

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СРАВНИТЕЛЬНОГО МЕТОДА КАРАПЕТЬЯНЦА В ХРОМАТОГРАФИИ

© 2019 г. В. И. Дейнека<sup>а,\*</sup>, Я. Ю. Кульченко<sup>а</sup>, А. Н. Чулков<sup>б</sup>, И. П. Блинова<sup>а</sup>, Л. А. Дейнека<sup>а</sup>

<sup>а</sup> Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

<sup>б</sup> Белгородский филиал “Центр оценки качества зерна и продуктов его переработки”, Белгород, Россия

\*e-mail: deineka@bsu.edu.ru

Поступила в редакцию 04.07.2018 г.

После доработки 04.07.2018 г.

Принята к публикации 11.09.2018 г.

Метод сравнительного анализа М.Х. Карапетьянца применен к анализу удерживания антоцианов на примере экстракта лепестков *Adonis aestivalis*. Предложенное по методу сравнительного анализа отнесение пиков антоцианов подтверждено параметрами масс-спектров; в качестве образца сравнения использовали набор антоцианов пурпурной кукурузы.

**Ключевые слова:** метод сравнительного анализа, антоцианы, цветки, *Adonisaestivalis*, обращенно-фазовая ВЭЖХ

**DOI:** 10.1134/S004445371905008X

Удерживание сорбатов в условиях ОФ ВЭЖХ является физико-химическим процессом, определяемым свободной энергией сорбции веществ. По этой причине разработанные методы сравнительного расчета должны быть применимы и к физико-химическому исследованию данного хроматографического процесса.

Цель настоящей работы – исследование возможности переноса метода сравнительного анализа (сравнение свойства в двух рядах), разработанного М.Х. Карапетьянцем [1], на анализ удерживания сорбатов в ВЭЖХ.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Антоцианы получали экстракцией 0.1 М водным раствором HCl из лепестков цветков *Adonis aestivalis*, оберток пурпурной кукурузы, плодов черной смородины и барбариса. Перед хроматографированием все растворы антоцианов очищали методом твердофазной экстракции на патронах Диапак С18.

Хроматографические исследования выполняли на оборудовании Agilent 1200 с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием. Хроматографическое поведение антоцианов исследовали на колонках: 1) 150 × 4.6 мм SymmetryC18, 3.5 мкм – при диодно-матричном детектировании в диапазоне 270–700 нм и 2) 150 × 2.1 мм Kromasil 100-5C18 – при масс-спектрометрическом детектировании в режиме

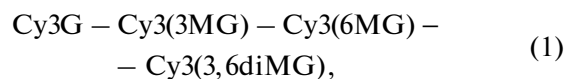
ионизации электрораспылением; сканирование положительных ионов, напряжение на фрагменторе 175 В.

Градиентный режим элюирования – элюент А: 6 об. % CH<sub>3</sub>CN, 10 об. % HCOOH в воде, элюент Б: 20 об. % CH<sub>3</sub>CN, 10 об. % HCOOH в воде; программа: 0 мин – 100% А; 20 мин 100% Б; 21 мин 100% А, 30 мин – 100% А. Скорость подачи элюента 0.8 мл/мин для колонки 1 и 0.2 мл/мин для колонки 2. При изократическом режиме смешивали элюенты А и Б в заданном соотношении.

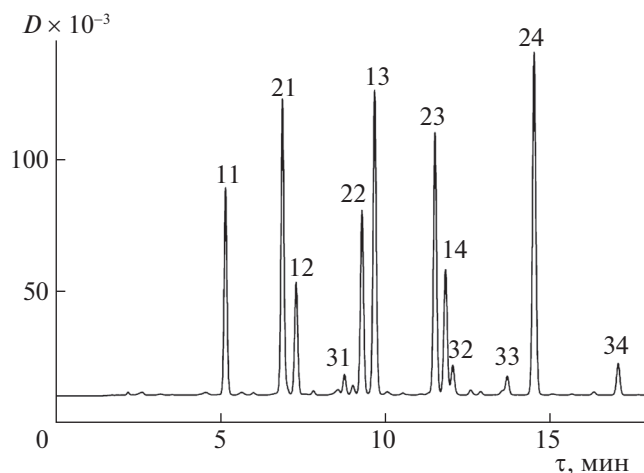
### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Хроматограмма экстракта цветков адониса летнего (*Adonis aestivalis*) 0.1 М водным раствором соляной кислоты представлена на рис. 1. На ней обнаруживаются 12 компонентов, которые по спектрам поглощения могут быть разбиты на 3 группы – по четыре производных пеларгонидина ( $\lambda_{\max} = 500$  нм), цианидина ( $\lambda_{\max} = 515$  нм) и дельфинидина ( $\lambda_{\max} = 525$  нм), рис. 2.

