

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(Н И У « Б е л Г У »)

ИНСТИТУТ ФАРМАЦИИ, ХИМИИ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ ХИМИИ

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО
СОСТАВА АНТОЦИАНОВ ПУРПУРНОГО КАРТОФЕЛЯ И
ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ**

Магистерская диссертация
обучающегося по направлению подготовки 04.04.01 Химия
очной формы обучения, группы 11001740
Гуцуляк Василины Николаевны

Научный руководитель:
к. х. н., доцент
Блинова И.П.

БЕЛГОРОД 2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	6
1.1 Общая характеристика антоцианов.....	6
1.1.1 Строение антоцианов.....	8
1.1.2 Антиоксидантные свойства антоцианов.....	10
1.1.3 Распространение в природе	11
1.2 Количественное и качественное содержание антоцианов в растительном сырье	12
1.2.1 Спектрофотометрия в УФ-, ИК- и видимой области спектра в анализе антоцианов.....	13
1.2.2 Метод рН-дифференциальной спектрофотометрии.....	14
1.2.3 Хроматографические методы определения антоцианов.....	15
1.3 Изменения, происходящие с пигментами при различных способах обработки	16
2 МЕТОДИКИ ЭКСПЕРИМЕНТА.....	17
2.1 Методики экстракции антоцианов 0.1 М раствором HCl.....	17
2.2 Методики экстракции антоцианов буферными растворами с разными значениями рН.....	17
2.3 Методика экстракции антоцианов растворами HCl разной концентрации.....	18
2.4 Методика изучения сохранности и стабильности антоцианов (во времени и при разных способах переработки).....	18
2.5 Методика суммарного определения содержания антоцианов спектрофотометрическим методом	19
2.6 Методика исследования влияния рН на спектры антоцианов	19
2.7 Методика определения качественного состава антоцианового комплекса картофеля фиолетового методом ВЭЖХ.....	20

2.8 Методика определения антиоксидантной активности экстрактов картофеля пурпурного	21
2.9 Методика приготовления сухих форм, подкрашенных антоцианами	22
2.10 Методика определения влияния потери в массе при высушивании пурпурного картофеля на количественное содержание антоцианов в нем	23
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	24
3.1 Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле пурпурном спектрофотометрическим методом	24
3.2 Определение содержания антоцианов в кожуре картофеля	29
3.3 Влияние pH-экстрагента на количество экстрагируемых	30
антоцианов	30
3.4 Влияние концентрации экстрагента на количество экстрагируемых антоцианов	32
3.5 Изучение сохранности антоцианов во времени	34
3.6 Изучение стабильности экстрактов антоцианов фиолетового картофеля при хранении в различных условиях	36
3.7 Влияние термической обработки на концентрацию антоцианов в фиолетовом картофеле	39
3.8 Влияние pH на спектры антоцианов	41
3.9 Определение качественного состава антоцианового комплекса картофеля фиолетового методом ВЭЖХ	43
3.10 Определение антиоксидантной активности экстрактов фиолетового картофеля	47
3.11 Приготовление сухих форм, подкрашенных антоцианами	49
3.12 Влияние потери в массе при высушивании пурпурного картофеля на количественное содержание антоцианов в нем	51
ВЫВОДЫ	55
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	57

ВВЕДЕНИЕ

Для современного потенциального потребителя все большей проблемой становится поиск не только здоровой и натуральной пищи, но и продуктов, по своим свойствам являющихся ценными для организма человека с биологической точки зрения. Ведь, действительно, неблагоприятная экологическая обстановка, низкая стрессоустойчивость, нехватка времени для внимания к собственному здоровью – все это сказывается на организм современного человека. Поэтому развитие пищевой промышленности с использованием продуктов, обогащенных теми или иными биологически активными компонентами, становится популярным.

Антоцианы, являясь очень полезным сырьем, используемым для производства фармацевтических добавок, препаратов, получают все большую известность среди людей, заботящихся о своем здоровье. Данный пигмент распространен относительно широко на территории нашего государства, т.к. большая часть РФ имеет благоприятный климат для накопления в различных частях растения этого пигмента, ведь антоцианы накапливаются лишь в тех растениях которые произрастают в «жесткой» среде с обильным ярким солнцем. Антоцианы накапливаются в различных частях растения, являясь, своего рода, загаром, окрашивающим плоды или листья в яркие цвета. Однако, стоит заметить, что находятся все новые источники антоцианов среди привычных нам культур. В данной работе таким источником будет являться пурпурный картофель [1, 2, 3].

Целью работы является изучение физико-химических показателей пурпурного картофеля и влияния различных видов обработки на его количественный и качественный состав.

Для осуществления цели необходимо решение следующих задач:

- приготовление экстрактов из антоциан содержащего картофеля;
- определение сохранности экстрактов в различных условиях.
- определение суммарного содержания антоцианов в картофеле различными способами;

- определение качественного состава в исследуемом сырье;
- определение содержания антоцианов в обработанном различными способами картофеле;
- оценка антиоксидантной активности.

В ходе работы использовали следующие методы:

- спектрофотометрический метод;
- метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Общая характеристика антоцианов

Антоцианы - группа пигментов, находящихся в клеточных вакуолях растений, растворимых в воде. Применение антоцианов в фармакологии, медицинской и косметической, пищевой промышленности обусловлено наличием широкого перечня полезных свойств. Наиболее полезны для человеческого организма пигменты – флавоноиды, поступающие непосредственно из пищи.

Природные пигменты определяют яркий- от розового до фиолетового и черного - цвет плодов, листьев, лепестков и стеблей растений. В текущий момент известно свыше 400 разновидностей соединений.

В пищевой промышленности растительные гликозиды используются как натуральные красители. О присутствии описываемых веществ в составе продуктов свидетельствует нанесенный на этикетку код E163 [4].

Антоцианы не синтезируются организмом человека. Отсутствие в рационе естественных источников природных пигментов - фруктов, ягод и овощей - приводит к ослаблению иммунитета.

Поступая в организм человека с фруктами и овощами, антоцианы 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 [1, 5, 6].

Лидерами по количеству окрашенных флавоноидов являются ежевика, черника. В чуть меньшем объеме биологически важные соединения находятся в таких растениях, как:

- ирга;
- голубика;
- клюква;
- черная смородина;

- слива;
- вишня (кислые, окрашенные в темные цвета сорта);
- виноград (мускатный, Конкорд);
- красный (сицилийский) апельсин;
- малина;
- черемуха;
- черноплодная рябина;
- баклажан;
- банан;
- канадский (водяной) рис.

Антоцианы содержатся и овощных культурах - краснокочанной капусте, стручковом перце (сладком, жгучем), скорцонере (черной моркови).

Присутствие небольшого количества природных пигментов выявлено в картофеле, грушах и горохе.

Образованию антоцианов благоприятствуют низкая температура, интенсивное освещение, но полностью их биологические функции пока не выяснены. Антоцианы придают цвет лепесткам цветков: коричневую, красную, оранжевую окраску, способствуя тем самым привлечению насекомых-опылителей.

Больше всего антоцианов накапливают растения в местностях с суровыми климатическими условиями (Арктика, высокогорные луга), а также ранневесенняя флора. Антоцианы поглощают свет в ультрафиолетовой и зеленой областях спектра. Поглощенная энергия частично превращается в тепло, повышая на 1-4°C температуру листьев, пестиков, тычинок. Это создает более благоприятные условия, как для фотосинтеза, так и для оплодотворения и прорастания пыльцы в условиях пониженных температур. У высокогорных растений антоцианы, поглощая избыток солнечной радиации, защищают хлорофилл и наследственный аппарат клетки от повреждений. Яркая окраска цветков и плодов играет большую роль в привлечении насекомых-опылителей и в распространении плодов. Интересно, что растения, содержащие большое

количество антоциана, обладают повышенной стойкостью к загрязнению воздуха кислыми газами промышленных предприятий [6, 7, 8].

1.1.1 Структура антоцианов

Антоцианы присутствуют в природе преимущественно в виде гетерозидов. Агликон, называемый также антоцианидин, конструктивно состоит из флавилиевого иона или 2-фенилбензолпирилиевого производного, и представляет гидрокси- и метокси-группы в разных пространственных позициях. В зависимости от количества и положения гидроксильных и метоксильных заместителей, существует несколько десятков различных антоцианов (рис. 1.1.).

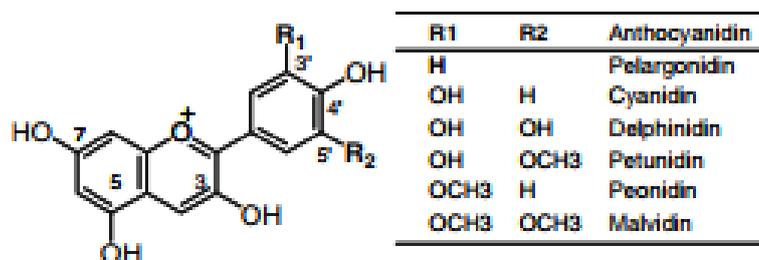


Рис. 1.1. Структура антоцианов, найденных в природе

Гликозидные единицы могут быть связаны с антоцианом всегда в положении 3-агликон. Когда в молекуле антоциана присутствуют дополнительные сахара, они соединены в положении 5 и 7, и чаще 3' и 5'. Глюкоза и галактоза, как гексозы, и рамноза, арабиноза и ксилоза, как пентозы, формируют каркас антоциана. Наиболее распространенные радикалы - ацилированные агенты коричной кислоты, п-коричная и кофейная кислоты, а также феруловая и синаповая кислоты.

Антоцианы хорошо растворимы в воде и спиртовых растворах. В воде они более стабильны при низких значениях pH. Однако, в кислом растворе они сосуществуют в четырех структурных видах: флавилиевый ион, хиноидное основание, псевдооснование, и халконная форма (рис. 2). В зависимости от pH раствора и структуры конкретного антоциана относительное количество каждой равновесной формы варьирует. Эта

характеристика является важным показателем при анализе антоцианов и должна учитываться при интерпретации библиографических данных как с технологической точки зрения. При низких значениях pH преобладающей формой антоциана является флавилиевый ион, который является красным. При увеличении pH, большинство флавилиевых ионов переходят в другие формы антоцианов: некоторые из них синего цвета (хиноидное основание), а другие бесцветные- псевдооснования ихалконные формы. Вообще, ацилирование антоцианов приводит к увеличению роста катионов флавилия, который сохраняет красный цвет при более высоком pH, увеличивая стабильность антоцианина.

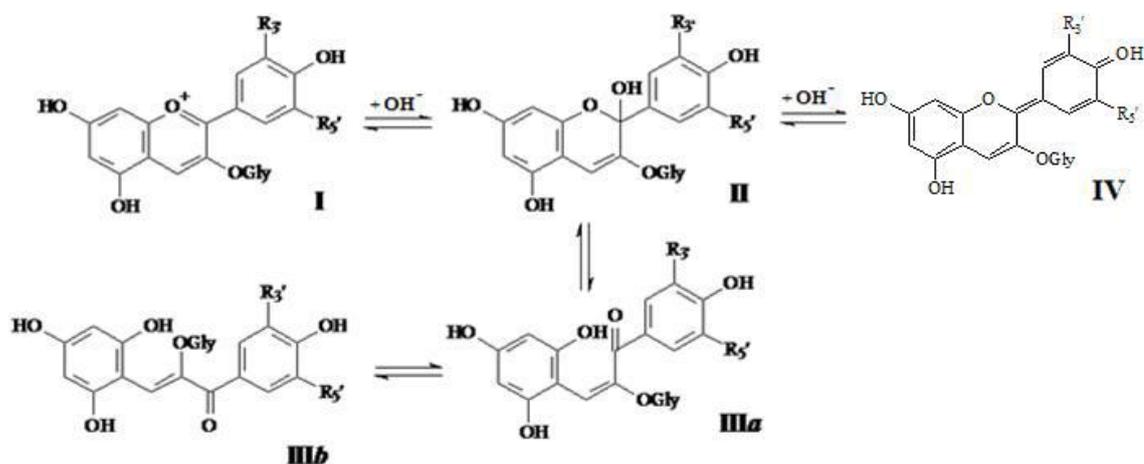


Рис. 1.2. Равновесия в растворах антоцианов: **I** – флавилиевый ион; **II** – псевдооснование; **III** – халконные формы (*цис*- (a) и *транс*- (b)); **IV** – хиноидное основание

Антоцианы относительно неустойчивы и легко окисляются. Они чувствительны ко многим факторам: широкий диапазон pH, который может повлиять на их стабильность и цвет, температура и УФ-излучение. На них также влияет присутствие в среде диоксида серы, аскорбиновой кислоты или ионов металла среди пищевых компонентов и добавок, окружающей среды [9, 10, 11].

1.1.2 Антиоксидантные свойства антоцианов

Антиоксиданты –антиокислители, компоненты натуральной или синтетической природы, которые препятствуют процессу окисления. Механизм действия антиоксидантов состоит в том, что молекула антиокислителя, взаимодействуя со свободными (активными) радикалами, образует структуры с малой активностью. Также антиоксиданты влияют на липиды мембранных клеток, способствуя замедлению процесса окисления [12].

Наличие огромного количества трудов, посвященных антиоксидантной активности антоцианов, широкое внимание фармацевтической промышленности в отношении этих пигментов доказывает их положительное влияние на организм человека с точки зрения антиоксидантной активности [13].

