

الانثوسيانينات والبيتالينات

تنتشر الانثوسيانينات فى النباتات بصورة كبيرة وهى المتسببة عن ألوانها الزرقاء - الأرجوانى - الأزرق - الماجنتا magenta الأحمر - البرتقالى بينما البيتاينات تتسبب فى ظهور ألوان حمراء بنفسجية فى بيتاسيانينات beta cyanin وألوان صفراء - برتقالية فى البيتاكسانثينات betaxanthin وهى على سبيل الحصر توجد فى فصائل رتبة القرنفليات وفى أزهار نبات القطن وأزهار أصعب 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، (O₂) والانزيمات وتفاعلات التكثيف condensation وقد وجد فى نبات Hydrangea أفراد ذات أزهار حمراء وردية rosso - red - وهذه الظاهرة تكون أوضح فى تربة مضافة إليها أملاح ألومنيوم فى صورة كبريتات وهذه العوامل بالإضافة إلى تنوع تركيب الانثوسيانينات يجعل تحليلها الوصفى والكمى تشوبه بعض الصعوبات غير أن سرعة وسهولة استعمال HPLC فى الفصل الكمي للصبغات بدون إجراء عمليات تنقية أولية أدى إلى ثورة فى تحليل الصبغات ونسبة إلى خاصية عدم ثباتها المتأصلة فيها فإن هذه الصبغات، وعلى الأخص البيتاينات 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 استعمالها كملونات طبيعية يبشر بالكثير والانثوسيانينات والبيتالينات تكاد تكون مقصورة على أنواع العنب المختلفة وعلى النبج حيث يمكن استعمالها مع تشكيلة من الأطعمة والصيدلانيات 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 الميكروبيولوجية والحيوية التى يمكن من خلالها الحصول على مستحضرات 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 - ومع ذلك فإن اللون قد لا يكون متاحا لسبب الظروف البيئية السائدة التى لاتشجع على ثباتها أو حتى تشييدها - أو - ربما - 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 - لم تتأكد الوظائف الفسيولوجية لهذه الصبغات فى النبات بالدرجة الكافية - ومع ذلك فإن فوائدها عديدة فهى تقوم بدور كبير فى عملية التلقيح بألوانها الجذابة للحشرات والطيور والحيوان مما يؤدي إلى تكاثر هذه النباتات والإبقاء عليها من الفناء ووجودها فى الساق والأجزاء الأرضية يكتنفها بعض الغموض - كما أن تراكمها فى أماكن الجروح والإصابات فى النباتات التى تشييدها - عادة ما تشير إلى وظائف كمواد نباتية مهلكة 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 - وربما يرجع سبب هذا إلى عدم ثباتها المتأصل فيها وكنتيجة لشدة تأثرها بالوسط الحامضى أو القلوى

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

البناء الكيماوى:

تعتبر الانثوسيانينات مركبات فلافونويدية حيث أنها تتميز بأن تركيبها الكيماوى يحتوى على ١٥ ذره كربون $C_6 C_3 C_6$ - وكذلك منشأها التشييدى الحيوى يشابه الفلافونويدات الطبيعية - درجة الخلاف أن هذه الصبغات لها قوة امتصاص طبيعية عالية فى الضوء المرأى - 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 جلو كوزيدات عدد ١٦ انثوسيانيدات طبيعية مختلفة. وهذه عبارة عن مشتقات عديدة الهيدروكسيل والميتوكسيل Polyhydroxy, polymethoxy لأملاح مركب الفلافيليوم (شكل ٥) ويعتبر سكر الجلوكوز أهم شطر جلو كوزيدى شائع بالإضافة إلى بعض السكاكر الأخرى الأحادية (رامنوز - جالاكتوز - زيلوز - اراينوز) 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 - ٢,٥ - 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 بالتدرج ينتج لون بنفسجي (خليط من أحمر أو أزرق نبات Centaurea - cyanus يكون اللون أزرقا بسبب وجود معقد الانثوسيانين مع المعدن في وسط حامضي).