Строение производных цианидина легко определяется при сравнении с удерживанием антоцианов пурпурной кукурузы [2], – в порядке элюирования:



где Cy3G – цианидин-3-глюкозид, Cy3(3MG) – цианидин-3-(3"-малонилглюкозид), Cy3(6MG) –



**Рис. 1.** Разделение антоцианов цветков *Adonis aestivalis* Колонка: 150 × 4.6 мм, SymmetryC18, 3.5 мкм. Подвижная фаза — градиентный режим (см. в тексте). Вещества — см. таблицу.

цианидин-3-(6''-малонилглюкозид) и Су3(3,5diMG)—цианидин-3-(3'',6''-дималонилглюкозид). Первый из пеларгонидиновых компонентов совпадает по удерживанию с пеларгонидин-3-цианидином из плодов барбариса [3], а в случае производных дельфинидина найдено совпадение удерживания с дельфинидин-3-глюкозидом из плодов черной смородины [4]. При этом совпадение было достигнуто не в одном составе подвижных фаз, а в двух (а, следовательно, и в любых других) различных составах подвижной фазы при изократическом элюировании с использованием метода относительного анализа удерживания [5]. Это совпадение становится уже значительно более строгим, поскольку определяется двухпараметрическим уравнением и вероятность случайного совпадения времен удерживания существенно уменьшается — нам не известен ни один случай исключения.

Для оставшихся шести компонентов экстракта в нашей коллекции не оказалось подходящих веществ. Однако кажется разумным предположение о том, что ацилирование глюкозидного радикала в положении 3 (т.е. заместителя в кольце С) производных может проходить одинаково, вне зависимости от строения кольца В. В таком случае в экстракте могут находиться аналогичные указанным выше для цианидина производные дельфинидина и пеларгонидина. А это тот случай, в котором может быть применен сравнительный анализ Карапетьянца. Но применение этого подхода имеет смысл для результатов, полученных для параметров удерживания в изократическом режиме, поскольку в этом случае энтальпийная составляющая процесса переноса из подвижной фазы в стационарную однотипных производных при замене одного агликона на другой должна оставаться одинаковой. И действительно для двух возможных пар производных получены линейные зависимости, рис. 3, с довольно высоким значением  $R^2$ :

$$\lg k(Pg_i) = 1.057 \lg k(Cy_i) + 0.239, \quad (2)$$

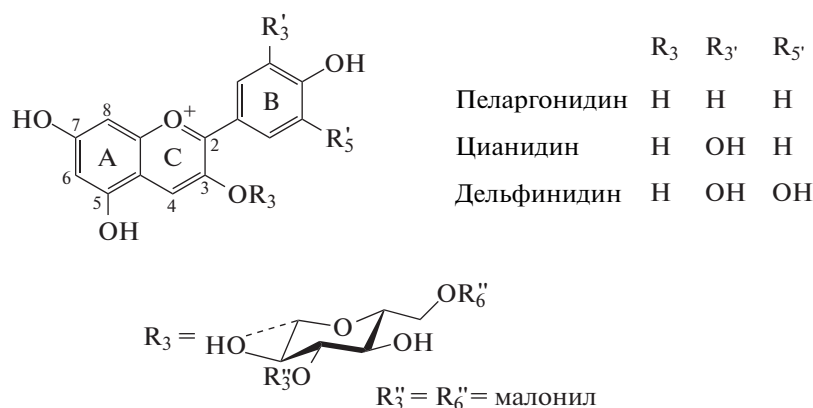
$$R^2 = 0.9975;$$

$$\lg k(Dp_i) = 1.035 \lg k(Cy_i) - 0.346, \quad (3)$$

$$R^2 = 0.9969,$$

где  $Pg_i$ ,  $Cy_i$  и  $Dp_i$  — однотипные производные из ряда (1) для трех серий антоцианов, построенных на различных агликонах.