Связывание антоцианами свободного радикала способствует к этиологии многих хронических заболеваний и таким образом антиоксиданты могут иметь благотворное влияния на здоровье человека на разных уровнях. Антоцианы показаны мощным антиоксидантом и захватчиком свободных радикалов в различных моделях в лабораторных условиях. Анализируемые антоцианы 3-гликозид дельфинидина, единственный антоциан, содержащий 3 и 5' -гидрокси группы в В-кольце, показывали самую высокую противоокислительную емкость.

Биологическая активность выделенных из продуктов, богатых антоцианом, может проявляться на разных уровнях:

- профилактика сердечно-сосудистых заболеваний;
- противоопухолевое и антимуtagenное действие;
- благотворное влияние при сахарном диабете;
- защитное действие в отношении печени;
- влияние на зрение;
- влияние на нейродегенеративные процессы [6, 15].

1.1.3 Распространение в природе

К настоящему времени из растений выделено более 70 различных антоцианов. Качественный состав антоцианов, как правило, специфичен для конкретного вида растений и довольно стабилен. Однако он зависит от сортовых особенностей и условий произрастания растения.

Антоцианы содержатся почти во всех растительных тканях в самых разных частях растений: в венчике, лепестках, тычинках, корнях, стеблях и т. д. Во фруктах и овощах антоцианы находятся, прежде всего, в эпидермальном слое. Лучше всего исследовано распространение антоцианов в цветках, листьях и плодах. Часто окраска антоцианидина в листьях маскируется хлорофиллом. У некоторых сортов вишен, черешен, винограда они есть только в эпидермисе, у других - и в мякоти, причем в эпидермисе их больше.

Обычно в венчиках растений содержатся и антоцианы, и флавоны, и флавонолы. Флавоны и флавонолы интенсивно поглощают ультрафиолет. Поэтому особенно богаты этими пигментами цветки и листья тропических и высокогорных растений. Установлено, что, поглощая ультрафиолетовые лучи, флавоны, флавонолы и антоцианы предохраняют хлорофилл и цитоплазму клеток от разрушения [8, 16].

Богаты антоцианами такие растения, как голубика, черника, клюква, ежевика, чёрная смородина, черноплодная рябина, каркаде, вишня, баклажаны, малина, чёрный рис, виноград, мускатный виноград, красная капуста и др. В табл.1.1. приведены данные о наличии антоцианидинов в различных растениях.

Таблица 1.1.

Наличие антоцианов в различных растениях

Растения	Петунидин	Пеонидин	Цианидин	Дельфинидин	Мальвидин	Пеларгонидин
Vacciniummyrtillus L	+	+	+	+	+	+

Растения	Петунидин	Пеонидин	Цианидин	Дельфинидин	Мальвидин	Пеларгонидин
Vaccinium corymbosum L	+	+	+	+	+	
Vaccinium uliginosum L.	+	+	+	+	+	+
Ribes nigrum L.	+		+	+		
Vaccinium oxycoccos		+	+			
Aronia melanocarpa			+	+		
Vitis vinifera	+	+	+	+	+	
Hibiscus Sabdariffa L.			+	+		
Rubus fruticosus			+			
Vaccinium vitis-idaea		+	+		+	

1.2 Количественное и качественное содержание антоцианов в растительном сырье

Методы количественного определения антоцианов представляют интерес при изучении динамики накопления антоцианов при созревании фруктов и овощей, и кинетики их разрушения при технологической переработке сырья и хранении готовой продукции [17, 18]. С этой точки зрения созданные методы количественного определения антоцианов можно разделить на две группы:

- методы определения антоцианов в свежем сырье;
- методы определения антоцианов после переработки сырья и хранения полученного продукта.

Эти методы основываются на следующих фактах: антоцианы имеют абсорбционный максимум около 510-550 нм. Он очень удален от максимума других фенольных соединений, причем ближе всего расположен максимум флавоноидов (350-380 нм). Во многих случаях на максимум антоцианов или соответствующего продукта количественно и позиционно могут влиять другие

соединения, например, хлорофилл; абсорбция антоцианов во многом зависит от pH раствора; антоцианы обесцвечиваются сернистой кислотой; антоцианы быстро разрушаются перекисью водорода; на положение максимума влияют вид растворителя и образование комплексов с некоторыми металлами, а также продолжительная термическая обработка [2].

1.2.1 Спектрофотометрия в УФ-, ИК- и видимой области спектра в анализе антоцианов

Спектрофотометрический анализ позволяет осуществлять количественное определение суммы антоцианов, выделяемых из растительных объектов [19].

Спектрофотометрические методы анализа основаны на избирательном поглощении электромагнитного излучения определяемым веществом и служат для исследования строения, идентификации и количественного анализа светопоглощающих соединений. В основе определений, связанных с измерением поглощения электромагнитного излучения, лежит закон Бугера-Ламберта-Бера, связывающий оптическую плотность (функция) с концентрацией вещества. В наиболее применяемой форме этот закон записывают в виде:

$$C = \frac{A}{\varepsilon \cdot l} \cdot \frac{V_k}{1000} \cdot \frac{M}{m_{\text{нав}}} \cdot R \cdot 100, \quad (1)$$

где:

C – концентрация антоцианов, г/100 г;

A – оптическая плотность экстракта;

ε – молярный коэффициент поглощения, 26900 л/моль·см;

l – длина оптического пути, см;

M – молярная масса Су-3-Glu, 484 г/моль;

V_k – объем колбы, см³;

R – разбавление;

Кривая зависимости поглощения от длины волны называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой.

Определение проводят на приборах - спектрофотометрах, позволяющих определять как окрашенные, так и бесцветные соединения по их избирательному поглощению.

Для анализа окрашенных соединений применяют более простые приборы - фотоэлектроколориметры.

Природа полос поглощения в видимой и ультрафиолетовой областях связана с различными электронными переходами в поглощающих молекулах и ионах (электронные спектры поглощения).

Современная аппаратура позволяет получить УФ-спектры в области 190-380 нм, видимые – от 380 до 780 нм [2].

В качестве растворителя для определения подлинности и количественного содержания чаще используют подкисленный метанол. Максимумы поглощения при этом растворителе в ультрафиолетовой области около 275 нм, а в видимой – между 465 и 550 нм, в зависимости от вида антоциана [19].

1.2.2 Метод рН-дифференциальной спектрофотометрии

Ввиду того, что цвет антоцианов зависит от их флавиольной формы, зависящей от рН-среды, логично было бы рассмотреть метод рН-дифференциальной спектрофотометрии, который описан в ГОСТ 32709-2014 «Продукция соковая. Методы определения антоцианинов» [17, 20].

Антоцианы наиболее характерную фиолетовую окраску, за которую отвечает флавилиевая форма пигмента, проявляют в кислых средах. Но при увеличении числа фенольных гидроксильных групп (что случается при увеличении рН раствора) цвет пигмента меняется на синий, образуя сначала бесцветную форму - псевдооснования (рН до 4,5), а затем, при дальнейшем подщелачивании с образованием раствора серо-зеленого цвета, получаем хиноидные структуры. Псевдооснования находятся в равновесии с

халконными формами пигмента (цис- и транс-халконные формы), которые характеризуют неустойчивость агликонов из-за быстрого превращения транс-халконной формы в дикетопроизводные.

Сущность метода.

Метод основан на применении рН-дифференциальной спектрофотометрии. Суммарную массовую концентрацию (массовую долю) антоцианинов в соковой продукции определяют на основе изменения поглощения света с длиной волны 510 нм при изменении кислотности растворов соковой продукции с рН от 1 до 4,4 [21].

1.2.3 Хроматографические методы определения антоцианов

Под хроматографией обычно подразумевают процесс разделения смесей веществ, происходящий при их перемещении в потоке подвижной фазы вдоль неподвижного сорбента.

Разделение происходит благодаря различию тех или иных физико-химических свойств разделяемых веществ, приводящему к неодинаковому взаимодействию их с веществом неподвижной фазы, а, следовательно, к различию во времени удерживания в слое сорбента [22].

Высокоэффективная жидкостная хроматография

В настоящее время исследование антоциановых пигментов методом ВЭЖХ является наиболее популярным. Наиболее часто применяемыми сорбентами являются :Сепарон SGX C18, Силасорб С 18, Диасфер-110-С18 и др. Для приготовления элюэнт используют ацетонитрил и воду, также к этой смеси возможно добавление муравьиной кислоты или кислоты уксусной. При увеличении содержания ацетонитрила в подвижных фазах удерживание антоцианов с двумя углеводными радикалами уменьшается быстрее, чем моногликозидов. При увеличении содержания ацетонитрила (более 11%) происходит уменьшение селективности их разделения вплоть до инверсии времен удерживания [23, 24].

Основной проблемой при анализе сложных смесей является необходимость идентификации каждого компонента, требующая либо больших затрат рабочего времени, либо использования труднодоступного оборудования. Применение стандартных веществ в этих случаях также проблематично по той же причине [25].

1.3 Изменения, происходящие с пигментами при различных способах обработки

При механической обработке антоцианы могут подвергаться окислительной деградации и вступать в реакции с металлами, в результате окраска продуктов изменяется. Например, при изготовлении желе, муссов, киселей из ягод и плодов обычно отжимают сок и некоторое время хранят его. Это вызывает ослабление интенсивности окраски, так как антоцианы разрушаются под действием света и окисления кислородом воздуха с участием ферментов полифенолоксидаз.

Степень изменения окраски зависит от pH сока: чем ниже pH, тем лучше сохраняется окраска. Наименьшие изменения наблюдаются при pH 2. В пределах pH от 3 до 4, что характерно для плодов и ягод, наиболее стабильны при хранении сока пигменты вишни, черники, земляники. С целью сохранения окраски целесообразно добавлять в сок лимонную кислоту.

Изменение окраски соков может происходить и под влиянием ионов некоторых металлов, попадающих из водопроводной воды в процессе промывания, из оборудования при протирании или отжимании сока. Ионы железа и меди катализируют процесс окисления антоцианов, что вызывает ослабление окраски. Помимо этого антоцианы могут вступать в реакцию с металлами и приобретать нехарактерную окраску.

При варке ягод и плодов происходит заметное изменение их окраски. При нагревании их до 50°C активизируются окислительные ферменты, вызывающие разрушение антоцианов. Дальнейшее повышение температуры вызывает разрушение ферментов. Стабилизация окраски плодов и ягод

происходит при температуре 70°C, когда ферменты инактивированны, а термической деградации антоцианов практически не происходит [26, 27, 28].

2 МЕТОДИКИ ЭКСПЕРИМЕНТА

2.1 Методики экстракции антоцианов 0.1 М раствором HCl

Первый способ:

Из разных частей картофеля делают несколько срезов и суммарную пробу взвешивают на техномических весах, растирают в ступке под слоем экстрагента. Полученный экстракт переносят порциями на бумажный фильтр и собирают в мерную колбу на 100 см³. Оставшееся растительное сырье заливают новой порцией экстрагента и растирают в ступке. Экстракцию проводят до обесцвечивания растительного сырья. После чего доводят объем в колбе до метки экстрагентом. В качестве экстрагента используют 0.1 М раствор соляной кислоты. Содержание антоцианов определяют спектрофотометрическим методом [29].

Второй способ:

Из разных частей картофеля нарезают тонкие пластинки, суммарную пробу взвешивают на техномических весах и заливают определенным объемом 0.1 М раствора соляной кислоты. Оставляют на время, достаточное для полного обесцвечивания сырья и экстракт фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу. Содержание антоцианов определяют спектрофотометрическим методом.

2.2 Методики экстракции антоцианов буферными растворами с разными значениями pH

Из разных частей картофеля делают несколько срезов и суммарную пробу взвешивают на техномических весах, растирают в ступке под слоем буферного раствора с pH=1.68. Полученный экстракт переносят порциями на бумажный фильтр и собирают в мерную колбу на 100 см³. Оставшееся растительное сырье заливают новой порцией буферного раствора и растирают

в ступке. Экстракцию проводят до обесцвечивания растительного сырья. После чего доводят объем в колбе до метки буферным раствором с $\text{pH}=1.68$.

Аналогично проводят экстракцию антоцианов из картофеля буферными растворами с $\text{pH}= 4.01; 6.86; 9.18$. Спектрофотометрическое определение антоцианов проводят далее при $\text{pH}=1$ [29].

2.3 Методика экстракции антоцианов растворами HCl разной концентрации

Из разных частей картофеля делают несколько срезов и суммарную пробу взвешивают на техномических весах, растирают в ступке под слоем экстрагента. Полученный экстракт переносят порциями на бумажный фильтр и собирают в мерную колбу на 100 см^3 . Оставшееся растительное сырье заливают новой порцией экстрагента и растирают в ступке. Экстракцию проводят до обесцвечивания растительного сырья. После чего доводят объем в колбе до метки экстрагентом. В качестве экстрагента используют 0.1 M раствор соляной кислоты. Аналогично проводят экстракцию антоцианов растворами соляной кислоты с концентрациями 0.01 M и 0.001 M и дистиллированной водой.

Содержание антоцианов определяют спектрофотометрическим методом.

2.4 Методика изучения сохранности и стабильности антоцианов (во времени и при разных способах переработки)

Сохранность антоцианов во времени изучают измерением их количественного содержания в клубнях картофеля ежемесячно с периода получения урожая.

Стабильность антоцианов изучают после приготовления экстрактов методом растирания и наблюдением изменения концентрации полученных

растворов в течение двух недель. Параллельно проводят изучение стабильности антоцианов при хранении экстрактов в холодильнике.

