

DOI:10.11937/bfyy.201711008

山桃稠李果实成熟过程花色苷含量的变化

刘清玮, 赵 权

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

摘 要:以山桃稠李果实为试材,在山桃稠李的果实转色期采集果实,测定了不同采样时期果实的总花色苷、花青素-3-葡萄糖苷、苯丙氨酸解氨酶(PAL)含量,确定了果实从转色期至成熟期花色苷含量与 PAL 活性的相关性。结果表明:山桃稠李果实从转色期至成熟期总花色苷与花青素-3-葡萄糖苷均表现为增长趋势,成熟期含量最高;PAL 对花色苷的形成具有积极作用;花青素-3-葡萄糖苷与花色苷变化呈正相关。

关键词:山桃稠李;花色苷;花青素-3-葡萄糖苷;苯丙氨酸解氨酶

中图分类号:S 687.901 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2017)11-0040-04

山桃稠李(*Prunus maackii*)属蔷薇科植物,别名斑叶稠李、臭李子,树干红褐色至亮黄色,是庭院观赏的优良绿化树种,在我国南北部均有生长^[1]。山桃稠李果实成熟期为 7—8 月,果实近球形,紫黑色,

可食,其中花色苷含量较其它种稠李果实中花色苷含量高^[2-3]。花色苷是自然界广泛存在的一种具有显著生理活性的水溶性色素,为类黄酮类物质。其具有抗氧化及消除自由基,可改善肝脏及血清中的脂质,防止动脉硬化和提高视力等多种功能^[4]。目前花色苷的生物合成途径已经非常明确,即苯丙烷类代谢途径和类黄酮途径^[5-6]。第一个过程为苯丙烷类代谢途径,即苯丙氨酸在苯丙氨酸解氨酶(PAL)催化下合成肉桂酸,而 PAL 是花色苷生物合

第一作者简介:刘清玮(1981-),女,吉林长春人,硕士,讲师,现主要从事药用植物等研究工作。E-mail:570079579@qq.com.
基金项目:吉林农业科技学院长白山动植物资源利用与保护吉林省高校重点实验室资助项目(吉农院合字[2013]第 S014 号)。
收稿日期:2016-12-13

Abstract: The photosynthetic characteristics and fruit quality (cluster and berry traits, hardness, yield, soluble solids content and total acid, total phenol, tannin and total anthocyanin contents and sensory property) of 6-year-old 'Red Globe' grapevines treated with reflective film covering on soil, leaf removal, and reflective film combined with leaf removal were evaluated in this study, with the conventional management methods of vines as the control, to provide reference to standardized production of 'Red Globe' in Weibei area. The results showed that, the photosynthetic rate of the grape leaves increased by 17.68% and 31.11% by the reflective film and leaf removal treatments, respectively, while increased by 58.08% by reflective film combined with leaf removal treatment. The reflective film combined with leaf removal treatment showed a significant additive effect compared with the single treatment. The reflective film and leaf removal treatment and the reflective film combined with leaf removal treatment significantly increased berry width, berry length and berry weight, and improved soluble solids content and showed no significant effect on fruit shape index. Leaf removal treatment markedly increased total phenolics, tannin and anthocyanin contents in berry skin by 13.22%, 41.94% and 33.03% respectively, while leaf removal and reflective film combined with leaf removal did not significantly influence the total phenolics and anthocyanin contents of grape berry skin. Compared to the control, reflective film, leaf removal and reflective film combined with leaf removal treatment significantly increased sensory evaluation scores of 'Red Globe' grape berry.

Keywords: 'Red Globe' grape; reflective film; leaf removal; photosynthetic characteristics; berry quality

成的第一个酶,对作物花色苷的生物合成起重要作用^[7-8]。花青素-3-葡萄糖苷为花色苷中主要单体组成之一,是由 UDP 葡萄糖-类黄酮 3-O-葡萄糖基转移酶(UFGT)催化 UDP 葡萄糖的糖基取代花青素的 3-OH 基团,催化生成花青素-3-葡萄糖苷^[9]。

