

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ИЗВЛЕЧЕНИЯ АНТОЦИАНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛИСТЬЕВ РЯБИНЫ ЧЕРНОПЛОДНОЙ

Е. Е. Логвинова, Т. А. Брежнева, А. И. Сливкин, Е. И. Недолужко

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 15.03.2016 г.

Аннотация. Осуществлен выбор оптимальных условий извлечения антоцианов из высушенных листьев рябины черноплодной. Проведен сравнительный анализ содержания антоциановых соединений в листьях рябины черноплодной, заготовленных в различные периоды вегетации.

Ключевые слова: Рябина черноплодная, лейкоантоцианы, сумма антоциановых соединений, спектрофотометрические характеристики.

Abstract. Spend a selection of the optimal conditions of anthocyanins extracted from the dried leaves of black chokeberry. A comparative analysis of the contents of anthocyanin compounds in the leaves of black chokeberry, harvested in different periods of vegetation.

Keywords: Black chokeberry, leucoanthocyanins, the amount of anthocyanin compounds spectrophotometric characteristics.

Лейкоантоцианы - это группа неустойчивых флавоноидов, которые по своим химическим свойствам близки к восстановительным полифенолам – катехинам. Они являются бесцветными предшественниками антоцианов, переходящими в антоциановые соединения под действием хлороводородной кислоты даже при отсутствии кислорода [1].

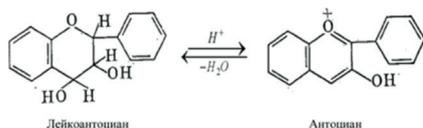


Рис. 1. Превращение лейкоантоцианов в антоцианы в кислой среде [1].

Данная группа БАВ накапливается под действием света при достаточном количестве сахаров и содержится в значительных количествах в различных частях растений.

В качестве природного источника антоциановых пигментов могут использоваться такие растения, как черная смородина (*Ribes Nigrum*), черноплодная рябина (*Aronia melanocarpa*), карка-

дэ (*Hibiscus sabdariffa* L.), красный виноград (*Vitis vinifera*) и др..

Рябина черноплодная – растение семейства розоцветные (*Rosaceae*), интродуцированное во всех экологогеографических районах России. Плоды аронии обладают широким спектром фармакологической активности, сочетающей в себе антиоксидантное, бактерицидное и солнцезащитное действие [2-5].

В связи с тем, что природные биологически активные соединения имеют целый ряд преимуществ по сравнению с синтетическими аналогами, в настоящее время особый интерес представляет поиск новых перспективных источников антоциановых соединений с целью создания лекарственных средств на их основе.

Целью настоящего исследования являлось изучение возможности использования в качестве источника антоцианов не только плодов, но и листьев рябины черноплодной, а так же подбор оптимальных условий их экстрагирования.

Объектом исследования служили образцы высушенных измельченных листьев рябины черноплодной, заготовленные летом в период цветения растения и осенью, когда листья аронии приобретают ярко-красное окрашивание. Заготовку расти-

тельного сырья проводили в 2015 году на территории Воронежской области от культивируемого растения. Сушка и стандартизация проводились согласно требованиям ГФ XIII [6].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

На первом этапе исследования были проведены эксперименты по подбору оптимального экстрагента для извлечения антоцианов из высушенных листьев аронии. В качестве экстрагентов были использованы вода, водно-спиртовые смеси с различной концентрацией (40%, 60%, 70%, 80%, 90% 95%), а также водно-спиртовые смеси тех же концентраций с добавкой 1% кислоты хлороводородной, обеспечивающей переход лейкоантоцианов в антоцианы в момент извлечения [7- 11].

Содержание антоцианов в извлечении определяли спектрофотометрически по величине оптической плотности в максимуме их поглощения в диапазоне $\lambda=510-540$ нм.

