

Изобретение относится к сельскому хозяйству, в частности к селекции растений, и может быть использовано для диагностики плодов томата на содержание α -томатина.

Известен экстракционно-фотометрический метод определения содержания α -томатина в различных органах растения томата: в корнях, стеблях, листьях, цветках и плодах, включающий его экстракцию уксусной кислотой, окрашивание метилоранжем и установление концентрации веществ с помощью спектрофотометрирования [Ан-дрющенко В.К. Методы оптимизации биохимической селекции овощных культур. Кишинев, 1981, с.38].

Однако известный метод недостаточно точен для определения содержания α -томатина в плодах томата, так как в результате получают завышенные в несколько раз показатели. Это связано с образованием бурого-оранжевого комплекса метилоранжа с пигментами и/или их предшественниками.

В основу изобретения поставлена задача повышения точности определения содержания α -томатина в плодах томата различной степени спелости. Для этого в процессе химического анализа, включающего экстракцию α -томатина уксусной кислотой, его окрашивание метилоранжем и установление концентрации веществ спектрофотометрированием, из экстракта на плотный фильтр осаждают α -томатин концентрированным раствором аммиака при кислотности, равной pH 9,0-10,0, с последующим переводом концентрата в раствор уксусной кислоты.

Введение концентрированного раствора аммиака при кислотности, равной pH 9,0-10,0, приводит к осаждению α -томатина, что позволяет избавиться от сопутствующих пигментов, приводящих к завышению показателей содержания α -томатина, т.е. выделить томатин в чистом виде и определить истинное его содержание в плодах.

Способ осуществляется следующим образом.

Навеску 0,5 г измельченного растительного материала помещают в коническую колбу емкостью 50 мл, заливают 25 мл 5%-ного раствора уксусной кислоты и выдерживают в течение 17 ч при комнатной температуре. Затем экстрагируют на песочной бане с обратным холодильником в течение 1 ч от начала кипения, фильтруют в мерные колбы емкостью 25 мл и доводят до метки 5%-ным раствором уксусной кислоты, используемой для ополаскивания конической колбы. Фильтрат переносят в коническую колбу емкостью 50 мл для удаления пигментов осаждают α -томатин концентрированным раствором аммиака при pH 9,0-10,0 (по лакмусной бумажке). Осаждение томатинового комплекса проводится в течение 16-20 ч. Осадок переносят на плотный фильтр (например, фильтровальная бумага с черной полоской или хроматографическая бумага для медленной разгонки), который помещают в стакан емкостью 250-300 мл, и смывают 25 мл 5%-ной уксусной кислоты путем перемешивания фильтра в растворе стеклянной палочкой и фильтруют. Затем 20 мл фильтрата помещают в коническую колбу емкостью 50 мл, приливают 3 мл концентрированной соляной кислоты (1-1,123). В течение 30 мин проводят гидролиз на песочной бане с обратным холодильником. Содержимое колбы охлаждают, доводят pH раствора до 3,0 сначала 50%-ным раствором (до показания pH 2,5), затем 1 %-ным раствором едкого натра (pH раствора проверяют на pH-метре), приливают 2-3 мл 0,5%-ного водного раствора метилоранжа, после чего колбу встряхивают в течение 1 мин. Содержимое колбы переносят в делительную воронку, ополаскивая колбу хлороформом. Образовавшийся комплекс агликона с метилоранжем экстрагируют хлороформом. Хлороформные экстракты собирают в мерную колбу емкостью 25 мл, доводят до метки хлороформом и фильтруют через бумажный фильтр. Величину оптической плотности измеряют на фотоэлектроколориметре или спектрофотометре (кювета - 10 мм, синий светофильтр), который предварительно настраивают на нулевое положение подготовленным холостым раствором.

Для получения холостого раствора 25 мл 5%-ного раствора уксусной кислоты в течение 1 ч кипятят на песочной бане. Затем к 2 мл раствора приливают 1,5 мл концентрированной соляной кислоты и кипятят 30 мин на песочной бане. Раствор охлаждают, доводят pH до 3,0 и добавляют 3 мл водного раствора метилоранжа, затем экстрагируют хлороформом в мерную колбу емкостью 25 мл.

