

# 葡萄果皮色素提取条件的研究

王春荣, 韩翔, 刘璇, 贾毛毛, 李小民

(河南科技大学 林学院, 河南 洛阳 471003)

**摘要:**以巨峰葡萄品种为试材,对葡萄果皮中色素的提取条件进行了探讨。结果表明:70%乙醇+0.5%柠檬酸(体积比5:1)提取葡萄果皮色素的效率最高,其次是80%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1);以70%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1)为提取液,葡萄果皮质量与提取液的料液比宜为1:10(g/mL),最适宜温度为65℃,最佳提取时间为90 min,提取最适pH 2.0。

**关键词:**葡萄果皮;色素;溶剂法;提取条件

**中图分类号:**S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)01-0075-03

色素是食品中的重要添加剂,随着人类对合成色素毒性认识的深入和对天然绿色食品的渴求,天然色素的需求量日益增大<sup>[1]</sup>。而葡萄果皮色素是一种天然生物色素,不仅安全无毒且具有降低肝脏及血清中脂肪含量、抗氧化、抗肿瘤等一系列效用<sup>[2]</sup>,被大量用于食品业中;也可利用其具备的生理活性功能开发出相应的保健品。而在酿制葡萄酒和加工果汁饮料时,葡萄果皮色素绝大部分仍存在于葡萄皮废渣中。因此,提取天然葡萄果皮色素对充分利用葡萄果皮资源,生产天然色素具有良好的开发前景。然而葡萄果皮色素很容易色变,这大大降低了其应用价值。许多学者<sup>[3-5]</sup>已研究和报道了花色素的提取条件和影响其稳定性的因素,但是其研究尚不够全面。该试验在前人研究的基础上,利用栽培面积

较广的巨峰葡萄进行较系统的研究,以期对天然色素的开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

取巨峰葡萄果实(由市场购买)洗净,60℃烘干,粉碎后过80目筛,所得葡萄皮粉末置于冰箱中冷藏备用。

### 1.2 试验方法

1.2.1 提取液的确定 准确称取9份葡萄皮粉末1.0 g至离心管中,分别加入不同的提取液(处理1为70%乙醇;处理2为80%乙醇;处理3为90%乙醇;处理4为70%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1);处理5为80%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1);处理6为90%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1);处理7为丙酮;处理8为蒸馏水;处理9为无水乙醇),料液比为1:7(质量比体积,下同)(用1 mol/L的盐酸和0.5 mol/L的氢氧化钠调节pH值),于80℃恒温水浴箱中浸提1 h,每处理重复3次。速冷后,4 000 rpm离心15 min,冲洗1次,用原提取液定容到25 mL。将色素的不同提取液在500~635 nm范围内进行扫描测定最大吸收波长及各提取液的光谱特性。各提取液

第一作者简介:王春荣(1987-),女,在读本科,现主要从事园艺学方面的研究工作。E-mail: shangqiu5659@126.com。

基金项目:河南科技大学大学生研究训练计划资助项目(SRTP 2008100)。

收稿日期:2009-08-20

## Study on Strawberry of N Nutrition Diagnosis Using Chlorophyll Meter

XING Yu<sup>1</sup>, WANG Lian-jun<sup>1</sup>, MA Jun<sup>2</sup>

(1. College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin, Jilin 130118; 2. Yushu Urban Agriculture Station, Yushu, Jilin 130400)

**Abstract:** By using chlorophyll meter to diagnose strawberry N nutrition was probed by field experiment of six N level treatments. The results showed that there were significant linear positive relationships between SPAD readings and Nmin, nitrate concentration, total N content in plant. These showed that SPAD readings could be used to diagnosis N status of plants; to calculate the fields of strawberry flowering and maturity period of SPAD readings and the optimal and critical values were 47.53, 43.29 and 46.82, 44.15, and the N applying rate was 189.3 and 226.4 kg/hm<sup>2</sup>.

