

ДОСЛІДЖЕННЯ НАЯВНОСТІ АНТОЦΙΑНІВ У ЛУШПИННІ НАСІННЯ СОНЯШНИКУ

Папченко В. Ю., Матвєєва Т. В., Белінська А. П., Звягінцева О. В., Руднєв В. А., Черевична Н. І.

1. Вступ

Соняшник – основна олійна культура в Україні, при переробці його насіння щорічно отримують в якості вторинних продуктів (відходів) більше 2 млн. тонн лушпиння.

Відомо, що лушпиння насіння соняшнику застосовують як сировину у гідролізній промисловості. В сільському господарстві лушпиння насіння соняшнику використовують в якості мульчі і добрива, а також для розпушування ґрунту. У тваринницьких господарствах широко використовують борошно з лушпиння, що збагачене відстійним фузом. Основну частину лушпиння насіння соняшнику використовують як альтернативне паливо, оскільки воно має ряд переваг перед традиційними енергоресурсами. Теплоту згоряння лушпиння насіння соняшнику і газу можна порівняти так: 2 тони лушпиння – 1 тис. м³ газу.

Лушпиння насіння соняшнику можна використовувати і як сорбент. Наприклад, воно якісно вилучає радіонукліди з водних розчинів. Вилучення радіонуклідів включає декілька стадій. Перша – контактування фітосорбенту з розчином, який очищують, при величині рН середовища від 3,0 до 9,0. І друга стадія – відділення сорбенту від розчину, в якому як фітосорбент використано подрібнене лушпиння насіння соняшнику, яке попередньо піддали кислотному гідролізу [1]. Така здатність лушпиння до виведення радіонуклідів з водних розчинів пояснюється наявністю антоціанів у самому лушпинні, яким притаманна така властивість як вилучати радіонукліди.

Антоціанові пігменти (АЦ) – широка група водорозчинних рослинних пігментів, що обумовлюють червоне, синє і фіолетове забарвлення плодів, квіток, листя і інших частин рослин. Антоціанові пігменти є похідними катіона флавілія, що містить від трьох до шести гідроксильних груп, які можуть бути метильовані. На рис. 1 наведено структурну формулу антоціанідінів. Будова деяких антоціанідінів надано в табл. 1.

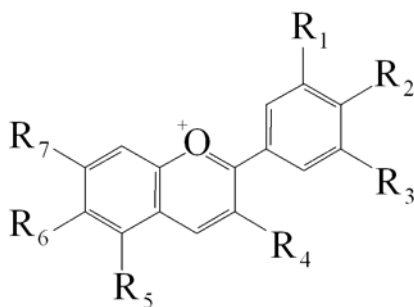


Рис. 1. Антоціанідіни (катіон флавілія)

Таблиця 1

Будова деяких антоціанідів

Антоціанідін	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Ціанідін	-ОН	-ОН	-Н	-ОН	-ОН	-Н	-ОН
Дельфінідін	-ОН	-ОН	-ОН	-ОН	-ОН	-Н	-ОН
Петунідін	-ОН	-ОН	-ОСН ₃	-ОН	-ОН	-Н	-ОН
Мальвідін	-ОСН ₃	-ОН	-ОСН ₃	-ОН	-ОН	-Н	-ОН
Пеонідін	-ОСН ₃	-ОН	-Н	-ОН	-ОН	-Н	-ОН
Розинідін	-ОСН ₃	-ОН	-Н	-ОН	-ОН	-Н	-ОСН ₃

Антоціанідіни (аглікони) через свою структуру погано розчиняються у воді, тому в рослинах вони існують в водно-розчинній формі у вигляді глікозидованих похідних. Загальний вміст мономерних антоціанідів в рослинах може доходити до 2 %. У природному стані антоціаніни розчинені в вакуолярному соку епідермальних і суб'епідермальних, рідше палісадних і губчастих мезофільних клітин плодів, квіток і оцвітин, листя, стебел, коренеплодів та ін. [2–5].

