

Разработка протокола разделения фотосинтетических пигментов из перца  
(паприка и чилийский перец)

Дмитриева Дарья Константиновна

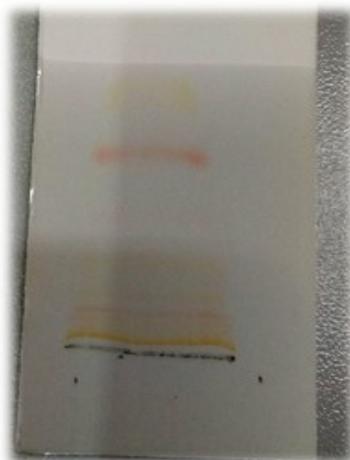
10 класс Специализированный учебно-научный центр (факультет) — школа-интернат имени А.Н. Колмогорова Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Г.Москва, Россия

Желтова Анна Владимировна СУНЦ МГУ

- Каротиноиды и ксантофиллы выполняют важнейшие функции.
- Известно большое количество методов, которыми можно разделить пигменты перцев.
- По ходу работы мы рассматривали и оценивали множество методов и пришли к выводу, что наиболее подходящий – ТСХ.
- Разделяли пигменты из паприки, чилийского и болгарского перца.
- Нам удалось выделить бета каротин, лютеин, виолаксантин, зеаксантин, капсантин и сделать вывод, что каротиноидный состав разных видов перцев может быть отличен.



Чили



Болгарский перец



Паприка



# Актуальность:

Изучив литературу поняла, что информации о разделении пигментов в перце недостаточно и убедилась, что до этого фотосинтетические пигменты из перца и паприки не выделялись.

# Основные функции каротиноидов:

- Фотозащитная
- Светособирающая
- Структурная



# Синтез каротиноидов

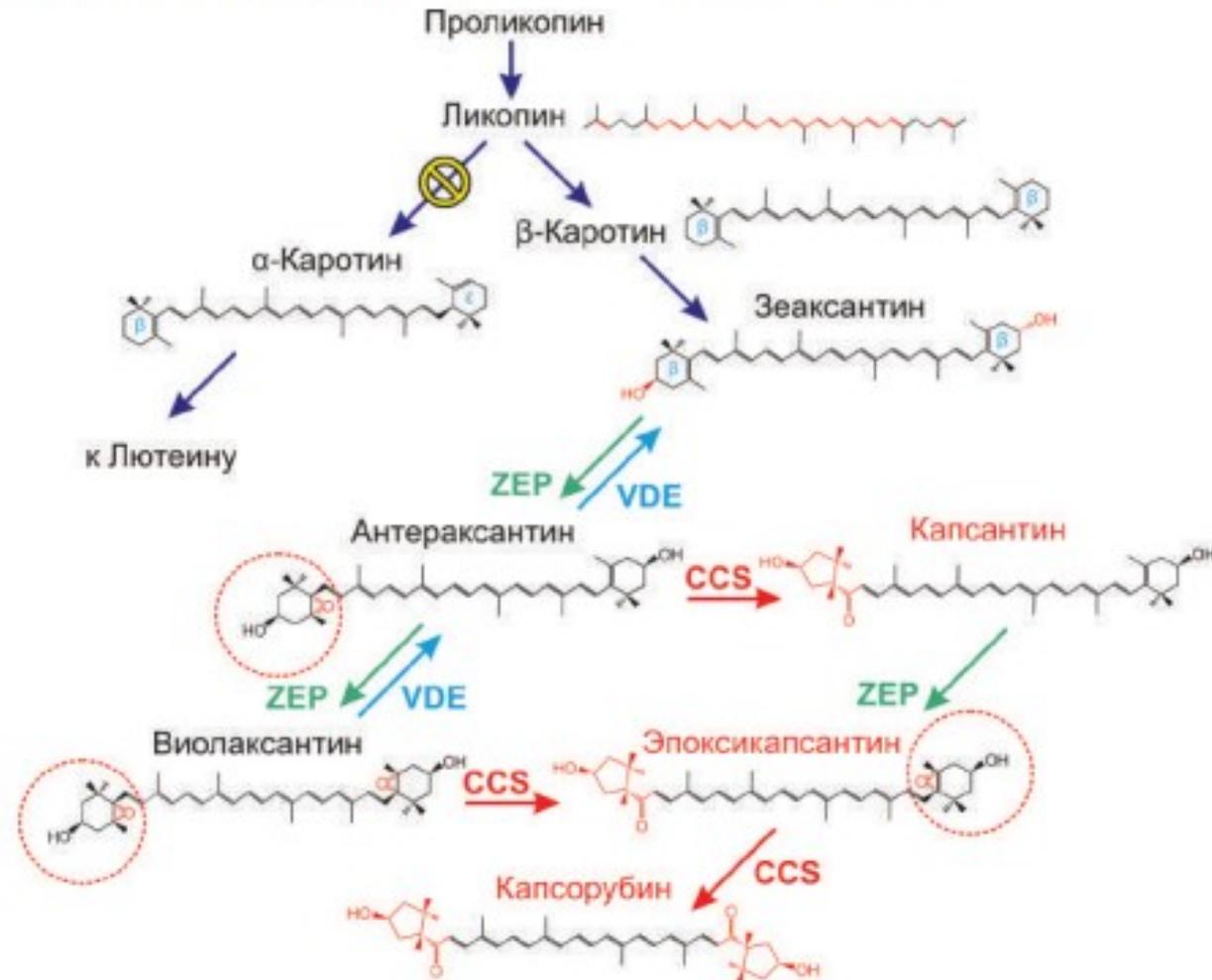


Рис. 9. Схема синтеза капсантина и капсорубина в плодах красного перца. Жёлтый значок – отключение  $\epsilon$ -циклазы. Зелёные стрелки – окисление колец зеаксантина эпоксидазой (ZEP). Синие стрелки – восстановление колец виолаксантина диепоксидазой (VDE). Красные стрелки – работа ключевого фермента – капсантина/капсорубинсинтазы (CCS). «Передельываемые» кольца обведены красным пунктиром

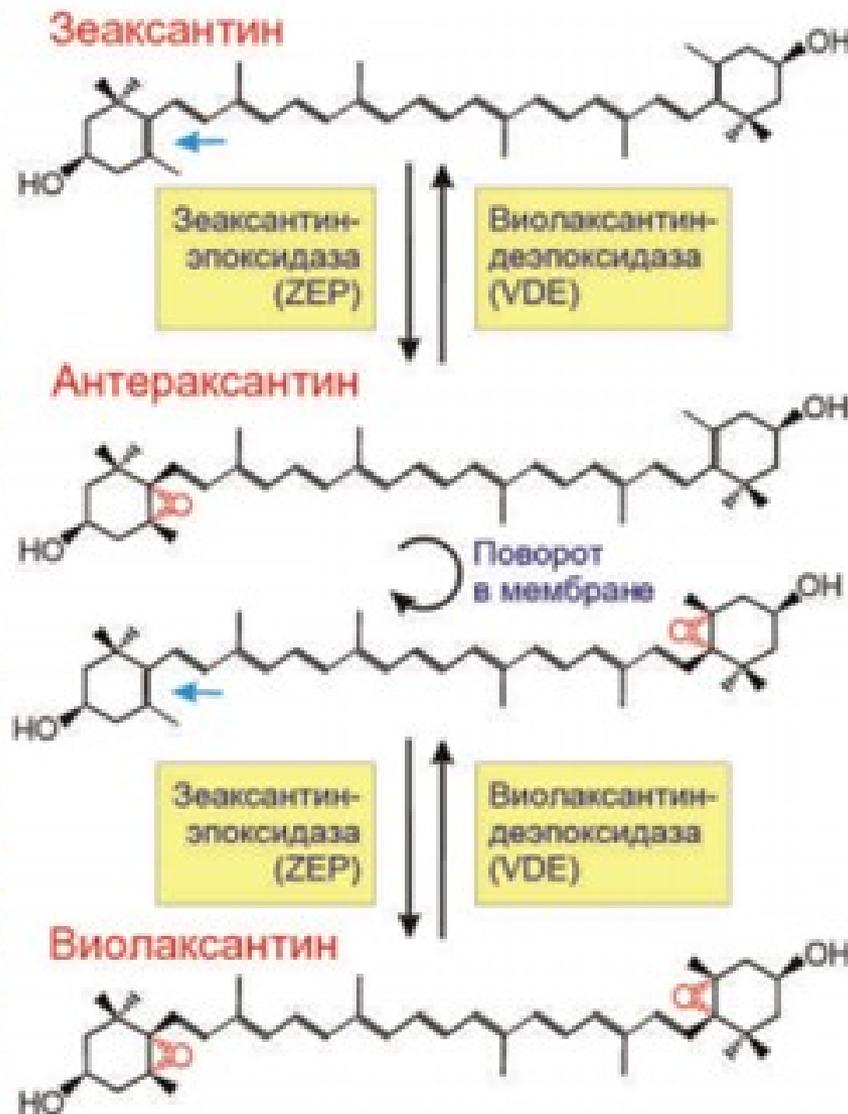
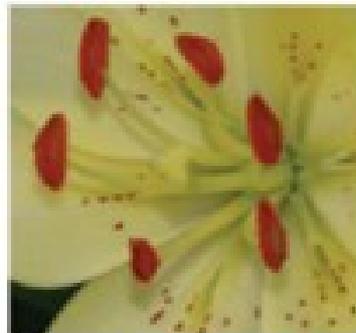
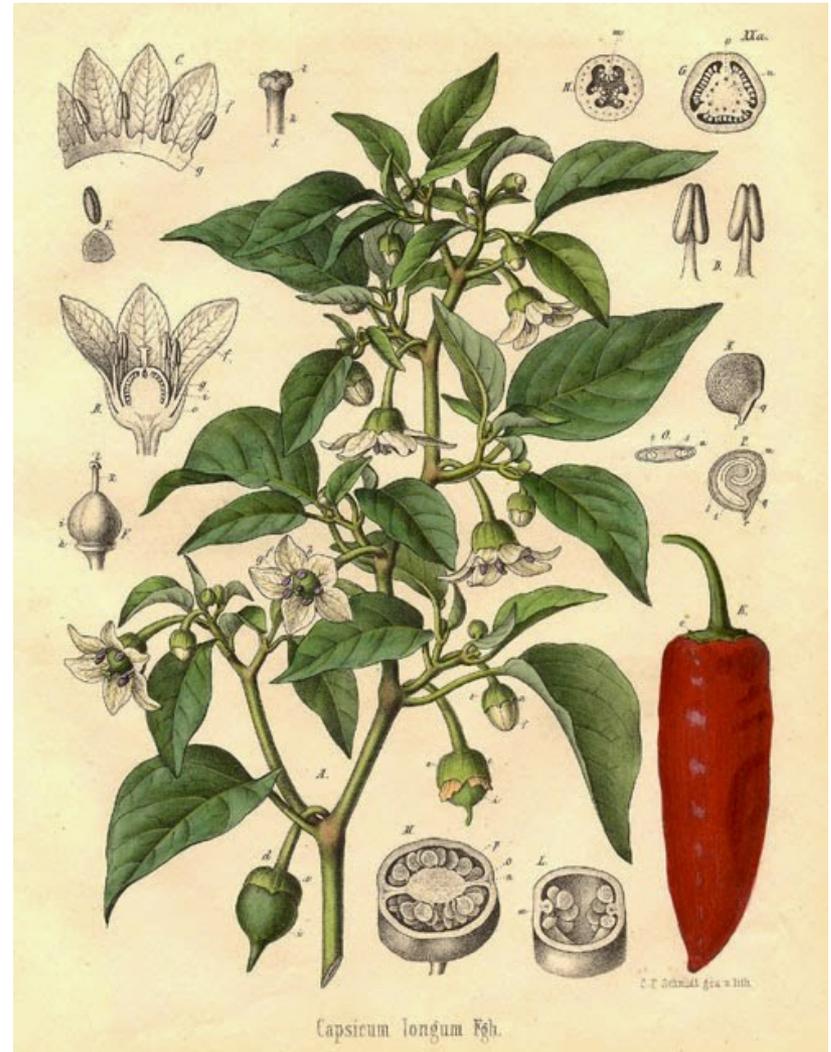


