

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**  
( Н И У « Б е л Г У » )

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

КАФЕДРА ОБЩЕЙ ХИМИИ

**АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫХ  
ВЕЩЕСТВ АМАРАНТА**

Магистерская диссертация  
обучающегося по направлению подготовки 04.04.01 Химия  
очной формы обучения, группы 07001640  
Нестеренко Татьяны Сергеевны

Научный руководитель:  
к. х. н., доцент  
Дейнека Л.А.

Рецензент:  
к. б. н., ст. преподаватель  
Третьяков М.Ю.

БЕЛГОРОД 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	6
1.1 Природные и синтетические красители.....	6
1.2 Структура бетацианинов.....	10
1.3 Физико-химические характеристики бетацианинов.....	12
1.4 Стабильность бетацианинов.....	14
1.5 Методы качественного и количественного определения бетацианинов.....	16
1.6 Твердофазная очистка бетацианинов.....	18
1.7 Антиоксидантная активность и емкость. Методы определения....	19
1.8 Источники бетацианинов.....	20
<b>2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	25
2.1 Объекты исследования.....	25
2.2 Методика экстракции из растительного сырья.....	25
2.3 Методика записи электронных спектров.....	25
2.4 Методика определения содержания бетацианинов в различных объектах.....	25
2.5 Методика приготовления чаев.....	26
2.6 Методика приготовления водных экстрактов.....	27
2.7 Методика определения антиоксидантной активности методом Фолина-Чокальтеу.....	27
2.8 Методика получения масла из семян амаранта и определение масличности.....	27
2.9 Методика определения сквалена методом ОФ-ВЭЖХ.....	28
2.10 Методика контроля степени извлечения сквалена в процессе экстракции.....	28
2.11 Методика получения сухих форм.....	28
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ</b> .....	30

3.1	Определение содержания бетацианинов в различных частях амаранта.....	30
3.2	Приготовление чаев и определение их антиоксидантной активности от времени выдерживания по методу Фолина-Чокальтеу.....	33
3.3	Приготовление водных экстрактов бетацианинов. Контроль сохранности. Определение АОА по методу Фолина-Чокальтеу.....	40
3.4	Определение содержания бетацианинов в различных сортах амаранта.....	49
3.5	Содержание бетацианинов в других объектах.....	51
3.6	Получение масла из семян амаранта. Определение содержания сквалена и масличности семян.....	59
3.7	Контроль степени извлечения сквалена в процессе экстракции...	62
3.8	Получение сухих форм красителей из экстрактов амаранта.....	63
	<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>65</b>
	<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>67</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Несколько тысяч лет назад люди открыли для себя, и долгое время использовали естественные красители. Изначально они использовали их для окрашивания одежды. Однако, природных красителей придающих прочную окраску, было немного. В основном это были красители красного и синего цветов. Популярными по долговечности и красоте были два красителя животного происхождения, такие как кармин, выделяемый из насекомых разных видов, и пурпур, получаемый из средиземноморских моллюсков.

Самым популярным красным красителем, получаемый из корней марены красильной, был крап. А из растения индигоферы получали пигмент синего цвета под названием индиго. Из корней куркумы и барбариса извлекали красители ярко-желтого цвета [1].

Все изменилось в 1856 году, когда Уильям Перкин при попытке синтеза нового лекарства от малярии случайно получил вещество пурпурного цвета, названный мовеином. До этого времени применение природных красителей составляло 100%. В современное время использование натуральных красителей составляет всего около 1% от всех используемых красящих веществ [2].

До последней четверти XX века немногих беспокоили проблемы экологии, токсичности производства и применения синтетических красителей, расход нефти на их многоступенчатый органический синтез.

Ситуация существенно изменилась в конце XX и в начале XXI веков, когда ученые и общественность, а вслед за ними и политики передовых стран сфокусировались на защите окружающей среды, здоровья людей, повышении эффективности возобновляемых источников энергии.

Какая огромная потенциальная область существует для внедрения в нее натуральных красителей, в которой они смогут конкурировать с синтетическими красителями.

Для продвижения на рынок веществ, окрашенных природными красителями (подкрашивание продуктов питания, в качестве антимикробных

и лечебных средств, колорирования текстиля), принимаются межгосударственные и национальные (Индия, Япония, Китай и др.) программы. В наше время применение природного и синтетического индиго соответственно составляет 5% и 95%.

Сейчас все больше вписываются новые «зеленые» технологии и более разумное использование «не вместо, а вместе» природных и синтетических веществ (лекарственные препараты, красители, полимеры и др.) [1].

Целью данной работы является исследование возможности использования растительного объекта амаранта в качестве источника биологически активных веществ.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

1. анализ растительного сырья, содержащего бетацианины;
2. изучение свойств бетацианиновых пигментов;
3. количественное определение содержания бетацианинов в различных частях амаранта и других объектах;
4. выделение сквалена и определение его содержания в семенах амаранта и щирицы запрокинутой;
5. приготовление сухих форм красителя на основе бетацианинов амаранта

# 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Природные и синтетические красители

Производители продуктов питания, для придания им привлекательного внешнего вида, подкрашивают их различными красителями, которых в настоящее время бесчисленное множество.

Существующие красители классифицируются на три группы:

- минеральные (неорганические);
- натуральные природные);
- синтетические [3].

Для возможности использования красителей в производстве продуктов питания, они должны соответствовать определенным требованиям, а именно:

- полная безвредность;
- высокая красящая способность;
- стабильность окраски при хранении продуктов;
- термостабильность;
- отсутствие неприятных посторонних запахов и вкусов [4].

Однако природные красители по технологическим характеристикам уступают синтетическим, по следующим причинам: являются менее стабильными при хранении, а также разрушающиеся при ряде производственных операциях [5-10]. Но синтетические пигменты, занимающие доминирующее положение на российском рынке, не отвечают основному требованию безопасности для человеческого организма (табл. 1.1.). В научной литературе и различных средствах массовой информации довольно часто упоминается о развитии аллергических реакций различной степени, о нарушении естественного функционирования тканей и органов, а также о развитии тяжелых хронических заболеваний, связанных с употреблением продуктов, содержащих в своем составе синтетические красители [9-14].

Перечень пищевых красителей, разрешенных к применению в производстве продуктов питания на территории Российской Федерации [4]

Индекс/Примечание	Название	Цвет
Натуральные(природные) красители		
E100*	Куркумин, турмерик	Желто-оранжевый
E101	Рибофлавин (витамин B <sub>2</sub> )	Желтый
E120*	Кармины	Красный
E140	Хлорофилл	Зеленый
E141	Хлорофилла зеленый комплексы	Зеленый
E150 (a-d)	Сахарный колер	Коричневый
E160 (a-f)	Каротины	Желто-оранжевый
E161 (b, g)	Каротиноиды	Желтый
E162	Красный свекольный	Красный
E163	Антоцианы	
E163a	Цианидин	Красно-фиолетовый
E163b	Дельфинидин	Красно-синий
E163c	Мальвидин	Синий
E163d	Пеларгонидин	Оранжевый
E163e	Пеонидин	Пурпурно-красный
E163f	Петунидин	Пурпурный
E181	Танины пищевые	Желто-белый
Минеральные (неорганические) красители		
E152*	Уголь	Черный
E153	Уголь растительный	Черный
E170	Карбонаты кальция	Белый
E171*	Диоксид титана	Белый
E172	Оксиды железа	Черный, красный, желтый
E174	Серебро	Металлический
E175	Золото	Металлический
Синтетические красители		
E102**	Тартразин	Желтый
E104**	Желтый хинолиновый	Желто-зеленый
E110*	Желтый «солнечный закат»	Желто-оранжевый
E122*	Кармуазин (азорубин)	Красный
E124**	Понсо 4R (пунцовый 4R)	Красный
E129*	Красный очаровательный AC	Красный
E131*	Синий патентованный V	Синий
E132*	Индигокармин (индиготин)	Синий
E133**	Синий блестящий FCF	Синий
E142**	Зеленый S	Зеленый
E151*	Черный блестящий BN	Черный
E155*	Коричневый HT	Коричневый

\* - опасные для здоровья человека

\*\* - опасные для здоровья человека красители, разрешенные на территории РФ, но запрещенные в других странах

Существуют случаи, когда необходимо использовать только натуральные красители. В первую очередь это относится к окрашиванию кисломолочных продуктов. Для окрашивания таких продуктов желательно использование природных колорантов, так как они являются довольно стойкими в такой среде. Синтетические же азокрасители быстро разлагаются (в течение нескольких часов) молочнокислыми бактериями [15].

К группе водорастворимых натуральных красителей-антиоксидантов, которые можно использовать для окрашивания пищевых продуктов в различные оттенки красного (взамен синтетическим пигментам), относятся бетацианины [16].

В качестве пищевых красителей бетацианины используются с начала XX века для подкрашивания молочной продукции, мясных и кондитерских изделий. Также известно использование сокового концентрата и сухого порошка в качестве красителя, полученного методом лиофильного высушивания или с помощью распылительной сушилки [17]. Однако по причине нестабильности бетацианинов, их используют для подкрашивания продуктов, которые имеют небольшой срок годности (табл. 1.2.) и не подвергаются особым термическим обработкам.

Таблица 1.2.

Использование природных бетацианинов в качестве красителя в пищевой промышленности

Продукт	Содержание бетацианинов, % <sub>масс.</sub>	Цвет
Ветчина вареная	0.17	Коричнево-розовый
Сосиски	0.60	Розовый
Хлебобулочные изделия	2.50	Коричнево-розовый
Карамель	0.10	Розовый
Желе	0.20	Малиново-красный
Мороженное	0.20 – 0.25	Темно-розовый
Йогурт	0.09	Розовый
Сухие порошки для приготовления напитков	1.00	Черносмородиновый
	1.20	Клубничный
	1.50	Малиновый

Существует мнение, что бетацианины имеют редкое применение по причине ограниченного распространения в природе [18]. Но с этим трудно согласиться, так как растения, содержащие эти соединения, неприхотливы в выращивании и имеют довольно широкое распространение. К примеру, основной источник бетацианинов – красная столовая свекла – выращивается в больших количествах и повсеместно. Известно, что бетацианины получаемые из корнеплодов свеклы, входят в состав красителя E162, именуемый также «Красный свекольный» (Beet Red – E162) [19]. Основными поставщиками этого красителя на территорию Российской Федерации являются такие страны как Германия и Франция («Diana Naturals»). Также можно отметить и других мировых производителей, таких как США, Иран, Индия, Китай («Cotion LTD»), Дания («Chr. Hansen»). Информации об российских производителях бетацианинов обнаружено не было. Только известны варианты получения криопорошков из измельченных корнеплодов красной свеклы.

Бетацианины можно использовать для приготовления всех пищевых продуктов без количественного ограничения, кроме тех случаев когда в соответствии с требованиями СанПиН подкрашивание не допускают или должны быть использованы только пигменты определенного вида [20].

Вопреки тому, что бетацианины по своей структуре близки к алкалоидам, они не оказывают токсического действия на человеческий организм. Согласно литературным данным, бетацианинам приписывают следующие свойства:

- противомикробные и противовирусные [21-22];
- защищают эритроциты от оксидативного гемолиза [23];
- обеспечение сбалансированных окислительно-восстановительных процессов с участием жиров [19];
- снижение риска заболеваний сердечно-сосудистой системы [12];
- торможение процесса разложения небелковой части молекулы цитохромов и гемоглобина – гема [12];

-во время химиотерапии онкологических заболеваний играет роль детоксиканта путем активации фермента хинонредуктазы [24];

-снижение риска развития онкологических заболеваний жение риска развития онкологических заболеваний [25-26];

Бетацианинам свойственна способность к высокому усвоению в организме, другими словами они обладают высокой биодоступностью [27]. Эти пигменты характеризуются быстрым проникновением в кровь из желудочно-кишечного тракта. Согласно исследованиям, сведений о пределах приема бетацианинов в пищу, не было обнаружено. Исходя из этих данных, можно судить об их безвредности для организма человека.

## 1.2 Структура бетацианинов

Бетацианины относятся к группе водорастворимых растительных пигментов. Они являются единственными представителями из класса алкалоидов соединения, которые имеют цвет [28]. Благодаря бетацианинам цветы, корнеплоды или плоды, листья и другие части растений приобретают различную гамму оттенков: от красного до глубокого фиолетового цвета.

Биохимия данных соединений длительное время оставалась загадкой. На сегодняшний день известно, что они представляют собой группу беталаиновых пигментов, численность которых в настоящее время насчитывает более 100. Кроме красно-фиолетовых представителей данной группы бетацианинов (от греч. *kyaneos* – синий) (рис. 1.1.а), к этой группе также относятся бетаксантины, имеющие желтый цвет (от лат. *beta* – свекла; от греч. *xanthos* – желтый) (рис. 1.1б) [23].

В структуру обоих компонентов входит фрагмент беталамовой кислоты (рис. 1.1.в), но в случае бетацианинов он сконденсирован с *цикло-3-(3,4-дигидроксифенил)-L-аланином (цикло-ДОФА)* (рис. 1.1.г), а в случае бетаксантинов с аминосоединениями (табл. 1.3) [27].

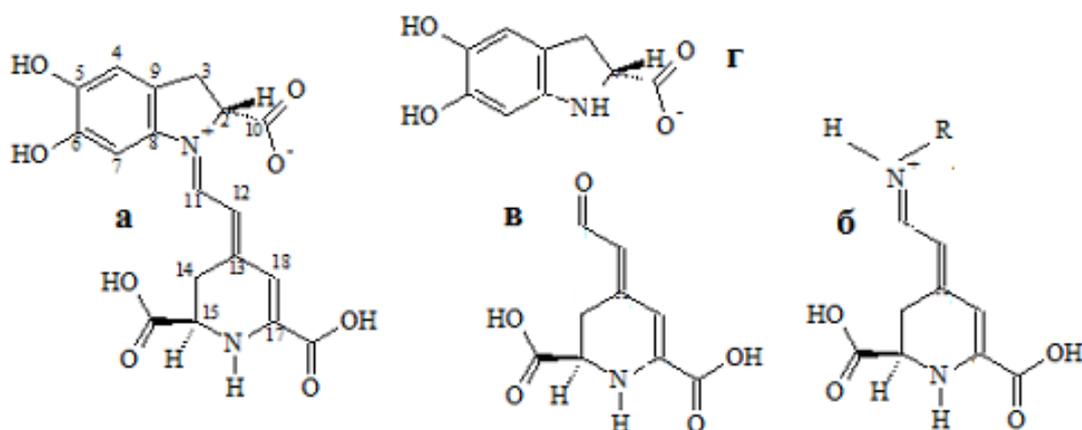


Рис. 1.1. Структуры бетацианидинов (а), бетаксантинов (б), беталамовой кислоты (в), *цикло*-ДОФА (г)

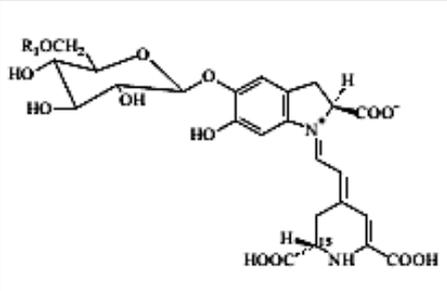
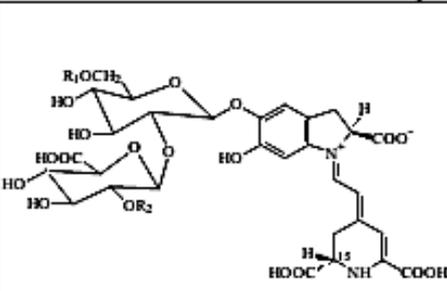
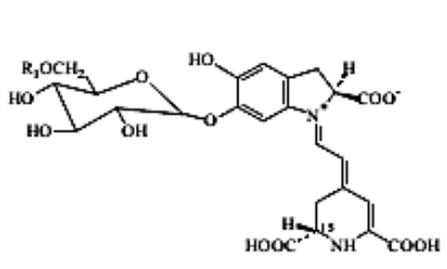
Таблица 1.3.