Около 1 г (т.н.) измельченного и высушенного сырья помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл экстрагента. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане 3.5 часа (оптимальное время экстрагирования подбирали в отдельных экспериментах). Затем колбу охлаждали до комнатной температуры, извлечение фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл. После соответствующих разведений пробу подкисляли и анализировали на спектрофотометре «Hitachi U-1900». О количестве антоцианов, перешедших из сырья в извлечение судили по величине оптической плотности в характерном для антоцианов максимуме поглощения. Результаты определений представлены в табл.1. и на рис.2.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании значений оптической плотности извлечений из сырья, представленных в табл. 1 и на рис. 2, можно сделать вывод о том, что листья аронии содержат достаточно большое количество соединений антоциановой природы.

Максимальное количество антоциановых соединений извлекает подкисленный спирт этиловый в концентрации 95%.

Сравнение значений оптической плотности извлечений из листьев, полученных экстракцией подкисленными и нейтральными спиртами, представленных в табл. 1, позволяет сделать вывод о том, что максимальной извлекающей способностью обладают подкисленные HCl экстрагенты.

Таблица 1

Оптическая плотность извлечений из листьев аронии черноплодной, полученных с применением различных экстрагентов

Состав экстрагента	Оптическая плотность извлечения из высушенного сырья в диапазоне поглощения антоцианов* ($\lambda=510-550$ нм)
Этанол 40%	0.100
Этанол 60%	0.090
Этанол 70%	0.060
Этанол 80%	0.084
Этанол 90%	0.210
Этанол 95%	0.089
Вода	0.010
Этанол 40%+1%HCl	0.514
Этанол 60%+1%HCl	0.224
Этанол 70%+1%HCl	0.348
Этанол 80%+1%HCl	0.492
Этанол 90%+1%HCl	0.400
Этанол 95%+1%HCl	0.939
Вода+1%HCl	0.261
0,1M HCl	0.019

● - разведение в 15 раз

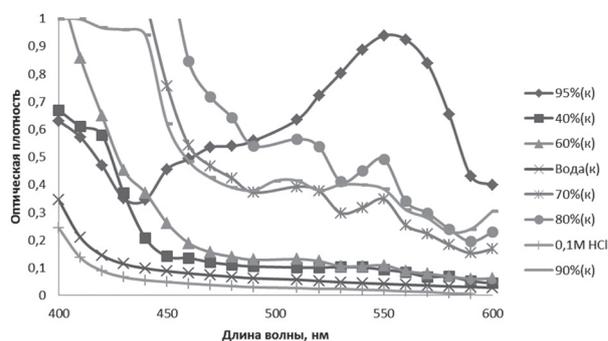


Рис. 2. Спектры поглощения извлечений из листьев рябины черноплодной, полученных с применением подкисленных спирто-водных растворов различной концентрации.

Нейтральные экстрагенты и 0.1M HCl водная не обладают значительной извлекающей способностью.

На следующем этапе было подобрано оптимальное время экстрагирования антоцианового комплекса из листьев аронии черноплодной подкисленным 95 % этанолом. Отбор проб проводили с использованием следующих временных интервалов: 60 мин., 120 мин., 150 мин., 180 мин., 205 мин, 210 мин и 240 мин. Результаты исследования представлены на рис. 3.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что оптимальным временем экстрагирования является время 205 мин.

С использованием выбранных параметров экстрагирования далее устанавливали оптимальное

соотношение сырье - экстрагент при извлечении антоцианов из листьев аронии. Перед измерением оптической плотности все извлечения доводили до одинакового конечного объема. Результаты представлены в табл. 2 и на рис. 4.

