

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ  
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ  
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ  
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 50, №1-2, 1997 Химический журнал Армении

УДК 543+547.975.1

ВЫДЕЛЕНИЕ КРАСИТЕЛЕЙ ИЗ АРАРАТСКОЙ КОШЕНИЛИ  
(PORPHYROPHORA HAMELLI BRANDT)

С. А. НЕРСИСЯН и А. В. МУШЕГЯН

Ереванский государственный университет

Поступило 3 III 1997

Исследован процесс экстракции красителя из араратской кошенили (*porphyrophora hamelii brandt*) водой и спиртами, определены оптимальные условия, обеспечивающие количественный переход красителя в раствор.

Разработаны способы выделения красителя из экстрактов как в виде нерастворимых комплексов, так и в виде водорастворимой натриевой соли.

Рис.1, табл. 2, библиограф. ссылок 6.

С начала 70-х годов перед химической наукой Армении была поставлена задача выделения известного с незапамятных времен и описанного многими историками древности красного красителя из араратской кошенили (вордан кармир) [1]. Большую заслугу в исследовании биологических аспектов проблемы и постановке задачи по выделению красителя имеет Институт зоологии НАН Армении [2]. Исследования по выделению красителя из организма араратской кошенили впервые были проведены на современном научном уровне в ИОХ НАН Армении [3].

Сотрудниками института был разработан простой метод выделения красителя из кошенили в виде нерастворимых комплексов с катионами многовалентных металлов. При этом два процесса, а именно, обезжиривание сырья и экстракция

красителя проводились одновременно, действием на свежесоб-  
ранный материал хлороформом. Из хлороформного слоя в  
последующем количественно выделялись липиды, а из водного  
— краситель.

Наряду с араратской известна также и мексиканская коше-  
пиль (*Dactilopus Coccus Sacti*), из которой выделяют краситель  
— карминовую кислоту [4]. Экстракцию ведут водными щелоч-  
ными растворами или смесью вода-этанол. После фильтрации  
краситель осаждают добавлением солей кальция и алюминия  
[5]. Полученный таким образом пигмент не растворим в воде,  
содержит большое количество белков, других высокомолекуляр-  
ных соединений и липидов в качестве примесей.

Применение описанных методов для выделения красителя  
из араратской кошенили оказывается ограничено из-за высоко-  
го содержания липидов в организме последней по сравнению с  
мексиканской (более чем в 10 раз). В результате экстракции  
щелочными растворами происходит гидролиз жиров с образо-  
ванием поверхностно-активных солей жирных кислот, что в  
конечном итоге ведет к образованию устойчивых коллоидов в  
виде трудно фильтруемых растворов, сильно загрязненных  
побочными веществами.

Целью настоящей работы являлось исследование более  
эффективных путей выделения красителя из организма насеко-  
мого как в виде нерастворимого пигмента, так и водораствори-  
мой соли.

Как нам представлялось, выделение красителя из естествен-  
ного сырья должно включать следующие операции: предвари-  
тельную обработку, перевод красителя в раствор (экстракцию),  
очистку раствора, осаждение красителя, очистку красителя.

Нами проводилось исследование процессов экстракции  
красителя водой и спиртами. Предварительно кошениль высу-  
шивалась при температуре 70-80°C в течение 5-6 ч.

Для определения оптимальных условий экстракции варьиро-  
вались следующие параметры: температура, продолжительность  
процесса, соотношение биомасса : экстрагент.

В случае экстракции водой с целью исключения потерь  
красителя в виде нерастворимых комплексов с катионами  
металлов вода декатионизировалась. С целью увеличения  
смачиваемости материала и интенсификации процесса в воду

добавлялись поверхностно-активные вещества (ПАВ), такие, как моно-, ди- и тристеарат глицерина, Na-соли жирных кислот (табл.1).