توزيع الانثوسيانينات:

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

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

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

التشييد الحيوي في الانثوسيانينات:

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

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

ويقترح البعض أن تتمركز 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 الانثوسيانينات 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 مخليبات معينه وغيرها من المركبات.

* العوامل المؤثرة على الانثوسيانينات وثبات اللون:

لا تشد الانثوسيانينات عن غيرها من الملونات الطبيعية فى عدم الثبات الموروث فيها - وعموما فهى أكثر ثباتا تحت ظروف حامضية وكذلك قد تتحلل تحت تأثير عدة ميكانيكيات محتمله - لتكوين مركبات غير ملونه مبدئيا ثم ذات لون بنى قد لا يذوب 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 الهدر لكسه في الاجلوكون كلما قلت درجة ثبات الانثوسيانين بينما العكس صحيح هذا إذا زادت درجة الاستعاضة بواسطة (OME). واستعاضة مجموعة - OH - الحرة بالسكر glycosylation تزيد من ثبات الانثوسيانين مثل ما يحدث 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. وتعرض الانثوسيانينات في الوسط المائي لعدة تحولات في ثباتها الكيماوى ويتوقف هذا على pH فإذا كانت هذه متعادلة أو حامضية ضئيلة فإن الانثوسيانينات تتواجد في الغالب في صورة غير ملونة - ومع ذلك فإن ثبات لونها على الأخص - القاعدة الكينونويدية 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 - والصبغات التي 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 - وكلما زاد عدد مجموعات الاسيل ازداد اللون - وعليه فإنه يلزم على الأقل وجود عدد ٢ مجموعة اسيل للمحافظة على ثبات اللون في الوسط المتعادل أو خفيف الحموضة - 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 التي 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 يمكن استغلال كافة الصور للاسيالات العديدة polyacylatad أو استغلال الصبغات المصاحبة للانثوسيانينات co-pigments

تأثير الحرارة:

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

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

تأثير (O_2)، (O_2H_2):

وجد أن الحرارة، (O_2) من أهم العوامل التى تسرع في هدم الانثوسيانينات. وفعل الأوكسدة بواسطة (O_2) قد يكون مباشراً أو غير مباشر في هذا الهدم - وتفقد الانثوسيانينات ألوانها بفعل حامض الاستقربوط بالأوكسدة الغير مباشرة بواسطة (O_2H_2) الذى يتكون أثناء الأوكسدة 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. hydroxyl 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 - وقد قسمت هذه الأنزيمات إلى مجموعتين حسب نشاطها:

١ - جليكوز يديزات وهذه تحلّمى 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 - اكسيديزات بوليفينولية (PPO) polyphenolic - oxidase وهذه تؤثر فى الانثوسيانينات فى وجود o-diphenols 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 الأسود blackberry - 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 في مشاكل إذا كان الغرض هو أطول مدة لبقاء الانثوسيانينات وفي هذه الحالة يفضل السلق المبدئي بالبخار قبل أو عند التصنيع أو التخزين أو الحفظ في محلول مركز (أكثر من ٢٠٪) من السكر لإبطال مفعول هذه الإنزيمات في الفواكه. ولإبطال مفعول PPO يمكن استعمال (SO₂) 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 الجالوتانينات gallotanins تعمل على تثبيت اللون من خلال التصنيع المصاحب حيث أنها تكون معقدات مع الانثوسيانينات عن طريق تفاعلات غير محبة للماء.

