УДК 663.052

ПЛОДЫ ДЕРЕЗЫ (*LYCIUM BARBARUM L.*) – ПЕРСПЕКТИВНОЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЗЕАКСАНТИНА (E161h)

Е.С. Терешкова[1,*], Е.С. Баташов[1,2], В.П. Севодин[1]

[1]Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», 659305, Россия, г. Бийск, ул. Трофимова, 27

[2]ЗАО «Алтайвитамины», 659325, Россия, г. Бийск, ул. Заводская, 69

**e-mail: katusha_tereshkova@mail.ru*

Дата поступления в редакцию: 02.09.2015
Дата принятия в печать: 21.10.2015

Ксантофиллы лютеин и зеаксантин используются в настоящее время в офтальмологических препаратах для профилактики возрастной дегенерации сетчатки глаз и катаракты. Известно, что ксантофиллы поступают в организм человека прежде всего с растительной пищей или пищевыми добавками, полученными из растительного или микробного сырья, а также их могут получать путем химического синтеза. Источником лютеина служат цветки бархатцев (*Tageteserecta L.*), которые относятся к распространенным растениям. Зеаксантин является менее доступным, чем лютеин, поэтому поиск новых источников с высоким содержанием этого ксантофилла является актуальным. К растениям, накапливающим зеаксантин и его эфиры, относятся плоды дерезы (*Lycium Barbarum L.*), известные в китайской медицине как ягода годжи. Зеаксантин в ягоде находится в основном в этерифицированной форме, в виде зеаксантина дипальмитата. В результате исследований получены водо- и жирорастворимый экстракты из сухих ягод годжи (плоды дерезы, *Lycium Barbarum L.*). Описаны условия хроматографического анализа методами тонкослойной хроматографии (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), а также препаративного выделения зеаксантина методом колоночной хроматографии на оксиде алюминия. Сняты ультрафиолетовые (УФ) спектры образцов. Видно, что максимумы поглощения стандарта зеаксантина и образца, полученного из ягод годжи, совпадают. Подобраны оптимальные условия для проведения омыления. Содержание ксантофилла в экстрактах составляет: до омыления 13,5 мг/100 г, после омыления 62 мг/100 г, в очищенном 44 мг/100 г. Водный экстракт ягоды может использоваться как сырье для получения биологически активных веществ (БАВ), применяться в качестве биологически активной добавки (БАД), а также для создания сбалансированных по ксантофиллам препаратов.

Ягоды годжи, плоды дерезы, *Lycium Barbarum L.*, зеаксантин E161h, зеаксантин дипальмитат, ксантофиллы, каротиноиды

Введение

Каротиноиды имеют важное значение для нормального функционирования организма человека. Так, β-каротин – провитамин А в результате ряда биохимических превращений расщепляется на две молекулы ретинола – витамина А, участвующего в процессе зрения. Без витамина А не протекает биосинтез светочувствительного пигмента родопсина в палочках сетчатки глаза. Ретинол образуется в организме человека также в результате трансформации α-каротина и некоторых ксантофиллов, хотя последние способны образовывать его значительно меньше, чем β-каротин [1].

Ксантофиллы, прежде всего лютеин (β, ε-каротин-3, 3-диол) и зеаксантин (β, β-каротин-3, 3-диол), являются поглотителями ультрафиолетового света и антиоксидантами первого порядка. Обладают защитным действием в отношении таких заболеваний глаз, как возрастная макулярная дегенерация сетчатки и катаракта [2, 3].

Известно, что каротиноиды поступают в организм человека прежде всего с растительной пищей или пищевыми добавками, полученными из растительного или микробного сырья, а также путем химического синтеза. Установлено, что соотношение лютеина (E161b) и зеаксантина (E161h) 4:1 является оптимальным [4] при создании продуктов и кормов, обогащенных этими пищевыми добавками.

