

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНТОЦИАНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПЛОДОВ РЯБИНЫ ЧЕРНОПЛОДНОЙ

Т. А. Брежнева, Е. Е. Логвинова, А. И. Сливкин, В. Н. Тарабрина

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 26.02.2013 г.

Аннотация. Проведены исследования спектральных характеристик антоциановых соединений плодов рябины черноплодной. Установлена зависимость этих характеристик от природы и pH экстрагента, что свидетельствует о лабильности структуры антоцианов в условиях эксперимента. Рекомендованы оптимальные условия определения, а так же извлечения антоцианов из растительного сырья.

Ключевые слова: Антоцианы, плоды рябины черноплодной, спектрофотометрические характеристики.

Abstract. The investigations of the spectral characteristics of anthocyanin compounds of fruits chokeberry. The dependence of these properties on the nature and the pH of the extractant, indicating lability of anthocyanin structure in the experimental conditions. Recommended to determine the optimal conditions, as well as extraction of anthocyanins from plant material.

Keywords: Antocyanins, spectrophotometric characteristics, fruits of a mountain ash chernoplodny.

ВВЕДЕНИЕ

Черноплодная рябина (*Aronia melanocarpa*) - растение семейства розоцветных, плоды которой используют в пищевых и медицинских целях. Густая темно-фиолетовая окраска плодов аронии свидетельствует о высоком содержании в них антоциановых соединений.

Антоцианы как вещества флавоноидной структуры, обладают антиокислительной активностью, которая важна при лечении целого ряда серьезных заболеваний. Состав БАВ плодов аронии и высокое содержание в них антоцианов, позволяет прогнозировать высокую биологическую активность данного вида ЛРС, а так же перспективность исследований как самого ЛРС, так и извлечений, полученных из плодов аронии.

Исследования БАВ растительных объектов, проводимые в аналитических, технологических или каких-либо других целях, требуют методов контроля основных групп соединений в извлечениях.

Поскольку антоцианы окрашены, специфичным для их определения должен оказаться метод спектрофотометрии в видимой области спектра. По данным литературы, в диапазоне длин волн $\lambda = 510-540$ нм имеют максимумы поглощения боль-

шинство природных антоцианов. Более точное положение максимума для каждого антоцианосодержащего объекта индивидуально и зависит от ряда факторов [1].

В настоящей работе была исследована зависимость спектральных характеристик извлечений из плодов аронии от двух важнейших факторов: природы (полярности) и pH применяемого экстрагента.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлись высушенные плоды рябины черноплодной, приобретенные через аптечную сеть г. Воронежа.

Плоды предварительно измельчали, выделяя фракцию сырья 0.5 – 1 мм. Для извлечения антоцианов использовали экстрагенты различной природы: воду очищенную, а так же водные спирты с содержанием этанола 40, 70 и 95 %, не подкисленные и подкисленные кислотой хлороводородной до концентрации 1%. Извлечения получали при температуре 20 и 40 °С с периодическим перемешиванием в течение 1 часа. Соотношение сырье – экстрагент 1 : 50. По окончании экстракции извлечение отфильтровывали от остатков сырья, доводили до нужного значения pH и спектрофотометрировали на спектрофотометре Hitachi U1900 относительно экстрагента, применяемого для извлечения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для выделения антоцианов из растительного сырья чаще всего используются стабилизирующие окраску кислотные экстрагенты – водные растворы HCl с рН = 1.2 – 2.0 или подкисленные до тех же значений рН спирто-водные смеси. Наличие в получаемых извлечениях кислотного компонента вызывает определенные осложнения при дальнейшем их использовании, поэтому в литературе все чаще рассматривается возможность извлечения антоцианов из сырья водой или водными спиртами без подкисления. При проведении исследования были применены все эти экстрагенты.

Общий вид спектров извлечений, полученных разными экстрагентами в различных условиях, сходен, поэтому на рис. 1 представлен один из них.

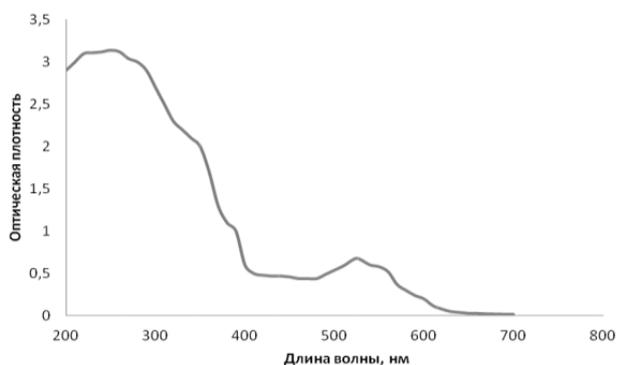


Рис. 1. Общий вид спектра извлечения из высушенных плодов рябины черноплодной, полученного при их экстрагировании 40% этанолом, подкисленным HCl до концентрации 1 %

Как видно из данных рисунка, спектр имеет выраженную полосу поглощения в области 220 – 280 нм, вклад в формирование которой могут вносить как сами антоцианы, имеющие интенсивное поглощение в коротковолновой области спектра с максимумом в диапазоне 240 – 260 нм, так и сопутствующие им при извлечении соединения, поглощающие в той же области спектра. На сум-

марный характер полосы указывает и ее ширина, и отсутствие четких максимумов, объясняющиеся наложением полос поглощения большого количества соединений разной структуры, присутствующих в извлечении. В дальнейших исследованиях данная область спектра как малоспецифичная отдельно не рассматривалась.

