research*. 2002;35:183-191.
- Gracheva N.V., Zheltobryukhov V.F. Method for obtaining melanin from sunflower husk and study of its antioxidant activity (*Sposob polucheniya melanina iz luzgi podsolnechnika i issledovanie ego antioksidantnoy aktivnosti*). *Vestnik Tehnologicheskogo universiteta = Bulletin of the Technological University*. 2016;19(15):154-157. [in Russian] (Грачева Н.В., Желтобрюхов В.Ф. Способ получения меланина из лузги подсолнечника и исследование его антиоксидантной активности. *Вестник Технологического университета*. 2016;19(15):154-157).
- Grossi G.F., Durante M., Gvalanella G. Effects of melanin on high-LET radiation response of human epithelial cells. *Radiation and Environmental Biophysics*. 1998;37:63-67.
- Hill H. The function of melanin or six blind people examine an elephant. *BioEssays*. 1992;14(1):49-56. DOI: 10.1002/bies.950140111
- Iuasifov E.Yu. Effect of melanin on the free-radical state of gamma-irradiated proteins and lipids (Vliyaniye melanina na svobodno-radikal'noe sostoyaniye gamma-obluchennykh belkov i lipidov. *Radiobiologiya = Radiobiology*, 1987;27(1):8-11. [in Russian] (Юасифов Э.Ю. Влияние меланина на свободнорадикальное состояние гамма-облученных белков и липидов. *Радиобиология*. 1987;27(1):8-11).
- Ivanova L.A., Fomenko I.A., Sergeeva D.A., Churmasova L.A., Kabarzhan Zh.K. Development of technologies for producing phytomelanins on waste oil production. *Health, Food and Biotechnology*. 2019;1(2):136-146. [in Russian] (Иванова Л.А., Фоменко И.А., Сергеева Д.А., Чурмасова Л.А., Кабаржан Ж.К. Разработка технологии получения фитомеланинов на отходах масличного производства. *Health, Food and Biotechnology*. 2019;1(2):136-146). DOI: 10.36107/hfb.2019.i2.s245
- Jana B., Mukherjee S. Notes on the distribution of phytomelanin layer in higher plants – a short communication. *Journal of Pharmaceutical Biology*. 2004;4(3):131-132.
- Kablov V.F., Novopoltseva O.M., Gracheva N.V., Zheltobryukho V.F., Dao Ph.K. Prospects of application of melanins as antiaging agents in elastomer compositions. *Vietnam Journal of Chemistry*. 2019;57(2):255-260. DOI: 10.1002/vjch.201960024
- Kartushina Yu.N., Kirichenko M.A., Sevriukova G.A. Obtaining melanin based on waste from oil extraction production (Poluchenie melanina na osnove otkhodov masloeekstraktsionnogo proizvodstva). *Vestnik Tehnologicheskogo universiteta = Bulletin of the Technological University*. 2016;19(16):124-126. [in Russian] (Картушина Ю.Н., Кириченко М.А., Севрюкова Г.А. Получение меланина на основе отходов маслоэкстракционного производства. *Вестник Технологического университета*. 2016;19(16):124-126).
- Korytowski W., Sarna T. Bleaching of melanin pigments. Role of copper ions and hydrogen peroxide in autooxidation and photooxidation of synthetic dopa-melanin. *Biological Chemistry*. 1990;265(21):12410-12416.
- Liakh S.P., Bulgak M.L., Isaev A.G. Astromelanin: a therapeutic agent for melanotharapy: the book is dedicated to the 40th anniversary of the study of the Antarctic black yeast *Nadsoniella nigra* var. *hesuelica* and their melanopigment AstroMelanin. Moscow; 2007. [in Russian] (Лях С.П., Булгак М.Л., Исаев А.Г. Астромеланин: лечебное средство для меланотерапии: книга посвящена 40-летию изучения антарктических черных дрожжей *Nadsoniella nigra* var. *hesuelica* и их меланопигмента АстроМеланина. Москва; 2007).
- Lopusiewicz L., Drozłowska E., Trocer P., Kostek M., Śliwiński M., Henriques M.H.F., Bartkowiak A., Sobolewski P. Whey protein concentrate/ isolate biofunctional films modified with melanin from watermelon (*Citrullus lanatus*) seeds. *Materials*. 2020;13(17):3876. DOI: 10.3390/ma13173876
- Novikov D.A., Kurchenko V.P., Azarko I.I. Photoprotective properties of melanins from grape (*Vitis vinifera*) and black tea (*Thea sinensis*). *Radiation biology. Radioecology*. 2001;41(6):664-670. [in Russian] (Новиков Д.А., Курченко В.П., Азарко И.И. Фотопротективные свойства меланинов из винограда (*Vitis vinifera*) и черного грузинского чая (*Thea sinensis*). *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2001;41(6):664-670).
- Özdemir Ö., Keleş Y. Extraction, purification, antioxidant properties and stability conditions of phytomelanin pigment on the sunflower seeds. *International Journal of Secondary Metabolite*. 2018;5(2):140-148 DOI: 10.21448/ijsm.377470
- Park K.I., Ishikawa N., Morita Y. Choi J.D., Hoshino A., Iida S. A *bHLH* regulatory gene in the common morning glory, *Ipomoea purpurea*, controls anthocyanin biosynthesis in flowers, proanthocyanidin and phytomelanin pigmentation in seeds, and seed trichome formation. *The Plant Journal*. 2007;49(4):641-654. DOI: 10.1111/j.1365-3113X.2006.02988.x
- Perestova T.A. Method of early diagnosis of the incrustation of sunflower achenes: (guidelines) (*Sposob ranney diagnostiki pantsirnosti semyanok podsolnechnika*). Krasnodar: VNIIMK; 1988. [in Russian] (Перестова Т.А. Способ ранней диагностики панцирности семян подсолнечника: методические указания. Краснодар: ВНИИМК; 1988).
- Pralea I.E., Moldovan R.C., Petrache A.M., Ilieș M., Hegheș S.C., Ielciu I., Nicoară R., Moldovan M., Ene M., Radu M., Uifălean A., Iuga C.-A. From extraction to advanced analytical methods: the challenges of melanin analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(16):3943. DOI: 10.3390/ijms20163943
- Prutenskaia E.A., Vasil'ev A.S., Lebedeva E.Yu., Ushchapovsky I.V., Silchenko V.A. Comparative characteristics of the structure of melanins of different origin (Sravnitel'naya kharakteristika struktury melaninov razlichnogo proiskhozhdeniya). *International Scientific Journal. Symbol of Science*. 2016;11(3):11-13. [in Russian] (Прутенская Е.А., Васильев А.С., Лебедева Е.Ю., Ущачовский И.В. Сравнительная характеристика структуры меланинов различного происхождения. *Международный научный журнал. Символ науки*. 2016;11(3):11-13).
- Rogers C.E., Kreitner G.L. Phytomelanin of sunflower achenes: a

