

УДК 581.192.2:543.421/.424

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕТАЦИАНИНОВЫХ ПИГМЕНТОВ ИЗ *BETA VULGARIS* И *AMARANTHUS RETROFLEXUS*

© И.В. Слепцов*, И.В. Воронов, А.Н. Журавская, Е.Р. Поскачина

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41,
Якутск, 677980 (Россия), e-mail: neroxasg@mail.ru

Представлен новый метод выделения бетацаниновых пигментов из свеклы обыкновенной (*Beta vulgaris*) и щирицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus*). Выделение проводили на препаративной колоночной хроматографии с «гравитационным» элюированием, с дальнейшей идентификацией полученных красно-фиолетовых пигментов в инфракрасной и видимой области спектра. Установлено, что полученные красно-фиолетовые пигменты имеют максимум поглощения в видимой области спектра при 532 нм, что является характеристической длиной волны для бетацаниновых пигментов. По ИК-спектрам изучаемых образцов выявлено, что красно-фиолетовые порошки относятся к бетацаниновым пигментам по характеристическим полосам поглощения. Полученные данные свидетельствуют о том, что выделенные красно-фиолетовые пигменты относятся к классу бетацанинов по проведенным анализам на спектрофотометре и инфракрасном спектрометре с преобразователем Фурье. Таким образом, представленным методом можно получать красно-фиолетовые порошки, содержащие бетацаниновые пигменты, которые можно использовать как биологически активные добавки, так как в использованном методе получения не применяются кислоты, соли и другие вещества, за исключением воды и спирта.

Ключевые слова: *Beta vulgaris*, *Amaranthus retroflexus*, бетацанины, амарантин, бетанин, инфракрасная спектроскопия, видимая спектрофотометрия.

Введение

Структуру азотсодержащего пигмента бетанина ($C_{24}H_{26}N_2O_{13}$) установили в 1962 г. [1], и он является первым изученным соединением, относящимся к классу бетацанинов. Структурную формулу амарантина ($C_{29}H_{31}N_2O_{19}$) определили в 1964 г. [2]. Раньше считалось, что бетанин, амарантин и все бетацанины относятся к группе антоцианов, так как в основном окраска растений в красные тона обусловлена биосинтезом соединений из класса флавоноидов – антоцианов, но при этом некоторые растения могут иметь похожую окраску, которая обусловлена наличием в тканях бетацанинов [3]. Тем не менее бетацанины по своей химической структуре отличаются от антоцианов за счет содержания дигидроиндольных и тетрагидропиридиновых фрагментов [4, 5]. Еще не выявлены растения, одновременно содержащие антоцианы и бетацанины [6, 7]. Главной отличительной особенностью амарантина от бетанина является наличие в структуре дополнительного гликозидного остатка (рис. 1). Физиологические функции бетацанинов в растениях не известны. Считается, что бетацанины выполняют защитную функцию при действии фотостресса. Однако

Слепцов Игорь Витальевич – аспирант,
тел. (4112) 33-55-79, e-mail: neroxasg@mail.ru
Воронов Иван Васильевич – научный сотрудник, кандидат биологических наук, тел. (4112) 33-55-79,
e-mail: viv_2002@mail.ru
Журавская Алла Николаевна – главный научный сотрудник, доктор биологических наук, профессор,
тел.: (4112) 33-55-79, e-mail: jan43@mail.ru
Поскачина Елена Рудольфовна – научный сотрудник, кандидат биологических наук, тел. (4112) 33-55-79,
e-mail: poskachinalena@yandex.ru

механизмы защитных реакций с участием бетацанинов остаются неизученными [8]. Интерес к получению биоактивных добавок из бетацаниновых пигментов возрос после того, как было установлено, что они являются водорастворимыми антиоксидантами [9, 10]. Известен ряд методов выделения бетацаниновых пигментов, самым распространенным из которых является метод гель-фильтрации [11].

* Автор, с которым следует вести переписку.

