

紫叶碧桃花色苷提取及其稳定性研究

尤 扬¹, 刘 香 坤²

(1. 河南科技学院, 河南 新乡 453003; 2. 鹤壁职业技术学院, 河南 鹤壁 458030)

摘 要:研究了花瓣花色苷的提取方法及不同浓度的双氧水、亚硫酸钠、蔗糖、葡萄糖、柠檬酸、 Na^+ 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 溶液及不同 pH 等对紫叶碧桃花色苷的影响。结果表明:以 0.5% HCl 和 75% 乙醇为浸提剂在 65℃ 恒温提取 3 h, 提取效果最好。在影响其稳定性的各因子中, pH 对花色苷影响显著, 在酸性条件下, 花色苷具有良好的热稳定性。金属离子 Na^+ 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 在不同浓度下对花色苷影响不显著, Cu^{2+} 较显著。花色苷的还原能力不显著, 抗氧化性显著。在自然光和黑暗条件下花色苷吸光度均不显著。蔗糖、葡萄糖、柠檬酸对其颜色与性质的影响均不显著。

关键词:碧桃; 花色苷; 提取; 稳定性

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)07-0067-04

紫叶碧桃(*Prunus persica* Batsch, var. *duplex* Rehd) 为蔷薇科桃属的一个变种, 别名粉红碧桃、千叶桃花, 早春开花, 其花多重瓣, 花色艳丽, 具有极高的观赏价值和药用价值。

目前有关碧桃方面的研究仅限于繁殖栽培技术^[1]、组织培养^[2]、园林绿化应用等方面。国内外对碧桃花色苷的提取及稳定性研究尚未见报道。现对碧桃花色苷稳定性影响的常见几种因素进行探讨, 为其综合应用提供一定的科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为河南科技学院西湖岸边的碧桃盛花期花瓣。将采回的花朵用镊子除去雄蕊、雌蕊和花萼, 保留花瓣, 备用。

1.2 试验方法

1.2.1 提取方案 根据预试验, 确定乙醇(A)、盐酸(B)、温度(C)、时间(D)为试验的 4 个因素, 采用 $L_9(3^4)$ 进

行正交实验设计, 共 9 个处理, 3 次重复(图 1-1~2)。精确称取 1 000 mg 花瓣 9 份, 装入试管。按照表 1 添加试剂, 浸泡一定时间即可。

表 1 正交实验的因子与水平

Table 1 Factors and levels of the orthogonal experiment

处理	A 乙醇	B 盐酸	C 温度	D 时间
Treatment	Ethanol/ %	Hydrochloride/ %	Temperature/ °C	Time/h
1	25	0.5	35	3.0
2	50	1.0	50	6.5
3	75	2.0	65	8.5

1.2.2 碧桃花色苷提取 取新采碧桃花瓣, 按表 1 设计的方案(质量: 体积)加入提取剂后在不同温度和时间下进行提取, 过滤后得到粉红色透明液体(图 1-11)。用 UV-4802 型紫外分光光度计在 200~310 nm 范围内测最大吸收波长处的吸光度值。再稀释 10 倍后, 以提取溶剂作为空白, 在最大吸收波长下测定各提取液的吸光度, 利用方差分析确定最佳提取方法。

1.2.3 碧桃花色苷稳定性研究 借鉴蒋新龙^[3]关于茶花花色苷的研究方案并加以改进, 对碧桃花色苷的光谱特性及不同 pH、温度、光照条件、金属离子、氧化还原剂、食品添加剂对该花花色苷的影响分别进行测定和分析。

第一作者简介:尤扬(1973-), 男, 河南罗山人, 硕士, 讲师, 现主要从事园林植物的教研工作。E-mail: youyang1028@126.com。

基金项目:河南科技学院重点科研基金资助项目(050122)。

收稿日期:2011-12-22

Abstract: Taking *Guzmania* 'Calypso' and *G.* 'Catherine' aged 18 months as experiment materials, the effects of *Guzmania* on flower forcing with different treatment such as medicament concentration and frequency were studied. The results showed that saturated acetylene solution and ethephon with different concentration could promote flowering effectively, and the former was better than the latter conspicuously. The treatment of saturated acetylene solution with 3~4 times were a fairly ideal method to be used for flower forcing.

