

О. Ю. Кузнецова, М. А. Клепцова, Д. А. Нигматуллина

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТОВ ГРИБА ЧАГИ (*INONOTUS OBLIQUUS* (PERS.) PIL.) С ПОМОЩЬЮ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Ключевые слова: экстракт, электрофорез, боратный буфер, гриб чага *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil..

В статье приведены результаты исследований экстрактов гриба чаги, полученных с применением метода электрофореза в боратном буфере. Установлены отличия в структурной организации коллоидной системы экстрактов, полученных мацерацией с применением различных экстрагентов.

Keywords: extract, electrophoresis, borate buffer, mushroom chaga *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil..

In the article are presented the results of studies mushroom extracts chaga, obtained using the method of electrophoresis in borate buffer. The differences in the structural organization of the colloidal system extracts obtained by maceration with using various extractants.

Введение

Электрофорез широко применяется для разделения смесей индивидуальных соединений, используется для фракционирования гумусовых веществ почвы и торфа, а также для разделения индивидуальных хромогенов и фенольных соединений.

Ранее в работах [1–9] были изложены результаты подбора условий электрофореза хромогенов водного извлечения чаги (*Inonotus obliquus* (Pers.) Pil.), полученного ремацерацией, в кислой и щелочной средах на бумажном носителе.

В работе [9] показано, что в отличие от гуминовых кислот, хромогены водного извлечения чаги в боратном буфере на бумажном носителе подвижны как в сторону анода, так и в сторону катода. Оптимальным режимом при проведении электрофореза водного извлечения чаги можно считать режим с силой тока в 20 мА и напряжением в 200 В. Его использование позволяет разделить хромогены на две фракции подвижные в обе стороны.

При использовании силикагеля в качестве носителя, показано, что большая сорбционная ёмкость силикагеля способствует образованию положительно заряженных частиц, что позволяет проанализировать вещества, подвижные в электрическом поле. Электрофорез на силикагеле существенно отличается по количеству и подвижности фракций по сравнению с результатами, полученными на бумажном носителе. На пластинах силикагеля в режимах: сила тока 5, 10, 15 и 20 мА и напряжении 250 В хромогены водного извлечения чаги перемещаются в основном к катоду и разделяются на пять зон.

Исследование экстрактов чаги с помощью электрофореза актуально, поскольку этот метод может позволить разделить коллоидную систему на фракции, подвижные в электрическом поле. Использование этого метода помогает оценить структурные особенности меланинов (хромогенов) экстрактов чаги.

Цель работы – определить отличия в структурной организации коллоидной системы экстрактов чаги, полученных мацерацией с применением различных экстрагентов, по подвижности меланинов под действием электрического поля.

Экспериментальная часть

В работе использовалось сырье чаги, закупаемое в аптечной сети, поставщик ИП Гордеев М.В., Россия, РБ, Уфимский район, с. Русский Юрмаш партия 09.03.11.

Экстракты чаги серии Фунги Б12 получались по способу, описанному в [10]. Отличия экстрактов серии Фунги Б12 достигались за счет использования различных экстрагентов в процессе экстракции: 1) Фунги Б12 – водный экстракт чаги; 2) Фунги Б12/В – экстракт чаги, полученный с применением водного раствора диметилсульфоксида; 3) Фунги Б12/Г – экстракт чаги, полученный с применением растворителя смешанного типа (водного раствора, содержащего диметилсульфоксид и гидроокись натрия).

Определение сухого остатка, содержания меланина, pH экстрактов проводилось по общепринятым методикам [11, 12].

Физико-химические характеристики экстрактов приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Физико-химические характеристики исследуемых экстрактов чаги

Экстракт	Сухой остаток, г/100мл	Содержание меланина, г/100мл	pH
Фунги Б12	2,83±0,31	1,79±0,21	5,17
Фунги Б12/В	3,78±0,28	3,10±0,33	5,34
Фунги Б12/Г	11,15±0,22	10,63±0,28	9,31

Для проведения электрофореза применялась электрофоретическая камера SE–1 и источник питания «Эльф-4». Электрофорез образцов проводили с использованием борно-боратного буфера при силе тока в 20 мА в течение 1 ч, напряжения варьировали от 100 до 400 В. В качестве носителя использовали пластины для проведения тонкослойной хроматографии. Обсчет хроматограмм осуществлялся в программе Sorbfil TLC Videodensitometr Version 2,0.

