

УДК 612.039.327

DOI: 10.26456/vtchem2025.2.14

Изучение способов идентификации антоцианов в плодах черники, шиповника и боярышника

А.В. Некрасова, Е.Д. Щихорская, Н.В. Лакина

ФГБОУ ВО «Тверской государственный технический университет», г. Тверь

Антоцианы — окрашенные растительные гликозиды, содержащие в качестве агликона – антоцианидины — замещённые 2-фенилхромены, относящиеся к флавоноидам.

Данная работа посвящена сравнительной характеристике содержания антоцианов в плодах черники, шиповника, боярышника, а также изучению их структур. Полученные данные показали, что в основном содержится цианидин, причём в плодах черники при экстракции с 1–2% HCl его содержание составило 0,44%. Наименьшее содержание антоцианов обнаружено в плодах боярышника.

Данная работа показала перспективность изучения индивидуальных структур антоцианов с помощью доступного метода УФ-спектрометрии, используя характеристические максимумы поглощения от 500 до 550 нм.

Ключевые слова: антоцианы, спектрометрия, влажность, цианидин-3-О-гликозид.

Введение

Антоцианы – это природные фенольные пигменты, обладающие биологической активностью. Они обладают мощной антиоксидантной и противовоспалительной активностью, что объясняет различные биологические эффекты, о которых сообщалось для этих веществ, предполагая их противодиабетическую и противоопухолевую активность, а также их роль в сердечно-сосудистой и нейропротекторной профилактике.

Потенциальные преимущества антоцианов для здоровья:

1. Мощные антиоксидантные свойства: Антоцианы являются одними из самых мощных природных антиоксидантов. Они способны нейтрализовать свободные радикалы, которые являются причиной окислительного стресса, повреждающего клетки и вызывающего различные заболевания, включая сердечно-сосудистые заболевания, рак и нейродегенеративные расстройства [1].

2. Противовоспалительные свойства: антоцианы могут уменьшать воспалительные процессы в организме, которые являются факторами риска для многих хронических заболеваний.

3. Сердечно-сосудистые эффекты: антоцианы могут улучшать функцию эндотелия (внутренней выстилки кровеносных сосудов), снижать артериальное давление и уровень «плохого» холестерина, тем самым способствуя здоровью сердца.

4. Нейропротекторные свойства: некоторые исследования предполагают, что антоцианы могут защищать нервные клетки от повреждений и улучшать когнитивные функции, замедляя развитие возрастных нейродегенеративных заболеваний [1].

Антоцианы используются в пищевой промышленности как натуральные пищевые красители, которые безопасны для употребления. Также антоцианы находят применение в косметике благодаря их антиоксидантным и противовоспалительным свойствам.

Антоцианы являются гликозидами, то есть они состоят из агликона (собственно пигмента, называемого антоцианидином) и присоединенной к нему одной или нескольких молекул сахара.

Основная структура антоцианидинов представляет собой трехкольцевую молекулу с двумя бензольными кольцами, соединенными через гетероциклическое пирановое кольцо. Различные антоцианидины различаются по наличию и положению заместителей (например, гидроксильных и метоксильных групп) на бензольных кольцах [2].

Цвет антоцианов зависит от pH среды, в которой они находятся. В кислых условиях они обычно имеют красный цвет, в нейтральных — фиолетовый, а в щелочных — синий или сине-зеленый. Изменения цвета также могут быть вызваны взаимодействием с металлами или соокрашивающими веществами.

Спектрофотометрия – это метод аналитической химии, который позволяет определить концентрацию веществ в растворах на основе их поглощения света в различных диапазонах длин волн. Этот метод широко используется для анализа антоцианов – пигментов, отвечающих за красный, пурпурный и синий цвета в растениях, плодах и цветах.

Спектрометрические методы позволяют точно определять концентрацию антоцианов в образцах, что важно для изучения их биологической активности и пищевой ценности [2]. Современные спектрометры обеспечивают быстрое получение результатов, что позволяет значительно ускорить процесс анализа. Многие спектрометрические методики достаточно просты в выполнении и не требуют сложной подготовки образцов. Спектрометрия может использоваться для анализа антоцианов в различных матрицах — от растительных экстрактов до продуктов питания и напитков.