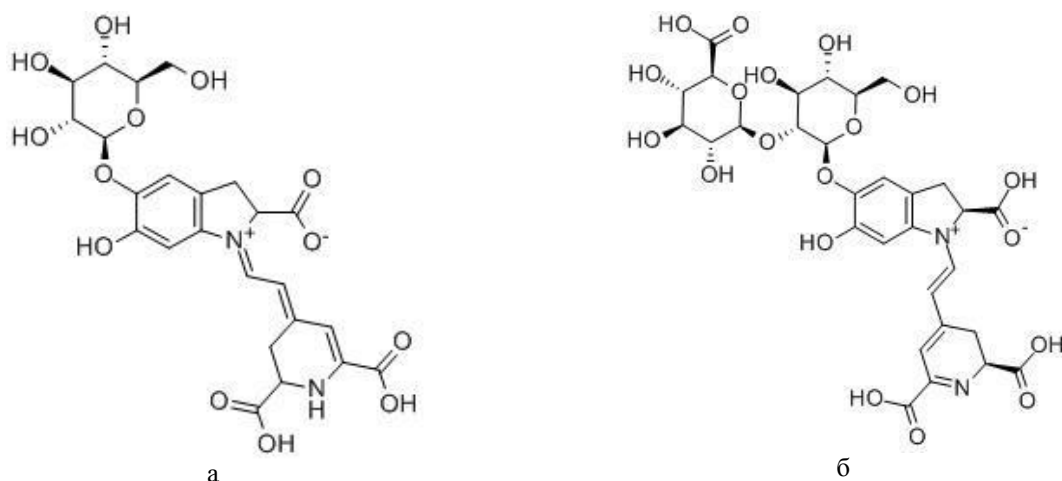


Рис. 1. Структурная формула бетанина (а) и амарантина (б)

Цель исследования – выделение и идентификация бетацианиновых пигментов из корнеплода свеклы обыкновенной (*Beta vulgaris*) и вегетативных частей щирицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus*).

Экспериментальная часть

В работе использовались растения семейства *Amaranthaceae* (Juss.) (syn. *Achyranthaceae* Raf. и *Deeringiaceae* J. Agardh), рода *Beta* (L.) вида *Beta vulgaris* (L.) и рода *Amaranthus* (L.) вида *Amaranthus retroflexus* (L.), широко распространенные на территории России.

Семена растений сеяли в открытый грунт в конце мая на территории Ботанического сада Института биологических проблем криолитозоны СО РАН (Якутск). Сбор растительного материала *Beta vulgaris* и *Amaranthus retroflexus* проводили в период плодоношения в конце августа 2014 г.

Для выделения красно-фиолетовых пигментов использовали корнеплод *Beta vulgaris* и надземные части *Amaranthus retroflexus*. Навеску воздушно-сухого сырья массой 10 г измельчали до размера частиц меньше 1 мм, помещали в колбу объемом 250 мл, заливали 100 мл дистиллированной воды. Экстракцию проводили в течение четырех часов при постоянном перемешивании. Полученный экстракт фильтровали и высушивали на лиофильной установке Jouan LP3 (Франция). В лиофилизированный экстракт добавляли дистиллированную воду до полного растворения полученного порошка, затем шестикратно разбавляли этиловым спиртом для осаждения белковых фракций. Полученный экстракт центрифугировали, надосадочную жидкость декантировали и наносили в хроматографическую колонку. Для выделения красно-фиолетовых пигментов из *Amaranthus retroflexus* использовали препаративную колоночную хроматографию с «гравитационным» элюированием, наполненную сорбентом Silicagel L 100/160 (диаметр колонки 30 мм, высота слоя сорбента 80 мм). Элюирование проводили 96% этиловым спиртом до полного удаления из колонки подвижных фракций и желтых пигментов, предположительно бетаксантинов. В колонке при заданных условиях хроматографирования удерживалась фракция красно-фиолетового цвета. Для удаления исследуемой фракции из колонки использовали дистиллированную воду. Полученный раствор красно-фиолетового цвета сушили на лиофильной установке Jouan LP3 (Франция). Описанный метод является авторским.

Для водных растворов полученных пигментов были записаны спектры на спектрофотометре Shimadzu UV-2600 (Япония) в диапазоне 400 до 700 нм.

ИК-спектр красно-фиолетовых пигментов, полученных из *Beta vulgaris* и *Amaranthus retroflexus*, снимали в виде таблетки с бромидом калия на инфракрасном спектрометре с преобразователем Фурье Varian 7000 FT-IR (США) в диапазоне 400–4000 см⁻¹.