Лютеин используется для окрашивания пищевых продуктов. Источником этого ксантофилла служат цветки бархатцев (*Tageteserecta L.*), в которых он находится в виде дипальмитата. Последний также используется в качестве пищевого красителя под названием экстракт бархатцев (хеленин).

Зеаксантин менее доступен, чем лютеин, особенно в чистом виде или в виде концентрата с большим его содержанием. В этой связи подбор сырья, в котором зеаксантин или зеаксантина дипальмитат содержится в качестве основных ксантофиллов, имеет важное значение для создания пищевых добавок для профилактики заболеваний глаз.

К растениям, накапливающим зеаксантин и его эфиры, относятся плоды дерезы (*Lycium Barbarum*), известные в китайской медицине как ягода годжи. Зеаксантин в ягоде находится в основном в этерифицированной форме, в виде зеаксантина дипальмитата (рис. 1).

Цель – разработка технологии получения водо- и жирорастворимого экстрактов из ягоды годжи.

Для достижения цели необходимо решить следующие задачи:

– получение водного экстракта и определение его группового состава;

– выделение дипальмитата зеаксантина из жома ягоды годжи;

– качественное и количественное определение зеаксантина с помощью ТСХ, ВЭЖХ, УФ методов;

– оценка потенциальной возможности использования ягоды годжи для получения препаратов, сбалансированных по ксантофиллам.