Перечень основных бетаксантинов [25, 28]

Формула	Аминосоединение (R)	Название	$\lambda_{\text{max}}$ , нм
	Гидроксипролин	Портулаксантин I	483
	Глицин	Портулаксантин III	470
	Аспарагин	Вульгаксантин III	474
	Гистидин	Мускаарин	478
	Глутамин	Вульгаксантин I	475
	Глутаминовая кислота	Вульгаксантин II	474
	Пролин	Индиаксантин	483
	Лейцин	Вульгаксантин IV	473

Основная структура бетацианинов состоит из двух N-гетероциклических систем – дигидропиридиновой и дигидроиндольной, которые связаны между собой  $sp^2$ -гибридизованными атомами углерода. Большинство природных бетацианинов являются гликозидами, у которых к OH-группе в положении C<sub>5</sub> или C<sub>6</sub> (иногда и к обеим) дигидроиндольного кольца присоединен моно- или дисахарид. Остатки сахаров могут быть ацилированы. Чаще всего встречаются малоновая, синаповая, кофейная, феруловая, *n*-кумаровая и 3-гидрокси-3-метилглутаровая [29].

## Перечень основных бетацианинов [30-32]

Формула	Заместители		Название	$\lambda_{\text{max}}$ , нм
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>		
Производные бетанинового ряда				
	Н		Бетанин	538
	НМГ		Хилоцеренин	
	Малонил		Филолактин	
Производные амарантинового ряда				
	Н	Н	Амарантин	536
	НМГ*	Н	Иресинин I	298, 540
	Н	<i>n</i> -кумароил	Целосианин I	306, 546
	Н	ферулоил	Целосианин II	312, 546
	малонил	Н	Маммилларинин	
Производные гомфренинового типа				
	Н		Гомфренин I	540
	<i>n</i> -кумароил		Гомфренин II	310, 552
	ферулоил		Гомфренин III	322, 552

\* НМГ – 3-гидрокси-3-метилглутарил

Разнообразие структур бетацианинов (табл. 1.4.) связано с тем, что различные углеводные остатки присоединяются через гидроксильные группы в положениях 5 и 6. На сегодняшний день их насчитывают более 50 видов [33].

### 1.3 Физико-химические характеристики бетацианинов

Согласно исследованиям известно, что причиной появления окраски в большинстве красителей является не целиком молекула, а только их определенные участки, которые носят название хромофоры. Они представлены, к примеру, нитрогруппа -NO<sub>2</sub>, нитрозогруппа -N=O, азогруппа

-N=N-, карбонильная группа =C=O, хиноидные группировки, сопряженные системы двойных связей и другие [34]. Проявление цветности органических соединений также может быть связано с наличием заряда. Остальные части молекул могут немного изменять окраску, либо вовсе не влиять на нее. Эти части носят название ауксохромы. Благодаря им возможно углубить или насытить цвет, или изменить оттенок [35].

Для бетацианинов характерно два максимума светопоглощения: в видимой области спектра в диапазоне длин волн от 535 нм до 540 нм – основной максимум; и в УФ-области, обеспеченный структурным элементом *цикло*-ДОФА, при длине волны 270÷280 нм. Основная причина разнообразия оттенков колоранта связана с отсутствием или наличием заместителей в структуре агликона – бетацианидина, которое проявляется в смещении максимума адсорбции (табл. 1.5.) [23]. Бетацианины, подвержены влияниям углеводного фрагмента, входящего в состав, и отражается на свойствах хромофоров. Таким образом, гипсохромному сдвигу способствует гликозилирование одной из гидроксильных групп. В случае ацилирования гидроксикоричными кислотами, происходит появление третьего максимума адсорбции в УФ-области (в диапазоне от 260 до 330 нм). Отношение максимума адсорбции в видимой части к максимуму в УФ-области может быть применено для расчета числа ацильных фрагментов в структуре [36]. Также к некоторым смещениям максимума может приводить степень декарбоксилирования бетацианинов [23].

Таблица 1.5.

Зависимость максимума светопоглощения от строения бетацианинов [19, 30]

1	2
Наименование бетацианинов	$\lambda$ , нм
Бетанидин	540
Бетанидин 5- <i>O</i> - $\beta$ -глюкозид	538
Бетанидин-5- <i>O</i> - $\beta$ -софорозид	535

1	2
2-декарбокситетанидин 5- <i>O</i> - $\beta$ -глюкозид	533
17-декарбокситетанидин 5- <i>O</i> - $\beta$ -глюкозид	507
2,17-бидекарбокситетанидин 5- <i>O</i> - $\beta$ -глюкозид	505
Тетанидин 5- <i>O</i> - $\beta$ -глюкуронозилглюкозид	536
Тетанидин 5- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -3-гидрокси-3-метилглутарил)- $\beta$ -глюкуронозилглюкозид	298, 540
Тетанидин 5- <i>O</i> -(2''- <i>O</i> - <i>E</i> -4-кумароил)- $\beta$ -глюкуронозилглюкозид	306, 546
Тетанидин 5- <i>O</i> -(2''- <i>O</i> - <i>E</i> -ферулоил)- $\beta$ -глюкуронозилглюкозид	312, 546
Тетанидин 6- <i>O</i> - $\beta$ -глюкозид	540
Тетанидин 6- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> - <i>E</i> -4-кумароил)- $\beta$ -глюкозид	310, 552
Тетанидин 6- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> - <i>E</i> -ферулоил)- $\beta$ -глюкозид	322, 552

В видимой части спектра изомерам бетацианинов характерны идентичные хроматические свойства.

#### 1.4 Стабильность бетацианинов

Преимущество в благоприятном воздействии на организм человека природных пигментов бесспорно, однако по степени устойчивости они уступают синтетическим [23]. В связи с этим, необходимо учитывать разнообразные факторы, способные повлиять на устойчивость бетацианинов, при их использовании. Также важен и вопрос поиска условий для стабилизации бетацианинов.

Согласно литературным данным, среди бетацианинов наиболее устойчивыми являются гликозилированные структуры. Однако, при дальнейшем гликозилировании увеличение стабильности не наблюдается, это доказывается в литературе равной устойчивостью амарантина и бетанина [37]. Известно, что при ацилировании бетацианинов алифатическими кислотами (филокактин, хилоцеренин), наблюдается повышение их стабильности. Это явление может быть связано со стерической защитой альдиминовых связей углеводородными радикалами. Также повышение устойчивости бетацианинов можно добиться за счет замещения ароматическими кислотами по причине внутримолекулярной укладки; также U-образно свернутая молекула способна защитить альдиминовую связь от гидролитической атаки. В ряде зарубежных работ представлены сведения о

том, что для стабилизации молекулы красителя 6-*O*-замещение является более эффективным по сравнению с 5-*O*-замещением [37].

Также наличие соответствующих ферментов оказывает огромное влияние на стабильность бетацианинов. В случае их не дезактивации, будет наблюдаться отщепление сахарного фрагмента и возникновению батохромного сдвига максимума адсорбции (около 4 нм) [37].

В ряде работ была найдена информация о том, что максимальная стабильность колоранта наблюдается в достаточно широком диапазоне рН от 3 до 7. Эти данные позволяют сделать вывод о возможности применения этих красителей для подкрашивания продуктов питания с пониженной кислотностью. При других значениях рН, выходящих за вышеуказанный интервал, интенсивность окраски снижается [37].

При низких значениях рН может произойти дегидрирование и изомеризация у  $C_{15}$ -атома, из-за этого происходит смещение максимума адсорбции бетацианинов при хранении в кислых средах [5].

Одним из важных факторов является температура, которая влияет на устойчивость бетацианинов во время технологической обработке продукта [38]. Скорость разрушения молекул увеличивается с ростом температуры [31]. Под действием температуры в структуре бетацианинов может протекать процесс изомеризации и декарбоксилирования, в следствии чего происходит потеря исходной окраски и появлению коричневого оттенка. Если происходит дегидрирование, то в результате образуются желтые продукты [39], это трудно объяснимо по причине усиления системы сопряжения.

Теоретически декарбоксилирование бетацианинов может протекать у  $C_2$ ,  $C_{15}$  и  $C_{17}$  атомов. Таким образом, декарбоксилирование у  $C_{17}$  атома бетанина приводит к гипсохромному сдвигу от 537 нм к 505 нм и появлению оранжевой окраски [40].

Воздействие прямого солнечного света также оказывает отрицательное влияние на устойчивость бетацианинов. Кроме этого они активно

взаимодействуют в кислороде. В связи с этим их необходимо хранить в присутствии антиоксидантов или в анаэробных условиях [23].

Воздействие некоторых катионов металлов, к примеру  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ , способно ускорять процесс разложения красителей. К гипсохромному или батахромному сдвигу может также привести процесс комплексообразования. Следует отметить, что очищенные пигменты менее устойчивы к воздействию металлов по сравнению с соками растительных объектов. Причиной этому служит содержание в соках соединений, которые связывают металлы в более прочные комплексы [23]. Таким образом, для связывания ионов металлов возможно использование следующих хелатирующих агентов: лимонная кислота или ЭДТА.

Также существенное влияние на устойчивость пигмента оказывают растворители. В научной литературе описано явление разрушения бетацианинов в связи с ускорением протекания процессов моно- и бидекарбоксилирования под действием этанола [23].

На устойчивости бетацианинов значительно сказывается активность воды [41]. Согласно литературным источникам в продуктах с высоким содержанием влаги наблюдается наибольшая степень деградации бетацианинов. Это может быть связано с повышенным уровнем содержания растворенного кислорода и повышенной мобильностью реагентов. Следовательно, хранение бетацианиновых красителей в сухом виде, получаемом при лиофильном высушивании очищенных концентратов экстрагентов и сырья, является одним из возможных способов хранения [42-43].

### **1.5 Методы качественного и количественного определения бетацианинов**

**Экстракция.** Во время выделения бетацианиновых пигментов по возможности следует учитывать влияние описанных выше факторов, которые влияют на устойчивость соединений и придаваемой ими окраски. Для извлечения бетацианинов из растительного сырья обычно используют

метод статической экстракции. В качестве экстрагентов могут быть использованы следующие кислоты: соляная, лимонная, винная и другие [44].

Следует принимать во внимание, что использование дефицитных и дорогостоящих кислот и растворителей делает экстракцию малодоступной для широкого применения. Также необходимо учитывать, что при использовании водных растворов органических кислот в качестве экстрагентов, полученные экстракты не стойкие к действию микроорганизмов. В связи с этим срок их хранения составляет не более 15 дней.

Так как бетацианинам присущ низкий уровень стабильности, то их экстракцию рекомендовано проводить при низких температурах и в темноте. В работе [45] предлагается инактивация ферментов путем нагревания до 70°C в течение двух минут, хотя есть риск разрушения самого пигмента.

Обнаружены сведения о том, что стабильность бетацианинов увеличивает незначительное подкисление экстрагента. Это объясняется тем, что происходит препятствие окислению полифенолоксидазой, и при этом устойчивость самих бетацианинов наблюдается в нейтральных средах [23].

В следствии того, что бетацианины относятся к группе водорастворимых пигментов, они могут быть экстрагированы дистиллированной водой [46].

Спектрофотометрический анализ. Использование данного метода позволяет качественно идентифицировать компоненты. В табл. 1.5 представлены длины волн максимумов адсорбции бетацианинов.

Спектрофотометрический анализ позволяет и количественно определять компоненты, полученные из растительного сырья [47-48]. В случае анализа сложнocomпонентной смеси пересчет принято вести на основной компонент. Так как получение чистых стандартных веществ красителей представляет собой сложность, то определение коэффициентов молярного погашения для бетацианинов процесс сложный. Поэтому у различных авторов экспериментальные данные существенно различаются

[49-50]. В качестве величины молярного погашения для бетацианинов было принято значение  $56000 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  [51-52].

Хроматографический анализ. Хроматографический метод анализа уже длительно и эффективно применяется при разделении и идентификации различных многокомпонентных смесей. В качестве подвижных фаз в варианте обращено-фазовой ВЭЖХ используются смеси воды и метанола или ацетонитрила, которые подкисляют различными кислотами (уксусной, муравьиной, фосфорной и др.). Следует отметить, что количество добавленных кислот бывают довольно высокими – до 10 об. %.

Гидрофильная хроматография является альтернативой обращено-фазовой ВЭЖХ. Однако сведений по определению бетацианинов этим методом не обнаружено.

Одним из хроматографических методов, используемым для разделения бетацианинов, является ВЭЖХ в варианте ионообменной хроматографии с ионпарными добавками [53].

Метод ВЭЖХ совместно с масс-спектрометрией часто используется для разделения и определения индивидуальных компонентов бетацианинов [54-55].

### **1.6 Твердофазная очистка бетацианинов**

Одним из эффективных и часто применяемых вариантов очистки экстрактов растительного сырья является метод под названием твердофазной экстракции [54].

В зависимости от pH бетацианины могут находиться в различных зарядовых формах. Бетацианины в катионной форме находятся в сильно кислых средах, при этом их сорбция может быть обусловлена ионообменными процессами. Однако, вследствие чрезвычайно медленных внутренних массообменных процессов, традиционные катионообменные смолы являются малоэффективными [55].

В настоящее время наиболее эффективными, но при этом наиболее дорогостоящими, являются хроматографические методы очистки и разделения.

### **1.7 Антиоксидантная активность и емкость. Методы определения**

Антиоксидантная активность (АОА) – это свойство соединений, благодаря которому происходит нейтрализация свободных радикалов. Свободные радикалы представляют собой частицы, имеющие на внешней электронной оболочке один или несколько неспаренных электронов. Они возникают в организме по естественным и иным различным процессам и являются промежуточными частицами. Многие факторы окружающей среды (несбалансированное питание, ухудшение экологии, вредные привычки и др.) способствуют ускорению окислительных процессов в человеческом организме и приводят к накоплению свободных радикалов. В организме человека существует собственная антиоксидантная ферментная система, которая способна к нейтрализации этих радикалов. Однако, эта система не рассчитана на повышенное образование этих частиц. В связи с этим, для их нейтрализации и профилактики заболеваний, необходимо использование природных антиоксидантов [56].

Существуют различные методы для измерения АОА биологически активных веществ, основанных на определении суммарного количества восстановителей в анализируемом образце [57]. В результате измерений можно получить два типа параметров АОА, а именно: кинетический, который определяется константой скорости протекающей окислительно-восстановительной реакции, и емкостный, связанного с содержанием антиоксидантов в анализируемой смеси [58].

Существует несколько способов регистрации АОА:

- хемилюминесцентные;
- фотометрические;
- флуоресцентные;

-электрохимические и др. [59-60].