**Key words:** strawberry; chlorophyll meter; plant fast test; N nutrition diagnosis

的提取效率用花色素含量表示。葡萄果皮中花色素含量的计算参照张昭其等<sup>9</sup>的方法:花色素含量(mg/g)= $A \times V \times 1\ 000 \times 455.2 / 29\ 600 \times d \times m$ 。式中: A: 最大吸收波长处吸光度值; V: 定容体积(L); 1 000: g 换算成 mg 扩大的倍数; 455.2: 矢车菊素-3-葡萄糖苷的分子质量(g/mol); 29 600: 矢车菊素-3-葡萄糖苷的浓度比吸收系数(L · mol<sup>-1</sup> · cm<sup>-1</sup>); d: 比色杯光径(cm); m: 鲜质量(g)。

1.2.2 提取液用量的选择 准确称取 7 份葡萄皮粉末 1.0 g 至离心管中, 分别加入 70%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1)混合提取液 5、6、7、8、9、10、11 mL, 80℃恒温水浴箱中浸提 1 h, 每处理重复 3 次。速冷后, 4 000 rpm 离心 15 min, 冲洗 1 次, 用原提取液定容到 25 mL。测定在 530 nm 处的吸光光度值。

1.2.3 提取温度的选择 准确称取 9 份葡萄皮粉末 1.0 g 至离心管中, 分别加入 70%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1)混合提取液 10 mL, 分别在 55、60、65、70、75、80、85、90、95℃恒温水浴箱中浸提 1 h, 每处理重复 3 次。分离与测定方法同 1.2.2。

1.2.4 提取时间的选择 准确称取 9 份葡萄皮粉末 1.0 g 至离心管中, 分别加入 70%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1)混合提取液 10 mL, 分别在 65℃恒温水浴箱中浸提 20、30、40、50、60、70、80、90、100 min, 每处理重复 3 次。分离与测定方法同 1.2.2。

1.2.5 提取 pH 值的选择 准确称取 9 份葡萄皮粉末 1.0 g 至离心管中, 分别依次加入 pH 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 的 70%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1)混合提取液, 分别在 65℃恒温水浴箱中浸提 90 min, 每处理重复 3 次。速冷后, 4 000 rpm 离心 15 min, 冲洗 1 次, 用原提取液定容到 25 mL。根据需要对提取液稀释一定倍数后, 测定在 530 nm 处吸光光度值, 将 530 nm 下测得的 OD 值乘以稀释倍数, 即为不同 pH 值时提取液在 530 nm 处的吸光光度值。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取液的确定

由图 1 可以看出相同条件下, 用水和丙酮做提取剂的提取率较低; 在用不同浓度的乙醇作为提取剂的试验中发现, 使用 70%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1)混合液与 80%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1)混合液时提取率均较大, 从色素的不同提取液在 500~635 nm 范围内的扫描图可以看出提取液在 530 nm 左右有最大吸收峰。根据花色素光谱特性(可见光区的最大吸收波长在 500~540 nm), 说明巨峰葡萄果皮花色素属花色素类。该试验选取 70%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1)混合液作为提取液。

### 2.2 提取液用量的选择

由图 2 可知, 以 70%乙醇+0.5%柠檬酸(5:1)混合液作为提取液时, 料液比为 1:5 时吸光度较低, 料液

比为 1:10 时吸光度显著增大, 之后随着提取剂用量的增加吸光度变化缓慢, 所以, 葡萄果皮色素提取剂用量选择为 10 mL, 即葡萄果皮重(g)与提取剂用量(mL)之比为 1:10。