Методика количественного определения антоцианов в лекарственном растительном сырье методом спектрометрии

В данном случае проводилось определение антоцианов в плодах черники, шиповника и боярышника.

Для этого были приготовлены растворы разных концентраций соляной кислоты 1%, 2%, 3% (из 36% HCl).

Преимущества водного раствора HCl для экстракции антоцианов:

1. Стабилизация антоцианов: соляная кислота (HCl) обеспечивает кислую среду, которая необходима для стабильности антоцианов. В кислой среде антоцианы, как правило, существуют в виде флавиловых катионов, которые являются более стабильными и обладают более выраженной окраской. Это помогает предотвратить деградацию антоцианов во время экстракции.

2. Улучшение растворимости: кислая среда улучшает растворимость антоцианов в воде.

3. Ингибирование ферментативной деградации: кислая среда также может ингибировать активность ферментов, таких как полифенолоксидазы и пероксидазы, которые могут разрушать антоцианы.

4. Простота использования и доступность: соляная кислота является относительно недорогим и доступным реагентом, который легко использовать в лабораторных условиях.

Приготовление раствора кислоты 1%: 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной растворить в 35 мл воды.

Приготовление раствора кислоты 2%: 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной растворить в 34 мл воды.

Приготовление раствора кислоты 3%: 3 мл хлористоводородной кислоты концентрированной растворить в 33 мл воды.

Приготовление экстракта: аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл и прибавляют 50 мл кислоты. Колбу закрывают пробкой и взвешивают с точностью до $\pm 0,01$ г, затем присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, затем охлаждают до комнатной температуры, Извлечение фильтруют через бумажный фильтр [3].

Приготовление раствора экстракта: 1,0 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора кислотой до метки и перемешивают.

Оптическую плотность приготовленных растворов измеряли с использованием спектрофотометра. Измерение проводили в кюветах с

длиной оптического пути 10 мм относительно цианидин-3-О-гликозида.

Цианидин-3-О-гликозид — это антоцианин, который присутствует во многих красных, чёрных ягодах и плодах, таких как виноград, ежевика, малина.

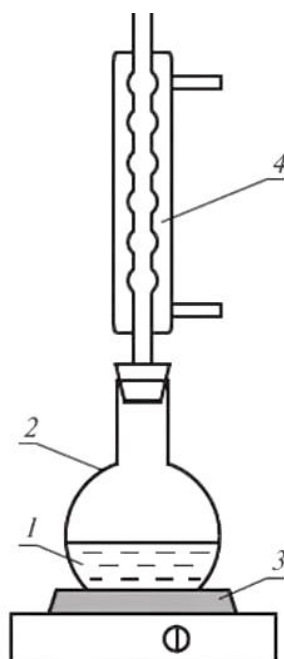


Рис. 1. Установка для экстракции антоцианов из лекарственного растительного сырья: 1 – экстракт; 2 – обратный холодильник; 2 – круглодонная колба; 3 – водяная баня

Содержание антоцианов в пересчёте на цианидин-3-О-гликозид рассчитывают по формуле (1):

$$X = \frac{A \times 50 \times 25 \times 100}{600 \times a \times 1 \times (100 - W)} \quad (1)$$

где X – содержание антоцианов, %;

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

a – навеска ЛРС;

600 – удельный показатель поглощения
цианидин-3-О-гликозида;

W – влажность сырья, %.

Результаты и их обсуждение

Максимумы поглощения антоцианов зависят от pH среды, также могут варьироваться в зависимости от растворителя, температуры и присутствия других веществ в растворе.

В нейтральной среде (pH = 7): спектры поглощения становятся более сложными и могут смещаться в область более коротких длин волн. В щелочной среде (pH > 7): антоцианы становятся нестабильными и разлагаются. Интенсивность поглощения уменьшается, и спектр становится размытым [4].

