

УДК: 543.422.3.054

Д.В. Снігур, К.В. Ніколаєнко, Є.В. Вороненко, К.В. Бєвзюк

**ЕКСТРАКЦІЙНЕ ВИДІЛЕННЯ ЦІАНІДИНУ ТА ЙОГО
СПЕКТРАЛЬНІ І КОЛЬБОРОМЕТРИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Науковий керівник: зав. кафедри аналітичної хімії ОНУ імені

І.І. Мечникова, к.х.н., доц., О.М. Чеботарьов

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова

65082, Одеса, вул. Дворянська, 2, alexch@ukr.net

D.V. Snigur, K.V. Nikolaenko, Ye. V. Voronenko, K.V. Bevziuk. Cyanidin's extraction and its spectral and colorimetric characteristics. - The cyanidin's extraction process from plant material with different electric permittivity mediums was studied and optimized . It was found that relative extraction degree depended directly on electric permittivity value. Basic dye's spectral characteristics were clarified, and also colorimetric functions that describ the reagent's state were set in a wide range of values acidity.

Keywords: extraction, cyanidin, chemical cromaticy, color functions.

Вступ

Флавоноїди - рослинні пігменти, що являють собою глікозиди фенольного характеру, які містять в якості аглікону головним чином нохідні флавана (2-фенілхромана). Різноманітність природних флавоноїдів

досягається внаслідок того, що вони, як правило, містять в агліконі кілька гідроксильних або метоксильних груп. Увагу привертають антоціанідини (АЦН), що обумовлено їх фізико-хімічними властивостями і особливостями будови [1, 2]. Наявність різноманітних сукупностей таких атомних угруповань як -ОН, -СООН тощо, у поєднанні з обов'язковим оксоній-іоном обумовлює хромофорні властивості молекул АЦН в цілому [3, 4]. В той же час, замісники різної природи у основному структурному фрагменті АЦН здатні до утворення функціонально-аналітичних груп, які приймають участь у багатьох хімічних реакціях та процесах (іонізація, гідроліз, окислення-відновлення, осадження, комплексоутворення [2-4]). При розчиненні АЦН в неводних розчинниках або при введенні поверхнево-активних речовин, спостерігаються зміни кислотно-основних рівноваг атомних угруповань (АУ) за рахунок взаємодії молекул середовища з АЦН, що значно впливає на їх спектральні і хіміко-аналітичні характеристики [5]. Відомо, що АЦН легко екстрагуються водно – спиртовими розчинами з рослинних тканин, проте відсутні данні щодо оптимальних умов їх вилучення, відомості щодо спектральних характеристик розрізненні, а кольорометричні – відсутні взагалі. Найширшого застосування серед усіх відомих АЦН знаходить ціанідин (ЦН), як компонент біологічно-активних добавок, харчовий барвник, застосовується в якості стандарту при визначенні загального вмісту антоціанідинових фарбників, кислотно-основний індикатор, а також є перспективним реагентом для визначення ряду іонів металів, а отже виникає необхідність оперувати достовірними фізико-хімічними характеристиками ЦН. Виходячи з вищевикладеного метою дослідження є встановлення оптимальних умов екстракційного виділення ЦН з рослинного матеріалу, дослідження спектральних та кольорометричних характеристик барвнику та його кислотно-основних форм.

Матеріали та методики досліджень

В якості рослинної сировини, що містить ЦН, використовували капусту червонокочанну (*Brassica oleraceae L. capitata. f. rubra*). Ціанідин - 3,5,7,3',4'-пентагідроксібензфлавілій хлорид антоціанідиновий барвник, легкорозчинний у метиловому та етиловому спиртах. Кристалізується з етанольних розчинів при додаванні 7% розчину хлоридної кислоти; плавиться при температурі 218°C із розкладанням. Для проведення досліджень качан червонокочанної капустимили під проточною водою та ополіскували дистильованою водою. Капусту розрізали на чотири частини, вирізали середину. Нарізали і подрібнювали до однорідної маси. Досліджували умови екстракції ЦН різними за природою розчинниками:

н-гексан, диметилсульфоксид (ДМСО), оцтова кислота, піридин, вода, етанол. Необхідну кислотність створювали розчинами сульфатної кислоти та гідроксиду натрію. Усі реактиви мали кваліфікацію не нижчу за «ч.д.а.». Час екстракції від 10 до 60 хвилин із кроком 10 хвилин. Кожні 10 хвилин відбирають 10 мл екстракту вносять у мірну колбу на 25 мл і доводять до мітки відповідним розчинником, вимірюють оптичну густину (А) та будують графіки у координатах $A = f(\lambda)$. Ідентифікацію екстрактів проводили спектрофотометрично, шляхом порівняння отриманих спектрів із відомими. Спектри світлопоглинання, оптичну густину та кольориметричні характеристики розчинів ЦН досліджували на спектрофотометрі СФ-56 (ОКБ «ЛОМО-СПЕКТР», С.-Петербург, РФ) в кварцевих кюветах із товщиною поглинаючого шару 1 см у діапазоні 400–800 нм.

Результати та їх обговорення

У антоціанідинів та їх глікозидів, що виділяють з кислого розчину у вигляді флавілієвих солей, електрон гетероциклічного атому Оксигену приймає участь в утворенні π -зв'язків у гетероароматичному кільці завдяки чому молекула стає хромофором. Тому із всіх флавоноїдів антоціанідини поглинають світло з найбільшою довжиною хвилі і забарвлені в оранжевий, червоний, пурпурний та синій кольори. Спектрофотометричний аналіз не дозволяє безпосередньо визначити хімічний склад речовини, а лише дає непряму інформацію через відповідну вимірювану фізичну величину. Отримані спектри світлопоглинання екстракту наведено на рис. 1.

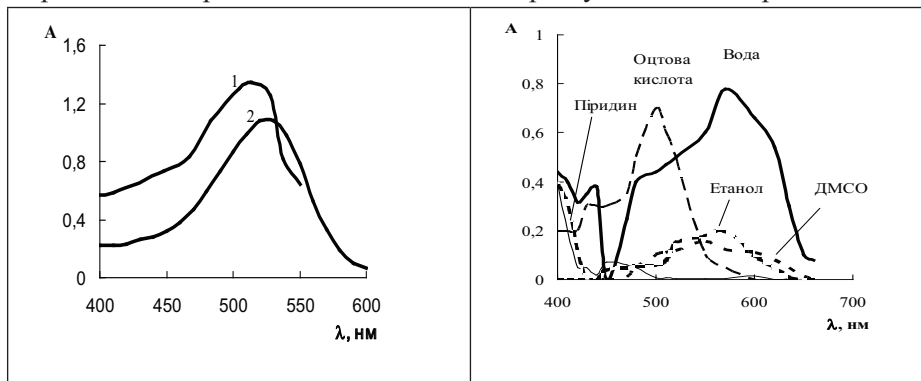


Рис. 1. Спектри світлопоглинання ціанідину: 1– спектр світлопоглинання наведений у роботі [4], 2–зарєєстрований на спектрофотометрі СФ-56.

Рис. 2. Спектри світлопоглинання екстрактів ЦН у відповідних розчинниках.

Як видно з рис. 1 одержані спектри досліджуваного барвника практично не відрізняються від літературних. Смуги поглинання достатньо інтенсивні, широкі з видимими перегінами та невиразними максимумами поглинання при $525\pm 5\text{нм}$ для ЦН, що говорить про наявність лабільної хромофорної системи спряжених зв'язків з АУ, які містять електродонорні атоми кисню та електропозитивні атоми гідрогену.

Нами досліджено процес екстракційного виділення ціанідину розчинниками різної природи. До неполярних апротонних розчинників відносять розчинники, які характеризуються низьким або нульовим дипольним моментом і меншим, порівняно із водою, значенням діелектричної проникності. Досліджено процес екстракційного виділення барвника неполярними апротонними розчинниками. Встановлено, що ціанідин не екстрагується з рослинного матеріалу розчинниками цього класу. Певне це зумовлено тим, що ціанідин легко вступає у протолітичні реакції (молекула ціанідину може існувати у шести йонно-молекулярних формах, що знаходяться в динамічній рівновазі, в залежності від кислотності середовища [6]), а кислотно-основні властивості у апротонних розчинників виражені дуже слабо. Досліджено умови вилучення барвника з рослинного матеріалу дипольними апротонними розчинниками, наприкладі ДМСО, протогенними (наприкладі оцтової кислоти), протопільними (піридин), амфіпротонними (етанол, вода). Спектри світлопоглинання отриманих екстрактів наведено на рис. 2, а криві залежності оптичної густини від часу екстракції - на рис. 3 (а,б,в,г,д).