Эффективность экстракции контролировалась спектрофотометрическим методом. Оптическая плотность экстракта (A) измерялась при разбавлении 0,1 н раствором HCl для обеспечения прямолинейной зависимости оптической плотности от концентрации (рис.).

Параллельно определялось количество суммарного проэкстрагированного вещества (m). При определении эффективности процесса экстракции основывались на величине A/m для каждого экстракта, которая прямо пропорциональна количеству красителя, перешедшего в раствор, в пересчете на единицу массы суммарного проэкстрагированного вещества.

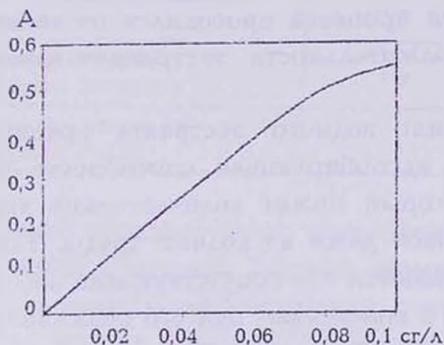


Рис. Зависимость оптической плотности (A) от концентрации (с г/л).

Для свежесобранной и высушенной кошенили были определены наиболее подходящие условия экстракции: температура 120-130°C, продолжительность процесса 1 ч, соотношение биомасса : декатионизированная вода 1:(8-10) на первой стадии экстракции и 1:(4-6) — на второй. Экстрагент содержал 0,1-0,2% ПАВ. Повышение температуры до 130°C позво-

ляет не только ускорить процесс диффузии, но и получить легкофильтруемый раствор за счет термической коагуляции высокомолекулярных веществ, обычно мешающих при низкотемпературной экстракции естественного сырья. После двукратной противоточной экстракции степень извлечения красителя составляла 90-95%.

Для комплексного использования сырья с целью выделения наряду с красителем и липидов был исследован процесс экстракции красителя низшими спиртами, обеспечивающими переход в раствор и красителя, и липидов. Для количественного перевода красителя в спиртовой раствор в спирт добавлялась

соляная кислота из расчета 5% от массы сырья. Соотношение спирт:сырье = (4-5):1. После двукратной экстракции краситель и липиды количественно переходили в раствор.

Таблица 1

Степень извлечения красителя (в вес.%) при экстракции декатионизированной водой с добавками различных ПАВ

Добавка	Моностеарат глицерина		Дистеарат глицерина		Тристеарат глицерина		Олеат натрия		Стеарат натрия		Нет
	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	
содержание, %											
вид сырья											
свежесобранная	95	95	90	93	92	93	85	87	85	87	70
высушенная	90	92	88	92	88	90	80	85	80	85	40

Контроль эффективности процесса проводился по описанному выше способу. Продолжительность экстракции составляла 2×20 мин.

Для очистки (осветления) водного экстракта красителя использовалась уникальная адсорбирующая способность свежесосажденного  $Al(OH)_3$ , который может количественно хемосорбировать полярные примеси даже из водной среды. Таким образом предварительно удаляются все сопутствующие вещества, способные соосаждаться с красителем при его осаждении в виде алюминиевого комплекса. При этом теряется не более 2% красителя.

Выделение красителя в виде не растворимых в воде комплексов резко ограничивает области его применения. Поэтому возникает необходимость выделять краситель в водорастворимой форме. С этой целью была изучена растворимость красителя в органических растворителях, таких, как ацетон, метанол, этанол, пропанол, диоксан и т.д. Оказалось, что краситель в той его форме, в какой он находится в организме кошерных рыб, заметно не растворяется ни в одном из перечисленных растворителей. На этом факте основаны разработанные нами способы выделения водорастворимой формы красителя из водного и спиртового экстрактов.

Из водного экстракта краситель осаждался добавлением метанола, этанола или ацетона.

Из спиртовых экстрактов осаждение велось добавлением растворов гидроксидов калия или натрия в соответствующем спирте. При этом краситель переходит в соответствующую соль, не растворимую в спиртах, но растворимую в воде. Продукты анализировались на содержание азота, катионов и липидов. Данные анализа приведены в табл.2.

