الانثوسيانينات والبيتالينات

تنتشر الانثوسيانينات فى النباتات بصورة كبيرة وهى المتسببة عن ألوانها الزرقاء ـ الأرجوانى ـ الأزرق ـ الماجنتا magenta الأحمر ـ البرتقالى بينما البيتالينات تتسبب فى ظهور ألوان حمراء بنفسجية فى بيتاسيانينات beta cyanin وألوان صفراء ـ برتقالية فى البيتاكسانتينات betaxanthin وهى على سبيل الحصر توجد فى فصائل رتبه القرنفليات وفى أزهار نبات القطن وأزهار أصبع العذراء. عموما الأجزاء الخضرية والأزهار والثمار ويتأثر ثبات ألوان هذه المركبات بعوامل بيئية بصورة واضحة وكذلك بعوامل أخرى تتصل بإجراءات التصنيع والمعاملات مثل درجة pH والحرارة، (O_2) والانزيمات وتفاعلات التكثيف condensedion وقد وجد فى نبات Hydrangea أفراد ذات أزهار حمراء وردية roso - red ـ وهذه الظاهرة تكون أوضح فى تربة مضافة إليها أملاح ألومنيوم فى صورة كبريتات وهذه العوامل بالإضافة إلى تنوع تركيب الانثوسيانيتات يجعل تحليلها الوصفى والكمى تشوبه بعض الصعوبات غير أن سرعة وسهولة استعمال HPLC فى الفصل الكمى للصبغات بدون إجراء عمليات تنقية أولية أدى إلى ثورة فى تحليل الصبغات ونسبة إلى خاصية عدم ثباتها المتأصلة فيها فإن هذه الصبغات، وعلى الأخص البيتالينات تتسبب فى قلة الإقبال عليها كملونات للأغذية. ونسبة إلى تنوع التركيب الكيماوى للانثوسيانينات بمعنى أن بها بعض أفراد عديدة الاستله polyacylated ومزامل لبعضها البعض فقد أضفت هذه الصيغة فى التركيب الكيماوى للانثوسيانينات قدر كبير فى ثباتها مما جعل استعمالاتها كملونات طبيعية يبشر بالكثير والانثوسيانينات والبيتالينات تكاد تكون مقصورة على أنواع العنب المختلفة وعلى النبجر حيث يمكن استعمالها مع تشكيلة من الأطعمة والصيدلاينات ذات خواص فيزيوكيميائية متناغمة تنتج عنها منتجات على درجة عالية من التلوين والجودة، ويمكن زيادة تطبيقاتها العملية بالعثور على

مصادر جديدة وعلى تباينات فى بنائها الكيماوى، وكذلك عن طريق تطور فى عمليات الطرق الصناعية الحالية وفى توليفات الأغذية المناسبة التى تقبل التلوين بها واستفادة من التقدم التقنى الحديث (مثل الاستخلاص والتنقية على نطاق واسع والتقنية الميكربيولوجية والحيوية التى يمكن من خلالها الحصول على مستخضرات أكثر ثباتا ونقاوة وتعتبر الانثوسيانينات من أفضل الصبغات الطبيعية المعروفة وهى منتشرة فى المملكة النباتية. وجميع النباتات الراقية تستطيع أن تنتجها ولو بدرجات متفاوتة من حيث الكمية والنوعية والتعدد ـ ومع ذلك فإن اللون قد لايكون متاحا لسبب الظروف البيئية السائدة التى لاتشجع على ثباتها أو حتى تشييدها ـ أو ـ ربما ـ بسبب عدم الفائدة للتعبير عن وجودها أو ظهورها لجذب الحشرات والطيور على سبيل المثال.

والبيتالينات أيضا واسعة الانتشار وهى صبغات تذوب فى الماء وتتكون من البيتاسيانين الأحمر البنفسجى والبيتاكسانتين الأصفر البرتقالى. وحتى الآن ـ لم تتأكد الوظائف الفسيولوجية لهذه الصبغات فى النبات بالدرجة الكافية ـ ومع ذلك فإن فوائدها عديدة فهى تقوم بدور كبير فى عملية التلقيح بألوانها الجذابة للحشرات والطيور والحيوان مما يؤدى إلى تكاثر هذه النباتات والإبقاء عليها من الفناء ووجودها فى الساق والأجزاء الأرضية يكتنفها بعض الغموض ـ كما أن تراكمها فى أماكن الجروح والإصابات فى النباتات التى تشييدها ـ عادة ما تشير إلى وظائف كمواد نباتية مهلكه phytoalexins حيث تعمل على أن يصبح النبات حاميا لنفسه من التلوث بالفيروس أو الميكروبات. وهذه المنتجات الطبيعية لها دور كبير فى الأكسدة الحيوية وفى الوقاية من الأنزيمات ومقاومة الفيروسات ونمو البكتريا وفى التنفس.