Рис. 2. Виолаксантиновый цикл. Слева показаны объекты, из которых выделены соответствующие ксантофиллы: кукуруза (*Zea mays*) – зеаксантин; пыльники (*anther*) – антераксантин; анютины глазки (*Viola*) – виолаксантин. Двойные связи, с которыми работает зеатинэпоксидаза, показаны синими стрелками

# Методы разделения пигментов в исследуемых перцах:

- ВЭЖХ
- Противоточная хроматография
- Сверхкритическая жидкостная хроматография
- Капиллярный электрофорез
- ЯМР спектроскопия
- Адсорбционно - жидкостная хроматография
- Ионная хроматография
- ТСХ

Проанализировав  
все методы  
разделения  
пигментов  
выбрала наиболее  
подходящий - ТСХ



# Цель и задачи:

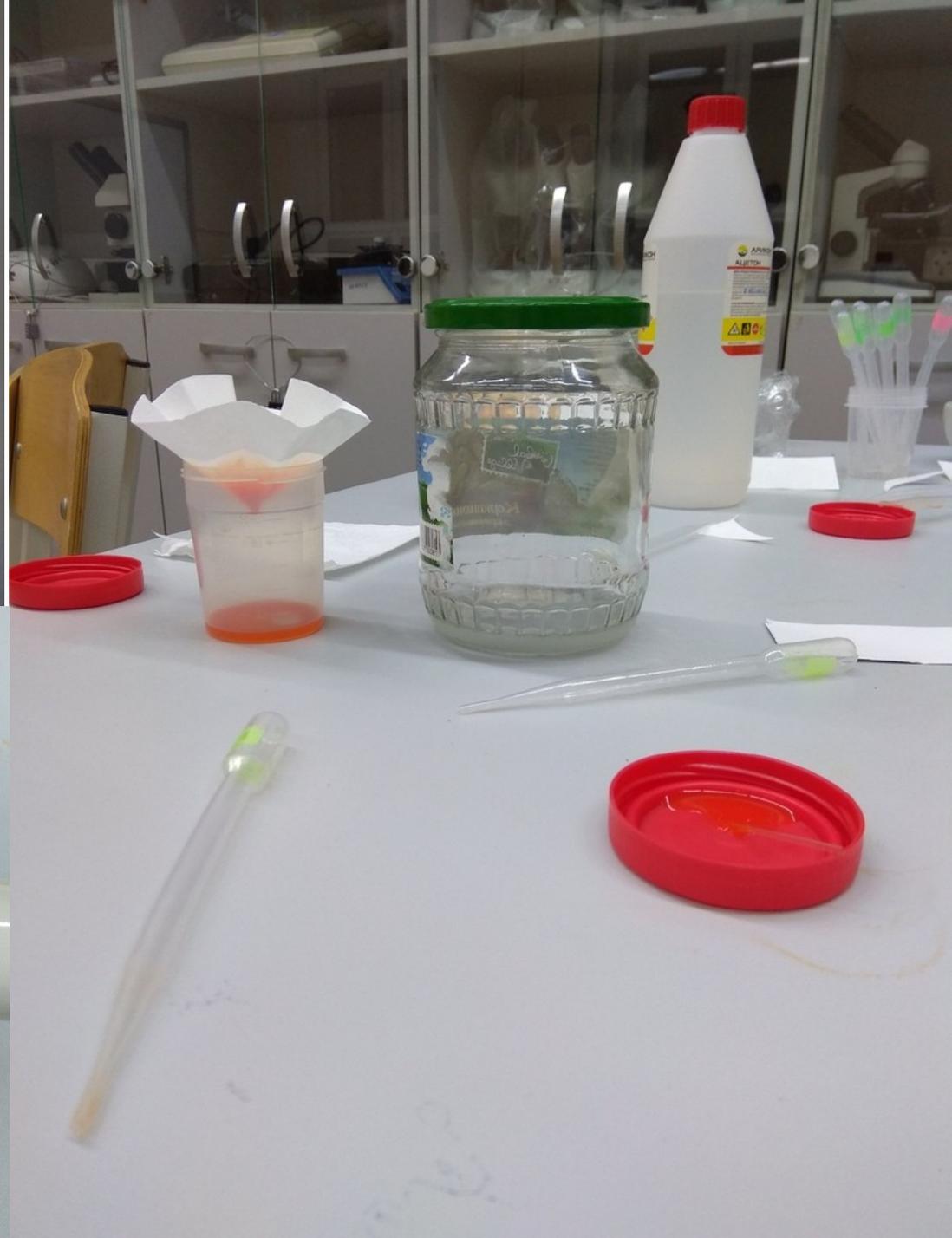
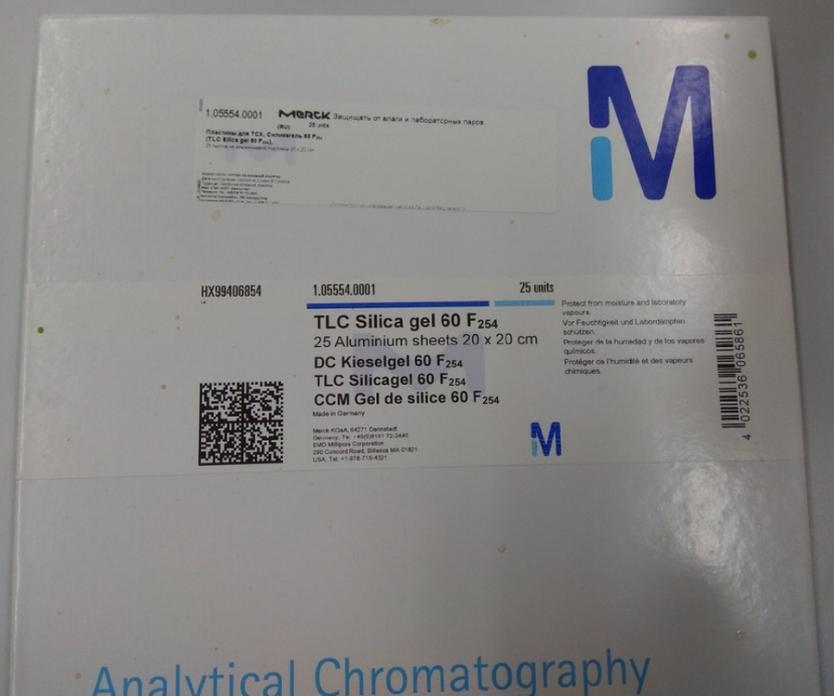
**Цель** - разработать протокол разделения фотосинтетических пигментов из перца