Таблица 1

Спектральные характеристики в кислой среде

Название	Диапазон максимума поглощения $\lambda_{\max}$	Причина смещения максимума поглощения
Цианидин	525–535	-
Дельфинидин	544–546	Сдвиг в более длинноволновую область спектра по сравнению с цианидином обусловлен наличием дополнительной гидроксильной группы, влияющей на электронную структуру молекулы.
Петунидин	535–545	Наличие метоксильной группы смещает $\lambda_{\max}$ по сравнению с цианидином, но в меньшей степени, чем гидроксильные группы в дельфинидине
Пеонидин	532–536	Наличие метоксильной группы смещает $\lambda_{\max}$
Пеларгонидин	520–525	Отсутствие дополнительных гидроксильных или метоксильных групп приводит к смещению максимума поглощения в более коротковолновую область спектра по сравнению с другими антоцианидинами
Мальвидин	540–545	Две метоксильные группы, по сравнению с другими антоцианидинами, несколько сдвигают максимум поглощения в более длинноволновую область

Для определения оптимального концентрации кислоты, при которой происходит наибольшее выделение антоцианов сняты УФ-спектры и составлены наглядные зависимости оптической плотности от длины волны.

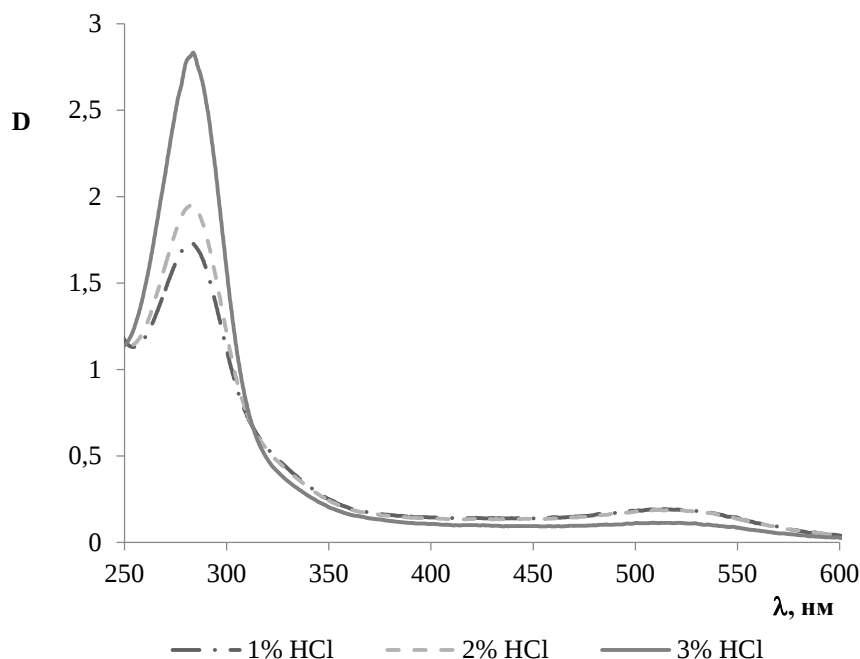


Рис. 2. Сравнение УФ-спектров экстрактов черники на основе различных концентраций HCl в интервале λ от 250 до 550 нм.

Исходя из приведенных данных можно судить о том, что при экстрагировании с использованием разных концентраций HCl можно предположить наличие цианидина, пеларгонидина и пеоидина в чернике. Большая их часть выделялась при экстрагировании 1% и 2% HCl.

Изменение значения pH среды в растворах антоцианов влечет за собой образование новых хромофоров, и, следовательно, смену окраски пигмента. Изменение pH влечёт за собой изменение электронного спектра. При повышении pH до 4.5 в растворе превалирует бесцветная форма псевдооснования, которая при подщелачивании превращается в хиноидные структуры, окрашенные в сине-серо-зеленые тона. Форма псевдооснования находится в равновесии с халконными формами. Причем *транс*-халконная форма быстро превращается в дикетопроизводные, что является одной из причин неустойчивости агликонов [3].