والبيتالينات قد تكون مخزنا لعنصر النتروجين فى النباتات التى تنتجها. والألوان الصارخة فى كل من الانثوسيانينات والبيتالينات تعتبر أساسا للتعريف بها وكذلك لمعرفة مدى قابلية المستهلك للأطعمة التى تلون بها. ومع أن التقاليد والعرف منذ القدم تشير إلى استعمالها أو تقبلها فى الأطعمة إلا أن انتشار استعمالها للتلوين الغذائى بالنسبة لغيرها من الصبغات الطبيعية يكاد يكون محدودا ـ وربما يرجع سبب هذا إلى عدم ثباتها المتأصل فيها وكنتيجة لشدة تأثرها بالوسط الحامضى أو القلوى

(مثل صبغة الكركديه، التى تتأثر بماء الصنبور) وكذلك تأثرها بالحرارة والضوء إضافة إلى انخفاض درجة تلوينها وقلة إنتاجيتها ـ نسبيا ـ وكذلك فإن صبغاتها يزاملها مركبات أخرى مثل مكسبات الطعم والرائحة فى المصدر. وتتداخل فى مدى تقبل المستهلك لها كملونات ـ كما أن الصعوبة والتعقيدات فى طرق استخلاصها وتنقيتها من مصادرها الطبيعية له أثره فى قلة استعمالها نسبيا ـ ولكن نظرا لموقف المستهلك ورجال الصحة والتشريع إزاء المشيدات ومدى سميتها وخطورتها قد يكون مبررا أو حافزا لزيادة الطلب عليها فى المستقبل لتحل محل المشابهات الطبيعية ـ كما أن بعضها له فوائد طبية كعوامل ضد السرطان وأمراض الكوليسترول ـ ويجيز كثير من الدول استعمال صبغات قشر العنب والبنجر فى الأطعمة دون تحفظ.

البناء الكيماوى:

تعتبر الانثوسيانينات مركبات فلافونويدية حيث أنها تتميز بأن تركيبها الكيماوى يحتوى على ١٥ ذره كربون $C_6\ C_3\ C_6$ ـ وكذلك منشأها التشييدى الحيوى يشابه الفلافونويدات الطبيعية ـ درجة الخلاف أن هذه الصبغات لها قوة امتصاص طبيعية عالية فى الضوء المرأى ـ ويرجع مدى الألوان المصاحبة للانثوسيانينات إلى الاستعاضة الواضحة المتعددة فى النواة الأيوية (parent) فى تركيبها الكيماوى ($C_6\ C_3\ C_6$) بالإضافة إلى تأثير بعض العوامل البيئية والانثوسيانينات عبارة عن جلوكوزيدات عدد ١٦ انثوسيانيدات طبيعية مختلفة. وهذه عبارة عن مشتقات عديدة الهيدروكسيل والميتوكسيلPolyhydroxy, polymethoxy لأملاح مركب الفلافيليوم (شكل ٥) ويعتبر سكر الجلوكوز أهم شطر جلوكوزيدى شائع بالإضافة إلى بعض السكاكر الأخرى الأحادية (رامنوز ـ جالاكتوز ـ زيلوز ـ ارابينوز) أو سكاكر ثنائية (روتينوز rutinose) سوفوروز sophorose أو سكاكر ثلاثية. وتوجد الانثوسيانينات عادة فى قاعدة كينونويدية quinonoidal فى الأنسجة النباتية حيث تتمركز فى فجوة الخلية فى وسط أو محلول مائى حامضى أو متعادل pH ـ ٢,٥ ـ ٧

وتكون مع الأحماض أملاحا (اكسونيوم) وكذلك أملاح مع الحديد والألومنيوم فى صورة معقدات. ويتوقف اللون على ملح الانثوسياتيدين. وتؤثر الأحماض القوية على هذه المركبات حيث يتحرر الحديد والألومنيوم ويظهر اللون الأحمر. إذا تمت

عملية الحموضة بالتدريج ينتج لون بنفسجى (خليط من أحمر أو أزرق (نبات Centaurea - cyanus يكون اللون أزرقا بسبب وجود معقد الانثوسيانين مع المعدن فى وسط حامضى).

توزيع الانثوسيانينات:

نسبة إلى التنوع فى بنائها الكيماوى يوجد منها مايزيد على (٢٥٠) نوع مختلف معظمها فى مغطاة البذور وبالذات فى الفواكه والثمار اللبية berry والتصبغ berry pigmentation فى النباتات وأجزائها نادرا مايكون نتيجة انثوسيانين واحد (جدول رقم ١١) وأهم المصادر النباتية لهذه المركبات هى فصائل:

Vitacea	ويمثلها العنب.	
Rosaceae	يمثلها الكريز والفراوله وبعض أنواع التوت الخوخ	(plums)
Solanaceae	يمثلها الباذنجان الأسود، نبات استوائى	Tamarello
Saxifragaceae	ويمثلها كشميش	black, red currant
Eri caceae		blue, cran -berry
oleaceae	ويمثلها الزيتون الأسود	
Cruciferae	ويمثلها الكرنب الأحمر	

معظم النباتات التى يتغذى عليها المرء المحتوية على الانثوسيانينات تستبين فيها الألوان المميزة لها بوجود نوع الاجلوكون الموجود فى المركب، ولايجب أن يستبعد بعض الصبغات الأخرى ـ الموجودة أيضا فى النبات مثل مركبات الشالكون chalcon والاورون aurones والكاروتينويدات واليخضور التى لاشك أن لها أثرها فى درجة اللون الأصليه وغزارتها ـ وأكثر الانثوسيانينات شيوعا المحتوية على سيانيدين cyanidin

التشييد الحيوى فى الانثوسيانينات:

يتبع مسار هذا التشييد ماهو معروف من دراسة الفلافونويدات فى النبات. ويتأثر

تراكم الانثوسيانينات بعدة عوامل بيئية منها. الضوء ـ الحرارة ـ الهرمونات النباتية ـ التسميد ـ التهتك الميكانيكى والإصابة بالأمراض ولكن أهم عامل هو الضوء فى المنطقة الحمراء البعيدة far-red حيث أنه ينشط فيتوكروم الصبغة-pigment phytoch rom الذى يحفز الانزيمات الأمر الذى ينتج عنه تراكم الانثوسيانينات ولايوجد هذا التراكم فى جميع الخلايا التى تشيد الانثوسيانينات حيث أنها تتمركز فى الثمار والأزهار وفى طبقة الاديم وتحت الاديم epi-, hypodermis فى الساق والأوراق وتوزيع الانثوسيانينات داخل أى نسيج نباتى غير منتظم.

