

Оригинальная статья / Original article

УДК 54.056: 547.814.5

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-691-699>



Некоторые закономерности экстракции антоцианов из растительных источников

© Я.Ю. Саласина, Д.А. Калинкин, В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека

Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
г. Белгород, Российская Федерация

Резюме: Работа посвящена определению закономерностей экстракции антоцианов из различных растительных источников в некоторых экстрагентах. Для экстракции использовали свежий растительный материал: корнеплоды фиолетовой моркови, корнеплоды фиолетового картофеля сорта Аметист, свежие плоды аронии Мичурина, плоды паслена садового, плоды кизила обыкновенного, чернику и краснокочанную капусту, а также высушенные лепестки пиона. Экстракцию осуществляли настаиванием растительного материала в избранном экстрагенте (оставляли на ночь). Концентрацию антоцианов определяли спектрофотометрическим методом. Показано, что 0,1 М водный раствор HCl является эффективным и экологически безопасным экстрагентом, позволяющим осуществлять экстракцию антоцианов из многих объектов. При значениях кислотности среды больше 1 возможны значительные потери антоцианов: 5–45% – при pH = 2; 33–88% – при pH = 3; 41–92% – при экстракции дистиллированной водой. Ацилирование не способствует росту степени экстрагирования антоцианов. Добавки органических растворителей (этанола, ацетонитрила и глицерина) в ряде случаев позволяют существенно ускорить экстракцию антоцианов, особенно в случае плодов кизила обыкновенного. Влияние экстрагента на степень экстрагирования нивелируется для измельченного материала. Приведены данные по сольватохромному эффекту, влияющему на спектральные характеристики растворов некоторых антоцианов. Показано, что сдвиг максимума полосы поглощения велик в случае неацилированных антоцианов и уменьшается для ацилированных соединений, по всей вероятности, вследствие внутримолекулярной копигментации ацилированных антоцианов в водных растворах. Отмечено, что при определении концентрации антоцианов в растворителях с различной концентрацией органической добавки необходимо учитывать сольватохромный эффект. Показано, что добавка органического растворителя приводит не только к смещению максимумов полос поглощения, но и к значительным гиперхромным эффектам. При игнорировании этого эффекта погрешности в определении антоцианов могут превысить 70%. Предложен простой и эффективный способ учета указанных эффектов по схеме перекрестных разбавлений. Таким образом, экспериментально обоснован выбор экстрагентов для эффективной экстракции антоцианов из некоторых видов растительного сырья и предложен метод оценки сольватохромных эффектов.

Ключевые слова: антоцианы, экстракция, влияние pH, сольватохромные эффекты, способ учета

Для цитирования: Саласина Я.Ю., Калинкин Д.А., Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Некоторые закономерности экстракции антоцианов из растительных источников. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 4. С. 691–699. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-691-699>

Some regularities in the process of anthocyanin extraction from vegetable sources

Yaroslava Yu. Salasina, Danila S. Kalinikin, Viktor I. Deineka, Lyudmila A. Deineka

Belgorod National Research University,
Belgorod, Russian Federation

Abstract: This work investigates regularities in the process of extracting anthocyanins from various plant sources in the medium of extractants. For extraction, fresh plant samples were used, including the roots of purple carrots, roots of purple potatoes of the Amethyst variety, fresh fruits of Michurin's aronia, fruits of the garden nightshade, comelian cherries, blueberries and red cabbage, as well as dried peony petals. The extraction was carried out by infusing the plant material under study in a selected extractant (left overnight). The concentration of anthocyanins was determined spectrophotometrically. It was shown that a 0.1 M aqueous solution of HCl is an effective and environmentally friendly extractant allowing for the extraction of anthocyanins from various sources. Provided that the medium acidity is greater than 1, significant losses of

anthocyanins are possible: 5–45% at pH = 2; 33–88% at pH = 3; 41–92% when extracted with distilled water. Acylation does not contribute to an increase in the degree of anthocyanin extraction. The addition of organic solvents (ethanol, acetonitrile and glycerin) can significantly accelerate the anthocyanin extraction in some cases, which is particularly true for cornelian cherries. When using crushed material, the influence of the extractant on the degree of extraction is minimal. Information is presented on the solvatochromic effect, which affects the spectral characteristics of some anthocyanin solutions. It was shown that the shift of the absorption band maximum is the greatest for non-acylated anthocyanins, while decreasing for acylated compounds. The latter is most likely to be associated with the intramolecular copigmentation of acylated anthocyanins in aqueous solutions. When determining the concentration of anthocyanins in solvents with different concentrations of organic additives, the solvatochromic effect should be taken into account. The addition of an organic solvent leads not only to a shift in the absorption band maxima, but also to significant hyperchromic effects. If this effect is ignored, errors in determination of anthocyanins can exceed 70%. This paper proposes a simple and effective approach to considering these effects using a cross-dilution scheme. Therefore, the choice of extractants for efficient anthocyanin extraction from various plant raw materials was experimentally substantiated, and a method for evaluating solvatochromic effects was proposed.