Основу таких методов регистрации составляет некая определенная модельная реакция, в завершении которой (или в процессе ее протекания) фиксируется аналитический сигнал, находящийся в математической зависимости от концентрации антиоксиданта в исследуемом образце. К примеру, в основе спектрофотометрических методов анализа лежит исследование изменения оптической плотности исследуемого раствора при проведении окислительно-восстановительной реакции (DPPH, ABTS, железо-восстанавливающий метод и др.) [61-62]. Определение количества молекулярного кислорода, которое поглощается антиоксидантом, лежит в основе газометрического метода регистрации. Хемилюминисцентный метод основан на свечении (люминесценции) люминола при химическом взаимодействии со свободными радикалами [59-60]. Наиболее распространенным среди электрохимических методов является амперометрический метод, основанный на регистрации электрического тока, который возникает при окислении антиоксиданта на поверхности рабочего электрода при фиксированном потенциале. В случае комбинации ВЭЖХ с амперометрическим детектором возможно определение АОА индивидуальных компонентов после разделения смеси [61].

#### *Антиоксидантная активность бетацианинов*

Согласно последним исследованиям, объекты, содержащие в своем составе бетацианины, обладают высокой антиоксидантной активностью [24].

### **1.8 Источники бетацианинов**

Бетацианины содержатся в растениях порядка Гвоздичноцветные (*Caryophyllales*), кроме семейств Моллюгиновые (*Molluginaceae*) и Гвоздичные (*Caryophyllaceae*) [63-64]. Также содержание этих пигментов характерно для растений семейств Аизовые (*Aizoaceae*), Амарантовые (*Amaranthaceae*), Базелловые (*Basellaceae*), Кактусовые (*Cactaceae*), Маревые (*Chenopodiaceae*), Дидиереевые (*Didieraceae*), Галофитовые (*Holophytaceae*),

Никтагиновые (*Nyctaginaceae*), Лаконосовые (*Phytolaccaceae*), Портулаковые (*Portulacaceae*) [28].

Широкое использование в качестве источника бетацианинов имеют корнеплоды красной столовой свеклы. Основным бетацианином является бетанин [65]. Однако, в связи с тем что экстракты свеклы обладают характерным специфичным запахом, предпочтение отдается фруктовым кактусам. Кроме того, для красителей, полученных из кактусов, характерен более широкий спектр цветов (от желто-оранжевого до красно-фиолетового) [66]. Также в фруктовых кактусах содержится значительно меньшее количество бесцветных фенольных соединений и пигментов желтого цвета, которые способны взаимодействовать с бетацианинами и в результате чего они разрушаются [63].

В качестве основного объекта исследования был выбран амарант, а точнее его части (т.к. они все окрашены), как альтернативный источник бетацианинов.

Амарант (лат. *Amaránthus*) – распространенный род однолетних травянистых растений с соцветиями - метелка, относящийся к семейству Амарантовые (*Amaranthaceae*). Известно более ста видов этого растения, произрастающих в теплых и умеренных областях.

Некоторые виды являются распространенными сорняками. Виды *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus cruentus* являются зерновыми культурами, используемыми с древности, и разводятся в качестве сельскохозяйственной культуры в некоторых странах. *Amaranthus tricolor* используется в качестве овощной культуры. Многие виды с ярко окрашенными листьями, такие как *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Amaranthus tricolor*, широко используются в декоративных целях [67]. Всего известно около 65 родов и 900 видов амаранта. В России выращивают всего 17 видов данного растения. Это амарант запрокинутый (щирица обыкновенная), амарант трехцветный, амарант темный, амарант метельчатый (багряный) и амарант хвостатый [68].

Амарант был известен человечеству с древних времен. Его выращивали наравне с кукурузой в Южной Америке. Из амарантовых зерен делали напиток бессмертия – амариту. Его использовали в ритуальных жертвоприношениях и поклонялись как божеству. В Европу амарант завезли в XVI веке, а в 1653 году в Швеции учредили орден кавалеров амаранта.

В России данное растение также считалось источником бессмертия. Название содержит словосочетание, отрицающее смерть («а» – частица отрицания и Мара – славянская богиня смерти). Славяне делали из него хлеб и считали, что долголетие дает именно он, верили, что зерна амаранта являются источником здоровья и силы. Однако реформы Петра I запретили употреблять его в пищу, поэтому в наше время это растение используется исключительно в декоративных целях. Только дикорастущие подвиды используются в качестве корма для сельскохозяйственных животных [24].

Состав растения уникальный. В нем собрано большое количество целебных веществ, которые, синергируя друг друга, оказывают положительное активное влияние на здоровье человека. В ходе литературного поиска был найден следующий вещественный состав амаранта:  $\beta$ -каротин, амарантин, фолат,  $\beta$ - и  $\gamma$ -токоферол, жирные кислоты, сквален, флавоноиды, стероиды, аминокислоты (лизин, тирозин, изолейцин, аргинин, цистеин, валин, серин, глицин, пролин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты), органические кислоты (арахиновая, аскорбиновая, стеариновая, бегеновая, пальмитиновая, миристиновая, линоленовая, линолевая, олеиновая), сахароза и глюкоза, природный растительный белок. В амаранте также содержатся все витамины группы В и необходимые для организма микро- и макроэлементы, такие как селен, медь, магний, марганец, железо, фосфор, цинк, кальций, натрий и калий [69].

В последнее время все чаще поднимается вопрос о возможности использования этого растения для получения пищевых красителей. Следует заметить, что синтетический краситель «Амарант» (E123) не имеет ничего общего с природным пигментом, выделенным из амаранта [37].

Основным красящим веществом, определяющими пурпурную окраску различных частей амаранта, является таковой бетацианин, как амарантин (рис. 1.2) [57].

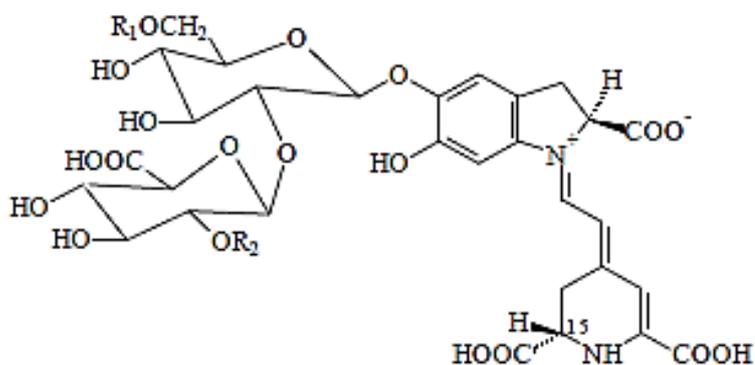


Рис. 1.2. Основная структура бетацианинов амарантинового ряда

Преимущества предложенного нового источника красного красителя из соцветий растений амаранта заключается в следующем:

- максимально высокий выход красного пигмента амарантина, сравнимый с листьями;
- масса соцветий в период уборки превышает массу листьев в 1,3-1,6 раз;
- устойчивость соцветий амаранта к кратковременному низкотемпературному стрессу;
- одновременный сбор соцветий со всего участка[70].

Семена амаранта богаты комплексом полиненасыщенных жирных кислот (линолевая, пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линоленовая), причем их содержание составляет 77%, при этом 50% принадлежит линолевой кислоте, из которой синтезируется арахидоновая кислота, являющаяся основанием для синтеза простагландинов в организме[3].

Кроме того в амарантовом масле, в зависимости от технологии извлечения, сквалена содержится от 8 до 15%. Сквален в составе амарантового масла обладает уникальными ранозаживляющими свойствами,

легко справляется с большинством кожных заболеваний, включая экземы, псориазы и даже трофические язвы. Попадая в организм человека, сквален активизирует восстановительные процессы, что способствует заживлению язв и любых других повреждений тканей внутренних органов[47].

Масло семян амаранта показано онкологическим больным. Препараты, содержащие масло амаранта, снижают количество холестерина в крови, защищают организм от последствий радиоактивного облучения, способствуют рассасыванию злокачественных опухолей[70].

## 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### 2.1 Объекты исследования

В качестве объектов исследования выступали амарант (лат. *Amaranthus*), свекла столовая (лат. *Beta vulgaris*), целозия серебристая гребенчатая (лат. *Celosia argentea f. cristata*).

### 2.2 Методика экстракции бетацианинов из растительного сырья

Экстракцию осуществляли 0.1 М ацетатным буферным раствором с рН 5÷6 (для спектрофотометрического определения). Выдерживание экстракта в течение длительного времени приводит к количественным потерям красителя. Сырье разминали под слоем соответствующего экстрагента в фарфоровой ступке. Процедуру повторяли до исчерпывающей экстракции. Порции экстракта отделяли от сырья фильтрованием через бумажный фильтр.

### 2.3 Методика записи электронных спектров

В работе использовали спектрофотометры Спекс ССП-705-4 и Shimadzu UV-2550. Спектры записывали в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 0.1÷1.0 см относительно водно-спиртовых смесей. Перед спектрофотометрическим определением бетацианинов раствор доводили до рН 5÷6, соответствующему максимальному проявлению окрашенной зарядовой формы бетацианинов.

### 2.4 Методика определения содержания бетацианинов в различных объектах

Различные навески растительного сырья заливали 0,1 М ацетатным буферным раствором с рН=5 ÷ 6. Сырье разминали под слоем экстрагента. После этого экстракт отфильтровывали через бумажный фильтр в мерные колбы. Процедуру повторяли до исчерпывающей экстракции. Оптическую

плотность измеряли с использованием спектрофотометра Shimadzu UV-2550. Спектр записывали в кварцевых кюветах относительно водно-спиртовых смесей.

Содержание бетацианинов в различных частях рассчитывали по формуле 2.1.

$$C = \frac{D}{\varepsilon \cdot l}, \quad (2.1)$$

где  $c$  – содержание бетацианинов, моль/л;

$D$  – оптическая плотность исследуемого раствора;

$\varepsilon$  – коэффициент экстинкции бетацианинов,  $56000 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ;

$l$  – длина оптического пути, см;

Для расчета концентрации в г/100 г сырья использовали формулу 2.2.

$$c = \frac{D}{\varepsilon \cdot l} \cdot R \cdot \frac{V_{\text{экстр}}}{1000} \cdot M \cdot \frac{100}{m}, \quad (2.2)$$

где  $c$  – содержание бетацианинов, г/100 г;

$\varepsilon$  – коэффициент экстинкции бетацианинов,  $56000 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ;

$l$  – длина оптического пути, см;

$R$  – разбавление;

$V_{\text{экстр}}$  – объем экстракта,  $\text{см}^3$ ;

$M$  – молярная масса,  $551 \text{ г/моль}$ ;

$m$  – масса анализируемого сырья, г.

## 2.5 Методика приготовления чаев на основе амаранта

Навеску растительного сырья (соцветия) помещали в термостойкий стакан и заливали кипящей водой, выдерживали определенное время. Фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу, доводили до метки дистиллированной водой и измеряли оптическую плотность с использованием спектрофотометра Shimadzu UV-2550. Спектр записывали в кварцевых кюветах относительно водно-спиртовых смесей.

## 2.6 Методика приготовления водных экстрактов бетацианинов

Навеску растительного сырья (соцветия) помещали в стакан, заливали дистиллированной водой и тщательно разминали. Фильтровали через бумажный фильтр. Экстракцию осуществляли до обесцвечивания соцветий.

## 2.7 Методика определения антиоксидантной активности методом Фолина-Чокальтеу

Аликвоту образца помещали в мерную колбу на 5 мл. Затем добавляли 1 мл 10%-ного раствора карбоната натрия и 200 мкл реактива Фолина-Чокальтеу. Выдерживали в течение 30 минут и доводили дистиллированной водой до метки.

Оптическую плотность измеряли с использованием спектрофотометра Спекс ССП-705-4. Спектры записывали в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см и  $\lambda=760$  нм относительно водно-спиртовых смесей.

Пересчет производили на кофейную кислоту.

## 2.8 Методика получения масла из семян амаранта и определение масличности

Навеску семян помещали в фарфоровую ступку и растирали. В качестве экстрагента использовали петролейный эфир, который добавляли небольшими порциями (6 раз по 15 мл). Продолжали растирать семена, периодически отбирая надосадочную жидкость при помощи шприца, фильтруя ее в стакан через бумажный фильтр. Все последовательные экстракты объединяли в одной колбе. Затем раствор помещали в круглодонную колбу, и с помощью ротационного испарителя отгоняли растворитель (при температуре термостата 30°C). Массу экстрагированного масла определяли гравиметрическим способом.

Масличность определяли по формуле 2.3.

$$\text{Масличность (\%)} = \frac{m_{\text{oils}}}{m_{\text{семян}}} * 100, \quad (2.3)$$

где  $m_{\text{oils}}$  – масса масла, г;

$m_{\text{семян}}$  – масса семян, г.

Все эксперименты повторяли 3 раза и принимали среднее значение.

## **2.9 Методика определения сквалена методом ОФ-ВЭЖХ**

Полученные масла из семян амаранта растворяли в элюенте с концентрацией  $10.0 \pm 1$  мг/мл. Для обращено-фазовой ВЭЖХ использовали хроматографическую систему Agilent 1260 Infinity с дифференциальным рефрактометрическим детектором RI 401 (Waters). Хроматографические колонки:  $4.6 \times 250$  мм Kromasil 100-5C18,  $4.0 \times 250$  мм, скорость потока 0.8 мл/мин, температура колонки  $35^\circ\text{C}$ , подвижная фаза: 25% ацетонитрила в ацетоне.

Для количественного определения сквалена мы использовали стандартное вещество. Вначале мы построили калибровочную кривую концентрации, которая зависит от площади пика сквалена. После этого рассчитывали концентрацию сквалена в масле с использованием площади пиков, определяемую программой Мультихром 1.5.

## **2.10 Методика контроля степени извлечения сквалена в процессе экстракции**

Контроль степени извлечения сквалена в процессе экстракции изучали следующим образом. Взяли навеску семян амаранта  $1.5 \pm 0.1$  г, в которых были изучены количественное содержание сквалена и масличности. Затем добавили различные количества стандартного сквалена и экстрагировали 6 раз петролейным эфиром порциями по 15 мл. После этого определяли масличность и количество сквалена в полученных маслах.

## **2.11 Методика получения сухих форм**

Для получения сухих форм осуществляли следующие операции. Навеску растительного сырья заливали 0.1 н соляной кислотой, тщательно разминали и выдерживали в течении 1,5 ч. Затем экстракт отделяли от сырья путем

фильтрования через бумажный фильтр в стакан. После этого подкисляли полученный раствор муравьиной кислотой до  $pH=1$ . Полученный экстракт очищали методом твердофазной экстракции, используя концентрирующий патрон ДИАПАК С18. Для начала патрон активировали путем пропускания через него  $5\div 7$  мл ацетона, а затем  $10\div 15$  мл 0.1 н соляной кислоты. Затем через патрон, с помощью шприца, пропускали очищаемый экстракт до проскока окрашенных фракций. После этого патрон промывали смесью следующего состава:  $C_2H_5OH$  и 0.1 н  $HCl$  в соотношении 1:1.

Из полученного очищенного экстракта с помощью ротационного испарителя отгоняли этиловый спирт. Затем в стеклянные бюксы помещали определенный объем раствора и добавляли к нему навески различных матриц, тщательно перемешивали. Бюксы отправляли в морозильную камеру бытового холодильника для замораживания. После этого высушивали с помощью лиофильной сушки.

### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

#### 3.1 Определение содержания бетацианинов в различных частях амаранта

Определение содержания бетацианинов осуществляли согласно методике, описанной в пункте 2.4

В ходе работы выяснили, что максимум светопоглощения наблюдается при длине волны  $\lambda=538$  нм, рис. 3.1.