ويقترح البعض أن تمركز التشييد الحيوى لهذه المركبات داخل الخلايا إنما يحدث فى جسيمات كروية ذات صبغة عالية فى فجوة الخلية تسمى انثوسيانوبلاستات anthocyanoblasts وهذه الجسيمات منتشرة فى نباتات كل من ذوات الفلقة والفلقتين. يناهض هذا القول أن هذا النوع من الانثوبلاستات يحتوى على تركيز عال من الانثوسياتينات كما أن درجة pH فيها منخفض ومعلوم أن pH المثلى لجميع انزيمات التشييد الحيوى للفلافونويدات قاعدى.

وهناك رأى آخر يقول أن التشييد يتم عن طريق تركيب انزيمى معقد. ويخضع هذا التشييد الحيوى للانثوسيانينات إلى نظام وراثى تتحكم فيه مجموعة من المورثات (الجينات) عن طريق تكوين مخلبيات معينه وغيرها من المركبات.

*** العوامل المؤثرة على الانثوسيانينات وثبات اللون:**

لاتشذ الانثوسينانينات عن غيرها من الملونات الطبيعية فى عدم الثبات المـوروث فيها ـ وعموما فهى أكثر ثباتا تحت ظروف حامضية وكذلك قد تتحلل تحت تأثير عدة ميكانيكيات محتمله ـ لتكوين مركبات غير ملونه مبدئيا ثم ذات لون بنى قد لايذوب فى الماء، وهذا التحلل قد يحدث أثناء عمليات الاستخلاص أو التصنيع أو التخزين.

***علاقة ph بالبناء الكيماوى فى الانثوسيانينات:**

يرجع تحديد اللون فى الانثوسيانينات غير المؤستلة وأحادية الاستلة-non -, monoac

cylated إلى الاستعاضة في الحلقة β في الأجلوكون (راجع شكل ٥) فزيادة استعاضة مجموعة (OH) ينتج عنها لون أزرق بينما تتسبب (OME) الميتوكسيلية methoxylation في أن تصبح حوامل الألوان أكثر حمرة وكلما زادت درجة الهدرلكسه في الاجلوكون كلما قلت درجة ثبات الانثوسيانين بينما العكس صحيح هذا إذا زادت درجة الاستعاضة بواسطة (OME). واستعاضة مجموعة ـ OH ـ الحرة بالسكر glycosyelation تزيد من ثبات الانثوسيانين مثل مايحدث بتأثير (OME). لذا فإن الانثوسيانين المحتوى عدد ٢ جلوكوز تكون أكثر ثباتا من حيث تغيير اللون أثناء التخزين أو التعرض للحرارة أو الضوء عن أحادية الجلوكوز. وطبيعة الفضله السكرية sugar - radical لها أيضا تأثير على الثبات فمثلا عصير نبات توت cranberry المحتوى على جلاكتوز أكثر ثباتا أثناء التخزين عن ذلك المحتوى على ارابينوز. وتتعرض الانثوسيانينات في الوسط المائي لعدة تحولات في ثباتها الكيماوى ويتوقف هذا على pHفإذا كانت هذه متعادلة أو حامضية ضئيلة فإن الانثوسيانينات تتواجد في الغالب في صورة غير ملونة ـ ومع ذلك فإن ثبات لونها على الأخص ـ القاعدة الكينونويديه يزداد بوجود مجموعة اسيل acyl - group مرتبطة مع شطر سكرى في جزئ الصبغة والانثوسيانينات المحتوية على مجموعتين أسيل أو أكثر تصبح ذات ثبات فائق للغاية في جميع درجات pH ـ والصبغات التى نزعت منها مجموعة الاسيل يزول لونها في الحال بمجرد وضعها في محلول متعادل أو خفيف الحموضة. كما هو الحال في مسلك الانثوسيانينات الخالية من مجموعة الاسيل ـ وكلما زاد عدد مجموعات الاسيل ازداد اللون ـ وعليه فإنه يلزم على الأقل وجود عدد ٢ مجموعة اسيل للمحافظة على ثبات اللون في الوسط المتعادل أو خفيف الحموضة ـ ويؤثر شطر الاسيل في الانثوسيانين فمثلا إذا كانت pH متعادله فإن الصبغة المحتوية على حامض كوماريك cumaric أقل ثباتا من تلك المحتوية على مجموعة أسيل حامض الكافايك caffeic إن التحولات transformation في البناء الكيماوى التى تتوقف على pH يمكن أن تستغل في تحليل هذه الصبغات، وكذلك في صناعة منتجات غذائية محتوية على انثوسيانين. كما أنه يمكن أن تكون هناك تطبيقات عملية على

قدر كبير من الأهمية لمركبات الانثوسيانينات كملونات للأغذية أن أمكن استغلال كافة الصور للاسيلات العديدة polyacylatad أو استغلال الصبغات المصاحبة للانثوسيانينات co-pigments

تأثير الحرارة:

تؤثر الحرارة فى ثبات الانثوسيانينات شأنها فى ذلك شأن أى تفاعل كيماوى يتأثر بالحرارة فى درجة تحللها سواء فى الأنظمة الطبيعية أو النموذجية model-systeme ويختلف ثبات الانثوسيانين بالحرارة حسب بنائها الكيماوى، وكذلك حسب درجة pH ووجود أو غياب (O_2). وكذلك التفاعلات البينية مع غيرها من المكونات الموجودة فى أى نظام ـ وعلى العموم فإن صور البناء الكيماوى التى تزيد من ثبات pH تزيد أيضا من الثبات الحرارى ـ على سبيل المثال ـ هدركسله الاجلوكون تقلل الثبات بينما الميتاكسايليه والجلايكوسيلية glycosylation والاسله acylastion لها تأثير عكسى.