Таблица 2

Данные анализа примесей в красителе (пигменте), полученных описанными способами

Содержание, %	азот	катионы Na <sup>+</sup> Al <sup>3+</sup>		липиды
Способ получения				
экстракция водой, осаждение Al <sup>3+</sup>	2,5	1,6	4,0	4,2
то же, с предварительным осветлением	0,6	1,8	1,1	0,8
экстракция водой, осаждение этанолом	1,6	0,5	2,2	1,2
экстракция этанолом, осаждение NaOH	4,1	1,0	3,0	10,5

Таким образом, нами разработаны оптимальные способы экстракции красителя (вордан кармир) из организма араратской кошенили водой и спиртами, очистки экстрактов и осаждения красителя в виде водорастворимой соли и не растворимого в воде комплексного соединения с Al<sup>3+</sup>. Наиболее экономичным способом является экстракция водой, если учесть, что из водного раствора можно выделить как нерастворимые комплексы, так и водорастворимые Na-соли красителя. Добавки малых количеств ПАВ увеличивают степень и скорость экстракции. Повышение температуры экстракции приводит к увеличению степени чистоты экстракта.

### Экспериментальная часть

Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре "СФ-16" в кварцевой кювете толщиной 1 см. Экстракты разбавляли 0,1 н раствором HCl, что обеспечивало прямолинейность зависимости оптической плотности (А) от концентрации (с) (рис.). Спиртовые экстракты после разбавления фильтровали.

Продолжительность экстракции определяли путем измерения времени достижения стационарности оптической плотности экстракта при длине волны 500 нм.

Этиловый и метиловый спирты предварительно перегоняли, чистоту контролировали методом ГЖХ.

Воду декатионизировали пропусканием через колонку диаметром 2 см, наполненную катионитом КУ-2 в Н-форме со скоростью 10 мл/мин.

Азот определяли элементным анализом образца. Данные приведены в табл.2.

Содержание катионов в красителе определяли атомно-абсорбционным методом на спектрофотометре "Perkin-Elmer 603". Данные анализов на Na и Al приведены в табл.2.

**Определение липидов.** Предварительно взвешенную пробу массой 0,1-0,2 г (точная навеска) растворяли в 10 мл смеси этанола с 0,1 н HCl в соотношении 1:1 при температуре 40-45°C. Добавляли 10 мл свежеперегнанного хлороформа, водно-спиртовой слой отделяли, хлороформный слой промывали декатионизированной водой, сушили над безводным сульфатом натрия. Хлороформ отгоняли под слабым вакуумом при температуре 60°C. Остаток — суммарные липиды, взвешивали. Данные приведены в табл.2.

**Определение степени извлечения красителя.** Взвешенный образец сухих остатков кошенили перемешивали с десятикратным количеством 0,1 н раствора NaOH при нагревании на водяной бане при 60°C. Через 15 мин подкисляли 1 н раствором HCl до pH1, фильтровали. Содержание красителя в фильтрате определяли описанным выше спектрофотометрическим способом. Данные приведены в табл.1.

**Экстракция красителя этанолом (или метанолом).** К 50 г свежесобранной кошенили добавляли 50 мл 95% экстрагента и гомогенизировали. Смесь переносили в 500 мл колбу, снабженную обратным холодильником и мешалкой, добавляли 200 мл экстрагента и 2,5 мл концентрированной HCl. Смесь нагревали при перемешивании на водяной бане при температуре 60°C (50°C, соответственно) в течение 15-20 мин, охлаждали до комнатной температуры, фильтровали. Экстракцию повторяли с помощью 200 мл этанола (метанола), содержащего 2,5 мл HCl,

фильтровали. Объединенные экстракты упаривали под слабым вакуумом до объема 100 мл и фильтровали.