**Задачи** - анализ методов разделения пигментов

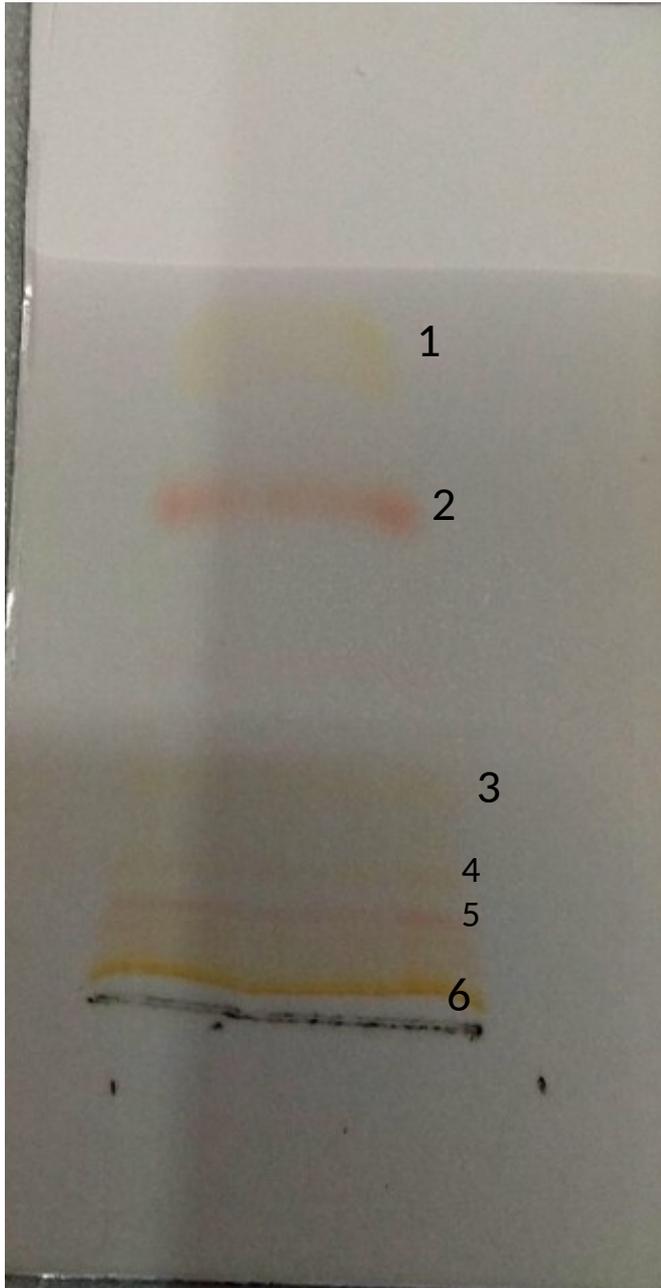
подготовка материалов для разделения пигментов

проведение экспериментальной работы

# Результаты хроматографии

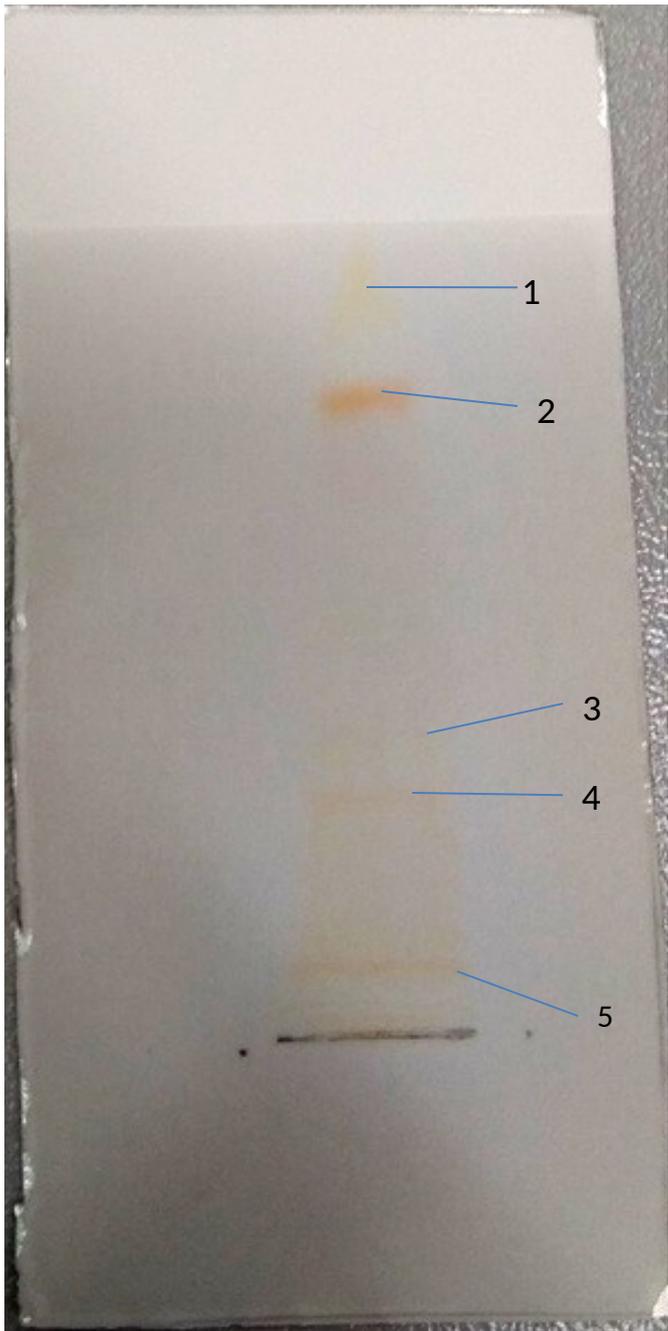


# Болгарский перец



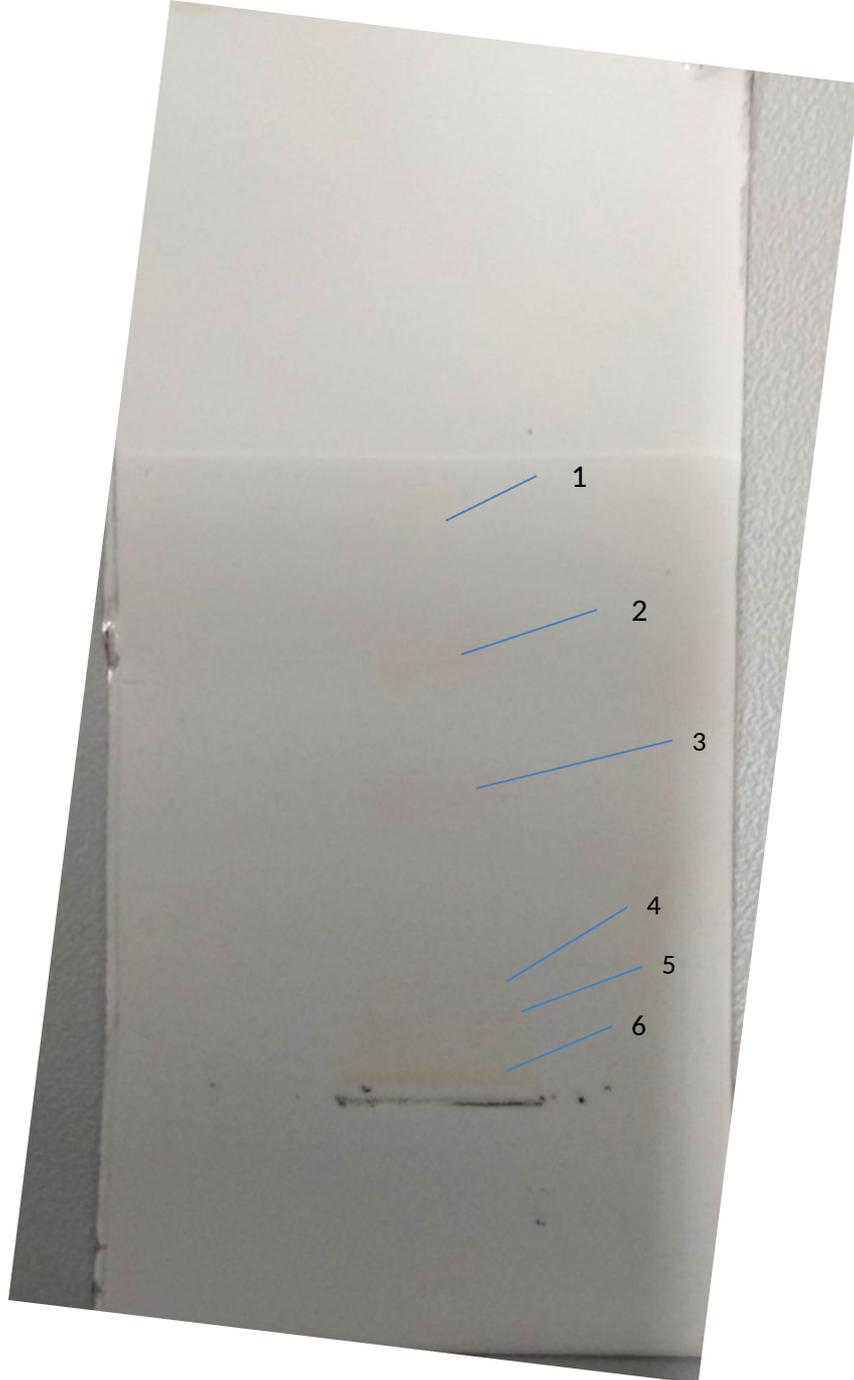
- 1)  $\beta$ -каротин
  - 2) капсантин
  - 3) антераксантин
  - 4) зеаксантин
  - 5) виолаксантин
  - 6) пятно растворителя
- 
- 1:10
  - По 50 и 5 мл (уайт спирт и ацетон соответственно)