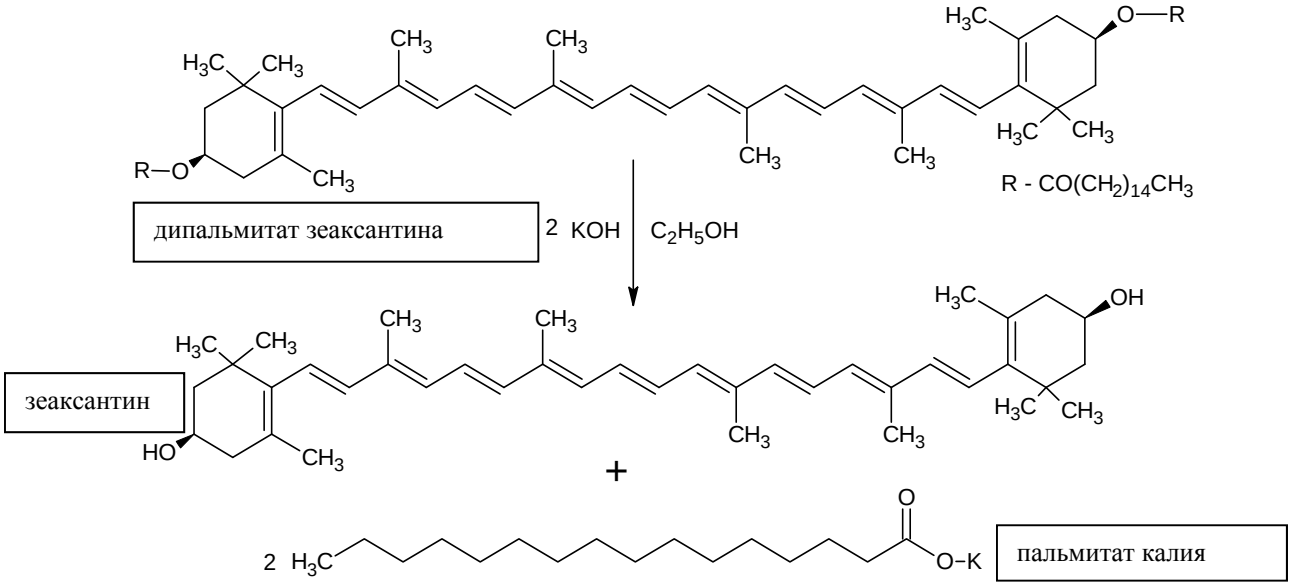


Рис. 1. Реакция омыления зеаксантина диапальмитата

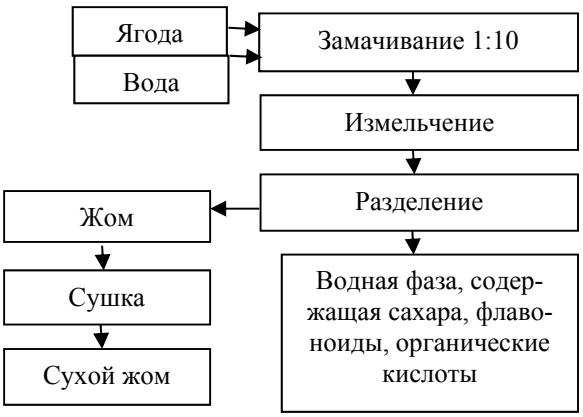


Рис. 2. Схема получения водного экстракта из ягод годжи

Получение экстракта зеаксантина

Стадия омыления является ключевой. Были проведены эксперименты с различной:

- концентрацией водного раствора щелочи (30, 50, 70);

- с нагревом до 70 °С и при комнатной температуре;

- продолжительностью омыления (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ч).

Полноту омыления зеаксантина отслеживали на двухлучевом спектрофотометре Shimadzu UV-1800. На основании результатов анализа количества каротиноидов полученных образцов препаратов зеаксантина определены следующие рациональные условия его выделения.

Для получения зеаксантина высушенный после водной экстракции жом подвергали дробной экстракции гексаном в соотношении 1:3. Гексановый экстракт после отделения от шрота, упаривали до удаления растворителя. Остаток растворяли в 96%-м этиловом спирте в соотношении 1:10. Полученный спиртовой раствор обрабатывали 50%-м водным раствором гидроксида калия в соотношении 1:1. Реакцию проводили в емкости из оранжевого стекла в темноте при комнатной температуре в течение 6 ч. Затем добавляли диэтиловый эфир 1:2, отделяли эфирный экстракт, промывали его водой до нейтральной реакции и упаривали. Выделение зеаксантина проводили на окиси алюминия. Схема представлена на рис. 3.

Рис. 3. Схема получения экстракта зеаксантина

Результаты и их обсуждение

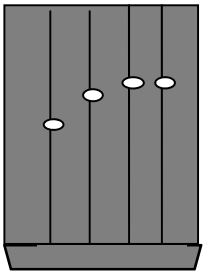
Получен водный экстракт ягоды годжи и определен его групповой состав. Результаты представлены в табл. 1.

Для контроля за ходом омыления зеаксантина дипальмитата и хроматографического разделения на колонке с окисью алюминия был подобран элюент для разделения дипальмитата зеаксантина и зеаксантина методом восходящей тонкослойной хроматографии (рис. 4).

Таблица 1

Содержание БАВ в водном экстракте

Показатель	Значение, в % в пересчете на сухие вещества
Сахара	22,00
Органические кислоты	4,10
Флавоноиды	1,90



1. Образец до омыления Rf = 0.52
2. Образец после омыления Rf = 0.58
3. Стандарт зеаксантина Rf = 0.60
4. Зеаксантин очищенный Rf = 0.60

Рис. 4. Хроматограмма

После разделения на окиси алюминия был записан УФ-спектр образца (рис. 5). Из сравнения спектров видно, что максимумы поглощения стандарта зеаксантина и образца, полученного из ягод годжи, совпадают. Максимумы поглощения при 476 и 448,5 нм.