В сьогоденні існує тенденція з виділення та використання в харчових цілях переважно барвників, що мають природне походження. Так, екстракти АЦ з рослинної сировини використовують в харчовій промисловості як натуральні барвники для фарбування харчових продуктів. На відміну від багатьох синтетичних барвників АЦ мають природний колір, характерний для натуральних харчових продуктів. АЦ мають високу антиоксидантну активність [5], нейтралізують дію вільних радикалів, пригнічують ріст пухлин, благотворно діють на організм людини. Ці антиоксиданти зберігають свої властивості при вживанні рослин іншим організмом. Тому овочі та фрукти яскравих кольорів вважаються корисними для організму. В силу природних властивостей антоціанів, сприяє зменшенню ламкості капілярів, покращує стан сполучних тканин, допомагає запобігти і лікувати катаракту і в цілому сприятливо діє на весь організм.

Для виробництв, що випускають цукерки, кондитерські вироби і безалкогольні напої, потрібні різноманітні за кольором нешкідливі барвники. Велику роль тут до теперішнього часу грають рослинні екстракти, соки і концентрати, що містять антоціани. Селекціонери своїми науковими працями підтверджують, що можна підвищити вміст антоціанів в плодах і вивести сорти рослин, які дають плоди з настільки яскравим забарвленням, що сік їх цілком придатний для підфарбовування виробів кондитерського виробництва.

Антоціани для фарбування харчових продуктів можуть бути іноді отримані з відходів при переробці їстівних ягід [6]. Проте потенціал місцевої рослинної сировини як джерела барвників ще не цілком оцінений. Отже, виникає завдання щодо пошуку нових джерел, звідки природні барвники можуть бути вилучені в майбутньому в необхідних кількостях і за найнижчою ціною.

2. Об'єкт дослідження та його технологічний аудит

Об'єктом дослідження є антоціанові пігменти з вторинних продуктів олієжирової галузі. Зазвичай для одержання такого класу барвників використовують в якості сировини плоди, квітки, листя і інші частини рослин або відходи соково-

го виробництва, наприклад, вижимки темних сортів винограду. У даному дослідженні вирішення проблеми одержання антоціанових пігментів базується на пошуку нової сировинної бази для їх вилучення. В основу досліджень покладено комплексний підхід, який передбачає теоретичне і експериментальне обґрунтування нової сировинної бази для одержання антоціанових пігментів. Крім того включає обґрунтування методів вилучення антоціанів із запропонованої сировини. Даний підхід сприятиме використанню вторинних продуктів (відходів) переробки рослинної сировини олієжирової галузі, що є доступні і дешеві.

3. Мета та задачі дослідження

Метою роботи є обґрунтування сировини та методів вилучення природних пігментів – барвників натурального походження класу антоціанів, ґрунтуючись на такому напрямку, як використання вторинних продуктів (відходів) переробки рослинної сировини олієжирової галузі. Для досягнення поставленої мети треба вирішити наступні задачі:

1. Провести якісне визначення наявності поліфенольних сполук у промислових зразках лушпиння насіння соняшнику.
2. Провести дослідження з кількісного виявлення у промислових зразках лушпиння насіння соняшнику суми антоціанів.

4. Дослідження існуючих рішень проблеми

Частіше натуральні барвники одержують методом екстрагування із рослинної сировини відповідним розчинником.

Найбільш ефективні в якості розчинників є спирти [7], далі вони розташовані в порядку убування: метиловий, етиловий, ізопропиловий, пропиловий, бутиловий, ізобутиловий. З багатоатомних спиртів ефективними є етилен і пропілен гліколь, гліцерин. Найбільш підходящі мінеральні кислоти – соляна, сірчана, фосфорна, сірчиста і вугільна, в той час як серед органічних кислот найбільш підходящими виявилися мурашина, оцтова, молочна, винна і лимонна. Переважно, звісно, використовувати ті кислоти, які зазвичай використовуються при виробництві харчових продуктів, наприклад, лимонна кислота.

Екстрагування антоціанових пігментів проводять зазвичай підкисленими водними та водно-спиртовими розчинами. З метою оптимізації умов екстрагування антоціанових пігментів з рослинної сировини у роботах [8–11] проведено дослідження впливу на їх ступінь вилучення й стабільність таких параметрів, як сировина, розчинник, рН середовища, температура та час. В якості екстрагенту досліджено воду, етанол, гліцерин і водно-гліцеринові суміші, як рослинну сировину обрано чорноплідну горобину, чорну смородину, виноград та пелюстки червоної троянди.