目前有关稠李果实中花色苷、原花青素的体外抗氧化作用研究较多^[10-11],但是对果实总花色苷、花青素-3-葡萄糖苷及花色苷生物合成的苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性变化规律的研究尚鲜见报道。以不同转色期的山桃稠李果实为试材,测定总花色苷、花青素-3-葡萄糖苷、苯丙氨酸解氨酶(PAL)含量,确定山桃稠李果实从转色至成熟花色苷含量与 PAL 活性的相关性,以探讨山桃稠李果实花色苷积累变化规律。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试山桃稠李采自吉林农业科技学院九站校区。主要试剂有甲醇、甲酸、乙腈、冰醋酸等(分析纯),花青素等(大连美仑生物技术有限公司);主要设备为超声波提取器、离心机、721 型紫外可见分光光度计、高效液相色谱仪等。

1.2 试验方法

试验于 2015 年 6 月下旬山桃稠李果实开始着色后标定 10 株树,每隔 10 d 采样 1 次,每株树取鲜果,混合存放。采样时间分别为 6 月 25 日、7 月 5 日、7 月 15 日、7 月 25 日、8 月 5 日、8 月 15 日,共计 6 次。取 200 g 鲜果用 $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl-95% EtOH 浸提,抽滤,减压浓缩,粗浸膏再以 60%~75% EtOH 除果胶,浓缩,上 DEAE-纤维素层析柱,酸性乙醇洗脱,洗脱液减压浓缩得色素浸膏,备用^[12]。

1.3 项目测定

1.3.1 总花色苷含量测定 取 1.00 g 山桃稠李果实,按料液比 $1:15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行提取,提取 3 次,最后定容 50 mL,在 535 nm 测吸光度。鲜果花色素苷总量 $(\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}) = A_{535} \times V \times n \times 100 / (98.2 \times m)$ 。其中, A_{535} :色素在 535 nm 波长处的吸光度; V :一定质量的鲜果提取色素时的定容体积(mL); n :比色时稀释的倍数; 98.2 为花色素苷类色素在 535 nm 波长处的平均消光系数; m :鲜果的质量(g)^[12]。

1.3.2 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定 参考关巍等^[13]的方法采用紫外分光光度计法测定。取 1.00 g 山桃稠李果实,加入 10 mL 提取液, -20°C 冰

浴研磨,过滤,取滤液于 4°C 下 $15\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min,上清液即为粗酶液。取 1 mL 粗酶液加 2 mL 蒸馏水,加 1 mL $(0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$ L-苯丙氨酸,对照为 3 mL 蒸馏水。 34°C 恒温水浴 30 min,加 0.5 mL 35% 的 TCA。 $7\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min,取上清液,290 nm 波长处测定吸光度值。

1.3.3 花青素-3-葡萄糖苷的测定 参考赵权^[14]的方法。高效液相色谱条件:色谱柱采用反相 ODS-C18 柱 $(250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm})$,流动相:4%磷酸(pH 2):乙腈(HPLC)=85:15;流速: $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温: 30°C ;检测波长:520 nm;进样量: $5 \mu\text{L}$ 。

2 结果与分析

2.1 山桃稠李果实中总花色苷含量的变化

由图 1 可以看出,山桃稠李果实中总花色苷含量从 6 月 25 日进入转色期至 8 月中旬含量呈上升趋势。从 6 月 25 日至 7 月 15 日花色苷含量增长不显著,含量由 $10.21 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ 增加到 $14.21 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$; 7 月 15—25 日花色苷含量增长显著,含量由 $14.21 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ 增加到 $27.21 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$;成熟期含量达到最高 $35.77 \text{ mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$ 。

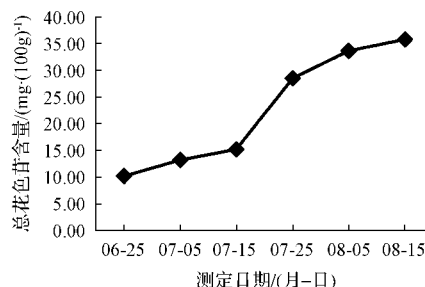


图 1 果实总花色苷含量的变化

2.2 山桃稠李果实中果实花青素-3-葡萄糖苷含量的变化

由图 2 可知,标准品花青素-3-葡萄糖苷的保留时间为 6.214 min,样品保留时间分别 6.212、6.216、6.220、6.213、6.215、6.211 min,与标准品保留时间比较接近,可以断定此峰为花青素-3-葡萄糖苷。将各处理样品中花青素-3-葡萄糖苷的峰面积带入 $y = 48.6539x + 5.7621$,相关系数为 0.9998,计算出果实中花青素-3-葡萄糖苷的含量,单位为 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