Keywords: anthocyanins, extraction, pH influence, solvatochromic effects, accounting method

For citation: Salasina YYu, Kalinikin DA, Deineka VI, Deineka LA. Some regularities in the process of anthocyanin extraction from vegetable sources. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(4):691–699. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-691-699>

ВВЕДЕНИЕ

Антоцианы как подкласс обширного класса флавоноидов – это вещества, хорошо растворимые в воде, существующие в нескольких pH-зависимых формах, часть которых окрашена [1, 2]. Высокая антиоксидантная активность антоцианов [2, 3] и красящая способность [4] позволяют рассматривать эти соединения как природные антиоксиданты и красители для пищевой и медицинской промышленности. Природные антоцианы являются гликозидами антоцианидинов, синтезируемых в плодах, цветках, листьях и других частях многих растений [5], поэтому для их извлечения из растительных источников на первом этапе необходима экстракция. Существуют различные технологии экстракции антоцианов из растительного сырья, представленные, например, в работах [6–9]. Антоцианы нерастворимы в неполярных органических растворителях, поэтому базовые компоненты экстрагентов – вода, смешивающиеся с водой органические растворители и подкислитель. Подкислитель добавляется для перевода различных форм антоцианов в самую устойчивую флавилиевую форму (I) (рис. 1). В качестве подкислителя можно использовать минеральные кислоты, чаще всего используют соляную кислоту, добавки которой (до pH ≤ 1) обеспечивают условия для существования антоцианов только во флавилиевой форме. При этом подавляется и реакция гидратации антоцианов до не отличающихся устойчивостью бесцветных псевдооснований (II), которые легко превращаются в слабоокрашенные *цис*-халконную (III) и далее – в *транс*-халконную (IV) формы (см. рис. 1).

Одна из важных функций добавок органических растворителей – исключение экстракции полимерных и олигомерных гидрофильных сое-

динений, из-за которых возможны проблемы при хранении и использовании антоцианов. В качестве основных органических растворителей используют этанол и метанол, но известно использование и других растворителей, в том числе ацетона [10], некоторых одноатомных спиртов [11, 12], глицерина [13, 14].

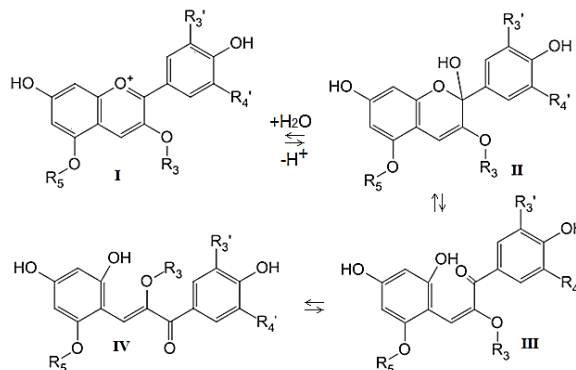


Рис. 1. Схема одного из направлений превращения антоцианов с повышением pH

Fig. 1. One of the directions of anthocyanins conversion with increasing pH

При сравнении экстракционной эффективности органических добавок возникает проблема сопоставления концентрации антоцианов из-за сольватохромного эффекта, приводящего не только к смещению максимумов полос поглощения [15], но и к изменению коэффициентов экстинкции, которые для многих систем не известны. Поэтому нашей целью являлась разработка подхода, позволяющего сопоставлять коэффициенты экстинкции антоцианов в растворителях любых составов и методы экстракции антоцианов, подкисленных водными и водно-органическими смесями.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали свежие корнеплоды фиолетовой моркови (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.), свежие корнеплоды картофеля сорта Аметист с фиолетовой мякотью, свежие плоды аронии Мичурина (*Aronia mitchurinii* Skvortsov & Maitul), плоды паслена садового (*Solanum retroflexum* Dunal.), выращенные в г. Белгород, а также плоды кизила обыкновенного (*Cornus mas* L.), черники (*Vaccinium myrtillus* L.) и краснокочанную капусту (*Brassica oleracea* var. *capitata* F. *rubra*), приобретенные на рынке г. Белгорода, и высушенные лепестки пиона.

Для приготовления экстрагентов использовали дистиллированную воду, этанол, ацетонитрил, глицерин, соляную кислоту.