Изменение концентрации антоцианов в сырье после воздействия термической обработки (варка картофеля «в мундире», без кожуры, жарка картофеля) определяют после экстракции обработанного картофеля в соляной кислоте методом растирания.

Содержание антоцианов определяют спектрофотометрическим методом.

2.5 Методика суммарного определения содержания антоцианов спектрофотометрическим методом

Определение антоцианов проводят на приборах: SHIMADZU UV-2550, СПЕКС ССП-705-4-2550, СФ-2000.

Содержания антоцианов в растительном сырье пересчитывали на цианидин-3-глюкозид. Для расчета пользовались формулой (1).

2.6 Методика исследования влияния рН на спектры антоцианов

При изучении зависимости спектров поглощения экстрактов антоцианов от рН, аликвотные объемы солянокислых экстрактов переносили в химический стакан, рН доводили до необходимого значения добавлением 0.1 М растворов гидроксида натрия или соляной кислоты. Раствор доводили до метки в мерной колбе дистиллированной водой и вновь определяли рН полученного раствора. Затем снимали спектры полученных образцов [29, 30].

В работе использовали рН-метр Mettler Toledo SevenCompact pHmeter S220, и спектрофотометр СФ-2000.

2.7 Методика определения качественного состава антоцианового комплекса картофеля фиолетового методом ВЭЖХ

Пробоподготовка перед хроматографическим определением антоцианов:

Перед хроматографическим определением качественного состава антоцианов экстракты образцов ранее приготовленных методом мацерации подвергают твердофазной очистке. Для чего через концентрирующий патрон ДИАПАК С18 (БиоХимМак СТ, Москва) пропускают 5 - 7 мл ацетона и кондиционируют патрон, пропуская 10 - 15 мл 0.1М раствора соляной кислоты. Затем, через подготовленный патрон пропускают экстракт до насыщения его экстрактом. Затем патрон промывали 2 мл 0.1М раствора HCl и десорбируют антоцианы сорбента смесью ацетонитрила и муравьиной кислоты, содержащие по 30 об.% в воде.

Затем полученные образцы разбавляют дистиллированной водой до состава подвижной фазы.

Условия хроматографирования:

Качественный состав антоцианов исследовали на хроматографической системе AgilentTehnologisInfinity с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детекторами.

В работе использовали хроматографическую колонку 150×4.6 мм Symmetry C18, 3,5 мкм.

Подвижную фазу готовили смешиванием заданных объемов ацетонитрила и муравьиной кислоты в мерных колбах с доведением объема до метки дистиллированной водой. Хроматографирование производят в градиентном режиме, используя систему подвижных фаз: А – 6 об.% ацетонитрила и 10 об.% муравьиной кислоты в воде; В – 20 об. % ацетонитрила и 10 об. % муравьиной кислоты в воде [19], при параметрах, указанных в табл. 2.1.

Таблица 2.1

Параметры хроматографирования

№	Время хроматографирования, мин	Канал А, %	Канал В, %	Поток, мл/мин	Температура колонки, °С	Длина волны, нм
1	0,00	100	0,0	0,800	40	515
2	20	0,0	100	0,800	40	515
3	30	0,0	100	0,800	40	515
4	31	100	0,0	0,800	40	515
5	41	100	0,0	0,800	40	515

Электронные спектры регистрируют непосредственно в кювете диодно-матричного детектора хроматографа. Хроматографическое определение антоцианов осуществляли из образцов, предварительно очищенных методом твердофазной экстракции [25].

2.8 Методика определения антиоксидантной активности экстрактов картофеля пурпурного

Определение концентрации антиоксидантов проведем методом Фолина-Чокальтеу. Метод основан на реакции фенолов (входящих в состав антиоксидантов) и реактива Фолина-Чокальтеу, состоящего из фосфорновольфрамовой фосворномолибденовой кислот, которые в щелочной среде при взаимодействии с фенолами и полифенолами восстанавливаются с образованием окрашенных в синий комплексов. Их количественное содержание оценивается спектрофотометрически.

Для определения количественного содержания антиоксидантов в выбранной среде будем использовать калибровочный график.

1) Построение калибровочного графика

В 4 мерные колбы на 5 мл отберем по 1 мл соды (10%), 50, 100, 150, 200 мкл раствора кофейной кислоты, затем добавим по 200 мкл реактива Фолина-Чокальтеу, доводим объемы в колбах до метки водой дистиллированной и

оставляем пробы на 30 минут, наблюдаем изменение цвета в синий с заметной разницей в растворах с увеличением концентрации кофейной кислоты. В случае, если раствор в колбах мутный, то по прошествии 30 минут пробы необходимо профильтровать, затем измерить оптическую плотность при $\lambda=760$ нм. Затем по полученным показателям строим график зависимости величины оптической плотности от концентрации кофейной кислоты.

2) Приготовление испытуемого образца и определение содержания антиоксидантов в нем.

Взвешиваем на технохимических весах навеску мякоти картофеля и растираем ее в ступке с добавлением небольшого количества 0.1 М соляной кислоты. Полученный экстракт фильтруем в мерную колбу на 100 мл, доводим до метки экстрагентом.

В мерную колбу на 5 мл отбираем 1 мл 20% раствора соды, 200 мкл исследуемого образца и 200 мкл реактива Фолина-Чокальтеу, доводим до метки дистиллированной водой. Колбы с растворами хорошо встряхиваем и оставляем на 30 минут.

По истечению времени проводим измерения оптической плотности на спектрофотометре при длине волны $\lambda=760$ нм. По результатам измерения оптической плотности растворов находим на диапазоне калибровочного графика точку, соответствующую значению исследуемого образца [20].

2.9 Методика приготовления сухих форм, подкрашенных антоцианами

Сухие формы антоцианов готовили из концентрированных очищенных экстрактов фиолетового картофеля.

К полученному концентрату добавляли матрицу в соотношениях по массе матрицы и концентратов 1:2. В качестве матрицы использовали пектин яблочный, ксантановую камедь, мальтодекстрин, гуммиарабик. Полученные образцы замораживали в морозильной камере, а затем сушили в лиофильной сушилке FreeZone объемом 2,5 л при следующих условиях: вакуум - 0,024

мВар, температура -42°C . В полученных сухих формах определяли спектрофотометрическим методом содержание антоцианов [31, 32, 33].

2.10 Методика определения влияния потери в массе при высушивании пурпурного картофеля на количественное содержание антоцианов в нем

Для картофеля, как и для других сезонных овощей свойственна потеря влаги в процессе хранения. Масса клубня уменьшается из-за усыхания, а количественное содержание входящих в состав картофеля веществ остается относительно неизменным, поэтому, кажется, что при измерении количественного содержания антоцианов в процессе хранения их суммарное содержание увеличивается. Следовательно, справедливым будет найти потерю влаги при высушивании картофеля и содержание антоцианов в высушенном до постоянной массы клубне для получения более достоверных данных касательно количественного содержания данных пигментов в исследуемом образце.

Для изучения содержания антоцианов в клубнях, картофель необходимо высушить до постоянной массы, перед этим взвесить сам клубень. Сушить картофель предполагается в эксикаторе, взвешивание производить раз в сутки. Потерю массы при высушивании (W , %) будем рассчитывать, используя следующую формулу:

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \cdot 100 \% \quad (2)$$

где:

m_1 – масса картофеля до высушивания, г;

m_2 – масса картофеля после высушивания. г;

После высушивания необходимо приготовить экстракт мякоти картофеля с 0.1 М соляной кислотой методом мацерации и найти количественное содержание спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-2000 при диапазоне длин волн 400-700 нм [34, 35].

2 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1 Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле пурпурном спектрофотометрическим методом

Впервые картофель фиолетовый был выращен в г. Белгороде на приусадебном участке в 2017 году. Определение содержания антоцианов проведено в ноябре 2017.

Сначала определяли содержание антоцианов по методике 2.1 (первый способ). Определение проводили в двух параллелях. Спектры поглощения снимали на спектрофотометре SHIMADZUUV-2550. Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 250-700 нм. Экстрагент 0.1 М соляная кислота.

Результаты анализа представлены в табл. 3.1.

$$C_1 = \frac{0,906}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,806} \cdot 100 \cdot 1000 = 58 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,914}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,766} \cdot 100 \cdot 1000 = 59 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.1.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в ноябре 2017 года (первый способ)

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	2,806	526	0,906	-	58
2	2,766	527	0,914	-	58

Затем определяли содержание антоцианов по методике 2.1 (второй способ). Определение проводили в двух параллелях.

Результаты анализа представлены в табл. 3.2.

$$C_1 = \frac{0,794}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,769} \cdot 100 \cdot 1000 = 52 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,835}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,790} \cdot 100 \cdot 1000 = 54 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.2.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в ноябре 2017 года (второй способ)

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	2,769	526	0,794	-	52
2	2,790	527	0,835	-	54

Таким образом, наиболее эффективным способом экстракции антоцианов является первый способ, которым удается экстрагировать на 9.4% антоцианов больше.

Второй раз определение содержания антоцианов в картофеле, выращенном в 2017 году, было проведено в мае 2018 года, т.е. спустя 4 месяца. Определяли содержание антоцианов по методике 2.1 (первый способ). Определение проводили в трех параллелях. Спектры поглощения снимали на спектрофотометре на спектрофотометре СФ-2000. Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 400-700 нм.

Результаты анализа представлены в табл. 3.3.

$$C_1 = \frac{0,5656}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,5000} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 81 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,5621}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,5002} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 81 \text{ мг/100г}$$

$$C_3 = \frac{0,5637}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,5000} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 81 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.3.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в мае 2017 года (первый способ)

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	2,500	528	0,566	2	81

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
2	2,500	528	0,562	2	81
3	2,500	528	0,564	2	81

Содержание антоцианов увеличилось не 38.5% за счет потери влаги картофелем при хранении.

В 2018 году картофель фиолетовый тоже был выращен в г. Белгороде на приусадебном участке. Собран урожай был в сентябре 2018г. Содержание антоцианов первый раз определено в октябре 2018 года.

Сначала определяли содержание антоцианов по методике 2.1 (первый способ). Определение проводили в двух параллелях. Спектры поглощения снимали на спектрофотометре SHIMADZUUV-2550. Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 250-700 нм.

Результаты анализа представлены в табл. 3.4.

$$C_1 = \frac{0,573}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,6696} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 77 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,574}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,6946} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 77 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.4.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в октябре 2018 года (первый способ)

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	2,670	525	0,573	2	77
2	2,695	526	0,574	2	77

Затем определяли содержание антоцианов по методике 2.1 (второй способ). Определение проводили в двух параллелях.

Результаты анализа представлены в табл. 3.5.

$$C_1 = \frac{0,763}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,7534} \cdot 100 \cdot 1000 = 50 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,896}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,9417} \cdot 100 \cdot 1000 = 55 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.5.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в
октябре 2018 года (второй способ)

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	2,753	526	0,763	-	50
2	2,942	527	0,896	-	55

Еще раз было подтверждено, что наибольшее количество антоцианов удается извлечь первым способом на 32% больше, чем вторым способом.

Второй раз содержание антоцианов было определено в ноябре 2018 года. Сначала определяли содержание антоцианов первым способом, определение проводили в двух параллелях. Спектры поглощения снимали на спектрофотометре СПЕКС ССП-705-4-2550. Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 400-700 нм.

Результаты анализа представлены в табл. 3.6.

$$C_1 = \frac{0,6849}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{1,8640} \cdot 100 \cdot 1000 = 66 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,7102}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{1,9118} \cdot 100 \cdot 1000 = 67 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.6.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в ноябре
2018 года (первый способ)

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	1,864	527	0,685	-	66
2	1,912	528	0,710	-	67

Содержание антоцианов в сырье уменьшилось за месяц на 13%.

Затем определяли содержание антоцианов в фиолетовом картофеле вторым способом (настаивание проводили в течение трех дней, определяя содержание антоцианов в каждой экстракции). Определение проводили в двух параллелях.

Результаты анализа представлены в табл. 3.7 – 3.9.

Таблица 3.7.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в ноябре 2018 года (второй способ), первая экстракция

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	4,027	527	0,239	2,5	27
2	3,879	527	0,229	2,5	27

$$C_1 = \frac{0,2395}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{4,0274} \cdot 2,5 \cdot 100 \cdot 1000 = 27 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,2292}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,8794} \cdot 2,5 \cdot 100 \cdot 1000 = 27 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.8.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в ноябре 2018 года (второй способ), вторая экстракция

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	4,027	527	0,270	2,5	30
2	3,879	527	0,257	2,5	30

$$C_1 = \frac{0,2703}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot 4,0274 \cdot 2,5 \cdot 100 \cdot 1000 = 30 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,2570}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,8794} \cdot 2,5 \cdot 100 \cdot 1000 = 30 \text{ мг/100г}$$

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в ноябре 2018 года (второй способ), третья экстракция

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	4,027	527	0,326	2,5	36
2	3,879	527	0,303	2,5	35

$$C_1 = \frac{0,3262}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot 4,0274 \cdot 2,5 \cdot 100 \cdot 1000 = 36 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,3028}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,8794} \cdot 2,5 \cdot 100 \cdot 1000 = 35 \text{ мг/100г}$$

Таким способом за три экстракции путем настаивания удалось извлечь наибольшее количество антоцианов 93мг/100г и 92 мг/100г в двух параллельных определениях.