Обсуждение результатов

На рисунке 2 показаны поглощения в видимой области спектра красно-фиолетовых пигментов, выделенных из *Beta vulgaris* (а) и *Amaranthus retroflexus* (б). Водные растворы красно-фиолетовых пигментов имели максимум поглощения в видимой области спектра при длине волны 532 нм. Максимум поглощения при 532 нм является характеристической длиной волны для бетацианиновых пигментов [12]. Кроме того, не обнаружено поглощения при 460–480 нм, что свидетельствует об отсутствии желтых пигментов бетаксантинов, что подтверждает их удаление на хроматографической колонке.

В инфракрасных спектрах исследуемых красно-фиолетовых пигментов, выделенных из *Beta vulgaris* и *Amaranthus retroflexus* (рис. 3), наблюдались полосы поглощения при 3414 и 3380 см⁻¹, характерные для О-Н группы и Н₂O, и плечо на 2926 и 2949 см⁻¹, обусловленное валентными колебаниями С-Н группы. Полосы поглощения при 1622 и 1623 см⁻¹ характерны для колебаний С=N группы. Линии поглощения при 1398 и 1395 см⁻¹ характерны для колебаний С-ОН группы. Полосы поглощения при 1076 и 1126 см⁻¹ характерны для С-О и С-N групп [13].

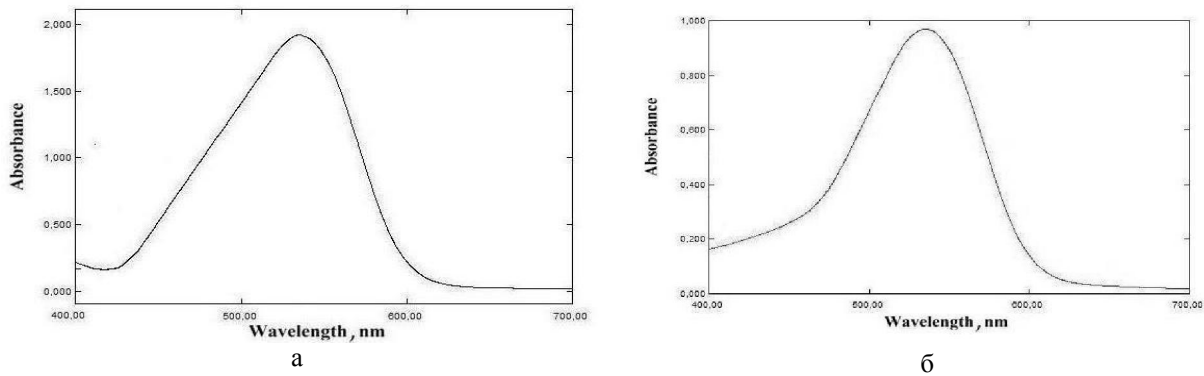


Рис. 2. Поглощение в видимой области спектра красно-фиолетовых пигментов, полученных из *Beta vulgaris* (а) и *Amaranthus retroflexus* (б)

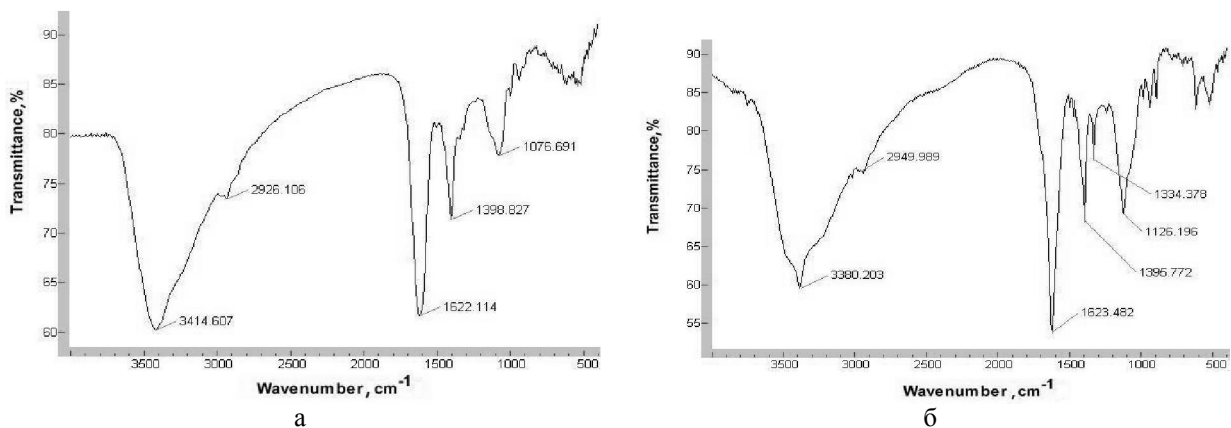


Рис. 3. Инфракрасный спектр поглощения красно-фиолетовых пигментов, полученных из *Beta vulgaris* (а) и *Amaranthus retroflexus* (б)