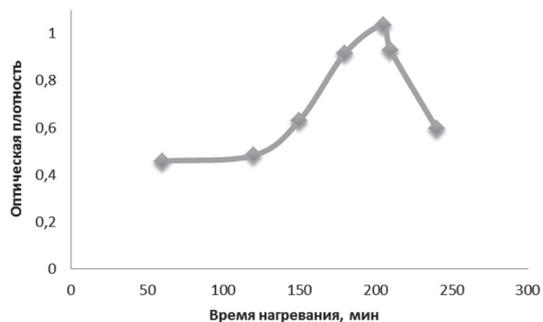


Рис. 3. Изменение оптической плотности извлечений из листьев аронии в зависимости от времени экстрагирования подкисленным 95% этанолом ($\lambda = 540$ нм).

Таблица 2

Эффективность извлечения антоцианов из листьев рябины черноплодной в зависимости от соотношения сырье-экстрагент

Соотношение сырье:экстрагент	Длина волны (λ), нм	Оптическая плотность	Содержание антоцианов, %
1:05	540 нм	0.470	0.653±0.002
1:10	540 нм	1.030	1.430±0.003
1:15	540 нм	0.386	0.536±0.002
1:20	540 нм	0.352	0.489±0.001
1:30	540 нм	0.118	0.163±0.002
1:40	540 нм	0.104	0.144±0.005
1:50	540 нм	0.100	0.122±0.002

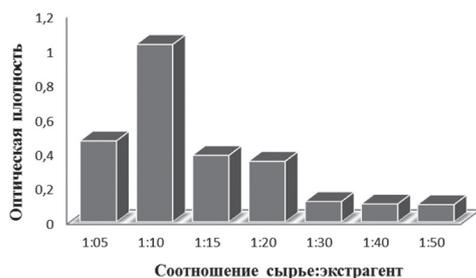


Рис. 4. Результаты определения оптической плотности 95% подкисленных спиртовых извлечений из высушенных листьев аронии черноплодной в зависимости от соотношения сырье-экстрагент.

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антоцианов в листьях аронии черноплодной в пересчете на цианидин-3-О-гликозид

Объект исследования	Параметры							
	f	\bar{X}	S ²	S	S _x	t(P, f)	± Δx	E, %
Листья аронии черноплодной	6	0.582	0.0022	0.0471	0.0192	2.45	0.115	1,9

Из таблицы 2 и рисунка 4 следует, что максимальный выход антоцианов в извлечение наблюдается при соотношении сырье : экстрагент 1:10.

Дальнейшее увеличение количества экстрагента приводит к постепенному снижению оптической плотности, что указывает на снижение количества антоцианов, извлекаемых из лекарственного растительного сырья.

На заключительном этапе исследования в подобранных нами условиях провели сравнительный анализ количественного содержания антоциановых соединений в листьях рябины черноплодной, собранных в различные периоды вегетации. Ввиду отсутствия стандартного образца антоциана для расчетов использовали значение удельного коэффициента поглощения антоцианов в пересчете на цианидин-3-О-гликозид (E=100), взятое из литературных данных [12].

Полученные результаты представлены в таблице 3:

Таблица 3

Результаты сравнительного анализа содержания антоциановых соединений в высушенных листьях рябины черноплодной в пересчете на цианидин

Группа БАВ	Содержание антоцианов, %	
	Зеленые листья (Листья, заготовленные в период вегетативного роста)	Красные листья (Листья, заготовленные в переходный осенний период)
Антоцианы	0.572± 0.002%	0.692± 0.005 %

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что большее количество антоциановых соединений содержится в красных листьях.. Возможно, это связано с более поздним временем заготовки сырья, обеспечивающим более длительное естественное освещение, способствующее накоплению лейкоантоцианов в листьях. Накопленные лейкоантоцианы переходят в окрашенную форму антоцианов при сезонном изменении природных условий к моменту заготовки в осенний период времени [1].

Результаты статистической обработки данных, полученных в ходе эксперимента, показыва-

Таблица 4

ют, что ошибка единичного определения суммы антоциановых соединений с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 1,90\%$ (таблица 4).