У роботах [5, 12] з метою інтенсифікації процесу екстрагування фарбувальних речовин використано водно-гліцериновий розчинник, що дозволив збільшити концентрацію антоціанових пігментів и зменшити вміст води в екстракті. Вибір гліцерину як екстрагенту у даному дослідженні обумовлено його структурою, крім того він нетоксичний, має високу температуру кипіння, а тому нелеткий и менш вибухонебезпечний, ніж етанол.

З метою підвищення точності визначення кількості антоціанінів у різних частинах рослин, харчових продуктах, харчових барвниках авторами [13] запропоновано екстракцію антоціанінів з рослинної сировини. Екстракцію проводять у двофазній системі розчинників пентанол-1–концентрована соляна кислота–вода у співвідношенні 10–12:10–12:2–4 при температурі 100–110 °С протягом 10–25 хвилин. Сумарну кількість антоціанінів розраховують по різниці оптичної щільності при довжині хвилі 530 і 655 нм до і після обробки органічної фази екстрагента сумішчю 30 % пероксиду водню і метанолу.

Поряд з сумішшю хлорофілів, каротиноїдів, флавонолів і флавонів у роботі [14] виділені антоціаніни розчином метилового спирту з рослинної сировини – трави монарди трубчастої.

У роботі [15] антоціани плодів екстрагували бутанолом і розділяли методом хроматографії на колонці з порошкоподібної целюлози, використовуючи суміш бутанола, оцтової кислоти і води (4:1:2,5) як розчинник.

Під час вилучення АЦ з темної рослинної сировини [5] найбільш ефективний водно-гліцериновий екстрагент з масовою часткою гліцерину 50 %. Колір темних плодів викликаний пігментами, в структурі яких переважають АЦ, що містять гідроксили у сусідніх атомів вуглецю. Їх екстрагування зростає зі збільшенням вмісту в екстрагенті багатоатомного спирту зі структурою α -гліколю в результаті утворення хелатних комплексів за допомогою водневого зв'язку між молекулами розчинника і АЦ.

Щодо вилучення природних барвників із інших альтернативних видів природної сировини, то у роботі [5] в якості сировини використовували висушені і подрібнені вижимки ягід темного сорту винограду, які будучи відходами сокового виробництва, доступні і дешеві. Як екстрагент вивчені вода, етанол, гліцерин і водно-гліцеринові суміші. Вибір розчинників обумовлений можливістю їх використання в харчовій промисловості.

На даний час перспективним напрямом одержання барвників натурального походження є використання місцевої рослинної сировини, а ще краще відходів її переробки. А також перспективним напрямом одержання барвників натурального походження є використання методу екстрагування відповідним розчинником або їх сумішшю.

Авторами роботи [7] встановлено, що чорний колір оболонки деякого насіння соняшнику при екстракції відповідною системою розчинників може переходити в розчин у вигляді рубінового червоного барвника. Таке червоне забарвлення дає речовина *helianthosyanine*. Крім того, встановлено, що ця речовина, з точки зору своєї хімічної структури, відноситься до класу антоціанів.

На основі проведеного аналізу можна зробити висновок про те, що саме лушпиння насіння соняшнику – вторинний продукт переробки рослинної сировини олієжирової галузі, можна використовувати як джерело природних барвників рослинного походження.

5. Методи дослідження

Для проведення досліджень як сировину використано зразки лушпиння насіння соняшнику.

У зразках лушпиння насіння соняшнику проведено визначення наявності поліфенольних сполук згідно з [16, 17] за кісними реакціями.

Вміст вологи у зразках лушпиння насіння соняшнику визначено прискореним методом згідно з [18].

Дослідження вмісту суми антоціанів (поліфенольних сполук) лушпиння насіння соняшнику проведено згідно з [17] методом вимірювання оптичної густини розчинів екстрактів порошків на спектрофотометрі *Specol 1300* (Германія) при довжині хвилі $\lambda=490$ нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

6. Результати дослідження

Для якісного та кількісного виявлення антоціанів краще використовувати лушпиння насіння соняшнику у подрібненому стані і попередньо знежирене.