وقد لوحظ أن درجة الثبات القصوى للحرارة فى وجود (O_2) فى بعض الانثوسيانينات كانت عند pH (١,٨ ـ ٢) بينما لوحظ فى بعضها أن هذه الدرجة القصوى كانت عند pH ٤ ـ ٥ فى غياب (O_2) وقد اتضح أن تركيز الصبغات عديدة التردد polymeric pigments يزداد بازدياد الحرارة ووقت التخزين. ويساهم فى تلوين العصائر والمشروبات الروحية للعنب الأحمر. لذلك فإن البعض يوصى باستعمال درجات حرارة عالية ووقت أقصر للحصول على مدة أطول لبقاء الصبغات فى المنتجات الغذائية المحتوية على الانثوسيانينات.

تأثير (O_2)، (O_2H_2):

وجد أن الحرارة، (O_2) من أهم العوامل التى تسرع فى هدم الانثوسيانينات. وفعل الأكسدة بواسطة (O_2) قد يكون مباشراً أو غير مباشر فى هذا الهدم ـ وتفقد الانثوسيانينات ألوانها بفعل حامض الاسقربوط بالأكسدة الغير مباشرة بواسطة (O_2H_2) الذى يتكون أثناء الأكسدة غير الهوائية للحامض. وبعض العصائر

المضاف إليها (O_2H_2) تنتج مركبات راتنجية فى شكل رواسب بنية اللون عن طريق البلمرة أو قد يقود ذلك إلى تفاعلات هدم.

تأثير الضوء:

عند تعرض الانثوسيانينات للأشعة فوق البنفسجية أو الضوء المرأى فإنها تفقد ثباتها بسبب تعرضها للأكسدة الضوئية. والانثوسيانينات التى حدثت فيها استعاضه مجموعة c-5. hy droxyl التى تتبلور تكون عرضة للتحلل الضوئى الكيماوى عن تلك التى لم يحدث فيها استعاضة. وتؤثر الصبغات المصاحبة فى هذا التحلل أما بإسراعه أو إبطائه وذلك حسب نوعية هذه الصبغات المصاحبة co-pigment.

تأثير الأنزيمات:

يوجد عدد من الأنزيمات الداخلية فى الأنسجة النباتية endogenous يعزى إليها تغيير اللون بالأكسدة فى الانثوسيانينات. وقد أطلق على هذه الأنزيمات انثوسيانينيز ـ وقد قسمت هذه الأنزيمات إلى مجموعتين حسب نشاطها:

١ ـ جليكوز يديزات وهذه تحلمئ الروابط الجليكوريدية فى الانثوسيانينات وينتج عن ذلك سكر حر واجلوكون وعدم ثبات حامل اللون فى الاجلوكون ينتج عنه تحول تلقائى إلى مشتقات غير ملونة.

٢ ـ اكسيديزات بوليفينوليه polyphenolic - oxidase (PPO) وهذه تؤثر فى الانثوسيانينات فى وجود o-diphcnols عن طريق أكسدة ميكانيكية.

وهذا النوع الأخير منتشر بكثرة فى المملكة النباتية. وتوجد عدة مستحضرات أنزيمية تجارية تحتوى على جلوكوزيد يزات وربما PPO تنتج عادة من الفطريات، وقد استعمل كلا النوعين الناتجين من الفطريات أو مستحضرات بغرض إزالة الزائد من الأنثوسيانينات من بعض المنتجات الغذائية مثل مربى أو جلى التوت الأسودblack berry - والتى كان لونها شديد السواد وغير جذاب. كما استخدمت مستحضرات مشابهة فى صناعة المشروبات الروحية البيضاء من أنواع العنب الأحمر الطبيعية.

ومثل هذه الأنزيمات سواء كانت داخلية أو خارجية قد تتسبب فى مشاكل إذا كان الغرض هو أطول مدة لبقاء الانثوسيانينات وفى هذه الحالة يفضل السلق المبدئى بالبخار قبل أو عند التصنيع أو التخزين أو الحفظ فى محلول مركز (أكثر من ٢٠ ٪) من السكر لإبطال مفعول هذه الإنزيمات فى الفواكه. ولإبطال مفعول PPO يمكن استعمال (SO_2) وغيره من المواد غير العضوية الكبريتية أو المركبات العضوية مثل الأحماض الأمينية أو التانينات أو حامض الاسقربوط حيث أن وجود هذا الحامض يحول دون تغيير لون الانثوسيانين. كما أن الجالوتانينا gallotanins تعمل على تثبيت اللون من خلال التصبغ المصاحب حيث أنها تكون معقدات مع الانثوسيانينات عن طريق تفاعلات غير محبه للماء.