**Выделение красителя из спиртовых экстрактов.** К 100 мл спиртового экстракта, полученного описанным выше способом, добавляли при перемешивании раствор 1,5 г NaOH в 10 мл спирта. Перемешивание продолжали в течение 10-15 мин, фильтровали через пористый стеклянный фильтр. Осадок на фильтре промывали 25 мл теплого спирта и сушили при температуре 60-65°C.

**Экстракция водой.** 50 г свежей или высушенной кошенили (самки) гомогенизировали с 50 мл декатионизированной воды. Смесь переносили в герметически закрываемый сосуд, добавляли 400 мл декатионизированной воды, в которой предварительно было растворено необходимое количество ПАВ, и нагревали сосуд при 120-130°C в течение 20-30 мин. После охлаждения раствор фильтровали. Остатки повторно экстрагировали 250 мл экстрагента. Фильтровали, фильтраты объединяли, упаривали до объема 100 мл.

**Освещение водных экстрактов.** К 100 мл водного экстракта красителя, полученного описанным выше способом, прибавляли 1 мл 0,1 н раствора NaOH, перемешивали, добавляли эквивалентное количество  $AlCl_3$  в 10 мл воды, нагревали на кипящей водяной бане около 30 мин, охлаждали, фильтровали.

**Осаждение красителя из водных экстрактов в виде водорастворимой соли.** К 100 мл водного экстракта красителя, полученного описанным выше способом, прибавляли при перемешивании 50 мл ацетона или этанола, охлаждали проточной водой, фильтровали.

**Осаждение красителя из водных экстрактов в виде нерастворимых комплексов.** К осветленному фильтрату прибавляли 25 мл 0,1 н раствора  $AlCl_3$ , перемешивали, прибавляли 25 мл 0,1 н раствора NaOH, перемешивали, охлаждали, фильтровали.

ՄՐՄՐԱՏՅԱՆ ՈՐԴԱՆ ԿԱՐՄԻՐԻՑ (PORPHYROPHORA  
HAMELLI BRANDT) ՆԵՐԿԱՆՅՈՒԹԻ ԿՈՐՉՈՒՄԸ

Ս. Ա. ՆԵՐՍԻՍՅԱՆ և Ա. Վ. ՄՈՒՇԵԳՅԱՆ

Ուսումնասիրված է որդան կարմիրից ներկանյութի քանակական էքստրակցիայի պրոցեսը ջրով և սպիրտներով: Մշակված են էքստրակտներից ներկանյութի անջատման եղանակներ ինչպես անլուծելի կոմպլեքսի, այնպես էլ ջրալուծ նատրիումական աղի ձևով:

SEPARATION OF PIGMENT FROM ARMENIAN COCHINEAL  
(PORPHYROPHORA HAMELLI BRANDT)

S. A. NERSISIAN and A. V. MUSHEGIAN

The quantitative extraction of pigment from Armenian cochineal with water and alcohols has been investigated.

The methods for separation of pigment from extracts in the form of insoluble complexes, as well as the water soluble sodium salt have been elaborated.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Авадбемян С.Т.* — Биол. ж. Армении, 1974, т.27, №3, с.110.
2. \**Саркисов Р.Н.* — Биологические основы и принципы использования естественных популяций насекомых и их разведение в искусственных условиях для промышленных целей (на примере араратской кошенили *porphyrophora hamelli brandt* (homoptera, coccoidae)). Автореферат дисс. на соиск. уч. ст. доктора биолог. наук.
3. Армянская энциклопедия, т.8, с.642.
4. *Шунк Е., Мархлевски П.* — Berichte, 1894, т.27, с.2979.
5. Anon. Fed. Regist. 14Dec. 1968, 33 (243), 18577-8-С.А. 1969, 56376q.

---

\*Авторы выражают искреннюю благодарность Р.Н.Саркисову за постоянную помощь и поддержку при выполнении настоящего исследования.