Данные обсчёта электрофоретических диаграмм приведены на рис. 1–3.

Результаты и их обсуждение

Для исследования выбраны экстракты чаги, полученные по способу [10], но отличающиеся различным типом экстрагента. Все выбранные экстракты для получения меланинов характеризуются высоким выходом экстрактивных веществ с долей меланинов в них 60-95%. При этом как сами экстракты, так и выделяемые из них меланины, обладают высокими антиоксидантной и ауksiноподобной активностями [13].

Данные экстракты и меланины чаги являются перспективными источниками для создания на их основе лекарственных препаратов и биологически активных добавок.

На электрофореграммах всех взятых для исследования экстрактов гриба чаги (*Inonotus obliquus* (Pers.) Pil.) в боратном буфере в исследованном диапазоне напряжения присутствуют достаточно яркие зоны при разделении компонентного состава экстракта. Преимущественно наблюдается движение положительно заряженных частиц коллоидной системы экстрактов чаги в сторону катода. Но при некоторых подбираемых режимах происходит перераспределение движения потока частиц и в сторону анода, при этом начинают формироваться фракции отрицательно заряженных частиц.

На электрофореграммах экстракта чаги Фунги Б12 преимущественно разделяются положительно заряженные частицы фракций движущиеся в сторону катода при напряжении от 200 до 400 В, как правило, разделение осуществляется на три-четыре зоны. Режим проведения электрофоретического разделения при 120 В позволяет получить достаточно четкое фракционирование на четыре зоны, движущихся положительно заряженных частиц в сторону катода, а также присутствует одна зона, движущихся отрицательно заряженных частиц в сторону анода. При исследуемых значениях напряжения наибольшая яркость зон приходится на значение R_f минус $0,26 \pm 0,20$. Яркость зон, при движении по направлению к катоду, снижается от 40000 до 14000 ед.

Таким образом, оптимальным режимом при проведении электрофореза экстракта чаги Фунги Б12 можно считать режим с напряжением в 120 В, который позволяет разделить хромогены на четыре фракции подвижные в сторону катода и одну в сторону анода.

На электрофореграммах экстракта чаги Фунги Б12/В в исследованном диапазоне напряжения также присутствуют яркие зоны. Надо отметить, что в данном случае в основном на электрофореграммах также присутствуют фракции, движущиеся в сторону катода, то есть положительно заряженные частицы. При всех значениях напряжения в сторону катода движутся три зоны. Дополнительно при напряжении в 120 и 400 В наблюдается движение одной зоны в сторону анода. Кроме того данные режимы напряжений (120 и 400 В) позволяют получить на электрофореграммах большее количество пиков в области R_f $-0,05 \div -0,15$. При напряжении процесса 120 и 300 В максимум самой яркой зоны приходится на R_f $-0, -18 \div -0,24$. При напряжении 200 и 400 В максимум приходится на R_f $-0,28 \div -0,35$.

