

Химия растений. Антоцианы

Выполнила: ученица 11 класса А
Баженова О.А.
Руководитель: Дегтярёва Е.Э.

Содержание

Введение.....	3
Теоретическая часть	
Флавоноидные пигменты, их структура и свойства.....	5
История исследования антоцианов.....	6-7
Антоцианы с точки зрения химии.....	8-9
Лейкоантоцианы — растительные «хамелеоны».....	10-11
Химические свойства антоцианов.....	12-17
Факторы, влияющие на цвет антоцианов.....	18-21
Антоцианы в качестве индикатора.....	22
Устойчивость антоциановых красящих веществ и условия разрушения антоцианов.....	23-24
Аналитические методы получения, идентификации и количественного определения антоцианов.....	25-26
Определение антиоксидантной активности.....	27-28
Получение антоциановых красящих веществ.....	29-30
Влияние антоцианов на внешний вид продуктов и коррозию.....	31
Молекулярно-генетические основы биосинтеза антоцианов.....	32-33
Способы модификации цвета у растений.....	34-39
Функции антоцианов в растительном организме.....	40-41
Польза и вред антоцианов для организма человека.....	42-43
Использование антоцианов во флористике.....	44
Практическая часть	
Вводное слово.....	46
№1. Выделение антоцианов из свежей краснокочанной капусты.....	47-48
№2. Определелие наличия антоцианов в соках «ФрутоНяня» и «J7», в чёрном чае «Лисма», в каркаде.....	49-50
№3. Определение изменения окраски антоцианов в разной кислотной среде.....	51-52
№4. Приготовление индикаторной бумаги из раствора антоцианов.....	53
№5. Изменение цвета антоцианов и их обесцвечивание в лепестках роз.....	54-56
№6. Выявление лейкоантоцианов.....	57
№7. Проведение анализа сырья на наличие антоцианов.....	58
Вывод.....	59
Заключение.....	60
Литературные источники.....	61
Приложения	
Приложение №1.....	64-73
Приложение №2.....	74-75

Введение

Красота - благой природы
Дар счастливейший и сила;
Почитают все народы
В ней всё то, что сердцу мило.
(Иван Гундулич)

Что в природе может быть прекраснее, чем цветущее растение. Откуда берется эта естественная красота? Нежные лепесточки цветков, имеющие окраску от сине-фиолетовой до красной со всевозможными нюансами, обязаны своим великолепием группе флавоноидов, которая получила название антоцианов.

Эти красящие вещества делают нарядными созревшие гроздья черной смородины и винограда, плоды сливы и вишни, сочные ягоды земляники и малины. Антоцианам обязаны своей окраской созревающие черника и голубика. Клеточный сок столовой свеклы от обилия антоцианов приобретает кроваво-красный цвет, по мере образования антоцианов краснеют многие сорта яблок.

Только ли в цветках и плодах "поселяются" эти природные красители? Оказывается, нет. К осени они накапливаются в листьях, изменяя (совместно с каротиноидами) зеленый наряд природы на красно-желтый. Листья некоторых видов растений (например, барбариса) имеют постоянные красные тона от присутствия антоцианов. Словом, широко расселились эти пигменты в растительном мире, создав в природе своеобразную гармонию красок. Без антоцианов трудно даже представить себе мир растений.

Моя работа актуальна, поскольку одним из самых значимых направлений химических и биологических исследований на сегодняшний день является изучение пигментов растений, в частности антоцианов. Кроме того, данным пигментам, не смотря на огромный интерес с точки зрения науки и промышленности, в школе уделяется мало внимания, что на мой взгляд, несправедливо. Поэтому целью моей работы стало изучение свойств антоцианов, их экспериментальное подтверждение и систематизирование полученных данных. При этом я установила следующие задачи:

- рассмотреть строение антоцианов;
- изучить физические и химические свойства антоцианов;
- рассмотреть области применения антоцианов;
- определить, какие функции выполняют антоцианы в организме растений и человека;
- исследовать химические свойства антоцианов в школьной лаборатории.

Объект исследования: антоцианы

Предмет исследования: химические свойства антоцианов

Методы исследования:

- эксперименты
- 3D-моделирование
- анализ полученных данных

Теоретическая часть

Флавоноидные пигменты, их структура и свойства

Флавоноиды — фенольные соединения, в основе структуры которых лежит скелет, состоящий из $C_6 - C_3 - C_6$ -углеродных единиц. Большинство флавоноидов можно рассматривать как производные 2-фенилхромана (флавана) или 2-фенилхромона (флавона). Классификация их основана на степени окисленности трехуглеродного фрагмента, положении бокового фенольного радикала, величине гетероцикла и других признаках. К производным флавана принадлежат катехины, лейкоантоцианидины и антоцианидины, к производным флавона — флавоны, флаванолы, флаваноны и флавонолы. К флавоноидам относятся также ауруны, халконы и дигидрохалконы. Менее распространены изофлавоноиды (с фенильным радикалом у C_3), неофлавоноиды (производные 4-фенилхромона), бифлавоноиды и др. Флавоноиды объединяет общность путей биосинтеза в растениях.



Рис.1. Структурные формулы флавоноидов

Флавоноиды в большем или меньшем количестве содержатся почти во всех высших растениях, реже встречаются у микроорганизмов и насекомых. Локализуются главным образом в листьях, цветках и плодах, реже в стеблях и подземных органах. В растениях большинство флавоноидов присутствует в виде гликозидов, которые лучше растворяются в клеточном соке. Некоторые флавоноиды — пигменты, придающие разнообразную окраску растительным тканям.

Считается, что флавоноидные пигменты играют роль фильтров в растениях, защищая ткани от вредного воздействия УФ-лучей. Выдвинута гипотеза о включении флавоноидов в процессы дыхания растений. Совместно с аскорбиновой кислотой участвуют в энзиматических (*ферментных*) процессах окисления и восстановления. Антоцианы придают яркую окраску цветкам, что привлекает насекомых, и тем самым способствуют опылению.

Общая реакция на флавоноиды — реакция восстановления атомарным водородом в кислой среде в присутствии магния (проба Шинода) или ее модификация с цинком. Благодаря фенольным гидроксилам и карбонильной группе флавоноиды способны образовывать комплексы с солями металлов различной степени устойчивости, вступать в реакцию с диазосоединениями с образованием азокрасителей. Для доказательства структуры выделенных флавоноидов используют различные физико-химические методы. Флавоноиды имеют широкий спектр действия на организм: высокую Р-витаминную активность, диуретическое, гипотензивное, гипогликемическое, эстрогенное, спазмолитическое, желчегонное и др.

История исследования антоцианов

Несколько столетий назад началась одна из самых интересных и красивых историй в биологической науке — история изучения цвета у растений. Растительные пигменты антоцианы сыграли важную роль в открытии законов Менделя, мобильных генетических элементов, РНК-интерференции (*процесс подавления экспрессии гена на стадии транскрипции, трансляции, деаденилирования или дегградации мРНК при помощи малых молекул РНК*) — все эти открытия были сделаны благодаря наблюдениям за окраской растений. На сегодняшний день биохимическая природа антоцианов, их биосинтез и его регуляция достаточно подробно исследованы. Полученные данные позволяют создавать необычно окрашенные сорта декоративных растений и сельскохозяйственных культур.



Рис. 2. Картофель сорта «Чудесник», который вывели уральские селекционеры

Последнее время в российских и зарубежных СМИ часто появляются сообщения о чудо-фруктах, чудо-овошах и чудо-цветах с необычной окраской, которая или не встречается у данных видов растений, или встречается, но очень редко. Фурор среди российской общественности недавно произвела новость о новом сорте картофеля «Чудесник» с фиолетовой окраской мякоти, созданном селекционерами из Уральского НИИ сельского хозяйства (рис. 2). В числе овощей с непривычной для нас фиолетовой окраской можно также упомянуть капусту, перец, морковь, цветную капусту. Все допущенные к выращиванию в коммерческих целях сорта фиолетовых овощей, фруктов и злаков были созданы в ходе селекционной работы.

Еще один пример — голубая роза, мечта не одного поколения селекционеров и садоводов. До 2004 года синие бутоны у розы можно было получить лишь с помощью химических красителей, например индиго, которые впрыскивали в корни белой розы. В 2004 году методами генетической инженерии впервые в мире была получена настоящая голубая роза (рис. 3).

Эти и другие смелые манипуляции с окраской, которые пресса называет «чудесами», стали возможными благодаря всестороннему исследованию природы антоциановой пигментации и генетической составляющей биосинтеза антоциановых соединений.



Рис. 3. Первая в мире голубая роза, созданная австралийскими учеными из компании «Флориген» при поддержке японского холдинга «Сантори»

Первые опыты по изучению антоциановых соединений и их химической природы провел известный английский химик Роберт Бойль. Еще в 1664 году он впервые обнаружил, что под действием кислот синий цвет лепестков василька изменяется на красный, под действием же щелочи лепестки зеленеют. В 1913–1915 годах немецкий биохимик Рихард Вильштеттер и его швейцарский коллега Артур Штоль опубликовали серию работ, посвященных антоцианам. Из цветков различных растений они выделили индивидуальные пигменты и описали их химическое строение.

Оказалось, что антоцианы в клетках находятся преимущественно в виде гликозидов (*Гликозиды — органические соединения, молекулы которых состоят из двух частей: углеводного остатка и неуглеводного фрагмента*). Их агликоны (*базовые молекулы-предшественники*), получившие название антоцианидинов, связаны преимущественно с сахарами глюкозой, галактозой, рамнозой (*Рамноза — дезоксисахарид из группы альдогексоз с общей формулой $C_6H_{12}O_5$*). «За исследования красящих веществ растительного мира, особенно хлорофилла» в 1915 году Рихард Вильштеттер был удостоен Нобелевской премии по химии.

Антоцианы с точки зрения химии

Антоцианы – растительные гликозиды, содержащие в качестве агликона (антоцианидина) гидроксипроизводные 2-фенилхромена. Углеводная часть молекулы (обычно остаток глюкозы, рамнозы, галактозы, ди- или трисахарида) связана с агликоном в положении 3, реже – 3 и 5.

Известно более 500 индивидуальных антоциановых соединений, и число их постоянно увеличивается. Все они имеют C_{15} -углеродный скелет — два бензольных кольца А и В, соединенные C_3 -фрагментом, который с атомом кислорода образует γ -пироновое кольцо (С-кольцо, рис. 4). При этом от других флавоноидных соединений антоцианы отличаются наличием положительного заряда и двойной связи в С-кольце.



Рис. 4. Базовая структура антоцианидинов и антоцианов. Атомы углерода пронумерованы

При всем их огромном многообразии антоциановые соединения — производные лишь шести основных антоцианидинов: пеларгонидина, цианидина, пеонидина, дельфинидина, петунидина и мальвидаина, которые отличаются боковыми радикалами R1 и R2 (рис.3, таблица). Поскольку при биосинтезе пеонидин образуется из цианидина, а петунидин и мальвидин — из дельфинидина, можно выделить три основных антоцианидина: пеларгонидин, цианидин и дельфинидин — это и есть предшественники всех антоциановых соединений.

На основе полученных данных из литературных источников о строении шести основных антоцианов с помощью программы ACD/3D Viewer были спроектированы их модели. (Приложение 2).

Модификации основного C_{15} -углеродного скелета создают индивидуальные соединения из класса антоцианов. В качестве примера на рис. 5 приведена структура так называемого небесно-синего антоциана, который окрашивает цветки вьюнка ипомеи в голубой цвет.

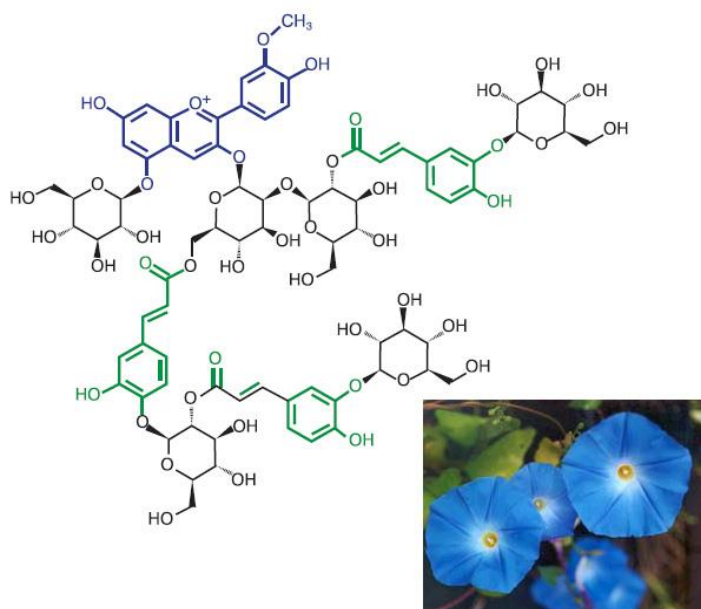


Рис. 5. Структура небесно-синего антоциана. Соединение выделено из вьюнка. *Синим* отмечены пеонидин (метилированное производное цианидина); *зеленым* — остатки кофейной кислоты; *черным* — остатки глюкозы.

У многих антоцианов некоторые группы OH метилированы или ацетилированы. Антоцианы формируют окрашенные кристаллы. Легко растворяются в воде и других полярных растворителях, трудно – в бензоле. При нагревании с разбавленными кислотами или действии некоторых ферментов отщепляют остаток углевода с образованием пирилиевых солей – пеларгонидина, цианидина и дельфинидина. При щелочном плавлении эти соли образуют флороглюцин (1,3,5-тригидроксибензол) и гидроксибензойную кислоту, а при гидрировании – катехин.

Свободные основания антоцианов и антоцианидов окрашены в фиолетовый цвет. Таким образом, красная, синяя и фиолетовая окраска некоторых цветов и ягод может вызываться наличием одного и того же типа антоцианидина в зависимости от реакции клеточного сока. В синих частях растений он находится в виде калиевой или иной щелочной соли, в красных - в виде оксониевых солей органической кислоты (например, щавелевой кислоты), а в фиолетовой - в виде основания красящего вещества или внутренней соли.

Наиболее распространены в растительном мире так называемые неметилированные антоцианидины, т. е. не содержащие в боковом кольце своих молекул (кольце Б) группу СН₃. Первое место в этом отношении занимает цианидин, второе - дельфинидин, третье - пеларгонидин. Порознь антоцианы в природных условиях встречаются редко, а чаще всего содержатся в комплексе друг с другом в различных сочетаниях, а также во взаимосвязи с другими полифенолами и веществами нефенольного характера. Отсюда и богатство природных красок и оттенков, обусловленных наличием антоцианов.

Растительные пигменты окрашены благодаря тому, что в них чередуются одинарные и двойные связи углерод-углерод, что приводит к появлению системы сопряжения, которую относят к хромофорам — структурным веществ, обуславливающим их цветность.

Лейкоантоцианы — растительные «хамелеоны»

В 1914 г. в "Известиях Императорской Академии наук" была помещена статья с лаконичным названием "Об искусственном антоциане". Автор ее - Михаил Семенович Цвет сообщал интересные для того времени факты. Он наблюдал мгновенное покраснение яблок, бананов, груш, винограда, а также белых лепестков роз и цикламена после обработки их слабой соляной кислотой с последующим нагреванием. Полученный красный пигмент осаждался из раствора, его можно было собрать на обыкновенной промокашке. Ученый назвал это вещество искусственным антоцианом. Он обладал поразительной способностью изменять свой "внешний облик": от действия щелочи он зеленел, от кислоты - краснел, а фенилгидразин ($C_6H_8N_2$) и сернокислый натрий (Na_2SO_4) мгновенно обесцвечивали его. Ученый отозвался о выделенном им веществе как о "растительном хамелеоне" и высказал предположение, что этот "хамелеон" должен быть весьма близок по строению к естественным антоцианам.

Так оно и оказалось в дальнейшем. Так М. С. Цвет открыл в растениях группу бесцветных флавоноидов, получивших позже название лейкоантоцианов - бесцветных антоцианов.

Лейкоантоцианы представляют собой группу чрезвычайно неустойчивых флавоноидов. Замечено, что во многих случаях лейкоантоцианы "ведут себя" подобно антоцианам: они накапливаются под действием света и при достаточном количестве сахаров; как и антоцианы, они содержатся в значительных количествах в бутонах и цветках. Создается впечатление, что лейкоантоцианы, как невидимые спутники, как бы подстраховывают существование антоцианов.

В настоящее время установлено, что они и в самом деле служат резервом для образования антоцианов. За свою бесцветность и возможность быстрого превращения в антоцианидины агликоны лейкоантоцианов получили название лейкоантоцианидинов. Из них больше всего в растительном мире распространены лейкоцианидин и лейкодельфинидин.

В 1955 г. английский ученый Л. Аудус в журнале "Нейчер" ("Природа") сообщил о том, что процесс клеточного деления (*фактически активного роста*) значительно ускоряется при помощи лейкоантоцианов. На IV Международном биохимическом конгрессе в Вене (1958 г.) американские биохимики Ф. Стьюард и Е. Шантц выступили с обстоятельным докладом, в котором сообщили, что при искусственном выращивании в лабораторных условиях растительных тканей добавление лейкоантоцианов в питательную среду заметно усиливает деление клеток.

Лейкоантоцианы очень часто обнаруживаются в древесине различных древесно-кустарниковых растений. Именно из акации удалось впервые получить конкретный лейкоантоцианидин. Назвали его мелакацидин. Затем из белой акации был выделен другой лейкоантоциан – лейкоробинетин.

Характерно, что "акациевый" мед обладает удивительным свойством прозрачности: благодаря высокому содержанию лейкоантоцианов его не всегда можно обнаружить, даже внимательно присмотревшись к сотам.

Именно на примере акации удалось решить один из вопросов биологической роли лейкоантоцианов. Оказалось, что они весьма легко подвергаются так называемой окислительной конденсации своих молекул, благодаря чему и накапливаются в древесине. Что же такое окислительная конденсация? Это объединение с участием кислорода двух молекул органического вещества в одну более крупную структуру - димер. Димеры в свою очередь имеют свойство объединяться затем в соответствующие полимеры. Полимеры очень нужны растущему растению по мере формирования различных его тканей, органов.

Одним из важных полимеров, в образовании которого принимают участие лейкоантоцианы, является лигнин - вещество, заполняющее промежутки целлюлозного "каркаса", из которого состоят клеточные стенки. Без лигнина немислимо формирование сосудов древесины, по которым проводится к листьям вода с растворенными в ней солями. От достаточного

накопления этого полимера к осени зависит степень готовности растений к зиме, к перенесению неблагоприятных условий. Образование димеров и полимеров лейкоантоцианов происходит не только в стеблях, но и в листьях в течение вегетации.

Какие же растения могут служить источником лейкоантоцианов? В первую очередь - плодово-ягодные. Весьма богаты этими флавоноидами некоторые сорта облепихи, плоды боярышников.

Таким образом, отсутствие антоциановой окраски у стеблей, листьев, цветков и плодов вовсе не свидетельствует об отсутствии в них активных флавоноидов. Очень часто здесь сосредотачиваются бесцветные, незримые лейкоантоцианы. В первую очередь это касается зеленоплодных крыжовника, винограда, смородины, сливы, яблони и других садовых растений.

Химические свойства антоцианов

Химические свойства обусловлены особенностью строения антоцианов: наличием ароматического и пиранового колец, функциональных групп.

1. Антоцианы при обработке кислотами, например, при нагревании с 20%-ной соляной кислотой, распадаются на сахаристые вещества и агликоны – антоцианидины, последние отличаются от гликозидной формы своей повышенной растворимостью в амиловом спирте.

Антоцианы, являющиеся дигликозидами, практически почти не извлекаются амиловым спиртом из водных растворов, моногликозиды извлекаются в весьма незначительном количестве, а получающиеся после гидролиза антоцианидины извлекаются количественно амиловым спиртом из разбавленных кислых растворов. Для характеристики этого процесса по предположению Вильштеттера и Цолингера введён коэффициент извлечения, который показывает количество антоцианов, выщелачивающееся из водного раствора амиловым спиртом. Так, например, хлорид цианина (диглюкозид) имеет коэффициент извлечения 1,8%, хлорид энина (моноголюкозид) – 10,4%, хлорид цианидина и хлорид энидина (агликоны) – 100%.