NUCLEOPHYLIC - AGENTS:

تتعرض الانثوسيانينات المحتوية أو غير المحتوية على مجموعة اسيل على الأخص لفعل هذه العوامل في موضعي c-2، c-4 - ومن هذه العوامل الأحماض الأمينية والفينولات - الكاتشين catechin، الفلوروجلويسينول phloroglucinol التي تعمل على اختفاء لون الانثوسيانينات. ومركب (SO₂) الذي يستعمل بكثرة في المشروبات الروحية ويستعمل كعامل مانع للفساد وينتج عنه مركبات إضافية adducts عديمة اللون - وهذا التفاعل عكسي - وفي هذه الحالة يمكن ضبط PH على درجة ١ (حموضة) للمحافظة على اللون (يتكون مركب معقد بيكبريتت الانثوسيانين) - وهذا المركب ثابت وخطر الكبريت يفترض فيه أنه يثبط الرابطة الجلوكوزيدية في C-3 وبالتالي يحول دون تحلمؤها ومايتبع ذلك من تكوين نواتج الهدم البنية اللون لذا يحتاط من زيادة SO₂ عن المطلوب حيث أن الدراسات أوضحت أن الكميات الضئيلة من SO₂ تكفي لقصر اللون في كميات كبيرة من الانثوسيانينات، وقد أوضحت الدراسات أن مفعول هذه العوامل ينعدم إذا وجدت مركبات بها استعاضة في C-4 بإدخال شطر الميثايل أو الفينايل في الاستعاضة لتثبيت الانثوسيانين التي يمكن عندئذ استعمالها في المواد الغذائية - حتى الآن لم يعثر إلا على مصدر واحد

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

أنواع السكر ونواتج تحللها:

تعمل تركيزات السكر (فوق ٢٠٪) أو الشرابات المستعملة فى حفظ الفواكه أو فى منتجات الفاكهة على حماية اللون فى الانثوسيانين - ربما لأنها تعمل على خفض درجة مفعول النشاط المائى وتخفيض هذه الدرجة يصاحبه خفض فى درجة تحللها. والانثوسيانينات المحففة فى صورة مسحوق (درجة نشاط مائى) (٣,٢) ثابتة نسبيا فى درجة حرارة الغرفة لعدة أعوام شريطة أن تحفظ فى أوعية محكمة القفل. وما 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 الفاكهة وسكر اللبن والارابنبيور والسريوز sorbose أكبر من درجة فعالية التحلل المتسببة 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 ولا تغفل عن فعل (O_2) الذى يساعد على تحلل السكر أو مشتقات السكر.

نصيغات المصاحبة:

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

مرتبطة - أيونيا بالأحماض العضوية الاليفاتية مثل أحماض المالمونيك - المالميك - أو الخل - وهذه الاتحادات أو التفاعلات البينية interaction ينشأ عنها تثبيت للألوان في الخلايا الحية - والامتصاص الفيزيائي لكاتيون (flavylium) الفلافيليوم أو امتصاص قاعد الكينوتويدات المتعادلة أو الأيونية) على سطح مناسب يمكن أن يكون وسيلة لتثبيت حوامل اللون بانتزاعها من المحلول الأم، وبالتالي تمنع الخسارة في اللون المتسببة من هذه التفاعلات الرطبة (hydrated) ومن المحتمل أن يكون ثبات الانثوسيانين مع البكتين ناتج من هذا التفاعل - وهذا يفسر الثبات الفائق لمستخلص الانثوسيانين المتحصل عليها من أزهار نبات *Clethra ternata* المستعمل في تلوين عجائن الأرز في آسيا - وهذا الثبات يعزى إلى امتصاص خواص اللون على النشا الموجود في الأرز الجلوتيني (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 طبيعي بين الجزيئات intermolecular co-pigmentation.

معظم هذه المركبات عديمة اللون - ولكنها عندما تتعقد مع الانثوسيانين فإنها تعمل على غزارة اللون في حوامل الألوان. إذا كان تركيز الصبغة عاليا نسبيا فإن الانثوسيانينات نفسها قد تعمل عمل الصبغة المصاحبة وتساهم في 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 في العنب منخفضا فإن إضافة الروتين rutin كصبغة مصاحبة تعمل على تقوية اللون - ولكن هذا اللون تقل غزارته بازدياد تركيز الانثوسيانين. تأثير الصبغات المصاحبة سواء كان التفاعل داخل الجزيء نفسه intramolecular أو بين الجزيئات intermolecular إنما يعزى إليه أولا التلوين في أنسجة الأزهار والثمار، وكذلك في عصير الفواكه حيث أن الانثوسيانين بمفرده عمليا عديم اللون في درجة pH هذه المنتجات.