3.2 Определение содержания антоцианов в кожуре картофеля

В марте 2018 г было определено содержание антоцианов в кожуре картофеля. Экстракцию проводили по первому способу методом растирания. Спектры поглощения снимали на спектрофотометре – СПЕКС ССП-705-4. Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 250-700 нм.

Результаты анализа представлены в табл. 3.10.

$$C_1 = \frac{0,7917}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,2714} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 125 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,7878}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,2423} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 126 \text{ мг/100г}$$

Определение суммарного содержания антоцианов в кожуре картофеля
в марте 2018 года (первый способ)

№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	2,271	524	0,792	2	125
2	2,242	524	0,788	2	126

Содержание антоцианов в кожуре картофеля превосходит содержание антоцианов в мякоти.

3.3 Влияние рН-экстрагента на количество экстрагируемых антоцианов

Эксперимент был проведен в июне 2018г экстракцию проводили по первому способу методом растирания с использованием буферных растворов при различных рН. После проведения экстракции рН доводили до 1 и снимали спектры поглощения (спектрофотометр –СФ-2000). Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 400-700 нм. Результаты представлены на рис.3.1. и в таблице 3.11.

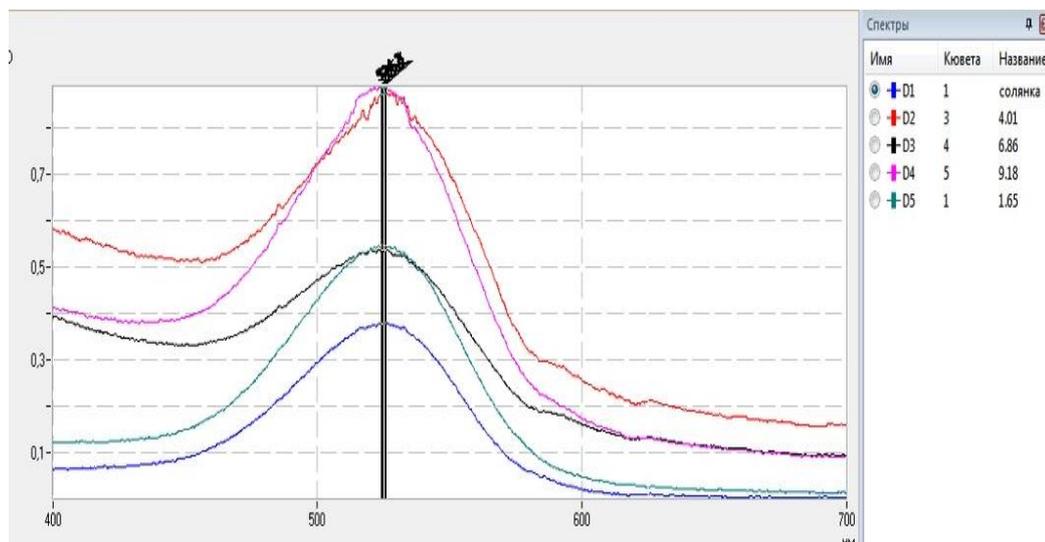


Рис.3.1. Изменение спектров экстракта картофеля при изменении pH экстрагента: 1 –соляная кислота 0,1 н., 2-буферный раствор с pH=1.65, 3-буферный раствор с pH=4.01, 4- буферный раствор с pH=6.86, 5- буферный раствор с pH=9.18

$$C_1 = \frac{0,3808}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{4,9155} \cdot 6 \cdot 100 \cdot 1000 = 84 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,5486}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{4,8241} \cdot 4 \cdot 100 \cdot 1000 = 82 \text{ мг/100г}$$

$$C_3 = \frac{0,8743}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{4,9246} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 64 \text{ мг/100г}$$

$$C_4 = \frac{0,5384}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{4,8548} \cdot 100 \cdot 1000 = 20 \text{ мг/100г}$$

$$C_5 = \frac{0,4038}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{4,9218} \cdot 100 \cdot 1000 = 15 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.11.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в июне 2018 года (первый способ) при экстракции антоцианов при разных pH

№	Масса навески, г	pH	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	4,916	HCl(0.1M)	526	0,381	6	84
2	4,824	1,68	525	0,549	4	82

№	Масса навески, г	pH	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
3	4,925	4,01	526	0,874	2	64
4	4,855	6,86	525	0,539	-	20
5	4,922	9,18	524	0,888	-	15

Таким образом, можно сделать вывод о том, что лучшим экстрагентом для антоцианов из картофеля фиолетового являются растворы с pH=1 и 1,68.

3.4 Влияние концентрации экстрагента на количество экстрагируемых антоцианов

В июне 2018 г было исследовано влияние концентрации экстрагентов на количество экстрагируемых антоцианов.

Экстракцию проводили по первому способу методом растирания. Использовали экстрагенты с разным содержанием соляной кислоты и воду. Спектры поглощения снимали на спектрофотометре –СФ-2000. Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 400-700 нм.

Полученные растворы различаются по внешнему виду (рис. 3.2.).

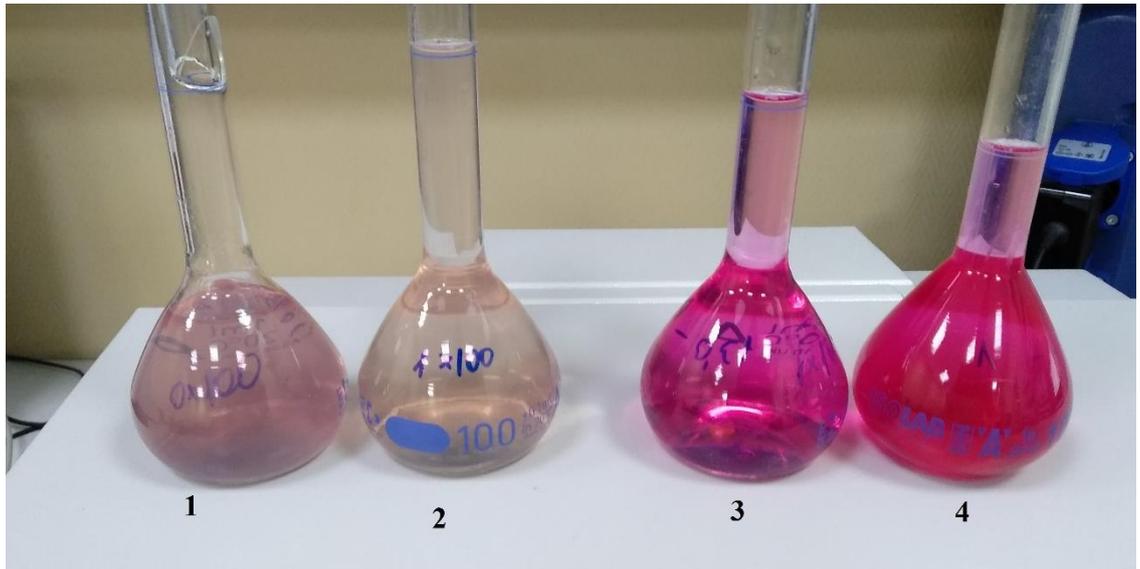


Рис. 3.2. Вид экстрактов антоцианов, полученных с использованием разных экстрагентов: 1 – вода; 2 - 0.001МНСl; 3 - 0.01МНСl; 4 - 0.1МНСl

Результаты анализа представлены на рис.3.3 и в таблице 3.12.

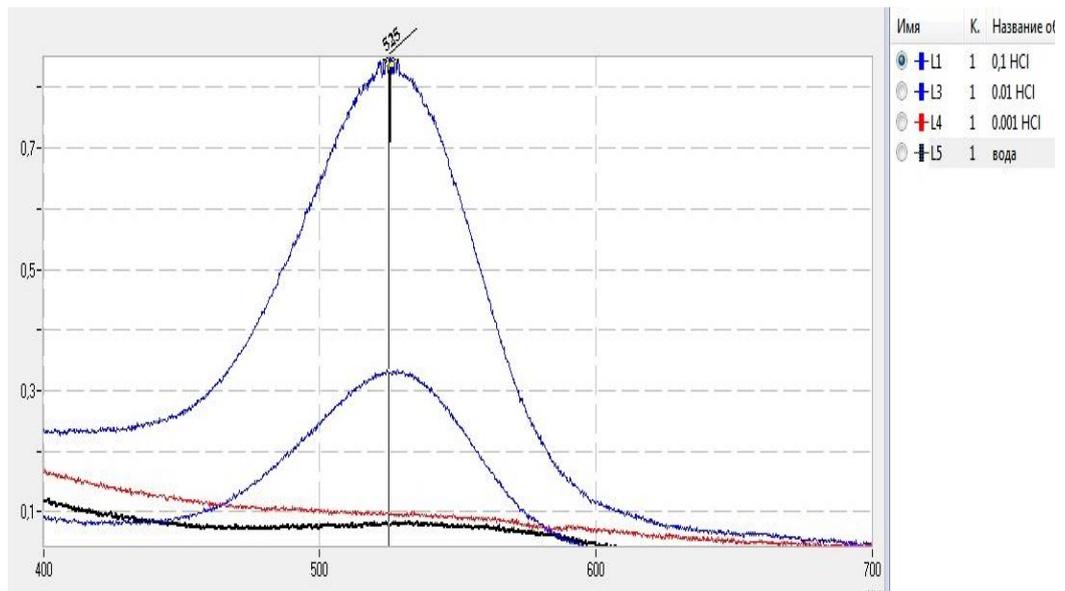


Рис.3.3. Влияние концентрации экстрагента на экстракцию антоцианов:

1 – 0.1МНСl, 2 - 0.01МНСl, 3 - 0.001МНСl, 4 – вода

$$C_1 = \frac{0,6725}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,8469} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 85 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,3321}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,8469} \cdot 3 \cdot 100 \cdot 1000 = 63 \text{ мг/100г}$$

$$C_3 = \frac{0,1934}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,8469} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 24 \text{ г/100мг}$$

$$C_4 = \frac{0,1594}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,8469} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 20 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.12.

Определение суммарного содержания антоцианов в картофеле в июне 2018 года (первый способ) при экстракции разными экстрагентами

№	Масса навески, г	Экстрагент	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	2,8469	0.1м HCl	525	0.839	2	85
2	2,8469	0.01м HCl	525	0.332	3	63
3	2,8469	0.001м HCl	525	0.1934	2	24
4	2,8469	вода	525	0.1594	2	20

Таким образом, наилучшим экстрагентом для антоцианов является 0.1М HCl. Экстрагентом 0.01М HCl удается экстрагировать практически на 60% меньше антоцианов, Экстрагентом 0.001М HCl и водой удается экстрагировать только около 10 % по сравнению 0.1М HCl.

3.5 Изучение сохранности антоцианов во времени

Изучение изменения концентрации антоцианов в клубнях фиолетового картофеля проводили ежемесячно с сезона сбора урожая 2018 г.

Концентрацию находили в экстрактах, полученных методом мацерации спектрофотометрическим методом. Пользовались спектрофотометром – СФ-2000. Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 400-700 нм.

Результаты представлены в табл. 3.13.

$$C_{\text{октябрь}} = \frac{0,5730}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,6700} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 77 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{ноябрь}} = \frac{0,6850}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{1,8640} \cdot 100 \cdot 1000 = 66 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{декабрь}} = \frac{0,9004}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,7001} \cdot 100 \cdot 1000 = 60 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{январь}} = \frac{0,7237}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,3251} \cdot 100 \cdot 1000 = 56 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{февраль}} = \frac{0,8005}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,7158} \cdot 100 \cdot 1000 = 53 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{март}} = \frac{0,7829}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{4,8574} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 58 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{апрель}} = \frac{0,4614}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,3054} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 72 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{май}} = \frac{0,5502}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,0000} \cdot 3 \cdot 100 \cdot 1000 = 99 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.13.

Изучение сохранности антоцианов фиолетового картофеля во времени

Дата проведения анализа	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
Октябрь 2018	2,6700	525	0,5730	2	77
Ноябрь 2018	1,8640	527	0,6850	-	66
Декабрь 2018	2,7001	528	0,9004	-	60
Январь 2019	2,3251	528	0,7237	-	56
Февраль 2019	2,7158	528	0,8005	-	53
Март 2019	4,8574	526	0,7829	2	58
Апрель 2019	2,3054	526	0,4614	2	72
Май 2019	3,0000	530	0,5502	3	99

Для наглядности построим график изменения концентрации антоцианов в фиолетовом картофеле рис. 3.4.