Экстракцию выполняли в статических условиях настаиванием смеси растительного материала и экстрагента в течение 12 ч. Экстракты отделяли от остатка фильтрованием через бумажный фильтр на воронке Бюхнера под вакуумом.

Электронные спектры поглощения записывали в кварцевых кюветках на спектрофотометре Shimadzu UV 2550 при pH = 1 без поправок на абсорбцию «полимерных» антоцианов. При расчетах использовали пересчет на цианидин-3-глюкозид хлорид с $\epsilon = 26900 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [16].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В большинстве опубликованных работ, к сожалению, при сопоставлении экстрагирующей способности различных растворителей используется только однократная экстракция. Но при отсутствии данных по исчерпывающей экстракции невозможно оценить эффективность экстрагентов. В этом отношении важен результат первой экстракции, но только на фоне результатов экспериментов по исчерпывающей экстракции. Рассмотрим несколько важных параметров экстрагентов.

Водные растворы соляной кислоты являются не только наиболее простыми по составу экстрагентами, но и могут быть отнесены к так называемым «зеленым» технологиям, не наносящим вреда окружающей среде. Но при этом возникает вопрос о значимости pH водного экстрагента для сохранности экстрагируемых антоцианов вследствие возможных превращений, представленных на схеме 1. Возможное различие в результатах использования воды может быть

следствием подкисления экстракта органическими кислотами, присутствующими в образцах, уровень биосинтеза которых может сильно зависеть даже от сорта в пределах одного и того же вида растения.

В экспериментах использовали водные растворы HCl с концентрациями 0,1 М, 0,01 М, 0,001 М и водные растворы без добавок кислоты. Последовательные порции трех различных источников антоцианов, получаемые его настаиванием в течение 12 часов, объединяли перед определением концентрации антоцианов. В фиолетовой моркови по нашим данным содержатся основные два антоциана – цианидин-3-гексозилпентозилгексозид, ацилированный феруловой кислотой и без ацилирования. В корнеплодах фиолетового картофеля обнаружены 3-рутинозид-5-глюкозиды трех метилированных антоцианидинов (петунидина, пеонидина и мальвидина), ацилированные пара-кумаровой и феруловой кислотами. Антоцианы плодов аронии Мичурина образованы неацилированными гликозидами цианидина. При выборе объектов исследования руководствовались информацией о большей устойчивости ацилированных антоцианов по сравнению с неацилированными [17]. Экстракцию продолжали до достижения практически бесцветного экстракта на последней стадии. Перед измерением оптической плотности во всех полученных экстрактах pH (при разбавлении) доводили до 1. Полученные результаты для суммы экстрактов всех стадий представлены в табл. 1.

Как следует из представленных данных, понижение концентрации кислоты ниже 0,1 М нежелательно вследствие падения выхода антоцианов, причем роль стабилизации антоцианов ацилированием не всегда проявляется – наибольшие потери при экстракции водой без подкисления получены для полностью ацилированных антоцианов корнеплодов фиолетового картофеля. Следует также учесть, что могут срабатывать собственные ферментные системы растения, разрушающие антоцианы. Так, например, по нашему опыту, антоцианы из цветков цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) быстро разрушаются после сбора лепестков, поэтому для предотвращения потерь антоцианов требуется немедленное помещение их в 0,1 М водный раствор HCl. Аналогично, красные незрелые ягоды калины гордовины (*Viburnum lantana* L.) вне раствора кислоты быстро (за 2-3 часа) становятся мягкими и черными, из которых антоцианы уже не экстрагируются.

Таблица 1. Зависимость концентрации антоцианов в экстракте от концентрации HCl в водных растворах (n = 2)
Table 1. Relationship between anthocyanin concentration in extracts and HCl concentration in water solutions (n = 2)

Концентрация HCl	Морковь		Картофель		Арония	
	с, г/100 г	%	с, г/100 г	%	с, г/100 г	%
0,1	0,225±0,002	100	0,114±0,001	100	0,845±0,003	100
0,01	0,183±0,007	81	0,062±0,006	55	0,553±0,003	95
0,001	0,151±0,007	67	0,013±0,001	12	0,273±0,006	47
0	0,124±0,008	59	0,009±0,001	8	0,258±0,017	44

Добавка органического растворителя обычно осуществляется тогда, когда желают увеличить растворимость веществ, но в случае антоцианов, находящихся в кислой среде в виде положительно заряженных ионов флавилия в этом нет необходимости. Даже антоцианы дважды ацилированные замещенными коричневыми кислотами (как наиболее липофильные среди антоцианов) легко растворяются в подкисленных водных растворах. При этом антоцианы очень плохо растворяются в воде без добавок кислоты из сухого состояния. За многолетний опыт работы с антоцианами был обнаружен единственный объект, для экстракции антоцианов из которого необходимо в экстрагент добавлять органический растворитель – это плоды кизила (*Cornus mas* L.).