Эверест применил эту реакцию непосредственно к растениям, для чего обрабатывал 0,5-2 г материала 7%-ной серной кислотой, прибавляя небольшое количество спирта, и полученный раствор выщелачивал амиловым спиртом. Из этой последней вытяжки вода вымывает количественно все антоцианы, не затрагивая антоцианидины. Ботаники используют различия в коэффициентах извлечения для выяснения, содержится ли в том или ином растении свободный антоцианидин, моноголюкозид или диглюкозид.

2. Благодаря кольцам А и В флавоноиды способны:

- образовывать комплексные соединения с солями металлов (железа, алюминия, циркония). С солями железа в зависимости от количества гидроксильных групп соли от зеленой, синей до коричневой окраски, с солями алюминия-желтой, с желто-зеленой флюоресценцией;
- вступать в реакцию азосочетания с солями диазония с образованием азокрасителя.

В структурном отношении антоцианы и антоцианидины характеризуются присутствием четырёхвалентного кислорода и при действии минеральных и органических кислот образуют довольно стойкие оксониевые соли красного цвета, в которых кислотный остаток связан с кислородом.

Тем же свойством отличаются и многие другие флавоны, но у них солеобразование с кислотами является второстепенной реакцией и их соли легко разлагаются в воде.

У антоцианов и антоцианидинов, напротив, отдельные соли, например, хлориды, настолько прочны и хорошо кристаллизуются, что в исследованиях Вильштеттера и его сотрудников послужили основанием для разработки препаративных методов их выделения.

Благодаря гидроксилам антоцианы и антоцианидины обладают способностью давать со щелочами соли синего цвета, причем необходимым условием для образования подобных солей служит наличие гидроксила в положении 4¹.

Свободные основания антоцианов и антоцианидов окрашены в фиолетовый цвет. Таким образом, красная, синяя и фиолетовая окраска некоторых цветов и ягод может вызваться наличием одного и того же типа антоцианидина в зависимости от реакции клеточного сока.

Важно иметь в виду, что изменение окраски растений зависит и от других факторов: смешение антоцианов с флавонами, каротиновыми красящими веществами, соединение с танином или галловой кислотой и т.д.

Водные, а иногда и спиртовые растворы антоцианов и антоцианидинов переходят в слабокислом, нейтральном и особенно легко в щелочном растворе в бесцветную модификацию. Вильштеттер и Нолан предполагали, что подобное преобразование в бесцветное псевдооснование связано с потерей двух валентностей у четырёхвалентного кислорода и переходом соединённого с ним гидроксила к соседнему углеродному атому или С₄ с образованием в последнем случае хинонового кольца.

4. Лейкоантоцианидины способны легко окисляться до производных флавона и флавонола.
5. Антоцианы при сплавлении в жестких условиях со щелочью распадаются на составные части, что используется для установления структуры.

Методы анализа сырья, содержащего флавоноиды.

Учитывая растворимость агликонов и гликозидов флавоноидов в спирте, проводят экстракцию флавоноидов из сырья метанолом или этанолом. Спиртовое извлечение упаривают и разбавляют водой, после охлаждения белки, жирные масла, стерины, хлорофилл выпадают в осадок, который отделяют. Часто для удаления сопутствующих веществ сырье сначала обрабатывают хлороформом, т.е. «обезжиривают», а затем уже экстрагируют спиртом различной концентрации. Спиртовое извлечение исследуют. Проводят качественный и количественный анализ.

Для установления подлинности используют в анализе качественные реакции и хроматографическое исследование.

1. *Проба Синода (проба Шинода - цианидиновая проба).* Она основана на восстановлении водородом карбонила пиронового кольца и образовании антоцианидинов, окрашивающихся в кислой среде от оранжевого до малиново-красного цвета.

Методика: к спиртовому извлечению из сырья добавляют несколько капель концентрированной хлористоводородной кислоты и 20-30 мг порошка магния или цинка. При наличии флавоноловых веществ наступает окрашивание. При наличии антоцианов красное окрашивание наступает от прибавления одной соляной кислоты, поэтому нужен контрольный опыт.

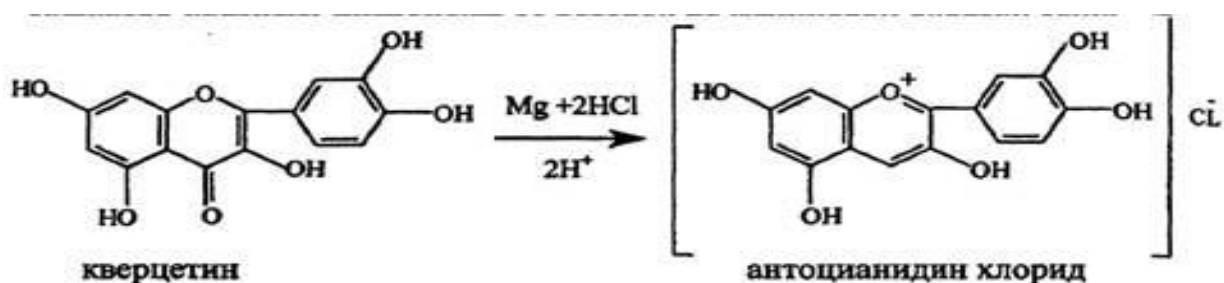


Рис. 6

2. *Проба Брианта.* Проводится в случае положительной цианидиновой пробы. Эта реакция дает возможность сделать заключение о присутствии в сырье гликозидов и агликонов. В пробирку, где проводилась проба Синода добавляют октанол и встряхивают;

- если окраска перешла в октанол, то в сырье содержатся только агликоны, которые растворимы в октаноле;
- если окраска осталась в водной фазе - в сырье только гликозиды;
- если окрасились оба слоя - в сырье присутствуют флавоноиды как в виде гликозидов, так и в виде агликонов.

3. *Реакция с 2%-ным спиртовым раствором алюминия хлорида.* Образуются хелатные комплексы за счет водородных связей, возникающих между карбонильной и оксигруппой, желтого цвета с желто-зеленой флюоресценцией. Аналогично образуются комплексы с солями циркония.

4. *Реакция с 1%-ным раствором основного ацетата свинца,* Антоцианы дают синий аморфный осадок, частично растворимый в кислотах, при этом раствор приобретает розовую или красную окраску (плоды черники).

5. *Реакция с 10%-ным спиртовым раствором натрия гидроксида.* Антоцианы образуют соли оливково-зеленого цвета.

6. *Реакция азосочетания с диазосоединениями (диазотированный стрептоцид).* Образуется

азокраситель оранжевого, красного или вишнево-красного цвета. Используют для количественного определения флавоноидов. В качестве реактива используют свежеприготовленный раствор диазотированного сульфаниламида. В присутствии флавоноидов появляется красное, оранжево-красное или желто-коричневое окрашивание (азокраситель). Соль диазония присоединяется при С₆ или С₈ кольца А.

8. *Борно-лионная реакция с реактивом Вильсона* (по 0,5 г борной и лимонной кислот в метаноле). Флавоноиды дают комплексы с борной кислотой желтой окраски с ярко-желтой флюоресценцией, которые не разрушаются лимонной кислотой.

9. *Со щелочами или карбонатами* антоцианы дают синюю окраску.

Различные состояния молекулы антоциана в зависимости от физико-химического состава среды представлены ниже:

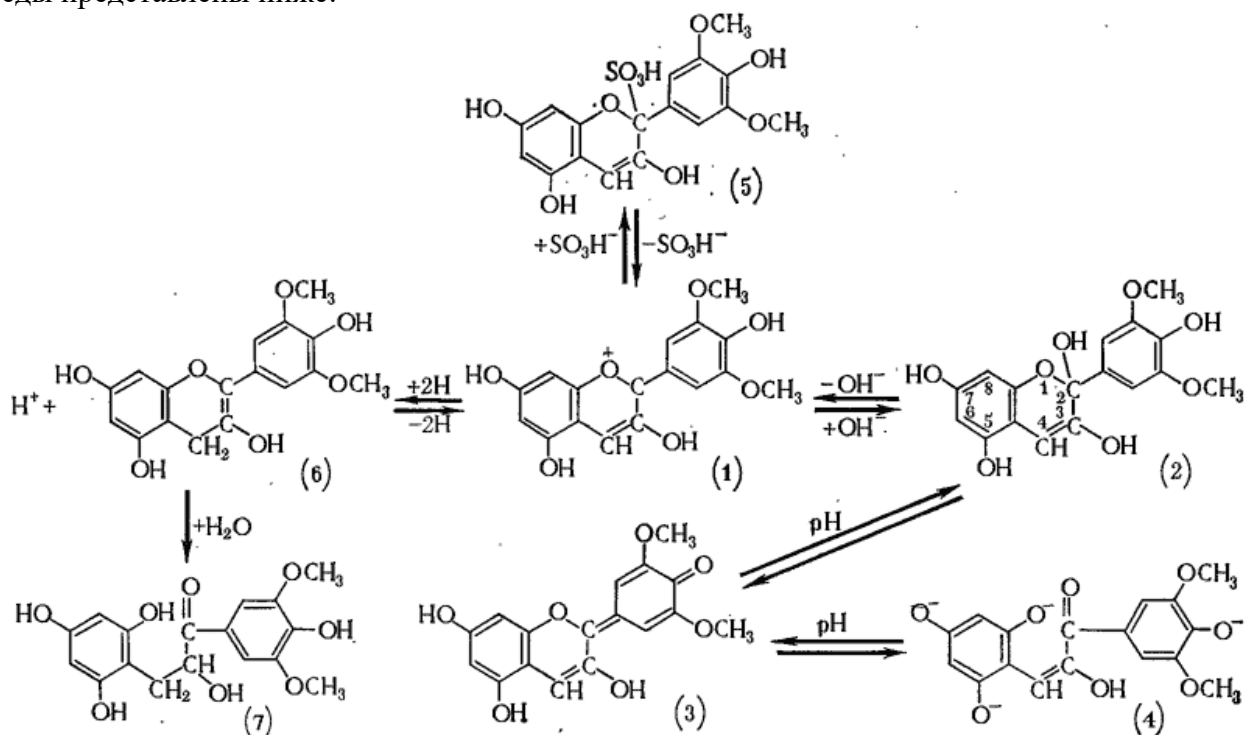


Рис. 7

Цвет антоцианидинов является рН зависимым. Антоцианидиновая система претерпевает различные молекулярные преобразования, связанные с изменением рН. В водных растворах существует пять молекулярных видов химического равновесия антоцианидинов: красная пирилиевая соль, бесцветное псевдооснование, синяя хиноидная форма, пурпурный фенолят желтый халкон.

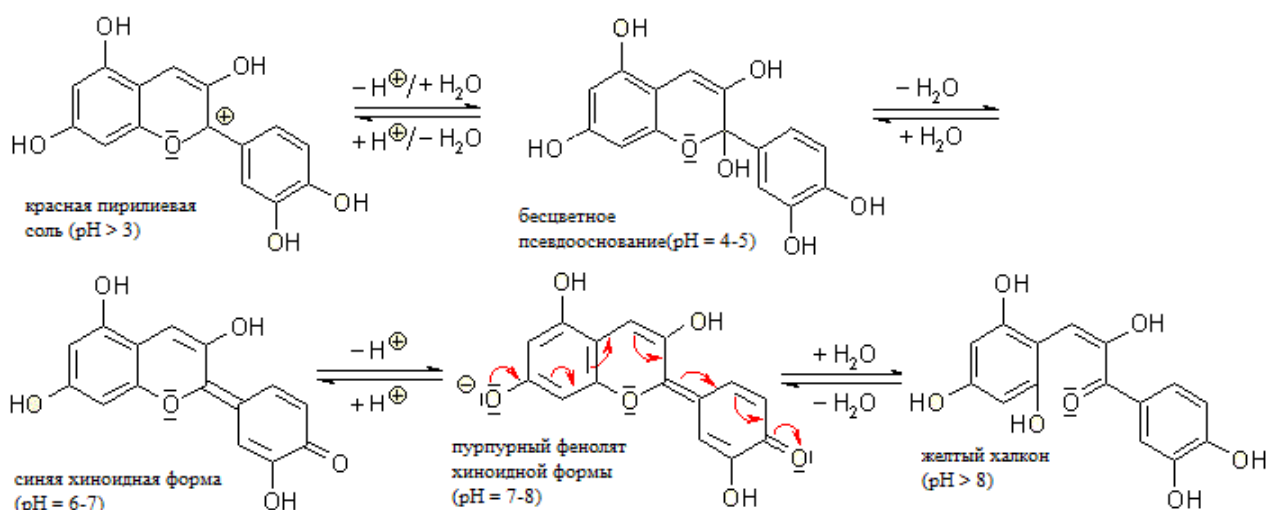


Рис. 8. Пять молекулярных видов химического равновесия антоцианидинов.

На кислых pH = 1-3, антоцианидин существует преимущественно в виде красной пирилиевой соли. Увеличение pH приводит к снижению интенсивности цвета, так как первая форма подвергается гидратации, вследствие которой получается бесцветная. Из-за нуклеофильной атаки воды на 2-положение антоцианидинового скелета и быстрой потери протона у флавилиевых катионов равновесие смещается в сторону синей хиноидной формы при pH < 7 и к пурпурному феноляту хиноидной формы при pH < 8. При дальнейшем увеличении pH получается светло-желтый халкон. Данное превращение происходит за счет открытия центрального кольца. Цвета щелочным растворам могут быть возвращены путем изменения pH к кислой. Антоцианидиновая форма равновесия переход к состоянию, где концентрация красных ионов флавилиевого катиона преобладает. Однако, если значение pH слишком высоко и неустойчивая ионная форма халкона уже сформирована, восстановление в форму красной пирилиевой соли не может быть достигнуто путем простого повторного подкисления. В этом случае халкон преобразуется в дикетон за счет кето-енольной таутомерии.

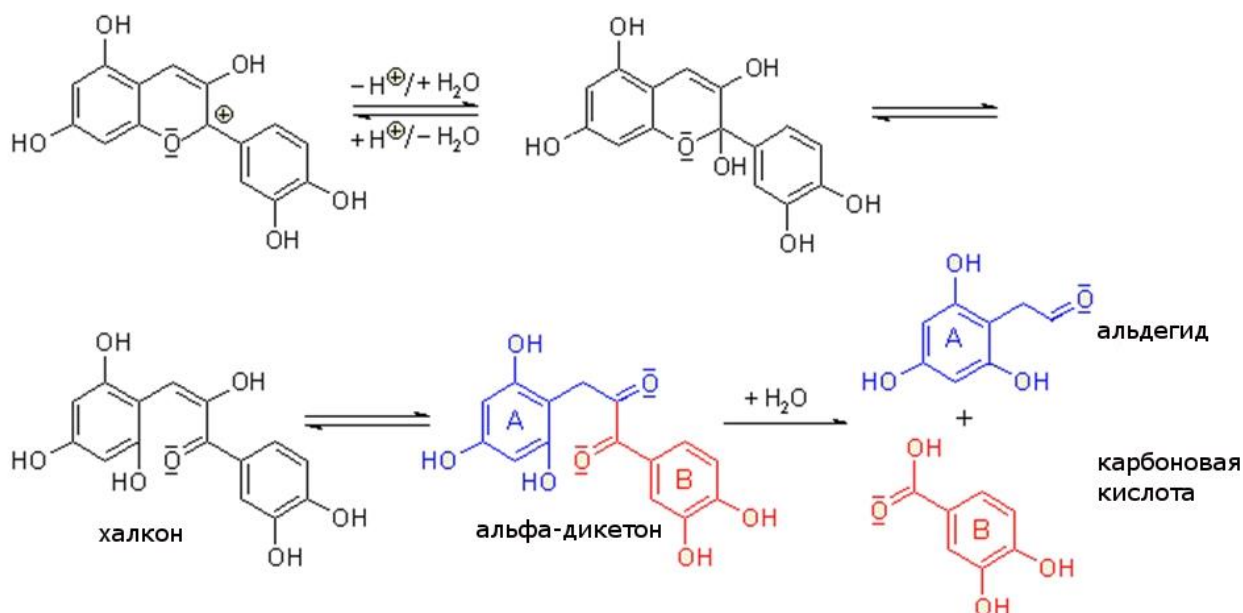


Рис. 9. Общая схема преобразования халкона.

Хорошо известно, что некоторые металлы, такие как Fe^{3+} и Al^{3+} образуют стабильные глубоконасыщенные цветные координационные комплексы с антоцианами, которые несут дигидроксифенильные структуры в орто-положении В-кольца. Это приводит к батохромным сдвигам¹ в их спектрах поглощения. Комплексы тоже являются рН зависимыми. Они принимают участи как в образовании цветных, так и бесцветной формы. Таким образом, различные факторы, включая концентрацию и природу антоцианидинового равновесия, формы, степени гликозилирования антоцианов, ацилирование, природа и концентрация пигментов, металлические комплексы, внутри- и межмолекулярные механизмы ассоциации – влияют на изменение цвета и его насыщенность.

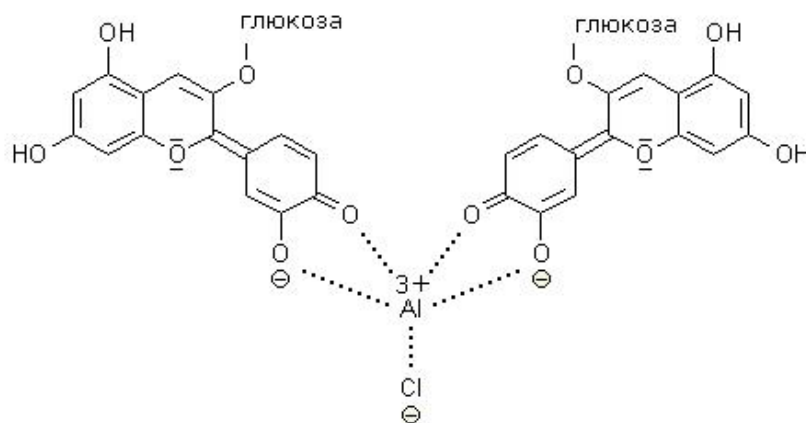


Рис.10. Пример комплекса, образованного металлами и антоцианами.

Из других реакций антоцианидинов особенно важное значение имеют реакции биохимического окисления и восстановления, устанавливающие тесную связь данных красящих веществ с флавонами и катехинами.

Вильштеттер, основываясь на анализах выделенных им из растений пигментов, а также на теоритических построениях, впервые высказал предположение, что антоцианидины происходят от флавонов и родственных им флавонолов путём восстановления жёлтых пигментов и соответствующей перегруппировки атомов в их молекулах.

Вильштеттер и Малисон ещё в 1914 г. Восстановили спиртовой раствор кверцетина при 35° , используя магний и соляную кислоту, и установили, что при этом образуется вещество, идентичное хлористому цианидину. Что касается связи флавонов и антоцианидинов с катехинами, то её удалось подтвердить в 1927 г. путём восстановления кверцетина в эпикатехин, причём промежуточным продуктом являлся цианидин.