Key words: ornamental bromeliads; ethephon; acetylene; flower forcing

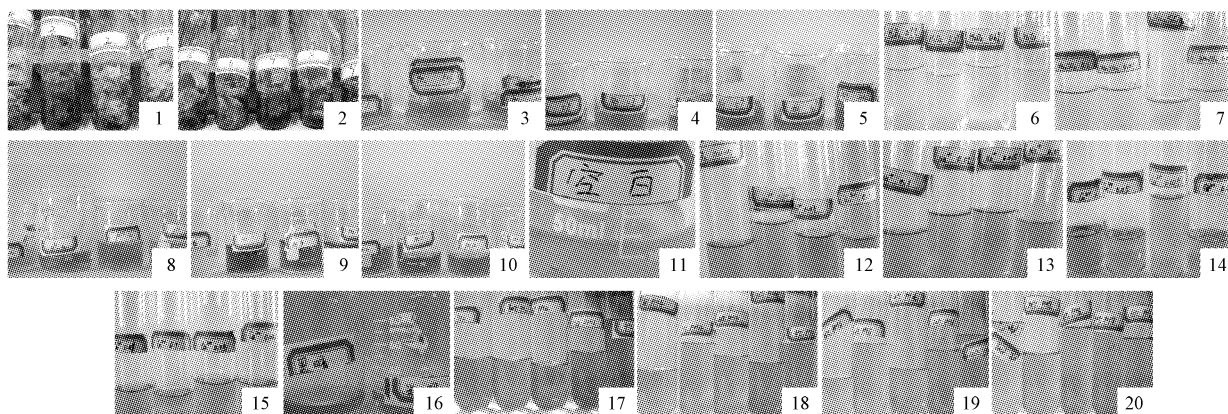


图 1 不同因子对花色苷稳定性的影响

注:1,2:花瓣提取;3,4,5:食品添加剂;6,7:氧化还原剂;8,9,10:pH;11:空白;12,13,14,15:金属离子;16:光照、黑暗;17,18,19,20:热稳定。

Fig. 1 Effect of different factors on the stability of red pigment

Note:1,2:Extracted form petals;3,4,5:Food additive;6,7:Reductant oxidant;8,9,10:pH;11:Vacuity;12,13,14,15:Metal ions;16:Light and dark;17,18,19,20:Thermal stability.

2 结果与分析

2.1 最佳提取方案的选择

由表 2 可知,以 0.5% HCl+75% 乙醇为浸提剂,物料比为 1:20(g/mL),在 65℃ 恒温提取 3 h,提取效果最好。经分析可知,在该过程中,温度对花色苷的影响最大,盐酸次之,乙醇最小。表明温度是花色苷提取的限制因子,且对乙醇不敏感。

表 2 正交设计方差分析

Table 2 Variance analysis of orthogonal design

变异来源 Source	离均差平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方差 Mean square	F	显著性 Significant
乙醇 Ethanol	0.00017	2	0.00008	0.12902	
盐酸 Hydrochloride	0.01070	2	0.00535	8.34061	**
温度 Temperature	0.01484	2	0.00742	11.57170	**
时间 Time	0.00108	2	0.00054	0.84594	
误差 Error	0.00577	9	0.00064		
总和 Sum	0.03255				