由图 3 可以看出,山桃稠李果实中花青素-3-葡萄糖苷含量从 6 月 25 日进入转色期以后至 8 月中旬含量呈上升趋势。从 6 月 25 日至 7 月 15 日花色

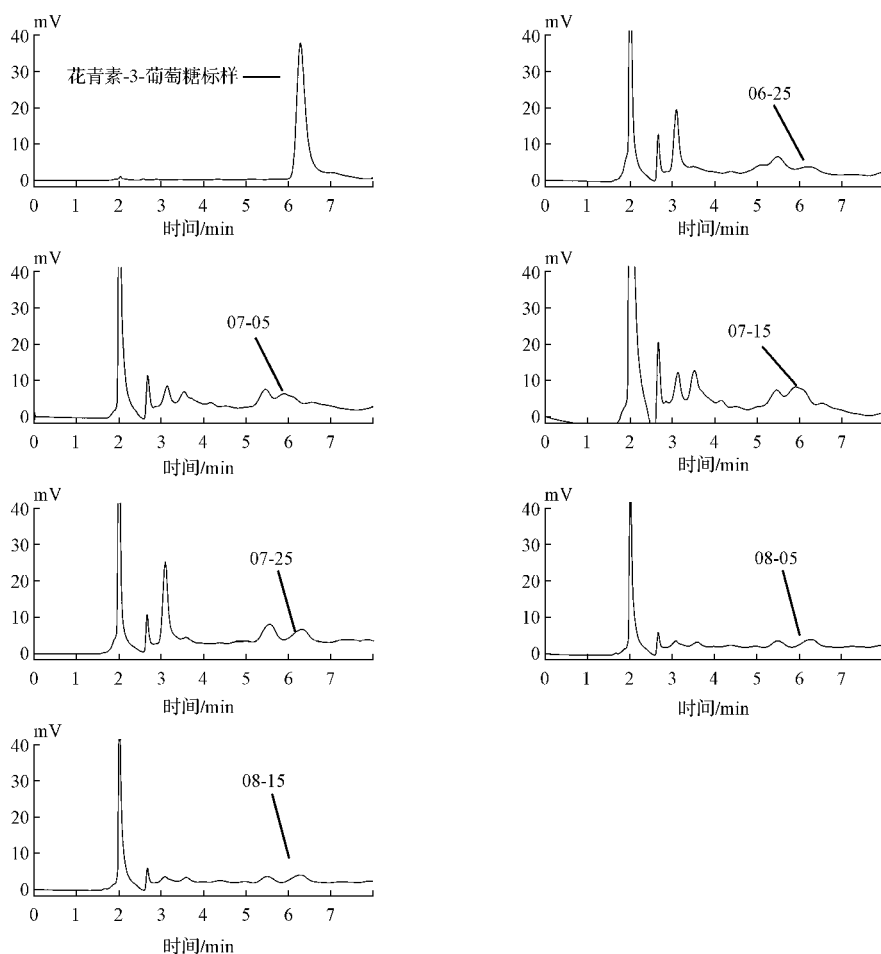
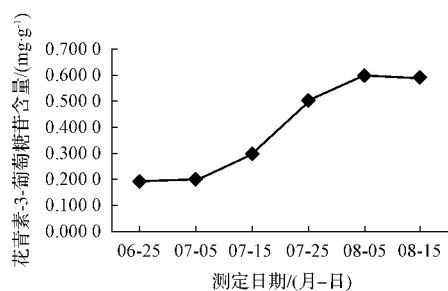
图2 不同采样时期花青素-3-葡萄糖苷的高效液相色谱(A_{327})

图3 果实花青素-3-葡萄糖苷含量变化

苷含量增长不显著,含量由 $0.191 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $0.212 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;7月15—25日花色苷含量增长显著,含量由 $0.317 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $0.496 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;8月5日含量达到最高 $0.607 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,而后含量下降,8月15日含量为 $0.581 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.3 山桃稠李果实中果实 PAL 活性的变化

PAL 是花色苷生物合成的第一个酶,对花色苷的生物合成起重要作用。由图4可以看出,山桃稠李果实中 PAL 活性从6月25日进入转色期以后至8月中旬含量呈现上升的变化趋势。从6月25日至