Антоцианы выделяют из растительного сырья хроматографией или экстракцией 1%-ным раствором HCl в метаноле. Синтезируют из полигидроксибензальдегидов:

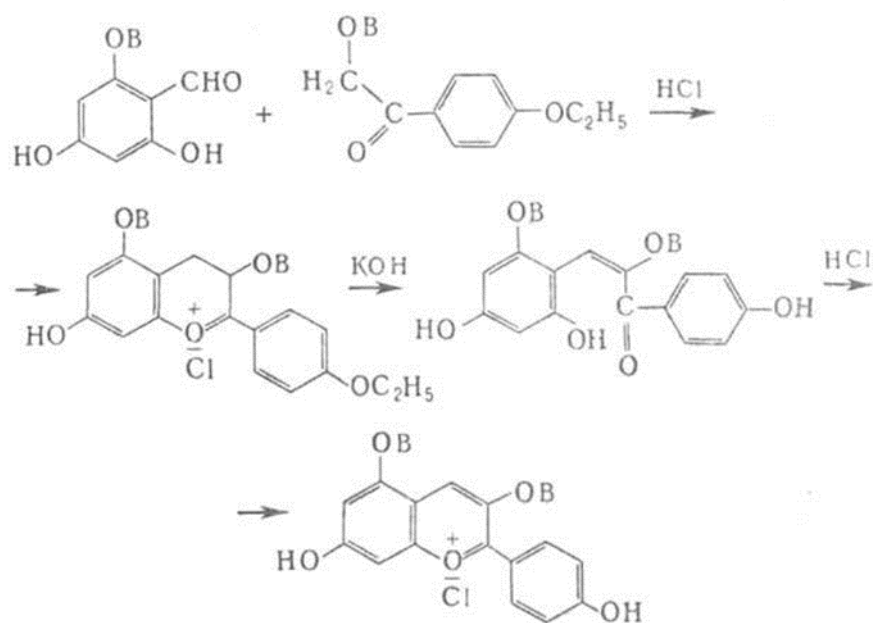


Рис. 11. Синтез из полигидроксибензальдегидов (В - остаток тетраацетилглюкозы)

Факторы, влияющие на цвет антоцианов

В какой цвет окрасят растение антоцианы, зависит от многих факторов. В первую очередь окраску определяют структура и концентрация антоцианов (она повышается в условиях стресса). Голубой или синий цвет имеют дельфинидин и его производные, красно-оранжевый — производные пеларгонидина, а пурпурно-красную — цианидина (рис. 12). При этом голубой цвет обуславливают гидроксильные группы (рис.13), а их метилирование, то есть присоединение CH_3 -групп, приводит к покраснению (рис.14).

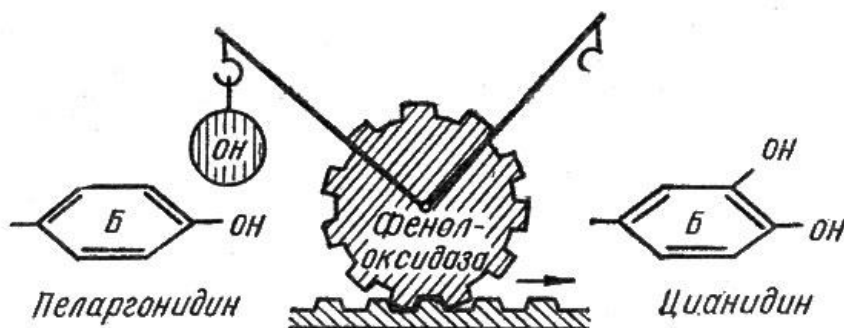


Рис. 13. Схема гидроксилирования антоцианов, в результате чего усиливается их синяя окраска

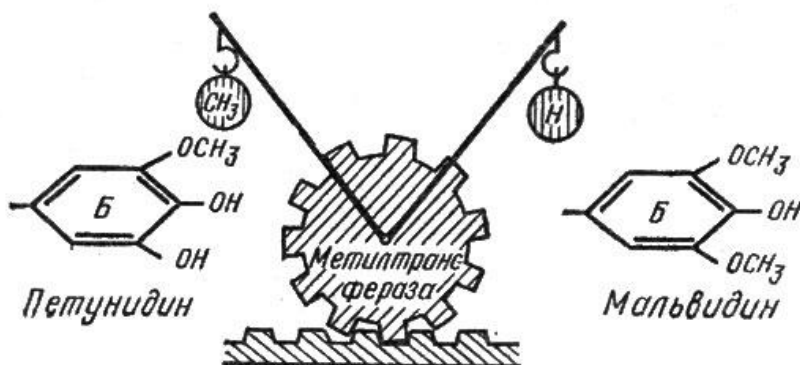


Рис. 14. Схема метилирования антоцианов, в результате чего усиливается их красная окраска

Кроме того, пигментация зависит от pH в вакуолях, где накапливаются антоциановые соединения. Одно и то же соединение в зависимости от сдвига в величине кислотности клеточного сока может приобретать различные оттенки. Так, раствор антоцианов в кислой среде имеет красный цвет, в нейтральной — фиолетовый, а в щелочной — желто-зеленый. Увеличение вакуолярной pH в лепестках цветов связано с активным транспортом Na^+ и/или K^+ из цитозоля в мембрану вакуоли через натрий-калиевый канал. Эта систематическая транспортировка ионов поддерживает слабощелочную pH вакуоли, производя небесно-голубые лепестки.



Рис. 15. Изменение окраски раствора антоцианов, выделенных из краснокочанной капусты, при изменении pH раствора от 1 до 10 (слева направо).

Однако pH в вакуолях может варьировать от 4 до 6, и, следовательно, появление синей окраски в большинстве случаев нельзя объяснить влиянием pH среды. Дополнительные исследования показали, что антоцианы в клетках растений присутствуют в виде комплексов с ионами металлов, которые как раз и имеют синюю окраску. Комплексы антоцианов с ионами алюминия, железа, магния, молибдена, вольфрама, стабилизированные копигментами (в основном флавонами и флавонолами), называются металлоантоцианинами (рис. 16).



Рис. 16. Схема образования металлоантоцианина из шести молекул антоциана, флавона и двух ионов металла. *Справа* приведена пространственная структура протоцианина, выделенного из лепестков василька

Обычно взаимодействие с одновалентными катионами усиливает красную окраску, а с двухвалентными — синюю. У некоторых растений комплексные соединения антоцианов с молибденом имеют фиолетовый цвет, с железом — синий, с никелем и медью — белый. Увеличение содержания отдельных элементов в почве способно повлиять на окраску лепестков венчика.

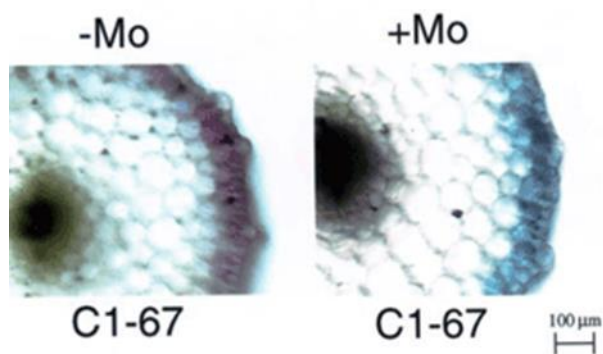


Рис. 17. Поперечный срез корней горчицы, росших в среде с молибденом (+Mo) и без него (-Mo). Данный вид растения накапливает антоцианы в эпидермисе корня, которые с ионами молибдена образуют комплексы, меняя при этом цвет с пурпурного на синий

На способности растений изменять свой внешний вид в зависимости от химического состава почвы и воздуха основан биогеохимический метод поиска месторождений полезных ископаемых. В зонах рудных месторождений из почвы в растения поступают и накапливаются в них повышенные количества элементов, образующих рудную залежь. Это приводит к появлению у растений отклонений в форме, окраске листьев и цветков.

У эшшольции калифорнийской повышенное содержание меди в почве изменяет оранжевый цвет лепестков на сизый, а цинка — на лимонно-желтый. (рис. 18) Мак, растущий на свинцово-цинковом месторождении, изменяет форму лепестков (рассеченная форма вместо цельной), а на молибденовом месторождении на его ярко-красных лепестках появляются красивые черные пятна. Никель обесцвечивает цветки сон-травы. Есть растения-индикаторы, которые растут только на почвах, богатых тем или иным химическим элементом. Например, на Алтае один из видов качима является индикатором меди. В Америке есть «свинцовая трава», растущая над залежами свинцовой руды.



Рис. 18. Эшшольция калифорнийская: (а) повышенное содержание меди в почве, (б) нормальный цвет, (в) повышенное содержание цинка в почве

Локализация антоцианов в тканях растений и форма клеток эпидермиса тоже имеют значение, поскольку определяют количество света, достигающего пигментов, а следовательно, интенсивность окраски. Показано, что цветки львиного зева с эпидермальными клетками конической формы окрашены ярче, чем цветки мутантных растений, клетки эпидермиса которых не могут принять такую форму, хотя и у тех и других растений антоцианы образуются в одном и том же количестве.

Итак, какую именно окраску будет иметь растение, зависит от следующих факторов:

- структуры и концентрации антоцианов;
- pH в вакуолях, где они накапливаются;

- наличия ко-пигментов, стабилизирующих антоциановую окраску;
- наличия ионов металлов (алюминия, железа, магния, молибдена, вольфрама), с которыми антоцианы могут образовывать комплексы, меняя свой цвет на голубой. В этом случае очень показательным является пример образования комплекса антоцианов корня горчицы с ионами молибдена;
- локализации антоцианов в тканях растений и формы клеток эпидермиса.

Антоцианы в качестве индикатора

В лабораторной практике антоцианы могут иметь практическое значение в качестве общедоступных индикаторов.

Антоцианы содержатся в вакуолях клеток растений, где поддерживается постоянный рН. Для того чтобы получить индикатор требуется извлечь их из клетки. Существует несколько способов сделать это: с помощью механического воздействия (разрезать), с помощью теплового шока (отварить), с помощью экстрагирования (лучше всего использовать полярный растворитель).

В качестве сырья лучше всего использовать лепестки или зрелые плоды. В то же время можно использовать заготовленные на зиму варенья, компоты, которые сохраняют окраску раствора, например, черную смородину, малину. Некоторые сорта чая тоже являются индикаторами. Неплохо подходят различные соки (желательно свежеприготовленные), например, из винограда или вишни. К сожалению, из-за неустойчивости антоцианов, отвары быстро плесневеют и скисают, поэтому готовить такие индикаторы надо непосредственно перед работой с ними.

Кроме того, для использования индикаторов из природного сырья нужно знать, что некоторые индикаторы можно использовать только один раз, так как после первого же изменения разрушаются и перестают реагировать (цветки кипрея), а другие – многократно (к примеру, экстракт цветов колокольчика).

Спиртовая вытяжка красной капусты имеет красно-фиолетовый цвет и изменяет свою окраску в зависимости от рН среды: рН 4-5 – розовая, рН 2-3 – красная, рН 7 – синяя, рН 8 – зелёная, рН 9 – жёлтая, рН 10 – жёлто-зелёная, рН выше – жёлтая. В красной капусте содержится антоциан, хлорид которого имеет состав $C_{28}H_{33}O_{16}Cl$ и по формуле строения представляет хлорид 5, 3', 4' – триокси – 7 – метоксифлавилия с $C_{12}H_{21}O_{10}$ в положении 3.

Спиртовой вытяжкой можно пропитать фильтровальную бумагу, и она приобретёт при этом синий цвет. Пигмент извлекают водой и осаждают спиртом. В качестве индикатора применяют 0,5%-ный водный раствор пигмента, причём на каждый 20 мл титруемой жидкости добавляют 2-4 капли раствора индикатора. В нейтральной среде окраска раствора синяя, в кислой – розовая, а в щелочной - зелёная.

А. Р. Ветчинкин занимался изучением вопроса о применении антоцианов и антоцианидинов в качестве индикатора. Изменение окраски антоцианов и антоцианидинов в зависимости от рН среды вытекает из особенности строения флавилия и его производных.

Наличие четырёхвалентного кислорода определяет способность антоцианов и антоцианидинов реагировать в качестве оснований и давать устойчивые соли с органическими и минеральными кислотами, имеющими красную окраску. Фиолетовая окраска антоцианидинов определяется образованием оснований или же внутренних оксониевых солей. В присутствии щёлочи антоцианидины, благодаря имеющимся фенольным гидроксилам, способны образовывать соли синего цвета, причём синяя окраска быстро переходит в жёлтую и зелёную

Отношение антоцианидинов и их гликозидов – антоцианов – к различным кислотам и щелочам было изучено на разнообразных растительных объектах. Для исследования использовались антоцианы свежих ягод вишни, клюквы, чёрной смородины, малины. Из овощей, содержащих антоцианы, брались красная капуста, кожура красного редиса и красная столовая свёкла. Изучались также, антоцианы тюльпанов, примулы, флокса, ириса, розы и др.

Устойчивость антоциановых красящих веществ и условия разрушения антоцианов

Гораздо большее значение, чем непосредственное применение антоцианов, имеют сведения об изменениях антоцианов при технологических процессах переработки плодов и овощей, о их влиянии на коррозию металлической тары и формирование окраски законсервированного пищевого продукта.

Режим нагревания, кислотность среды, световые воздействия, окисление, ферментативные процессы, характер компонентов пищевого продукта и присутствие солей различных металлов – всё это оказывает сильное воздействие на антоцианы и отражается на качестве плодовоовощных консервов, джемов, варенья, фруктовых соков и морсов, виноградных вин, плодово-ягодных настоек и других окрашенных антоцианами пищевых продуктов.

Кроме возможного ухудшения цвета пищевого продукта и накопления солей тяжёлых металлов, происходит уменьшение витаминной активности антоцианов, которые обладают полезным для человека биологическим действием.

Ламором выделены и изучены красящие вещества ягод чёрной смородины, малины, вишни, садовой земляники и определена скорость разрушения антоцианидинов при нагревании. Наиболее стойким является пеларгонин – красное красящее вещество земляники. Стойкость других пигментов постепенно уменьшается от их цвета – от оранжевого к фиолетовому.

Марканис, Ливингстон, Феллерс провели количественное изучение процесса разложения под влиянием различных факторов чистых растворов пелартонидин-3-моноглюкозида.

В присутствии кислорода и аскорбиновой кислоты при рН 2-3,4 и температуре 45-110° разложение пигмента ускоряется. Обработка земляничного сока ферментами, вызывающими окисление аскорбиновой кислоты, удаление кислорода и хранение соков в атмосфере азота увеличивает стойкость окраски земляничного сока. Кратковременное нагревание сока при высокой температуре разрушает пигмент в меньшей степени, чем обычный режим пастеризации (*Процесс однократного нагревания чаще всего жидких продуктов или веществ до 60 °С в течение 60 минут или при температуре 70-80 °С в течение 30 минут*) в условиях более низкой температуры. Добавление кварцетина к растворам красящего вещества повышает его стойкость.

А.А. Колесник, Н.А. Базанов провели исследование 5 сортов свежих и переработанных ягод чёрной смородины и установили, что дубильные вещества (*группа разнообразных и сложных по составу растворимых в воде органических веществ ароматического ряда, содержащих гидроксильные радикалы фенольного характера*) представляют собой катехины. Из флавонов имеется кверцитрин, а антоцианы состоят из дельфинидина, цианина и их производных. Содержание дубильных и красящих веществ, составляющие в свежих ягодах 0,39-0,43% на сырой вес, снижается в результате тепловой обработки ягод до 0,10-0,23%; при замораживании свежих ягод с сахаром содержание указанных веществ не изменяется.

Е.Г. Кротов и А.Г. Тертилова установили, что потеря розового цвета вареньем из розы при хранении связана с разрушением антоцианов, а потемнение происходит в результате образования меланоидинов. Эти процессы более интенсивны в присутствии кислорода и при повышенной температуре хранения. Увеличение кислотности добавлением лимонной кислоты в начале варки варенья способствует лучшему сохранению антоцианов.

М.Л. Фрумкин, Л.П. Ковальская, Е.В. Дорофеев показали, что характер изменений и превращений антоцианов земляники, малины, чёрной смородины, вишни и сливы при

стерилизации теплом и ионизирующими излучениями качественно одинаков, но содержание оставшихся антоцианов всегда выше при стерилизации теплом.

В. И. Рогачёв и др. установили, что красящие вещества свёклы с максимумом поглощения при 470-480 нм полностью исчезают при тепловой обработке и в значительной мере сохраняются при облучении.

Разрушение антоцианов происходит гораздо быстрее в атмосфере воздуха, чем в вакууме. Сильно разрушаются антоцианы под влиянием света, даже в отсутствие кислорода воздуха. Повышение концентрации аскорбиновой кислоты в соках оказывает отрицательное воздействие на антоцианы, в то же время для аскорбиновой кислоты они являются защитным агентом.

Антоцианы менее устойчивы, если плодовые соки хранят в таре из полиэтилена и полипропилена, а не в стеклянной таре, что связывают с проницаемостью полимерных материалов для кислорода воздуха. Различия в изменении цвета плодовых соков зависят от содержания антоцианов, аскорбиновой кислоты, дубильных веществ и т.д. Предполагают, что разложение антоцианов происходит главным путём самоокисления.

Таким образом, во избежание нежелательных изменений внешнего вида пищевых продуктов, содержащих антоцианы, рекомендуется: не допускать соприкосновение продукта с металлами (исключая нержавеющую сталь) в процессе производства; максимально сокращать продолжительность тепловой обработки продукта, предпочитая обработку при более высокой температуре в течение короткого времени с последующим быстрым охлаждением; удалять кислород из продукта и верхнего незаполненного пространства тары.

Аналитические методы получения, идентификации и количественного определения антоцианов

Приёмы выделения антоцианов в виде хлоридов, обладающих свойством растворяться в метиловом спирте и осаждаться избытком эфира, рекомендованы Вильштеттером, Миггом, Больтенем, Видмером, Каррером и другими исследователями. Эти методы хотя и позволяют получить достаточные количества красящих веществ, необходимые для химического анализа, но отличаются длительностью, осложнены многочисленностью операций по перекристаллизации красящих веществ и не всегда обеспечивают достаточное разделение смеси близких друг к другу по свойствам красящих веществ.

Эти недостатки были устранены введением в практику исследований природных красящих веществ хроматографического метода М.С. Цвета и метода электрофореза на бумаге.

В многочисленных работах по выделению, разделению, идентификации и количественному определению антоцианов, содержащихся в различных объектах, в настоящее время использованы приёмы хроматографии на бумаге и на колонках из разных адсорбентов.

Для бумажной хроматографии химии-аналитики пользуются специальной хроматографической бумагой, но может подойти и обычная фильтровальная бумага. Необходимо взять квадратный листок бумаги и в середину капните исследуемый раствор, содержащий смесь окрашенных веществ. На бумаге образуется пятно. В центр его нужно капнуть несколько капель растворителя (например, спирт), и он, словно по фитилю, продвигаясь между бумажных волокон, разнесёт окрашенные вещества от пятна во все стороны. В зависимости от природы вещества и его молекулярной массы опыт идёт быстрее или медленнее, но рано или поздно на листе оказывается несколько колец разного цвета. Сколько именно колец – зависит от того, сколько веществ было в анализируемой смеси.

Вариант опыта с тонкослойной хроматографией: пластинку с исследуемым веществом ставят наклонно в стакан, на дно которого налито совсем немного растворителя – так, чтобы он смачивал немного крахмал. Растворитель (спирт) будет подниматься по крахмалу, дойдёт до капли смеси, продвинется ещё выше, а смесь при этом разделится на компоненты: они по-разному удерживаются адсорбентом – крахмалом.

Не менее распространена в лаборатории колоночная хроматография, при которой смеси разделяют в колонках, заполненных сорбентом. Такой метод, пожалуй, ещё точнее, но он требует терпения, поскольку раствор в колонке движется медленно.

Хроматографической колонкой может служить стеклянная трубка диаметром около 1 см и длиной примерно 20 см. Необходимо закрыть ватой её нижний конец и всыпать крахмал или сахарную пудру чуть больше, чем наполовину. Сверху нужно влить в трубку раствор исследуемого вещества, желательна не слишком высокая концентрация. Когда раствор пропитает крахмал или пудру в колонке примерно на половину его высоты, необходимо влить 3-4 мл чистого растворителя. Смесь разгонится по высоте колонки, станут отчётливо видны окрашенные кольца. Их будет столько, сколько веществ входит в состав изучаемой смеси.

При колонковой хроматографии антоцианов в качестве адсорбента используется гипс, углекислый кальций, окись алюминия, а в качестве растворителей – тёплый водный раствор соляной кислоты, изопропиловый спирт, метанол – 1%-ная соляная кислота.