# Болгарский перец

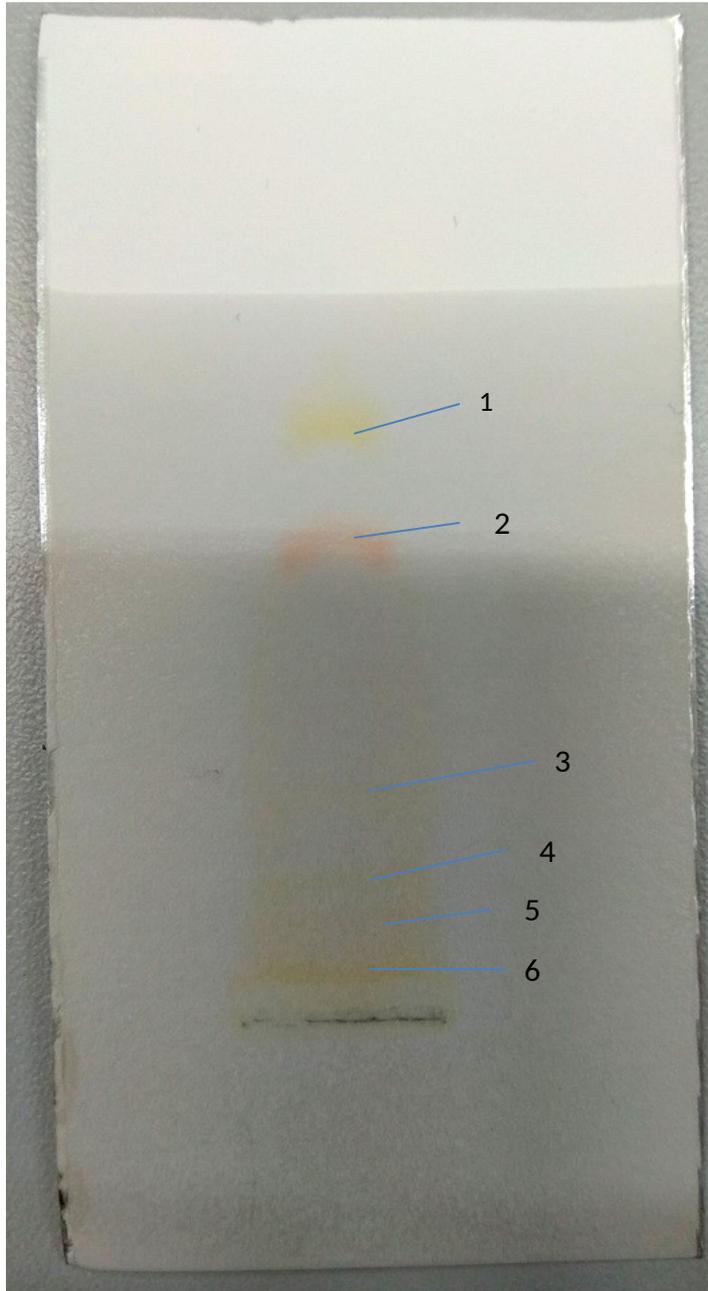


- 1)  $\beta$ -каротин
  - 2) Капсантин
  - 3) Антераксантин
  - 4) Зеаксантин
  - 5) Виолаксантин
- 
- 10:3
  - 165:55 (мл)

# Паприка



- 1)  $\beta$ -каротин
  - 2) капсантин
  - 3) лютеин
  - 4) зеаксантин
  - 5) виолаксантин
  - 6) пятно от растворителя
- 
- 10:1
  - 200:50



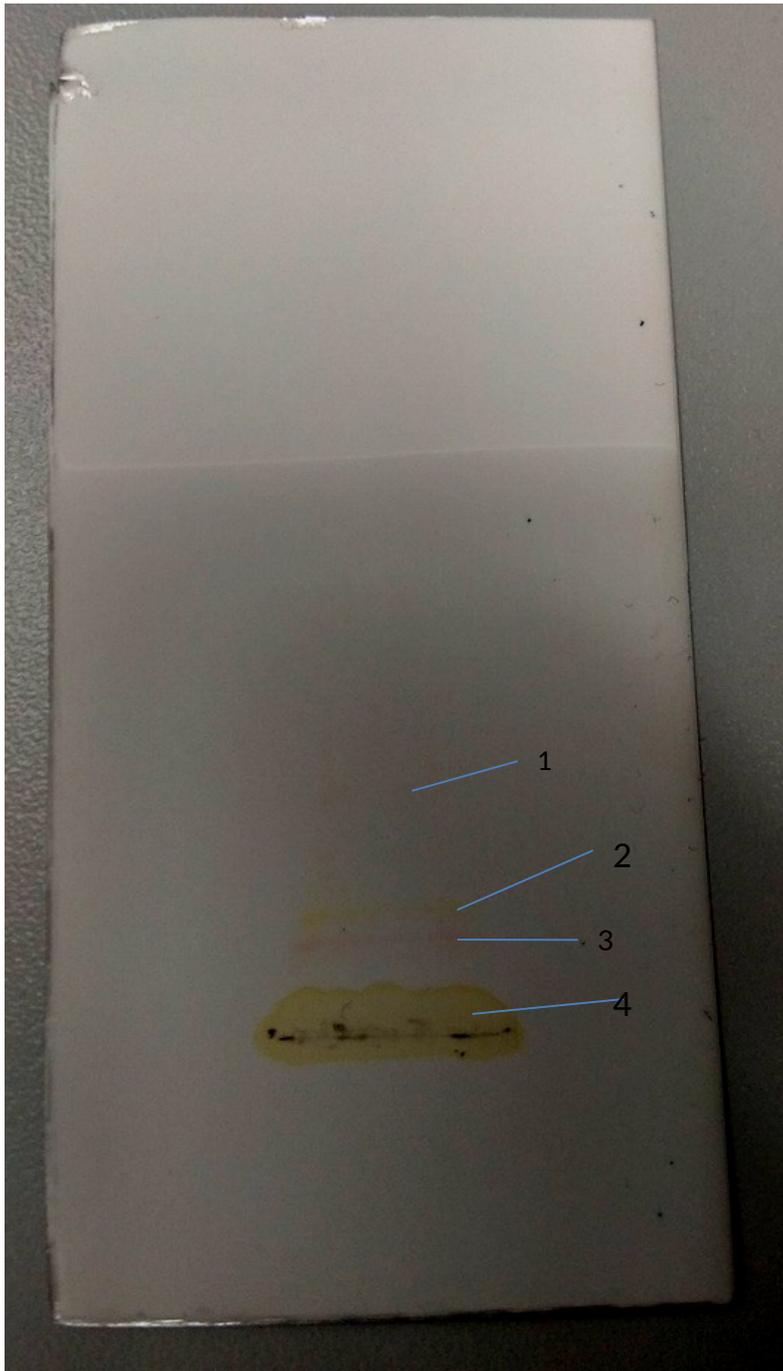
# Чилийский перец

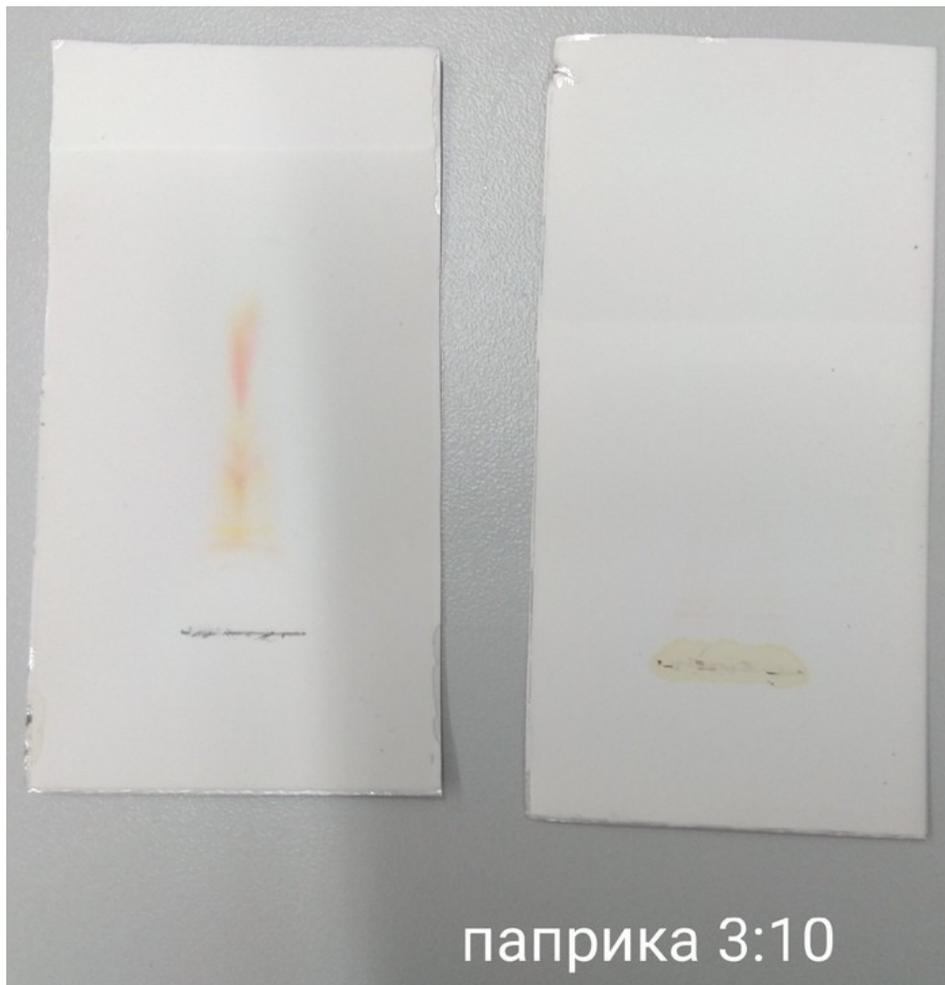
- 1)  $\beta$ -каротин
  - 2) капсантин
  - 3) антераксантин
  - 4) зеаксантин
  - 5) виолаксантин
  - 6) пятно растворителя
- 10:3 (165:55 мл) уайт спирт и ацетон

| Исследуемый пигмент | Болгарский перец | Паприка | Чилийский перец |
|---------------------|------------------|---------|-----------------|
| β-каротин           | +                | +       | +               |
| Капсантин           | +                | +       | +               |
| Зеаксантин          | +                | +       | +               |
| Виолаксантин        | +                | +       | +               |
| Антераксантин       | +                | -       | +               |
| Лютеин              | -                | +       | -               |