Второй максимум, имеющий вид плеча в области 310 – 360 нм описан в работах с образцами индивидуальных антоцианов как максимум, образующийся вследствие наложения спектров ацилирующих кислот на спектр самого гликозида и свидетельствующий о наличии в структуре молекул антоцианов ацилированных структур [2]. Общий вид этого максимума так же говорит о его суммарном характере и неспецифичности соответствующих определений.

Значительно больший интерес представляет собой максимум в видимой области спектра в диапазоне длин волн $\lambda = 510 - 530$ нм.

Этот максимум достаточно хорошо выражен, находится в длинноволновой области спектра, где имеют поглощение только окрашенные соединения, в диапазоне длин волн, по данным литературы, характерным для индивидуальных антоцианов. Все это дает право рассматривать данный максимум как специфичный, принадлежащий присутствующим в извлечении веществам антоциановой природы, а, значит, пригодный для качественного (идентификация) и количественного определения антоциановых соединений в исследуемых объектах.

Поскольку наиболее специфичными для определения антоцианов в суммарных извлечениях являются максимумы при $\lambda = 510-540$ нм, далее анализировалась только видимая область спектра.

В табл.1 представлены спектральные характеристики извлечений из плодов аронии, полученные с использованием водных и спиртовых экстрагентов (подкисленных и неподкисленных), имеющих разную полярность.

Таблица 1

Спектральные характеристики извлечений из плодов аронии, полученные с использованием различных экстрагентов

Экстрагент	Этанол						Вода	
	40%	70%	90%	40% + 1%HCl	70% + 1%HCl	90% + 1%HCl	H ₂ O	H ₂ O + 1%HCl
Положение максимума в спектре, λ_{max} , нм	533	537	540	525	529	536	517	513
Оптическая плотность	1.02	1.33	0.27	2.47	2.38	1.06	0.49	0.94

На основании данных таблицы оптимальным экстрагентом можно считать 40% этанол, подкисленный HCl до pH до концентрации 1 % (оптическая плотность извлечения в максимуме поглощения антоцианов, максимальна). При экстракции антоцианов нейтральными спиртами оптимален этанол 70%.

На основании данных таблицы можно сделать вывод о том, что полярность экстрагента оказывает существенное влияние на спектральные характеристики извлечений из растительного сырья, а именно, на положение максимума поглощения антоцианов и на его интенсивность (оптическую плотность). Можно отметить гипсохромное смещение максимума поглощения антоцианов с увеличением полярности экстрагента. Наименьшие длины волн максимумов наблюдаются для воды как наиболее полярного экстрагента. В спиртовых экстрагентах максимум смещается в коротковолновую область спектра по мере снижения доли спирта в экстрагенте (увеличения полярности с ростом доли воды). Подобное смещение для индивидуальных антоцианов некоторых растений было отмечено в работах [3,4]. Смещение, предположительно, объясняется образованием межмолекулярной водородной связи между водородными гидроксидными группами фенольного кольца В в структуре молекул антоцианов и водородом гидроксидных групп растворителя.

Смещение максимумов может объясняться так же разницей в растворимости отдельных антоцианов смеси в данных экстрагентах, что приводит к изменению качественного состава смеси и преобладанию отдельных индивидуальных соединений со своими специфическими спектральными характеристиками.

В результате сравнения значений оптической плотности в полученных максимумах для исследуемых извлечений может быть отмечено максимальное ее значение для подкисленных экстрагентов по сравнению с нейтральными. Это может объясняться как лучшей экстрагирующей способностью последних, так и лабильностью структур антоцианов в зависимости от pH среды растворения.

На следующем этапе исследований было изучено влияние этого фактора на спектральные характеристики извлечений. Результаты, полученные для одного из экстрагентов приведены на рис. 2.

На основании данных рисунка можно сделать вывод о том, что значение pH экстрагента оказывает существенное влияние на вид спектра антоцианосодержащих извлечений. С ростом pH

растворителя от 2 до 7 максимум поглощения антоцианов в видимой области спектра претерпевает некоторое смещение в длинноволновую область с одновременным уширением полосы поглощения, приводящим при pH = 4 и 7 к сглаживанию максимумов с вырождением их в плечо. Одновременно наблюдается и рост оптической плотности, достигающий максимального значения при pH = 4. Данные изменения могут быть связаны с переходом при увеличении pH среды окрашенной в красный цвет протонированной формы антоцианидинов в равновесные с ними формы халкона, имеющие желтую окраску, а так же нарастание содержания равновесной с этими формами неокрашенной карбинольной структуры.

При кислотности среды pH = 4, по данным литературы [5], в растворе накапливаются так же и голубые хиноидные формы (рис. 3).

