



A X-a Conferință Națională multidisciplinară - cu participare internațională,
"Profesorul Dorin PAVEL - fondatorul hidroenergeticii românești",
SEBEȘ, 2010

OBȚINEREA ANTOCIANINELOR PRIN PROCEDEE DE EXTRAȚIE

Andreia VARGA, Violeta POPESCU, George Liviu POPESCU

THE OBTAINING OF ANTHOCYANINS BY EXTRACTION

The paper presents the results obtained by extraction of anthocyanins from red cabbage by different methods (Soxhlet extraction, extraction under microwave irradiation, ultrasonic extraction, extraction by boiling). It presents a method for analysis of extracted compound using VIS spectroscopy. The variation of optical properties of the extract depending on pH is also presented.

Cuvinte cheie: antocianine, procedee de extracție, spectroscopul UV-VIS

1. Introducere

Colorația roșu-violet a multor fructe și legume este determinată de o substanță care derivă dintr-o clasă a flavonoidelor numite antocianine.

Această caracteristică importantă determină consumul mare al fructelor și legumelor care au în compoziția lor această substanță, având un impactul semnificativ pe piață.

De asemenea există un mare interes în ceea ce privește antocianinele datorită efectelor pozitive pe care le au asupra sănătății umane, mai ales protecția pe care o dă organismului uman împotriva radicalilor liberi [1].

2. Aplicații ale antocianinelor

În plante, cele mai răspândite antocianine sunt cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina și petunidina, cu o distribuție în natură de 50 %, 12 %, 12 %, 12 %, 7 % și respectiv 7 %, acestea regăsindu-se aproape exclusiv ca și antocianine [2].

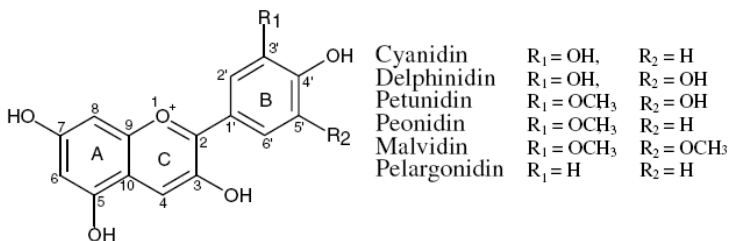


Fig. 1 Structura unei antocianine [2]

Datorită colorației deosebite, antocianinele sunt considerate potențiale substitute pentru coloranții sintetici, acestea fiind solubile în apă apare posibilitatea folosirea lor în industria alimentară.

O serie de cercetări în domeniu indică faptul că antocianinele sunt lipsite de toxicitate și nu produc mutații genetice. Mai mult de atât s-a arătat că acestea au proprietăți terapeutice pozitive, putând menționa efectul antioxidant [3], anti-inflamator, [4] anticancerigen [5], antiviral [6] și proprietăți antibacteriene [7].

Principala substanță care dă colorația roșu-violet a verzei roșii este cianidina [8].

Colorantul din varza roșie este folosit frecvent pentru colorarea băuturilor, a diferitelor dulciuri, a concentratelor uscate, gumelor de mestecat, iaurturilor și sosurilor.

Au fost făcute de asemenea investigații în ceea ce privește folosirea cianidinei ca și indicator schimbător de pH pentru industria farmaceutică [9].

Spre deosebire de majoritatea antocianinelor obținute din fructe, colorantul obținut din varza roșie poate fi folosit pentru a colora mâncarea cu o gamă largă a pH-ului, pornind de la alimente acide sau chiar produse cu pH neutru. Acesta poate de asemenea să înlocuiască coloranții sintetici albaștri [10].

S-a dovedit de asemenea eficacitatea antocianidinelor în protecția împotriva citotoxicității metalelor, ca de exemplu în cazul poluării cu Cd, Pb, Cr.

O altă aplicație a antocianinelor este legată de realizarea unor celule solare în care antocianinele au rol de sensibilizare [11, 12].

Informațiile legate de proprietățile benefice ale antocianidinelor ar trebui să fie larg mediatizate pentru a populariza dietele de detoxifiere și pentru a reduce riscul de apariție a bolilor grave rezultate în urma poluării mediului cu metale grele.

3. Partea experimentală

O primă încercare experimentală a vizat obținerea antocianinelor din varză roșie cu ajutorul aparatului Soxhlet.

Pentru extracție s-au utilizat 60 g de varză roșie într-un aparat Soxhlet de 250 ml, iar extracția a durat 6 ore.

Concentratul din balon s-a filtrat și s-a adus într-un balon cotat de 250 ml cu apă distilată.