NUCLEOPHYLIC - AGENTSW:

تتعرض الانثوسيانينات المحتوية أو غير المحتوية على مجموعة اسيل على الأخص لفعل هذه العوامل فى موضعى c-2، c-4 ـ ومن هذه العوامل الأحماض الأمينية والفينولات ـ الكاتشين catechin، الفلوروجلوسينول phloroglucinol التى تعمل على اختفاء لون الانثوسيانينات. ومركب (SO_2) الذى يستعمل بكثرة فى المشروبات الروحية ويستعمل كعامل مانع للفساد وينتج عنه مركبات إضافية adduets عديمة اللون ـ وهذا التفاعل عكسى ـ وفى هذه الحالة يمكن ضبط pH على درجة ١ (حموضة) للمحافظة على اللون (يتكون مركب معقد بيكبريتبت الانثوسيانين) ـ وهذا المركب ثابت وشطر الكبريت يفترض فيه أنه يثبط الرابطة الجلوكوزيدية فىC-3 وبالتالى يحول دون تحلمؤها ومايتبع ذلك من تكوين نواتج الهدم البنية اللون لذا يحتاط من زيادة SO_2 عن المطلوب حيث أن الدراسات أوضحت أن الكميات الضئيلة من SO_2 تكفى لقصر اللون فى كميات كبيرة من الانثوسيانينات، وقد أوضحت الدراسات أن مفعول هذه العوامل ينعدم إذا وجدت مركبات بها استعاضة فى C -4 بإدخال شطر الميثايل أو الفينايل فى الاستعاضة لتثبيت الانثوسيانين التى يمكن عندئذ استعمالها فى المواد الغذائية ـ حتى الآن لم يعثر إلا على مصدر واحد

طبيعى بلون برتقالى به هذه الاستعاضة فى C -4 (فى قلف نبات ـ صفصاف wil-low)، ولذا فإن ندرة هذه المواد الخام الطبيعية لاتساعد على استغلالها تجاريا مما يشجع البحث عن مصادر مماثلة اقتصادية. وإذا كان الوسط حامضيا فإن الانثوسيانينات تكون ذات شحنة موجبة، ولذا فإنها تكون أكثر مقاومة لعوامل الكتورفيلية electro-phylic مثل الالدهيدات ـ ويتسبب الاسيتالدهيد بمفرده وبعض الالدهيدات فى فقدان اللون فى مستخلصات الانثوسيانين الخام بمهاجمة الكتروفيليه فى موضع c-6 ، c-8 .

أنواع السكر ونواتج تحللها:

تعمل تركيزات السكر (فوق ٢٠ ٪) أو الشربات المستعملة فى حفظ الفواكه أو فى منتجات الفاكهة على حماية اللون فى الانثوسيانين ـ ربما لأنها تعمل على خفض درجة مفعول النشاط المائى وتخفيض هذه الدرجة يصاحبه خفض فى درجة تحللها. والانثوسيانينات المجففة فى صورة مسحوق (درجة نشاط مائى) (٣,٠≤) ثابتة نسبيا فى درجة حرارة الغرفة لعدة أعوام شريطة أن تحفظ فى أوعية محكمة القفل. ومما يسرع فى تحلل الانثوسيانينات أنواع السكر ونواتج تحللها إذا كانت بتركيز معين (١٠٠/ ج م) أو ربما فوق هذا التركيز. ودرجة فعالية هذا التحلل المتسببة من سكر الفاكهه وسكر اللبن والارابنيور والسربوز sorbose أكبر من درجة فعالية التحلل المتسببه من سكر القصب أو المالتوز.

ونسبة تحلل الانثوسيانينات متلازمة مع النسبة التى يتحلل فيها السكر نفسه حيث تنتج مركبات من نوع الفورفورال ومنتجات هذا التحلل فى السكر نفسه تكون مع الانثوسيانين معقدات بنية اللون ولانغفل عن فعل (O_2) الذى يساعد على تحلل السكر أو مشتقات السكر.

صبغات المصاحبة:

ذات اللون الأصفر الباهت التى يبلغ عددها أكثر من ٦٠ مركب دائما تصاحب الفلافونويدات إن وجود الانثوسيانينات كافة فى فجوة الخلية لايعفيها من كونها

مرتبطة ـ أيونيا بالأحماض العضوية الاليفاتية مثل أحماض المالونيك ـ الماليك ـ أو الخل ـ وهذه الاتحادات أو التفاعلات البينية interaction ينشأ عنها تثبيت للألوان في الخلايا الحية ـ والامتصاص الفيزيائى لكاتيون (flavylium) الفلافيليوم أو امتصاص قاعد الكينوتويدات المتعادلة أو الأيونية) على سطح مناسب يمكن أن يكون وسيلة لتثبيت حوامل اللون بانتزاعها من المحلول الأم، وبالتالى تمنع الخسارة فى اللون المتسببة من هذه التفاعلات الرطبة (hydrated) ومن المحتمل أن يكون ثبات الانثوسيانين مع البكتين ناتج من هذا التفاعل ـ وهذا يفسر الثبات الفائق لمستخلص الانثوسيانين المتحصل عليها من أزهار نبات Cletoria ternata المستعمل فى تلوين عجائن الأرز فى آسيا ـ وهذا الثبات يعزى إلى امتصاص خواص اللون على النشا الموجود فى الأرز الجلوتينى (أرز محتوى على جلوتين) وتكون الانثوسيانينات معقدات ضعيفة مع مركبات عديدة مثل البروتينات والمواد القابضة، وكذلك مع فلافونويدات أخرى أو عديدات السكر فيما يطلق عليه تزاوج طبيعى بين الجزيئات intermolecular co- pigmendation.