Расчет производят по формуле

$$X = \frac{a \cdot v_1 \cdot v_3 \cdot 100 \cdot 2,22 \cdot 1,26}{v_2 \cdot q \cdot 1000},$$

где X - количество α -томатина, %;

a - количество томатида, найденное по графику, мг;

v_1 - объем уксуснокислого экстракта, мл;

v_2 - объем уксуснокислого экстракта, взятого для гидролиза, мл;

v_3 - объем хлороформного окрашенного раствора, мл;

q - навеска растительного материала, г;

2,22 - коэффициент пересчета томатида в α -томатин;

1,26 - поправочный коэффициент на потери α -томатина при извлечении его в виде комплекса с аммиаком.

Для построения калибровочного графика навеску томатида в количестве 0,05 г растворяют хлороформом в мерной колбе емкостью 50 мл. Затем в делительные воронки вносят по 0,1-0,6 мл приготовленного раствора томатида и по 2-3 мл 0,05%-ного водного раствора метилоранжа, pH смеси доводят до 3,0 буфером (на 500 мл берут 10,5 г лимонной кислоты и 17,8 г натрия фосфорнокислого двузамещенного водного, доводят до метки дистиллированной водой). Образовавшееся окрашенное соединение экстрагируют хлороформом порциями по 5 мл. Хлороформные экстракты собирают в мерную колбу емкостью 25 мл и доводят до метки хлороформом. Оптическую плотность окрашенных растворов измеряют на фотоэлектроколориметре. Раствором сравнения служит хлороформ.

Предложенным методом проверена эффективность выявления определенных количеств α -томатина из уксуснокислых растворов чистого реактива α -томатина (табл.1). Метод позволяет на 80% улавливать введенный в раствор α -томатин.

Учитывая установленную погрешность, в формулу вычисления содержания α -томатина в растительном материале нами введен поправочный коэффициент, равный 1,26.

Сравнительная характеристика двух методов показала, что экстракционно-фотометрический метод Тукало (в модификации) завышает содержание α -томатина в плодах молочной спелости в 2,0-3,6 раза, бурой - в 2,0-4,1, красной - в 4,1-6,2 раза (табл.2). Это связано с образованием буро-оранжевого комплекса метилоранжа с пигментами и/или их предшественниками. Удаление пигментов при осаждении α -томатина аммиаком приводит при добавлении метилоранжа к окрашиванию хлороформного экстракта в золотисто-соломенный цвет, что указывает на наличие α -томатина в растворе. При этом хлороформные экстракты из зрелых плодов томата имели те же максимумы поглощения, что и раствор чистого α -томатина.

Таблица 1

Эффективность обнаружения α -томатина предложенным методом

Количество α -томатина, мг		Относительная доля обнаруженного α -томатина, $\Delta\%$
взятого для обнаружения	обнаруженного	
1,0	0,817 \pm 0,013	81,7 \pm 1,3
2,0	1,579 \pm 0,030	78,9 \pm 3,0
3,0	2,350 \pm 0,037	78,3 \pm 3,7

Таблица 2

Содержание α -томатина в плодах томата трех степеней спелости при определении разными методами

Название сорта	Содержание α -томатина в плодах, мг/100 г сырого вещества					
	молочных		бурых		красных	
	по методу Тукало (модифицированному)	по предлагаемому методу	по методу Тукало (модифицированному)	по предлагаемому методу	по методу Тукало (модифицированному)	по предлагаемому методу
Призер	28,4	14,6	30,2	9,9	27,4	5,1
Нистру	21,7	6,6	20,3	4,9	17,8	3,0
Сюрприз 540	19,2	7,0	15,8	5,5	16,0	3,9
Радуга Молдовы	18,1	5,3	14,5	3,8	16,5	2,9
VF-134	23,1	9,2	19,7	6,6	19,2	3,1
Викторина	17,2	6,9	19,0	5,1	17,2	4,0
Факел	19,2	6,9	17,5	4,8	20,0	3,3
Меридиан	20,6	5,7	18,9	6,2	25,3	5,7
Новелла	18,9	9,5	19,5	5,2	21,4	4,7
Колджей	19,7	7,7	15,6	4,6	19,6	4,6
Rew-3-79	31,1	15,6	25,7	10,1	22,2	4,6