# Концентрат паприки

- 10:3
- 1)  $\beta$ -каротин
- 2) Зеаксантин
- 3) Виолаксантин
- 4) Пятно элюента с пигментом





- Слева - замороженный
- Справа - концентрат

# Заключение и выводы:

- Методом ТСХ из исследуемых перцев можно выделить  $\beta$ -каротин, капсантин, зеаксантин, виолаксантин, антераксантин, лютеин
- Каротиноидный состав разных видов перцев может быть отличен
- Подобрали необходимые условия для разделения пигментов и разделили их, но это первый шаг к решению проблемы и данный вопрос ещё следует подробно изучить.

Спасибо за внимание!



# ВЭЖХ

Это один из эффективных методов анализа и разделения сложных смесей. Он как метод был открыт в 1903 г. русским ученым-ботаником М.С.Цветом, который использовал для разделения растительных пигментов на их составляющие колонки, заполненные порошком мела. Метод ВЭЖХ находит широкое применение в таких областях, как химия, нефтехимия, биология, биотехнология, медицина, пищевая промышленность, охрана окружающей среды, производство лекарственных препаратов и во многих других. По механизму разделения анализируемых или разделяемых веществ ВЭЖХ делится на адсорбционную, распределительную, ионообменную и эксклюзионную. В адсорбционной хроматографии разделение веществ, входящих в смесь и движущихся по колонке в потоке растворителя, происходит за счет их различной способности адсорбироваться и десорбироваться на поверхности адсорбента с развитой поверхностью, например, силикагеля.

# ТСХ дома. Как сделать?

Необходимые материалы:

- Растворители: уайт спирит, ацетон
- Удобрение: сульфат магния или английская соль (для удаления воды из экстракции)
- Инструменты: инсулиновый шприц, воронка, ступка, фольга, песок, мел, фильтровальная бумага, бумажные полотенца, нитка, скотч
- Объект исследования: укроп, петрушка, листья чайной розы, крапива



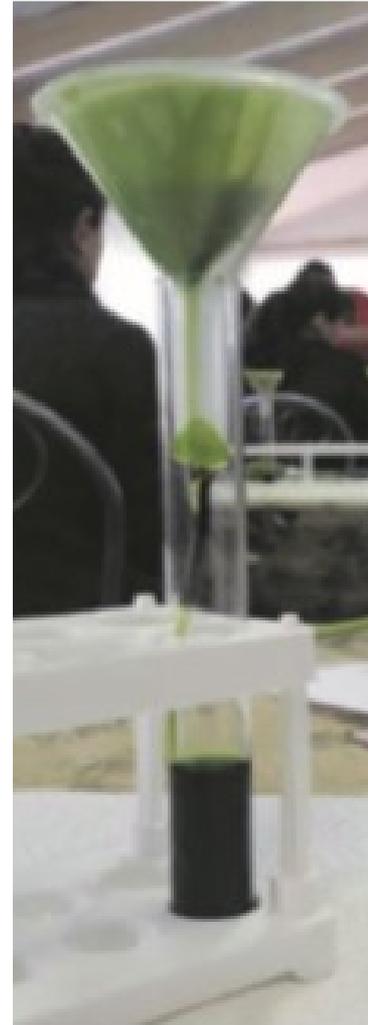
# Механизм работы:

- Выберите рабочее место так, чтобы на него не попадали прямые солнечные лучи.
- Через горлышко протяните «бельевую верёвку» чуть-чуть провисающую нитку, которую можно закрепить по внешней стороне горлышка скотчем.
  - Внимание! Все дальнейшие операции нужно проводить при хорошем проветривании! Налейте чистый уайтспирит или его смеси с ацетоном в банки.
  - Смесь растворителей должна примерно на 1,5 - 2 см покрыть дно банки.
- Плотно закройте банки завинчивающимися крышками, после этого подождите не менее 20 - 30 минут
- В ступку добавьте измельчённый растительный материал, немного мела, песок  
Налейте ацетон и растирайте до однородной кашицы
- Добавьте немного мела. Затем добавьте сухой песок - не более половины от объёма растительного материала
  - Добавьте в ступку ацетона



# Механизм работы:

- После перетирания отфильтруйте фильтровальной бумагой
- Отрежьте полоску шириной около 2 см, а высотой лишь ненамного превышающей высоту банки с системой растворителей.
- Примерьте линию старта.
- При нанесении стартовое пятно должно оказаться примерно на 5 мм выше уровня растворителей.
- На запланированном расстоянии от нижнего края бумаги простым карандашом по линейке проведите тонкую сплошную линию.
- Вдоль всей линии старта нанесите экстракт пигментов.
- Дайте ему просохнуть.
- Затем повторно нанесите экстракт.
- Повторяйте до тех пор, пока не получится ярко окрашенное пятно
- Примерьте полоску бумаги к банке с системой растворителей.
- На верхней части сделайте ровный сгиб так, чтобы бумага «повисла» на протянутой через горлышко нити, чуть-чуть не доставая до дна.
- Хроматография готова, когда до линии сгиба осталось около 5-10

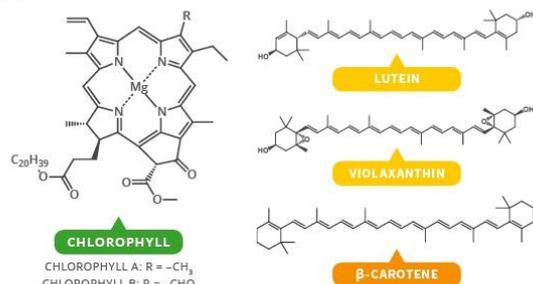


| Название пигмента       | Молярная масса |
|-------------------------|----------------|
| В каротин               | 537            |
| Антераксантины          | 585            |
| Лютеин                  | 567            |
| Зеаксантин              | 567            |
| Капсантин (астаксантин) | 597            |
| Виолаксантин            | 600            |

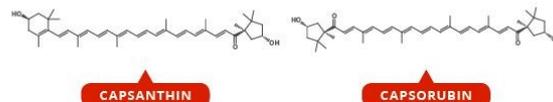
# THE CHEMISTRY OF BELL PEPPERS

Bell peppers go through a spectrum of colours as they ripen – here we look at the compounds behind their colour, aroma, and flavour.

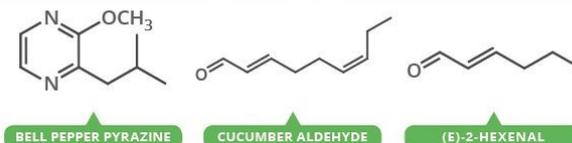
## BELL PEPPER COLOUR CHEMISTRY



Chlorophyll, used by plants for photosynthesis, gives bell peppers their initial green colour. As the pepper ripens, these are decomposed, and a range of carotenoid pigments appear. These include lutein, violaxanthin, and beta-carotene, which give yellow and orange hues. Eventually red carotenoid pigments including capsanthin and capsorubin appear. These red pigments are almost exclusively found in peppers.



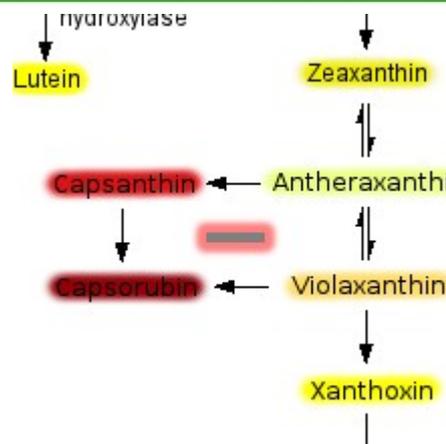
## BELL PEPPER AROMA



The aroma of bell peppers also develops as they ripen. In green peppers, the characteristic smell is largely due to a single chemical, 2-methoxy-3-isobutylpyrazine ("bell pepper pyrazine"). Other minor contributors include (E,Z)-2,6-nonadienal ("cucumber aldehyde"). The concentrations of most volatile compounds drop during ripening, with the exception of (E)-2-hexenal and (E)-2-hexenol, lending a sweeter, fruitier note to the aroma.