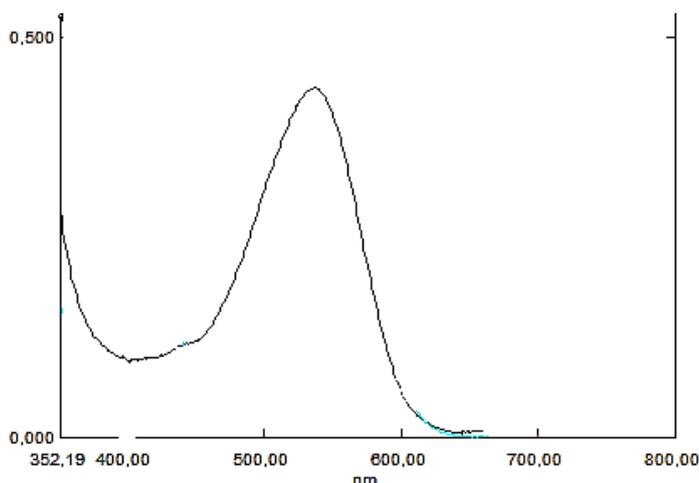


Рис.3.1. Характеристический спектр экстракта листьев

Все дальнейшие спектрофотометрические измерения проводили на установленной аналитической длине волны.

Результаты содержания бетацианинов в листьях амаранта представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1.

#### Содержание бетацианинов в листьях амаранта

№ пп	l, см	D	Концентрация с, моль/л	Концентрация с, моль/г	Концентрация с, г/100г
1	1	0.437	$1.56 \cdot 10^{-5}$	$1.07 \cdot 10^{-6}$	0.057
2	1	0.303	$1.08 \cdot 10^{-5}$	$0.85 \cdot 10^{-6}$	0.045
3	1	0.297	$1.06 \cdot 10^{-5}$	$0.90 \cdot 10^{-6}$	0.049
Среднее значение			$1.23 \cdot 10^{-5} \pm 0.0283$	$0.94 \cdot 10^{-6} \pm 0.012$	$0.05 \pm 0.006$

Определение содержания бетацианинов в стеблях растения.

Методика: определение осуществляли по освоенной ранее методике (описание см. п. 2.4); предварительно кожицу с поверхности стеблей удалили скальпелем.

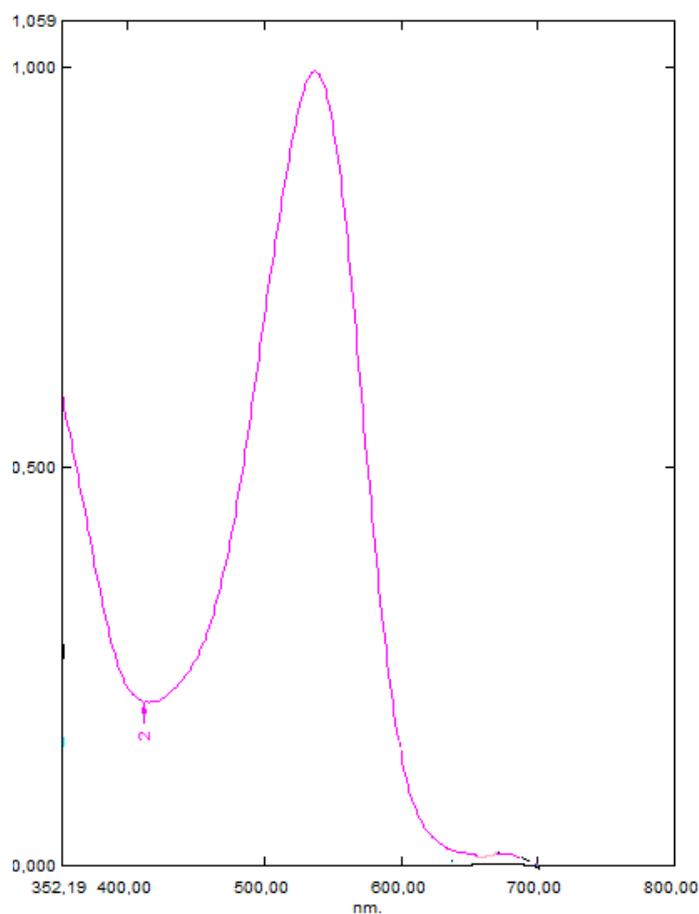


Рис.3.2. Характеристический спектр экстракта стеблей

Результаты содержания бетацианинов в стеблях амаранта представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2.

Содержание бетацианинов в стеблях амаранта

№ пп	l, см	D	Концентрация с, моль/л	Концентрация с, моль/л	Концентрация с, г/100г
1	1	0.459	$1.63 \cdot 10^{-5}$	$1.8 \cdot 10^{-6}$	0.042
2	1	0.995	$3.55 \cdot 10^{-5}$	$2.1 \cdot 10^{-6}$	0.108
3	1	0.918	$3.27 \cdot 10^{-5}$	$2.5 \cdot 10^{-6}$	0.113
Среднее значение			$2.82 \cdot 10^{-5} \pm 0.037$	$2.1 \cdot 10^{-6} \pm 0.0351$	$0.089 \pm 0.034$

Определение содержание бетацианинов в соцветиях растения.

Методика: определение осуществляли по освоенной ранее методике (описание см. п. 2.4); предварительно отделили семена.

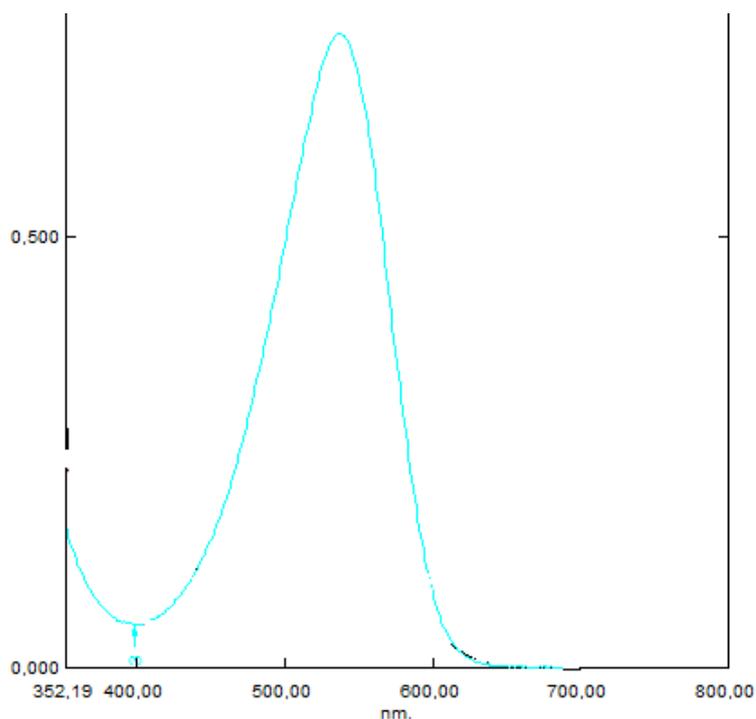


Рис.3.3. Характеристический спектр экстракта соцветий

Результаты содержания бетацианинов в соцветиях амаранта представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3.

Содержание бетацианинов амаранта в соцветиях

№ пп	l, см	D	Концентрация с, моль/л	Концентрация с, моль/г	Концентрация с, г/100г
1	0.1	0.734	$1.31 \cdot 10^{-4}$	$1.9 \cdot 10^{-5}$	0.107
2	0.1	0.684	$1.22 \cdot 10^{-4}$	$1.8 \cdot 10^{-5}$	0.103
3	0.1	0.504	$0.90 \cdot 10^{-4}$	$1.7 \cdot 10^{-5}$	0.099
Среднее значение			$1.14 \cdot 10^{-4} \pm 0.0215$	$1.8 \cdot 10^{-5} \pm 0.01$	$0.104 \pm 0.004$

Установлено, что наибольшее количество бетацианинов содержится в соцветиях растения.

### 3.2 Приготовление чаев и определение их антиоксидантной активности от времени выдерживания по методу Фолина-Чокальтеу

Приготовление чаев осуществляли согласно методике, изложенной в пункте 2.5, а определение антиоксидантной активности – в пункте 2.6.1. Раствор кофейной кислоты получали путем растворения навески кислоты в воде в мерной колбе. Масса кислоты и концентрация представлены в таблице 3.4.

Пересчет производили на кофейную кислоту.

Таблица 3.4.

Характеристические данные раствора кофейной кислоты

Навеска кислоты, г	0.04
Объем колбы, л	0.1
Мол масса, г/моль	180
C, мг/л	2.24

Результаты определения антиоксидантной активности кофейной кислоты, используемые для построения калибровочной кривой, представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5.

Данные для построение калибровочной кривой

m, мкг	V к-ты, л	A(760)
0.1122	0.00005	0.378
0.2244	0.0001	0.741
0.3366	0.00015	1.099

Калибровочная кривая для определения антиоксидантной активности чаев в пересчете на кофейную кислоту представлена на рисунке 3.4.

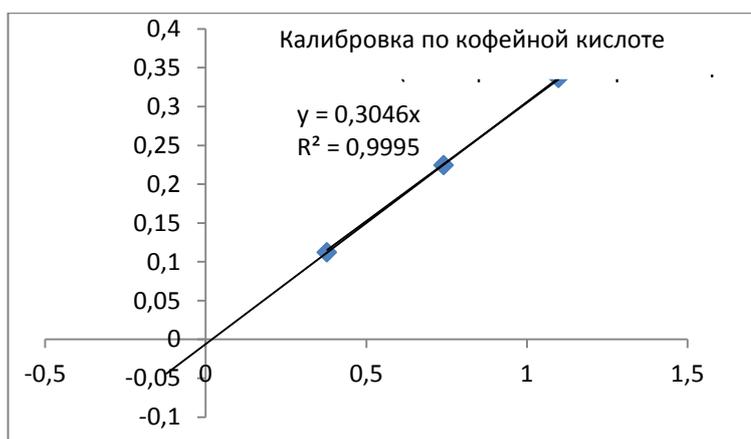


Рис. 3.4. Калибровочная кривая определения АОА в пересчете на кофейную кислоту

Время выдерживания 1 минута

Навеска – 0,4711 г

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\epsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,285$ ;

Концентрация –  $5,09 \cdot 10^{-6}$  моль/л = 28,95 мг/100 г

Результаты АОА чаев для времени выдерживания 1 минута представлены в таблице 3.6. Измерения проводились в 5 параллелях.

Таблица 3.6.

Значения АОА чаев на основе амаранта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D(760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	800	0.280	17.21
2	800	0.277	17.50
3	800	0.285	17.37
4	800	0.293	17.82
5	800	0.282	17.14
Среднее значение			17.40±0.03

Время выдерживания 2 минуты

Навеска – 0,5890 г

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,469$ ;

Концентрация –  $8,4 \cdot 10^{-6}$  моль/л = 38,11 мг/100 г

Результаты АОА чаев для времени выдерживания 2 минуты представлены в таблице 3.7. Измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.7.

Значения АОА чаев на основе амаранта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D(760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.459	22.73
2	600	0.450	22.41
3	600	0.453	22.46
4	600	0.455	22.52
5	600	0.467	23.08
Среднее значение			22.64±0.03

Время выдерживания 3 минуты

Навеска – 0,4211 г

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,584$ ;

Концентрация –  $1,04 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 66,37 мг/100 г

Результаты АОА чаев для времени выдерживания 3 минуты представлены в таблице 3.8. измерения проводили в 5 параллелях.

Значения АОА чаев на основе амаранта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D(760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	200	0.341	24.66
2	200	0.334	24.15
3	200	0.337	24.37
4	200	0.335	24.23
5	200	0.340	24.59
Среднее значение			24.41±0.02

Время выдерживания 4 минуты

Навеска – 0,5875 г

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,823$ ;

Концентрация –  $1,47 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 67,04 мг/100 г

Результаты АОА чаев для времени выдерживания 4 минуты представлены в таблице 3.9. Измерения проводили в 6 параллелях.

Таблица 3.9.

Значения АОА чаев на основе амаранта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D(760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.457	26.11
2	600	0.455	26.54
3	600	0.460	27.03
4	600	0.539	26.38
5	600	0.543	26.27
6	600	0.540	27.99
Среднее значение			26.47±0.03

Время выдерживания 5 минуты.

Навеска – 0,6252 г

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,551$ ;

Концентрация  $-9,83 \cdot 10^{-6}$  моль/л = 42,18 мг/100 г

Результаты АОА чаев для времени выдерживания 5 минут представлены в таблице 3.10. измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.10.

Значения АОА чаев на основе амаранта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D(760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	800	0.482	25.69
2	800	0.490	25.69
3	800	0.499	25.84
4	800	0.487	25.69
5	800	0.485	25.69
Среднее значение			25.88±0.017

Время выдерживания 7 минут

Навеска – 0,7361 г

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,641$ ;

Концентрация  $-1,14 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 41,67 мг/100 г

Результаты АОА чаев для времени выдерживания 7 минут представлены в таблице 3.11. измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.11.

## Значения АОА чаев на основе амаранта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D(760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.428	14.57
2	600	0.423	13.36
3	600	0.425	13.44
4	600	0.460	14.89
5	600	0.455	14.69
Среднее значение			13.99±0.02

Время выдерживания 10 минут

Навеска – 0,3471 г

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,449$ ;

Концентрация –  $8,02 \cdot 10^{-6}$  моль/л = 38,9 мг/100 г

Результаты АОА чаев для времени выдерживания 10 минут представлены в таблице 3.12. измерения проводили в 3 параллелях.

Таблица 3.12.

## Значения АОА чаев на основе амаранта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D(760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	280	0.238	20.89
2	280	0.242	21.23
3	280	0.241	21.14
Среднее значение			21.09±0.02

Время выдерживания 15 минут

Навеска – 0,5623 г

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,617$ ;

Концентрация  $-1,1 \cdot 10^{-5}$  моль/л=32,51 мг/100 г

Результаты АОА чаев для времени выдерживания 15 минут представлены в таблице 3.13 Измерения проводили в 3 параллелях.

Таблица 3.13.

Значения АОА чаев на основе амаранта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D(760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.424	20.65
2	600	0.420	20.46
3	600	0.421	20.51
Среднее значение			20.54±0.02

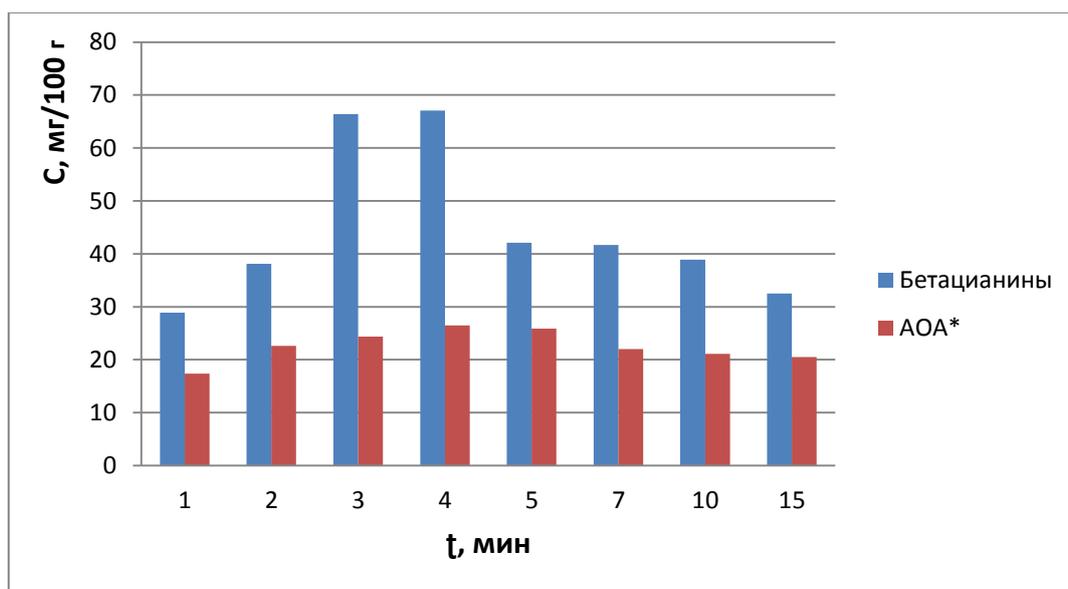


Рис. 3.5. Сводная диаграмма соотношения содержания бетацианинов и проявление антиоксидантной активности в чаях (\*=АОА·10<sup>-3</sup>)

В результате исследований выяснили, что оптимальным временем заваривания является 3 – 4 минут. При этом наблюдается высокая концентрация бетацианинов, антиоксидантная активность изменяется незначительно.