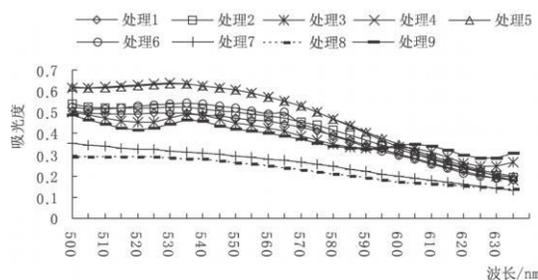


图 1 不同提取液在 500~635 nm 扫描范围内的吸收光谱

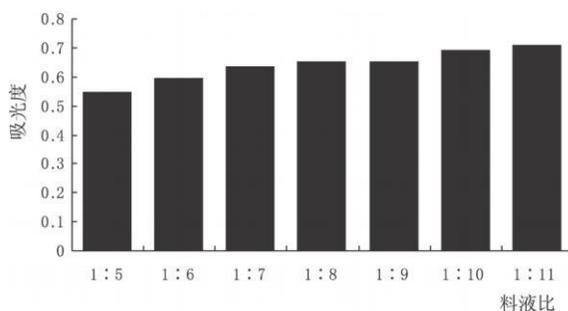


图 2 不同用量的提取液在 530 nm 处的吸光值

### 2.3 提取温度的选择

由图 3 可知, 葡萄果皮色素提取温度在 65℃时吸光度显著增大; 提取温度在 65~85℃时, 吸光度较高且变化不大; 提取温度在 85℃以后, 吸光度明显下降, 所以葡萄果皮色素提取温度以 65~85℃为宜。

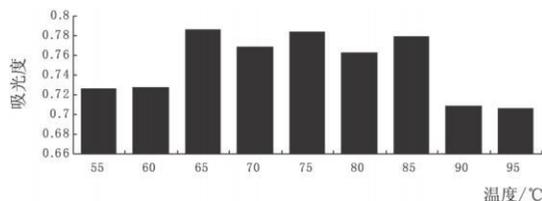


图 3 不同提取温度时提取液在 530 nm 处的吸光值

### 2.4 提取时间的选择

由图 4 可知, 葡萄果皮色素的提取时间在 70 min 以下时, 吸光光度值没有明显的变化, 葡萄果皮色素的提取时间为 80 min 时, 吸光光度值明显增大, 90 min 后开始下降, 说明提取达到一定的时间后, 提取效率随着时间的延长而降低。故最佳提取时间为 90 min。

### 2.5 pH 值的选择

由图 5 可知, 葡萄果皮色素提取 pH 2.0 时, 在

530 nm 处的吸光光度值最大, pH 3.0 以后吸光度迅速下降。故葡萄果皮色素提取 pH 值宜选 2.0。

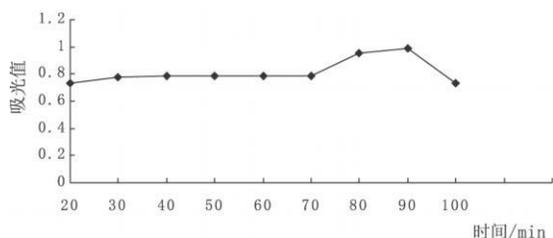


图 4 不同提取时间时在 530 nm 处的吸光值

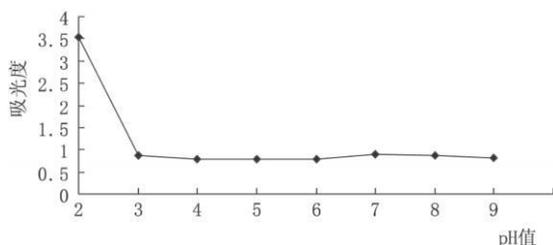


图 5 不同 pH 值时提取液在 530 nm 处的吸光值

### 3 讨论

由于花色素在中性和弱碱性溶液中不太稳定, 一般用水或者亲水有机溶剂乙醇、甲醇的酸性溶液进行提取, 提取液的酸度一般用盐酸调节, 也可用弱有机酸(柠檬酸等), 弱有机酸与强酸相比可以保持色素分子的原始结构<sup>[7]</sup>, 试验中选择乙醇与柠檬酸的混合液进行提取。