- mechanism for pericarp resistance to abrasion by larvae of the sunflower moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*. 1983;12(2):277-285. DOI: 10.1093/ee/12.2.277
- Saha L., Tiwari J., Baudh K., Ma Y. Recent developments in microbe-plant-based bioremediation for tackling heavy metal-polluted soils. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:731723. DOI: 10.3389/fmicb.2021.731723.
- Sava V.M., Yang S.-M., Hong M.-Y., Yang P.-C., Huang G.S. Isolation and characterization of melanic pigments derived from tea and tea polyphenols. *Food Chemistry*. 2001;73:177-184. DOI: 10.1016/S0308-8146(00)00258-2
- Shkolnikova M.N., Kadritskaya E.A. Rationale for the use of buckwheat husk for the production of functional food colors. *Scientific Journal NRU ITMO. Series: Processes and Food Production Equipment*. 2020;4:22-28. [in Russian] (Школьникова М.Н., Кадрицкая Е.А. Обоснование использования лужги гречихи для получения функциональных пищевых красителей. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств*. 2020;4:22-28). DOI: 10.17586/2310-1164-2020-10-4-22-28
- Shoeva O.Y., Mursalimov S.R., Gracheva N.V., Glagoleva A.Y., Börner A., Khlestkina E.K.. Melanin formation in barley grain occurs within plastids of pericarp and husk cells. *Scientific Reports*. 2020;10(1):179. DOI: 10.1038/s41598-019-56982-y
- Solano F. Melanins: Skin Pigments and Much More – Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes. *New Journal of Science*. 2014(5):1-28. DOI: 10.1155/2014/498276
- Varga M., Berkesi O., Darula Z., May N.V., Palágyi A. Structural characterization of allomelanin from black oat. *Phytochemistry*. 2016;130:313-320. DOI: 10.1016/j.phytochem.2016.07.002
- Vorontsova Z.A., Ivanov A.A., Nikityuk D.B., Avanesova A.A. Some morphoclinical evidence about radioprotective melanin character (literature report). *Bulletin of New Medical Technologies*. 2016;4:295-302. [in Russian] (Воронцова З.А., Иванов А.А., Никитюк Д.Б., Аванесова А.А. Некоторые морфоклинические доказательства радиопротективного характера меланинов (обзор литературы). *Вестник новых медицинских технологий*. 2016;4:295-302). DOI: 10.12737/22219

Информация об авторах

Виталий Сергеевич Попов, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, popovitaly@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3274-7662>

Дмитрий Львович Корнюхин, научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, dkor4@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9181-5368>

Татьяна Васильевна Шеленга, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, tatianashelenga@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3992-5353>

Вера Алексеевна Гаврилова, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, v.gavrilova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8110-9168>

Валентина Ивановна Хорева, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, horeva43@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2762-2777>

Information about the authors

Vitaliy S. Popov, Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, popovitaly@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3274-7662>

Dmitry L. Kornukhin, Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, dkor4@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9181-5368>

Tatiana V. Shelenga, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, tatianashelenga@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3992-5353>

Vera A. Gavrilova, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, v.gavrilova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8110-9168>

Valentina I. Khoreva, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, horeva43@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2762-2777>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 25.12.2024; одобрена после рецензирования 17.02.2025; принята к публикации 19.03.2025.

The article was submitted on 25.12.2024; approved after reviewing on 17.02.2025; accepted for publication on 19.03.2025.