معظم هذه المركبات عديمة اللون ـ ولكنها عندما تتعقد مع الانثوسيانين فإنها تعمل على غزارة اللون فى حوامل الألوان. إذا كان تركيز الصبغة عاليا نسبيا فإن الانثوسيانينات نفسها قد تعمل عمل الصبغة المصاحبة وتساهم فى تفاعلات ذاتية مصاحبة self - association reactions بل أبعد من ذلك حيث يحدث منافسة بين فعل الصبغة المصاحبة والتفاعلات الذاتية المصاحبة (بين الصبغات نفسها) ويمكن توضيح ذلك عندما يكون تركيز الانثوسيانين فى العنب منخفضا فإن إضافة الروتين rutin كصبغة مصاحبة تعمل على تقوية اللون ـ ولكن هذا اللون تقل غزارته بازدياد تركيز الانثوسيانين. تأثير الصبغات المصاحبة سواء كان التفاعل داخل الجزئ نفسه intramoleular أو بين الجزيئيات intermolecular إنما يعزى إليه أولا التلوين فى أنسجة الأزهار والثمار، وكذلك فى عصير الفواكه حيث أن الانثوسيانين بمفرده عمليا عديم اللون فى درجة pH هذه المنتجات.

وتقليل غزارة اللون فى العصائر المحضرة من عجائن الفواكه المعاملة بالأنزيمات عن تلك العصائر المحضرة بطريقة العصر بدون معاملات انزيمية هو أن عدم تفصص (عدم تجزئة) مكونات الحلية المتعددة (قلويدات ـ فلافونويدات ـ أحماض أمينية مواد نيوكلوزيدية nucleosides، قد يساهم فى التصبغ المصاحب مع الانثوسيانين إلى درجات مختلفة. والفلافونويدات كصبغات مصاحبة توجد دائما متحدة مع الانثوسيانينات، وذلك بسبب تشابههما فى التشييد الحيوى. والفلافونويدات عديدة التردد والانثوسيانينات تلعب دوراً هاماً فى تلوين الأعناب وعصائرها.

كما أن المواد القابضة (فلافونيويدات مركزه) لها تأثير وقائى على الانثوسيانينات ويوجد عدد قليل من المواد المثبتة للألوان فى الانثوسيانينات ـ ولكن المستعمل منها ـ عمليا ـ قليل ـ منها quercetin propyl - gallate, thiourea وكذلك cystein وهذا يستعمل فى بعض أنواع العنب على درجة حرارة أقل من ٥٧٥م وأيضا كعامل مختزل أو مانع لفعل أنزيم PPO. وحامض الاسقربوط يمكن أن يؤدى وظيفة تثبيت للون وذلك فى حالة تأكسده بواسطة PPO ولكنه فى نفس الوقت قد يعمل كعامل غير مثبت لكونه يؤكسد الانثوسيانين بطريق غير مباشر بواسطة المنتجات الناتجة من تأكسده.

ويعمل حامض الطرطريك (وغيره) على حماية الانثوسيانينات من التلف حيث أنها تعمل كعامل ملطف للحموضة أو كعامل مانع للأكسدة. وإضافة المركبات الفينولية (الروتين). وحامض القهوة caffeic تثبت بدرجة ملحوظة اللون الأحمر فى عصير البرتقال (أبودمه) وغالبا ماتتكون صبغات مصاحبه ولعل أفضل مايقال فى تثبيت الانثوسيانينات هو تكوين معقدات (مثل الامتصاص السطحى-surface absorp tion أو الصبغات المصاحبة بين الجزيئات intermolecular أو تفاعلات التكثيف con- densation (بواسطة المواد القابضة أو البروتينات وغيرها من الفينولات).

الاستخلاص والتنقيه:

تتوقف طرق استخلاص وتنقية الانثوسيانينات على الغرض المطلوب من

الاستخلاص على طبيعة المصدر الطبيعى. فإذا كان الغرض هو الدراسة التحليلية مباشرة (كما ونوعا) فإنه يفضل اختيار الطريقة التى بموجبها يمكن المحافظة على الصبغات بحالتها الطبيعية قدر الإمكان (أى كما لو كانت فى الخلية النباتية). أما إذا كان المطلوب من الاستخلاص هو الاستعمال التطبيقى كملونات أغذية فإن الحصول على أكبر كمية من محصول الصبغة وقوة تلوينها وثباتها تأتى فى الدرجة الأولى من الأهمية، ويجب أن يؤخذ فى الاعتبار أن تكون عمليات الاستخلاص والتنقية بعيدة عن التعقيد وضياع الوقت وتكون قليلة التكلفة ما أمكن. إن الإلمام بتأثير العوامل المختلفة على البناء الكيماوى للانثوسيانين أمر حيوى. وهذه المنتجات الطبيعية تكون عديمة الثبات فى وسط متعادل أو قلوى ـ لذا ـ عموما ـ تجرى عملية الاستخلاص بواسطة مذيب عضوى حامضى يستطيع أن يهتك أغشية الخلية النباتية، وبالتالى تحرير الصبغة القابلة للذوبان فى الماء.

توجد خطوات عامه معروفة ـ ميكانيكية ـ قبل استعمال المذيب لتجهيز العينة للاستخلاص (التنظيف ـ طريقة التعبئة فى جهاز الاستخلاص). إن المذيبات المستعملة ـ عادة الكحولات المحتوية على نسبة بسيطة من الأحماض المعدنية (Hcl-1 % ≥) ويلاحظ أن كحول الميثانول يحتوى على درجة سمية ـ لذا يستعمل كحول الايثايل (ولكنه أكثر تكلفة). وقد تستعمل أحماض اليفاتية ضعيفة (النمليل ـ خليك ـ ليمونيك ـ ترتريك) ويلاحظ أن الاستخلاص بالكحول وغيره من المذيبات العضوية قد ينتج عنه مصاحبة الانثوسيانين لبعض ملوثات الخلية التى قد تؤثر على ثبات الانثوسيانين وتحللها وجميع الانثوسيانينات تذوب فى الماء، ولكنها لاتذوب فى المذيبات التى لاتحتوى على مجموعة الهيدروكسيل mon - hydoxyl مثل الاثير ـ الاسيتون ـ الكلوروفوم ـ والطرق المتبعة للحصول عليها تشمل التطرية maceration أو النقع soaking فى كحول الايثايل أو الميثايل المضاف إليه حامض معدنى مثل Hcl كما أمكن ترسيب الانثوسيانينات على شكل أملاح زرقاء اللون من عصير الفواكه بواسطة خلات الرصاص ومحلول هيدوكسيل الألومنيوم، ويلى ذلك غسيل الراسب بمحلول الايثانول (٨٠٪) ثم فصل الراسب بواسطة الطرد