Для разделения антоцианов, антоцианидинов, лейкоантоцианов методом бумажной хроматографии предложены следующие смеси: уксусная кислота – соляная кислота – вода (3:1:8 и 30:3:10); н-бутанол – уксусная кислота – вода (6:1:2 и 10:1:3); м-крезол – уксусная кислота – вода (50:2:48); 90%-ная муравьиная кислота – 3н соляная кислота (1:1).

В отдельных методах выделения антоцианов применяют сочетание приёмов осаждения антоцианов солями свинца и олова или пикриновой кислотой с приёмами хроматографического анализа.

Методы количественного анализа антоцианов разработаны в меньшей степени, чем для флавонов. Исключение составляют лишь методы, разработанные применительно к определению антоцианов в красных виноградных винах.

А.Р. Ветчинкин установил, что для выделения антоцианов из растительных вытяжек может быть использована их способность осаждаться при действии кристаллического двухлористого олова. Устойчивые оловянные комплексные соединения антоцианов, образующиеся при этом, отделяются от раствора и могут в сухом состоянии неограниченное время сохранять красящее вещество в связанном состоянии. Путём разложения кислотами в водной или спиртовой среде получают красные растворы антоцианов или антоцианидинов, подвергающиеся дальнейшей очистке хроматографическим методом.

Абэ, Хаяси предложено для разделения антоцианов методом хроматографии на бумаге использовать растворитель уксусная кислота – соляная кислота – вода (3:1:8). Показано, что при действии кислот диглюкозиды разлагаются ступенчато с образованием моноглюкозидов и затем антоцианидинов. Кроме того, ими изучен методом хроматографии на бумаге состав антоцианов в красной осенней листве (от оранжево-красной до фиолетово-красной) 74 видов растений, представляющих 25 семейств. Свежесобранные красные осенние листья экстрагировали (*разделять смесь жидких или твёрдых веществ с помощью растворителя, в котором составные части смеси неодинаково растворимы*) подкисленным метанолом и экстракты хроматографировали на бумаге. Антоцианы элюировали (*извлечение вещества из твёрдого носителя вымыванием его подходящим растворителем*) метанолом, содержащим 5% уксусной кислоты. Элюат (до и после гидролиза 20%-ной соляной кислоты при 7-90°) вновь хроматографировали. Основным антоцианом в осенней листве оказался хризантемин (цианидинмоноглюкозид), у отдельных семейств обнаружены также гликозиды дельфинидина и пеонидина; последние, возможно, находятся в листьях в форме лейкоантоцианов, так как появляются на хроматограмме после кислотного гидролиза экстрактов. Ацилированные антоцианы не обнаружены.

Определение антиоксидантной активности

Антоцианы являются сильными антиоксидантами, нейтрализуют действие свободных радикалов, подавляют рост опухолей, благотворно действуют на организм человека. Поэтому овощи и фрукты ярких цветов считаются полезными для организма. Добавка E163, в силу природных свойств антоцианов, способствуют уменьшению ломкости капилляров, улучшают состояние соединительных тканей, помогают предотвратить и лечить катаракту и в целом оказывают благотворное влияние на организм человека.

Сейчас во всём мире ведётся множество исследований по изучению действия антоцианов. Так, например, недавние исследования в США показали, что употребление антоцианов в пищу помогает сократить риск заражения раком пищевода и прямой кишки. Другие исследования говорят, что антоцианы способствуют снижению воспалительных процессов в организме.

Антиоксидантное действие большинства биологически активных соединений связано с их способностью легко окисляться, отдавая электрон или атом водорода, что положено в основу определения индивидуальных восстановителей по их воздействию на окислительно-восстановительную систему, содержащую комплексные соединения ионов переходных металлов: Fe(III) – 2, 2' дипиридил, Fe(III) – трипиридилтриазин, Fe(III) – ферроцин, Cu(II) – неокупроин, Ru – 2, 2' дипиридил.

Анализ литературных данных показал, что существующие в настоящее время методы определения антиоксидантной активности в большинстве случаев основаны на способности антиоксидантов взаимодействовать со свободными радикалами. Для оценки антиоксидантной активности индивидуальных веществ и реальных объектов обычно используют радикалы, образующиеся в процессе окисления липидсодержащих субстратов либо генерируемые в различных системах (Fe(III) – H₂O₂, гипоксантин – ксантиноксидаза, пероксидаза хрена - H₂O₂) радикалы OH·, O·₂.

Методы, основанные на ингибировании (*замедление течения, или полное прекращение течения какой-либо химической реакции*) антиоксидантами окисления липидов, дают более достоверные результаты, поскольку характеризуют способность исследуемого объекта подавлять свободнорадикальные окислительные процессы в организме. Однако данные методы являются длительными и трудоёмкими, а полученные результаты плохо воспроизводимы и зависят от многих параметров: природы окисляемого субстрата, концентрации инициатора, начальной скорости окислителя.

Антиоксидантная активность обусловлена числом и расположением функциональных групп, способных легко отдавать атом водорода (-OH, -SH, -NH), наличием сопряжённых двойных связей, а также пространственной структурой молекул. Так, кверцетин, который имеет две 3' и 4' гидроксильной группы в орто-положении кольца В и одну в 3 положении кольца С является более эффективным антиоксидантом, чем его гликозид рутин, активная 3 – OH группа которого замещена сахарным остатком (рутинозой). Кроме того, наличие гликозидного остатка приводит к изменению пространственного положения молекулы, что также является причиной более низкой антиоксидантной способности гликозидов по сравнению с агликонами. Различие в восстановительной способности цистеина и трипептида глутатиона, по-видимому, также обусловлено пространственной структурой их молекул.

Таким образом, проанализированные данные литературы показывают, что антоцианы обладают многими полезными свойствами, в том числе высокой антиоксидантной активностью. Они имеют широкое применение в пищевой, текстильной и фармацевтической промышленности. Но ввиду того, что они являются крайне неустойчивыми, зависят от pH, температуры и условий хранения продуктов, проблема изучения природных антоцианов и стабилизации их структур, синтез аналогов остаётся актуальной и в наше время.

Получение антоциановых пищевых красителей

Для производств, выпускающих конфеты, кондитерские изделия и безалкогольные напитки, требуются разнообразные по цвету безвредные красители. Большую роль до настоящего времени играют многие растительные экстракты, соки и концентраты, содержащие антоцианы.

Работы селекционеров показывают, что можно повысить содержание антоцианов в плодах и вывести сорта растений, которые дают плоды с настолько яркой окраской, что сок их вполне пригоден для подкрашивания изделий кондитерского производства.

В. Реутов предложил, например, получать краску из клюквенных выжимок, которые являются отбросами при выработке из клюквы морса и экстракта, причём из 1 т клюквы на заводах фруктовых вод получается 200 кг отбросов. Антоцианы для окраски пищевых продуктов могут быть иногда получены из отходов при переработке съедобных ягод. Пищевой краситель получают экстрагированием этиловым спиртом клюквенных выжимок с последующим удалением спирта из спиртовой вытяжки. Полученная масса, похожая на густой клюквенный экстракт, добавленная в количестве 5-20 г на 16 кг к кондитерским изделиям и вообще к пищевым веществам, сообщает им цвет в зависимости от рН от розового до ярко-красного. Химический состав такого красителя: воды – 25%, лимонной кислоты – 24%, сахара – 30%, красящих веществ – 21%. 300 кг клюквенных выжимок дают 20 кг краски, заменяющей 1 кг кармина и 4,8 кг лимонной кислоты.

И.Б. Леонов, Н.М. Руднев, Т.Б. Леонов получили авторское свидетельство СССР на способ получения пищевого красителя из виноградных выжимок сортов винограда. Отжатые свежие виноградные выжимки после обработки 0,5-1,5%-ным раствором соляной кислоты (1:1 или 1,5:1) на холоде в чанах в течение 4-12 часов. Или при температуре 40-90° в диффузионных препаратах непрерывного действия в течение 20-30 минут дают тёмно-красный концентрат. Такой пищевой краситель может заменить красный краситель амарант при подкрашивании пищевых продуктов, имеющих рН среды ниже 7.

Из цветов, содержащих антоцианы, для подкрашивания пищевых и вкусовых продуктов и напитков часто используют цветы мальвы, красной розы и мака. Мальва встречается всюду в дикорастущем состоянии, кроме того, чёрная мальва культивируется. Для получения красителя используют сушёные цветы коричнево-фиолетового цвета, содержащие до 11% мальвидина. Экстракт мальвин красно-коричневого и фиолетового цвета получается выщелачиванием цветов водой с уксусной кислотой или 40%-ным раствором спирта, нагретым предварительно до 70° и содержащим лимонную кислоту. Экстракты из цветов мальвы допущены для окраски пищевых продуктов в красный цвет.

Свежие лепестки розы, содержащие антоцианин, употребляются для приготовления розового мёда, варенья, розового уксуса. Содержащиеся в цветках красного полевого мака антоциан употребляется в кондитерском деле в качестве безвредного красителя. В пищевой промышленности используются также ягоды рябины, черники, клюквы, черёмухи, паслена и другие, содержащие антоциановые красящие вещества.

Чтобы полнее удовлетворять потребности пищевой промышленности в натуральных красителях, при закладке садов крупного промышленного значения следует широко использовать работы последователей И.В. Мичурина по выращиванию специальных сортов

растений, дающие плоды с обильным содержанием красящих веществ, пригодные для технической переработки без искусственного окрашивания пищевого продукта.

Влияние антоцианов на внешний вид продуктов и коррозию

А.Р. Ветчинкин занимался изучением вопроса влияния антоцианов и дубильных веществ на коррозию металлов в различных условиях. Установлено, что в слабокислой среде антоцианы вступают в соединение с солями тяжёлых металлов и дают нерастворимые цветные осадки. Коррозия металлов от действия антоцианов и дубильных веществ должна учитываться и устраняться на предприятиях пищевой промышленности, связанных с переработкой плодов и овощей, так как она влияет на накопление солей тяжёлых металлов и изменение окраски антоцианов, вызывая ухудшение качества и даже порчу пищевых продуктов.

Ян, Стил отмечают, что избыточное содержание антоцианов в чёрной смородине ухудшает внешний вид изготовленных из неё джемов, желе, а также вин вследствие образования налёта на стенках бутылок. Частичное удаление пигмента достигается введением в сок ягод фермента антоцианазы в количестве 0,1%, что улучшает внешний вид продуктов переработки.

Рибери-Ганон показал, что антоцианы вина в связи с изменением окислительно-восстановительного потенциала играют важную роль в процессе его старения.

Молекулярно-генетические основы биосинтеза антоцианов

Молекулярно-генетические основы биосинтеза антоцианов изучены достаточно полно, чему немало поспособствовали мутанты различных видов растений с измененной окраской. На биосинтез антоцианов, а следовательно, и на окраску влияют мутации в трех типах генов. Первый — гены, которые кодируют ферменты, участвующие в цепи биохимических превращений (структурные гены). Второй — гены, определяющие транскрипцию структурных генов в нужное время в нужном месте (регуляторные гены). Наконец, третий — гены транспортеров, переносящих антоцианы в вакуоли.

На сегодняшний день все стадии биосинтеза антоцианов и осуществляющие их ферменты известны и подробно исследованы методами биохимии и молекулярной генетики (рис. 20). Из многих видов растений выделены структурные и регуляторные гены биосинтеза антоцианов. Знание особенностей биосинтеза антоциановых пигментов у конкретного вида растения позволяет манипулировать его окраской на генетическом уровне, создавая растения с необычной пигментацией, которая будет передаваться из поколения в поколение.

Антоциановые пигменты эволюционно наиболее древние. По-видимому, они появились у простейших растений — гетеротрофов в процессе эволюции как продукты обмена веществ. С формированием хлоропластов в клетке, образованием фотосинтезирующих пигментов и переходом на автотрофный тип питания локализация и накопление антоцианов закрепились в клеточных оболочках и в клеточном соке вакуолей.

Общеизвестный факт активации биосинтеза антоцианов у растений в стрессовых условиях ещё не получил глубокого физиолого-биохимического обоснования. Возможно, что антоцианы не несут никакой функциональной нагрузки, а синтезируются как конечный продукт насыщенного флавоноидного пути, получившего вакуолярное ответвление с целью конечного депонирования ненужных растению фенольных соединений. С другой стороны, антоциановая индукция, вызванная определёнными факторами окружающей среды, а также предсказуемость появления антоцианинов из года в год в периоды специфических этапов развития листа, их яркая выраженность в особых экологических нишах, возможно, способствуют адаптации растительных организмов к тем или иным стрессовым условиям.

Многие популярные книги неточно указывают на то, что цвет осенних листьев (включая красный цвет) — просто результат разрушения зелёного хлорофилла, который маскировал уже имевшиеся жёлтые, оранжевые и красные пигменты (ксантофилл, каротиноид и антоциан, соответственно). И если для каротиноидов и ксантофиллов это действительно так, то антоцианы не присутствуют в листьях до тех пор, пока в листьях не начнёт снижаться уровень хлорофиллов. Именно тогда растения начинают синтезировать антоцианы, вероятно для фотозащиты в процессе перемещения азота.

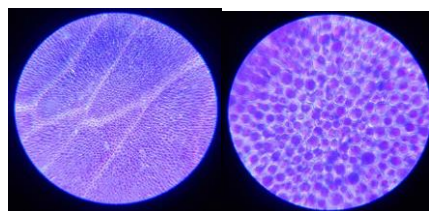


Рис. 19. Антоцианы в вакуоли при плазмолизе кожуры лука

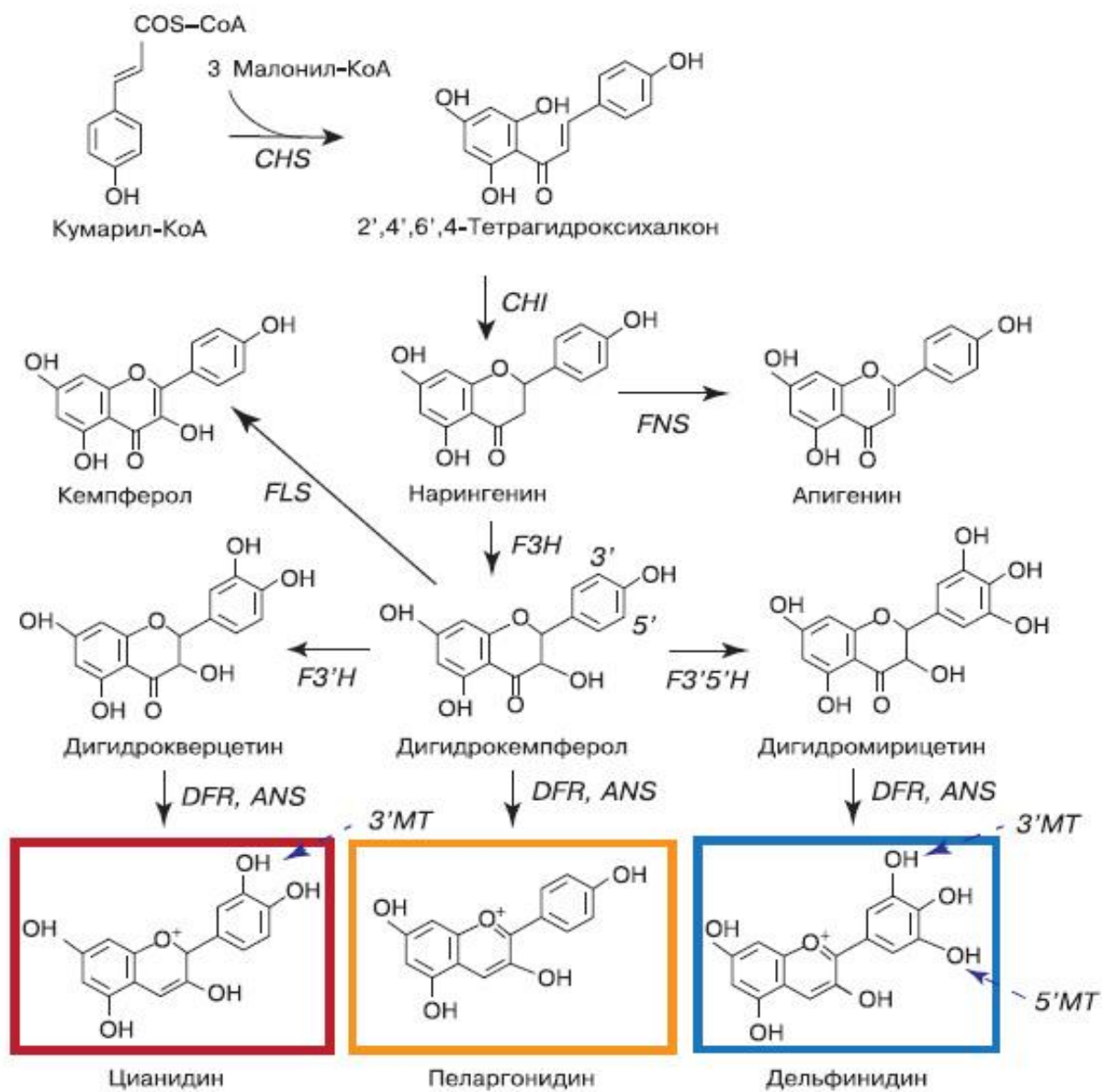


Рис. 20. Биосинтез антоцианидинов: цианидина, пеларгонидина, дельфинидина.

Антоцианидины далее подвергаются реакциям модификации — гликозилированию, ацилированию, метилированию, которые осуществляют гликозилтрансферазы (GT), ацилтрансферазы (AT) и метилтрансферазы (MT). Типичная окраска, которую имеют антоцианы, образующиеся из приведенных антоцианидинов, представлена на рисунке, но она зависит от многих факторов: pH, копигментации с бесцветными флавоноидами, комплексами с ионами тяжелых металлов. Заметьте, что метилированию В-кольца (*синие прерывистые стрелки*) подвергаются антоцианы, а не антоцианидины.

Аббревиатуры: халконсинтаза (CHS); халконфлаванонизомераза (CHI); дигидрофлавонол 4-редуктаза (DFR); флаванон-3-гидроксилаза (F3H); флавоноид-3'-гидроксилаза (F3'H); флавоноид-3',5'-гидроксилаза (F3'5'H); антоцианидинсинтаза (ANS); флавоносинтаза (FNS); флавонолсинтаза (FLS)

Способы модификации цвета у растений

«Горячие точки» для модификации цвета у растений — это главным образом структурные и регуляторные гены. Методы, с помощью которых можно модифицировать окраску растений, делятся на два типа. К первому относятся методы селекции. Выбранный вид растения путем скрещивания получает гены от доноров — растений близкородственного вида, имеющих нужный признак. Сорт картофеля «Чудесник», по словам его автора, заведующей отделом селекции картофеля ГНУ Уральского НИИ СХ, доктора сельскохозяйственных наук Е.П. Шаниной, был создан именно методом селекции.

Еще один яркий пример — это пшеница с пурпурным и голубым цветом зерна, обусловленным антоцианами (рис. 21). В дикой природе пшеницу с пурпурным зерном впервые обнаружили в Эфиопии, где, по всей видимости, и появился данный признак, а затем отвечающие за него гены удалось ввести методами селекции в возделываемые сорта мягкой пшеницы. Пшеница с голубым зерном в природе не встречается, но зато голубое зерно имеет родственник пшеницы — пырей. Скрещивая пырей и пшеницу и ведя отбор по данному признаку, селекционеры получили пшеницу с голубым зерном.



Рис. 21. Пурпурное (слева), голубое (справа) и неокрашенное (в центре) зерно пшеницы

В этих примерах в геном пшеницы были введены регуляторные гены. Иными словами, пшеница имеет функциональный аппарат биосинтеза антоцианов (все ферменты, необходимые для биосинтеза, у нее в порядке). Регуляторные гены, полученные от родственных видов, только запускают у пшеницы «машину биосинтеза антоцианов» именно в зерне.



