

УДК 544.723.212: 547.94: 547.97

АНТОЦИАНЫ И АЛКАЛОИДЫ: ОСОБЕННОСТИ СОРБЦИИ ПРИРОДНЫМИ ГЛИНИСТЫМИ МИНЕРАЛАМИ

© *В.И. Дейнека**, В.А. Хлебников, А.Н. Чулков, Л.А. Дейнека, В.А. Перистый, В.Н. Сорокопудов

*Белгородский государственный университет, ул. Победы, 85, Белгород,
308015 (Россия) E-mail: deineka@bsu.edu.ru*

В работе исследована сорбционная активность глин трех торговых марок двух фирм-производителей по отношению к органическим катионам. Установлено, что марки «Белых глин» обладают высоким сродством к антоцианам, но введение в экстракт органического модификатора позволяет изменять сорбционную активность глин, что позволяет рассматривать глины как эффективные сорбенты для очистки и концентрирования антоцианов из природных объектов. Показано, что «Белая глина» обладает чрезвычайно высокой сорбционной активностью по отношению к берберину.

Введение

Антоцианы известны как потенциальные колоранты для пищевой и медицинской промышленности благодаря высокой и разнообразной биологической активности этих соединений [1–3]. Они могут быть выделены не только из плодов целого ряда растений, но и из отходов некоторых производств [4–6]. Для твердофазного концентрирования этих пигментов известно использование гидрофобных полимерных сорбентов [4–8], ионообменных смол [9] и традиционных привитых обращенно-фазовых сорбентов [10]. Известно также, что природные глинистые минералы обладают высокой и специфической катионообменной активностью, в том числе и по отношению к органическим катионам [11]. Однако сведения об использовании глин при обработке антоциан-содержащих (т.е. катионных форм органических соединений) смесей довольно ограничены. Так, в работе [12] исследовалось влияние обработки бентонитом (и желатином) молодых вин и было установлено, что антоцианы сорбируются на глинах заметно сильнее по сравнению с соответствующими им псевдооснованиями. Сообщалось также о том, что обработка красных вин бентонитом [13] увеличивает их срок хранения. И только в одной из работ [14] акцент сделан на сорбционные свойства глин по отношению к антоцианам (красного редиса), при этом использовали сложные композиции глин, иммобилизованных на поверхности полимерных частиц.

В нашем предыдущем сообщении [15] было показано, что «Белая глина» производства ООО «ПолиСервис-М» (Москва), обладает высокой сорбционной активностью по отношению к антоцианам, причем сорбция этих соединений зависит от их размеров, уменьшаясь с увеличением числа и вида углеводных заместителей. Цель данной работы – дальнейшее изучение особенностей взаимодействия природных глин с органическими катионами.

Экспериментальная часть

Спектры в УФ и видимой области электромагнитного спектра записывали на приборе КФК-3-01 с использованием кварцевой кюветы длиной 1 см.

Хроматографирование выполняли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектором Nicolet LC/9563 при длине волны 420 нм. Колонка: Диасфер-110-C18 4×150 мм, при скорости подачи подвижной фазы насосом Altex 110 А со скоростью 1 мл/мин. Ввод пробы осуществляли краном дозатором Rheodyne 7740 с петлей объемом 20 мкл. Для регистрации и обработки хроматограмм использовали ПП МультиХром 1.5.

Определение берберина. Элюент: $2,5 \cdot 10^{-3}$ М раствор гексансульфоната натрия, в системе ацетонитрил–вода–уксусная кислота (40 : 59 : 1). Длина волны детектирования: 420 нм.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Определение антоцианов. Элюент 10 об.% муравьиной кислоты, 8 об.% ацетонитрила в воде. Длина волны детектирования: 510 нм.

Растительные образцы собирали в Ботаническом саду БелГУ.

Экстракция антоцианов осуществлялась настаиванием сырья (листьев или плодов) в 0,1 М растворе соляной кислоты (в течение нескольких часов); полученный экстракт фильтровали через бумажный фильтр, а фильтрат разбавляли до требуемой концентрации (0,1–1 ммоль/л в пересчете на цианидина-3-глюкозид [16]) 0,1 М раствором HCl. При сорбционных исследованиях к аликвотной порции подготовленного экстракта добавляли навеску глины, смесь периодически встряхивали в течение различных времен (обычно было достаточно 30 мин для достижения равновесия) при комнатной температуре.

Образцы глины были приобретены в аптеках г. Белгорода: «Белая глина» и «Розовая глина» производства ООО «ПолиСервис-М» (ПСМ) и «Белая глина» производства ООО «Стимул-Колор Косметик» (СКК) и использовались без дополнительных обработок.

