

Д. И. САПОЖНИКОВ

**НОВЫЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ КСАНТОФИЛЛА**

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 9 IV 1948)

В предыдущей работе (1) нами был предложен новый метод выделения и количественного определения каротина. Сущность этого метода состоит в том, что навеска свежего материала (лист, корень) тщательно растирается с прокаленным серноокислым натром, и полученный порошок обрабатывается несколько раз бензином до полного извлечения каротина. В оставшемся порошке содержатся оба хлорофилла и ксантофилл.

Для количественного определения ксантофилла мы разработали следующий дальнейший ход анализа. Остаток после растирания с бензином обрабатывается несколько раз смесью спирта с ацетоном (в отношении 1:3). Такая обработка приводит к переходу хлорофиллов и ксантофилла в раствор. Измеряем объем полученной декантации зеленой вытяжки и определяем количество хлорофилла (a + b) по методу, описанному нами в 1941 г. (2). Этот метод основан на измерении ширины полосы поглощения хлорофилла.

После определения количества хлорофилла приступаем к выделению ксантофилла. Основной трудностью, с которой мы встречаемся, желая выделить каким-либо из имеющихся способов ксантофилл, является одновременное наличие в растворе обоих желтых пигментов.

Таблица 1

Объект	Навеска в г	Количество ксантофилла в мг на г све- жего веса	Объект	Навеска в г	Количество ксантофилла в мг на г све- жего веса
Примула (листья)	0,250	0,154	Пшеница (молодые проростки)	0,300	0,076
	0,217	0,151		0,286	0,071
	0,235	0,156		0,286	0,069*
	0,300	0,155			
	Среднее 0,154			<b>Среднее 0,072</b>	
Цинерария (листья)	0,200	0,172	Овес (молодые проростки)	0,305	0,081
	0,210	0,170		0,286	0,083
	0,290	0,175		0,300	0,081
	Среднее 0,172			Среднее 0,081	

\* Несовпадение данных в случае молодых проростков пшеницы объясняется тем, что в навеску брались листья с колосоптилями.

В нашем методе мы избегаем этой трудности благодаря предварительному отделению каротина, т. е. до перевода остальных пигментов в раствор.

Вышеупомянутый раствор пигментов в спиртовом ацетоне выливается в сухую колбочку, в которую затем опускается небольшой кусочек (около 1 г) твердой щелочи (KOH). Время от времени встряхивая колбочку, проводим омыление хлорофиллов в течение 15—20 мин. По прошествии 20 мин. в колбочку прибавляется 5—7 мл бензина и производится легкое встряхивание. Полученная смесь сливается в делительную воронку. Колбочка снова ополаскивается 2—3 мл бензина, который также сливается в делительную воронку. Затем в делительную воронку из промывалки наливается 1—2 мл воды, и производится сильное встряхивание. При этом происходит расслоение смеси на два слоя. Нижний водно-спиртово-ацетоновый содержит зеленые хлорофиллиды, а верхний бензиновый содержит ксантофилл. Для более полного извлечения ксантофилла прибавляют в делительную воронку

Таблица 2

Навеска в г	Каротин в мг/г	Ксантофилл в мг/г
0,500	0,095	0,0052
0,500	0,083	0,0050
0,480	0,084	0,0053

еще 2—3 мл воды и снова встряхивают. Эту операцию повторяют 2—3 раза. После того как произойдет расслоение (благодаря употреблению спиртового ацетона мы избегаем образования стойких эмульсий, которые приводят к потерям пигмента), сливают нижний слой из делительной воронки, а ксантофилл остается в бензине.

Затем следует слить бензиновый раствор ксантофилла и измерить его объем. В случае, если раствор получается мутный, прибавляют 1—2 мл спирта, и раствор становится прозрачным. Прозрачный бензиновый раствор анализируется в колориметре Дюбоска. В качестве стандартного раствора служит раствор 14,5 мг азобензола в 100 мл этилового спирта. 1 мл такого раствора соответствует 0,00252 мг ксантофилла.

В табл. 1 сведены данные некоторых наших опытов, проделанных этим методом и показывающих достаточную степень точности метода.

Для того чтобы испытать чувствительность метода, мы в табл. 2 приводим данные анализов каротина и ксантофилла в корнях моркови.

Как видно из табл. 2, метод оказывается достаточно чувствительным для того, чтобы обнаружить малые количества ксантофилла в присутствии значительных количеств каротина.

Преимущества метода. 1. Предлагаемый метод имеет то преимущество перед другими (3), что при отделении хлорофиллидов не образуется эмульсии.

2. Метод не требует таких растворителей, как эфир и метиловый спирт. Полный анализ фитохромов пластиды может быть произведен по этому способу при помощи недефицитных растворителей, как ацетон, этиловый спирт и бензин.

Приношу благодарность проф. В. А. Бриллиант за неизменное внимание, проявленное ею к этой работе.

Лаборатория им. В. Н. Любименко  
Ботанического института им. В. Л. Комарова  
Академии Наук СССР

Поступило  
9 IV 1948

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>2</sup> Д. И. Сапожников, ДАН, 60, № 6 (1948). <sup>3</sup> Д. И. Сапожников, ДАН, 32, № 5 (1941). <sup>3</sup> R. Willstätter u. A. Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll, 1913.