Рис. 22. Томаты с повышенным содержанием антоцианов в плодах, полученные методом генетической инженерии

Сходный пример, но уже с использованием второй группы методов манипуляции с окраской — методов генетической инженерии — это получение томатов с повышенным содержанием антоцианов. В норме спелые томаты содержат каротиноиды, из флавоноидов у них были обнаружены в небольших количествах 2',4',6',4'-тетрагидроксиалкон и гликозирванный 5,7,3',4'-тетрагидроксифлавонол. Вводя в растения генетическую конструкцию, содержащую регуляторные гены биосинтеза антоцианов львиного зева международная группа ученых получила помидоры с высоким содержанием антоцианов — интенсивного лилового цвета (рис. 22).

Однако не всегда у исследователей под рукой есть такие удобные мутанты, поэтому чаще всего при модификации окраски растений приходится «выключать» ненужную ферментативную активность и «включать» ту, которая нужна. Именно такой подход был применен при создании первой в мире розы с голубой окраской бутонов (рис. 23).

Еще один пример удивительных возможностей, которые открывают перед нами накопленные данные о биосинтезе флавоноидных пигментов в сочетании с методами генетической инженерии, — это получение растений торении с желтыми цветками (рис. 24).

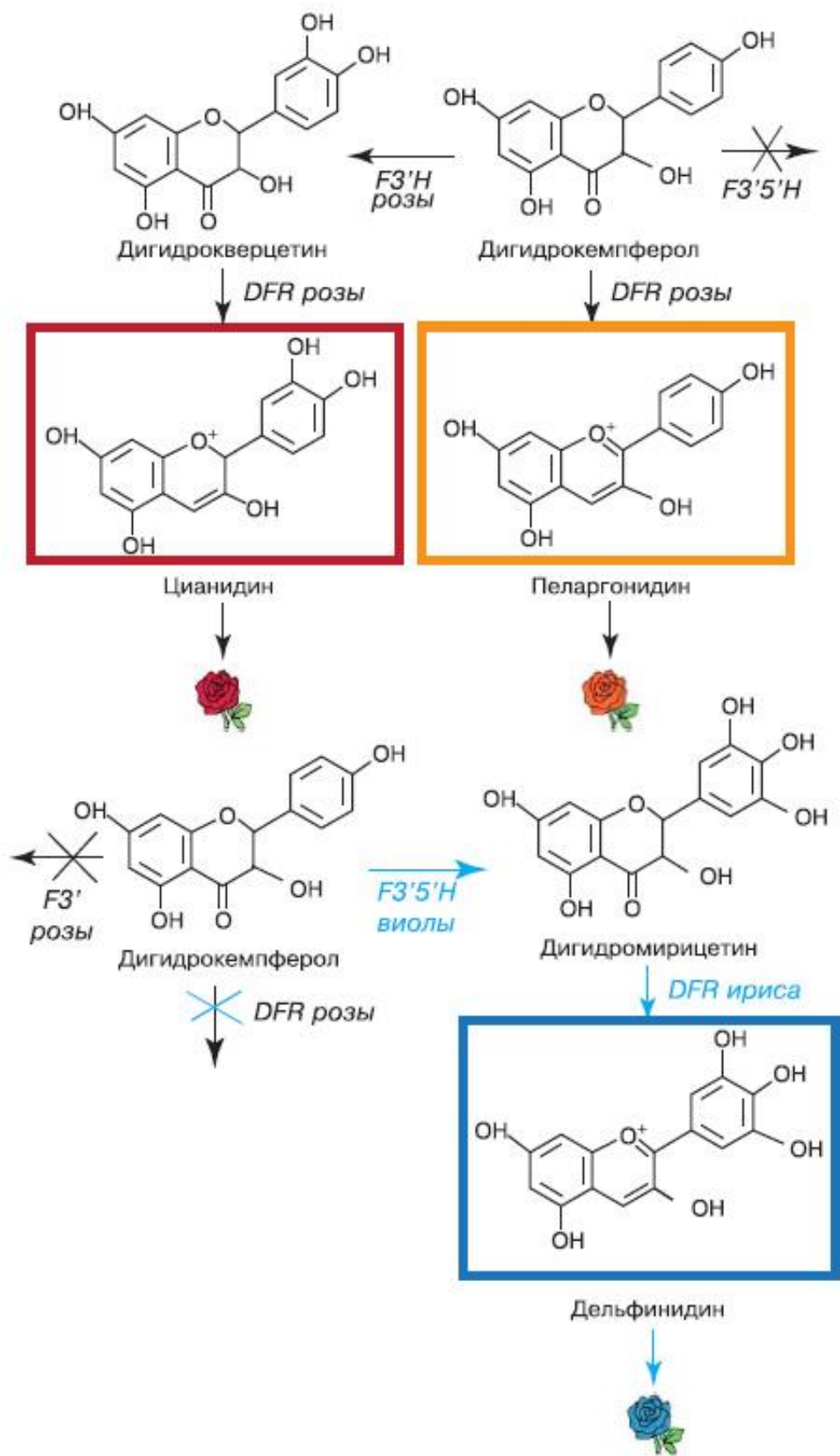


Рис. 23. Схема создания голубой розы. У обычных роз не образуется дигидромирицетин, поэтому в их окраске не бывает оттенков синего. У голубой розы, напротив, отключено образование красных и оранжевых пигментов

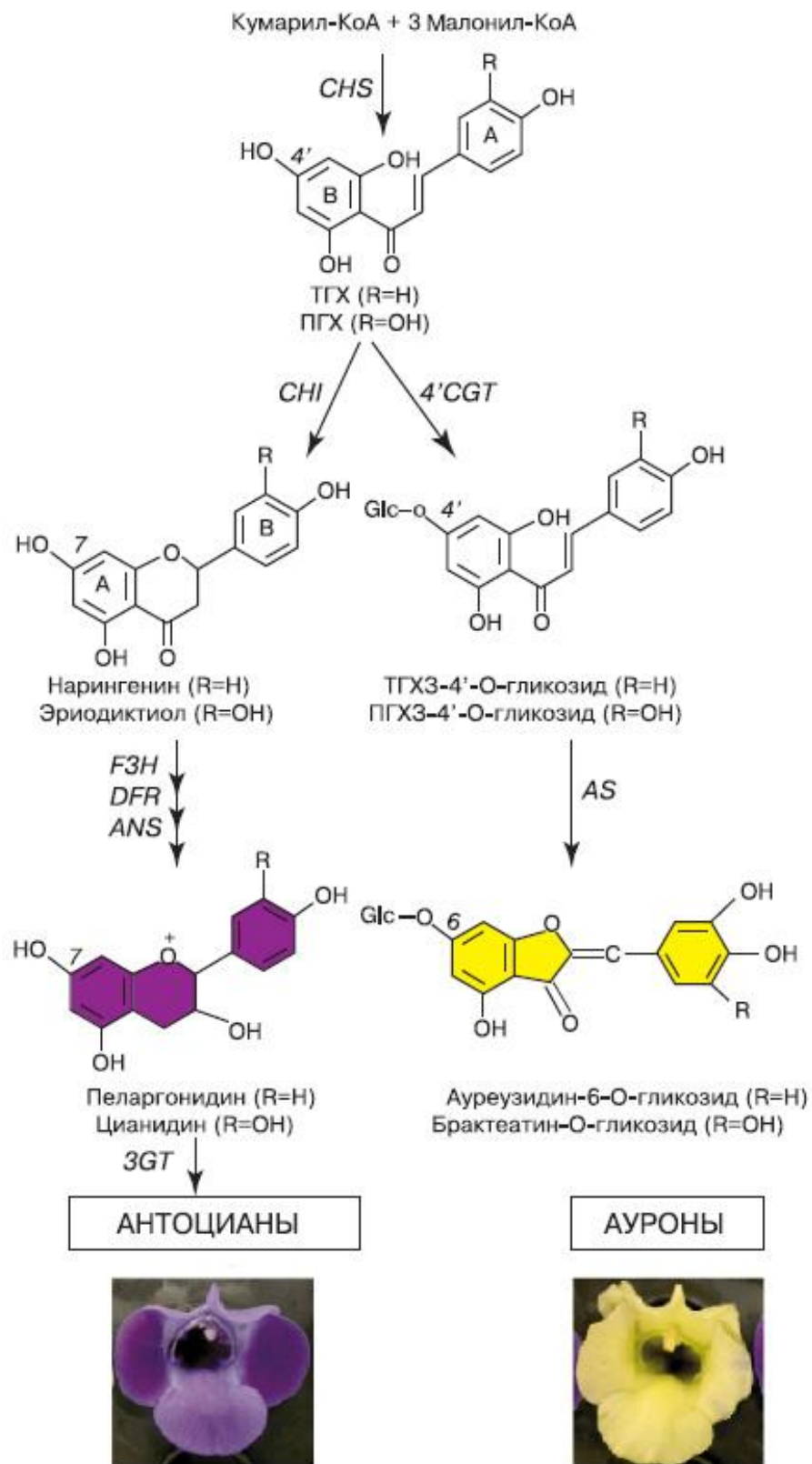


Рис. 24. Схема биосинтеза антоцианов и аурунов. *Снизу* цветки торении обычной, накапливающие антоцианы (*слева*), и трансгенной, накапливающие ауруны (*справа*).
Обозначения: ТГХ — тетрагидроксиалкон, ПГХ — пентагидроксиалкон

Темп жизни современного человека привел к появлению и широкому распространению фастфуда, который, как известно, не отличается особенной пользой. Более того, по мнению Всемирной организации здравоохранения, нездоровые агрономические пристрастия являются одной из причин повышения уровня хронических неинфекционных заболеваний. Однако, несмотря на это, уровень потребления фастфуда растет с каждым годом. В связи с этим большое внимание уделяется поиску и созданию новых пищевых продуктов, которые по скорости приготовления не уступали бы фастфуду, и в то же время были бы полезными для здоровья. Один из примеров этого — фиолетовый попкорн.

Этот попкорн был получен из специальной кукурузы, зёрна которой имеют темно-фиолетовую окраску, обусловленную присутствием в них антоциановых соединений, которым фиолетовый попкорн и обязан своей пользой.

Для создания такого попкорна ничего особенного придумывать не нужно, поскольку уже существует кукуруза, которая может накапливать антоциановые соединения в зерне. Родиной такой фиолетовой кукурузы является Южная Америка, в Перу и Боливии ее широко используют для изготовления традиционного напитка чича-морара (рис. 25) и как источник натуральных красителей.



Рис. 25. Традиционный сладкий неферментированный перуанский напиток чича-морара и фиолетовые чипсы, в изготовлении которых используют фиолетовую кукурузу.

Однако такая фиолетовая кукуруза не может лопаться при нагревании. Поэтому главной задачей итальянских ученых было создать кукурузу, зерна которой сохраняли бы все свойства кукурузы для попкорна и в то же время содержали бы антоциановые соединения.

В качестве одного из родителей они выбрали коммерческий сорт обычной кукурузы, желтые зерна которой могут взрываться при нагревании, а в качестве второго родителя взяли сорт кукурузы, имеющий фиолетовые зерна, но не способный к взрыванию (рис. 26).

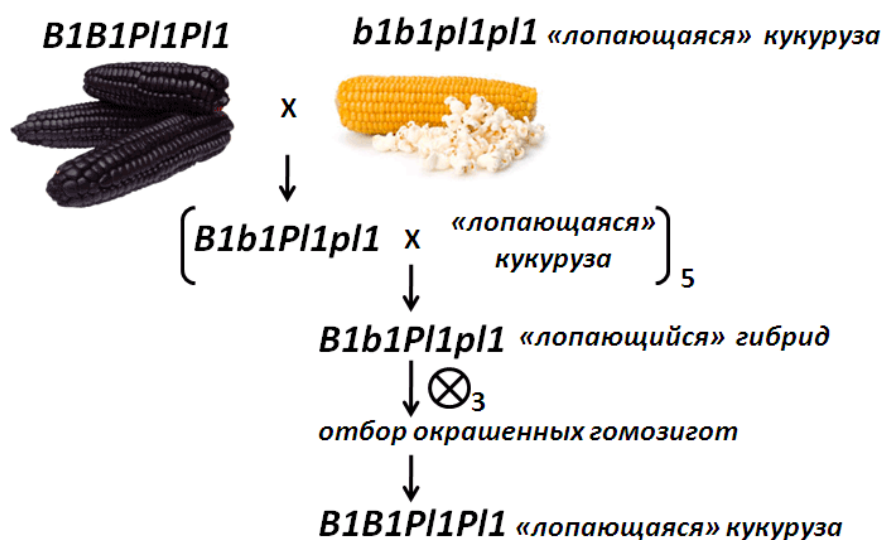


Рис. 26. Селекционная схема получения кукурузы для попкорна с фиолетовой окраской зерна.

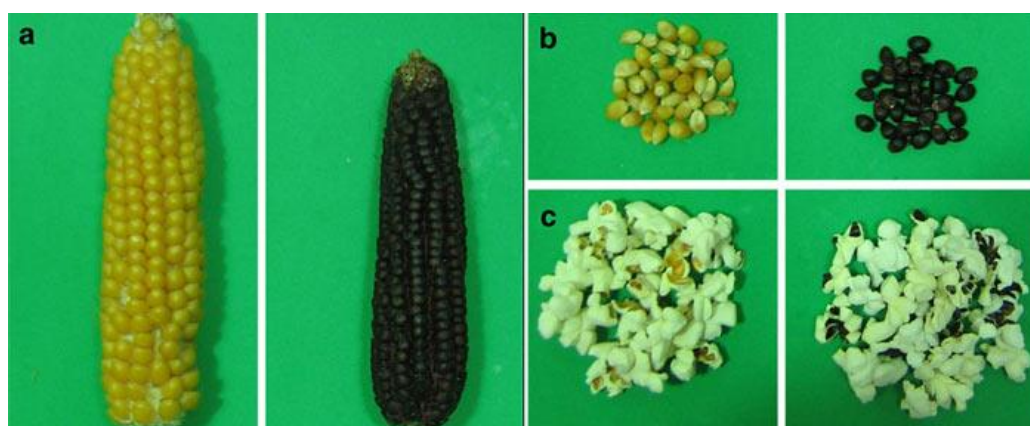


Рис. 27. Початки (a), зерно (b) и хлопья попкорна (c) родительской формы (слева) и кукурузы с фиолетовой окраской зерна, созданной в результате селекции (справа).

Приведенные примеры — это лишь малая доля манипуляций, которые ученые сегодня производят с биосинтезом антоцианов. Все это стало возможным благодаря исследованиям биохимической природы пигментов, а также особенностей их биосинтеза у различных видов растений, как на уровне ферментов, так и на молекулярно-генетическом уровне. Накопленный к настоящему времени багаж знаний об антоциановых соединениях открыл неисчерпаемые возможности для создания декоративных растений с необычной окраской, а также культурных видов растений с повышенным содержанием антоциановых пигментов. И хотя достижения селекции — необычно окрашенные овощи и фрукты — уже сейчас доступны покупателям в некоторых странах, декоративные растения, созданные методами генетической инженерии, пока еще редки. Из-за ряда нерешенных трудностей, таких, например, как стабильность наследования модифицированной окраски, они еще не коммерциализированы (за исключением некоторых сортов петунии, голубой розы, лиловой гвоздики).

Функции антоцианов в растительном организме

Антоцианы — растительные пигменты, которые могут присутствовать у растений как в генеративных органах (цветках, пыльце), так и в вегетативных (стеблях, листьях, корнях), а также в плодах и семенах. Они содержатся в клетке постоянно либо появляются на определенной стадии развития растений или под действием стресса. Последнее обстоятельство навело ученых на мысль, что антоцианы нужны не только для того, чтобы яркой окраской привлекать насекомых-опылителей и распространителей семян, но и для борьбы с различными типами стрессов.

В отличие от каротиноидов, которые появляются в молодой листве одновременно с хлорофиллом — весной и летом, — антоцианы начинают накапливаться только в осенней листве, обычно отличающейся повышенным содержанием растительных углеводов. Осенью с уменьшением светового дня и подготовкой листового дерева к зимовке происходит реадсорбция (*поглощение, всасывание*) наиболее важных для него питательных элементов из листьев в ветви и ствол, что приводит к разрыву связи между хлорофиллом и белками, способствующими процессу фотосинтеза. В свободной, не связанной с белками форме хлорофилл фототоксичен, и воздействие солнечного света на свободный хлорофилл может существенно повредить дереву. Чтобы это не произошло, в растении запускаются процессы, способствующие разрушению хлорофилла, его зеленая окраска исчезает, прекращая маскировать желтые и красные цвета каротиноидов и антоцианов.

Каковы же функции антоцианов в растительном организме? Многие исследователи сходятся в едином мнении о защитной роли антоцианов, предохраняющих растительный организм от губительного действия пониженных температур. Антоцианы поглощают ту часть света, которая в меньшей мере улавливается хлорофиллом, таким образом, как бы согревая "продрогшее" растение, при этом листья и стебли различных растений заметно приобретают красноватый оттенок.

При изменении температуры от 20 °С и выше синие цветки герани краснели, затем розовели и, наконец, обесцвечивались. Постепенное же похолодание придавало лепесткам их первоначальный вид. Характерно, что для каждого интервала температур отмечена была своя индивидуальная гамма оттенков в лепестках цветущей герани. Кроме того, отмечается, что в местностях с более суровыми климатическими условиями растения накапливают в своих органах больше антоцианов. Это особенно касается растительности северных широт, а также альпийской природно-климатической зоны.

Антоцианы принимают участие в дыхании растений в качестве переносчиков электронов от дыхательного материала (жиров, сахаров и др.) на кислород воздуха. Впервые на эту их роль указал известный русский биохимик В. И. Палладин. Принимая участие в дыхании, антоцианы тем самым содействуют обеспечению растительных клеток энергией, поскольку дыхание - это универсальный природный процесс освобождения энергии, заключенной в химических связях окисляемых веществ ("дыхательного материала").

"Антоциановые" растения обладают повышенной стойкостью не только к холоду, но и к кислым газам, которые выбрасываются в окружающую среду промышленными предприятиями. Многие авторы считают, что противодействие вредным газам у красноцветных форм растений основано на способности антоцианов к реакциям ацилирования, т. е. присоединения к своим молекулам различных кислотных остатков. Заметим, что антоцианы сравнительно легко присоединяют такие остатки к ОН-группам, а также к сахарной части молекул. А остатков этих в условиях загазованности воздуха всегда в избытке. Таким образом, наличие антоцианов в листовом аппарате создает своеобразный природный фильтр, предохраняющий растения (да и окружающую среду) от загазованности.

Антоцианы ограждают растительный организм от их поедания животными. Так кролики и овцы предпочитают лакомиться зелеными листьями, оставляя нетронутыми красные. И только крайняя степень голодания вынуждает их поедать листву с антоциановой окраской, если рядом нет зеленого корма. Кроме того, антоцианы цветков играют важную роль в опылении растений, привлекая к себе насекомых-опылителей.

Антоцианы относятся к вторичным метаболитам растений и служат им для защиты от неблагоприятных факторов, прежде всего от ультрафиолетового излучения, поражения вирусными инфекциями и плесенью. Они обладают широким спектром биологического действия и сочетают в себе антиоксидантные, бактерицидные, солнцезащитные свойства, обладают высокой капилляропротекторной (Р-витаминной активностью). Также антоцианы обладают красящими свойствами, то есть являются натуральными красителями.

Польза и вред антоцианов для человека

Поступая в организм человека с фруктами и овощами, антоцианы проявляют действие, сходное с действием витамина Р: они поддерживают нормальное состояние кровяного давления и сосудов, предупреждая внутренние кровоизлияния. Образую комплексы с радиоактивными элементами, антоцианы способствуют быстрому выведению их из организма. Кроме того, эти пигменты способны улучшать зрение.

Антоцианы обладают широким спектром биологической активности. Учитывая, что антоцианы в организме не синтезируются, для профилактики функциональных расстройств важно потреблять не менее 15 миллиграмм соединения в день.