注: $F_{0.05}=3.55$, $F_{0.01}=6.01$ 。

Note: $F_{0.05}=3.55$, $F_{0.01}=6.01$ 。

2.2 光谱特性

由图 2 可知,取 20 mL 花色苷溶液,经吸光度扫描测定,得到吸收峰明显的曲线,该吸收峰波长为 220 nm。

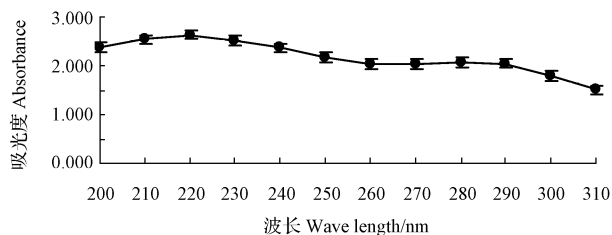


图 2 吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectrum of pigment

2.3 不同 pH 对花色苷稳定性的影响

配制同一稀释浓度 pH 2~13 的花色苷水溶液,观察其颜色变化。在最大吸收峰下测定其吸光度值,观察花色苷溶液吸收曲线。目测 pH 2~4 花色苷溶液为粉红色, pH 5~6 为浅粉红色, pH 7 为深褐色, pH 8~13 为黄褐色(图 1-8~10)。不同 pH 不仅影响花色苷外观,而且吸收光谱也会发生变化。由图 3 可知,在 pH 2~3 吸光值缓慢下降, pH 3~4 急速上升。随着 pH 升高,花色苷分解加快,表现为吸光值的急剧降低,及花色苷液的褪色或变色。由此可知, pH 对花色苷的稳定性影响较大,该花色苷适应于酸性条件,在碱性条件下不稳定。

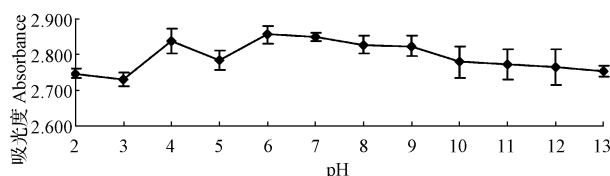


图 3 吸光度变化曲线

Fig. 3 Change curve of absorbance

2.4 氧化还原剂对花色苷稳定性的影响

配制一定浓度的 H_2O_2 、 Na_2SO_3 的花色苷溶液,以试剂空白的花色苷溶液作参照,放置 1 h,然后在 220 nm 处测定其吸光度值。由图 4 可知, Na_2SO_3 影响不显著, H_2O_2 对花色苷的影响较显著,添加氧化还原剂后的花色苷溶液吸光度值比未添加的高,说明花色苷的耐还原能力较好,但是不具有辅色作用。加入 H_2O_2 吸光值增加,与前人研究不一样,可能是结构发生改变的原因(图 1-6~7)。

2.5 食品添加剂对花色苷稳定性的影响

配制不同浓度的柠檬酸、蔗糖、葡萄糖花色苷水溶液,以试剂空白的花色苷液作参比,放置 1 h^[4],测定加入前后在 220 nm 处吸光度值。由图 5 可知,随着蔗糖

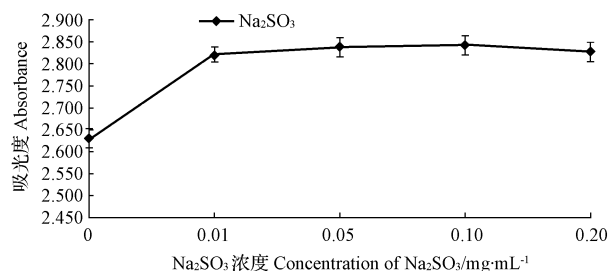


图4 氧化还原剂对花色苷稳定性的影响曲线

Fig. 4 The curve effects of oxidant and reductant on the stability of red pigment

和葡萄糖浓度的增加,花色苷溶液的吸光度随着其添加量的增加而加大,柠檬酸在浓度为 10 mg/mL 吸光度为最大,添加食品添加剂的花色苷溶液其吸光度值比未添加的高。说明这 3 种食品添加剂对碧桃花色苷稳定性有一定的辅助作用(图 1-3~5)。