وتقليل غزارة اللون فى العصائر المحضرة من عجائن الفواكه المعاملة بالانزيمات عن تلك العصائر المحضرة بطريقة العصر بدون معاملات انزيمية هو أن عدم تفصص (عدم تجزئة) مكونات الحلية المتعددة (قلويدات - فلافونويدات - 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 التشبيد الحيوى. والفلافونويدات عديدة التردد والانثوسيانينات تلعب دوراً هاماً فى تلوين الأعناب وعصائرها.

كما أن المواد القابضة (فلافونويدات مركزة) لها تأثير وقائى على الانثوسيانينات ويوجد عدد قليل من المواد المثبتة للألوان فى الانثوسيانينات - ولكن المستعمل منها - عمليا - قليل - منها quercetin propyl - gallate, thiourea وكذلك cystein وهذا يستعمل فى بعض أنواع العنب على درجة حرارة أقل من ٧٥°م 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 السطحي-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 وتنقيه الانثوسيانينات على الغرض المطلوب من

الاستخلاص على طبيعة المصدر الطبيعي. فإذا كان الغرض هو الدراسة التحليلية مباشرة (كما ونوعا) فإنه يفضل اختيار الطريقة التي بموجبها يمكن المحافظة على الصبغات بحالتها الطبيعية قدر الإمكان (أى كما لو كانت فى الخلية النباتية). أما إذا كان المطلوب من الاستخلاص هو الاستعمال التطبيقي 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 وضياح 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 - لذا - عموما - تجرى عملية الاستخلاص بواسطة مذيب عضوى حامضى يستطيع أن يهتك أغشية الخلية النباتية، وبالتالي تحرير الصبغة القابلة للذوبان فى الماء.

توجد خطوات عامه معروفة - ميكانيكية - قبل استعمال المذيب لتجهيز العينة للاستخلاص (التنظيف - طريقة التعبئة فى جهاز الاستخلاص). إن المذيبات المستعملة - عادة الكحولات المحتوية على نسبة بسيطة من الأحماض المعدنية ($\geq 1\% \text{ HCl}$) ويلاحظ أن كحول الميثانول يحتوى على درجة سمية - لذا يستعمل كحول الايثايل (ولكنه أكثر تكلفة). وقد تستعمل أحماض اليقاتية ضعيفة (التمليل - خليك - ليمونيك - ترترك) 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 لاحتوى على مجموعة الهيدروكسيل mon - hydroxy مثل الاثير - الاستون - الكلوروفوم - 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 خلاص الرصاص ومحلول هيدوكسيل الألومنيوم، ويلي ذلك غسيل الراسب بمحلول الايثانول (٨٠٪) ثم فصل الراسب بواسطة الطرد

المركزي بعد ذلك يذاب الراسب في (ن. بوتانول) مع Hcl وفصل الشوائب بأثير البترول ثم إجراء تحليل مائي للطبقة المائية بواسطة 2N Hcl لوضع دقائق لتحويل الصبغات المعقدة التركيب إلى أشكالها البسيطة من الانثوسيانينات التي يتم تركيزها باستخلاصها بواسطة كحول ايزواميل isoamyl - عند استعمال الفصل اللوني العمودي تغسل الشوائب باذابتها في محلول مائي من كحول الميثايل المضاف إليه آثار من Hcl .

التنقية:

تجرى التنقية لأغراض التحليل بواسطة الفصل اللوني واهمها الفصل الورقي - والأفضل استعمال HPLC أو الفصل العمودي أو الفصل بالتبادل الأيوني باستعمال الراتنجات .