Функции, выполняемые антоцианами:

- активируют обмен веществ на клеточном уровне;
- уменьшают проницаемость капилляров;
- повышают эластичность сосудов;
- укрепляют сетчатку глаза;
- нормализуют внутриглазное давление;
- потенцируют (усиливают) синтез коллагена;
- стабилизируют фосфолипиды клеточных мембран;
- предотвращают налипание холестериновых бляшек на стенки кровеносных сосудов;
- улучшают ночное видение;
- защищают сердечную мышцу от ишемии;
- снижают артериальное давление;
- предотвращают развитие катаракты;
- улучшают состояние соединительных тканей;
- подавляют разрастание злокачественных новообразований;
- повышают антиоксидантную защиту организма;
- предотвращают повреждение структуры ДНК;
- снижают негативное воздействие радиоизлучений и канцерогенных веществ на организм;
- способствуют скорому выздоровлению от респираторных (относящийся к дыханию) заболеваний.

Нехватка гликозидов в организме человека вызывает нервное истощение, депрессию, упадок сил, снижение иммунитета. Лидерами по количеству антоцианов являются ягоды тёмно – фиолетовой и бордовой окраски: черника, ежевика, голубика, черноплодная рябина, ирга, бузина, клюква, чёрная смородина, вишня, малина, виноград (тёмных сортов). Антоцианами богаты баклажаны, свёкла, помидоры, краснокочанная капуста, красный перец, салат листовой (краснолистный). Кроме того, антоцианы в малых количествах содержатся в «светлых» растениях: картофеле, горохе, грушах, бананах, яблоках.

Многообразие полезных свойств антоцианов обуславливает их применение в фармакологических препаратах и биологически активных комплексах (БАДах):

1. «Антоциан форте». Состав: гликозиды черники и чёрной смородины, проантоцианиды косточек красного винограда, цинк, витамины С, В2 и РР.
2. «Концентрат черники». Состав: экстракт черники, календулы, каротиноиды, тиамин(В1), рибофлавин (В2), пиридоксин (В6), цианкобаламин (В12).
3. «УтраФикс». Состав: антоцианы цветков гибискуса.
4. Глазорол. Состав: антоцианы черноплодной рябины и календулы, каротиноидов, аминокислот и витаминов С, В3,В5, В2, В9, В12.
5. «Живая клетка VII». Комплекс состоит из двух препаратов: Антофтама и Каровизина (для утреннего и вечернего приёма). Состав первого препарата: антоцианы черники и спируллины; второго: органические каротиноиды, зеаксантин, лютеин, пигменты плодов шиповника.

Препараты, содержащие антоцианы противопоказаны людям с гиперчувствительностью к данным компонентам. Кроме этого, с осторожностью их применяют в период беременности и кормления грудью, только под контролем лечащего врача.

Использование антоцианов во флористике

Для приготовления цветов фантастической окраски флористы пользуются свойством природных красителей изменять свой цвет под действием среды.

В колбе или стакане необходимо смешать 50 мл медицинского эфира с таким же количеством концентрированного раствора аммиака — это и есть реактив для изготовления фантастического букета. Важно помнить о том, что пары эфира легко воспламеняются, а значит, поблизости не должно быть огня. Кроме того, у обеих жидкостей резкий запах, поэтому опыт надо проводить в вытяжном шкафу или, в крайнем случае, на открытом воздухе.

Цветок, окраску которого собираются изменить, помещают над сосудом со смесью жидкостей. Некоторое время спустя (точное время придется определить на практике для каждого вида цветов) окраска изменится. Обе жидкости летучи. Пары эфира экстрагируют красители цветка из растительных клеток, а пары аммиака создают в лепестках щелочную среду. От этого красители и меняют окраску, подобно лабораторным индикаторам.

Обработав таким способом несколько разных цветков, получают невероятные букеты. Если вы собираетесь удивить необычными цветами своих знакомых, то учтите, что букет следует готовить незадолго до демонстрации, потому что обработанные смесью аммиака и эфира цветы быстро увядают.

Казалось бы, в кислой среде, под действием паров какой-либо кислоты, окраска цветов должна восстановиться. К сожалению, это не так: в цветках идут и необратимые процессы, поэтому восстановить прежний цвет удается далеко не всегда.

Практическая часть

Вводное слово

Все исследования были проведены в лабораторных условиях. Перед собой я поставила цель: изучить химические свойства антоцианов. При этом установила следующие задачи:

1. Приготовить вытяжку антоцианов из разных продуктов;
2. Установить точную шкалу изменения цвета антоцианов в зависимости от кислотности среды;
3. Приготовить индикаторную бумагу из раствора антоцианов;
4. Определить, при каких условиях лепестки цветов могут поменять цвет или обесцветиться;
5. Выявить наличие лейкоантоцианов.

Я провела 6 экспериментов, подробное описание которых представлено ниже.

№1. Выделение антоцианов из свежей краснокочанной капусты

Необходимо:

- лист краснокочанной капусты;
- кипяток;
- 3 стаканчика;
- 1 колба;
- стеклянная палочка;
- фильтровальная бумага;
- воронка;
- пипетка;
- раствор Na_2CO_3 ;
- раствор H_2SO_4 .

Ход работы:

1. Я взяла лист краснокочанной капусты, измельчила его, насыпала в стаканчик;
2. Измельчённую капусту залила тёплой водой и помешала;
3. С помощью фильтровальной бумаги и воронки профильтровала полученный фиолетовый раствор в колбу;
4. Отмерила пипеткой 2 – 3 мл отфильтрованного раствора;
5. Поместила содержимое пипетки в 2 свободных стаканчика;
6. Добавила в первый стаканчик 1 каплю 2М раствора карбоната натрия Na_2CO_3 , а во второй - 1 каплю 2М раствора серной кислоты H_2SO_4 ;
7. Перемешала содержимое, осторожно покачивая стаканчики.

Окраска антоцианов напрямую определяется концентрацией ионов водорода H^+ (т. е. протонов). После добавления раствора соды Na_2CO_3 происходит снижение концентрации протонов и повышение концентрации гидроксил-анионов OH^- , из-за чего цвет пигментов меняется на изумрудный. А при добавлении серной кислоты увеличивается количество ионов водорода H^+ . Протоны взаимодействуют с молекулами антоцианов, переводя их из нейтральной формы в форму катионов. Именно в катионной форме (с положительным зарядом) антоцианы становятся ярко-красными.

Со временем щелочной раствор желтеет. В щелочной среде антоцианы неустойчивы, поэтому постепенно происходит частичное разрушение «синей» формы молекулы красителя. Полученные продукты (халконы) окрашены в жёлтый цвет. Процесс идёт довольно медленно, поэтому можно проследить плавное изменение цвета раствора от синего к жёлтому через различные оттенки зелёного.

Для этого эксперимента также подходят цветы с красными, синими, фиолетовыми лепестками, а вот опыт с жёлтыми цветами обречён на неудачу. Чем ярче и насыщеннее будет цвет, тем лучше получится результат. Большой удачей будет добыть практически чёрные цветы: петунии, розы, ирисы, фиалки, тюльпаны, лилии и другие. В таких цветах содержится максимальное количество антоцианов.

Для опыта также подойдут другие кислоты и щёлочи, например, 1% соляная или 6% уксусная кислоты. В любом случае окраска вытяжки изменится в зависимости от кислотности среды. Таким образом, контролируя с помощью индикаторной бумаги изменение pH раствора, происходящее в результате постепенного добавления кислоты или щелочи, можно установить более точную зависимость цвета антоцианов от кислотности среды.



№ 2. Определелие наличия антоцианов в соках «ФрутоНяня» и «J7», в чёрном чае «Лисма», в каркаде

Необходимо:

- сок «ФрутоНяня» вишня и малина, ягодный;
- сок «J7» вишня;
- чёрный чай «Лисма»;
- каркаде;
- кипяток;
- раствор NaOH;
- раствор H₂SO₄;
- 15 пробирок.

Ход работы:

1. Налила сок в 3 пробирки;
2. В одну добавила раствор NaOH;
3. В другую добавила раствор H₂SO₄;
4. Сравнила с исходным цветом;
5. Повторила шаг 1-4 с двумя другими соками.

При добавлении щёлочи сок приобрёл зелёный оттенок, а при добавлении кислоты – красный.

В результате в каждом из соков присутствуют антоцианы, что может говорить об их натуральном производстве.



Ход работы:

1. Заварила чай;
2. Разлила в 3 пробирки;
3. В одну добавила сок лимона (в качестве кислоты);
4. В другую добавила соду (в качестве основания);
5. Сравнила с исходным цветом;
6. Заварила каркаде;
7. Разлила в 3 пробирки;
8. В одну добавила раствор NaOH;
9. В другую раствор H_2SO_4 ;
10. Сравнила с исходным цветом.

В чае также присутствуют антоцианы, о чём свидетельствует изменение цвета исходного продукта в зависимости от кислотности среды. При добавлении щёлочи чай стал красным, а при добавлении кислоты приобрёл более красный оттенок.



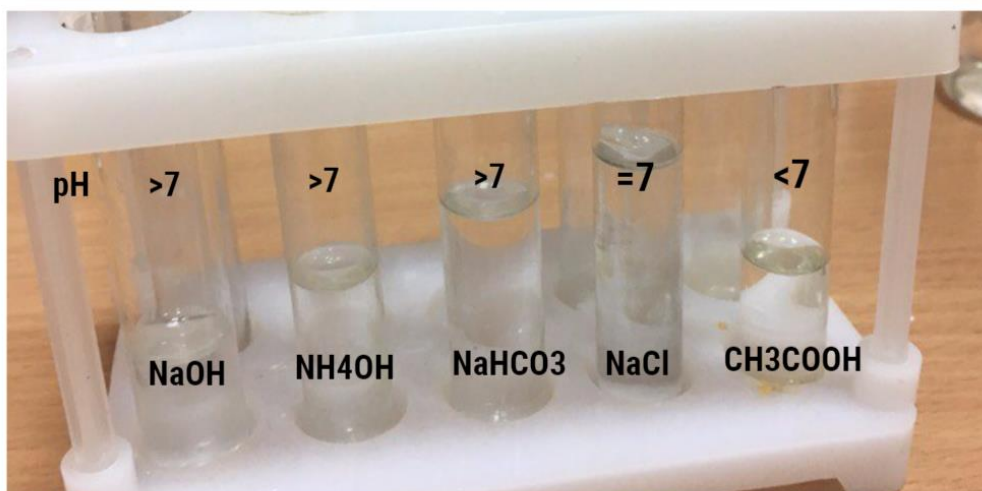
№3. Определение изменения окраски антоцианов в разной кислотной среде

Необходимо:






- 5 пробирок;
- раствор NaOH (Щёлочь);
- раствор NH₄OH (Нашатырный спирт);
- раствор NaHCO₃ (Сода);
- раствор NaCl (Поваренная соль);
- раствор CH₃COOH (Уксусная кислота);
- раствор антоцианов.

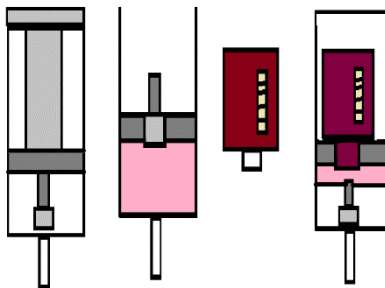
Ход работы:

1. В 5 пробирок я разлила растворы NaOH, NH₄OH, NaHCO₃, NaCl, CH₃COOH;
2. В каждую пробирку добавила раствор антоцианов.



В каждой пробирке цвет изменился в зависимости от кислотности среды раствора. Ниже представлена таблица зависимости цвета от pH среды.

pH	>7	>7	>7	=7	<7
цвет					



На основе индикаторных свойств можно изготовить следующий прибор для определения кислотности раствора. На картинке представлено небольшое устройство в виде шприца. Набрав немного исследуемого раствора, нужно взять небольшую колбочку с раствором антоцианов и вытолкнуть ею пробку. Необходимо перевернуть шприц, перелив таким образом исследуемый раствор в колбочку с антоциановой вытяжкой. Смешанный раствор меняет цвет, который дальше можно сравнивать со шкалой и узнать уровень кислотности. Шкалу можно составить, например, на основе антоциановой вытяжки из краснокочанной капусты.



Данное устройства можно использовать и другим способом. Если в небольшую колбочку налить исследуемый продукт и повторить все вышеописанные действия, то при изменении цвета можно предварительно утверждать, что в продукте присутствуют антоцианы.

№4. Приготовление индикаторной бумаги из раствора антоцианов

Необходимо:

- фильтровальная бумага;
- ножницы;
- чашка Петри;
- раствор NaOH;
- раствор H₂SO₄;
- раствор антоцианов.

Ход работы:

1. Разрезала фильтровальную бумагу на отдельные полоски и положила их в чашку Петри;
2. Промочила полоски в растворе антоцианов;
3. Оставила сушиться;
4. Добавила немного кислоты и щелочи на разные полоски.

Полоски при добавлении кислоты окрасились красным цветом, а при добавлении щёлочи — зелёным.

Антоцианы растений относятся к группе индикаторов — веществ, изменяющих свою окраску в зависимости от реакции среды. Поэтому вытяжка из окрашенных в красный и синий цвет органов может быть с успехом использована для приготовления индикаторной бумаги.

Проверить эффективность приготовленной индикаторной бумаги можно, нанеся на нее по капле кислоты или щелочи. Индикаторные свойства антоцианов сходны с лакмусом: область перехода окраски лежит в интервале pH 3—12.



№5. Изменение цвета антоцианов и их обесцвечивание в лепестках роз

Необходимо:

- пинцет;
- 4 чашки Петри;
- раствор H_2SO_4 ;
- раствор $NaOH$;
- раствор NH_3 ;
- лепестки роз разного цвета (розовый, бордовый, белый).

Ход работы:

1. В первую чашку Петри кладу 4 лепестка бордового и розового цвета;
2. Аккуратно разминаю лепестки;
3. Добавляю немного кислоты и щёлочи;

Через несколько минут лепестки поменяли цвет. При добавлении $NaOH$ стали зелёными, а при добавлении H_2SO_4 - красными.

У срезанных для букета растений также можно изменить естественную окраску цветков. Ниже приведена таблица таких способов. (Информация, представленная в таблице, найдена на одном из сайтов флористики)

Способы изменения окраски цветков			
Цветок	Исходная окраска	Действия	Конечная окраска
Роза Георгин Гиацинт Тюльпан Гладиолус	Белый	Опустить сначала в р-р фуксина, а затем в р-р поташа	Голубой
Роза	Белый	Поливать почву вокруг куста кобальтовой кислотой	Ярко-синий
Роза Астра Фиалка Гладиолус	Красный	Поместить в герметически закрывающийся сосуд с зажженным в нем кусочком горючей серы	Белый
Любые	Фиолетовой	Погрузить в слабый р-р соляной кислоты	Ярко-красный
Незабудка	Голубой	Подержать над дымом тлеющей папиросы или сигареты (из-зи щелочной реакции углекислого аммония)	Зелёный

При искусственной окраске нужно придерживаться некоторых правил:

- используйте только свежие цветы;
- никогда не пережимайте стебель во время обрезки;
- красьте цветы только при комнатной температуре.

Ход работы:

1. Во вторую чашку Петри положила 2 лепестка бордового и розового цвета;
2. Добавила раствор аммиака;
3. Накрыла другой чашкой Петри размером чуть больше.

Через несколько минут лепестки посветлели. Для этого эксперимента подходят цветы с бледными красными, синими и фиолетовыми лепестками. Чем тоньше и нежнее будут цветы, тем лучше получится результат. Если лепестки будут очень яркими, эксперимент может затянуться до нескольких часов, при этом с жёлтыми цветами опыт не получится совсем.



Ход работы:

1. Положила в чашку Петри лепестки белых роз;
2. Аккуратно счистила острой палочкой верхних слой;
3. Смоченной кислотой палочкой нарисовала на лепестке букву «А»;
4. На втором лепестке также нарисовала букву «А» палочкой, смоченной щелочью.

Используя изменение окраски антоцианов в зависимости от кислотности окружающей среды можно попробовать порисовать на лепестках. Надпись нужно делать остро заточенной палочкой, смоченной в растворе кислоты или щелочи. Так как лепестки часто покрыты восковым налетом, малопроницаемым для водных растворов, поверхность листа нужно слегка поцарапать острым концом палочки. Надписи, сделанные кислотой будут розового цвета, а щелочью — синими или зелеными. Ниже приведена таблица лепестком и их реагентов. (Информация, представленная в таблице, найдена на одном из сайтов флористики)

Реагент	Лепестки		
	белые	розовые	голубые
NH ₄ OH	Ярко-желтый	Светло-салатовый	Голубой (изумрудный с синей каймой)
NaOH	Зеленый (красно-коричневый)	Зеленый (красно-коричневый)	Голубой (желтый с зеленой каймой)
HCl	Зеленовато-голубой	-	-
HBr	Зеленый (синий)	Розово-красный	Розово-красный
HNO ₃	Салатовый	Бордо	Красный
H ₂ SO ₄	Зеленый	Карминово-красный	Бордо
CH ₃ COOH	-	Бледно-розовый	Бледно-красный

№6 Выявление лейкоантоцианов

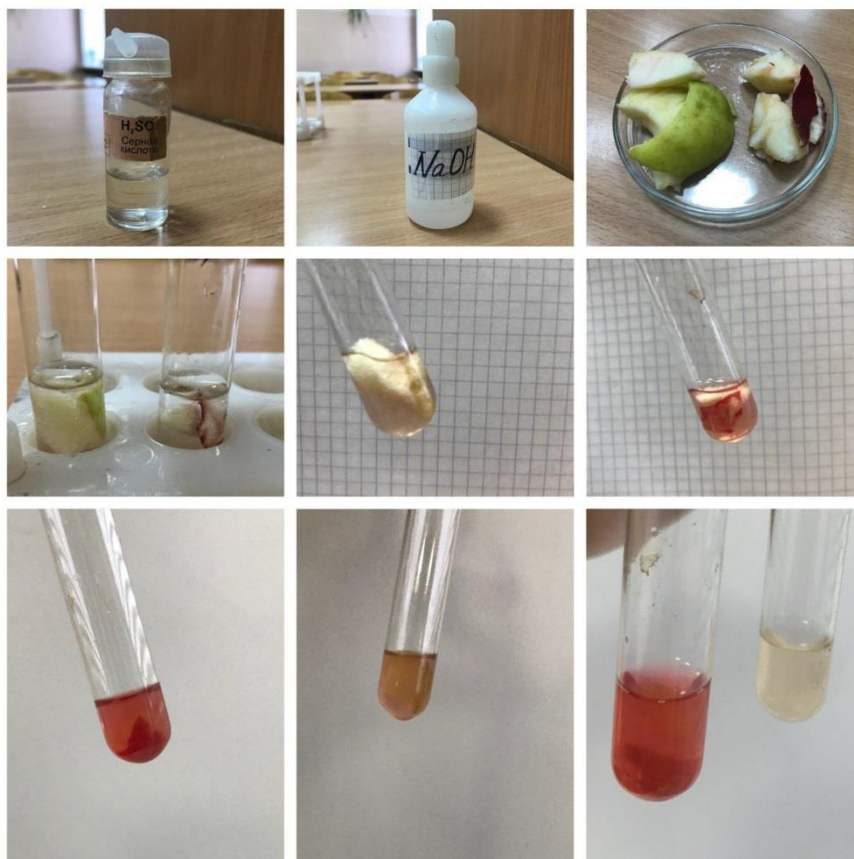
Необходимо:

- пинцет;
- скальпель;
- чашка Петри;
- 2 пробирки;
- 1 колба;
- раствор H_2SO_4 ;
- раствор $NaOH$;
- H_2O ;
- горелка;
- 2 небольших кусочка яблок (красного и зелёного)



Ход работы:

1. С помощью скальпеля отрезала маленькие кусочки от двух яблок;
2. Приготовила в колбе кислотоспиртовой раствор: на 4-6 объемов $NaOH$ добавила 1 объем H_2SO_4 ;
3. С помощью пинцета опустила кусочки яблок в пробирки с приготовленным раствором;
4. Подогрела поочередно обе пробирки над горелкой;
5. Через 10 минут добавила 3-4 объема воды в каждую пробирку

При нагревании раствор с кусочками яблок приобрёл розоватый оттенок. Через 10 минут окраска стала ярче. А при добавлении воды раствор стал мутным. Таким образом, я смогла выделить лейкоантоцианы из яблок. Огонь стал стрессовой ситуацией для лейкоантоцианов, поэтому они перешли в настоящие антоцианы.