Для подтверждения чистоты экстрактов и количественного определения был проведен анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

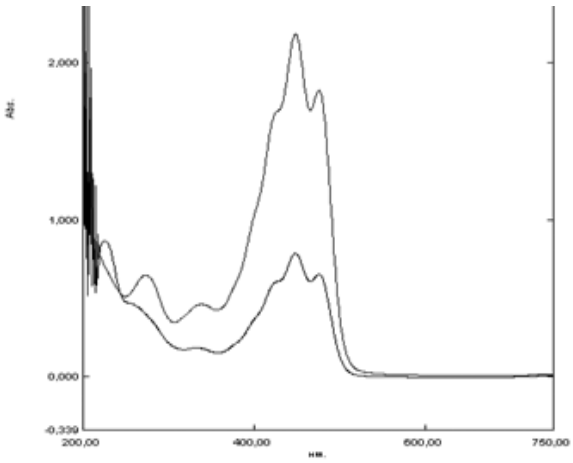


Рис. 5. УФ-спектр очищенного образца (1) и стандарта зеаксантина (2)

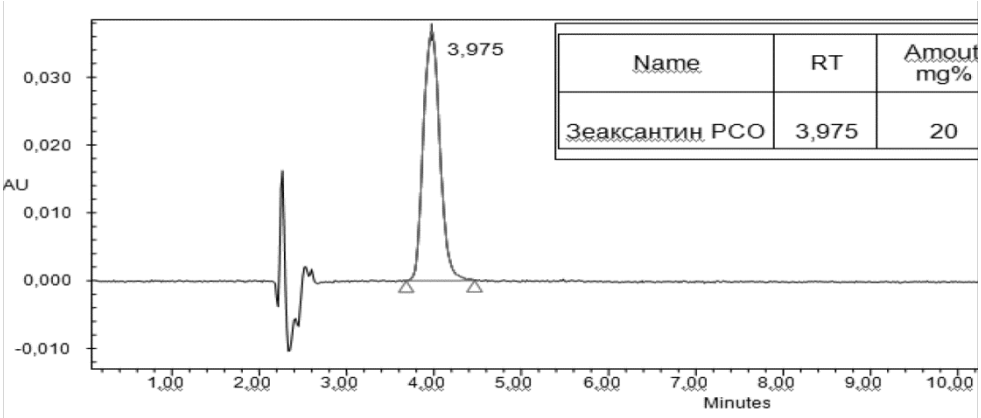


Рис. 6. Хроматограмма стандарта зеаксантина

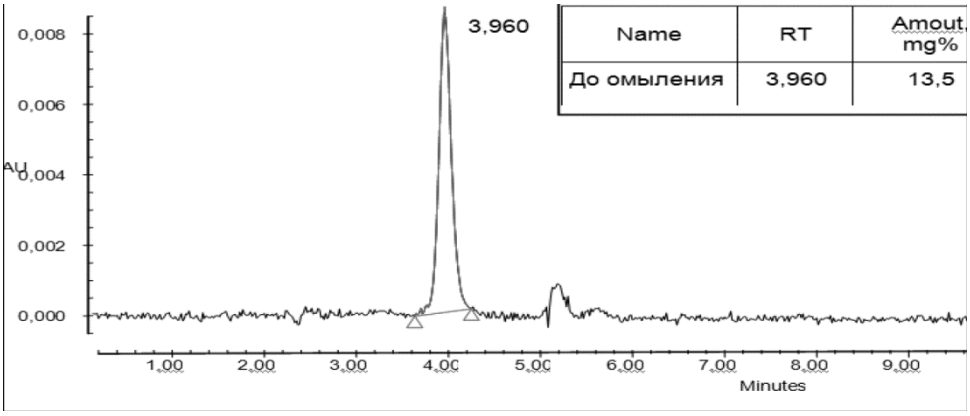


Рис. 7. Хроматограмма образца до омыления

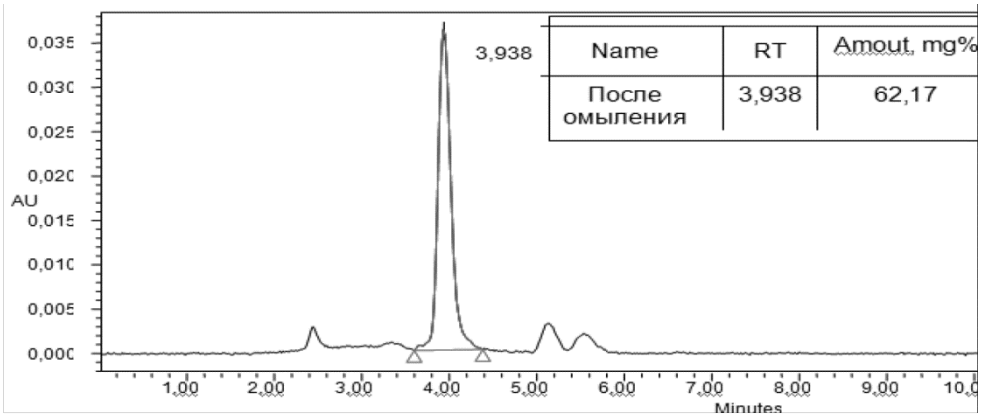


Рис. 8. Хроматограмма образца после омыления

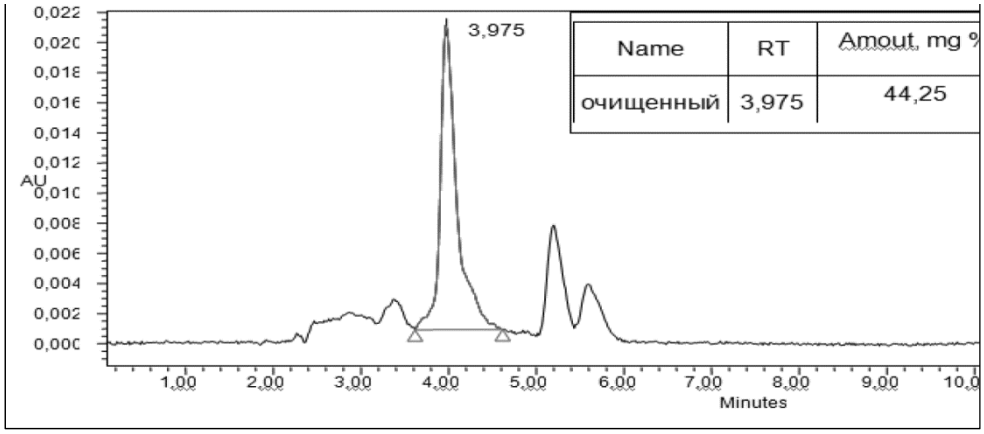


Рис. 9. Хроматограмма очищенного образца

По результатам ВЭЖХ можно сказать о содержании зеаксантина в каждом экстракте: до омыления 13,5 мг%, после омыления 62,17 мг%, в очищенном образце 44,25 мг%. Так как время удерживания стандартного образца совпадает со временем очищенного, можно говорить об идентификации и чистоте зеаксантина, так как это очень чувствительный метод.

Таким образом, по данной работе можно сделать следующие выводы.

1. Разработан метод выделения дипальмитата зеаксантина из ягоды годжи.

2. Подобраны оптимальные условия для проведения омыления зеаксантина дипальмитата (гидроксид калия водный 50 %; время омыления 6 ч, в темном месте, в посуде из оранжевого стекла; без дополнительного подогрева).

3. Проведена идентификация зеаксантина в экстрактах с помощью ТСХ, ВЭЖХ и УФ методов.

4. Содержание зеаксантина в экстрактах составляет: до омыления 13,5 мг%, после омыления 62 мг%, в очищенном 44 мг%.

5. Водный экстракт ягоды может использоваться как сырье для получения БАВ или использоваться в качестве БАД.

6. Экстракт, содержащий зеаксантин, может использоваться для создания сбалансированных по ксантофиллам препаратов.

7. Шрот, оставшийся после экстракции, может идти на корм животным, так как содержит пищевые волокна.

Список литературы

1. Промышленная микробиология / под ред. Н.С. Егорова. – М.: Высш. шк., 1989. – С. 317–320.