المركزى بعد ذلك يذاب الراسب فى (ن. بوتانول) مع Hcl وفصل الشوائب بأثير البترول ثم إجراء تحليل مائى للطبقة المائية بواسطة 2N Hcl لبضع دقائق لتحويل الصبغات المعقدة التركيب إلى أشكالها البسيطة من الانثوسيانينات التى يتم تركيزها باستخلاصها بواسطة كحول ايزواميل isoamyl ـ عند استعمال الفصل اللونى العمودى تغسل الشوائب باذابتها فى محلول مائى من كحول الميثايل المضاف إليه آثار من Hcl.

التنقية:

تجرى التنقية لأغراض التحليل بواسطة الفصل اللونى واهمها الفصل الورقى ـ والأفضل استعمال HPLC أو الفصل العمودى أو الفصل بالتبادل الأيونى باستعمال الراتنجات.

توجد الانثوسيانينات فى منتجات الفاكهة المجهزة أو المخزونة بصورة متعددة التردد جزئيا مما يزيد فى صعوبة تقديرها ووجود انثوسيانينات معينة قد يستخدم فى الكشف عن غش عصير فاكهة ما بعصائر أخرى، وذلك لاحتواء الأخيرة على مضمون صبغى يساعد فى الكشف عن العصير الحقيقى authentic ولايقتصر تقدير الانثوسيانينات وصفيا بل يمكن فى بعض الحالات تقدير الكمية المضافة. وأحيانا يصعب التفرقة بين الانثوسيانينات المضافة وتلك الموجودة أصلا فى العينة intrinsic.

الاستعمال والمصادر الحالية والمستقبلة:

يتوقف مدى استعمال الانثوسيانينات فى المستقبل على مدى الاعتماد عليها بصفة مضمونة منتظمة عند الحاجة إليها ـ وليس من المحتمل فى القريب العاجل أن تكفى المصادر الحالية الطبيعية للاستغناء عن المركبات المشيدة أو الشبيهة بالطبيعة ـ على الرغم من احتمال سميتها وعزوف الجماهير عن استعمالها على الرغم من صفاتها الجيدة ونقاوتها وخواصها التى يمكن تحويرها بدرجة كبيرة والتحكم فى معالجتها، وقد يقتضى الأمر ـ فى حالات متعددة إجراء اختبار السميه عليها من آن

لآخر ـ وهذا يكلف الكثير بخلاف المنتجات الطبيعية التى ليست بحاجة لهذا النوع من الاختبارات. ويكون العنب – إنتاج العالم من الفاكهة كمصدر للانثوسيانينات واقتصاديا فإن أفضل استغلال لها ـ هو الحصول على المادة المطلوبة كمنتج ثانوى ـ وأفضل مصدر فى هذه الحالة هو العنب بعد الحصول على العصير المستخدم كشراب ثم استخلاص اللون من تفل pomace العنب ـ وغيرها من أنواع التفل فى مصادر فاكهة أخرى مثل تفل cranberry حيث يتبقى ٤٠ ٪ من الانثوسيانينات فى المادة المعصورة المتبقية بعد الحصول على العصير. ويوجد فاكهه استوائية Sensepalon dulcificum (توت أحمر) تعرف بأنها الفاكهة المعجزة تحتوى على miraculin محسن للذوق الذى تجرى عليه حاليا اختبارات تحلية المواد ـ حيث يحصل منها على انثوسيانين كمنتج ثانوى. كما استغل الكرنب الأحمر ونوع من التوت bilber-ry. وزراعة المحاصيل بقصد الحصول على ألوان فقط غير اقتصادى ولكن توجد مصادر طبيعية أخرى غير مكلفة فى الزراعة يقصد اللون فقط مثل الكرنب الأحمر. وتختلف مستحضرات الانثوسيانينات فى صفاتها من مصادرها الطبيعية كثيراً حيث أنها تحتوى على منتجات طبيعية أخرى متحللة متكثفه ذات ألوان مثل المواد القابضة والصبغات المصاحبة وغيرها من الشوائب التى تستخلص مع الانثوسيانينات، وقد أمكن الحصول على مستحضرات انثوسيانينات ثابتة ونقية لحد ما بكمية كبيرة فى مزارع الخلايا من أشجار الحور Lopulus والصفصاف والجزر والعنب ونبات Eu-phorbia millii.