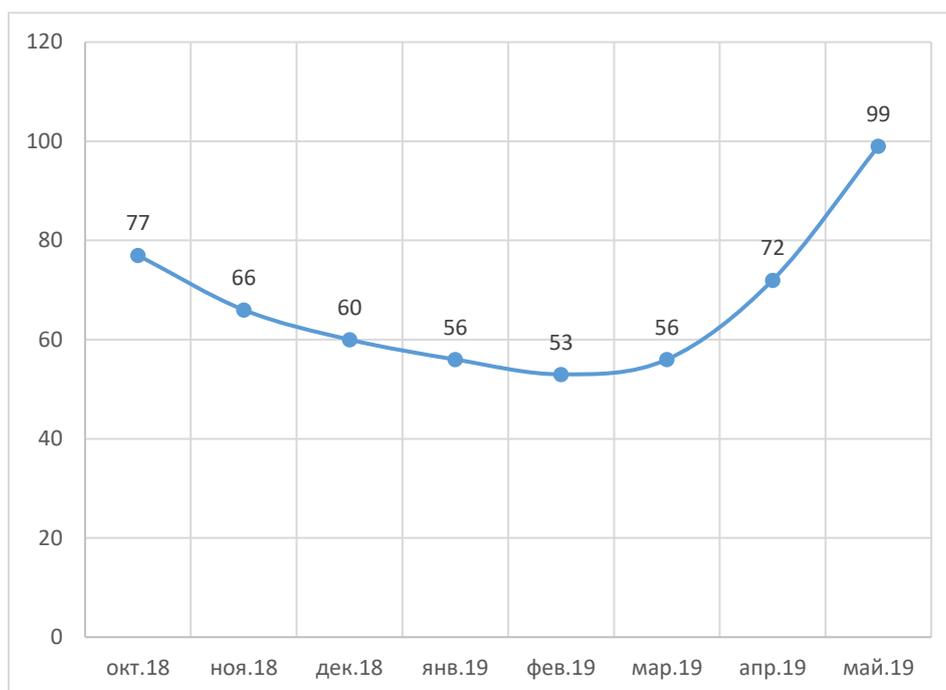


Рис. 3.4. График изменения концентрации антоцианов в фиолетовом картофеле в течение семи месяцев

Как видно из графика на рисунке 3.4. содержание антоцианов в клубнях картофеля в течение времени снижается до февраля, а затем увеличивается. Это связано с увеличением концентрации пигментов ввиду уменьшения влаги в клубнях (см. п. 3.12). С октября месяца по февраль содержание антоцианов увеличилось на 28%.

3.6 Изучение стабильности экстрактов антоцианов фиолетового картофеля при хранении в различных условиях

Для изучения стабильности экстрактов антоцианов был приготовлен экстракт из навески массой 3,6844 г картофеля методом растирания под слоем 0.1м HCl. Экстракты были оставлены на хранение при разных условиях: при комнатной температуре и в холодильнике, на 12 дней. Для определения содержания концентрации антоцианов использовали СФ-2000.

Расчет содержания концентрации антоцианов в образцах, хранившихся при комнатной температуре:

$$C_{\text{день 1й}} = \frac{0,5734}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 56 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 2й}} = \frac{0,5426}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 53 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 3й}} = \frac{0,5119}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 50 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 4й}} = \frac{0,4710}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 46 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 5й}} = \frac{0,4607}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 45 \text{ г/100г}$$

$$C_{\text{день 8й}} = \frac{0,4095}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 40 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 9й}} = \frac{0,3212}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 31 \text{ мг/100г}$$

Расчет содержания концентрации антоцианов в образцах, хранившихся в холодильнике (табл. 3.14):

$$C_{\text{день 1й}} = \frac{0,5734}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 56 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 2й}} = \frac{0,5631}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 55 \text{ м/100г}$$

$$C_{\text{день 3й}} = \frac{0,5586}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 55 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 4й}} = \frac{0,5448}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 53 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 5й}} = \frac{0,5222}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 51 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 8й}} = \frac{0,4756}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 46 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 9й}} = \frac{0,4612}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 45 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 10й}} = \frac{0,4403}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 43 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{день 11й}} = \frac{04112}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 40 \text{ г/100г}$$

$$C_{\text{день 12й}} = \frac{0,3652}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,6844} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 36 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.14.

Изучение стабильности 0.1 М солянокислых экстрактов фиолетового картофеля в различных условиях, в течение 2х недель

День	Хранение при комнатной температуре			Хранение в холодильнике		
	λ_{max} , нм	A	Содержание антоцианов, мг/100г	λ_{max} , нм	A	Содержание антоцианов, мг/100г
1-й	527	0,5734	56	527	0,5734	56
2-й	527	0,5426	53	528	0,5631	55
3-й	526	0,5119	50	528	0,5586	55
4-й	527	0,4710	46	526	0,5448	53
5-й	528	0,4607	45	525	0,5222	51
8-й	528	0,4095	40	526	0,4756	46
9-й	528	0,3212	31	525	0,4612	45
10-й	527	-	-	528	0,4403	43
11-й	526			527	0,4112	40
12-й	526			527	0,3652	36

Исходя из полученных данных можно сделать вывод о том, что лучшими условиями для хранения антоцианов является все же условия с низкими температурами хранения, стоит отметить, что в процессе выполнения данного опыта образец, хранившийся при комнатной температуре, на десятый день помутнел и на его поверхности образовалась плесень, поэтому дальнейшее проведение анализа с данным образцом не имело смысла. Потери антоцианов в экстракте при хранении при комнатной температуре на девятый день составили 45%, а потери антоцианов, хранившихся в холодильнике составили на 12-й день 35%.

3.7 Влияние термической обработки на концентрацию антоцианов в фиолетовом картофеле

Влияние термической обработки на концентрацию антоцианов в фиолетовом картофеле проводили в ноябре 2018г из картофеля урожая 2018г. Для определения содержания антоцианов в обработанном сырье картофель варили без кожуры, с кожурой и жарили (рис. 3.4, 3.5). Содержание антоцианов определяли по первому способу экстракции в двух параллелях для каждого образца. Экстрагент - 0.1М соляная кислота. Пользовались спектрофотометром – СПЕКС ССП-705-4. Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 400-700 нм.

Результаты анализа термически обработанного картофеля представлены в табл. 3.15.

Расчет концентрации антоцианов в отварном картофеле без кожуры:

$$C_1 = \frac{0,4735}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,1953} \cdot 100 \cdot 1000 = 27 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,4452}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,0647} \cdot 100 \cdot 1000 = 26 \text{ мг/100г}$$

Расчет концентрации антоцианов в отварном картофеле в кожуре:

$$C_1 = \frac{0,7728}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,7550} \cdot 100 \cdot 1000 = 50 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,7817}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{2,7763} \cdot 100 \cdot 1000 = 51 \text{ мг/100г}$$

Расчет концентрации антоцианов в жаренном картофеле:

$$C_1 = \frac{0,6505}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,1013} \cdot 100 \cdot 1000 = 38 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,5832}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,0538} \cdot 100 \cdot 1000 = 34 \text{ мг/100г}$$

Определение суммарного содержания антоцианов в термически обработанном картофеле (первый способ)

Вид обработки	№	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
Отварной без кожуры	1	3,195	526	0,474	-	27
	2	3,065	526	0,445	-	26
Отварной в кожуре	1	2,755	526	0,773	-	50
	2	2,776	526	0,782	-	51
Жареный	1	3,101	526	0,651	-	38
	2	3,054	526	0,583	-	34

При варке картофеля с кожурой концентрация изменилась меньше всего (потери составляют $\approx 24\%$). Меньше всего антоцианов сохранилось в отварном картофеле без кожуры (потери $\approx 46\%$). В правильности выполненных расчетов, можно убедиться лишь взглянув на картофель, прошедший обработку (рис. 3.5., 3.6.). Цвет мякоти отварного картофеля в кожуре самый интенсивный.

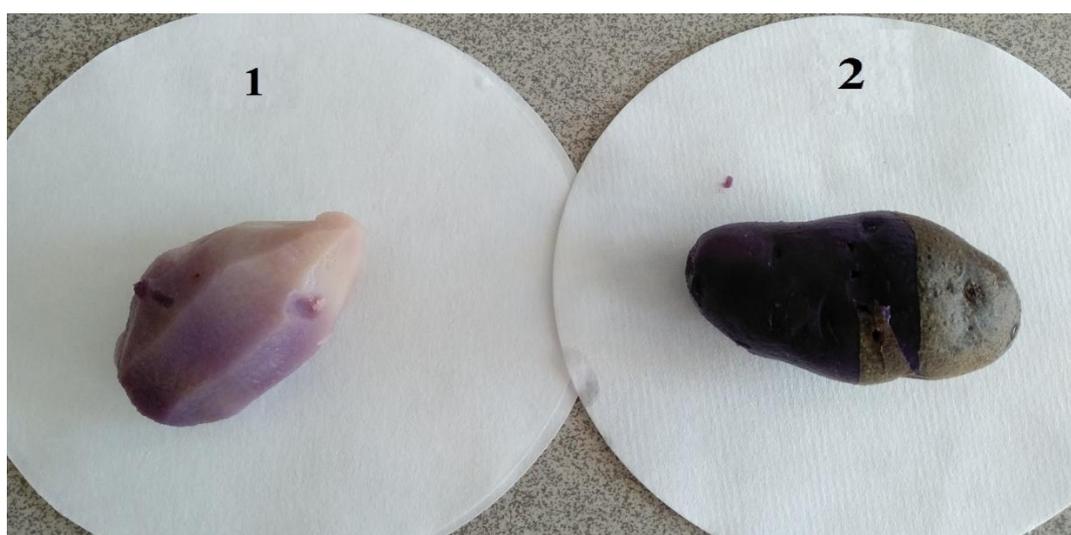


Рис. 3.5. Внешний вид обработанного картофеля: 1 – отварной картофель без кожуры, 2 – отварной картофель в кожуре



Рис. 3.6. Внешний вид жареного картофеля

3.8 Влияние pH на спектры антоцианов

Цвет антоцианов зависит от формы, в которой они существуют при разных значениях pH. Для изучения влияния pH на спектральные характеристики антоцианов были приготовлены растворы с различным pH. Для этого аликвоты экстракта доводили до заданного значения pH при помощи 0.1 М растворов гидроксида натрия или соляной кислоты, переносили полученные растворы в мерные колбы, доводили водой до метки и снова измеряли pH на приборе MettlerToledoSevenCompactpHmeter S220. Затем снимали спектры с помощью спектрофотометра СФ-2000.

Внешний вид растворов и спектры представлены на рис. 3.7. и 3.8.

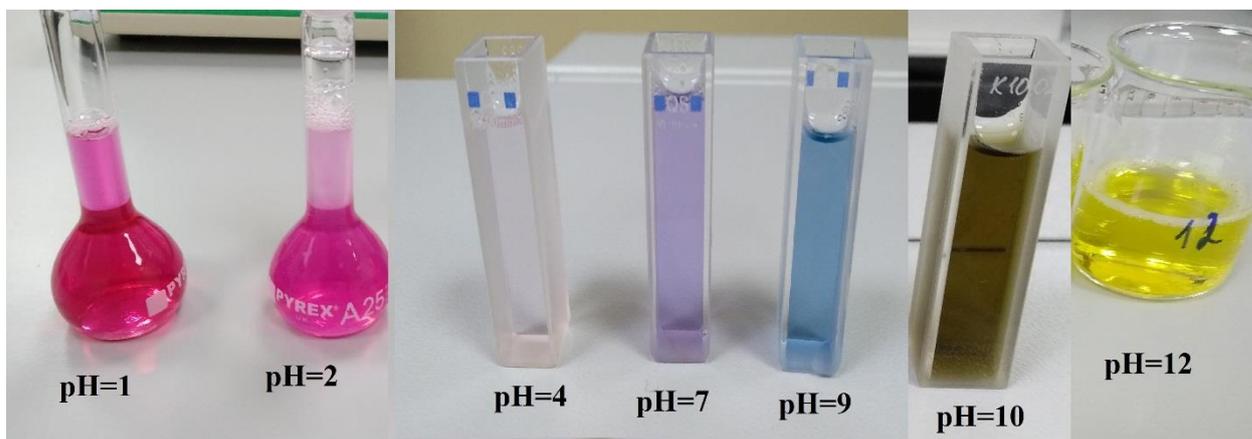


Рис. 3.7. Экстракты фиолетового картофеля при различных значениях pH

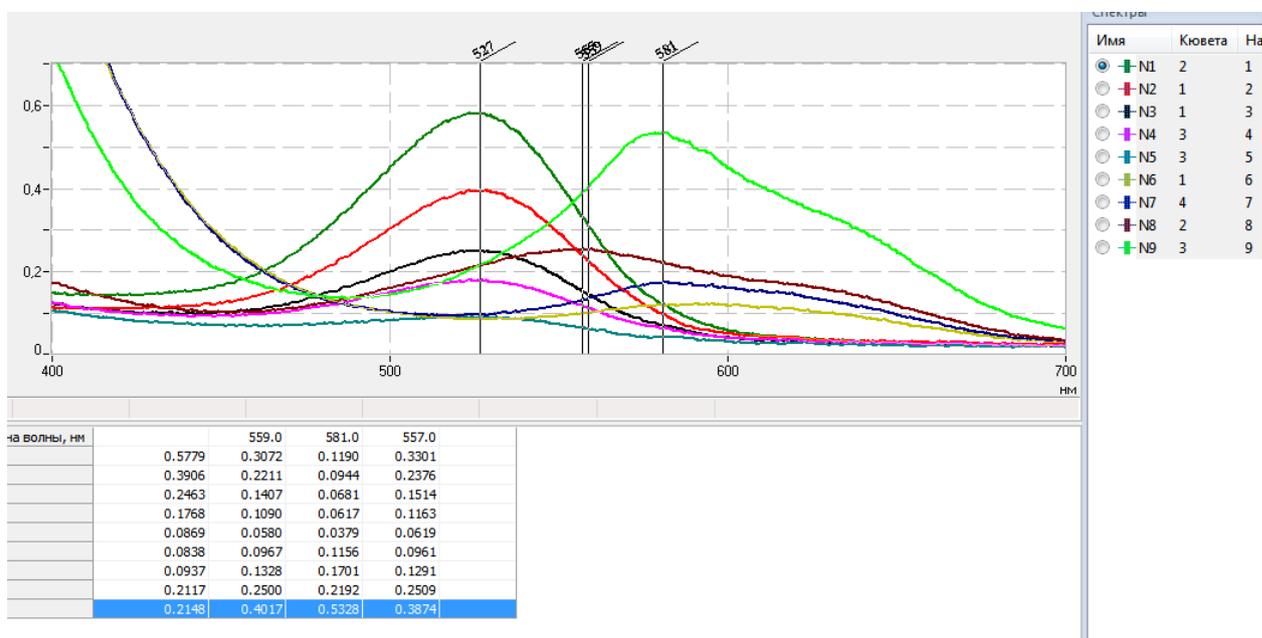


Рис. 3.8. Спектры экстрактов фиолетового картофеля при разных значениях pH

Антоцианы наиболее характерную фиолетовую окраску, за которую отвечает флавилиевая форма пигмента, проявляют в кислых средах. Но при увеличении числа фенольных гидроксильных групп (что случается при увеличении pH раствора) цвет пигмента меняется на синий, образуя сначала бесцветную форму - псевдооснования (pH до 4,5), а затем, при дальнейшем подщелачивании с образованием раствора серо-зеленого цвета, получаем хиноидные структуры. Псевдооснования находятся в равновесии с халконными формами пигмента (цис- и транс-халконные формы), которые

характеризуют неустойчивость агликонов из-за быстрого превращения транс-халконной формы в дикетопроизводные.