Экспериментально было установлено, что при экстракции 0,1 М водным раствором для обесцвечивания растительного материала (плодов кизила) требуется до шести и более стадий, хотя на первой стадии экстрагируется около 75% от суммы антоцианов, (табл. 2). При добавлении 40% (по объему) ацетонитрила удается экстрагировать практически все антоцианы за одну стадию. При повышении концентрации ацетонитрила эффективность экстракции снижается. И не удивительно, поскольку при очень высокой концентрации ацетонитрила в смеси с кислотой растворимость дигликозидов антоцианидинов сильно снижается и их не удается быстро элюировать с концентрирующих патронов С18 при очистке антоцианов методом твердофазной экстракции. Впрочем, экологически неблагоприятный ацетонитрил удобен при пробоподготовке перед определением антоцианов методами обращенно-фазовой ВЭЖХ или гидрофильной хроматографии [18].

Для трех экстрактов после одинакового разбавления, но с различной долей ацетонитрила при одинаковой концентрации соляной кислоты были получены результаты, представленные на рис. 2.

При этом было установлено батохромное смещение полос поглощения для всех экстрактов по мере добавления ацетонитрила:

– для экстракта плодов черники, содержащего неацилированные моногликозиды пяти основных антоцианидинов (дельфинидина, петунидина, мальвидина цианидина и пеонидина) – от 515 до 529 нм;

Таблица 2. Экстракция антоцианов из плодов кизила за одну стадию
Table 2. Extractivity of dogwood fruit anthocyanins for one stage

Условия экстракции		Образец				
		1	2	3	4	5
Навеска плодов кизила, <i>m</i> , г		0,493	0,525	0,498	0,620	0,550
Состав экстрагента, мл	0,1 М HCl	25	20	15	10	5
	CH ₃ CN	0	5	10	15	20
Экстрагировано антоцианов,	г/100 г	0,073	0,086	0,095	0,076	0,079
	%	76,8	90,5	100	80,0	83,2

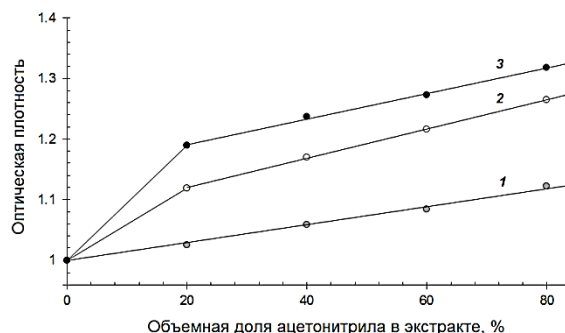


Рис. 2. Гиперхромный эффект спектров антоцианов как функция концентрации ацетонитрила. Экстракты: 1 – плодов черники; 2 – листьевв краснокочанной капусты; 3 – плодов паслена садового

Fig. 2. Hyperchromic effect of anthocyanin spectra as function of acetonitrile concentration. Extracts from: 1 – bilberry fruits; 2 – red cabbage leaves; 3 – fruits of garden nightshade

– для экстракта плодов паслена садового, содержащего ацилированный пара-кумаровой кислотой 3,5-дигликозид петунидина – от 522 до 525 нм;

– для экстракта краснокочанной капусты, содержащей моно- и диацилированные производные 3,5 дигликозида цианидина – от 522 до 525 нм.

При этом, как следует из представленных на рис. 1 данных, наблюдается гиперхромный эффект – рост оптической плотности при λ_{max} , практически линейно зависящий от концентрации ацетонитрила во всем диапазоне концентраций для экстракта плодов черники. Для ацилированных антоцианов линейность также наблюдается, но при содержании ацетонитрила выше 20% об. Изменение на начальном участке в этих случаях, вероятно, являются следствием внутримолекулярной копигментации известной для ацилированных антоцианов [19, 20].

Основная проблема при использовании растворителей, отличающихся от 0,1 М водного раствора соляной кислоты – сольватохромный эффект, который не позволяет использовать известные величины коэффициентов экстинкции для расчета концентрации антоцианов в экстрактах. Для учета сольватохромного эффекта нами использована следующая процедура:

1) вначале получали экстракт Э₁ некоторого растительного материала в 0,1 М водном растворе HCl с концентрацией антоцианов в нем с₁, для которого известно значение ε₁ для пересчета на цианидин-3-глюкозид (26900 л·моль⁻¹·см⁻¹) и определяли оптическую плотность экстракта при λ_{max}(1), D₁;

2) затем получали экстракт этого же материала в другом растворителе Э₂ с неизвестным значением ε₂ при λ_{max}(2) и определили оптическую плотность полученного экстракта (с концентрацией антоцианов в нем с₂), D₂;

3) смешивали равные объемы экстракта Э₁ и экстрагента Э₂, определив оптическую плотность полученной смеси, D₁₂;

4) смешивали равные объемы экстракта Э₂ и экстрагента Э₁, определив оптическую плотность полученной смеси, D₂₁.