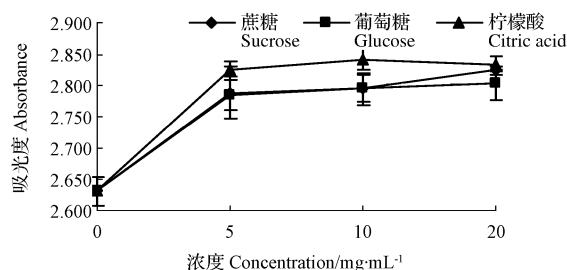


图5 食品添加剂对花色苷稳定性的影响曲线

Fig. 5 The curve of effects of food additives on the stability of red pigment

2.6 热稳定性

配制同一稀释度、不同 pH 的花色苷水溶液,在不同温度下恒温 1 h,冷却后分别在 220 nm 波长处测定各花色苷液的吸光度值。以冷藏温度(4℃)作对照。由表 3 可知,温度的改变对花色苷稳定性影响不显著。在酸性和碱性环境中花色苷具有良好的耐热性。在同一温度下,pH 升高,花色苷的耐热性下降。这可能是花色素苷类色素的母体结构受热生成无色的查尔酮式结构的缘故^[5](图 1-17~20)。

表3 温度对不同 pH 的花色苷稳定性的影响

Table 3 Effect of temperature on the stability of red pigment at different pH

温度 Temperature /℃	pH 2	pH 4	pH 6	pH 8
4(对照 Control)	2.953±0.188Aa	2.980±0.143Aa	2.964±0.164Aa	2.796±0.407LAa
20	2.969±0.164Aa	2.966±0.070Aa	2.951±0.156Aa	2.868±0.318Aa
40	2.992±0.119Aa	2.913±0.230Aa	2.935±0.197Aa	2.776±0.463Aa
60	2.985±0.116Aa	2.973±0.126Aa	2.896±0.066Aa	2.797±0.376Aa
80	2.983±0.162Aa	2.966±0.102Aa	2.872±0.156Aa	2.864±0.344Aa

2.7 光稳定性

配制同一稀释浓度的花色苷溶液,在室内自然光下和黑暗条件下进行照射,每隔 1 h 在 220 nm 处进行测定

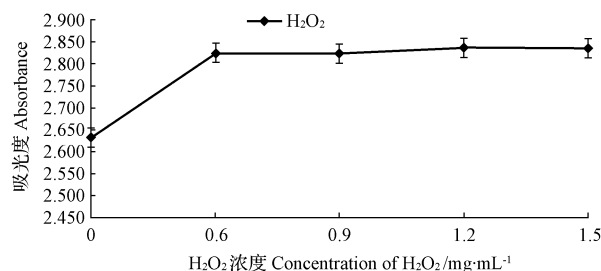


图6 光照对花色苷的影响曲线

Fig. 6 The curve of effect on anthocyanin in the different light

2.8 金属离子对花色苷稳定性的影响

配制同一稀释度花色苷水溶液 15 mL,各加入不同质量的 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 离子,使之成为含金属离子 0、0.005、0.010、0.050 和 0.100 mg/mL 的花色苷溶液 20 mL,放置 1 h,测定 220 nm 处吸光度。由图 7 可知,方差分析表明, Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 Zn^{2+} 对花色苷影响不显著,具有辅色作用; Cu^{2+} 对花色苷的影响较显著,随着浓度的增加,吸光度值增大,且颜色发生改变,分析认为可能是花色苷分子结构发生了改变。加入金属离子后吸光度值均增加,均具有较好的增效作用(图 1-12~15)。

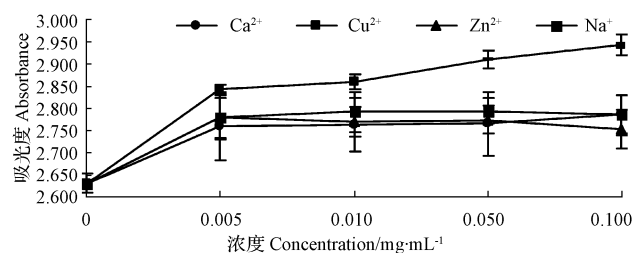


图7 不同浓度金属离子对花色苷影响曲线

Fig. 7 The curve of effect on anthocyanin at different concentration of metallic ions

3 结论与讨论

3.1 最佳提取方案

有关研究花色苷的提取时所用的方法均应用单因素试验^[6],而该试验使用的是正交实验。该试验浸提时间为 3 h,明显小于蒋新龙^[3]、李永强等^[7]大于 6 h 的浸提时间,这可能是由于不同花色苷溶于浸提剂的速度不