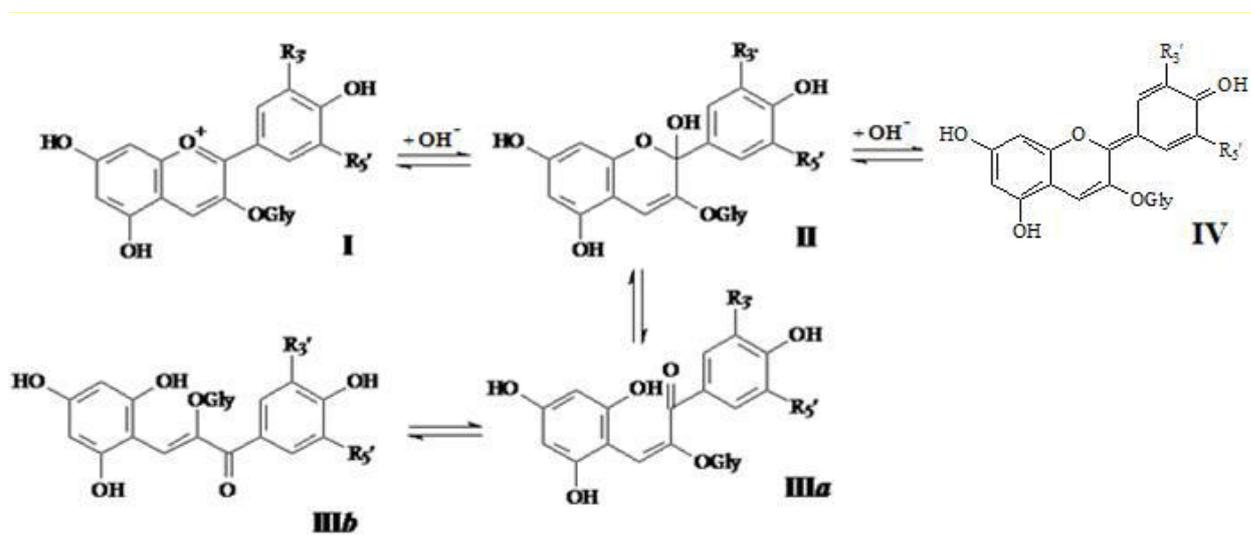


Рис. 3.9. Равновесия в растворах антоцианов: **I** – флавилиевый ион; **II** – псевдооснование; **III** – халконные формы (*цис*- (a) и *транс*- (b)); **IV** – хиноидное основание

3.9 Определение качественного состава антоцианового комплекса картофеля фиолетового методом ВЭЖХ

Представленная на рисунке 3.10. хроматограмма экстракта мякоти пурпурного картофеля, показывает, что антоциановый комплекс многокомпонентен, но состоит, в основном, из ацилированных компонентов.

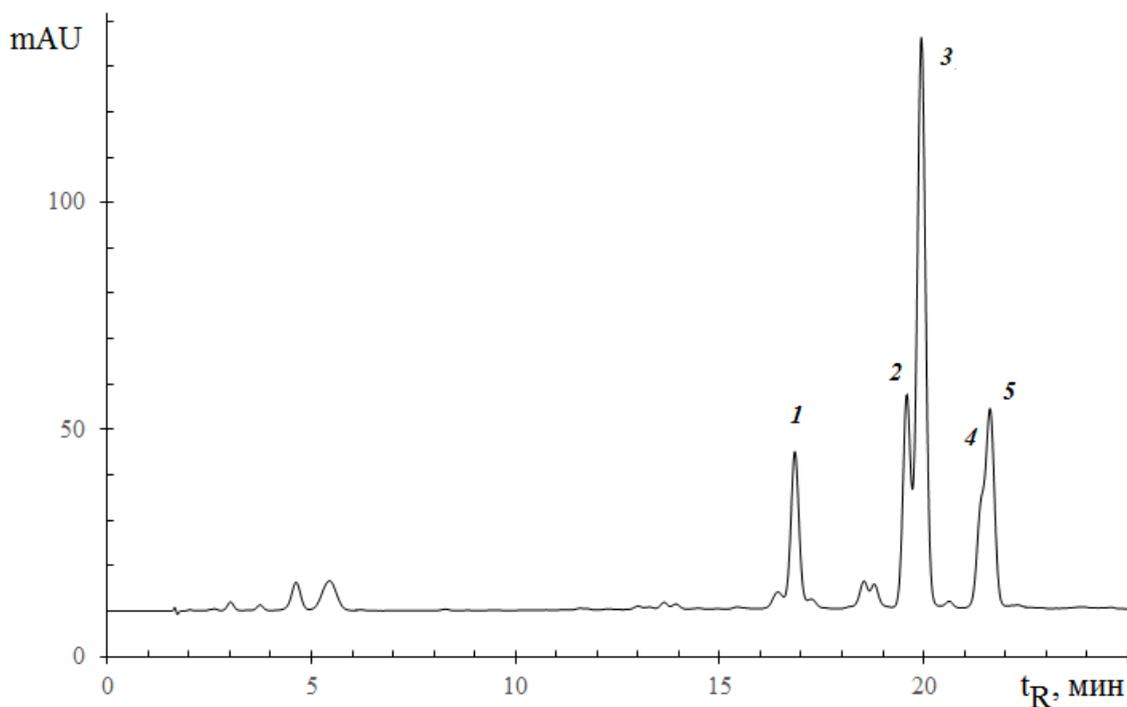


Рис. 3.10. Хроматограмма антоцианов пурпурного картофеля

По электронным спектрам (рис. 3.11.) можно сделать вывод о том, что в данном комплексе присутствуют компоненты как цианидинового, так и дельфинидинового рядов. Но информация о строении этих веществ может быть получена только с использованием масс-спектрометрического детектирования.

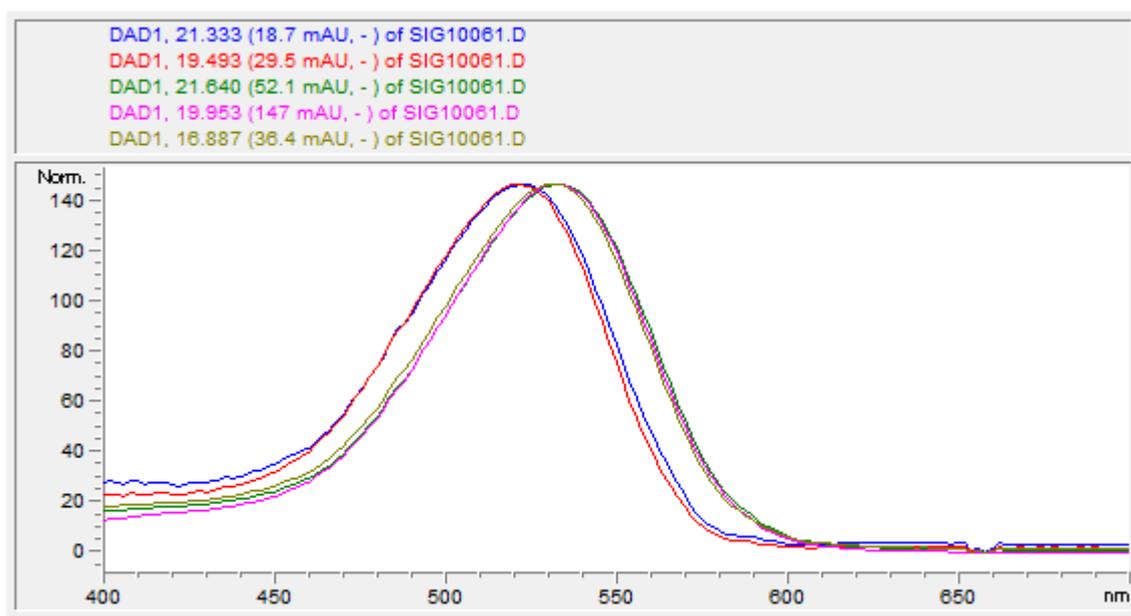


Рис. 3.11. Электронные спектры основных пиков на рисунке 3.10

На рис. 3.10 видно, что на пике №1 сосредоточено три компонента. Масс-спектр пика №1 показан на рисунке 3.12. Основному из них с M/z молекулярного иона 933,2 соответствует петунидин-3-(кумароилрутинозид)-5-глюкозид, поскольку для агликона $M/z = 317,1$ (петунидин), для продукта отщепления всех заместителей из положения 3 $M/z = 479,1$ (петунидин-5-глюкозид), а для продукта отщепления сахара из положения 5 $M/z = 771,2$ – петунидин-3-(кумароилрутинозид).

Кроме того, по пикам агликонов ($M/z = 331,1$ и $301,0$) и по некоторым другим – продуктам фрагментации можно утверждать, что в комплексе содержатся два однотипных производных мальвидина и пеонидина – 3-кофеоилрутинозид-5-глюкозиды ($M/z = 963,2$ и $933,2$).

Пик №2 - с молекулярным пиком с $M/z = 917,2$ (рисунок 4.12) соответствует пеонидин-3-(кумароилрутинозид)-5-глюкозиду (агликон $301,0$ - пеонидин; продукт отщепления радикала из положения 5 – $755,2$ – пеонидин-3-(кумароилрутинозид); продукт отщепления радикала из положения 3 – $463,3$ – пеонидин-5-глюкозид).

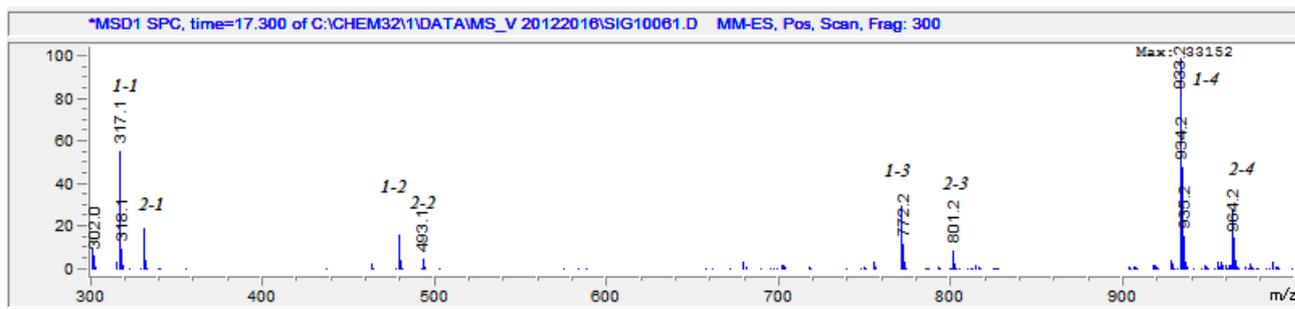


Рис. 3.12. Масс-спектр пика №1 на рисунке 3.11

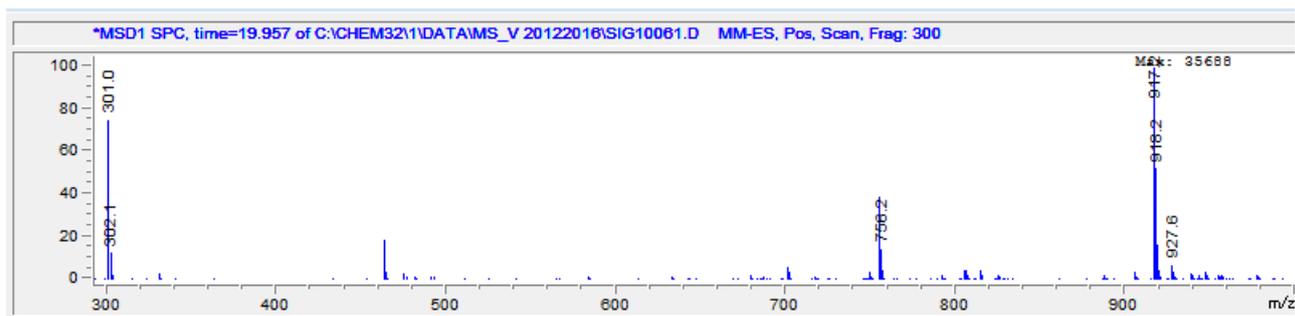


Рис. 3.13. Масс-спектр пика №2 на рисунке 3.11

Пик №3 – является аналогичным производным мальвидина - с молекулярным пиком с $M/z = 947,2$ (рисунок 3.14), что соответствует мальвидин-3-(кумароилрутинозид)-5-глюкозиду (агликон 331,1 - мальвидин; продукт отщепления радикала из положения 5 – 785.2 – мальвидин-3-(кумароилрутинозид); продукт отщепления радикала из положения 3 – 493.3 – мальвидин-5-глюкозид).