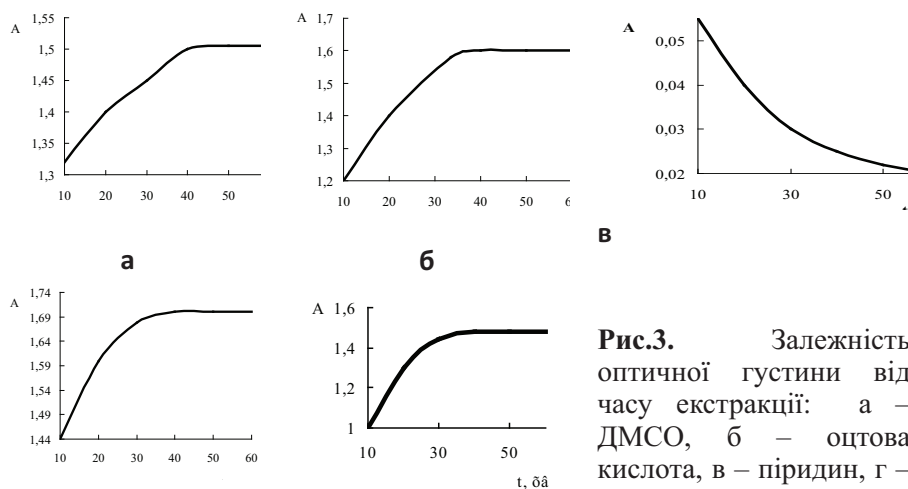


Рис.3. Залежність оптичної густини від часу екстракції: а – ДМСО, б – оцтова кислота, в – піридин, г – етанол, д – вода.

З рис. 3 (а,б,в,г,д) видно, що для усіх систем оптимальний час екстракції лежить у часовому проміжку 30-45 хв. Однак, як впливає з рис. 2 спектральні характеристики екстрактів ЦН у кислому та основному середовищах значно різняться від спостережуваного у амфіпротонних (етанол, вода), що дає нам підстави стверджувати про можливі структурно-хромові порушення, які призводять до гіпсохромного зсуву, а у випадку піридину можлива деструкція в наслідок лужного гідролізу. У свою чергу слід відмітити неможливість використання кислих і основних розчинників для твердофазно-екстракційного вилучення ЦН. Як видно з рис. 2 оптимальним середовищем для вилучення ЦН є амфіпротонні розчинники, котрі не руйнують барвник, про що свідчить збіг максимуму і форм смуг поглинання для водного та етанольного екстрактів (рис.2). Виходячи з викладеного можна прогнозувати, що найкращою системою розчинників для виділення ціанідину буде суміш етанолу і води. На рис. 4 наведено залежність оптичної густини у час максимального вилучення ЦН від вмісту етанолу у системі розчинників.

Як видно, максимум кривої приходить на точку, яка відповідає вмісту етанолу у системі 70%, і відповідно, можна зробити висновок про те, що оптимальною є система розчинників етанол-вода у співвідношенні 70:30 об.%. Аналізуючи графіки та фізико-хімічні властивості розчинників можна прослідкувати кореляцію величини відносного виділення ($S, \%$) ціанідину від діелектричної проникності розчинника, яку наведено на рис. 5.

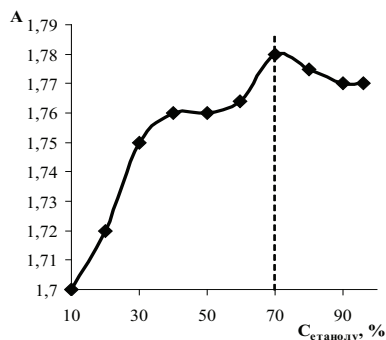


Рис. 4. Залежність оптичної густини у час максимального вилучення ціанідину від вмісту етанолу у системі розчинників етанол-вода.