Поскольку растворители в двух последних случаях одинаковы, соотношение концентраций антоцианов в Э₁ и Э₂ равно соотношению оптических плотностей D₁₂/D₂₁:

$$\frac{c_1}{c_2} = \frac{D_{12}}{D_{21}} \quad (1)$$

Поскольку по закону Бугера – Ламберта – Бера концентрация вещества рассчитывается по формуле

$$c_i = \frac{D_i}{\varepsilon_i \times l}, \quad (2)$$

где l – длина оптического пути, см, то для расчета неизвестного коэффициента экстинкции ε₂ использовали формулу, полученную комбинацией уравнений (1) и (2):

$$\frac{D_1 \times \varepsilon_2}{D_2 \times \varepsilon_1} = \frac{D_{12}}{D_{21}},$$

$$\varepsilon_2 = \frac{D_{12} \times D_2 \times \varepsilon_1}{D_1} \quad (3)$$

На рис. 3 представлены результаты экстракции антоцианов в пяти различных растворителях из высушенных лепестков пиона в двух вариантах – неразрушенные и измельченные. Расчет показал, что при не учете сольватохромных эффектов погрешности измерения концентрации антоцианов превышают 70%.

Первый вариант интересен тем, что позволяет оценить эффективность экстрагента по способности разрушать клеточные мембраны (рис. 2, а). При соотношении массы растительного материала и объема экстрагента 1 : 50, г/мл, лучший результат получен для 1%-го раствора HCl в этаноле, который позволил за первую экстракцию извлечь более 65% антоцианов, что более чем в 2 раза превысило аналогичный показатель для 0,1 М водного раствора HCl.

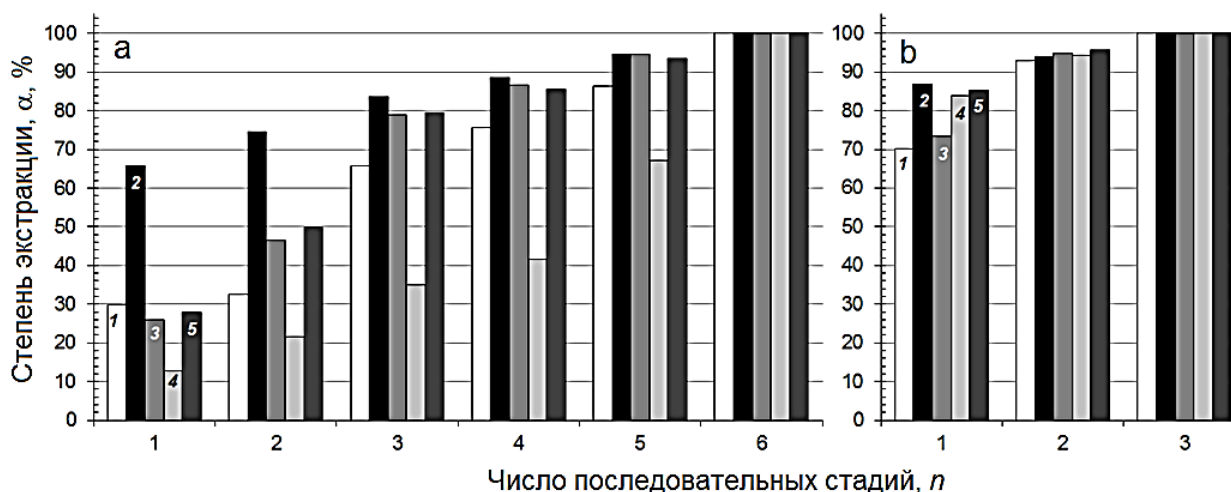


Рис. 3. Экстрагируемость антоцианов из неразрушенных (а) и растертых (б) высушенных лепестков цветков пионов от числа последовательных экстракций.