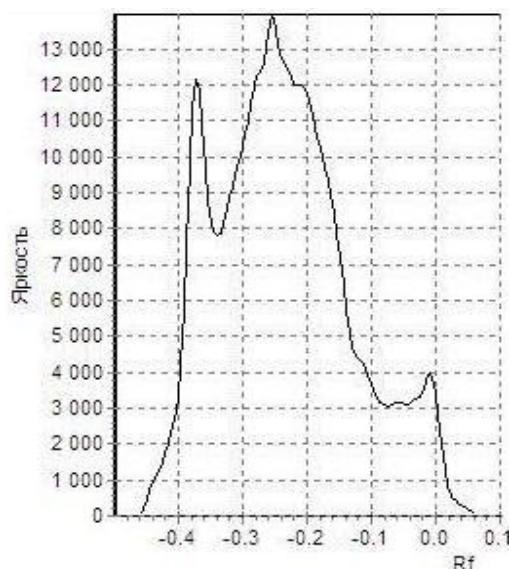


Рис. 1 – Электрофореграмма экстракта чаги Фунги Б12

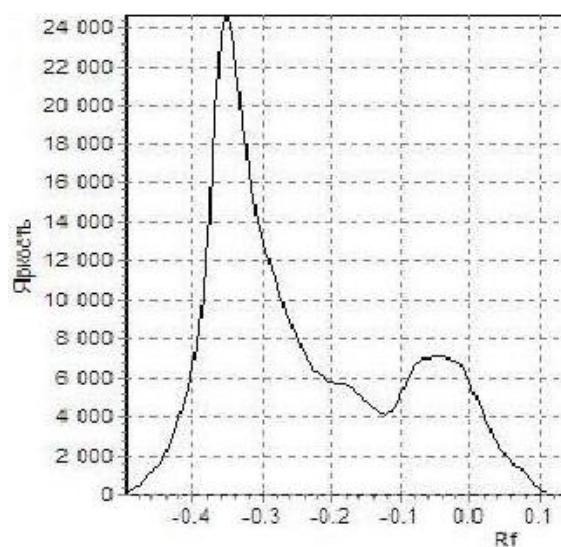


Рис. 2 – Электрофореграмма экстракта чаги Фунги Б12/В

Таким образом, оптимальным режимом при проведении электрофореза экстракта чаги Фунги Б12/В можно считать режимы с напряжением в 120 и 400 В. Эти режимы позволяют разделить меланины экстракта чаги на три фракции подвижные в сторону катода и одну в сторону анода.

На электрофореграммах экстракта чаги Фунги Б12/Г в боратном буфере в исследованном диапазоне напряжения наблюдаются интенсивно яркие зоны. При всех значениях напряжения на электрофореграммах преобладают частицы, движущиеся в сторону катода, но также присутствуют и частицы, движущиеся в сторону анода при напряжении 100, 200 и 300 В. При этом при всех значениях напряжения наблюдается три зоны, движущиеся в сторону катода. Максимум наиболее яркой зоны, движущейся к катоду, приходится на R_f $-0,28 \div -0,26$ при напряжении 200 и 400 В, на R_f $-0,2$ при 300 В, на R_f $-0,1$ при 100 В.

Максимумы зон, движущихся в сторону анода, приходятся на R_f 0,34 при напряжении 100 В, на R_f 0,06÷0,08 при 200 и 300 В. Надо отметить, что при напряжении в 300 В наибольший максимум яркости зон принадлежит зоне, движущейся к аноду, когда при других значениях напряжения максимумы яркости зон лежат в зонах, движущихся к катоду.

Таким образом, оптимальным режимом при проведении электрофореза экстракта чаги Фунги Б12/Г можно считать режимы с напряжением в 100 и 400 В. Эти режимы позволяют разделить хромогены на три фракции подвижные в сторону катода и две-три в сторону анода.

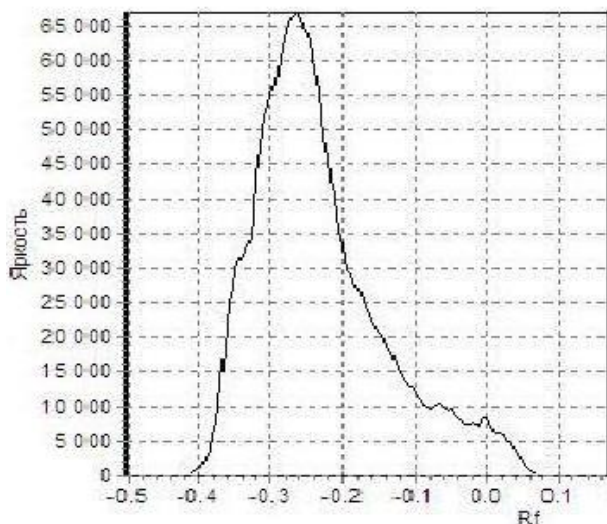


Рис. 3 – Электрофоретогамма экстракта чаги Фунги Б12/Г

В целом электрофорез экстрактов чаги Фунги Б12 и Фунги Б12/В в борном буфере характеризуется движением частиц в сторону катода. Но подбор оптимального режима проведения электрофоретического процесса позволяет разделить экстракты чаги на положительно и отрицательно заряженные частицы.

Электрофорез же Фунги Б12/Г характеризуется движением частиц, как в сторону анода, так и катода, с преобладанием в сторону последнего. Можно предположить, что такое различие в характере движения и распределения частиц разных экстрактов чаги на электрофоретограммах определяется как видом используемого экстрагента, так и особенностями формирования коллоидной системы экстракта чаги (рН которого имеет щелочной характер, в отличие от слабых кислотных в двух других случаях). Ранее было показано, что исследуемые экстракты чаги содержат примерно в 5 раз больше меланинов, чем экстракты чаги, полученные ремацерацией [6, 10, 14]. Поэтому на основании данных электрофоретограмм можно сказать, что используемые экстрагенты по-разному влияют на структурную организацию коллоидной системы экстрактов чаги, а, следовательно, и структурные особенности меланинов. Данный метод позволяет оценить отличие экстрактов чаги по качественному составу и характеру связей между частицами меланинов.