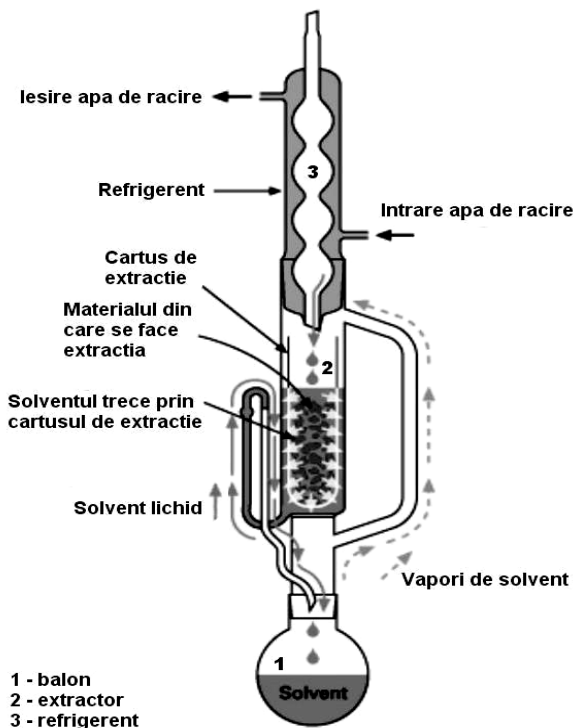


Fig. 2 Extractor Soxhlet

O altă probă s-a obținut tot din varză roșie, dar cu ajutorul microundelor. Astfel, proba a fost introdusă în cuptorul cu microunde timp de 4 minute (2 minute în absența apei și respectiv 2 minute în prezența a 200 ml apă).

S-au mai realizat extracții în baie ultrasonică (Elmasonic S30 H) la diferite temperaturi, în cuptorul cu microunde în absența apei și în prezența apei, prin fierbere și cu aparatul Soxhlet (conform tabelului 1).

În toate experimentele s-au utilizat aceleași cantități de varză ca în experimentul anterior, iar extractul obținut a fost adus cu apă distilată la un volum de 100 ml într-un balon cotat, pentru a fi ulterior supus unor analize pentru determinarea cantității de antocianine obținute.

Tabelul 1

Nr. probă	Mod realizare extracție	Concentrație antocianine [mg/ml]
1	Soluție obținută în baie ultrasonică la 40 °C	0,4659
2	Soluție obținută în baie ultrasonică la 20 °C	0,4716
3	Soluție obținută în baie ultrasonică la 60 °C	1,0093
4	Soluție obținută în baie ultrasonică la 80 °C	1,4703
5	Soluție obținută prin fierbere	2,5546
6	Soluție obținută la microunde (varză 2 minute fără apă + 2 minute cu apă)	3,2709
7	Soluție obținută la microunde 3 minute	2,2944
8	Soluție obținută cu aparatul Soxhlet	1,2992

Extractul de antocianine obținut s-a analizat cu ajutorul spectrometrului UV – VIS LAMBDA 35 producător „Perkin Elmer”, determinarea realizându-se la lungimea de undă fixă corespunzătoare maximului de absorbție. În acest scop s-a determinat anterior spectrul de absorbție în vizibil pentru o probă reprezentativă de extract.

4. Rezultate și discuții

Pentru o determinare semi-cantitativă în vederea evaluării eficienței proceselor de extracție, o parte din proba obținută cu ajutorul aparatului Soxhlet s-a evaporat lent, iar din compusul obținut s-au preparat o serie de probe etalon, cu concentrație cunoscută și s-a ridicat o curbă de etalonare cu ajutorul spectrometrului UV-VIZ. În figura 3 este prezentată curba de etalonare realizată pe baza soluțiilor cu concentrație cunoscută.

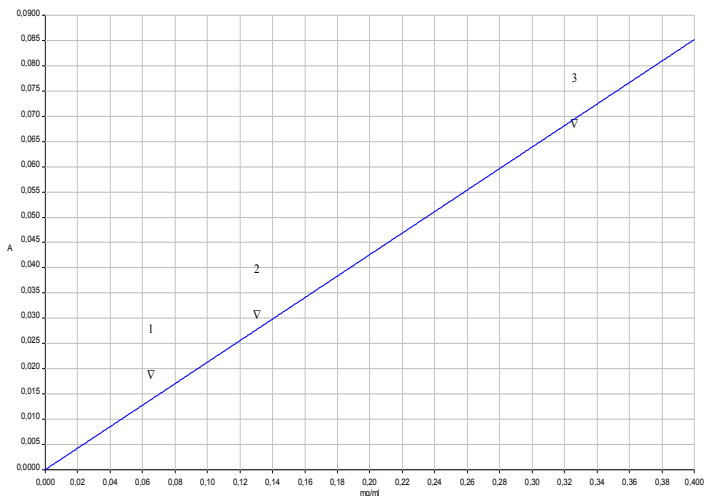


Fig. 3 Curba de etalonare pentru determinarea concentrației antocianinelor

Pe baza curbei de etalonare realizate s-a determinat ulterior spectrofotometric concentrația în cianidină pentru probele prezentate în tabelul 1.