### 3.3 Приготовление водного экстракта бетацианинов. Контроль сохранности. Определение АОА по методу Фолина-Чокальтеу

Приготовление водного экстракта осуществляли согласно методике описанной в п. 2.5, запись электронных спектров осуществляли с помощью спектрофотометра Спекс ССП-705-4 в кварцевых кюветах относительно водно-спиртовых смесей. Антиоксидантную активность определяли по методике, описанной в пункте 2.7.1. Сохранность была изучена при хранении в течение 25 суток. При этом образцы хранили в бытовом холодильнике при  $t = +4^{\circ}\text{C}$ .

0-ые сутки

Навеска – 1,514 г

Длина волны –  $\lambda = 538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon = 56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l = 1$  см;

Оптическая плотность –  $D = 0,8174$ ;

Концентрация –  $1,46 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 51,68 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после приготовления представлены в таблице 3.14. Измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.14.

Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.8172	16.44
2	600	0.8153	16.40
3	600	0.8167	16.43
4	600	0.8161	16.41
5	600	0.8160	16.42
Среднее значение			16.42±0.017

1-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,8043$ ;

Концентрация –  $1,44 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 50,85 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 1-х суток представлены в таблице 3.15. Измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.15.

Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.7706	15.51
2	600	0.7693	15.48
3	600	0.7712	15.52
4	600	0.7708	15.5
5	600	0.7706	15.51
Среднее значение			15.50±0.02

2-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,7807$ ;

Концентрация –  $1,39 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 49,36 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 2-х суток представлены в таблице 3.16. Измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.16.

## Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.7603	15.29
2	600	0.7597	15.28
3	600	0.7608	15.31
4	600	0.7615	15.32
5	600	0.7610	15.31
Среднее значение			15.30±0.02

3-тѣи сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,7694$ ;

Концентрация –  $1,37 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 48,68 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 3-х суток представлены в таблице 3.17. измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.17.

## Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.7588	15.26
2	600	0.7578	15.24
3	600	0.7586	15.26
4	600	0.7580	15.25
5	600	0.7582	15.24
Среднее значение			15.26±0.016

9-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,7292$ ;

Концентрация –  $1,3 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 46,1 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 9-ти суток представлены в таблице 3.18. измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.18.

Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.7168	14.42
2	600	0.7170	14.42
3	600	0.7166	14.41
4	600	0.7171	14.42
5	600	0.7170	14.42
Среднее значение			14.42±0.015

10-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,7277$ ;

Концентрация –  $1,3 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 46,01 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 10-ти суток представлены в таблице 3.19. Измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.19.

## Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.7142	14.39
2	600	0.7137	14.38
3	600	0.7147	14.41
4	600	0.7141	14.39
5	600	0.7142	14.39
Среднее значение			14.41±0.02

15-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,7201$ ;

Концентрация –  $1,29 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 45,52 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 15-ти суток представлены в таблице 3.20. Измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.20.

## Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.7150	14.17
2	600	0.7147	14.16
3	600	0.7149	14.17
4	600	0.7151	14.17
5	600	0.7148	14.16
Среднее значение			14.17±0.019

18-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,7176$ ;

Концентрация –  $1,28 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 45,37 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 18-ти суток представлены в таблице 3.21. Измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.21.

Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.7061	14.02
2	600	0.6953	13.98
3	600	0.7058	13.99
4	600	0.7059	14.00
5	600	0.7058	13.99
Среднее значение			13.98±0.016

20-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,7150$ ;

Концентрация –  $1,28 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 45,2 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 18-ти суток представлены в таблице 3.22. Измерения проводили в 5 параллелях.

## Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.6953	13.98
2	600	0.6954	13.99
3	600	0.6956	13.99
4	600	0.6959	14.00
5	600	0.6954	13.98
Среднее значение			13.99±0.02

20-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,7112$ ;

Концентрация –  $1,27 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 45,2 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 20-ти суток представлены в таблице 3.23. Измерения проводили в 5 параллелях.

## Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.6898	13.87
2	600	0.6956	13.99
3	600	0.6953	13.98
4	600	0.6948	13.97
Среднее значение			13.96±0.018

21-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,6927$ ;

Концентрация  $-1,24 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 44,96 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 21-х суток представлены в таблице 3.24. Измерения проводили в 5 параллелях.

Таблица 3.24.

Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.6491	13.06
2	600	0.6488	13.05
3	600	0.6490	13.06
4	600	0.6489	13.05
5	600	0.6488	13.05
Среднее значение			13.05±0.018

24-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,6873$ ;

Концентрация  $-1,23 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 43,79 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 24-х суток представлены в таблице 3.25. Измерения проводили в 5 параллелях.

## Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.6273	12.61
2	600	0.6271	12.61
3	600	0.6269	12.62
4	600	0.6269	12.61
5	600	0.6270	12.61
Среднее значение			12.61±0.017

25-ые сутки

Длина волны –  $\lambda=538$  нм;

Коэффициент экстинкции –  $\varepsilon=56000$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>;

Длина оптического пути –  $l=1$  см;

Оптическая плотность –  $D=0,6927$ ;

Концентрация –  $1,24 \cdot 10^{-5}$  моль/л = 43,45 мг/100г

Результаты антиоксидантной активности экстракта после хранения в течение 25-ти суток представлены в таблице 3.26.

## Значения АОА экстракта

Номер образца	Аликвота, мкл	Оптическая плотность D (760 нм)	АОА, мкг/100 г
1	600	0.6043	12.15
2	600	0.6042	12.15
3	600	0.6043	12.15
4	600	0.6045	12.16
5	600	0.6042	12.15
Среднее значение			12.1538±0.016

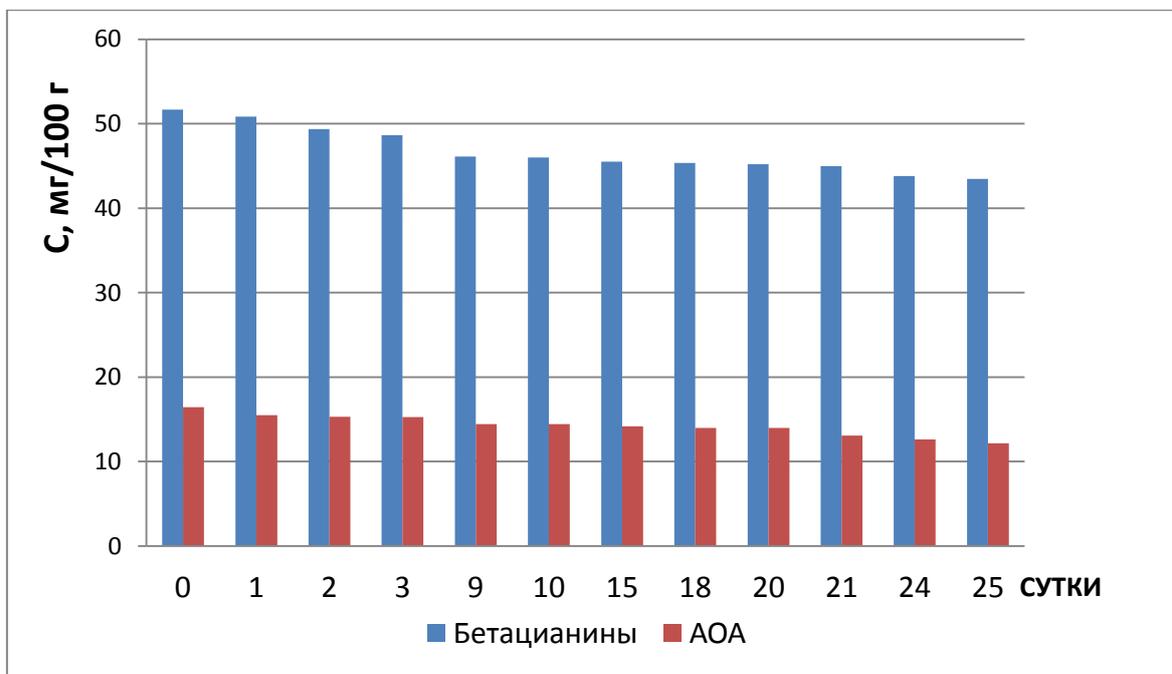


Рис. 3.6. Сводная диаграмма сохранности водных экстрактов бетацианинов с их количественным содержанием и антиоксидантной активностью в течение 25 суток

Установлено, что водный раствор экстракта бетацианинов сохраняет свои антиоксидантные свойства практически неизменными в течение всех 25-ти суток, а содержание бетацианинов в течение первых 3-х суток практически не изменяется, а далее снижается, не значительно.

### 3.4 Определение содержания бетацианинов в различных сортах амаранта

Нами было исследовано несколько сортов амаранта. Так как ранее было установлено, что наибольшее количество бетацианинов содержится в соцветиях растений, их использовали в дальнейшей работе.

Методика получения экстрактов описана в п. 2.2.

Результаты исследования содержания бетацианинов в сорте «Валентина» представлены в таблице 3.27.

Таблица 3.27.

## Содержание бетацонинов в амаранте сорта «Валентина».

№ пп	m, г	l, см	D	Концентрация с, моль/л	Концентрация с, г/100 г
1	0,4717	1	1,243	$2,21 \cdot 10^{-5}$	0.144
2	0,4023	1	1,098	$2,16 \cdot 10^{-5}$	0.126
3	0,4205	1	1,152	$2,06 \cdot 10^{-5}$	0.131
Среднее значение				$2,08 \cdot 10^{-5} \pm 0.003$	0.133 $\pm$ 0.009

Результаты исследования содержания бетацонинов в сорте «Дредлокс» представлены в таблице 3.28.

Таблица 3.28.

## Содержание бетацонинов в амаранте сорта «Дредлокс»

№ пп	m, г	l, см	D	Концентрация с, моль/л	Концентрация с, г/100г
1	0,3345	1	1,048	$1,87 \cdot 10^{-5}$	0.112
2	0,4156	1	1,102	$1,97 \cdot 10^{-5}$	0.121
3	0,3081	1	0,997	$1,78 \cdot 10^{-5}$	0.105
Среднее значение				$1,87 \cdot 10^{-5} \pm 0.02$	0.112 $\pm$ 0.008

В результате исследований выяснили, что амарант сорта «Валентина» является лучшим, по сравнению с сортом «Дредлокс» по содержанию бетацонинов в соцветиях. Для наглядности результаты содержания бетацонинов в сортах представлены на рис. 3.7.

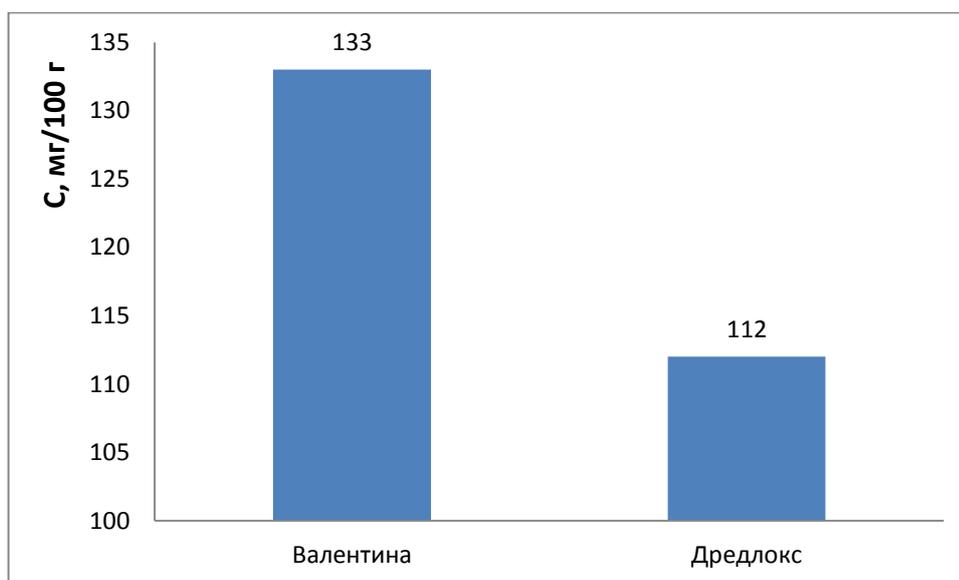


Рис. 3.7. Содержание бетацонинов в сорте 1 (Валентина) и 2 (Дредлокс)

### 3.5 Содержание бетацианинов в других объектах

Для сравнения содержания бетацианинов в различных объектах, нами были исследованы свекла и целозия гребенчатая.

Для выполнения работы были приготовлены водные экстракты объектов. Для этого корнеплоды свеклы измельчали с помощью бытовой терки, а цветки измельчали ножницами. Затем брали навеску сырья и порционно заливали дистиллированной водой и разминали. Экстракты фильтровали через бумажные фильтры в мерные колбы, а затем доводили водой до метки. Экстракцию осуществляли до обесцвечивания сырья.

Свекла столовая сорта «Египетская плоская»

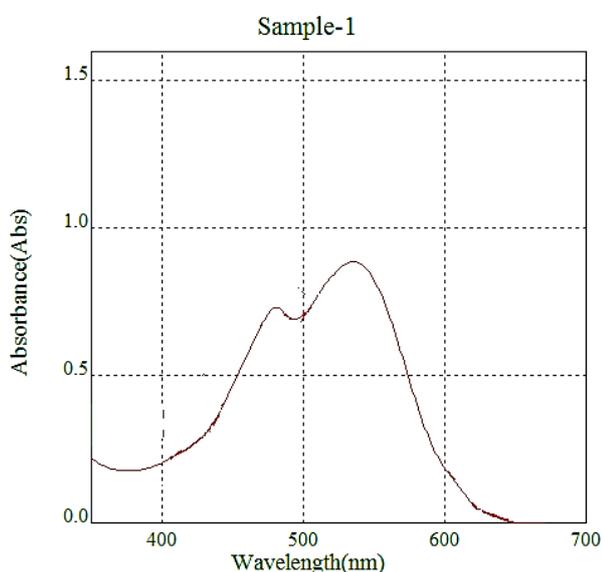


Рис. 3.8. Характеристический спектр экстракта свеклы сорта «Египетская плоская»

Таблица 3.28.