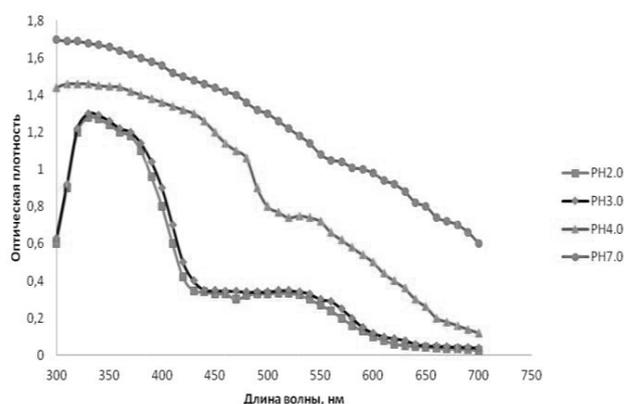


Рис. 2. Общий вид спектра извлечения из высушенных плодов рябины черноплодной 70 % этанолом при различных значениях pH.

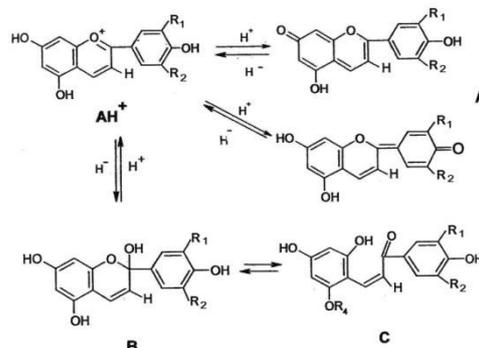


Рис. 3. Равновесные формы антоцианидина в водном растворе при pH ≤ 4: AH⁺ - флавилиевый катион; А – хиноидные формы (ангидрооснования); В – карбинольная форма (псевдооснование); С- халкон.

Очевидно, что и положение максимумов в спектре антоцианосодержащих извлечений из данного конкретного объекта, и их интенсивность

будут определяться суммарным эффектом различных структур, находящихся в равновесии при данном фиксированном значении рН. При изменении рН среды происходит постоянное изменение структуры антоцианов, содержащихся в извлечении и их соотношения между собой, приводящее к изменению их спектральных характеристик.

Таким образом, вне зависимости от условий выделения, условия спектофотометрирования должны предусматривать четкую фиксацию значения рН пробы. В извлечениях из плодов аронии наиболее четкий максимум в спектре наблюдается при $\text{pH} \leq 2$, где, по данным литературы, преобладает красная катионная форма, поэтому именно это значение рН может быть рекомендовано в качестве оптимального при обработке соответствующих методик определения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было показано, что спектральные характеристики, а, следовательно, состав и структура антоцианов в извлечениях из плодов рябины черноплодной зависят от природы и рН экстрагента, что должно учитываться при их извлечении из сырья и дальнейшем определении. Оптимальным экстрагентом

можно считать 40% этанол, подкисленный HCl до рН до концентрации 1 %. При экстракции антоцианов нейтральными спиртами оптимален этанол 70%.

Оптимальным условием определения антоцианов аронии является фиксированное значение $\text{pH}=2$, при котором наблюдается наиболее четкий максимум в видимой области спектра, положение которого зависит от природы экстрагента, применяемого для извлечения антоцианов из сырья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Timberlake C.F. Anthocyanins – Occurrence, Extraction and Chemistry / C.F. Timberlake // Food Chem. — 1980. — №5. — P. 69-80.
2. Пиментел Дж. Водородная связь / Дж. Пиментел, О. Мак-Клеллан. — М.: Наука, 1964. — 462 с.
3. Райхард К. Растворители и эффекты среды в органической химии / К. Райхард. — М.: Мир, 1991. — 763 с.
4. Lister C.E. Pigments: Not just a pretty face / C.E. Lister, H.J. Simmonds // Proc. Nutr. Soc. N.Z. — Vol. 199. № 24. — P. 34-39.
5. Harborne J.B. Anthocyanins and other flavonoids / J.B. Harborne, C.A. Williams // J. Natural Product Reports. — 1998. — P. 631-652.

Брежнева Татьяна Александровна — доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, фармацевтического факультета ВГУ, к.фарм.н.; e-mail: t_brezhneva@mail.ru

Логвинова Елизавета Евгеньевна — ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, фармацевтического факультета ВГУ, e-mail: liza-ugl@mail.ru

Сливкин Алексей Иванович — д.ф.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета ВГУ, e-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Тарабрина Виктория Николаевна — студентка 4 курса фармацевтического факультета ВГУ, e-mail: nika-love-10@mail.ru

Brezhneva Tatyana A. — the associate professor of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, pharmaceutical faculty of VSU, PhD; e-mail: t_brezhneva@mail.ru

Logvinova Elizaveta E. — the assistant to chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, pharmaceutical faculty of VSU, e-mail: liza-ugl@mail.ru

Slivkin Alexey I. — PhD. professor, department chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, dean of pharmaceutical faculty of VSU, e-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Tarabrina Victoria N. — the student 4 courses of pharmaceutical faculty of VSU, an e-mail: nika-love-10@mail.ru