Așa cum se vede din tabelul 1, cea mai eficientă metodă de extracție a fost extracția în câmp de microunde (proba 6), când s-a obținut o concentrație de 3,2709 mg/ml. În acest caz, înainte de adăugarea apei, probele au fost supuse unui tratament cu microunde (în absența apei). Probabil, microundele au determinat spargerea pereților celulari în această etapă și din acest motiv, extracția a fost extrem de eficientă.

Eficiență s-a dovedit și extracția prin simpla fierbere, când s-a obținut o soluție cu o concentrație de 2,5546 mg/ml cianidină.

Pentru o evaluare calitativă a extractelor obținute, s-au determinat spectrele de transmisie în vizibil (figura 4) diluându-se probele dacă a fost necesar. La determinarea spectrelor de absorbție nu s-au făcut corecții de pH. Se remarcă faptul că maximele de absorbție nu se suprapun decât într-o mică măsură. Această deplasare a maximelor de absorbție în cazul unor probe obținute în condiții diferite demonstrează faptul că în funcție de condițiile de realizare a extracției are loc o ușoară modificare a pH-ului extractului, modificare care determină schimbarea ușoară a culorii, respectiv a spectrelor de transmisie în vizibil.

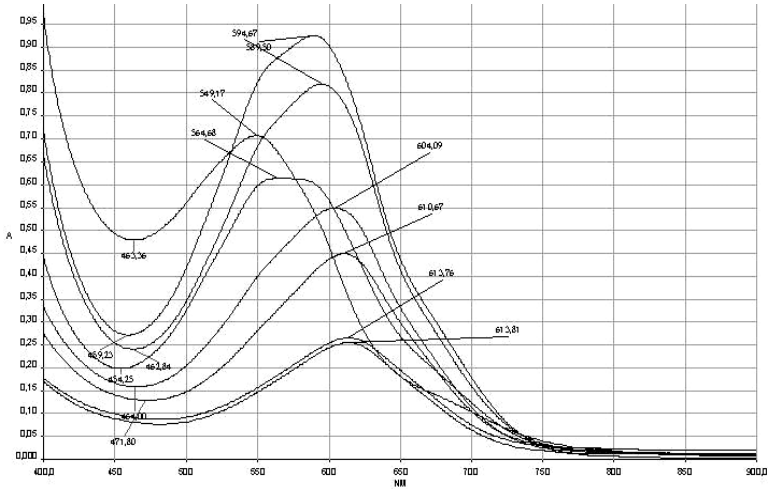


Fig. 4 Spectrele de absorbție în vizibil, pentru extractele obținute

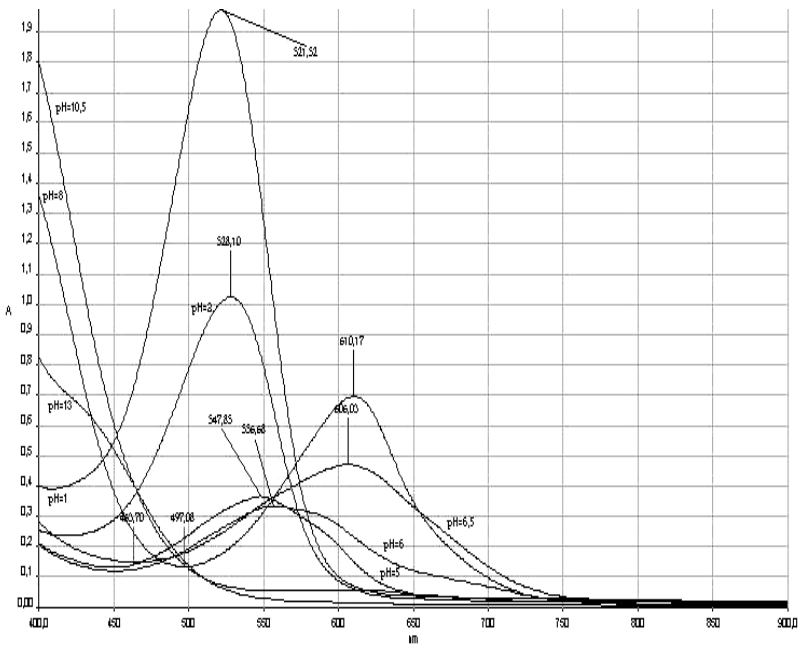


Fig. 5 Determinarea spectrelor de transmisie în vizibil pentru probe de antocianine la pH diferit

Prin acidulare, respectiv alcalinizare s-a preparat o serie de soluții cu pH cunoscut, determinat cu ajutorul hârtiei indicatoare de pH. Pentru soluțiile obținute s-au determinat spectrele de absorbție în vizibil (figura 5).