Содержание бетацианинов в свекле сорта «Египетская плоская»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	Концентрация с, моль/л
1	0,8205	1	0,887	$1,583 \cdot 10^{-5}$
2	0,8193	1	0,885	$1,570 \cdot 10^{-5}$
3	0,8199	1	0,8864	$1,581 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение				$1,578 \cdot 10^{-5} \pm 0.018$
Концентрация с, г/100 г				0.0258

## Свекла столовая сорта «Романтика»

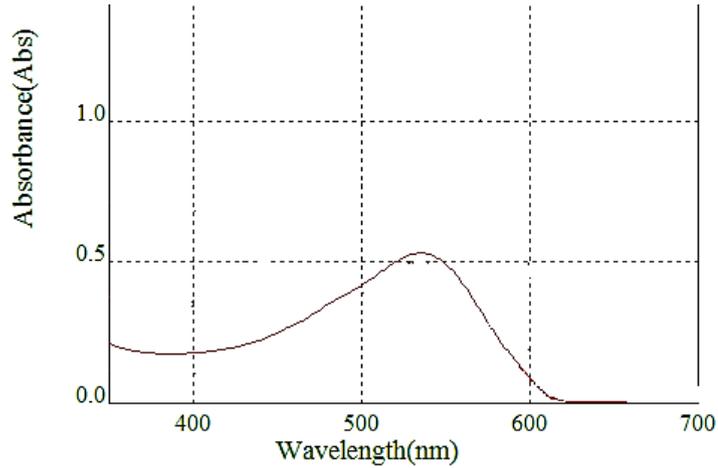


Рис. 3.9. Характеристический спектр экстракта свеклы сорта «Романтика»

Таблица 3.29.

## Содержание бетаанинов в свекле сорта «Романтика»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	R	Концентрация с, моль/л
1	0,8304	1	0,506	6	$5.421 \cdot 10^{-5}$
2	0,8310	1	0,513		$5.496 \cdot 10^{-5}$
3	0,8287	1	0,501		$5.368 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение					$5.428 \cdot 10^{-5} \pm 0.021$
Концентрация с, г/100 г					0.0875

## Свекла столовая сорта «Волшебная»

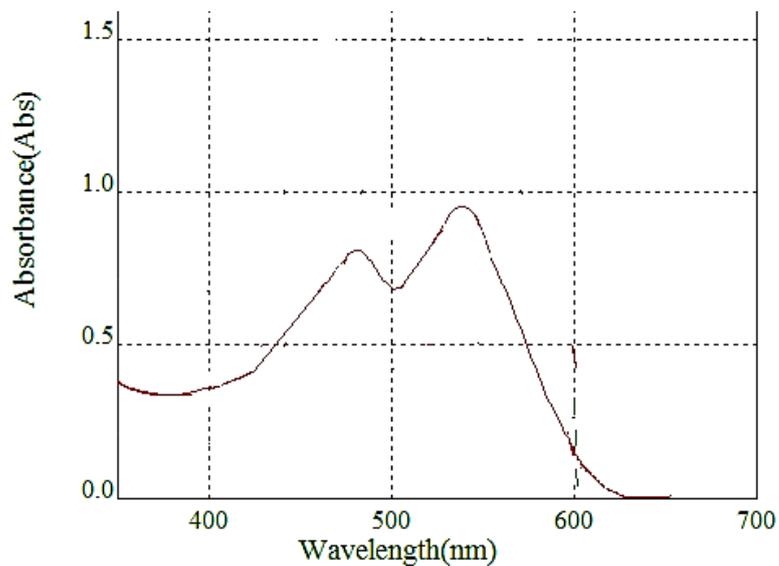


Рис. 3.10. Характеристический спектр экстракта свеклы сорта «Волшебная»

Таблица 3.30.

## Содержание бетацанинов в свекле сорта «Волшебная»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	R	Концентрация с, моль/л
1	0,8384	1	0,841	2	$3.003 \cdot 10^{-5}$
2	0,83760	1	0,835		$2.982 \cdot 10^{-5}$
3	0,8380	1	0,839		$2.996 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение					$2.994 \cdot 10^{-5} \pm 0.02$
Концентрация с, г/ 100г					0.0479

## Свекла столовая сорта «Клад»

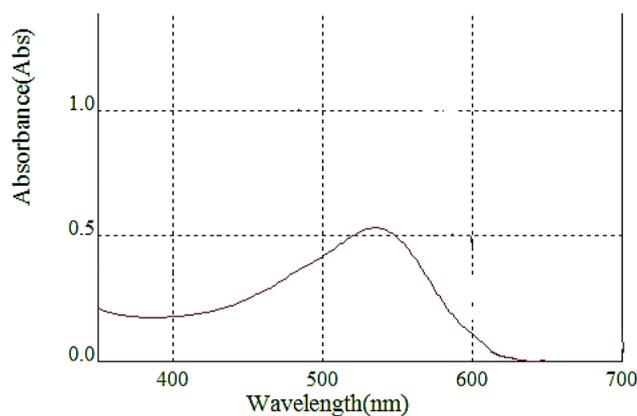


Рис. 3.11. Характеристический спектр экстракта свеклы сорта «Клад»

Таблица 3.31.

## Содержание бетацанинов в свекле сорта «Клад»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	Концентрация с, моль/л
1	0,8342	1	0,532	$0.95 \cdot 10^{-5}$
2	0,8345	1	0,527	$0.941 \cdot 10^{-5}$
3	0,8341	1	0,530	$0.946 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение				$0.946 \cdot 10^{-5} \pm 0.019$
Концентрация с, г/ 100г				0.0152

## Свекла столовая сорта «Славянка»

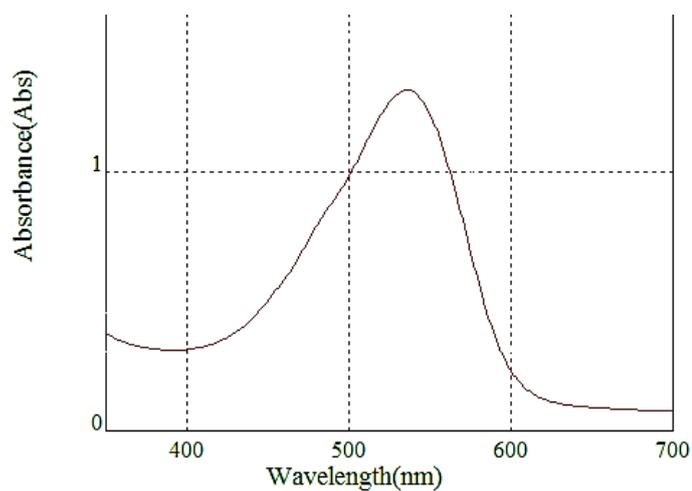


Рис. 3.12. Характеристический спектр свеклы сорта «Славянка»

Таблица 3.32.

Содержание бетацианинов в свекле сорта «Славянка»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	Концентрация с, моль/л
1	0,7583	1	1,3157	$2,349 \cdot 10^{-5}$
2	0,7588	1	1,3161	$2,350 \cdot 10^{-5}$
3	0,7584	1	1,3160	$2,351 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение				$2,350 \cdot 10^{-5} \pm 0.018$
Концентрация с, г/ 100г				0.045

Свекла столовая сорта «Детройт»

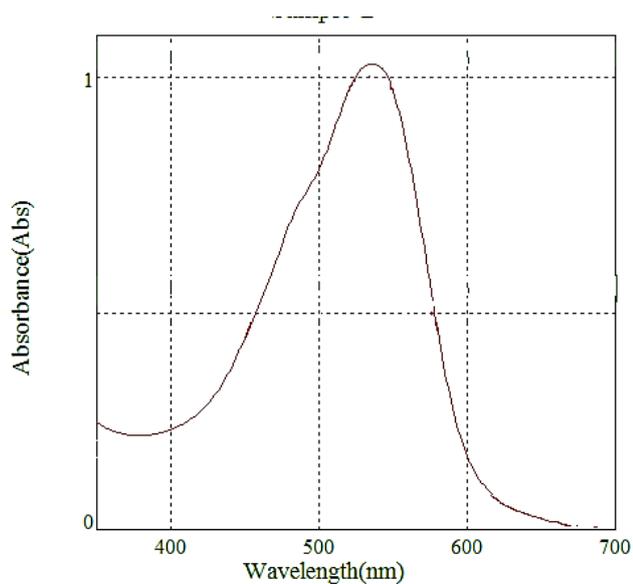


Рис. 3.13. Характеристический спектр экстракта свеклы сорта «Детройт»

## Содержание бетацианинов в свекле сорта «Детройт»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	Концентрация с, моль/л
1	0,5354	1	1,1236	$2.006 \cdot 10^{-5}$
2	0,5350	1	1,1231	$2.005 \cdot 10^{-5}$
3	0,5351	1	1,1234	$2.006 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение				$2.006 \cdot 10^{-5} \pm 0.001$
Концентрация с, г/ 100г				0.0502

## Свекла столовая сорта «Несравненная»

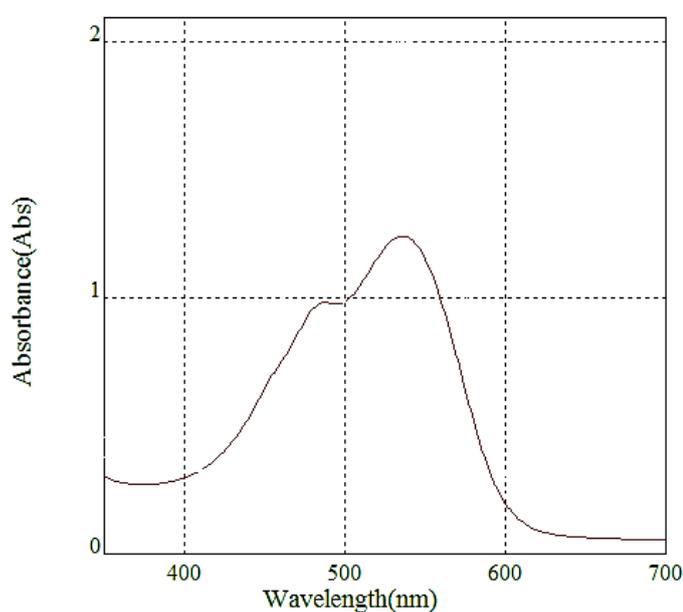


Рис. 3.14. Характеристический спектр экстракта свеклы сорта «Несравненная»

## Содержание бетацианинов в свекле сорта «Несравненная»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	Концентрация с, моль/л
1	0,5332	1	1,2395	$2.213 \cdot 10^{-5}$
2	0,5333	1	1,2397	$2.214 \cdot 10^{-5}$
3	0,5236	1	1,2399	$2.214 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение				$2.14 \cdot 10^{-5} \pm 0.001$
Концентрация с, г/ 100г				0.0537

## Столовая свекла сорта «Свекла двусемянная ТСХА»

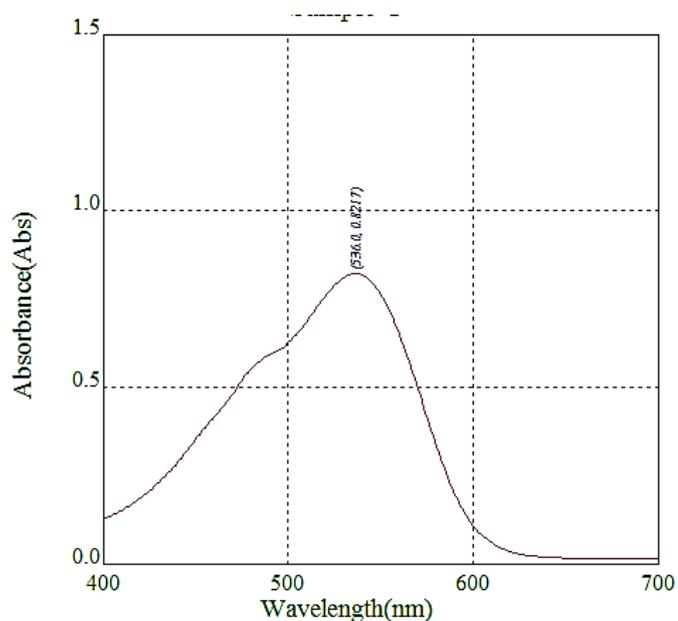


Рис. 3.15. Характеристический спектр экстракта свеклы сорта «Свекла двусемянная ТСХА»

Таблица 3.35.

Содержание бетацианинов в свекле сорта «Свекла двусемянная ТСХА»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	Концентрация с, моль/л
1	0,3855	1	0,8217	$1.467 \cdot 10^{-5}$
2	0,3853	1	0,8214	$1.466 \cdot 10^{-5}$
3	0,3856	1	0,8218	$1.468 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение				$1.47 \cdot 10^{-5} \pm 0.001$
Концентрация с, г/ 100г				0.0511

Свекла столовая сорта «Бордо 237»

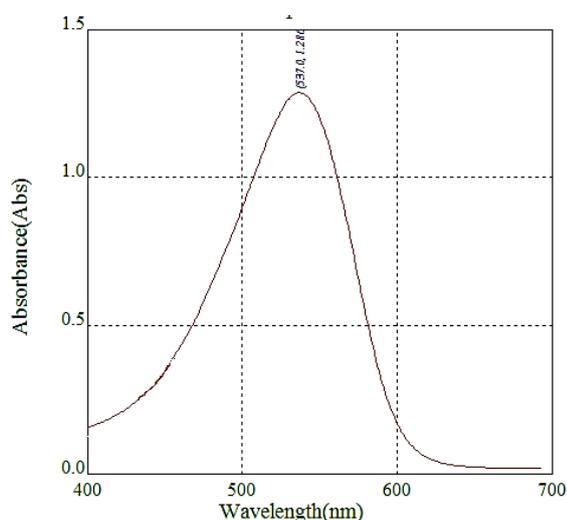


Рис.3.16. Характеристический спектр экстракта свеклы «Бордо 237»

## Содержание бетацианинов в свекле сорта «Бордо 237»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	Концентрация с, моль/л
1	0,3368	1	1,2862	$2.297 \cdot 10^{-5}$
2	0,3365	1	1,2858	$2.296 \cdot 10^{-5}$
3	0,3368	1	1,2830	$2.291 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение				$2.295 \cdot 10^{-5} \pm 0.01$
Концентрация с, г/ 100г				0.0692

## Свекла столовая сорта «Мона»

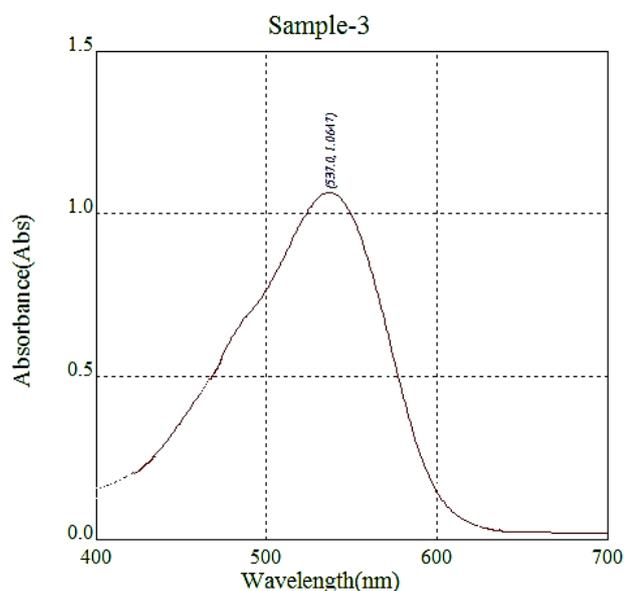


Рис. 3.17. Характеристический спектр экстракта свеклы сорта «Мона»

## Содержание бетацианинов в свекле сорта «Мона»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	Концентрация с, моль/л
1	0,3707	1	1,0647	$1.901 \cdot 10^{-5}$
2	0,3711	1	1,0651	$1.902 \cdot 10^{-5}$
3	0,3708	1	1,0649	$1.902 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение				$1.902 \cdot 10^{-5} \pm 0.001$
Концентрация с, г/ 100г				0.0687

## Свекла столовая сорта «Рапсодия»

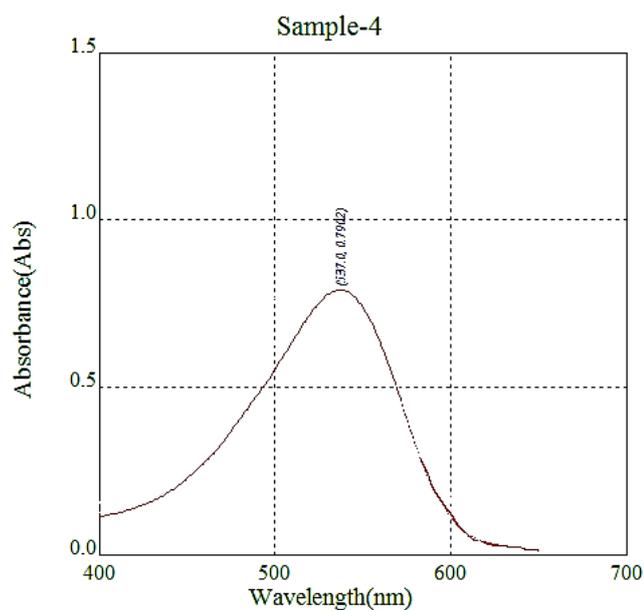


Рис. 3.18. Характеристический спектр экстракта свеклы сорта «Рапсодия»

Таблица 3.38.