Экстрагенты: 1 – 0,1 М водный раствор HCl; 2 – 1%-й раствор концентрированной HCl в этаноле;
 3 – экстрагент, содержащий 80% об. глицерина и 20% об. 0,1 М водного раствора HCl;
 4 – экстрагент, содержащий 50% об. глицерина и 50% об. 0,1 М водного раствора HCl;
 5 – экстрагент, содержащий 50% об. 1%-го раствора концентрированной HCl в этаноле и 50% об. 0,1 М водного раствора HCl

Fig. 3. Extractivity of anthocyanins from whole (a) and crushed (b) dried peony flower petals at consecutive extraction stages.

Extragents: 1 – 0,1 M HCl solution in water; 2 – 1% HCl solution in ethanol;
 3 – mixture of 80% vol. of glycerol and 20% vol. of 0,1 M HCl solution in water;
 4 – mixture of 50% vol. glycerol and 50% vol. of 0,1 M HCl solution in water;
 5 – mixture of 50% vol. of 1% HCl solution in ethanol and 50% vol. of 0,1 M HCl solution in water

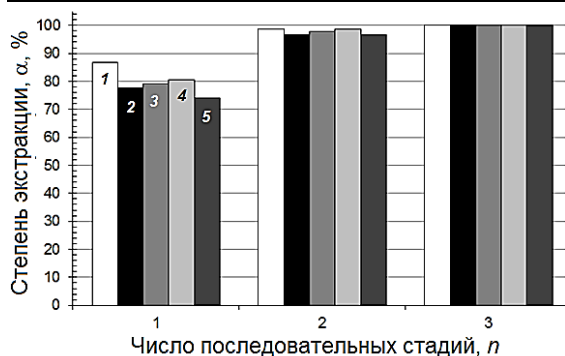


Рис. 4. Экстрагируемость антоцианов из листьев краснокочанной капусты от кратности последовательных экстракций. Условия как в подписях к рис. 3.

Fig. 4. Extractivity of red cabbage leaves anthocyanins at consecutive extraction stages. Conditions as in Fig.3

При уменьшении концентрации этанола вдвое степень экстракции несколько снижалась, но оказывалась выше, чем без добавок органического модификатора. Глицерин в количестве 80% об. позволил экстрагировать за две последовательные экстракции антоцианов больше, чем без органических добавок, но эффективность добавки глицерина уменьшалась при снижении его концентрации. Меньшая степень экс-

тракции в случае высокой концентрации глицерина может быть связана с необходимостью предварительного смачивания лепестков перед экстракцией. Во втором варианте при соотношении масса измельченных лепестков : объем экстрагента 1 : 100, г/мл – при экстракции из размолотых лепестков эффективность экстрагентов в значительной степени выровнялась, поэтому добавки органического растворителя не обязательны.

В случае свежих листьев краснокочанной капусты добавление органического модификатора в экстрагент оказалось ненужным, наивысшую эффективность в процессах экстракции проявил 0,1 М водный раствор HCl (см. рис. 3).

ВЫВОДЫ

0,1 М водный раствор HCl является эффективным и экологически чистым экстрагентом антоцианов из многих растительных объектов. Добавки органических модификаторов эффективны при экстракции из неизмельченного высушенного сырья, но при экстракции антоцианов из измельченного сырья их добавка не обязательна. При оценке их эффективности следует учитывать сольватохромный эффект по предложенному в работе способу.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Trouillas P., Sancho-García J.C., De Freitas V., Gierschner J., Otyepka M., Dangles O. Stabilizing and modulating color by copigmentation: Insights from theory and experiment // *Chemical reviews*. 2016. Vol. 116. P. 4937–4982. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00507>
2. Dangles O., Fenger J.-A. The chemical reactivity of anthocyanins and its consequences in food science and nutrition // *Molecules*. 2018. Vol. 23. Issue 8. 1970. <https://doi.org/10.3390/molecules23081970>
3. Wang H., Cao G., Prior R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997. Vol. 45. P. 304–309. <https://doi.org/10.1021/jf960421t>
4. Khoo H.E., Azlan A., Tang S.T., Lim S.M. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits // *Food & Nutrition Research*. 2017. Vol. 61. Issue 1. 1361779. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
5. He F., Mu L., Yan G.-L., Liang N.-N., Pan Q.-H., Wang J., et al. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes // *Molecules*. 2010. Vol. 15. Issue 12. P. 9057–9091. <https://doi.org/10.3390/molecules15129057>
6. Martín J., Navas M.J., Jiménez-Moreno A.M., Asuero A.G. Anthocyanin pigments: Importance, sample preparation and extraction. In: Soto-Hernandes M., Palma-Tenango M., García-Mateos R. (eds.) *Phenolic Compounds. Natural Sources, Importance and Applications*. InTech; 2017. P.117–152. <https://doi.org/10.5772/66892>
7. Silva S., Costa M.E., Calhau C., Morais R.M., Pintado M.E. Anthocyanin extraction from plant issues: A review // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017. Vol. 57. Issue 14. P. 3072–3083. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087963>
8. Ongkowijoyo P., Luna-Vital D.A., de Mejia E.G. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update // *Food Chemistry*. 2018. Vol. 250. P. 113–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.055>
9. Khanh N.D. Advances in the extraction of anthocyanin from vegetables // *Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2015. Vol. 3. Issue 1. P. 126–134. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.s.2015030102.34>
10. Garcia-Viguera C., Zafrilla P., Tomás-Barberán F.A. The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit // *Phytochemical Analysis*. 1998. Vol. 9. Issue 6. P. 274–277. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1565\(199811/12\)9:6<274::AID-PCA416>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1565(199811/12)9:6<274::AID-PCA416>3.0.CO;2-G)
11. Zuleta-Correa A., Chinn M.S., Alfaro-Córdoba M., Truong V.-D., Yencho G.C., Bruno-Bárcena J.M. Use of unconventional mixed Acetone-Butanol-Ethanol solvents for anthocyanin extraction from Purple-Fleshed sweetpotatoes // *Food Chemistry*. 2020. Vol. 314. 125959. <https://doi.org/>