В ИК-спектре пигментов *Amaranthus retroflexus* в отличие от *Beta vulgaris* наблюдалась дополнительная полоса поглощения при 1334 см⁻¹, которая обусловлена колебаниями С-Н группы [14]. Наличие характеристических полос поглощения в ИК-спектре полученных красно-фиолетовых пигментов позволяет отнести их к классу бетацианинов, что согласуется с результатами других авторов [11, 14, 15].

Таким образом, анализ спектров поглощения в инфракрасной и видимой областях показал, что красно-фиолетовые пигменты из *Beta vulgaris* и *Amaranthus retroflexus* являются бетанином и амарантином соответственно.

Появление дополнительной полосы поглощения в ИК-спектре красно-фиолетового пигмента из *Amaranthus retroflexus* при 1334 см⁻¹ может быть обусловлено наличием у амарантина, в отличие от бетанина, дополнительного гликозидного остатка (рис. 1).

Выводы

Выделены бетацианиновые пигменты, бетанин из *Beta vulgaris* и амарантин из *Amaranthus retroflexus*, красно-фиолетового цвета, методом препаративной колоночной хроматографии с «гравитационным» элюированием.

Водные растворы выделенных красно-фиолетовых пигментов имеют максимум поглощения в видимой области спектра при 532 нм, что является характеристической длиной волны для бетацианиновых пигментов.

По ИК-спектрам изучаемых образцов выявлено, что красно-фиолетовые порошки относятся к бетацианиновым пигментам по характеристическим полосам поглощения 1076–1126, 1395–1398 и 1622–1623 см⁻¹.

В использованном методе выделения бетацианиновых пигментов не применяются кислоты, соли и другие вещества, за исключением воды и спирта, что позволяет получать биоактивные вещества, содержащие бетанин и амарантин. Таким образом, полученные порошки можно использовать как биологически активные добавки.

Список литературы

1. Mabry T.J., Wyler H., Sassu G., Mercier M., Parikh J., Dreiding A.S. Die Struktur des Neobetanidins unter die Konstitution des Randenfarbstoffes Betanin // *Helv. Chim. Acta.* 1962. Vol. 45. Pp. 640–647.
2. Piattelli M., Minale L., Prota G. Isolation and structure of amarantine and isoamarantine // *Ann. Chim.* 1964. Vol. 54, N10. Pp. 963–968.
3. Henriette M.C. Betalains: properties, sources, applications, and stability // *Intern. J. Food Sci. Technol.* 2009. Vol. 44. Pp. 2365–2376.
4. Robinson T. *The Organic Constituents of Higher Plants.* Minneapolis, 1963. 292 p.
5. Raven P.H., Ray F.E., Susan E.E. *Biology of Plants (7th ed.).* New York, 2004. 465 p.
6. Francis F.J. *Colorants.* Egan Press, 1999. 144 p.
7. Stafford H.A. Anthocyanins and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways // *Plant Science.* 1994. Vol. 101, N2. Pp. 91–98.
8. Гинс М.С. Протекторная функция амарантина при действии УФ-А облучения : дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2000. 145 с.
9. Escribano J., Pedreño M. A., García-Carmona F., Muñoz R. Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots // *Phytochem. Anal.* 1998. Vol. 9, N3. Pp. 124–127.
10. Allegra M., Butera D., Livrea M.A. Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: potential health effects of betalains in humans // *American Journal of Clinical Nutrition.* 2004. Vol. 80, N4. Pp. 941–945.
11. Biswas M., Dey S., Sen R. Betalains from *Amaranthus tricolor* L. // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 2013. Vol. 1, N5. Pp. 87–95.
12. Саенко И.И., Тарасенко О.В., Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Бетацианины корнеплодов красной столовой свеклы // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия : Естественные науки.* 2012. Т. 18, №3. С. 194–200.
13. Тарасевич Б.Н. ИК-спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы. М., 2012. 54 с.
14. Минзанова С.Т., Миронов В.Ф., Цепяева О.В. Беталаиновые пигменты растительного происхождения: выделение, структура и химические свойства // *Бутлеровские сообщения.* 2010. Т. 19, №1-3. С. 1–11.
15. Cai Y.Z., Sun M., Wu H., Huang R., Corke H. Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse *Amaranthus* species // *Journal Agric Food Chem.* 1998. Vol. 46. Pp. 2063–2070.