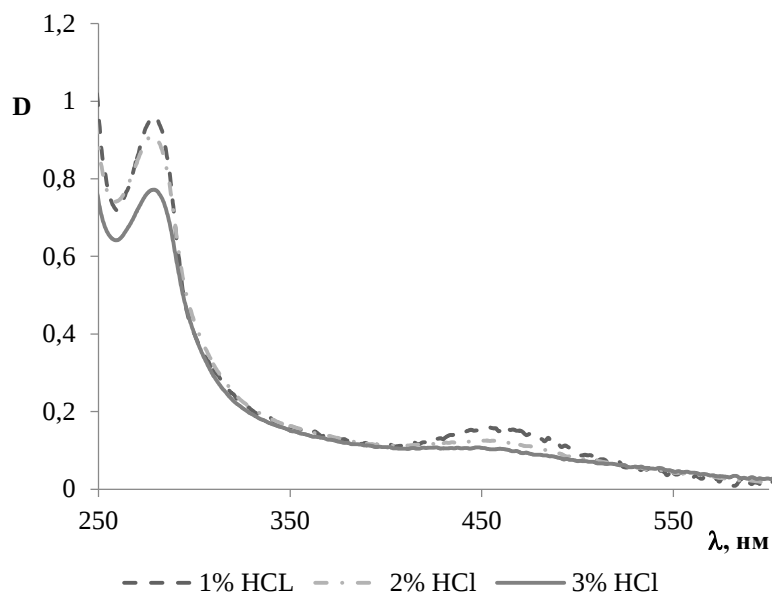


Рис. 3. Сравнение УФ–спектров экстрактов шиповника на основе различных концентраций HCl в интервале λ от 250 до 550 нм.

При экстрагировании шиповника разными концентрациями HCl можно судить о небольшом наличии пеларгонидина или цианидина, порядка 0,1–0,2%.

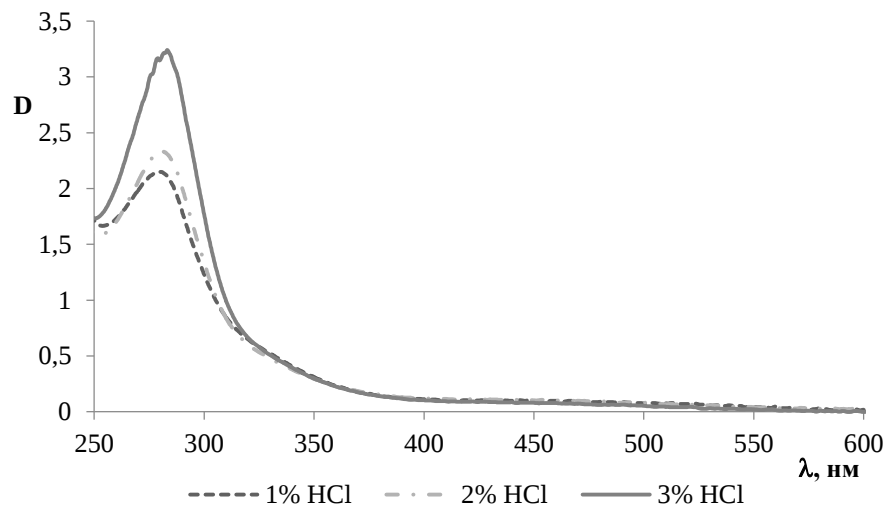


Рис. 4. Сравнение УФ–спектров экстрактов боярышника на основе различных концентраций HCl в интервале λ от 250 до 550 нм.

Полученные данные показывают, что максимумы оптической плотности при $\lambda_{\max} = 500\text{--}550$ нм, отвечающие за содержание цианидин-3-О-гликозида отсутствуют, а следовательно экстракт боярышника отличается малым количеством антоцианов.

Для перерасчета на содержание цианидин-3-О-гликозида была определена влажность сырья [5]:

Таблица 2
Определение влажности сырья

Наименование	Масса, г		
	Черника	Шиповник	Боярышник
Бюкс	12,8609	50,5543	22,5862
Бюкс с навеской ЛРС	14,8686	52,5641	24,5915
Бюкс с навеской после высушивания	13,1521	50,8558	22,9101
Сырьё до высушивания	2,0077	2,0098	2,0053
Сырьё после высушивания	1,7165	1,7083	1,6814

Влажность сырья является основным фактором, определяющим выход индивидуального биологически активного вещества из определённого количества лекарственного растительного сырья, вычисляется по формуле (2):

$$W = \frac{(m - m_1)}{m} \cdot 100\%, \quad (2)$$

где m – масса сырья до высушивания

m_1 – после высушивания

Исходя из проведенных расчётов влажность черники составила 14,5 %, шиповника – 15 %, боярышника – 16 %.