Обсуждение результатов

Исследования показали, что «Белая глина» (ПСМ) проявляет чрезвычайно высокое сродство к берберину. На рисунке 1 представлены хроматограммы экстракта плодов барбариса Тунберга до и после обработки глиной. Экстракты получали из сухих плодов настаиванием в экстрагенте, соответствующем по составу элюенту, при соотношении экстрагент – плоды 50 мл : 1 г. Снижение концентрации основного алкалоида экстракта – берберина – достигло 80% при обработке 5 мл полученного экстракта 15 мг глины; спектрофотометрические исследования показали, что при этом концентрация антоцианов в экстракте не изменяется.

Из литературных данных [17] известно было ранее, что монтмориллонит является эффективным экстрагентом берберина, что и подтверждено нашими исследованиями. Но нам пока не удалось найти подходящий растворитель для эффективной экстракции берберина, сорбированного на глине. Сопоставление полученных в настоящей работе данных по антоцианам с ранее установленными закономерностями [15] позволило предположить, что сорбция антоцианов зависит от содержания органического модификатора в экстрагенте.

Кроме того, представлял интерес вопрос о том, не является ли использованная «Белая глина» (ПСМ) уникальным экземпляром, свойства которого определяются рентгеноаморфной [15] составляющей конечного продукта очистки природной глины.

На рисунке 2 представлены данные об исследовании сорбции антоцианов, экстрагированных из листьев барбариса обыкновенного пурпурнолистной формы, тремя различными товарными образцами глины. Отметим, что листья растений в отличие от плодов являются достаточно нетрадиционными и привлекательными источниками природных пигментов. Потенциальное преимущество их использования для промышленного получения антоцианов очевидно состоит в том числе в отсутствии необходимости ожидания вступления растения в стадию плодоношения. Спектры исходного экстракта антоцианов и растворов, оставшихся после сорбции различными марками глины (рис. 2) приведены к одинаковому разбавлению (сплошные линии), для двух образцов (пунктирные линии) приведены спектры с увеличением экстинкции в 10 раз. Очевидно, что эффективности сорбции антоцианов обеими «Белыми глинами» близкие – остаток антоцианов от 8 до 12% для глины СКК и ПСМ, соответственно, при одинаковых условиях. «Розовая глина» (ПСМ) заметно уступала в сорбционной активности обеим «белым» – остаток антоцианов в растворе порядка 40%. Существенно, что спектры остатков после сорбции «белыми» глинами отличаются от исходных смещением максимума поглощения в длинноволновую область, что характерно для отличия ацилированных антоцианов от неацилированных. Присутствие ацилированных антоцианов в исходном экстракте и увеличение их доли в остатке после сорбции подтверждено исследованием образцов методом ВЭЖХ (рис. 3). При этом увеличение доли ацилированных антоцианов хорошо заметно на хроматограмме даже для образца, обработанного «Розовой глиной» (рис. 3), что практически невозможно увидеть при исследовании соответствующих спектров (рис. 2).

Влияние органического модификатора на сорбцию антоцианов было изучено на примере экстракта антоцианов плодов аронии черноплодной (основной компонент – 3-галактозид цианидина [16]). Для начального участка изотермы (область изотермы Генри):

$$G(\text{ммоль} / \text{г}) = K_G \cdot c_{\text{равн.}}(\text{мкмоль} / \text{л}),$$

где G – сорбция антоцианов глиной; $c_{\text{равн.}}$ – равновесная концентрация антоцианов (выраженная в мкмоль/л в пересчете на цианидин-3-глюкозид); K_G – константа Генри. Были получены следующие значения K_G , «Белая глина» ПСМ: 0,232 – для экстрактов, не содержащих ацетонитрила, 0,082 – для раствора, содержащего 25 об.% ацетонитрила и 0,019 – для растворов, содержащих 50 об.% ацетонитрила. Таким образом, введение 50 об.% ацетонитрила позволяет резко (более чем в 10 раз) уменьшить сорбционную активность глины (а сле-

довательно, и проводить эффективную десорбцию сорбированных антоцианов), так как если бы антоцианы сорбировались по гидрофобному механизму.

Однако гидрофобный механизм сорбции антоцианов на глинах маловероятен, например, из-за несоответствия сорбируемости и порядка элюирования различных антоцианов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ. Особенно это характерно для пар «ацилированные + неацилированные» антоцианы: первые существенно сильнее удерживаются в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ, а для сорбции глинами ситуация прямо противоположная. Кроме того, как установлено нашими исследованиями с использованием ВЭЖХ, 3-глюкозиды различных антоцианидинов из кожуры винограда примерно одинаково сорбируются на каждой из исследованных глин, хотя липофильность производных мальвидина существенно выше, чем производных дельфинидина.