Содержание бетацанинов в свекле сорта «Рапсодия»

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	Концентрация с, моль/л
1	0,2489	1	0,7902	$1.411 \cdot 10^{-5}$
2	0,2487	1	0,7899	$1.410 \cdot 10^{-5}$
3	0,2491	1	0,7911	$1.413 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение				$1.411 \cdot 10^{-5} \pm 0.001$
Концентрация с, г/ 100г				0.559

Цветок целозия гребенчатая

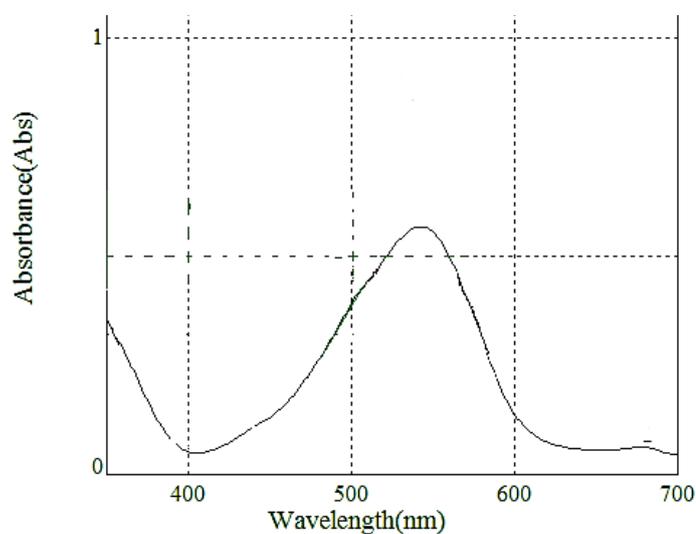


Рис. 3.19. Характеристический спектр экстракта целозии гребенчатой

## Содержание бетацианинов в цветках целозии гребенчатой

№ пп	m, г	Длина оптического пути l, см	Оптическая плотность D	R	Концентрация с, моль/л
1	0,4519	1	0,553	6	$5.925 \cdot 10^{-5}$
2	0,4531	1	0,561		$6.011 \cdot 10^{-5}$
3	0,4523	1	0,557		$5.968 \cdot 10^{-5}$
Среднее значение					$5.967 \cdot 10^{-5} \pm 0.015$
Концентрация с, г/ 100г					0.1767

Для наглядного сравнения содержания бетацианинов в различных объектах, данные представили в виде гистограммы.

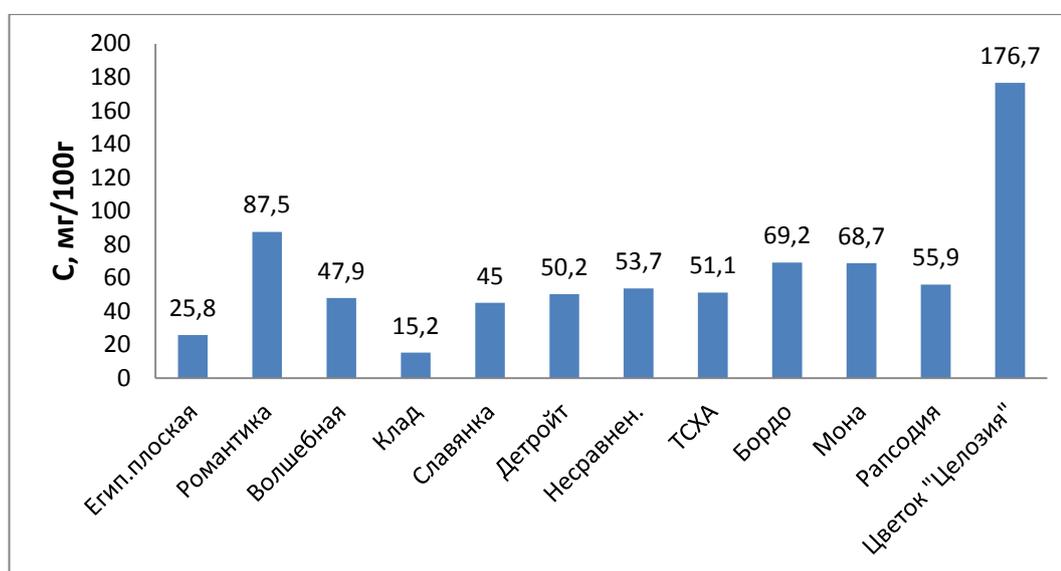


Рис. 3.20. Содержание бетацианинов в различных объектах

В результате исследований было выяснено, что наибольшее содержание бетацианинов обнаружено в цветках целозии гребенчатой. Содержание бетацианинов в соцветиях амаранта ниже, чем в цветках целозии гребенчатой, но выше, чем во всех сортах свеклы.

### 3.6. Получение масла из семян амаранта. Определение содержания сквалена и масличности семян

Получение масла амаранта осуществляли согласно методике, описанной в п. 2.8.

В начале работы было получено масло из семян щирицы запрокинутой (*A. retroflexus*) и записана хроматограмма, представленная на рисунке 3.21.

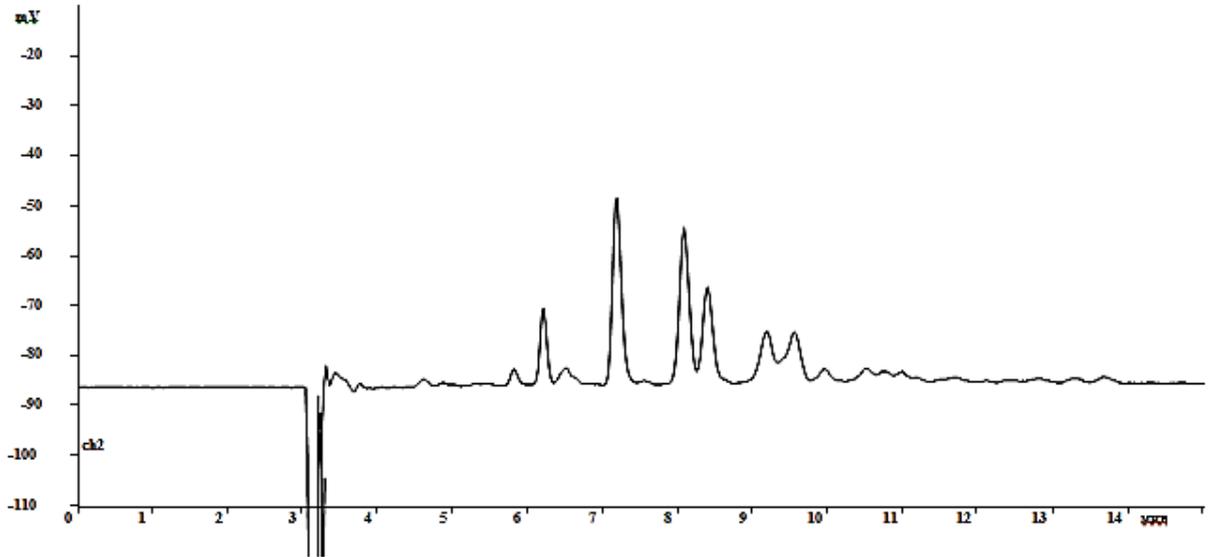


Рис. 3.21. Хроматограмма масла семян щирицы запрокинутой  
Затем были получены масла семян амаранта сорта «Валентина», рис.3.22.

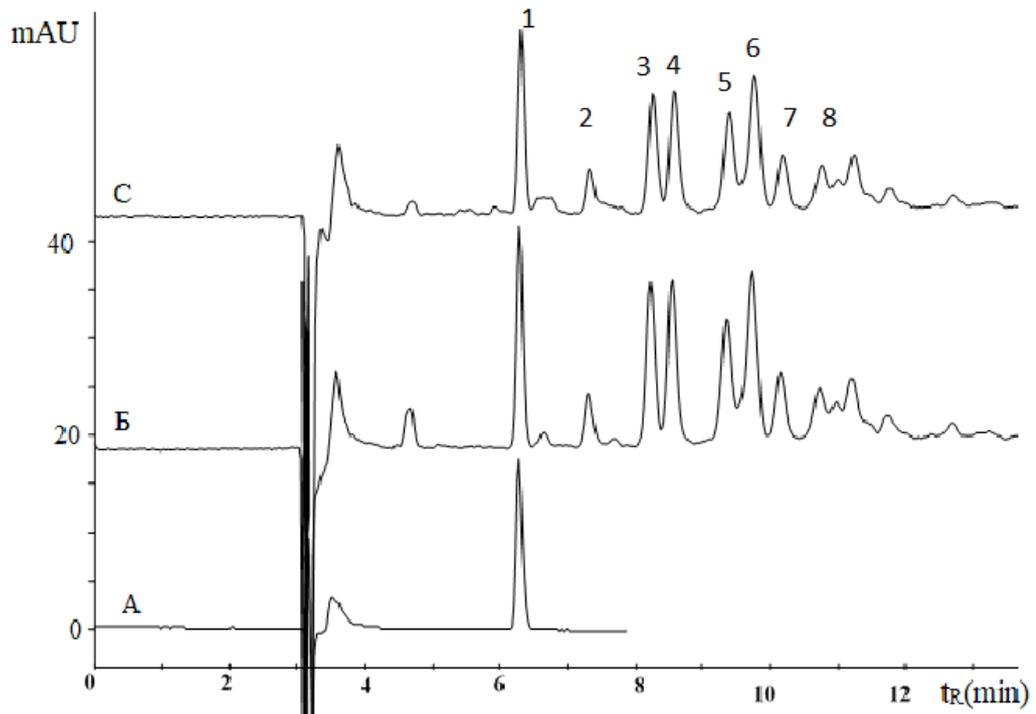


Рис. 3.22. Хроматограммы масла семян амаранта (Б-образец №9, С- образец №8) на фоне стандартного сквалена (А) (1 – сквален; 2 – линолеат; 3 – дилинолеат олеат; 4 – дилинолеат пальмитат; 5 – линолеатдиолеат; 6 – линолеатолеатпальмитат; 7 – линолеатдипальмитат; 8 – триолеат.

Результаты определения масличность и доля сквалена в масле амаранта 12 образцов представлены в таблице 3.40.

Таблица 3.40.

Определение масличность и количества сквалена в масле амаранта

№	масличность % ±0.53% (n=3)	% сквалена от масличности ±1.78% (n=5)
1	5.93	8.13
2	5.80	7.30
3	5.80	6.87
4	5.91	7.91
5	5.75	7.71
6	5.37	7.60
7	5.42	7.42
8	6.26	6.70
9	6.45	7.31
10	6.29	7.39
11	5.98	7.91
12	5.19	8.26

Масличность в образце масла, полученного из щерицы запрокинутой, составляет 4,81%, а содержание сквалена 4,28%.

Согласно литературным данным в печени акулы содержится коло 2% сквалена. Таким образом, можно говорить о том, что семена амаранта можно использовать в качестве альтернативного источника получения сквалена.

Также было проанализировано льняное масло с добавлением амарантового «Амарант» (ООО «Корпорация Ди энд Ди»). Пробоподготовка для хроматографии осуществлялась по методике, описанной выше. Хроматограмма масла представлена на рисунке 3.23.

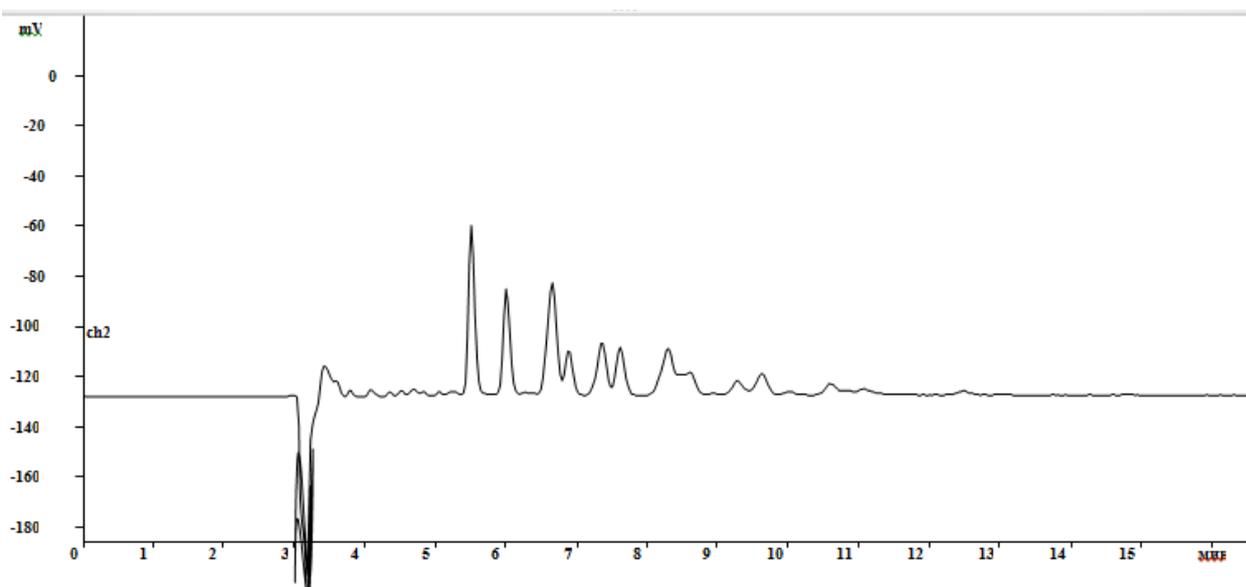


Рис. 3.23. Хроматограмма льняного масла с добавлением амарантового

Исходя из данных хроматограммы, делаем вывод, что масло амаранта в данном образце содержится.

### 3.7 Контроль степени извлечения сквалена в процессе экстракции

Оценку степени извлечения сквалена в процессе экстракции масла амаранта осуществляли по методике описанной в п.2.10. Результаты исследований представлены в таблице 3.41.