Таблица 3
Количественное содержание антоцианов в ягодных экстрактах (УФ-спектры сняты при $\lambda_{\max} = 500\text{--}550$ нм)

Растение	Концентрация антоцианов, С, %			Оптическая плотность экстракта, D		
	1% HCl	2% HCl	3% HCl	1% HCl	2% HCl	3% HCl
Черника	0,44	0,44	0,27	0,18	0,18	0,11
Шиповник	0,15	0,15	0,15	0,06	0,06	0,06
Боярышник	0,07	0,07	0,07	0,03	0,03	0,03

Полученные данные показали, что наибольшее содержание антоцианов в экстракте с 1–2% HCl находится в плодах черники, а для плодов шиповника наибольшее содержание антоцианов не зависит от концентрации ионов водорода. Для плодов боярышника наблюдалось наименьшее содержание антоцианов.

Заключение

Актуальность антоцианов обусловлена их мощными антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, широким распространением в природе, растущим интересом к натуральным продуктам и перспективным исследованиям в различных областях. Они являются важными компонентами здорового питания и обладают потенциалом для профилактики и лечения различных заболеваний.

Список литературы:

1. Федоров, Р. А. Исследование антоцианов / Р. А. Федоров. – Воронеж: ВГУ, 2015. – 190 с.
2. Смирнов, А. С. Химия антоцианов / А. С. Смирнов. – Саратов: СарГЮА, 2017. – 200 с.
3. ОФС.1.2.1.1.0003.15 – Спектрофотометрия в УФ и видимой областях
4. Баранов, А. И. Оптические свойства антоцианов / А. И. Баранов. – М.: Наука, 2018. – 210 с.
5. ОФС.1.5.3.0007.15 – Определение влажности лекарственного растительного сырья

Об авторах:

НЕКРАСОВА Анна Владимировна – бакалавр 4 года обучения, кафедра Биотехнологии, химии и стандартизации, ФГБОУ ВО Тверской государственный технический университет (170026, г. Тверь, наб. А. Никитина, 22); e-mail: anianekrasova8@gmail.com

ЩИХОРСКАЯ Елизавета Дмитриевна – бакалавр 4 года обучения, кафедра Биотехнологии, химии и стандартизации, ФГБОУ ВО Тверской государственный технический университет (170026, г. Тверь, наб. А. Никитина, 22); e-mail: shchikhorskaya07@yandex.ru

ЛАКИНА Наталия Валерьевна - к.х.н, доцент кафедры биотехнологии, химии и стандартизации, Тверской государственный технический университет, химико-технологический факультет (170026, г. Тверь, наб. А. Никитина, 22); e-mail: lakina@yandex.ru

Study of ways to identify anthocyanins in blueberry, rosehip and hawthorn fruits

A.V. Nekrasova, E.D. Shchikhorskaya, N.V. Lakina

Tver State Technical University, Tver

Anthocyanins are colored vegetable glycosides containing – anthocyanidins as aglycones — substituted 2-phenylchromes related to flavonoids. This work is devoted to the comparative characterization of the anthocyanin content in blueberry, rosehip, and hawthorn fruits, as well as the study of their structures. The data obtained showed that cyanidin is mainly contained, and in blueberry fruits, when extracted from 1/2% HCl, its content was 0.44%. The lowest content of anthocyanins is found in the fruits of hawthorn. This work has shown the promise of studying anthocyanin species using an affordable UV spectrometry method using characteristic absorption maxima from 500 to 550 nm.

Keywords: *anthocyanins, spectrometry, humidity, cyanidin-3-O-glycoside.*

Дата поступления в редакцию: 24.03.2025.

Дата принятия в печать: 28.03.2025.