Наконец, определенное предложенным методом строение антоцианов было полностью подтверждено масс-спектрометрическими данными, табл. Представленное в таблице 1 практически полное отнесение компонентов антоцианового комплекса цветков *Adonis aestivalis* выполнено впервые и было проверено в течение трех лет на двух сортах растения. На рис. 1 видны еще некоторые небольшие пики, определение параметров



**Рис. 2.** Строение антоцианидинов и антоцианов цветков *Adonis aestivalis*.

**Таблица 1.** Параметры пиков на хроматограмме на рис. 1

№	Строение антоциана	$t_R$ , мин	$\lambda_{\max}$ , нм	$m/z$
11	Дельфинидин-3-глюкозид	5.12	524	465.2 (303.1)
21	Цианидин-3-глюкозид	6.85	516	449.2 (287.1)
12	Дельфинидин-3-(3"-малонилглюкозид)	7.26	524	551.2 (303.1)
31	Пеларгонидин-3-глюкозид	8.72	501	433.2 (271.1)
13	Дельфинидин-3-(6"-малонилглюкозид)	9.25	524	551.2 (303.1)
22	Цианидин-3-(3"-малонилглюкозид)	9.64	516	535.2 (287.1)
23	Цианидин-3-(6"-малонилглюкозид)	11.46	516	535.2 (287.1)
14	Дельфинидин-3-(3",6"-дималонилглюкозид)	11.78	526	637.2 (303.1)
32	Пеларгонидин-3-(3"-малонилглюкозид)	12.00	501	519.2 (271.1)
33	Пеларгонидин-3-(6"-малонилглюкозид)	13.65	502	519.2 (271.1)
24	Цианидин-3-(3",6"-дималонилглюкозид)	14.46	517	621.2 (287.1)
34	Пеларгонидин-3-(3",6"-дималонилглюкозид)	17.01	502	605.2 (271.1)

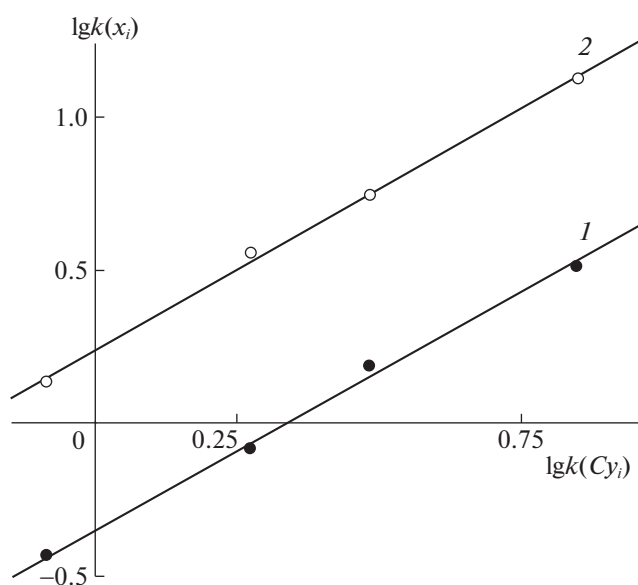
которых (спектров поглощения и масс-спектров) затруднено вследствие низкой концентрации соответствующих веществ. Но их появление не удивительно, поскольку среди продуктов ацилирова-

ния малоновой кислотой, как правило, кроме основных изомеров могут быть обнаружены и другие изомеры, но в существенно меньших количествах [2].

Отметим, что в работе [6] окраску цветков *Adonis aestivalis* связывали с биосинтезом цианидин-3-арабинозилглюкозида, который отсутствовал в экстрактах, исследованных в настоящей работе образцов цветков.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каранетьяц М.Х. Методы сравнительного расчета физико-химических свойств / Отв. ред. Я.И. Герасимов. М.: ЛЕНАРД, 2014. С. 10–15.
2. Дейнека В.И., Сидоров А.Н., Дейнека Л.А. // Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71. № 11. С. 1203.
3. Pyrkosz-Biardzka K., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A. et al. // Pol. J. Food Nutr. Sci. 2014. V. 64. № 2. P. 91.
4. Anttonen M.J., Karjalainen R.O. // J. Agric. Food Chem. 2006. V. 54. P. 7530.
5. Дейнека В.И. // Журн. физ. химии. 2006. Т. 80. № 3. С. 511.
6. Hammouri M.K., Al-Smadi M., Bataineh M.S. et al. // Int. J. Biochromatogr. 2001. V. 6. P. 173.



**Рис. 3.** Карта сравнительного анализа удерживания трех рядов антоцианов. Удерживание: 1 – соединений ряда дельфинидина относительно ряда цианидина, 2 – соединений ряда пеларгонидина относительно ряда цианидина.