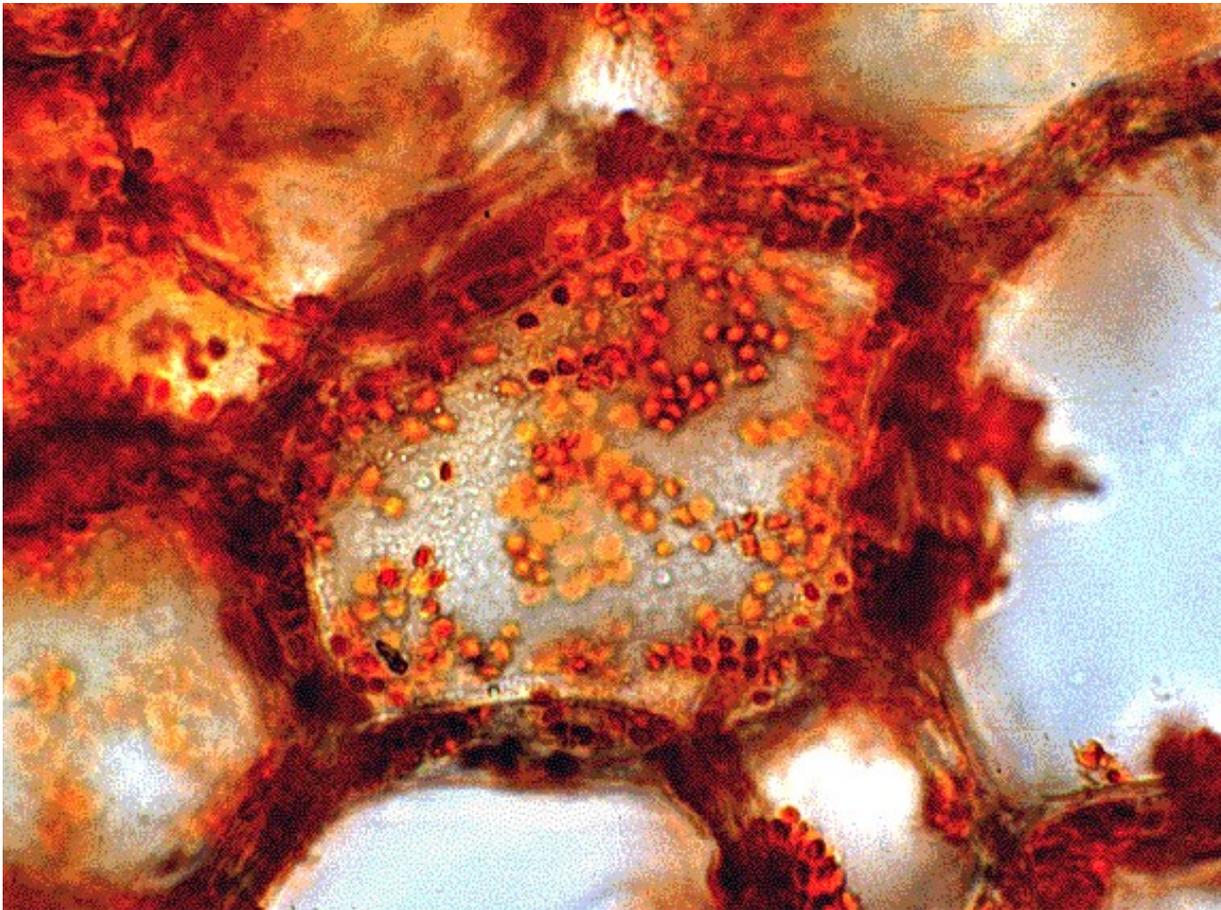


© COMPOUND INTEREST 2016 - WWW.COMPOUNDCHEM.COM | Twitter: @compoundchem | Facebook: www.facebook.com/compoundchem  
 This graphic is shared under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives International 4.0 licence.



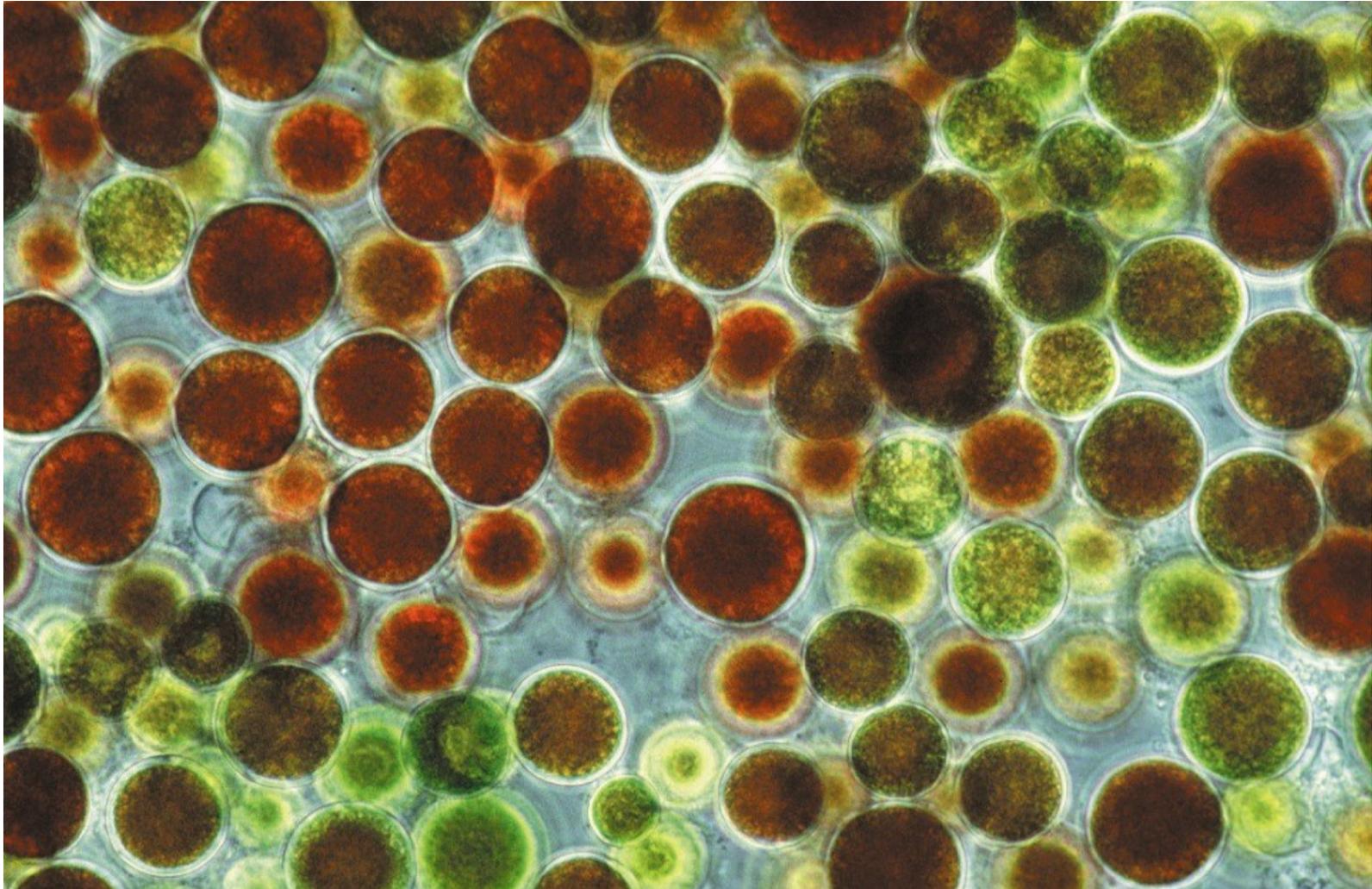
# Каротиноиды

- Это желтые, оранжевые, красные или коричневые пигменты, которые сильно поглощают в сине-фиолетовой области