2. Weller P., Breithaupt D. E. Identification and quantification of zeaxanthin esters in plants using liquid chromatography-mass spectrometry. Food Chem. 2003, 51(24):7044-7049.

3. Печинский, С.В. Контент-анализ номенклатуры субстанций и лекарственных препаратов, содержащих каротиноиды / С.В. Печинский, А.Г. Куреган, И.Н. Зилфикаров // Научные ведомости. – 2013. – № 22(2). – С. 26–31.

4. Дайнека, В.И. Спектральный и хроматографический анализ ксантофиллов в различных растительных добавках и их влияние на накопление лютеина и зеаксантина в желтке яиц // Научные ведомости. – 2010. – № 21(92). – С. 141–148.

5. Курегян, А.Г. Способ получения каротиноидов из растительного сырья // Современная медицина: актуальные вопросы: материалы междунар. заоч. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2013 – С. 13–18.

6. Ананьева, А.Р. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1 / А.Р. Ананьева. – М.: Медицина, 1987. – 335 с.

THE FRUITS OF GOJI (*LYCIUM BARBARUM L.*) ARE A PROMISING RAW MATERIAL FOR PRODUCTION OF ZEAXANTHIN (E 161H)

E.S. Tereshkova[1,*], E.S. Batashov[1,2], V.P. Sevodin[1]

[1]Biysk Technological Institute (branch),
Altai State Technical University named after I.I. Polzunova,
27, Trophimova Str., Biysk, 659305, Russia

[2]JSC "Altayvitaminy",
69, Zavodskaya Str., Biysk, 659325, Russia

**e-mail: katusha_tereshkova@mail.ru*

Received: 02.09.2015
Accepted: 21.10.2015

Nowadays the xanthophylls lutein and zeaxanthin are used, in ophthalmic preparations for the prevention of age-related degeneration of the retina and cataracts. It is known that the carotenoids enter the body with plant foods or food additives derived from plant or microbial raw materials. They can be also obtained by means of chemical synthesis. Lutein is used in food industry as a colorant. Its source are the flowers of marigold (*Tageteserecta L.),* which is are a common plant. Zeaxanthin is less available than lutein, so the search for new sources with a high content of xanthophyll is relevant. The plants, accumulating zeaxanthin and its esters are the fruits of Goji (*Lycium Barbarum L.*), known in Chinese medicine as the Goji berry. In the berries zeaxanthin is present mostly in the esterified form, in the form of zeaxanthin dipalmitate. Water- and oil-soluble extracts of dried Goji berries (fruit of Wolfberry, *Lycium Barbarum L.*) have been obtained as a result of the experiment. The conditions of the chromatographic analysis were described with a thin layer chromatography (TLC) method and a high performance liquid chromatography (HPLC) method, and with the preparative separation of zeaxanthin with the method of column chromatography on aluminium oxide. Ultraviolet (UV) spectra of the samples obtained show that the absorption maximum of zeaxanthin standard and that of the sample obtained from the berries of Goji are the same. The optimum conditions to carry out saponification have been established. The content of xanthophyll in extracts is 13.5 mg/100 before saponification, 62 mg/100 g after saponification, 44 mg/100 g in purified ones. An aqueous extract of the berries can be used as a raw material for obtaining biologically active substances (BAS) or can be used as biologically active additives (BAA). It can be used to create a balanced xanthophyll drugs as well.

Goji berries, Wolfberry fruits, *Lycium Barbarum L.*, zeaxanthin E 161h, zeaxanthin dipalmitate, xanthophylls, carotenoids

References

1. Egorova N.S. *Promyshlennaya mikrobiologiya* [Industrial Microbiology]. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 1989. 320 p.

2. Weller P., Breithaupt D.E. Identification and quantification of zeaxanthin esters in plants using liquid Chromatography-mass spectrometry. *Food Chem.*, 2003, no. 51(24), pp. 7044–7049.