На першому етапі дослідження проведено якісне визначення наявності поліфенольних сполук у зразках лушпиння насіння соняшнику. Оскільки специфічної реакції на всі поліфенольні сполуки не існує, то згідно з [16, 17] використовують різні реакції для їх визначення. Так одна з реакцій на наявність поліфенольних сполук заснована на взаємодії поліфенолів фільтрату з 5 % розчином алюмінію хлориду. В результаті цього утворюються хелатні комплекси за рахунок водневих зв'язків, що виникають між карбонільної і гідроксильної групами і іоном алюмінію, спостерігається жовто-зелене забарвлення, як позитивна реакція на вміст поліфенолів. В залежності від вмісту поліфенольних речовин у досліджуваних зразках та від будови досліджуваних поліфенолів забарвлення фільтрату спостерігається різної інтенсивності і відтінку – від слабо жовтого до враженого жовто-зеленого кольору.

Також найбільш часто для виявлення поліфенольних сполук використовують ціанідінову реакцію з металевим магнієм або цинком і концентрованою HCl. Поява рожевого або червоного забарвлення в пробірці без магнію вказує на присутність в ній антоціанових пігментів, які при додаванні тільки однієї кислоти утворюють червоне забарвлення за рахунок утворення оксонієвих солей.

На другому етапі проведено дослідження з кількісного виявлення у зразках лушпиння насіння соняшнику (№ 1–4) суми антоціанів в перерахунку на ціанідин-3,5-діглікозид в абсолютно сухій сировині у відсотках. При здійсненні цього методу проведено екстракцію антоціанів водним розчином HCl з масовою часткою 1 %. Подрібнену сировину оброблено екстрагентом з розрахунку 100 мл розчинника на 0,5 г сировини при температурі +40...+45 °C протягом 15 хв. Попередньо визначено вміст вологи у промислових зразках лушпиння насіння соняшнику прискореним методом. Концентрацію суми антоціанів визначено з використанням спектрофотометру *Specol 1300*, $\lambda=490$ нм, кювета 10 мм, сумарну концентрацію антоціанів розраховано за різницею оптичної густини. Результати експериментів представлено у табл. 2.

Таблиця 2

Вміст антоціанів у зразках лушпиння насіння соняшнику

Номер зразка	Волога, %	d ₄₉₀	Вміст антоціанів, %
1	3,3	0,683	0,78
2	3,3	0,368	0,42
3	8,9	0,036	0,044
4	8,8	0,025	0,03

За результатами проведених досліджень (табл. 2) виявлено, що кількість антоціанів у розглянутих зразках лушпиння насіння соняшнику варіюється у межах 0,03-0,78 %; середній їх вміст (у %) складає ~ 0,42.

7. SWOT-аналіз результатів дослідження

Strengths. Серед сильних сторін даного дослідження необхідно відмітити обґрунтований вибір сировинної бази для одержання природних барвників: комплексну переробку рослинної сировини, а також використання саме відновлювальної сировинної бази. За результатами аналізу сучасної наукової літератури на сьогодні такі дані відсутні. Запропонований підхід щодо вибору сировини дозволить розширити сировинну базу барвників за рахунок використання вторинних продуктів (відходів) виробництва. До того ж у сьогоденні існує тенденція по виділенню та використанню в харчових цілях переважно барвників з природних джерел. Це сприятиме поліпшенню якості харчових продуктів, які мають у своєму складі рослинні барвники – біологічно активні сполуки рослинного походження, а з іншого боку – це сполуки для створення цілої низки дуже цінних фармакологічних препаратів.

Weaknesses. Слабкою стороною даної розробки є те що більшість даного класу барвників мають нестабільність кольору при зберіганні, нагріванні, дії сонячного світла та кисню повітря. Для запобігання такого недоліку необхідно отримувати барвник безпосередньо перед застосуванням, минаючи: стадію концентрування (тобто з концентрацією достатньою для практичного використання); стадії стабілізації і зберігання. Це дозволить виключити, наприклад, присутність кислоти в екстракті необхідної для пригнічення росту мікроорганізмів в екстракті при зберіганні. Слабкою стороною даної розробки також є і те, що переробка вторинних продуктів сприятиме збільшенню енерговитрат.