Таблица 3.41.

Результаты степени извлечения сквалена в процессе экстракции

№	$M_{\text{семян}}(\text{г})$	$m_{\text{сквалена}}(\text{мг})$ добавления	масличность%	% сквалена	$m_{\text{сквалена}}(\text{мг})$ добавления (расчет)
1	1.4875	0.9	6.59	7.30	0.8
2	1.5441	1.8	6.49	7.22	1.6
3	1.5888	3.1	6.56	7.33	3.1

Исходя из полученных данных, можно судить что степень извлечения сквалена в процессе экстракции полная.

### 3.8 Получение сухих форм красителей из экстрактов амаранта

Получение экстракта и его подготовку для дальнейшей работы осуществляли согласно методике, описанной в пункте 2.11 данной работы.

Для получения сухих форм красителей использовали экстракты соцветий амаранта сорта «Валентина».

В качестве полисахарида использовали мальтодекстрин, навеску (0.5÷1.5 г) которого добавляли в сухом виде к раствору бетацианинов заданной концентрации. Затем перемешивали и помещали в морозильную камеру бытового холодильника для замораживания. После этого образец помещали в лиофильную сушку Free Zone 2.5 (рис. 3.24(1)) для осуществления процесса лиофилизации, суть которого заключается в удалении воды путем сублимации. Следует отметить, что однократного высушивания недостаточно.

Определение содержания бетацианинов осуществляли спектрофотометрическим способом.



Рис. 3.24. Получение сухих форм: 1 – лиофильная сушилка Free Zone 2.5; 2 – высушиваемые образцы



Рис. 3.25. Сухой краситель, полученный из экстракта амаранта

Таблица 3.42.

Содержание бетацианинов в экстрактах

Образец	Оптическая плотность D	R	Концентрация с, г/100 г
Очищенный экстракт	1.2374	8	0.474
Сухие формы	0.947	1	0.453

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что на основе экстрактов амаранта можно получать сухие формы красителя. При использовании в качестве матрицы полисахарида мальтодекстрина сохранность красителя остается на высоком уровне. Полученные сухие формы красителя можно использовать для дальнейшего применения, к примеру для подкрашивания функциональных продуктов питания, в первую очередь молочнокислых продуктов.

## ВЫВОДЫ

Источником для получения натуральных красителей служит в большинстве случаев растительное сырье. Наша страна располагает богатейшими ресурсами растений, пригодных для извлечения из них красящих пигментов. Разработаны способы получения натуральных пищевых красителей из разнообразного растительного сырья [4].

При выборе сырья для получения натуральных красителей необходимо учитывать доступность сырьевых ресурсов, вопросы совершенства технологии изготовления красителя из выбранного растительного сырья, экономические аспекты производства красителя и его применения для окрашивания продуктов питания, возможный объем производства, стабильность качества красителя. В настоящее время есть все реальные возможности, чтобы расширить производство и увеличить выработку красителей [11].

Амарант — сравнительно распространенное растение, неприхотливое и способное произрастать в неблагоприятных условиях. Возможны его промышленные заготовки. Технология получения красителей из указанного сырья разработана и проверена в основном в лабораторных условиях. Получены положительные результаты при окрашивании красителями ряда продуктов питания, в том числе кондитерских изделий.

В результате выполнения работы были решены следующие задачи:

1. Определено содержание бетацианинов в различных частях амаранта. Наибольшее количество бетацианинов содержится в соцветиях амаранта и составляет  $0.104 \pm 0.0004$  г/100 г сырья. Поэтому соцветия амаранта были использованы для приготовления чаев, экстрактов и сухих форм.

2. Приготовлены чаи на основе амаранта и определено оптимальное время их заваривания. Оптимальным временем заваривания является 3-4 минуты, при этом содержание бетацианинов составляет 66.4 и 67.04 мг/100 г. Следует отметить, что более длительное заваривание приводит к снижению уровня

содержания бетацианинов, также наблюдается снижение антиоксидантной активности.

3. При исследовании сохранности водных экстрактов амаранта установлено, что в первые трое суток сохранность бетацианинов остается на практически неизменном уровне (51.68÷48.68 мг/100 г), далее наблюдается снижение; значение антиоксидантной активности снижается равномерно, но незначительно.

4. Проведено определение содержания бетацианинов в различных сортах амаранта. Установлено, что в амаранте сорта «Валентина» содержание бетацианинов выше и составляет 133 мг/100 г.

5. Исследованы другие источники бетацианинов, такие как свекла столовая и цветок целозия гребенчатая. Установлено, что наибольшее содержание бетацианинов в свекле сорта «Романтика», которое составляет 87.5 мг/100 г. Однако в цветке целозия содержание бетацианинов выше, чем в свекле сорта «Романтика» - 176.7 мг/100 г. Амарант, по содержанию бетацианинов, немного уступает цветку целозия – 133 мг/100 г.

6. Из семян амаранта выделено и проанализировано масло. Установлено, что содержание сквалена в семенах амаранта составляет в среднем 7,5 %, что значительно выше, чем в печени акулы.

7. Получены сухие формы амаранта при использовании в качестве матрицы полисахарида мальтодекстрина.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кричевский Г. Е. Возрождение природных красителей. М.: Паблит, 2017. 565 с.
2. Мовеин [*Электронный ресурс*]// Интернет-энциклопедия Википедия URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Мовеин/> (дата обращения: 25.05.18)
3. Харламова О. К., Кафка Б.В. Натуральные пищевые красители. М.: «Пищевые красители», 1979. 185 с.
4. Болотов В.М. и др. Пищевые красители: классификация, свойства, анализ, применение. СПб.: ГИОРД, 2007. 240 с.
5. Steven J. Chlorophylls in foods // Food Science and Nutrition. 1990. V. 29. P. 1-17.
6. Reshmi S.K. The effect of light, temperature, pH on stability of betacyanin pigments in Basella alba fruit // Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2012. V. 5. P. 107–110.
7. Boon C. S. Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2010. V. 50. P. 515–532.
8. Ranhotra G.S. Stability and contribution of beta carotene added to whole wheat bread and crackers // Cereal Chemistry Journal. 1995. V. 72. P. 139–141.
9. Tang C.S. Stability of betacyanin pigments from red purple pitaya fruit (*Hylocereus polyrhizus*): influence of pH, temperature, metal ions and ascorbic acid // Indonesian Journal of Chemistry. 2007. V. 7. P. 327–331.
10. Skopinska A. Spectrophotometric study on betanin photodegradation // Natural Sciences. 2003. V. 28. P. 34–38.
11. Болотов В.М. и др. Химические пути расширения эксплуатационных свойств природных красителей из растительного сырья России // Химия растительного сырья. 1999. № 4. С. 35–40.
12. Baer-Dubowska W. Carcinogenic and anticarcinogenic food components // International Journal of Dairy Technology. 2008. V. 61. P. 316.
13. Griffiths J. C. Coloring Foods and Beverages // Food Technology. 2005. V. 59. P. 38–44.

14. Neveen H. M. Toxic effects of the synthetic food dye brilliant blue on liver, kidney and testes functions in rats // *Journal of the Egyptian Society of Toxicology*. 2006. V. 34. P. 77–84.

15. Лысак В.В. Микробиология : учеб. пособие. Минск : БГУ, 2007. 426 с.

16. Lakshmi C. Food Coloring: The Natural Way // *Research Journal of Chemical Sciences*. 2014. V. 4. P. 87–96.

17. Nemzer B. Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts // *Food Chemistry*. 2011. V. 127. P. 42–53.

18. Han X. H. Enzymes and genes involved in the betalain biosynthesis in higher plants // *African Journal of Biotechnology*. 2009. V. 8. P. 6735–6744.

19. Moreno D. A. Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health // *Phytochemistry Reviews*. 2008. № 7. P. 261–280.

20. САНПИН 2.3.2.1293-03 «Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования по применению пищевых добавок.

21. Victoria-Matos A. Isolation and identification of betacyanin from fruits of *Opuntia boldinghii* Br. et. R. by HPTLC // *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*. 2001. V. 3. P. 140–143.

22. Canadanovic-Brunet J.M. Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts // *Czech Journal of Food Sciences*. 2011. V. 29. № 6. P. 575–585.

23. Henriette M. C. Betalains: properties, sources, applications, and stability // *International Journal of Food Science and Technology*. 2009. V. 44. P. 2365–2376.

24. Azeredo M.C. Betacyanin stability during processing and storage of a microencapsulated red beetroot extract // *American Journal of Food Technology*. 2007. № 2. P. 307–312.

25. Kanner J. Betalains a new class of dietary cationized antioxidants // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. V. 49. P. 5178–5185.
26. Lee C.H. Betalains, phase II enzyme-inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts // *Nutrition and Cancer*. 2005. V. 53. P. 91–103.
27. Tesoriere L. Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: potential health effects of betalains in humans // *American Journal of Clinical Nutrition*. 2004. V. 80. P. 941–945.
28. Hibino S. Simple indole alkaloids and those with a nonrearranged monoterpene unit // *Natural Product Reports*. 2002. V. 19. P. 148–180.
29. Pavlova A. Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures // *Zeitschrift fur Naturforschung*. 2002. V. 57. P. 640–644.
30. Castellanos-Santiago E. Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican Prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. V. 56. P. 5758–5764.
31. Cai Y. HPLC characterization of betalains from plants in the Amaranthaceae // *Journal of Chromatographic Science*. 2005. V. 43. P. 376–384
32. Havlikova L. Heat stability of betacyanins // *Z Lebensm Unters Forsch*. 1983. V. 177. P. 247–250.
33. Tanaka Y. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids // *The Plant Journal*. 2008. V. 54. P. 733–749.
34. Крешков А.П. Основы аналитической химии. Теоретические основы. Количественный анализ. М.: «Химия», 1976. 480 с.
35. Барковский Ф.Ф., Гарелин С.М., Городенцева Г.Б. Физико-химические методы анализа. М.: Высшая школа, 1972. 344 с.
36. Delgado-Vargas F., Paredes - Lopez O. Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses // CRC Press LLC. 2003. V. 3. P. 18–44.

37. Kirsten M. H. Betalain stability and degradation - structural and chromatic aspects // *Journal of Food Science*. 2006. V. 71. P. 41–50.
38. Felker P. Colour inheritance in cactus pear (*Opuntia ficus -indica*) fruits // *Annals of Applied Biology*. 2008. V. 152. P. 307–318.
39. Рудаков О.Б. и др. Фракционный состав антоциановых красителей из растительных экстрактов и контроль над ним методом ВЭЖХ // *Вестник ВГУ*. 2004. С. 85–93.
40. Wybraniec S. Generation of decarboxylated and dehydrogenated betacyanins in thermally treated purified fruit extract from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) monitored by LC-MS/MS // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. V. 53. P. 6704–6712.
41. Harivaindaran K.V. Study of optimal temperature, pH and stability of Dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant // *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2008. V. 11. P. 2259–2263.
42. Jamilah S.C. Physico-chemical properties of spray-dried red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel powder during storage // *International Food Research Journal*. 2014. V. 21. P. 155–160.
43. Ochoa-Martinez L.A. Functional properties, color and betalain content in beetroot orange juice powder obtained by spray drying // *Research and Reviews: Journal of Food and Dairy Technology*. 2015. V. 3. P. 30–36.
44. Танчев С.С. Антоцианы в плодах и овощах. М.: Пищевая пром-сть, 1980. 304 с.
45. Delgado-Vargas F. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2000. V. 40. P. 173–289.
46. Sanchez F.D. Colorant extraction from red prickly pear (*Opuntia Lasiacantha*) for food application // *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. 2006. V. 5. P. 1330–1337.
47. Elbe von J.H. Betalains // *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2001. F3.1.1-F3.1.7.

48. Giusti M.M. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy // *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2001. Unit F1.2.1 – F1.2.13.

49. Phebe D. Red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) fruit colour and betacyanin content depend on maturity // *International Food Research Journal*. 2009. V. 16. P. 233–242.

50. Naderi N. Betalain extraction from *Hylocereus polyrhizus* for natural food coloring purposes // *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 2010. V. 12. P. 143–154.

51. Amerine M.A. *Methods for analysis of musts and wines*. New York, NY, 1980. P. 187–189.

52. Schwartz S. J. Comparison of Spectrophotometric and HPLC Methods to Quantify Betacyanins // *Journal of Food Science*. 1981. V. 46. P. 296–297.

53. Wybraniec S. Effect of tetraalkylammonium salts on retention of betacyanins and decarboxylated betacyanins in ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography // *Journal of Chromatography A*. 2006. P. 70–75.

54. Żwir-Ferenc A. Solid phase extraction technique – trends, opportunities and applications // *Polish Journal of Environmental Studies*. 2006. V. 15. P. 677.

55. Чулков А.Н. и др. Сопоставление сорбционной эффективности сорбентов трех типов по отношению к антоцианам // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т. 12. Вып. 6. С. 922–928.

56. Яшин Я.И. и др. *Природные антиоксиданты – надежная защита человека от опасных болезней и старения*. М., 2008. 122 с.

57. Хасанов В.В. и др. *Методы исследования антиоксидантов* // *Химия растительного сырья*. 2004. №3. С. 63–75.

58. Анисимович И.П. и др. Параметры антиоксидантной активности соединений: относительная антиоксидантная активность чая // *Научные ведомости*. 2010. Т. 9. № 80. С. 104–110.

59. Krasovska A. Chemiluminescence detection of peroxy radicals and comparison of antioxidant activity of phenolic compounds // *Current Topics in Biophysics*. 2000. V. 24. P. 89–95.

60. Алексеев А.В. и др. Определение антиоксидантов методом активированной хемилюминесценции с использованием 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана) // *Вестник Московского университета*. 2012. Т. 53. № 3. С. 187–193.

61. Blois M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical // *Nature*. 1958. V. 26. P. 1198–1200.

62. Chen I.C. Evaluation of total antioxidant activity of several popular vegetables and chinese herbs: a fast approach with ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HRP system in microplates // *Journal of Food and Drug Analysis*. 2004. V. 12. P. 29–33.

63. Piga A. Cactus Pear: A fruit of nutraceutical and functional importance // *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 2004. P. 9–22.

64. Swiglo A. G. Betanin, the main pigment of red beet - molecular origin of its exceptionally high free radical scavenging activity // *Journal of Food Additives and Contaminants*. 2006. V. 23. P. 1079–1087.

65. Czarniecka-Skubina E. Effect of culinary process on beet roots quality // *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. 2003. V. 6. P. 37–54.

66. Felker P. Colour inheritance in cactus pear (*Opuntia ficus -indica*) fruits // *Annals of Applied Biology*. 2008. V. 152. P. 307–318.

67. Амарант [*Электронный ресурс*]// Интернет-энциклопедия Википедия

URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Амарант/> (дата обращения 26.05.18)

68. Амарант [*Электронный ресурс*]// Медицинское онлайн-издание «Ая здоров»

URL: [http://www.ayzdorov.ru/tvtravnik\\_amarant.php/](http://www.ayzdorov.ru/tvtravnik_amarant.php/) (дата обращения 26.05.18)

69. Окуневич И.В. Антиоксиданты: эффективность природных и синтетических соединений в комплексной терапии сердечно-сосудистых

заболеваний / И.В. Окуневич [и др.] // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2004. Т. 3. № 3. С. 2–17.

70. Cai. Y. Amaranthus betacyanin pigments applied in model food systems // *Journal of Food Science*. 1999. V. 64. P. 869–873.