10.1016/j.foodchem.2019.125959

12. Саввин П.Н., Игнатова К.С., Ломакина А.Э. Особенности выделения антоцианов спиртами алифатического ряда // Вестник ВГУ-ИТ. 2015. N 2. С. 171–174.

13. Переверткина И.В., Волков А.Д., Болотов В.М. Влияние глицерина на экстрагирование антоциановых красителей из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2011. N 2. С. 187–188.

14. Переверткина И.В., Волков А.Д., Титова Н.И., Болотов В.М. Оптимизация условий экстрагирования антоциановых красителей из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2014. N 2. С. 137–141.

15. Iosub S.D., Meghea A., Geana I. Solvatochromic parameters of some anthocyanin derivatives concentrated from selective natural extracts // UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science. 2014. Vol. 76. Issue 1. P. 25–34.

16. Lee J., Durst R.W., Wrolstad R.E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative

study // Journal of AOAC International. 2005. Vol. 88. Issue 5. P. 1269–1278.

17. Bąkowska-Barczak A. Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants – A review // Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2005. Vol. 14. Issue 2. P. 107–116.

18. Deineka V.I., Deineka L.A., Saenko I.I. Regularities of anthocyanins retention in RP HPLC for “water–acetonitrile–phosphoric acid” mobile phase // Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2015. Vol. 2015. Issue 4. Article ID 732918. <https://doi.org/10.1155/2015/732918>

19. He J., Li X., Silva G.T.M., Quina F.H., Aquino A.J.A. Quantum chemical investigation of the intramolecular copigmentation complex of an acylated anthocyanin // Journal of the Brazilian Chemical Society. 2019. Vol. 30. Issue 3. P. 492–498. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180233>

20. Escribano-Bailon M.T., Santos-Buelga C. Anthocyanin Copigmentation – Evaluation, Mechanisms and Implications for the Colour of Red Wines // Current Organic Chemistry. 2012. Vol.16. Issue 6. P. 715–723. <https://doi.org/10.2174/138527212799957977>

REFERENCES

1. Trouillas P, Sancho-García JC, De Freitas V, Gierschner J, Otyepka M, Dangles O. Stabilizing and modulating color by copigmentation: Insights from theory and experiment. *Chemical reviews*. 2016;116:4937–4982. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00507>

2. Dangles O, Fenger J-A. The chemical reactivity of anthocyanins and its consequences in food science and nutrition. *Molecules*. 2018;23(8):1970. <https://doi.org/10.3390/molecules23081970>

3. Wang H, Cao G, Prior RL. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997;45:304–309. <https://doi.org/10.1021/jf960421t>

4. Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*. 2017;61(1):1361779. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>

5. He F, Mu L, Yan G-L, Liang N-N, Pan Q-H, Wang J, et al. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*. 2010;15(12):9057–9091. <https://doi.org/10.3390/molecules15129057>

6. Martín J, Navas MJ, Jiménez-Moreno AM, Asuero AG. Anthocyanin pigments: Importance, sample preparation and extraction. In: Soto-Hernandes M, Palma-Tenango M, García-Mateos R. (eds.) *Phenolic Compounds. Natural Sources, Importance and Applications*. InTech; 2017, p.117–152. <https://doi.org/10.5772/66892>

7. Silva S, Costa ME, Calhau C, Morais RM, Pintado ME. Anthocyanin extraction from plant issues: A review. *Critical Reviews in Food Science*

and Nutrition. 2017;57(14):3072–3083. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087963>