№7. Проведение анализа сырья на наличие антоцианов

Реакция	Реагенты	Продукт
Проба Шинода	Каркаде Конц. соляная кислота 20-30 мг порошка магния	
Реакция с 1%-ным р-м основного ацетата свинца	Каркаде	
Реакция с 10%-ным спиртовым р-м натрия гидроксида	Каркаде	

Необходимо:

- Каркаде
- Конц. HCl
- 20-30 мг порошка Mg
- 1%-ный раствор ацетата свинца
- 10%-ный раствор гидроксида натрия

Ход работы:

- 1) Проба Шинода. Она основана на восстановлении водородом карбонила пиридинового кольца и образовании антоцианидинов, окрашивающихся в кислой среде от оранжевого до малиново-красного цвета. К спиртовому извлечению из сырья добавила несколько капель концентрированной хлористоводородной кислоты и 20-30 мг порошка магния. При наличии флавоноловых веществ наступает окрашивание.
- 2) Реакция с 1%-ным раствором основного ацетата свинца. Антоцианы дают синий аморфный осадок, частично растворимый в кислотах, при этом раствор приобретает розовую или красную окраску.
- 3) Реакция с 10%-ным спиртовым раствором натрия гидроксида. Антоцианы образуют соли оливково-зеленого цвета.

Вывод

Таким образом, в ходе исследований я пришла к следующим выводам:

1. Антоцианы присутствуют в краснокочанной капусте, о чём свидетельствует изменение окраски вытяжки при воздействии на неё растворов кислоты и основания;
2. Антоцианы сохраняются и в продуктах из продовольственного магазина;
3. Определённой кислотности среды соответствует свой цвет раствора антоцианов;
4. Выше приведённое свойство можно использовать для приготовления индикаторной бумаги;
5. Возможно изменить окраску цветов в букете, делая его более оригинальным;
6. Лейкоантоцианы постоянно присутствуют в овощах, фруктах и способны при стрессовых ситуациях перейти в настоящую форму антоцианов.
7. Существуют методы анализа сырья, в ходе которого возможно установить наличие антоцианов в растворе.

Заключение

При исследовании я пришла к следующим выводам:

- ✓ **Антоцианы** — производные 6 основных антоцианидинов, которые отличаются боковыми радикалами и имеют C₁₅-углеродный скелет. Мною были созданы 3D-модели данных антоцианов.
- ✓ Антоцианы - окрашенные в фиолетовый цвет кристаллы, легко растворимые в воде, трудно – в бензоле. Окраска растения зависит от многих факторов. Мною были проделаны некоторые способы анализа сырья на наличие данных пигментов и изучены их химические свойства.
- ✓ Свойства антоцианов используются при приготовлении индикаторов, при выведении сортов растений и при создании уникальных букетов.
- ✓ Антоцианы играют огромную роль в жизни растений, животных и человека. Их резервными соединениями являются лейкоантоцианы.
- ✓ На основе собранных мною данных можно проводить дополнительные занятия для классов химико-биологического профиля, что было бы не только интересно, но и полезно для учеников.

Таким образом, я убедилась, что антоцианы играют огромную роль в жизни не только растений и животных, но и в жизни человека. На основе собранных мною данных можно проводить дополнительные занятия для классов химико-биологического профиля, что было бы не только интересно, но и полезно для учеников. «Земля смеется цветами»,- говорил Ралф Уолдо Эмерсон. Поэтому любите мир вокруг нас. И тогда он приоткроет вам свою завесу тайн.

Литературные источники

Батурицкая Н.В., Фенчук Т.Д - Удивительные опыты с растениями.

Карабанов Игорь Арсеньевич - Флавоноиды в мире растений

Артамонов В.И. - «Занимательная физиология растений»

Ольгин О. - «Опыты без взрывов»

П. Эткинс - «Молекулы»

<http://foodandhealth.ru/komponenty-pitaniya/antociany/> - Антоцианы

<https://ru.wikipedia.org/wiki/Антоцианы> - Антоцианы

<http://www.neboleem.net/antociany.php> - Антоцианы

<http://edaplus.info/food-components/anthocyanins.html> - Компоненты питания. Антоцианы

<http://zoneplanet.ru/antociany-polza/> - 8 Причин съесть антоцианы! В каких продуктах они содержатся?

http://elementy.ru/nauchno-populyarnaya_biblioteka/431905 - Антоцианы: секреты цвета

http://www.novostioede.ru/article/chto_takoe_antotsiany_i_gde_ikh_nayti/ - Что такое антоцианы и где их найти?

<http://bestfleur.ru/blogs/statii-o-zvetah/kak-izmenit-zvet-zvetov> – Как изменить цвет цветов

https://polsergmich.blogspot.ru/2013/01/blog-post_29.html - Искусственное изменение окраски лепестков цветов

<https://biomolecula.ru/articles/raznotsvetnye-chudesa-nauki> - Разноцветные «чудеса» науки

<https://biomolecula.ru/articles/o-tom-kak-poluchali-i-izuchali-fioletovyi-popkorn> - О том, как получали и изучали фиолетовый попкорн

http://elementy.ru/kartinka_dnya/410/Antotsiany - Антоцианы

<http://biofile.ru/bio/19420.html> - Флавоноидные пигменты, их структура и свойства

https://studopedia.su/10_148534_fotoelektrokolorimetriceskiy-metod-fek.html -

Количественное определение

<http://www.pharmspravka.ru/biologicheski-aktivnyie-veschestva/flavonoidyi/kachestvennyie-reaktsii-na-proizvodnyie-fl.html> - Качественные реакции на производные флавоноидов

http://studbooks.net/2486717/meditsina/fiziko_himicheskie_svoystva_antotsianov_primenenie - Физико-химические свойства антоцианов, применение

http://studbooks.net/2486720/meditsina/kolichestvennyy_analiz - Количественный анализ

<http://www.xumuk.ru/encyklopedia/337.html> - Антоцианы

<http://vinograd.info/knigi/teoriya-i-praktika-vinodeliya/sozrevanie-vin-7.html> - Изменение антоцианов - Созревание вин

<http://www.spec-kniga.ru/obuchenie/tekhnika-laboratornyh-rabot/tekhnika-laboratornyh-rabot-hromatografiya.html> - Хроматография

<http://www.diagram.com.ua/tests/himija/himija053.shtml> - Хроматография на дому

<https://flowerlady.jimdo.com/агротехника-растений/освещённость/пигмент-антоциан/> -

Пигмент антоциант

Приложения

Химия растений. Антоцианы

Выполнила: ученица 11 класса А
Баженова О.А.
Руководитель: Дегтярёва Е.Э.

2018
г. Тамбов

Приложение №1

Объ искусственномъ антоціанѣ.

М. С. Цвѣтъ.

(Представлено въ засѣданіи Физико-Математическаго Отдѣленія 27 ноября 1913 г.).

Все цвѣтное естественно привлекаетъ наше вниманіе, и естественна же склонность наша усматривать въ опредѣленной окраскѣ веществъ особую преднамѣренную цѣлесообразность.

Отсюда и возникаютъ порою лжепроблемы.

Вѣдь нѣтъ основанія приписывать какому либо веществу особія фязіологическія или ойкологическія свойства только потому, что вещество это для глаза человѣческаго является окрашеннымъ.

Съ точки зрѣнія объективной всѣ вещества «окрашены»: бѣлокъ, сахаръ и вода такъ же, какъ антоціанъ или хлорофиллъ; только главныя поглощенія лучистой энергіи падаютъ на другіе спектральные участки. Цѣлесообразна ли эта, всегда имѣющаяся окраска, т. е. необходима ли вообще полезна ли она для поддержанія жизни даннаго существа, это должно быть установлено эмпирическимъ путемъ для каждаго отдѣльнаго случая. Сама по себѣ субъективная окраска не имѣетъ ровно никакого значенія.

Соображенія эти особенно примѣнимы въ области антоціановыхъ пигментовъ, которые, едва ли не въ большинствѣ случаевъ, слѣдуетъ разсматривать, какъ случайно окрашенные продукты обмена веществъ.

Несомнѣнно пигменты цвѣтовъ и плодовъ могутъ имѣть иногда ойкологическое значеніе, привлекая вниманіе животныхъ.

Также должны красящія вещества въ освѣщенныхъ частяхъ оказывать теплородное дѣйствіе, но необходимъ ли получающійся избытокъ температуры для преуспѣянія растенія или можетъ ли имѣть рѣшающее значеніе съ точки зрѣнія естественнаго подбора¹⁾, это до сихъ поръ ни въ одномъ случаѣ удостовѣрено не было.

1) Срав. E. Stahl. Ann. du Jardin Botanique de Buitenzorg; 13, 137 (1896).

Не находя, слѣдовательно, въ большинствѣ случаевъ конечнаго объясненія существованію антоціановъ, мы тѣмъ болѣе должны стремиться опредѣлить ихъ каузальность. Необходимо прежде всего химическое изслѣдованіе. Въ необычайно разросшейся литературѣ¹⁾ не разъ обсуждалась химическая природа антоціановъ, но болѣею частью на основаніи косвенныхъ указаній, какъ напр. воздѣйствіе различныхъ веществъ на образованіе антоціановъ въ растеніи²⁾, природа сопровождающихъ веществъ и т. д.

Только въ новѣйшее время началось планомѣрное химическое изслѣдованіе.

Именно Графе³⁾ удалось получить изъ цвѣтовъ пеларгоніи, повидному, неизмѣненные антоціаны въ значительномъ количествѣ (10—15 гр.) и опредѣлить ихъ составъ, молекулярный вѣсъ и даже нѣкоторыя химическія функціи (гидроксилы, карбоксилы, карбонилы).

Слѣдуетъ также стараться выдѣлить изъ растенія вещества, порождающія антоціаны и вызвать искусственное превращеніе *in vitro* этихъ хромогеновъ въ вещества, окрашенные для нашего глаза. Нѣкоторыя наблюденія въ этомъ направленіи въ литературѣ уже имѣются.

Ниже приведу произведенные мною опыты, которые кажутся мнѣ стоящими дальнѣйшей обработки.

Имѣющіяся наблюденія надъ искусственными антоціанами.

Лябордъ⁴⁾, нагрѣвъ зеленый виноградъ въ 2%-омъ растворѣ соляной кислоты до 120° (въ автоклавѣ), получилъ черезъ 30 минутъ виннокрасную жидкость. Окраска становилась зеленой при КОН, красной — при подкисленіи; пигментъ соединялся съ нѣкоторыми металлическими окисями.

Въ качествѣ хромогена принимаются танноиды (эботанинъ).

Танноиды изъ хмѣля, сливоваго и вишневаго дерева, изъ дикаго винограда, но только не изъ дуба, реагировали такъ же.

Растворы этихъ танноидовъ, съ примѣсью 2% КОН становились при кипяченія тоже винно-красными. Хромогенныя вещества винограда частью растворимы въ спирту, частью нѣтъ; при созрѣваніи нерастворимая доля —

1) Новѣйшіе своды: L. Buscalioni e Gino Pollacci. Atti dell Ist. Bot. Univ. di Pavia, 8, (1903). Otto Gertz. Studien öfver Antocyan. Lund 1906. F. Czapek. Biochemie d. Pflanzen.

2) См. напр. интересные недавніе опыты А. Ю. Чертковскаго (Проток. засѣд. Общ. Естествоисп. при Имп. Варшавск. Унив.; годъ 22 (1910) (стр. 71).

3) Victor Grafe. Sitzungsab. Wien. Akad. Math.-naturw. Kl. 120, 765, 1911.

4) J. Laborde. Comptes Rendus; 146, 1411, 1906. Также: Keegan. Chem. News, 107, 181, 1913.

меньше, растворимая — больше¹⁾). Галлотанинъ, растворенный въ водѣ съ формоломъ и соляной кислотой, даетъ, при продолжительномъ стояніи на холоду, красныя спирторастворимыя вещества²⁾. Соляная кислота и формоль кажутся дѣйствующими при этомъ каталитически.

Получившееся красящее вещество становится отъ амміака сѣроголубымъ.

Мальвезенъ³⁾ наблюдалъ, что зеленыя ягоды краснаго винограда, при продолжительномъ (17 час.) нагрѣваніи въ дистиллированной водѣ при 85°, даютъ желтую жидкость, которая затѣмъ, при условіи доступа воздуха, становится винно-красной.

Наконецъ Децани⁴⁾ нашелъ, что спиртовая вытяжка изъ сушеннаго бѣлаго винограда, нагрѣтая съ 4% HCl (или же NaOH) принимаетъ черезъ нѣсколько минутъ красную («grossa») окраску. Хромогены уксуснокислымъ свинцомъ не осаждаются. У Децани, какъ и у французскихъ его предшественниковъ, не находимъ ближайшаго сравненія полученныхъ пигментовъ съ естественными антоціанами.

Надо упомянуть еще здѣсь о наблюденіяхъ Кунцъ Краузе⁵⁾, который, при нагрѣваніи тannoидовъ съ разбавленной сѣрной кислотой, получилъ похожіе на флобафены красныя пигменты, рассматриваемые, какъ продукты дегидратациі ароматическихъ оксикислотъ.

Собственныя изслѣдованія.

Опыты съ яблоками.

Для опытовъ употреблялись различныя, ближе не опредѣленные сорта свѣжихъ яблокъ, всѣ съ одинаковымъ результатомъ; также и сушенныя (лавочный товаръ). Въ растворъ изъ смѣси 4—6 объемовъ абсолютнаго спирта и 1 части соляной кислоты⁶⁾ погружались изрѣзанные въ мелкіе кусочки яблоки; черезъ нѣсколько дней, при комнатной температурѣ, получался интенсивно красный **растворъ** (цвѣтъ приблизит. № 56 по С.С.)⁷⁾ опыты производились съ мякотью плода и отдѣльно съ его кожицей.

1) J. Laborde. Comptes Rendus; 147; 753, 1908.

2) J. Laborde. Comptes Rendus; 147, 993, 1908.

3) Ph. Malvezin. Comptes Rendus; 147, 384, 1908.

4) Serafino Dezani. Stazioni sperimentale agrarie italiane 43, 428, 1910.

5) Hermann Kunz-Krause. Schweiz. Wochenschr. f. Chemie u. Pharm. 36, 424, 1898, цитировано по реферату въ Chem. Centralb. 69, 945, 1898 и 70, 559, 1899.

6) Указанная концентрація наиболее благоприятна для обильнаго образованія пигмента. На 10 гр. яблочнаго крошева слѣдуетъ 40—50 к. с. реактива.

7) Klincksieck et Valette. Code de Couleurs. Paris 1908.

При нагреваніи до кипѣнія образованіе пигмента наступаетъ почти моментально; жидкость становится сперва желтой, затѣмъ оранжевой и наконецъ коричневатокрасной; яблоки окрашиваются тоже. Вполнѣ устранить возможность окисленія мнѣ еще не удалось и не берусь высказывать окончательное сужденіе относительно возможнаго участія кислорода.

Иначе протекають химическіе процессы, если къ экстракціонной жидкости прибавить формола или ацетальдегида (5—10%).

Окраска раствора происходитъ тогда медленнѣе, но зато уже съ самаго начала она розоваго цвѣта, а нѣсколько минутъ спустя получается превосходный интенсивно фіолетовокрасный (№ 581 по С.С.) антоціаноподобный растворъ.

Мякоть яблокъ принимаетъ такую же окраску, алкоголь, даже кислый, ее не вполнѣ обезцвѣчиваетъ.

Полученный пигментъ имѣеть (о чемъ рѣчь впереди) нѣкоторое оптическое и химическое сходство съ естественными антоціанами.

Постараемся же опредѣлить роль спирта, кислоты и алдегида въ этомъ образованіи.

Я пробовалъ замѣнить соляную кислоту другими кислотами. Но ни винная кислота, ни уксусная, ни щавелевая, ни сильнѣе диссоціированная муравьиная кислота не могли вызвать ни малѣйшей красной окраски, какъ на холоду, такъ и при нагреваніи. Растворъ 16 объемовъ абсолютнаго спирта съ 9 частями уксусной кислоты, содержащій искрошенные яблоки, и теперь, послѣ 11½ мѣсячнаго стоянія, сохраняетъ зеленоватожелтую окраску первыхъ дней. Фосфорная кислота также не дѣйствовала; сѣрная же (крѣпостью въ 40 объемныхъ процентовъ) дѣйствуетъ, качественно, подобно соляной.

Съ такимъ же успѣхомъ можно примѣнять смѣсь изъ 10 объемовъ спирта и одного объема концентрированной сѣрной кислоты.

Образованіе пигмента въ экстрактѣ получается также, если алкоголь замѣнить другими подкисленными HCl растворителями: метиловый спиртъ, формоль, уксусный алдегидъ, глицеринъ, уксусная кислота¹⁾.

Формалиновые и алдегидные экстракты окрашиваются при этомъ въ розовый цвѣтъ; метаноль же, глицеринъ и уксусная кислота даютъ оранжевокрасные настои. При длительномъ кипяченіи яблокъ въ подкисленной соляной кислотой (20%) водѣ, жидкость окрашивается въ красноватый, затѣмъ въ буроватый цвѣтъ; мякоть же въ концѣ концовъ принимаетъ коричневою окраску.

1) Ацетонъ не пригоденъ: смѣшанный самъ по себѣ съ соляной кислотой, онъ медленно окрашивается въ розовый цвѣтъ.

Итакъ мы видимъ, что муравьиный и уксусный альдегидъ вліяютъ на природу возникающаго подъ дѣйствіемъ кислоты пигмента (или пигментовъ). Въ присутствіи альдегида получается пигментъ фіолетовокрасный, безъ альдегида же — оранжевокрасный или краснобурый.

Въ специальныхъ опытахъ выяснилось, что прибавленіе альдегида къ уже готовому красному экстракту дѣйствія не оказываетъ. Если же альдегидъ прибавить во время первой фазы, когда жидкость оранжевожелтаго цвѣта, то окраска сначала блѣднѣетъ и переходитъ затѣмъ постепенно въ фіолетовокрасную. Возникаетъ вопросъ, не дѣйствуютъ ли альдегиды въ качествѣ возстановителей, препятствуя окисленію хромогеновъ въ бурныя вещества и обезпечивая образованіе въ чистомъ видѣ антоціаноподобнаго пигмента, возникающаго, повидимому, подъ гидролитическимъ дѣйствіемъ кислоты.

Для рѣшенія этого вопроса я пробовалъ, но безрезультатно, замѣнить упомянутые альдегиды иными редуцирующими веществами, какъ муравьиная кислота, танинъ, глюкоза, сѣрнистая кислота.

Опыты дали отрицательные результаты.

Впрочемъ бензойный альдегидъ тоже не оказываетъ дѣйствія; не дѣйствуетъ и ацетонъ (ср. примѣч. на предыдущей страницѣ).

Приготовленіе искусственнаго антоціана.

Пигмента въ завѣдомо чистомъ и однородномъ видѣ я до сихъ поръ не получалъ. Адсорбціонный хроматографическій мой методъ¹⁾, столь дѣйствительный для отдѣленія хлорофилловыхъ пигментовъ, здѣсь не примѣнимъ, такъ какъ антоціанъ въ подходящихъ растворителяхъ (углеводороды, CS_2) не растворяется.

Для полученія антоціана *in substantia*, мною испробованы слѣдующіе способы.