توجد الانثوسيانينات في منتجات الفاكهة المجهزة أو المخزونة بصورة متعددة التردد جزئياً مما يزيد في صعوبة تقديرها ووجود انثوسيانينات معينة قد يستخدم في الكشف عن غش عصير فاكهة ما بعصائر أخرى، وذلك لاحتواء الأخيرة على مضمون صبغى يساعد في الكشف عن العصير الحقيقي authentic ولا يقتصر تقدير الانثوسيانينات وصفيًا بل يمكن في بعض الحالات تقدير الكمية المضافة. وأحياناً يصعب التفرقة بين الانثوسيانينات المضافة وتلك الموجودة أصلاً في العينة intrinsic .

الاستعمال والمصادر الحالية والمستقبلية:

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

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

زراعة الأنسجة - التقنية الحيوية:

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

معينة واختيار المراحل المناسبة أثناء تجهيز التوليفة وخطوات التصنيع التي 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 التي تستعمل فيها الانثوسيانينات وغيرها من الصبغات الطبيعية - متعددة وعلى سبيل المثال لا الحصر في الحلويات (الكاندى) مستحضرات الفاكهة - مسحوق المشروبات الجافة (أقراص) القشدة - المثلجات، تستعمل الانثوسيانينات في الأطعمة عالية الحموضة بنجاح مثل المشروبات الخفيفة والمربى والجللى - كما أنها تساعد في عملية الإنضاج أثناء التخزين والتعتيق aging وفي الحالات التي تستعمل فيها الصبغات الأصلية بمفردها على أساس إنها المصدر الأساسى للتلوين فإن الحصول على مواد نجام 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 المثلّف عند تلوين المنتج باللون المطلوب.

فقدان اللون فى هذه المركبات (الفلافونويدية) راجع إلى التلوث بالمعادن (حديد) فمثلا الكاتيشول catechol ينتج لوناً أخضراً بينما البيرو جالول ينتج لوناً أزرقاً فى وجود الحديد. وعموماً فإن الفلافونويدات فقيرة فى إظهار اللون - وفيما عدا كونها قد تكون مصدراً 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 الناتجة من التحول والتي 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 أحمر حيث أنه تحت الظروف العادية تتمتع الفراولة 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 الارجواني والاس وغيرها ذات ألوان حمراء إلى زرقاء أرجوانية - وهذا يتوقف على عوامل ثلاثة (١) تركيز الانثوسيانينات - (٢) نوع الانثوسيانين (٣) تأثير الصبغات المصاحبه وعموما فإن غزارة اللون ما هو إلا انعكاس لتركيز الصبغة ففي بعض أنواع البرتقال (أبو دمه) وجد أن التركيز ضعيف (١,٠٪) وفي أنواع أخرى (١,٥٪) حيث كان اللون في هذه الحالة الأخيرة غزيراً - وهذا يرجع إلى التركيز كذلك فإن نوعية الانثوسيانين له تأثير على تدرج اللون كما هو الحال في نبات الجيرانيوم القرمزي والورد الأحمر ونبات العائق.

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

* الانثوسيانينات الحمراء في الطب:

تكثرت علة القلب لدى الفرد الأمريكي عن الفرد الفرنسي - حيث أن الأخير يتعاطى أضعاف الفرد الأمريكي من المشروبات الكحولية (الفرنسي يتعاطى ٨٠ لتر والامريكي ٨ لتر في العام) من العنب الأحمر - وكذلك فإن الفرنسي لا يتعرض كثيرا لانسداد الشرايين مع أن الجبن الفرنسي وتفانق الكبد تحتوي على كمية من الدهن أكثر من اللحم الأحمر الأمريكي ووجد أن العنب الأحمر يحتوي على فلافونويدات فينولية تعمل كعامل مضاد للأكسدة حيث أنها تقتنص شطر O_2 . ووجد في المعمل أن مركبات العنب الأحمر تحتوي على, resveratol epicatechin, quercitin التي تعمل على حماية LDL - cholestrin ويكفي كوبان من عصير العنب الأحمر يوميا لحصول المرء على نصف الكمية المطلوبة من الفلافونويدات.