Рис. 1. Хроматограммы экстрактов плодов барбариса Тунберга. А – исходный экстракт, Б – экстракт после удаления глины. I – ятрозин; II – пальматин; III – берберин

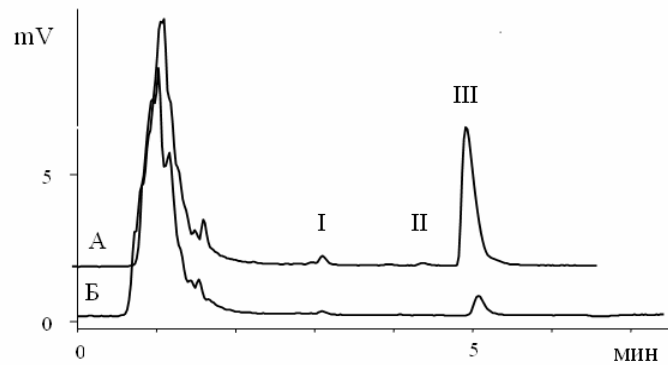


Рис. 2. Спектры экстрактов листьев барбариса обыкновенного пурпурнолистной формы. В легенде указаны марки глин, использованных для обработки экстрактов

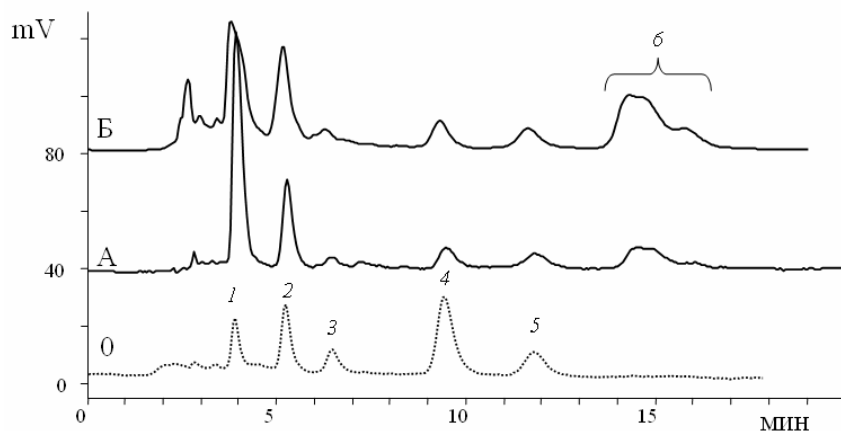
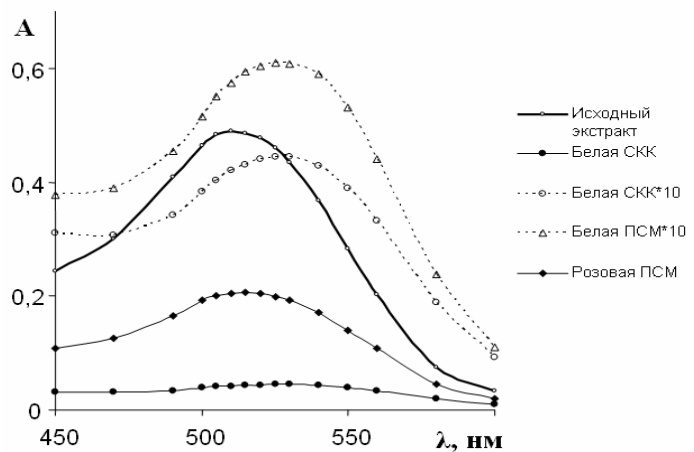


Рис. 3. Хроматограммы экстракта листьев барбариса и плодов винограда. Экстракты листьев барбариса до (А) и после (Б) экстракции, экстракт кожуры винограда (0). 3-глюкозиды антоцианидинов: 1 – дельфинидина, 2 – цианидина, 3 – петунидина, 4 – пеонидина, 5 – мальвидина; 6 – группа ацилированных антоцианов

Следует подчеркнуть, что сорбционная активность силикагеля (КСК) в аналогичных условиях чуть ли не на порядок слабее, чем глины.

Поскольку ацетонитрил (обычный компонент элюентов для обращенно-фазовой ВЭЖХ, применение которого желательно при предварительном концентрировании антоцианов перед ВЭЖХ определением) обладает достаточно высокой токсичностью, была проверена эффективность добавок этанола и ацетона для десорбции антоцианов. Этанол оказался весьма приемлемой добавкой, модулирующей сорбируемость антоцианов на глинах, то же справедливо и для ацетона. Однако при использовании ацетона (рекомендуемого в качестве эффективного растворителя антоцианов [18]) следует быть осторожным, поскольку в растворах (даже подкисленных) на его основе устойчивость антоцианов невелика – потери антоцианов могут превышать 50% при хранении в течение суток. В аналогичных условиях сохранность антоцианов превышала 90%, если использовались экстрагенты на основе ацетонитрила или этанола.