料液比为 1 : 5 时由于提取液量少, 不能完全浸没果皮粉末故而提取效率不高; 当料液比大于 1 : 10 时, 提取效率增加不明显, 从节约成本、提高利用率考虑, 葡萄果皮质量与提取液体积的比例宜为 1 : 10, 与杨夫臣<sup>[3]</sup>等的研究结果一致, 而与王战勇<sup>[1]</sup>等的研究结果不太一致, 可能与所选材料及提取液不同有关。

提取温度太低时, 相同时间内的提取效率低, 提取不完全; 温度太高时, 吸光光度值明显下降, 可能是葡萄果皮色素受热分解的缘故。试验表明, 在 65 ~ 85 °C 之间提取, 有较高的提取率。这一结果与王战勇<sup>[1]</sup>等的结果相差不大。

通常延长提取时间可使提取更彻底, 效果更好, 但时间太长, 可能使色素长时间受热, 发生分解, 故提取以 90 min 为宜, 与谢聘等<sup>[8]</sup>的试验结果相一致。

提取 pH 值对花色素的影响很大, 在强酸性介质中, 色素的提取率较高。而且试验中发现, 在酸性介质中, 色泽鲜艳、纯正。在中性介质和碱性介质中出现褐色, 可能是生成了其它物质。

### 4 结论

通过单因素水平试验, 探究了溶剂法提取葡萄果皮色素的工艺条件, 最终适宜参数为: 提取溶剂选用 70% 乙醇+0.5% 柠檬酸(5 : 1), 料液比为 1 : 10, 提取温度为 65 ~ 85 °C, 提取时间为 90 min, 提取 pH 2.0。该试验以 70% 乙醇+0.5% 柠檬酸(5 : 1), 成本低廉, 工艺操作简单, 而且提取过程中未加入任何毒害物质, 因此安全性较高。

### 参考文献

- [1] 王战勇, 苏婷婷, 蒋林时. 葡萄果皮色素提取条件的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 35(3): 243-245.
- [2] 唐传核, 彭志英. 天然花色苷类色素的生理功能及应用前景[J]. 冷饮与速冻食品工业, 2000(1): 26-28.
- [3] 杨夫臣, 吴江, 程建徽, 等. 葡萄果皮花色素的提取及其理化性质[J]. 果树学报, 2007, 24(3): 287-292.
- [4] 许辉, 米拉, 田福利, 等. 天然葡萄果皮紫色素提取条件的研究[J]. 内蒙古农牧学院学报, 1998, 19(1): 64-67.
- [5] 周雯雯, 陈卫平, 方曼轩. 葡萄果皮色素提取工艺的研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(14): 5703-5704, 5741.
- [6] 张昭其, 庞学群, 段学武, 等. 采后荔枝果皮花色素苷降解与花色素苷酶活性变化[J]. 中国农业科学, 2003, 36(8): 945-949.
- [7] 卢玉, 董现义, 杜景平, 等. 花色苷研究进展[J]. 山东农业大学学报, 2004, 35(2): 315-320.
- [8] 谢聘, 马玉美, 王辉宪, 等. 刺葡萄果皮色素的提取及性能测定[J]. 粮油食品科技, 2007, 15(3): 62-65.

## Study on The Extraction Conditions of Proanthocyanidins from Grape Skins

WANG Chun-rong, HAN Xiang, LIU Xuan, JIA Mao-mao, LI Xiao-min  
(Henan University of Science and Technology, Luoyang Henan 471003)

**Abstract:** The study is the conditions for the extraction of proanthocyanidin from Jufeng grape skins. The results showed that: with 70% ethanol+0.5% citric acid(5 : 1) the highest extraction efficiency, followed by 80% ethanol+0.5% citric acid(volume ratio 5 : 1). And the ratio of grape pomace and extraction being 1 : 10(g/mL), the most appropriate temperature was 65 °C, the best extraction time was 90 min, the most appropriate pH was 2.0.

**Key words:** grape pomace; pigment; extraction conditions