Opportunities. На перспективу є доцільним проведення детальних досліджень з пошуку поновлювальних джерел сировини для одержання природних барвників. Такими джерелами сировини можуть бути, наприклад, відходи харчових виробництв. Також є доцільним проведення детальних досліджень з одержання інших біологічно-активних сполук рослинного походження із відходів виробництв. Ці біологічно-активних сполуки можуть мати широкий спектр фармакологічної дії (антиоксиданти, інгібітори ферментів та інше) і сприяти у подальшому створенню цінних лікувально-профілактичних, фармакологічних препаратів. Дослідження у цьому напрямку сприятимуть більш раціональній переробці вторинних продуктів на підприємствах.

Threats. Складнощі у впровадженні отриманих результатів можуть бути пов'язані з тим, що зазвичай на підприємствах перевагу віддають яскравим і стійким синтетичним барвникам. Вони не мають нестабільності кольору при зберіганні та впливі інших зовнішніх факторів на відміну від більшості барвників природного походження. До того ж виробникам треба провести додаткові витрати на медичну експертизу щодо доведення дійсно позитивного впливу одержаних барвників природного походження або біологічно-активних сполук рослинного походження на організм людини.

Таким чином, SWOT-аналіз результатів дослідження дозволяє визначити основні напрямки щодо досягнення мети досліджень, а саме:

- провести комплексні дослідження з визначення впливу окремих факторів на процес вилучення природних барвників;
- розробити методiku щодо отримання природних барвників з вторинних продуктів олієжирової галузі та інших відновлювальних природних джерел;
- дослідити індивідуальні характеристики одержаних барвників з метою подальшої рекомендації їх використання безпосередньо у медицині, хіміко-фармацевтичній, парфумерно-косметичній, харчовій та інших галузях промисловості.

8. Висновки

1. Проведено реакцію взаємодії поліфенолів фільтрату, що одержали із разків лушпиння насіння соняшнику, з розчином алюмінію хлориду. В результаті цього спостерігалось жовто-зелене забарвлення, як позитивна реакція на вміст поліфенолів. Отже даною реакцією виявлено присутність поліфенольних сполук у зразках лушпиння насіння соняшнику.

2. Проведено екстракцію антоціанів із зразків лушпиння насіння соняшнику, попередньо знежирених та подрібнених, водним розчином HCl з масовою часткою 1 %. Концентрацію суми антоціанів визначено з використанням спектрофотометру ($\lambda=490$ нм, кювета 10 мм). Середній вміст суми антоціанів в перерахунку на ціанідін-3,5-діглікозид, складає $\sim 0,42$ %.

Література

1. Method for removal of radionuclides from aqueous solutions [Electronic resource]: Patent RU 2067328 C1 / Dontsov A. E., Lapina V. A., Ostrovskii M. A., Rubanov A. S., Rudak E. A.; assignee: Institute of Chemical Physics, RAS. – Appl. No. 93026484/25; Filed 21.05.1993; Publ. 27.09.1996. – Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2067328C1/en>
2. Andersen, O. M. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications [Text] / O. M. Andersen, K. R. Markham. – CRC Press, 2005. – 1256 p. doi:[10.1201/9781420039443](https://doi.org/10.1201/9781420039443)
3. Motohashi, N. Anthocyanins: Structure, Biosynthesis and Health Benefits [Text] / ed. by N. Motohashi. – Nova Science Publishers, 2013. – 325 p.
4. Ananieva, V. Research of dry plant concentrates – ingredient of a food health improvement [Text] / V. Ananieva, L. Krichkovska, A. Belinska, V. Dubonosov, S. Petrov // EUREKA: Physics and Engineering. – 2016. – Vol. 4. – P. 17–24. doi:[10.21303/2461-4262.2016.000124](https://doi.org/10.21303/2461-4262.2016.000124)