Выводы

В работе исследована сорбционная активность некоторых торговых марок глин по отношению к антоцианам и берберину. Установлено, что исследованные образцы обладают высоким сродством по отношению к берберину и антоцианам. Найдено, что введение органических модификаторов позволяет модулировать сорбционные свойства глин по отношению к антоцианам, что позволяет рассматривать эти материалы как потенциальные сорбенты для очистки и концентрирования антоциановых экстрактов.

Список литературы

1. Lila M.A. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach // *J. Biomed. Biotechnol.* 2004. №5. P. 306–313.
2. Kowalczyk E., Krzeliński P., Kura M., Szmigiel B., Błaszczak J. Anthocyanins in medicine // *Polish J. Pharmacol.* 2003. V. 55. P. 699–702.
3. Болотов В.М., Рудаков О.Б. Химические пути расширения эксплуатационных свойств природных красителей из растительного сырья России // *Химия растительного сырья.* 1999. №4. С. 35–40.
4. Kammerer D., Kljusuric J.G., Carle R., Schieber A. Recovery of anthocyanins from grape pomace extracts (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Mitos) using a polymeric adsorbent resin // *Eur. Food Technol.* 2005. V. 220. P. 431–437.
5. Scordino M., Di Mauro A., Passerini A., Maccarone E. Selective recovery of anthocyanins and hydroxycinnamates from a byproduct of citrus processing // *J. Agric. Food Chem.* 2005. V. 53. P. 651–658.
6. Di Mauro A., Arena E., Fallicio B., Passerini A., Maccarone E. Recovery of anthocyanins from pulp wash of pigmented oranges by concentration on resins // *J. Agric. Food Chem.* 2002. V. 50. P. 5968–5974.
7. Liu X., Xiao G., Chen W., Xu Y., Wu J. Quantification and purification of mulberry anthocyanins with macroporous resins // *J. Biomed. Biotechnol.* 2004. №5. P. 326–331.
8. Scordino M., Di Mauro A., Passerini A., Maccarone E. Adsorption of flavonoids on resins: Cyanidine-3-Glucoside // *J. Agric. Food Chem.* 2004. V. 52. P. 1965–1972.
9. Coutinho M.R., Quadri M.B., Moreira R.F., Quadri M.G. Partial Purification of Anthocyanins from Brassica oleracea (Red Cabbage) // *Sep. Sci. Technology.* 2004. V. 39(16). P. 3769–3782.
10. Csiktusnádi Kiss G.A., Forgács E., Cserháti T., Candeias M., Vilas-Boas L., Bronze R., Spranger I. Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic separation of pigments of red wines // *J. Chromatogr. A.* 2000. V. 889. P. 51–57.
11. Barrer R.M. Clay minerals as selective and shape-selective sorbents // *Pure Appl. Chem.* 1989. V. 61(11). P. 1903–1912.
12. Stancović S., Jović S., Zivković J. Bentonite and gelatine impact on the young red wine coloured matter // *Food Technol. Biotechnol.* 2004. V. 42(3). P. 183–188.
13. Gómez-Plaza E., Gil-Muñoz R., López-Roca J.M., De La Hera-Orts M.L., Martínez-Cultillas A. Effect of the addition of bentonite and polyvinylpyrrolidone on the colour and long-term stability of red wines // *J. Wine Res.* 2000. V. 11(3). P. 223–231.
14. Lopes T.J. et al. Adsorption of natural dyes on clay fixed on polymers // *Braz. Arch. Biology Technol.* 2005. V. 48. P. 275–280.
15. Дейнека В.И., Чулков А.Н., Дейнека Л.А., Шамшуров А.И. Сорбция антоцианов на белой глине // Сорбенты как фактор качества жизни: Мат. II Всерос. науч. конф. с междунар. участием. Белгород, 2006. С. 77–80.
16. Дейнека В.И., Григорьев А.М., Дейнека Л.А., Ермаков А.М., Сиротин А.А., Староверов В.М. Анализ компонентного состава антоцианов плодов и жирных кислот масел семян некоторых видов семейства *Rosaceae* методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Растит. ресурсы.* 2005. Вып. 1. С. 91–98.
17. Cohen E., Joseph T., Lapidés I., Yariv S. The adsorption of berberine by montmorillonite and thermo-XRD analysis of the organo-clay complex // *Clay Minerals.* 2005. V. 40. P. 223–232.
18. Garcia-Viguera C., Zafrilla P., Tomás-Barberán F.A. The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit // *Phytochem. Anal.* 1998. V. 9(6). P. 274–277.