ВЫВОДЫ

В результате проведенного исследования установили возможность использования в качестве источника антоцианов не только плодов, но и листьев аронии черноплодной, что расширяет перспективы использования данного вида лекарственного растительного сырья.

На основе полученных экспериментальных данных рекомендовали оптимальные условия извлечения антоцианов из высушенных листьев рябины черноплодной: экстрагирование в течение 3,5 часов спиртом этиловым 95%-ным, подкисленным кислотой хлороводородной, при соотношении сырье: экстрагент 1:10.

Провели сравнительный анализ содержания антоциановых соединений в листьях рябины черноплодной различных сроков вегетации. Установили, что содержание антоцианового комплекса максимально в листьях аронии, заготовленных в осенний период.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Химический анализ лекарственных растений: учебное пособие для фармацевтических вузов / Е.Я. Ладыгин [и др.]: под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. — М: Высшая школа, 1983. — 176 с.
2. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). / В.А. Куркин. — 2-е изд., перераб. и доп. — Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. — С. 794-799.
3. Timberlake C.F. Anthocyanins – Occurrence, Extraction and Chemistry / C.F. Timberlake // Food Chem. — 1980. — №5. — P. 69-80.

*Воронежский государственный университет
Брежнева Т. А., доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии
Тел.: (473) 2530428
E-mail: t_brezhneva@mail.ru*

*Логвинова Е. Е., ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии
E-mail: liza-ugl@mail.ru*

4. Harborne J.B. Anthocyanins and other flavonoids / J.B. Harborne, C.A. Williams // J. Natural Product Reports. — 1998. — P. 631-652.

5. Касьянов Г.И., Квасенков О.И. Производство пищевого красителя из растительного сырья. Патент РФ № 2086590, 1997.

6. <http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-po-deyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/spisok-obschih-farmakopeynyh-statey>.

7. Чулков А.Н. Равновесная сорбция антоцианов на бентонитовых глинах и на обращенных фазах / А.Н. Чулков // Автореф. на соиск. Уч. Ст. канд. Тех. Наук. — Белгород. — 2013. — 18 с.

8. Скоропудов В.Н. Антоцианы некоторых растений семейства Verbetidaceae / В.Н. Скоропудов, В.А. Хлебников, В.И. Дайнека // Химия растительного сырья. — №4. — 2005. — С. 57-60.

9. О.В. Тринеева Исследование спектральных характеристик антоциановых соединений плодов облепихи крушиновидной / О.В. Тринеева, А.И. Сливкин, М.А. Казьмина // Вестник ВГУ, серия химия, биология, фармация. — 2014. — №3 — С. 118-122.

10. Т.А. Брежнева Спектральные характеристики антоциановых соединений плодов рябины черноплодной / Т.А. Брежнева, Е.Е. Логвинова, А.И. Сливкин // Вестник ВГУ, серия химия, биология, фармация — 2013. — №2 — С. 169-172.

11. Егорова А.В. Изучение возможностей комплексного использования плодов черной смородины / А.В. Егорова, В.А. Куркин, А.М. Каримова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — том 14. — №1(9). — 2012. — С. 2245-2217

12. Куркин В.А. Стандартизация плодов аронии черноплодной / В.А. Куркин, А.В. Егорова // Фармация, 2012, №7.-10-13С.

*Voronezh State University
Brezhneva T. A., PhD, the associate professor of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology
Ph.: (473) 2530428
E-mail: t_brezhneva@mail.ru*

*Logvinova E. E., the assistant to chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology
E-mail: liza-ugl@mail.ru*

Логвинова Е. Е., Брежнева Т. А., Сливкин А. И., Недолужко Е. И.

Сливкин А. И., д.ф.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Недолужко Е. И., студент 3-го курса

E-mail: alenka.nedoluzhko@yandex.ru

Slivkin A. I., PhD. professor, department chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Nedoluzhko H. I., a student of 3rd course

E-mail: alenka.nedoluzhko@yandex.ru