Se remarcă poziționarea diferită a picurilor de absorbție, așa cum ne-am așteptat, în funcție de pH-ul soluției care influențează culoarea acestora.

5. Concluzii

■ Cea mai eficientă metodă de extracție a antocianinelor din varza roșie a fost extracția în prezența microundelor, când s-a obținut o concentrație a cianidinei de 3,2709 mg/ml.

■ S-a arătat de asemenea dependența spectrelor de absorbție în vizibil de pH-ul soluțiilor obținute.

BIBLIOGRAFIE

- [1] Rossetto, M., Vanzani, P., Mattivi, F., Lunelli, M., Scarpa, M., & Rigo, A. *Synergistic antioxidant effect of catechin and malvidin 3- glucoside on free radical-initiated peroxidation of linoleic acid in micelles*. Archives of Biochemistry and Biophysics, 408(2), 2002, pag. 239–245.
- [2] Zhang, Y, Vareed, S.K, Nair, M.G. *Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables*. Life Sci 76, 2005, pag. 1465–1472.
- [3] Wang, C.J., Wang, J.M., Wea, L.L., Chia, Y.C., Chou, F.P., Tseng, T.H., *Protective effect of hibiscus anthocyanins against tertbutyl hidroperoxide-induced hepatic toxicity in rats*. Food and Chemical Toxicology, 38(5), 2000, pag. 411–416.
- [4] Tall, J.M., Seeram, N.P., Zhao, C., Nair, M.G., Meyer, R.A., Raja, S.N., *Tart cherry anthocyanins suppress inflammation-induced pain behavior in rat*. Behavior Brain Research, 153(1), 2004, pag. 181–188.
- [5] Hagiwara, A., Miyashita, K., Nakanishi, T., Sano, M., Tamano, S., Kadota, T., *Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn colour, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo4,5-bipyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine*. Cancer Letters, 171(1), 2001, pag. 17–25.
- [6] Kapadia, G.J., Balasubramanian, V., Tokuda, H., Washina, A., Nishino, H., *Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13- acetate induced Epstein virus early antigen activation by natural colorants*. Cancer Letters, 115(2), 1997, pag. 173–178.

- [7] Baydar, N.G., Ozkan, G., Sagdic, O., *Total phenolic contents and antibacterial activities of grape Vitis vinifera L. extracts*. Food Control, 15(5), 2004, pag. 335–339.
- [8] Hrazdina, G., Iredale, H., Mattick, L.R., *Anthocyanin composition of Brassica oleracea cv. Red Danish*. Phytochemistry, 16, 1977, pag. 297.
- [9] Chigurupati, N., Saiki, L., Gayser, Ch. Jr., Dash, A.K., *Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use*. International Journal of Pharmaceutics, 241, 2002, pag. 293–299.
- [10] Dyrby, M., Westergaard, N., Stapelfeldt, H., *Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems*. Food Chemistry, 72, 2001, pag. 431–437.
- [11] Cherepy, N.J., Smestad, G.P., Grätzel, M., Zhang, J.Z., *Ultrafast Electron Injection: Implications for a Photoelectrochemical Cell Utilizing an Anthocyanin Dye-Sensitized TiO₂ Nanocrystalline Electrode*, J. Phys. Chem. B, 101(45), 1997, pag. 9342–9351.
- [12] Dai, Q., Rabani, J., *Photosensitization of nanocrystalline TiO₂ films by anthocyanin dyes*, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 148(1-3), 2002, pag. 17-24.

Stud. Andreia VARGA
Universitatea Tehnică din Cluj-Napoca
andreaia28_8varga@yahoo.com

Prof.Dr.Ing. Violeta POPESCU
Universitatea Tehnică din Cluj-Napoca, membru AGIR,
e-mail: violeta.popescu@chem.utcluj.ro

Ing. George Liviu POPESCU
Universitatea Tehnică din Cluj-Napoca, membru AGIR
e-mail: georgepopescu60@gmail.com