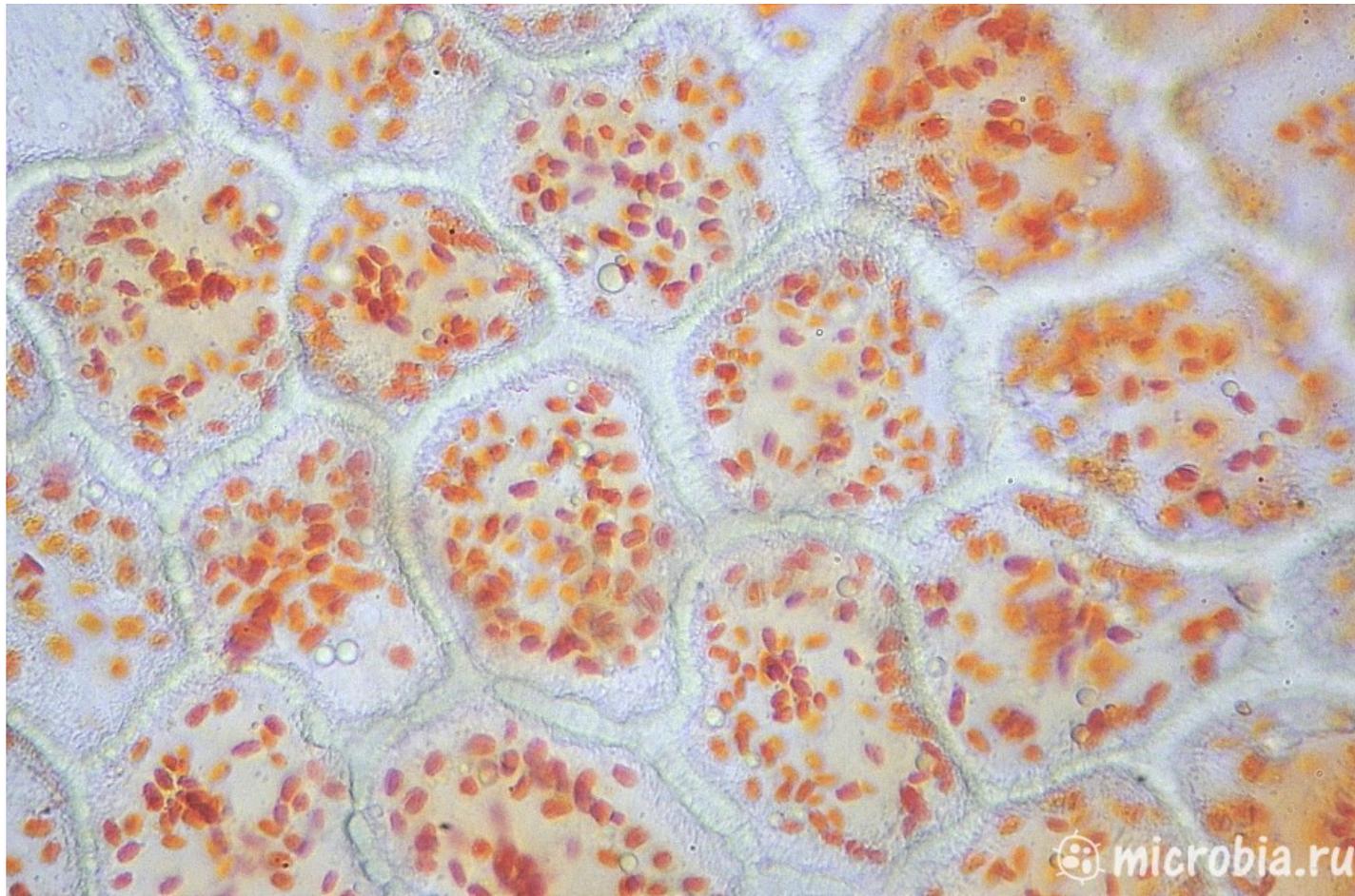
# Каротиноиды

- Бывают двух типов - каротины и ксантофиллы



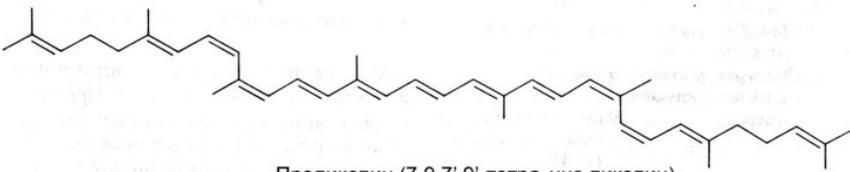
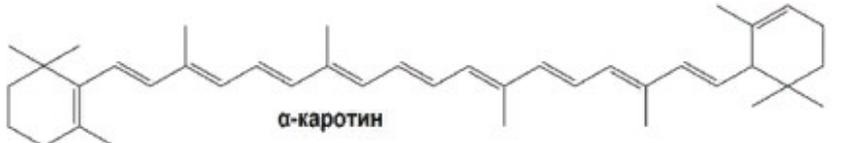
# Каротиноиды

- Локализованы в специализированных структурах в хромопластах, называемых пластоглобулинами, а также хлоропластах

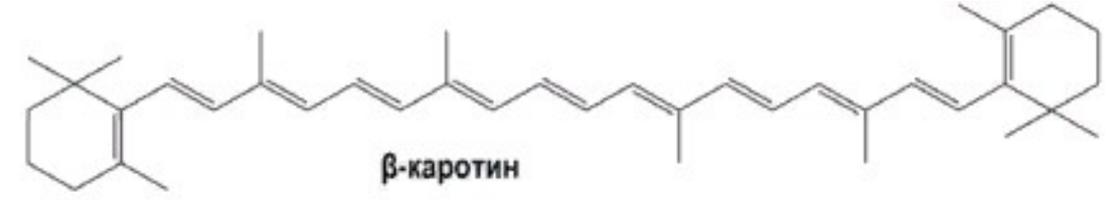


| Тип перца чили                             | Стадия созревания       | Основные каротиноиды                                  |
|--|-------------------------|---|
| Красный перец                              | Зрелая (Красная)        | Капсантин , $\beta$ -каротин и виолаксантин           |
| Зеленый болгарский перец                   | Незрелый (Зеленый Цвет) | Лютеин , неоксантин , виолаксантин и $\beta$ -каротин |
| Желтый перец                               | Незрелый (Зеленый Цвет) | Виолаксантин , антраксантин , лютеин и зеаксантин     |
|  | Зрелая (Оранжевая)      | Лютеин, $\beta$ -каротин и неоксантин                 |
| Черная паприка                             | Незрелый (Черный)       | Лютеин и зеаксантин                                   |
| Szentesi Kosszarvú                         | Незрелый (Зеленый Цвет) | Лютеин и $\beta$ -каротин                             |
| Capsicum annuum var. lycopersiforme rubrum | Незрелый (Зеленый Цвет) | Лютеин и $\beta$ -каротин                             |
|  | Зрелая (Красная)        | Капсантин , зеаксантин и $\beta$ -каротин             |

| Тип перца чили           | Стадия созревания       | Основные каротиноиды            |
|--------------------------|-------------------------|---------------------------------|
| Сладкий стручковый перец | Незрелый (Зеленый Цвет) | Лютеин и $\beta$ -каротин       |
|                          | Зеленый                 | Лютеин и $\beta$ -каротин       |
|                          | Незрелый (Красный)      | $\beta$ -каротин и зеаксантин   |
|                          | Красный                 | $\beta$ -каротин и капсантин    |
| Анчо, гуахильо и мулато  | Анчоус (Зрелый)         | $\beta$ -каротин и виолаксантин |
|                          | Гуахильо (Зрелые)       | $\beta$ -каротин и виолаксантин |
|                          | Мулато (Зрелые)         | Виолаксантин и $\beta$ -каротин |

| <p><b>Название пигмента (хим формула и мол.масса)</b></p>   | <p><b>Общая информация</b></p>  | <p><b>Способы выделения</b></p>   |
|---|---|---|
| <p>Каротиноиды:<br/>C<sub>40</sub>H<sub>56</sub><br/>536 г\моль</p>  <p>Проликопин (7,9,7',9'-тетра-цис-ликопин)</p> | <p>Каротиноиды - это изопреноидные соединения, которые состоят из восьми единиц изопрена (ИП), прикрепленных в схеме "голова-хвост", где порядок двойной связи инвертирован в центре молекулы</p> | <p>ВЭЖХ, ЯМР спектроскопия, противоточная хроматография СЖХ, АЖТ, ионообменная хроматография, ТСХ, капиллярный электрофорез</p> |
| <p>А-каротин<br/>536,87 г\моль</p>  <p>α-каротин</p>   | <p>Проявляет более слабый эффект, чем бета-каротин.</p>   | <p>-  -</p>   |

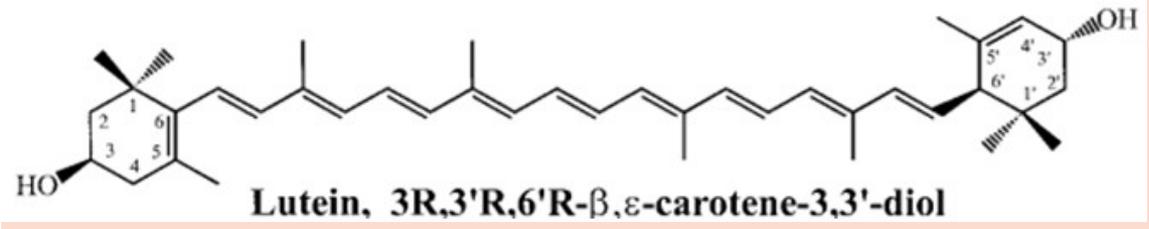
**В-каротин**  
536,9 г\моль



Антиоксидант, из одной молекулы образуются две молекулы ретинола, защита клеток от окислительного повреждения, фотопротектор