同造成的;与石光等^[8]浸提时间相同。提取剂为 75%乙醇+0.5%盐酸,这与以上研究者所用 95%乙醇和 1%盐酸比较接近,表明花色苷易溶于酸和低级醇。提取温度为 65℃,介于蒋新龙^[3](80℃)与赵慧芳等^[6](35℃)之间,可能是不同花色苷对温度要求的范围不同。

3.2 碧桃花色苷的稳定性

该试验中利用低浓度的盐酸和较高浓度的乙醇做花色苷提取液,而且花色苷着色较好,可以考虑作为食品着色剂。金属 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 Zn^{2+} 对其稳定性影响不显著,而 Cu^{2+} 对花色苷的影响较显著,与刘玲^[9]结论一致;pH 对花色苷影响较大,在酸性条件下较稳定,在碱性条件下不稳定;具有良好的热稳定性与光稳定性;蔗糖、葡萄糖、柠檬酸对其稳定性有很好的辅助作用,又具有增色作用,再通过进一步的研究应该可以在食品加工上进行应用;花色苷的耐还原能力较好,抗氧化性与人研究的不一^[10],可能是因为结构发生改变,不具有辅色作用。

碧桃具有天然食用色素的典型特征,具有食用安全性,是一种极具开发前景的天然食用色素。但碧桃色素的化学结构和生理活性,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 夏至会,于志勇.碧桃的繁殖与栽培管理[J].河北林业科技,2005,8(4):113.
- [2] 张文娥,潘学军,杨仕国,等.碧桃组织培养中褐化及其抑制研究[J].贵州农业科学,2009,37(1):11-12.
- [3] 蒋新龙.山茶花红色素的提取及其性质初探[J].园艺学报,2006,33(2):344-348.
- [4] 吕晓霞,李坤平,黄克瀛.商陆浆果色素的提取及其理化性质研究[J].河北化工,2004,27(2):23-26.
- [5] 王辉.木棉花红色素的提取及性质研究[J].林产化学与工业,2001,21(2):23-26.
- [6] 赵慧芳,王小敏,闫连飞,等.黑莓果实中花色苷提取和测定方法研究[J].食品工业科技,2008(5):176-179.
- [7] 李永强,张玉娜,王明珍,等.白刺果实色素的提取及理化性质研究[J].山东农业大学学报(自然科学版),2005,36(1):75-81.
- [8] 石光,张春枝,陈莉,等.蓝莓果实中花色苷提取工艺的研究[J].食品研究与开发,2008,29(4):7-10.
- [9] 刘玲.山楂花色苷性质研究初报[J].北京农业科学,1996,14(4):40-42.
- [10] 郝峰鸽,孙涌栋,李保印,等.红叶臭椿叶片中花色苷的稳定性研究[J].西北林学院学报,2008,23(6):151-154.

Study on the Extraction and Stability of *Prunus persica* Batsch.

YOU Yang¹, LIU Xiang-kun²

(1. Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003; 2. Hebi College of Vocation and Technology, Hebi, Henan 458030)

Abstract: The influence on the *Prunus persica* pigment of the method for extracting flower petal pigment and the different concentration of hydrogen peroxide solution, the sodium sulfite, the sucrose, the glucose, the citric acid, Na^{+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} solution, different pH and so on were studied. The results showed that the optimum yield of anthocyan could be obtained by 75% ethanol and 0.5% hydrochloride at 65℃ for 3 h. In the different factors that influenced stability of the *Prunus persica* anthocyan, pH had obvious effect on anthocyanin pigment. In the acid condition, the anthocyan was capable of keeping its good heat resistance. Metallic ions such as Na^{+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} had no evident effect on the anthocyan except Cu^{2+} . The anthocyan had a weak reducibility besides apparent antioxidant. In natural light and dark conditions, the absorbency of anthocyan were not significant. The sucrose, the glucose and the citric acid had a weak impact on its colour and character.

Key words: *Prunus persica* Batsch.; anthocyanin; extraction; stability