5. Perevertkina, I. V. Vliyanie golicerina na ehkstragirovanie antocianovykh pigmentov iz rastitel'nogo syr'ya [Text] / I. V. Perevertkina, A. D. Volkov, V. M. Bolotov // Himiya rastitel'nogo syr'ya. – 2011. – No. 2. – P. 187–188.
6. Vetchinkin, A. R. Estestvennye organicheskie krasiashchie veshchestva v pishchevoi promyshlennosti [Text] / A. R. Vetchinkin // Uchenye zapiski Saratovskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo instituta. – 1940. – Vol. 7. – P. 79–85.
7. Process for obtaining a dye substance of vegetal origin [Electronic resource]: Patent US 4156077 A / Pifferi P. G. – Appl. No. 05/737,768; Filed 01.11.1976, Publ. 22.05.1979. – Available at: \www/URL: <https://www.google.com/patents/US4156077>
8. Savvin, P. N. Issledovanie antioksidantnykh svoystv zheleznogo marmelada [Text] / P. N. Savvin, V. M. Bolotov // Himiya rastitel'nogo syr'ya. – 2008. – No. 4. – P. 177–179.
9. Harlamova, O. A. Natural'nye pishchevye krasiteli [Text] / O. A. Harlamova, B. V. Kafka. – Moscow, 1979. – 191 p.
10. Sposob polucheniia antotsianovogo krasitelia iz plodovogo syr'ia [Electronic resource]: Patent RU 222834 / Odin A. P., Hairutdinova A. D., Bolotov V. M. – Publ. 10.05.2004, Bull. No. 3. – Available at: \www/URL: <http://www.findpatent.ru/patent/222/2228344.html>
11. Perevertkina, I. V. Optimizatsiia uslovii ekstragirovaniia antotsianovykh krasitelei iz rastitel'nogo syr'ia [Text] / I. V. Perevertkina, A. D. Volkov, N. N. Titova, V. M. Bolotov // Himiya rastitel'nogo syr'ya. – 2014. – No. 2. – P. 137–141.
12. Method for production of anthocyan colouring agent from dark sorts berries refuses [Electronic resource]: Patent RU 2426755 C2 / Prervertkina I. V., Koltokova N. S., Titova N. N.; assignee: Voronezh State Technological Academy. – Appl. No. 2009124084; Filed 25.06.2009; Publ. 20.08.2011. – Available at: \www/URL: <https://patents.google.com/patent/RU2426755C2/en>
13. Sposob kolichestvennogo opredeleniia summy antotsianov [Electronic resource]: Patent SU 1744647 A1 / Roshal' A. D., Tsinovyi V. I, Orlov V. D. – Appl. No. 4640525/13; Filed 24.01.1989; Publ. 30.06.1992, Bull. No. 24. – Available at: \www/URL: <http://rochal-home.univer.kharkov.ua/Papers/AC-1744647.pdf>
14. Shanaida, M. I. Pihmentnyi sklad nadzemnoi chastyny Monarda fistulosa L. / M. I. Shanaida, S. M. Marchyshyn // Aktualni pytannia farmatsevtichnoi i medychnoi nauky ta praktyky. – 2012. – No. 2 (9). – P. 31–32.
15. Lamort, C. Chromatographie et degradation d'anthocyanines de fruits [Text] / C. Lamort // Rev. ferment. et inds aliment. – 1959. – Vol. 14, No. 2. – P. 70–72.
16. Korenskaia, I. M. Lekarstvennye rasteniia i lekarstvennoe rastitel'noe syr'e, sodержashchie flavonoidy, kumariny, hromony [Text]: Handbook / I. M. Korenskaia, N. P. Ivanovskaia, I. E. Izmalkova. – Voronezh: IPTs VGU, 2007. – 80 p.
17. Gosudarstvennaia farmakopeia SSSR [Text]. Vypusk 2. Obshchie metody analiza lekarstvennoe rastitel'noe syr'e / Ministry of Health of the USSR. - Ed. 11. – Moscow: Meditsina, 1989. - 400 p.
18. Berezka, T. O. Kharchovi tekhnolohii. Metody kontroliu kharchovykh vyrobnytstv [Text] / T. O. Berezka, T. V. Matveeva, V. Yu. Papchenko. – Kharkiv: NTU «KhPI», 2011. – 168 p.