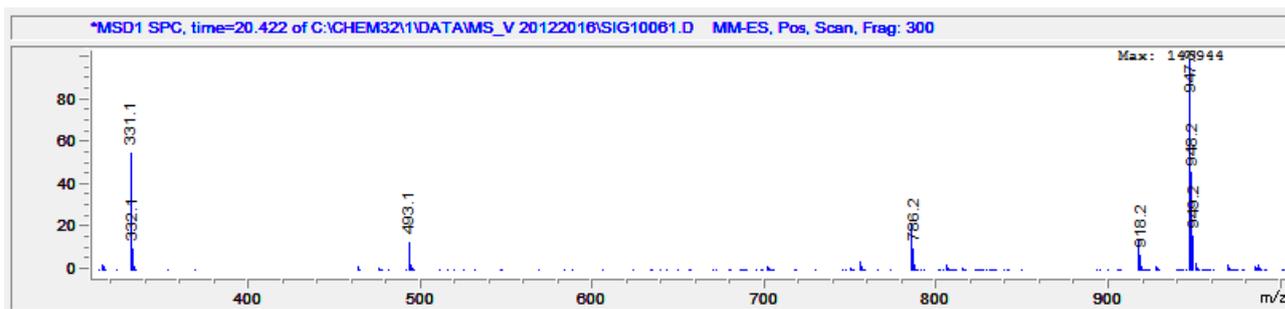


Рис. 3.14. Масс-спектр пика №3 на рисунке 3.11

Пики №4 и №5 плохо разделяются, но даже по спектрам различаются как производные пеонидина (с меньшим удерживанием) и мальвидина (с большим удерживанием).

При этом пик №5 - с молекулярным пиком с $M/z = 977.2$ (рисунок 3.15) соответствует мальвидин-3-(ферулоилрутинозид)-5-глюкозиду (агликон 331.1 – мальвидин; продукт отщепления радикала из положения 5 – 815.2 – мальвидин-3-(ферулоилрутинозид); продукт отщепления радикала из положения 3 – 449.2 – цианидин-5-глюкозид. «Чистый» масс-спектр пика №4 записать трудно, но его отнесение очевидно – это пеонидин-3-(ферулоилрутинозид)-5-глюкозид ($M/z = 947.2$).

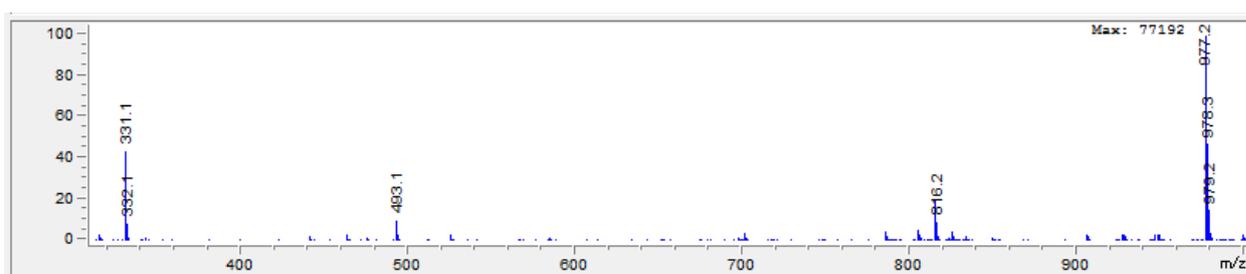


Рис. 3.15. Масс-спектр пика №5 на рисунке 3.11

Рост времени удерживания в ряду производных мальвидина (от пика №3 к пику №5) связан с заменой радикала ацилирующей кислоты на более липофильный. Замена радикалов в этом случае подтверждается и изменением в электронных спектрах – длинноволновым смещением максимума ацилирующей кислоты (в диапазоне 300-330 нм) (рис.3.16).

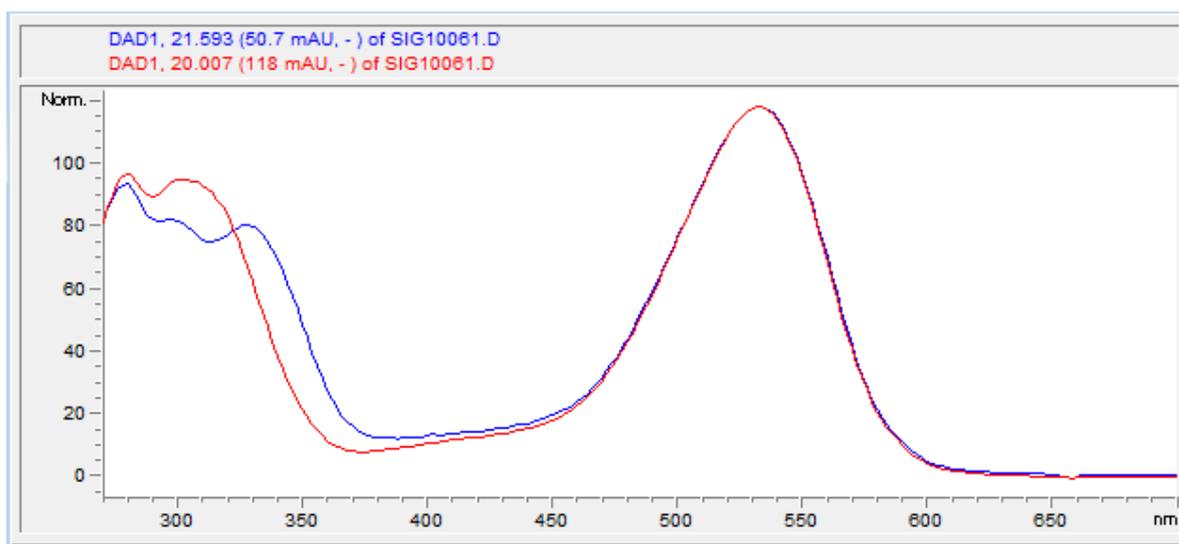


Рис. 3.16. Электронные спектры пиков № 3 (красный) и № 5 (синий)

3.10 Определение антиоксидантной активности экстрактов фиолетового картофеля

Для определения количества антиоксидантов в исследуемом фиолетовом картофеле были сделаны растворы для построения градуировочного графика (рис. 3.17.). Концентрации реактива Фолина-Чокальтеу были взяты как из методики (50, 100, 150, 200 мкл). Для приготовления экстракта картофеля была взята навеска в 3,521 г. Также было взято для определения содержания антиоксидантов 200, 300, 600, 1000 мкл испытуемого раствора (табл. 3.16).

Построение градуировочного графика

№	V (соды 10%), мкл	V (р-р кофейной кислоты), мкл	V (реактив Фолина-Чокальтеу), мкл	A
1	1000	50	200	0,4427
2	1000	100	200	0,7609
3	1000	150	200	0,9718
4	1000	200	200	1,2813

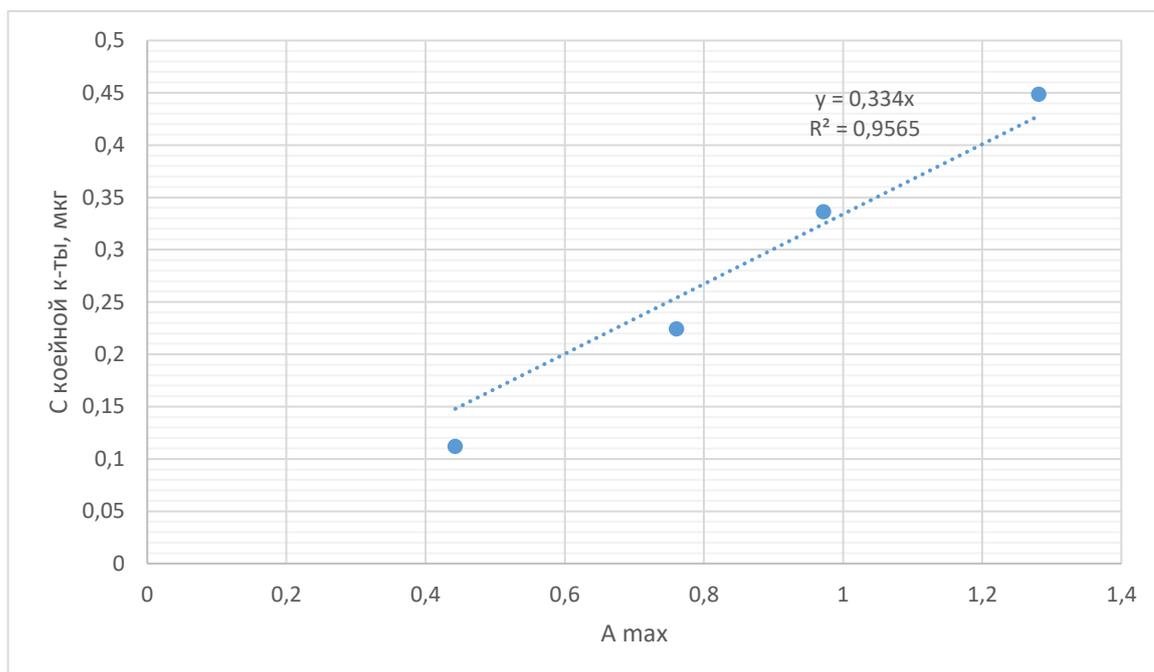


Рис. 3.17. Градуировочный график кофейной кислоты

По полученному графику через уравнение линии тренда находим концентрацию антиоксидантов в полученных растворах (табл. 3.17).

Таблица 3.17.

Содержание антиоксидантов в пурпурном картофеле

№	V (соды 10%), мкл	V(испытуемого образца), мкл	V (реактив Фолина-Чокальтеу), мкл	A	Содержание антиоксидантов, мкг/мл
1	1000	200	200	0,3068	27,61±0.002

№	V (соды 10%), мкл	V(испытуемого образца), мкл	V (реактив Фолина-Чокальтеу), мкл	A	Содержание антиоксидантов, мкг/мл
2	1000	300	200	0,3615	72,44±0,005

Полученные показатели говорят об относительно невысокой антиоксидантной активности для картофеля пурпурного.

3.11 Приготовление сухих форм, подкрашенных антоцианами

Для приготовления окрашенных сухих форм антоцианов готовили концентрированные очищенные экстракты фиолетового картофеля. Концентраты вводили в полисахаридные матрицы в заданных концентрациях, перемешивали и замораживали при температуре 4°C, затем производили двукратно лиофильную сушку. Для определения содержания антоцианов в сухих формах, навеску, полученного образца растворяли в 0.1М соляной кислоте, производили фильтрацию, в случае если раствор был с осадком и спектрофотометрировали.

В качестве матрицы использовали натуральные полисахариды: пектин яблочный, ксантановую камедь, мальтодекстрин, гуммиарабик.

С полученных растворов снимали спектры спектрофотометром – СПЕКС ССП-705-4-2550. Толщина кюветы – 1 см; диапазон измерения – 400-700 нм.

Перед вводом концентрата в матрицу находили концентрацию антоцианов в ней.

$$C_{\text{концентрата}} = \frac{0,7373}{26900} \cdot \frac{800}{1000} \cdot \frac{484}{52,8894} \cdot 5 \cdot 100 \cdot 1000 = 100 \text{ мг/100г}$$

Результаты представлены в табл. 3.18 и на рис.3.18.

Определение суммарного содержания антоцианов концентрате
антоцианов

Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
52,8894	528,5	0.7373	5	100



Рис. 3.18. Приготовленные окрашенные сухие формы

При замораживании окрашенных композиций образец с мальтодекстрином замораживался не полностью, поэтому он был не пригоден для лиофильной сушки, дальнейшему анализу подвергались 3 окрашенные композиции – с гуммиарабиком, ксантановой камедью и пектином яблочным. Полученные сухие формы растирали в ступке и растворяли по 1 г в 25мл соляной кислоты 0.1М.

Полученные результаты спектрофотометрирования экстрактов сухих форм представлены в табл. 3.19.

$$C_{\text{пектин яблочный}} = \frac{0,1476}{26900} \cdot \frac{25}{1000} \cdot \frac{484}{1,0000} \cdot 100 \cdot 1000 = 7 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{ксантановая камедь}} = \frac{0,2601}{26900} \cdot \frac{25}{1000} \cdot \frac{484}{1,0000} \cdot 100 \cdot 1000 = 12 \text{ мг/100г}$$

$$C_{\text{гуммиарабик}} = \frac{0,2943}{26900} \cdot \frac{25}{1000} \cdot \frac{484}{1,0000} \cdot 100 \cdot 1000 = 13 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.19.

Определение суммарного содержания антоцианов в окрашенных сухих формах

Образец	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
Пектин яблочный	1,0000	529	0,1476	-	7
Ксантановая камедь	1,0000	534	0,2601	-	12
Гуммиарабик	1,0000	525,5	0,2943	-	13

Таким образом, можно сделать вывод о том, что наилучшими матрицами для получения сухих форм антоцианов из клубней фиолетового картофеля, являются гуммиарабик и ксантановая камедь.