Поступило в редакцию 25 мая 2015 г.

После переработки 16 июня 2015 г.

*Sleptsov I.V.**, *Voronov I.V.*, *Zhuravskay A.N.*, *Poskachina E.R.* ISOLATION AND IDENTIFICATION BETACYANINS PIGMENTS FROM BETA VULGARIS AND AMARANTHUS RETROFLEXUS

Institute of Biological Problems of the permafrost zone, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Lenina st., 41, Yakutsk, 677980 (Russia), e-mail: neroxasg@mail.ru

This paper presents a new method of isolation betacyanins pigments from *Beta vulgaris* and *Amaranthus retroflexus*. Isolation was performed on a preparative chromatography column with the «gravity» elution with further identification of the obtained red-purple pigments in the infrared and visible spectral region. Established that the obtained red-purple pigments have a maximum absorption in the visible region of the spectrum at 532 nm is the characteristic wavelength for betacyanins pigments. Analysis of the IR spectra of the studied samples revealed that the red-purple powders are betacyanins pigments of characteristic absorption bands. The data obtained indicate that the isolated red-purple pigments belong to a class betacyanins for analysis on a spectrophotometer and infrared spectrometer. Thus, the presented method can obtain a red-purple powders containing betacyanins pigments which can be used as dietary supplements have been as used method for obtaining are not applicable acids, salts and other substances, with the exception of water and alcohol.

Keywords: *Beta vulgaris*, *Amaranthus retroflexus*, betacyanins, amarantine, betanin, infrared spectroscopy, visible spectrophotometry.

References

1. Mabry T.J., Wyler H., Sassu G., Mercier M., Parikh J., Dreiding A.S. *Helv. Chim. Acta*, 1962, vol. 45, pp. 640–647.
2. Piattelli M., Minale L., Prota G. *Ann. Chim.*, 1964, vol. 54, no. 10, pp. 963–968.
3. Henriette M.C. *Intern. J. Food Sci. Technol.*, 2009, vol. 44, pp. 2365–2376.
4. Robinson T. *The Organic Constituents of Higher Plants*. Minneapolis, 1963. 292 p.
5. Raven P.H., Ray F.E., Susan E.E. *Biology of Plants* (7th ed.). New York, 2004. 465 p.
6. Francis F.J. *Colorants*. Egan Press, 1999. 144 p.
7. Stafford H.A. *Plant Science*, 1994, vol. 101, no. 2, pp. 91–98.
8. Gins M.S. *Protektornaiia funktsiia amarantina pri deistvii UF-A oblucheniia : dis. ... kand. biol. nauk.* [Tread Amarantina function under the influence of UV-A radiation: the dissertation candidate of biological sciences]. St. Petersburg, 2000, 145 p. (in Russ.).
9. Escribano J., Pedreño M. A., García-Carmona F., Muñoz R. *Phytochem. Anal.*, 1998, vol. 9, no. 3, pp. 124–127.
10. Allegra M., Butera D., Livrea M.A. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, vol. 80, no. 4, pp. 941–945.
11. Biswas M., Dey S., Sen R. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2013, vol. 1, no. 5, pp. 87–95.
12. Saenko I.I., Tarasenko O.V., Deineka V.I., Deineka L.A. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki*, 2012, vol. 18, no. 3, pp. 194–200. (in Russ.).
13. Tarasevich B.N. *IK-spektry osnovnykh klassov organicheskikh soedinenii. Spravochnye materialy.* [IR spectra of the major classes of organic compounds. Reference materials]. Moscow, 2012, 54 p. (in Russ.).
14. Minzanova S.T., Mironov V.F., Tsepaeva O.V. *Butlerovskie soobshcheniia*, 2010, vol. 19, no. 1-3, pp. 1–11. (in Russ.).
15. Cai Y.Z., Sun M., Wu H., Huang R., Corke H. *Journal Agric Food Chem.*, 1998, vol. 46, pp. 2063–2070.

Received May 25, 2015

Revised June 16, 2015

* Corresponding author.