8. Ongkowijoyo P, Luna-Vital DA, de Mejia EG. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update. *Food Chemistry*. 2018;250:113–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.055>

9. Khanh ND. Advances in the extraction of anthocyanin from vegetables. *Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2015;3(1):126–134. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.s.2015030102.34>

10. Garcia-Viguera C, Zafrilla P, Tomás-Barberán FA. The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit. *Phytochemical Analysis*. 1998;9(6):274–277. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1565\(199811/12\)9:6<274:AID-PCA416>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1565(199811/12)9:6<274:AID-PCA416>3.0.CO;2-G)

11. Zuleta-Correa A, Chinn MS, Alfaro-Córdoba M, Truong V-D, Yencho GC, Bruno-Bárcena JM. Use of unconventional mixed Acetone-Butanol-Ethanol solvents for anthocyanin extraction from Purple-Fleshed sweetpotatoes. *Food Chemistry*. 2020;314:125959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125959>

12. Savvin PN, Ignatova KS, Lomakina AE. Anthocyanins aliphatic alcohols extraction features. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii = Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2015;2:171–174. (In Russian)

13. Perevertkina IV, Volkov AD, Bolotov VM. Influence of glycerol on extraction anthocyanin dyes from raw plant material. *Khimija rastitel'nogo syr'ja = Chemistry of plant raw material*. 2011;2:187–188. (In Russian)

14. Perevertkina IV, Volkov AD, Titova NI, Bo-

lotov VM. Optimization of conditions for anthocyanin dyes extraction from the vegetable materials. *Khimiya rastitel'nogo syr'ja = Chemistry of plant raw material*. 2014;2:137–141. (In Russian)

15. Iosub SD, Meghea A, Geana I. Solvatochromic parameters of some anthocyanin derivatives concentrated from selective natural extracts. *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*. 2014;76(1):25–34.

16. Lee J, Durst RW, Wrolstad RE. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*. 2005;88(5):1269–1278.

17. Bąkowska-Barczak A. Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants – A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*.

2005;14(2):107–116.

18. Deineka VI, Deineka LA, Saenko II. Regularities of anthocyanins retention in RP HPLC for “water–acetonitrile–phosphoric acid” mobile phase. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 20115;2015(4). Article ID 732918. <https://doi.org/10.1155/2015/732918>

19. He J, Li X, Silva GTM, Quina FH, Aquino AJA. Quantum chemical investigation of the intramolecular copigmentation complex of an acylated anthocyanin. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2019;30(3):492–498. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180233>

20. Escribano-Bailon MT, Santos-Buelga C. Anthocyanin Copigmentation – Evaluation, Mechanisms and Implications for the Colour of Red Wines. *Current Organic Chemistry*. 2012;16(6):715–723. <https://doi.org/10.2174/138527212799957977>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Саласина Ярослава Юрьевна,
аспирант,
Институт фармации, химии и биологии
Белгородского государственного
национального исследовательского
университета,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
e-mail: kulchenko@bsu.edu.ru

Калинкин Данила Андреевич,
Институт фармации, химии и биологии
Белгородского государственного
национального исследовательского
университета,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
e-mail: 1318753@bsu.edu.ru

Дейнека Виктор Иванович,
д.х.н., профессор,
профессор кафедры общей химии,
Институт фармации, химии и биологии
Белгородского государственного
национального исследовательского
университета,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
✉ e-mail: deineka@bsu.edu.ru

Дейнека Людмила Александровна,
к.х.н., доцент,
доцент кафедры общей химии,
Институт фармации, химии и биологии
Белгородского государственного
национального исследовательского
университета,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yaroslava Yu. Salasina,
Postgraduate Student,
Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology,
Belgorod State National Research University,
85, Pobedy St., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
e-mail: kulchenko@bsu.edu.ru

Danila S. Kalinikin,
Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology,
Belgorod State National Research University,
85, Pobedy St., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
e-mail: 1318753@bsu.edu.ru

Viktor I. Deineka,
Dr. Sci (Chemistry), Professor,
Department of General Chemistry,
Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology,
Belgorod State National Research University,
85, Pobedy St., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
✉ e-mail: deineka@bsu.edu.ru

Lyudmila A. Deineka,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Department of General Chemistry,
Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology,
Belgorod State National Research University,
85, Pobedy St., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
e-mail: deyneka@bsu.edu.ru

Российская Федерация,
e-mail: deyneka@bsu.edu.ru

Заявленный вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Статья поступила в редакцию 20.05.2020; одобрена после рецензирования 14.11.2020; принята к публикации 30.11.2020.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

The article was submitted 20.05.2020; approved after reviewing 14.11.2020; accepted for publication 30.11.2020.