3. Pechinskiy S.V., Kuregan A.G., Zilfikarov I.N. Kontent-analiz nomenklatury substantsiy i lekarstvennykh preparatov, soderzhashchikh karotinoidy [Content analysis of the item's substances and pharmaceutical preparations containing carotenoids]. *Nauchnye vedomosti* [Scientific Statements], 2013, vol. 22, no. 2, pp. 26–31.

4. Dayneka V.I. Spektral'nyy i khromatograficheskiy analiz ksantofillov v razlichnykh rastitel'nykh dobavkakh i ikh vliyanie na nakoplenie lyuteina i zeaksantina v zheltke yaits [Spectral and chromatographic analysis of xanthophylls in various herbal supplements and their effect on the accumulation of lutein and zeaxanthin in egg yolk]. *Nauchnye vedomosti* [Scientific Statements], 2010, vol. 21, no. 92, pp.141–148.

5. Kuregyan A. G. Sposob polucheniya karotinoidov iz rastitel'nogo syr'ya [The method of obtaining carotenoids from plant material]. *Materialy mezhdunarodnoy zaochnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Sovremennaya meditsina: aktual'nye voprosy»* [Proc. of the International extramural scientific and practical conference "Modern medicine: topical issues"]. 2013, pp. 13–18.

6. Anan'eva, A.R. *Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR. Vypusk 1* [The State pharmacopoeia of the USSR. Issue 1]. Moscow, Meditsina Publ., 1987, 335p.

Дополнительная информация / Additional Information

Терешкова, Е.С. Плоды дерезы (*Lycium barbarum L.)* – перспективное сырье для получения зеаксантина (E161h) / Е.С. Терешкова, Е.С. Баташов, В.П. Севодин // Техника и технология пищевых производств. – 2015. – Т. 39. – № 4. – С. 93–98.

Tereshkova E.S., Batashov E.S., Sevodin V.P. The fruits of goji (*Lycium barbarum L.*) are a promising raw material for production of zeaxanthin (E 161H). *Food Processing: Techniques and Technology*, 2015, vol. 39, no. 4, pp. 93–98 (In Russ.)

Терешкова Екатерина Сергеевна
студент кафедры «Биотехнология», Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», 659305, Россия, Алтайский край, г. Бийск, ул. Трофимова, 27, e-mail: katusha_tereshkova@mail.ru

Баташов Евгений Сергеевич
преподаватель кафедры «Биотехнология», Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», 659305, Россия, Алтайский край, г. Бийск, ул. Трофимова, 27; руководитель центра по развитию, ЗАО «Алтайвитамины», 659325, россия, г. Бийск, ул. Заводская, 69, тел.: +7 (3854) 32-69-43

Севодин Валерий Павлович
канд. хим. наук, профессор кафедры «Биотехнология», декан факультета «Химическая технология и машиностроение», Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», 659305, Россия, Алтайский край, г. Бийск, ул. Трофимова, 27, тел.: +7 (3854) 43-22-85

Ekaterina S. Tereshkova
Student of the Department of Biotechnology, Biysk Technological Institute (branch), Altai State Technical University named after I.I. Polzunova, 27, Trophimova Str., Biysk, 659305, Russia, e-mail: katusha_tereshkova@mail.ru

Evgeniy S. Batashov
lecturer of the Department of Biotechnology, Biysk Technological Institute (branch), Altai State Technical University named after I.I. Polzunova, 27, Trophimova Str., Biysk, 659305, Russia; Head of the Center for Development, JSC «Altayvitaminy», 69, Zavodskaya Str., Biysk, 659325, Russia, phone: +7 (3854) 32-69-43

Valeriy P. Sevodin
Cand.Sci.(Chem.), Professor of the Department of Biotechnology, Dean of the Faculty of Chemical Technology and Mechanical Engineering, Biysk Technological Institute (branch), Altai State Technical University named after I.I. Polzunova, 27, Trophimova Str., Biysk, 659305, Russia, phone: +7 (3854) 43-22-85