В целом, использование в исследовании экстрактов чаги электрофореза позволяет подробнее изучить структурные изменения, как экстрактов чаги, полученных при экстрагировании различными экстрагентами, так и меланинов, выделяемых из них.

Выводы

1. Установлено, что оптимальным для процесса разделения на фракции экстрактов чаги Фунги Б12 и Фунги Б12/В является сила тока в 20 мА, напряжение 200 В и время проведения процесса 1 ч, в случае использования экстракта чаги Фунги Б12/Г – сила тока в 20 мА, напряжение 400 В и время проведения процесса 1 ч.

2. Показано, что при оптимально подобранных режимах процесса разделения, электрофоретогамма экстрактов чаги отличаются по интенсивности окраски максимальной зоны. Экстракт чаги Фунги Б12 характеризуется максимально окрашенной зоной при R_f -0,26 в 14000 ед, экстракт чаги Фунги Б12/В – при R_f -0,36 в 24000 ед, экстракт чаги Фунги Б12/Г при R_f -0,26 в 67000 ед. Интенсивность окрашенных зон находится в прямой зависимости от содержания меланинов в экстрактах.

3. Установлено, что используемые в экстракции гриба чаги экстрагенты по-разному формируют коллоидную систему исследуемых экстрактов, так как по-разному влияют на степень высвобождения экстрактивных веществ, в том числе и меланинов, из сырья, что подтверждается характером, количеством и интенсивностью зон окрашивания.

Литература

1. О. Ю. Кузнецова и др. // III всероссийская конференция Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Барнаул, изд. Алт. Ун-та, 2007, кн. 2. С. 210-214.
2. О. Ю. Кузнецова и др. // IV всероссийская научная конференция Химия и технология растительных веществ. Сыктывкар, изд. Коми научного центра УрО РАН, 2006. С. 399.
3. О. Ю. Кузнецова и др. // Общероссийская конференция молодых ученых с международным участием Пищевые технологии, Казань, офсетная лаборатория КГТУ, 2006. С. 121-122.
4. О. Ю. Кузнецова и др. // Общероссийская конференция молодых ученых с международным участием Пищевые технологии, Казань, офсетная лаборатория КГТУ, 2006. С. 113-115.
5. О. Ю. Кузнецова и др. // Общероссийская конференция молодых ученых с международным участием Пищевые технологии, Казань, офсетная лаборатория КГТУ, 2006. С. 70.
6. О. Ю. Кузнецова и др. // XII Международная конференция молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии», посвященная памяти и 75-летию со дня рождения профессора Н.А. Николаева (г. Казань, 15-18 мая 2012 г.) Сб. тез. докладов – Казань: Изд-во «Отечество», 2012. – С. 124.
7. М. А. Сысоева и др. // Вестник Казанского технологического университета, 4, 153-156 (2006)
8. М. А. Сысоева и др. // Вестник Казанского технологического университета, 4, 173-177 (2006)
9. М. А. Сысоева и др. // Дисс. на соиск. уч. ст. док. хим. наук, Казанский гос. ун-т, Казань, 2009. – 293 с.
10. Патент на изобретение РФ № 2450817 (2012).

11. *Государственная фармакопея СССР*. 11-е изд., доп. М., 1987. – 389 с.
12. Муравьева Д.А. *Фармакогнозия*. Медицина, Москва, 1981. 714 с.

13. О.Ю. Кузнецова // Вестник Казанского технологического университета, 16, 11, 207-210 (2013)
14. О.Ю. Кузнецова, Дисс. канд. хим. наук. – Казань, 2004. 158 с.

© **О. Ю. Кузнецова** – канд. хим. наук, доц. каф. пищевой биотехнологии, нач. отдела маркетинга научно-технических разработок КНИТУ, kuznetsovaolga@mail.ru; **М. А. Клепцова** – студ. КНИТУ; **Д. А. Нигматуллина** – студ. КНИТУ.