3.12 Влияние потери в массе при высушивании пурпурного картофеля на количественное содержание антоцианов в нем

Сначала, для выявления влияния сушки картофеля на количественный состав антоцианов нашли их содержание в свежем картофеле. Навеску мякоти пурпурного картофеля растерли с 0.1 М соляной кислотой, профильтровали экстракт в мерную колбу на 100 мл и довели экстрагентом до метки, после

чего, с экстракта сняли спектр и нашли оптическую плотность. Определение проводили в двух параллелях.

Полученные результаты спектрофотометрирования экстрактов образцов свежего картофеля представлены в табл. 3.20.

$$C_1 = \frac{0,5502}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,0000} \cdot 3 \cdot 100 \cdot 1000 = 99 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,5349}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,0000} \cdot 2 \cdot 100 \cdot 1000 = 97 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.20.

Определение суммарного содержания антоцианов в свежем картофеле

Образец №	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	3,0000	530	0,5502	3	99
2	3,0000	536	0,5349	3	96

Затем, картофель сушили в эксикаторе, заполненном силикагелем при комнатной температуре и атмосферном давлении до постоянной массы (разница между измерениями не должна превышать $\pm 0,005$ г). Взвешивание производили один раз в сутки, используя аналитические весы. Постоянной массы добились спустя десять взвешиваний. Потом из навески высушенного картофеля приготовили солянокислый экстракт и подвергли спектрофотометрированию, рассчитали количество антоцианов. Определение проводили в двух параллелях.

Показания взвешивания представлены в табл 3.21.

$$W_{10\text{взвешивание}} = \frac{21,4598 - 14,9854}{21,4598} \cdot 100 \% = 30,17\%$$

$$W_{11\text{взвешивание}} = \frac{21,4598 - 14,9815}{21,4598} \cdot 100 \% = 30,19\%$$

Изменения массы картофеля при высушивании

Взвешивание №	Масса, г	Потеря массы при высушивании, %
До сушки	21,4598	-
1	20,6892	-
2	19,0429	-
3	17,9857	-
4	17,2120	-
5	16,4892	-
6	15,9899	-
7	15,2347	-
8	15,0062	-
9	14,9854	30,17
10	14,9815	30,19

Таким образом, потеря массы, а именно влаги, составляет $\approx 30 \pm 0,18\%$

Рассчитаем количество антоцианов в высушенном картофеле (табл. 3.22).

$$C_1 = \frac{0,7559}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,0000} \cdot 3 \cdot 100 \cdot 1000 = 136 \text{ мг/100г}$$

$$C_2 = \frac{0,7481}{26900} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{484}{3,0000} \cdot 3 \cdot 100 \cdot 1000 = 135 \text{ мг/100г}$$

Таблица 3.22.

Определение суммарного содержания антоцианов в высушенном картофеле

Образец №	Масса навески, г	λ_{max} , нм	A	R	Содержание антоцианов, мг/100г
1	3,0000	530	0,7559	3	136
2	3,0000	536	0,7481	3	135

Таким образом, содержание антоцианов в эквивалентном количестве картофеля после сушки на $\approx 37\%$ больше, чем в картофеле до сушки. Следовательно, при определении количества антоцианов в клубнях пурпурного картофеля необходимо иметь ввиду факт усыхания клубней в процессе хранения, пренебрежение которого может отрицательно отразиться на выводах и результатах исследования.

ВЫВОДЫ

1. В ходе исследования данной работы было рассчитано суммарное содержание антоцианов в экстрактах различных частей картофеля пурпурного, полученных различными способами – растиранием под слоем экстрагента и методом настаивания, и выяснилось, что метод мацерации эффективнее метода настаивания при экстракции антоцианов из картофеля. А также выяснили влияние вида экстрагента на количество экстрагируемых антоцианов, а именно, в работе были проанализированы следующие виды экстрагентов:

- соляная кислота различной концентрации (0.1 м, 0.01 м, 0.001 м);
- вода;
- стандартные буферные растворы (рН=1.68; 4.01; 6.86; 9.18).

Наиболее эффективным экстрагентом для извлечения антоцианов из клубней картофеля пурпурного является 0.1м соляная кислота, а также стандартный буферный раствор с рН=1.68.

2. Изучена сохранность антоцианов во времени при хранении этого сезонного овоща в период с сентября (время сбора урожая) по май и выяснилось, что концентрация антоцианов увеличивается до 28%, согласно полученным результатам была поставлена задача найти потерю массы при высушивании, таким образом, выяснилось, что при высушивании клубней картофеля до постоянной массы потери влаги составили 30%, а содержание антоцианов в высушенном картофеле массой эквивалентной свежему увеличилось на 37%.

3. Изучена стабильность экстрактов при хранении их в различных условиях: в условиях бытового холодильника и при комнатной температуре. Сделаны выводы о наилучшей сохранности антоцианов в условиях холодильника. Потери при хранении экстракта в течение 12 суток составили 35%, когда при комнатной температуре на 10-й день экстракт помутнел, а на его поверхности образовалась плесень и потери пигментов при хранении экстракта в течении 9 сток составляли 45%.

4. Определено влияние различных видов термообработок на концентрацию антоцианов в клубнях. Изучали картофель отварной в кожуре, без кожуры, и жареный. И было выяснено, что наименьшие потери антоцианов обнаружены у картофеля отварного в кожуре и составили 24%.

5. Выяснено влияние pH спектры антоцианов. Спектры до pH=4 имеют длину волны максимума оптической плотности 527 нм, характерную для флавилиевой формы антоцианов и псевдооснования (цвет растворов от ярко-розового до слабоокрашенного), затем происходит сдвиг максимума до 581 нм при pH=5-9, характерных для хиноидных структур (цвет меняется от синего, грязно-зеленого до желтого).

6. Определен качественный состав антоцианов пурпурного картофеля методом ВЭЖХ и представлен он в виде комплекса ацилированных компонентов как цианидинового, так и дельфинидинового рядов.

7. Была изучена антиоксидантная активность и выяснено, что по содержанию антиоксидантов пурпурный картофель приравнен к перцу.

8. Были приготовлены сухие формы, подкрашенные антоцианами после твердофазной очистки. В качестве матрицы были выбраны: пектин яблочный, ксантановая камедь, гуммиарабик, мальтодекстрин (не прошедший лиофильную сушку ввиду невозможности полного замораживания перед сушкой). Наилучшие показатели количественного содержания антоцианов в сухих формах выявлены в образцах, с ксантановой камедью и гуммиарабиком.

Таким образом, проведенные исследования в данной работе в полной мере раскрывают потенциал этого удивительного овоща, богатый антоцианами, и обладающего антиоксидантными свойствами. Данная работа может являться научным подспорьем к разработке новых рецептов блюд из пурпурного картофеля, т.к. проведенные испытания доказывают полезность этого клубня.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антоцианы: свойства, польза и вред [Электронный ресурс] // FoodandHealth URL: <http://foodandhealth.ru/komponenty-pitaniya/antociany/> (дата обращения 05.02.2019).
2. Логвинова Е.Е. Качественный и количественный анализ дубильных веществ плодов аронии черноплодной // «Современные проблемы химической науки и фармации», сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 85-летию со дня рождения В.А. Кухтина, г. Чебоксары, 3-4 апреля, 2014. 170-171 С.
3. Причко Т.Г. Закономерности накопления витаминов и полифенолов в плодах и ягодах // Плодоводство: Научные труды / Национальная академия наук Беларуси, РУП «Институт плодоводства . 2009, Т.21. С. 365-373.
4. Харламова О. К. Натуральные пищевые красители / Под редакцией Б. В. Кафка. М. : «Пищевая промышленность», 1979. 185 с.
5. Антоцианы. [Электронный ресурс] // Словари и энциклопедии на Academic.ru. 2000-2017.
6. Ашихмина, Т. Я. Растительные фенолы и здоровье человека / М.: Наука, 1984 С.159.
7. А. М. Макаревич, А .Г. Шутова, Е .В. Спиридович и др / Функции и свойства антоцианов растительного сырья / Труды БГУ : научный журнал , 2009 . С . 237 - 245.
8. Карабанов И. А. Флавоноиды в мире растений / Минск. Ураджай, 1981. - 80 с.
9. Anthocyanins: from plant to health / S. Pascual [et. al.] // Phytochemistry Reviews. 2008. P. 368. URL: https://dic.academic.ru/dic.nsf/dic_biology/277/АНТОЦИАНЫ (дата обращения 02.02.2019)

10. Molecular structure of cyanidin metal complexes: Al(III) versus Mg(II). Theoretical chemistry accounts / L. Estévez [et al.] // Theory, Computation, and Modeling (Theoretica Chimica Acta). 1995. Vol. 128. P. 485-495.
11. Фотобиофизика. Версия 1.0 [Электронный ресурс] : электрон. учеб. пособие / И. Е. Суковатая, В. А. Кратасюк, В. В. Межевикин и др. – Красноярск : ИПК СФУ, 2008.
12. Jakobek L., Seruga M., Medvidovic-Kosanovic M., Novak I. Antioxidant activity and polyphenols of Aronia in Comparison to other Berry Species // Agriculturae Conspectus Scientificus. 2007. V. 72. № 4. 301-306 P.
13. Дейнека Л.А. Антоцианы: Природные антиоксиданты и не только // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина и фармация. 2006. - №3. Вып. 4. С. 92-100.
14. Бриттон, Н.А. Биохимия природных пигментов / М.: Мир, 1986. 385 с.
15. Рязанова Т. К. Фармакогностическое исследование плодов и побегов черники обыкновенной / Самара. 2014. с. 197.
16. Колбас Н.Ю. и др. Антоцианы и антиоксидантная активность плодов некоторых представителей рода *Rubus* // Вести НАН Беларуси. Сер. биологические науки. 2012. №1. С. 5–10.
17. Барковский Ф. Ф. Физико-химические методы анализа / Москва : Высшая школа, 1972. 344 с.
18. Марченко З. Методы спектрофотометрии в УФ и видимой областях в неорганическом анализе / пер. с польск. М. : БИНОМ, 2012. 711 с.
19. Лебедева М.И. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа: учеб. пособие/ Тамбов: ТГТУ, 2005. 216 С.
20. Brouillard R. The pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives// Journal of the Chemical Society. 1991. P. 1235-1241.

21. Дейнека В.И. ВЭЖХ в анализе антоцианов: исследование цианидиновых гликозидов плодов растений рода *Prunus* // Хим.-фарм. ж. 2004. Т. 38.- № 8. 29-34 С.

22. Конищев А.С. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки // Вестник МГОУ. Серия естественные науки. 2011. №3. 49-54 С.

23. Дейнека В.И., Григорьев А.М. Исследование удерживания антоцианов в элюентах системы ацетонитрил - муравьиная кислота - вода // Ж. физ. химии. 2005. Т.79. №5. 900-903 С.

24. Дейнека В.И., Григорьев А.М., Борзенко О.Н., Староверов В.М., Трубицын М.А. ВЭЖХ в анализе антоцианов: исследование цианидиновых гликозидов плодов растений рода *Prunus* // Хим.-фарм. ж. 2004. Т.38. №8. 29-34 С.

25. Танчев , С.С. Антоцианы в плодах и овощах / М. : «Пищевая промышленность» , 1980 . 304 с.

26. Дейнека В.И. Исследование удерживания антоцианов в элюентах системы ацетонитрил - муравьиная кислота - вода // Ж. физ. химии. 2005. Т. 79. № 5. 900-903 С., А.М. Григорьев // Ж. аналит. химии. 2004. Т. 59. № 3. 305-309 С.

27. Логвинова Е.Е. Изучение влияния различных способов консервации на содержание некоторых групп БАВ в плодах Рябины // Состояние и перспективы оптимизации и эффективности в фармакогнозии, технологии, клинике. Ярославль, 2014. 122-124 С.

28. Логвинова Е.Е. Исследование влияния рН среды на спектральные характеристики антоциановых соединений плодов рябины черноплодной // «Перспективы развития биологии, медицины и фармации», материалы Первой международной научной конференции молодых ученых и студентов, республика Казахстан, г. Шымкет, 1011 декабря, 2013. 43-45 С.

29. Тыняная И. И. Разделение, концентрирование и анализ антоцианов и бетацианинов в экстрактах растительного сырья с применением оптических и хроматографических методов: Дисс. И. И. Тыняная кан-та хим. наук – Белгород, 2015. – 147 с.

30. Дейнека Л.А., Сорокопудов В.Н., Дейнека Л.А., Сиротин А.А., Шапошник Е.И., Головков А.В. Антоцианы плодов растений: опыт экстракции и сушки // Хранение и переработка сельхозсырья. 2006. №4. 28-31 С.

31. Кульченко Я.Ю., Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Блинова И.П. Получение разноцветных инкапсулированных форм антоцианов краснокочанной капусты методом лиофильной сушки // Тонкие химические технологии. 2017. Т.12. №6. С.32 –34.

32. Дейнека В.И., Кульченко Я.Ю., Блинова И.П. и др. Антоцианы листьев базилика: определение и получение сухих инкапсулированных форм // Химия растительного сырья. 2018. №1. С. 129-135.

33. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. М.: Медицина, 1989. Вып. 2: Лекарственное растительное сырьё. 400 С.

34. ГОСТ 32709-2014 Продукция соковая. Методы определения антоцианинов[Электронный ресурс]. Введ. 2016–01–01. Москва: Стандартинформ, 2014. – 18 с.

35. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё / МЗ СССР. 11-е изд., доп. М.: Медицина, 1991. 400 с.