-||-

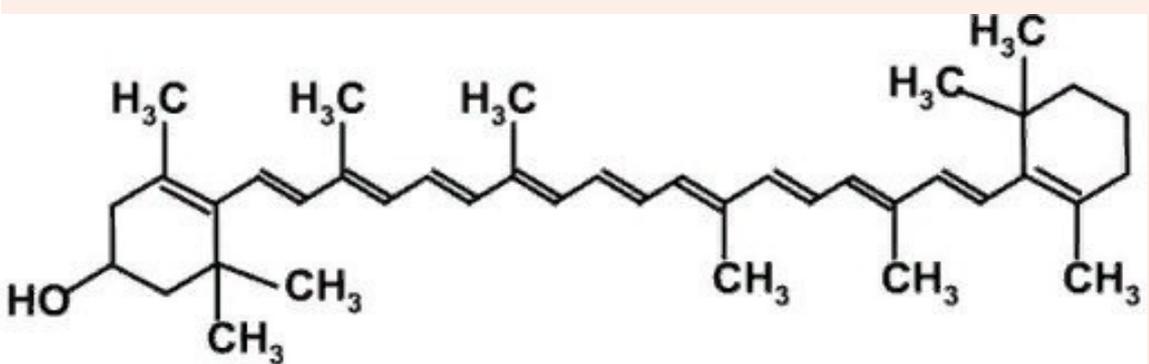
**Лютеин**  
568,87 г\моль



Участвует в фотозащите, структурная роль

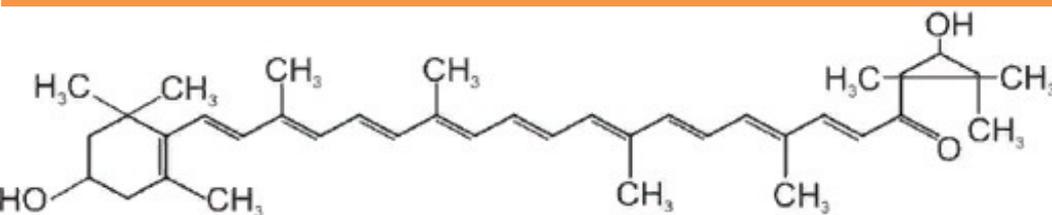
-||-

**В-криптоксантин**  
552,87 г\моль



Антиоксидант, провитаминный каротиноид

**Капсантин=астаксантин**  
**596,84 г\моль**

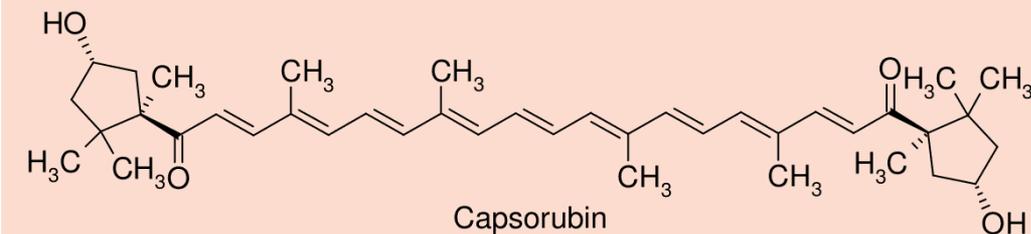


капсантин

**Антиоксидантное действие,**  
**обеспечивает окраску**

-||-

**Капсорубин**  
**600,88 г\моль**

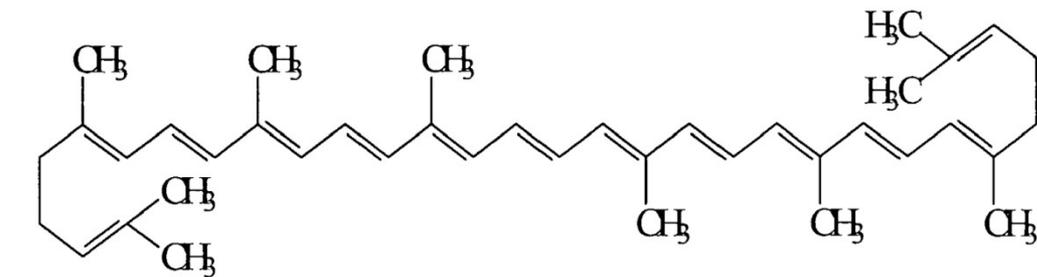


Capsorubin

**Антиоксидантное действие,**  
**обеспечивает окраску**

-||-

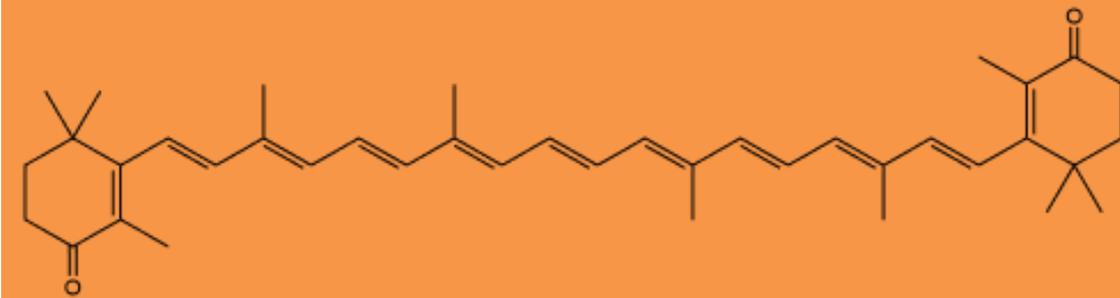
**Ликопин**  
**536,87 г\моль**



**Жирорастворимый каротин,**  
**антиоксидант, содержится в**  
**плодах томата**

-||-

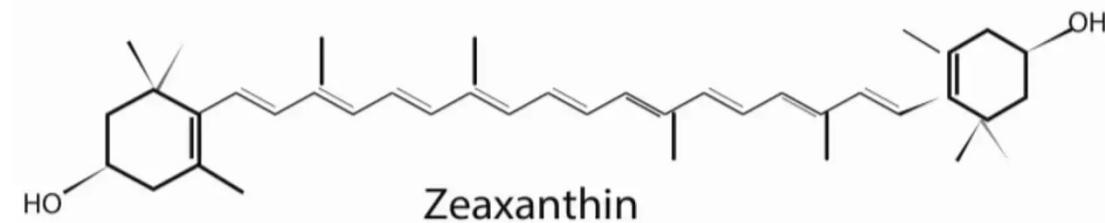
**Криптоксантин**  
552, 87 г\моль



**Антиоксидант, провитамин А, стимулирует репарацию окислительного повреждения ДНК**

-||-

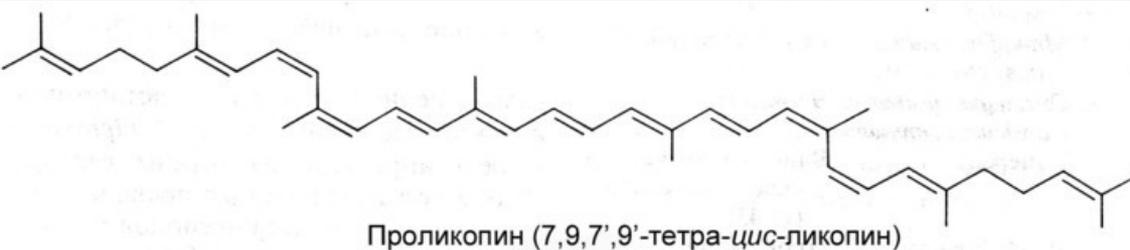
**Зеаксантин**  
568,87 г\моль



**Участвует в фотозащите**

-||-

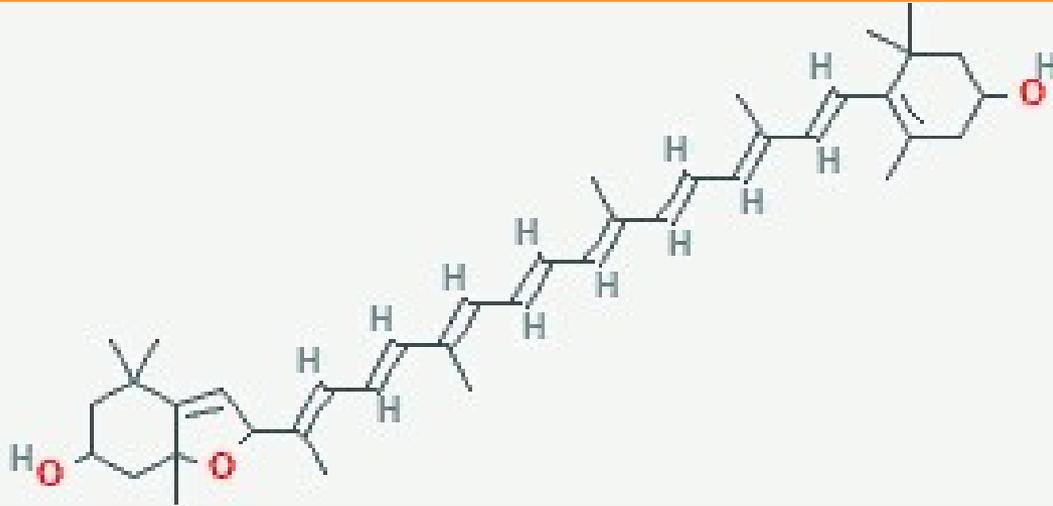
**Ксантофиллы:**



**Поддерживают структуру и регулируют поглощение света, фотопротекторная ф-ция**

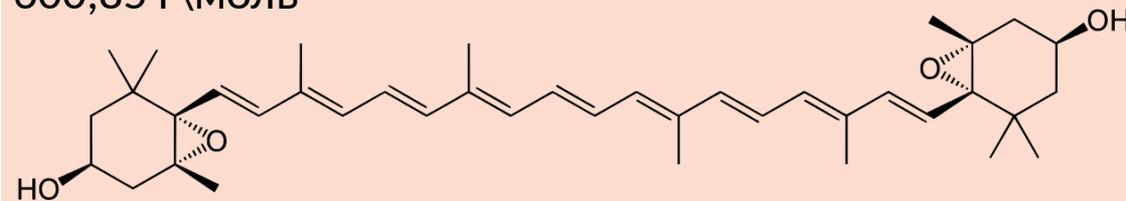
-||-

**Мутатоксантин**  
584,9 г\моль



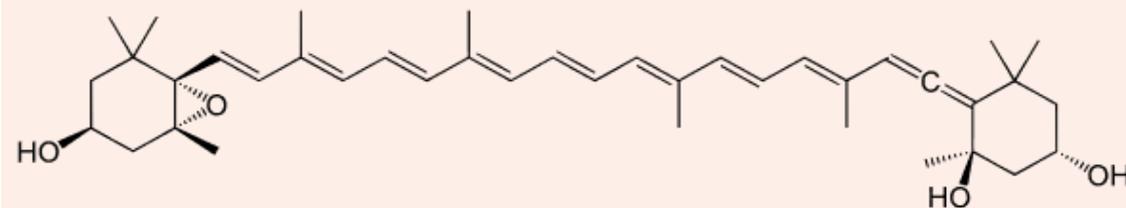
Обладает слабым основным  
(нейтральным) свойством -||-

**Виолаксантин**  
600,85 г\моль



Участвует в фотозащите,  
антенная функция, участвует в  
виолаксантиновом цикле -||-

**Неоксантин**  
600,88 г\моль



дополнительный пигмент  
фотосинтеза,  
фотопротекторная функция,  
светособирающая ф-ция -||-