زراعة الأنسجة ـ التقنية الحيوية:

إن تطبيق هذا النوع من التقنيه للحصول على مستحضرات انثوسيانينيه يتوقف على قلة التكلفة ومطابقتها للتشريعات. وتتعرض مستحضرات الانثوسيانينيات المستعملة فى الأغذية كملونات لنفس المصير الذى يحدث للصبغات الداخلية (فى داخل الخلية) حيث أن إضافتها للأطعمة تعمل على تشجيع تفاعلات مع المكونات الداخلية قد تؤدى إما إلى ثباتها أو إلى عدم ثباتها. وما يترتب على ذلك من حيث جودة المنتج. ويمكن من خلال الاختيار الجيد والتوليفه الجيدة formulation لملونات

معينة واختيار المراحل المناسبة أثناء تجهيز التوليفة وخطوات التصنيع التى يتم فيها إضافة الملونات أو غيرها من المكونات وكذلك الرقابة control والملاحظة أثناء التصنيع وشروط التخزين الجيد فإنه يمكن الوصول إلى منتجات عالية القيمة الاقتصادية إن المجالات التى تستعمل فيها الانثوسيانينات وغيرها من الصبغات الطبيعية ـ متعددة وعلى سبيل المثال لا الحصر فى الحلويات (الكاندى) مستحضرات الفاكهة ـ مسحوق المشروبات الجافة (أقراص) القشدة ـ المثلجات، تستعمل الانتوسيانينات فى الأطعمة عالية الحموضة بنجاح مثل المشروبات الخفيفة والمربى والجلى ـ كما أنها تساعد فى عملية الإنضاج أثناء التخزين والتعتيق aging وفى الحالات التى تستعمل فيها الصبغات الأصلية بمفردها على أساس إنها المصدر الأساسى للتلوين فإن الحصول على مواد خام ذات ألوان غزيرة ضرورى للتأكد من أنه فى حالة تلف بعض هذه الصبغات أثناء التصنيع أو التخزين تكون هناك كميات إضافية كافية لتعويض الخسارة الناتجة من هذا المتلف عند تلوين المنتج باللون المطلوب.

فقدان اللون فى هذه المركبات (الفلافونويديه) راجع إلى التلوث بالمعادن (حديد) فمثلا الكاتيشول catechol ينتج لوناً أخضراً بينما البيرو جالول ينتج لوناً أزرقاً فى وجود الحديد. وعموما فإن الفلافونويدات فقيرة فى إظهار اللون ـ وفيما عدا كونها قد تكون مصدرا لإضعاف اللون فإن مساهمتها فى تلوين الأغذية بسيطة. ويختلف الوضع بالنسبة للانثوسيانينات خاصة إذا كانت قد تحولت إلى صورة oxonium فإنها تكون شديدة اللون.

ويتوقف اللون فى هذه الحالة على pH فكلما كانت عالية تزداد كمية المركبات الناتجه من التحول والتى تعمل على تخفيف اللون. ووجد أن تحلل الصبغة يتوقف على نسبة هذه المركبات فى الصبغة. وفى دراسة على المواد الملونة فى الفراولة إذا كانت على شكل مربى أو محفوظة أن هناك فقداً كبيراً فى الصبغة أثناء التصنيع ولكن المنتج يظل أحمرا حيث أنه تحت الظروف العادية تتمتع الفراوله بكمية كافية من الانثوسيانين تجعلها قادرة على فقد ٩٠ ٪ من الصبغة.

ووجد أنه إذا كانت درجة الحرارة منخفضة أثناء التصنيع فإنه يمكن المحافظة على (١٠٪) من اللون. بعض أنواع الفاكهة مثل الفراولة والكريز والعنب والبرقوق الارجوانى والاس وغيرها ذات ألوان حمراء إلى زرقاء أرجوانيه ـ وهذا يتوقف على عوامل ثلاثة (١) تركيز الانثوسيانينات ـ (٢) نوع الانثوسيانين (٣) تأثير الصبغات المصاحبه وعموما فإن غزارة اللون ما هو إلا انعكاس لتركيز الصبغة ففى بعض أنواع البرتقال (أبو دمه) وجد أن التركيز ضعيف (٠,١٪) وفى أنواع أخرى (١,٥٪) حيث كان اللون فى هذه الحالة الأخيرة غزيراً ـ وهذا يرجع إلى التركيز كذلك فإن نوعية الانثوسيانين له تأثير على تدريج اللون كما هو الحال فى نبات الجيرانيوم القرمزى والورد الأحمر ونبات العائق.

والألوان الزرقاء الموجودة فى الطبيعة (نبات العائق والقنطريون) تدوم إذا استخلصت الصبغة بواسطة أحماض مخففة. اللون الأزرق فى الأجزاء الحية مرجعه قدرة بعض المركبات الموجودة فى العصير الخلوى لتكوين معقدات عند درجة pH العصير الخلوى، وهذه المركبات تتحلل بسرعة عند الاستخلاص مما يعمل على إظهار الكائون.

*** الانثوسيانينات الحمراء فى الطب:**

تكثر علل القلب لدى الفرد الأمريكى عن الفرد الفرنسى ـ حيث أن الأخير يتعاطى أضعاف الفرد الأمريكى من المشروبات الكحولية (الفرنسى يتعاطى ٨٠ لتر والامريكى ٨ لتر فى العام) من العنب الأحمر ـ وكذلك فإن الفرنسى لايتعرض كثيرا لانسداد الشرايين مع أن الجبن الفرنسى وتقانق الكبد تحتوى على كمية من الدهن أكثر من اللحم الأحمر الأمريكى ووجد أن العنب الأحمر يحتوى على فلافونويدات فينولية تعمل كعامل مضاد للأكسدة حيث أنها تقتنص شطر O_2. ووجد فى المعمل أن مركبات العنب الأحمر تحتوى على resveratol epicatechin, quercitin التى تعمل على حماية LDL - cholestrin ويكفى كوبان من عصير العنب الأحمر يوميا لحصول المرء على نصف الكمية المطلوبة من الفلافونويدات.