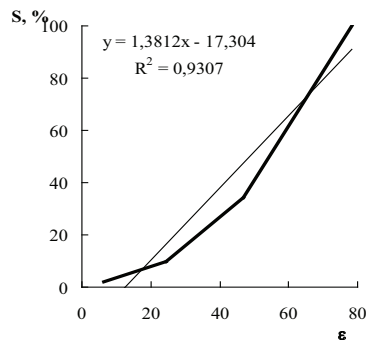


Рис. 5. Залежність величини відносного виділення ціанідину від діелектричної проникності розчинника.

В результаті проведених кольориметричних досліджень отримано набір кольориметричних функцій, які характеризують кольорні властивості

усіх кислотно-основних форм ЦН при різних значеннях кислотності середовища, дані зведено до табл.1.

Таблиця 1

Кольорометричні функції ціанідину при різних значеннях кислотності середовища

рН	X	Y	Z	L	A	B	S	T	P
1	19,36	45,48	17,69	73,47	-105,1	-4,3	105,2	0,04	61,8
2	19,83	43,98	16,17	72,24	-97,61	-1,74	97,63	0,018	59,3
3	21,19	38,58	13,15	68,76	-76,35	2,53	76,39	-0,03	51
4	17,79	28,12	7,4	60,02	-54,57	12,5	54,38	0,22	44,83
5	16,54	21,86	4,6	53,91	-35,17	19,1	40	-0,5	44,57
6	19,35	22,6	4,62	54,64	-24,05	20,44	31,54	-0,7	44,96
7	18,72	18	2,97	49,53	-5,1	25,44	25,95	-1,35	55,45
8	24,79	20,69	3,58	52,63	8,73	52,28	26,74	1,24	53,45
9	49,43	38,01	8,14	68,4	20,774	22,6	30,67	0,83	48,15
10	65,5	30,13	12,37	76,18	23,67	18,19	29,96	0,65	33,04
11	6,78	10,47	14	38,69	20,56	-52,3	56,2	-1,19	-263,94
12	5,1	3,1	15	20,48	22,67	-87,17	90,07	-1,32	19,07
13	4	2,7	15,3	18,84	15,6	-90,88	92,21	-1,4	39,4
14	3,6	2,7	16,7	18,9	9,04	-95,12	95,68	-1,47	57,04

Як видно з табл.1 нелінійна зміна кольорометричних функцій (X, Y, Z – координати кольору в системі XYZ; L, A, B – координати кольору в системі CIELAB; S, T, P – насиченість, колірний тон і чистота кольору відповідно) свідчать про існування різних протолітичних рівноваг, які характеризуються власними кислотно-основними формами. При чому, як було показано [6], певні з цих форм можуть вступати в таутомерні перетворення, що в свою чергу призводить до зміни відповідних кольорометричних функцій.

Висновки

В результаті проведеної роботи досліджено та оптимізовано умови екстракційного виділення ціанідину з рослинного матеріалу. Показана залежність відносного вилучення ЦН від діелектричної проникності розчинника. Уточнені основні спектральні характеристики барвника, а також встановлені його основні кольорометричні функції, які описують стан реагенту у широкому діапазоні значень кислотності середовища.

Література

1. Красільнікова Л.О., Авксентьєва О.О., Жмурко В.В. Біохімія рослин Х.: Основа, 2007. С. 135 – 139.
2. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов М.: Мир, 1986. – 394 с.

3. Левданский В.А, Бутылкина А.И., Кузнецов Б.Н. Выделение и изучение антоцианидинов коры ливсиеницы II Химия растительного сырья. - 2006 - №4. - С. 17- 20.

4. Клышев Л.К., Бандюкова В.А., Алюкина Л.С. Флавоноиды растений. - Алма-Ата: Наука, 1978 - 220с.

5. Фиалков Ю.А. Растворитель как средство управления химическим процессом. - Л.: Химия, 1990. - 240 с.

6. Чеботарьов О.М., Єфімова І.С., Борисюк Н.А., Снігур Д.В. Метод кольорометрії в дослідження кислотно-основних характеристик барвників рослинного походження II Методы и объекты химического анализа. - 2011, 6, №4. - с.207-213.