Если полученный нами кислотнospиртовой экстрактъ разбавить 3—4-я объемами воды, то пигментъ выпадаетъ мелкими хлопьями и можетъ быть собранъ на обыкновенной фильтрованной бумагѣ. Фильтръ краснаго цвѣта, промытый водою и обработанный абсолютнымъ спиртомъ, даетъ фіолетовокрасный растворъ. Предварительно же высушенный въ эксикаторѣ, онъ даетъ желтоватый алкогольъ, который съ примѣсью HCl пріобрѣтаетъ моментально красивый фіолетовокрасный цвѣтъ.

1) М. С. Цвѣтъ. *Ver. d. D. bot. Ges.* 24, 384, 1906 г. Хромофиллы въ растит. и животн. мірѣ, Варшава, 1910, стр. 83. См. также въ *Abderhalden's «Biochem. Arbeitsmethoden»* 6, 100, 1912 г.

Слѣдующій методъ предпочтительнѣе: исходный кислотный растворъ усредняется мѣломъ или порошкообразной кристаллической содой и взбалтывается въ раздѣлительной воронкѣ съ эфиромъ и водою. При этомъ пигментъ переходитъ почти цѣликомъ въ эфиръ. Водноспиртовая фаза выпускается, а эфирная многократно промывается дистиллированной водою, причемъ антоціанъ выпадаетъ въ видѣ крупныхъ фіолетовыхъ хлопьевъ. Его легко собрать на фильтрѣ, причемъ въ фильтратѣ остаются дериваты хлорофилловыхъ пигментовъ и другіе липиды, извлеченные изъ яблока. Хлопья растворяются въ спирту, съ желтоватой грязно фіолетовой окраской, переходящей опять въ фіолетовокрасную при добавленіи кислоты.

Свойства искусственнаго антоціана.

Изъ предыдущаго видно, что нашъ искусственный антоціанъ не растворимъ въ водѣ и эфирѣ, но растворяется въ спирту¹⁾.

Растворенный въ спирту, онъ выцвѣтаетъ, подобно нѣкоторымъ естественнымъ антоціанамъ; прибавленіе кислоты (HCl, H₂SO₄, уксусная кислота) восстанавливаетъ фіолетовокрасную окраску²⁾. При осторожномъ прибавленіи къ красному раствору разбавленнаго щелока (KOH), окраска становится сначала сѣроватосиней, а затѣмъ ярко зеленой; отъ кислоты же заново краснѣетъ. Красный отъ уксусной кислоты спиртовой растворъ мгновенно обезцвѣчивается свѣже приготовленнымъ 10% растворомъ NaHSO₄, а также фениль-гидразиномъ; добавляя HCl или H₂SO₄, восстанавливаемъ красную окраску. Также реагируютъ естественные антоціаны красныхъ яблокъ, красной капусты, равно какъ химически опредѣленные Графе пигменты изъ цвѣтовъ пеларгоніи. На основаніи этой замѣчательной измѣнчивости окраски и естественные и искусственные антоціаны положительно заслуживаютъ названія «растительнаго хамелеона».

Уксуснокислый свинецъ даетъ въ спиртовомъ растворѣ искусственнаго антоціана синій осадокъ, на подобіе многихъ естественныхъ антоціановъ.

Такъ какъ Графе установилъ для антоціановъ пеларгоніи существованіе карбонильныхъ группъ, которыя, при условіи смежнаго ихъ расположенія, должны рассматриваться, какъ хромофоры этихъ веществъ³⁾, то слѣдуетъ допустить, что и нашъ искусственный антоціанъ обязанъ своей

1) Представляютъ ли изъ себя остающіяся въ мякоти яблокъ части пигмента особыя нерастворимыя видоизмѣненія антоціана — мною ближе не разслѣдовано.

2) Спиртовой растворъ искусственнаго антоціана весьма непостояненъ. При продолжительномъ стояніи онъ выцвѣтаетъ необратимо.

3) Ср. вапр. Hugo Kaufmann. Die Valenzlehre. Stuttgart 1911, стр. 445—449.

окраской смежнымъ карбониламъ, быть можетъ, усиленнымъ ауксохромнымъ солеобразованіемъ при карбоксилѣ.

Также и въ спектроскопическомъ отношеніи нашъ искусственный пигментъ весьма схожъ съ нѣкоторыми естественными антоціанами; послѣдніе, какъ извѣстно, характеризуются одной или двумя полосами поглощенія, расположенными приблизительно въ серединѣ спектра¹⁾.

Такая полоса наблюдалась уже Краусомъ въ живой кожнцѣ красныхъ яблокъ²⁾.

Для полученія раствора естественнаго антоціана красныхъ яблокъ, я растираю кожуру ихъ съ мелкимъ кварцевымъ пескомъ и нагрѣваю съ 5% спиртовымъ растворомъ уксусной кислоты. Фиолетовокрасный растворъ отъ примѣси КОН становится сѣроголубымъ и зеленымъ.

Если, взбалтывая съ хлороформомъ, удалить наличные слѣды хлорофилла, то растворъ, отъ прибавленія кислой сѣрнистонатріевой соли, совершенно обезцвѣчивается.

Красный растворъ показывалъ при средней концентраціи полосу поглощенія при 530 до 570 μ и конечное поглощеніе, начинающееся при 450³⁾.

Кислый растворъ искусственнаго антоціана показываетъ, при средней концентраціи, полосу поглощенія при 540 до 580, а конечное поглощеніе отъ 430.

Спиртовой растворъ, полученный изъ искусственнаго антоціана, осажденнаго водой (см. выше), обладалъ слѣдующими спектральными свойствами.

	К о н ц е н т р а ц і я		
	x	$2x$	$4x$
Главная полоса	590—530	590—520	} 610—400
Конечное поглощеніе	отъ 420	отъ 420	

Добавленіе КОН дѣйствуетъ батохромно: главная полоса синяго раствора находится при 610—680.

Такимъ образомъ обнаруживается близкое сходство искусственнаго антоціана съ естественнымъ.

Отличаются они своей растворимостью: искусственный антоціанъ въ водѣ не растворимъ и можетъ изъ разбавленнаго водою спиртового раствора переводиться въ эфиръ; естественный же антоціанъ (я изслѣдовалъ пигментъ

1) Ср. напр. сводъ у Kauser'a. Handbuch d. Spektroskopie.

2) Gregor Kraus. Zur Kenntniss d. Chlorophyllfarbstoffe, 1872, стр. 15.

3) Примѣняемый мною методъ спектральнаго изслѣдованія: Ber. d. D. bot. Ges. 25, 187, 1907 и «Хромофиллы въ р. и ж. м.» стр. 131.

красной капусты), не можетъ быть переведенъ въ эфиръ, даже послѣ предварительной четырехдневной обработки его спиртовымъ растворомъ соляной кислоты.

То же наблюдается и у получающагося при винномъ броженіи антоціана красного вина.

Матерія вещества искусственнаго антоціана.

Изъ вышесказаннаго видно, что въ яблокахъ содержатся вещества, которыя, будучи переведены въ растворъ, превращаются, подѣ влияніемъ крѣпкихъ минеральныхъ кислотъ, при нѣкоторыхъ условіяхъ, въ антоціано-подобные пигменты. Дѣйствительно «хромогены» эти¹⁾, по крайней мѣрѣ отчасти, растворимы въ спирту: 270 граммовъ размельченныхъ яблокъ были положены въ 400 куб. с. абсолютнаго спирта, при комнатной температурѣ. Четыре дня спустя отфильтрованная жидкость была свѣтложелтаго цвѣта и краснѣла при нагрѣваніи съ HCl.

Въ другомъ опытѣ 180 граммовъ яблочнаго крошева (безъ кожицы) кипятились полтора часа въ 600 куб. с. спирта, при обратномъ холодильникѣ; отфильтрованный экстрактъ былъ желтоватый со слѣдами красной флюоресценціи²⁾. Нагрѣваніе съ HCl и альдегидомъ (10%) вызывало красную окраску; при обработкѣ же альдегидомъ и HCl на холоду, растворъ пріобрѣлъ черезъ двое сутокъ фіолетовокрасный цвѣтъ.

Яблочный отваръ въ 10% спиртовомъ растворѣ альдегида былъ желтоватаго цвѣта и сталъ фіолетовокраснымъ при нагрѣваніи съ двадцатью процентами концентрированной HCl.

Въ эфирѣ и хлороформѣ хромогены яблокъ не растворимы: яблочные ломтики, высушенные при 48°, растертые затѣмъ въ ступкѣ съ кварцевымъ пескомъ, были раздѣлены на 3 порціи; каждая была облита: одна — спиртомъ, другая — эфиромъ и третья — хлороформомъ. Первая была нагрѣта, и экстрактъ, вскипяченный съ HCl, покраснѣлъ; желтый же настой двухъ остальныхъ былъ сутки спустя отфильтрованъ, выпаренъ на водяной банѣ, остатокъ растворенъ въ спирту съ HCl и нагрѣтъ; ни малѣйшаго покраснѣнія не наблюдалось. Хромогены искусственныхъ антоціановъ растворяются также слегка и въ водѣ, повидимому коллоидально. Очищенные отъ кожицы яблоки кипятились 15 минутъ въ дистиллированной водѣ; отваръ дважды

1) Нужно остерегаться создавать изъ слова «хромогенъ» фізіологическія *idola* и приписывать *a priori* соответственнымъ веществамъ особое функціональное значеніе. Всѣ растительныя вещества могли бы въ извѣстныхъ условіяхъ играть роль хромогеновъ.

2) Обнаружено при помощи люминескопа Цвѣта (Zeitschr. f. physik. Chem. 36, 450, 1901 и «Труды Казанск. Общ. Естеств. 1901.

профильтрованъ на бумагѣ SS № 585; фильтратъ — слабо опалесцирующий, почти безцвѣтный.

При выпариваніи — желтоватый остатокъ; нагрѣтый въ спирту съ HCl, даетъ коричневатокрасный растворъ; при наличности же алдегида окраска — слабо розовая.

Другая порція фильтрата была смѣшана съ яичнымъ бѣлкомъ и подвергнута свертыванію при 120°. Отфильтрованная отъ коагулята жидкость не была на глазъ мутна, но въ люминескопѣ оказалась оптически не пустой. При выпариваніи получился желтоватый остатокъ, нагрѣтый въ спирту съ HCl, онъ далъ желтобурый, а не красный растворъ. Коагулятъ же, обработанный спиртомъ, далъ экстрактъ, окрашивающійся отъ HCl и алдегида въ фіолетовокрасный цвѣтъ.

Слѣдовательно матернее вещество искусственнаго антоціана осаждается бѣлкомъ изъ воднаго раствора, подобно многимъ танноидамъ¹⁾. Осаждается также уксуснокислымъ свинцомъ.

Опыты съ разнообразными объектами.

Подобно яблокамъ и нѣкоторые другіе растительные объекты даютъ, подъ воздѣйствіемъ спиртового раствора HCl, при наличности алдегида, антоціаноподобные пигменты, какъ въ экстрактѣ, такъ и въ тканяхъ; ближе они мною не изслѣдованы.

Съ положительнымъ результатомъ были испробованы наугадъ: бананы, груши, бѣлый виноградъ, мякоть краснаго, бѣлые лепестки розы и *Cyclamen*.

Замѣчательно, что груши, погруженные въ кислую смѣсь, при комнатной температурѣ, давали черезъ нѣсколько дней, даже въ отсутствіи алдегида, фіолетовокрасную окраску, какъ экстракта, такъ и ткани. Быть можетъ, это указываетъ на присутствіе въ грушахъ алдегиднаго вещества. Бѣлые лепестки розы и *Cyclamen*, пролежавъ нѣсколько дней въ кислотѣ спирту съ примѣсью алдегида, окрасились въ интенсивный фіолетовокрасный цвѣтъ.

Отрицательные результаты получились въ опытахъ со слѣдующими объектами: лепестки бѣлой гвоздики, бѣлые, вынутые изъ почки, лепестки красной, цвѣты ландыша, листья пеларгоніи, листья бѣлой капусты, бѣлая листовая мякоть красной капусты, морковь, картофель, кольраби, проростки ячменя и корки мандарина.

Несомнѣнно интересно будетъ систематически испытать дѣйствіе алде-

1) Яблоки содержатъ въ среднемъ около 0,30% танноидовъ (Wehmer. «Die Pflanzenstoffe» 1911, стр. 279).

гидъ содержащаго спиртового раствора HCl на обширный рядъ объектовъ и растеній.

Вѣроятно выяснится нѣкоторое соотношеніе между способностью давать искусственный антоціанъ и способностью образовать естественный въ нормальныхъ или аномальных¹⁾ условіяхъ.

По всей вѣроятности искусственные и естественные антоціаны — дериваты однихъ и тѣхъ же веществъ.

Резюме.

Въ яблокахъ, а также и нѣкоторыхъ другихъ объектахъ, заключаются спирторастворимыя, быть можетъ, танноидныя вещества, которыя, отъ дѣйствія сильныхъ минеральныхъ кислотъ, въ присутствіи муравьиного или уксуснаго алдегида, превращаются въ антоціаноподобный пигментъ. Этотъ искусственный пигментъ схожъ съ естественными антоціанами не только въ спектральномъ, но и въ химическомъ отношеніи. Подъ вліяніемъ щелочи или кислоты онъ испытываетъ тѣ же измѣненія окраски и обезцвѣчивается тѣми же индикаторами алдегидовъ (NaHSO_3 , фениль-гидразинъ); слѣдовательно окраска его обусловлена тѣми же хромофорными карбонильными группами.

Добавленіе.

Во время печатанія настоящей статьи появились двѣ работы, имѣющія отношеніе къ затронутому вопросу. Вильштеттеръ²⁾ произвелъ химическое изслѣдованіе антоціана василька, приведшее его, между прочимъ, къ заключенію, что антоціаны — глюкозиды, содержащіе ароматическое ядро, въ которомъ въ качествѣ хромофоровъ являются не только этиленовыя и карбонильныя двойныя связи, но и четырехъ-атомный кислородъ, входящій въ составъ пирронового кольца. Остается открытымъ вопросъ, насколько эта оксоновая теорія строенія антоціановъ согласуется съ ихъ способностью давать безцвѣтные продукты присоединенія съ NaHSO_3 , съ фениль-гидразиномъ или съ HCN .

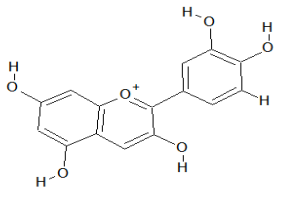
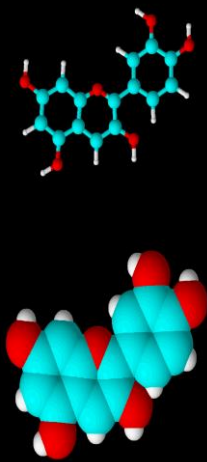
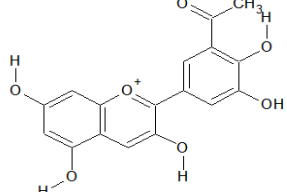
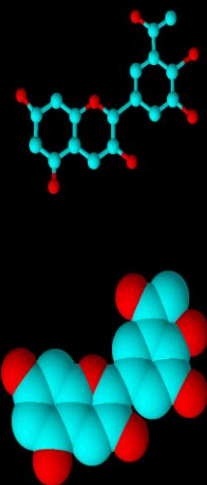
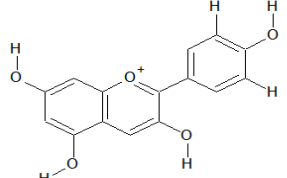
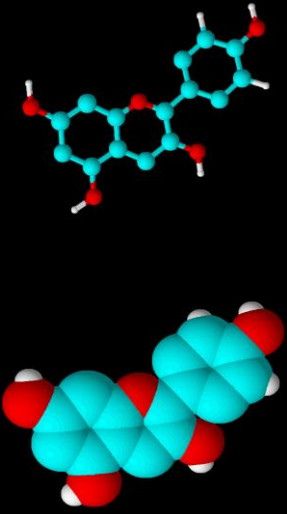
Въ работѣ Пэхе³⁾ описывается микрохимическая реакція (нагрѣваніе въ смѣси формола съ KOH), гдѣ нѣкоторые танноиды даютъ синезеленый, нерастворимый пигментъ, становящійся краснымъ подъ дѣйствіемъ кислоты. Произведенные мною опыты показали, что хромогенами въ этой реакціи являются тѣ же вещества, изъ которыхъ получается вышеописанный искусственный антоціанъ.

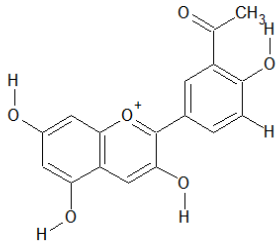
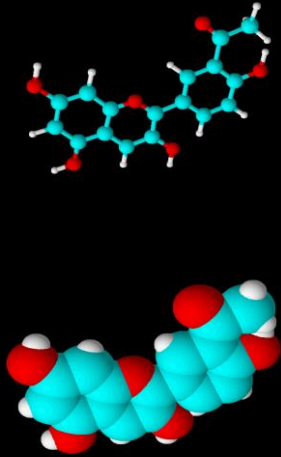
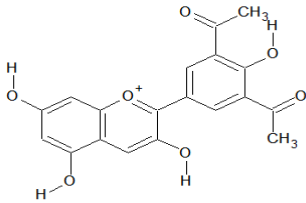
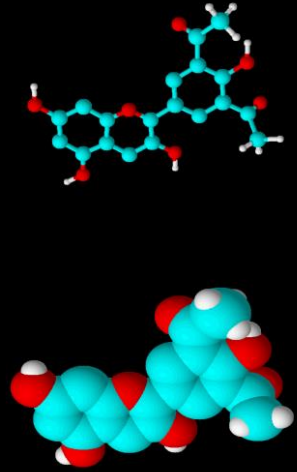
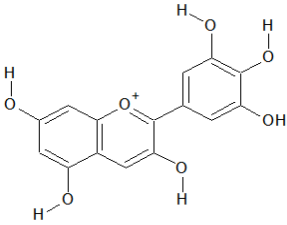
1) Ср. упомянутыя выше опыты Чартковскаго надъ вліяніемъ флороглюцина на фیزیологическое образованіе антоціана.

2) R. Willstätter und A. Everest. Ann. d. Chemie, 401, 189, 1913.

3) Kuno Peche. Ber. d. D. bot. Ges. 31, 458, 1913.

3D-модели основных представителей антоцианов

Антоцианы	Структурная формула	Цвет	3d - модели
<p>Цианидин $C_{15}H_{12}O_8$ (3,5,7,3',4'- пентаоксифлави лия)</p>		<p>Пурпурный (Васильки, розы, астры, тюльпаны, ягоды брусники, вишни, терна, смородины, малины, рябины и др.)</p>	
<p>Петунидин $C_{16}H_{14}O_8$ (3'- метоксильное производное дельфинидина)</p>		<p>Пурпурный (В лепестках цветов петунии в форме гликозида петунина)</p>	
<p>Пеларгонидин $C_{15}H_{12}O_6$ (3,5,7,4'- тетраоксифлави лия)</p>		<p>Красно- оранжевый (В виде глюкозидов в цветах алой пеларгонии, васильках, георгинах, астрах, ягодах земляники и др.)</p>	

<p>Пеонидин $C_{16}H_{14}O_6$ (3'-метоксильное производное дельфинидина)</p>		<p>Пурпурно-синий (Красящее вещество пиона)</p>	
<p>Мальвидин $C_{17}H_{16}O_8$ (сирингидин, или энидин; 3',5'-диметоксильное производное цианидина)</p>		<p>Пурпурный (В виде глюкозида в лесной мальве, ягоде синего винограда и др.)</p>	
<p>Дельфинидин $C_{15}H_{17}O_8$ (3,5,7,3',4',5'-гексаоксифлавиля)</p>		<p>Синий (В виде эфиров в ягодах черники, винограда, в цветах петунии, чёрной мальвы)</p>	