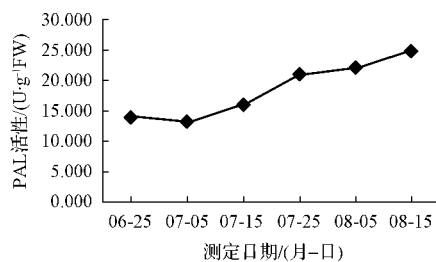


图4 山桃稠李果实 PAL 活性的变化

7月5日酶活性降低,由 $14.657 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 下降到 $13.712 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$,而后开始上升,8月15日活性最高达 $25.213 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。

2.4 山桃稠李果实中果实花色苷含量变化与 PAL 活性的相关分析

由图5可以看出,转色期至成熟山桃稠李果实中总花色苷含量变化与 PAL 活性呈正相关($R^2 = 0.9648$),花青素-3-葡萄糖苷含量变化与 PAL 活性呈正相关($R^2 = 0.9449$)。

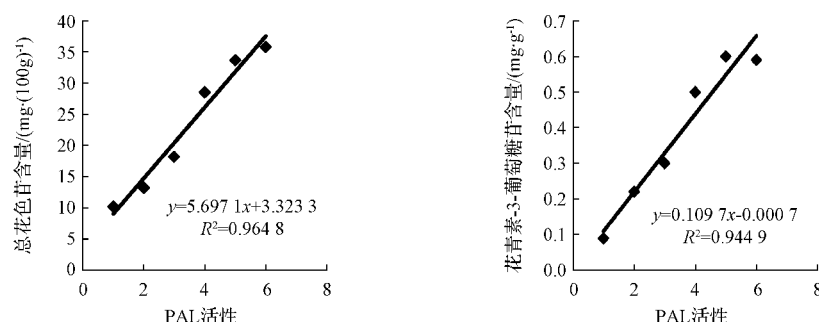


图5 果实 PAL 活性与花色苷的相关性

3 结论

该试验通过对山桃稠李花色苷含量、PAL 活性以及花青素-3-葡萄糖苷含量的相关性分析可知, PAL 活性与花色苷含量线性关系良好,对花色苷的形成起了积极的作用,然而其活性变化趋势与花色苷并不完全同步,说明除了 PAL 以外,还有其它更直接的酶调节山桃稠李花色苷的合成。由该研究结果可知,花青素-3-葡萄糖苷含量变化与山桃稠李中总花色苷的含量变化趋势基本一致,说明花青素-3-葡萄糖苷对总花色苷含量的贡献较大,具有高度相关性,即表明花青素-3-葡萄糖苷为山桃稠李花色苷中主要单体物质。

参考文献

- [1] 王宝臣,王文珍,王振东,等. 山桃稠李育苗技术讨论[J]. 绿色科技,2012(2):93.
- [2] 郭树义,于晓红,郭新元. 山桃稠李色素的提取及性质研究[J]. 北方园艺,2011(3):34-36.
- [3] 辛越. 稠李属三种果实花色苷抗氧化活性研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2013:32.

- [4] 李华,王华,袁春龙,等. 葡萄酒化学[M]. 北京:科技出版社,2005:106-110.
- [5] MARKHAM K R. 黄酮类化合物结构鉴定技术[M]. 张宝琛,唐崇实,译. 北京:科学出版社,1990:43-45.
- [6] DIXON R A, PAIVA N L. Stress-induced phenyl-propanoid metabolism[J]. The Plant Cell,1995(7):1085-1097.
- [7] 陈文龙,赵昶灵,支伟特,等. 高等植物花色苷生物合成调控的研究进展[J]. 中国农学通报,2013,29(33):271-276.
- [8] 刘闯萍,王军. 葡萄花色苷的生物合成[J]. 植物生理学通讯,2008,22(4):363-365.
- [9] 赵权. 葡萄酚类物质及其生物合成相关结构基因表达[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2010:15.
- [10] 王霞,孙仓,刘小玲,等. 稠李果实原花青素的抗氧化活性[J]. 贵州农业科学,2014,42(10):106-108.
- [11] 任健. 稠李属果实色素理化性质及抗氧化抗疲劳作用研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2011:11.
- [12] 陈炳华,陈前火,刘剑秋. 吕宋荚蒾果红色素的提取、纯化及其性质分析[J]. 福建师范大学学报,2014,12(20):85-88.
- [13] 关巍,石瑛,王凤义. 彩色马铃薯 PAL 活性与花色苷积累的相关性研究[J]. 吉林农业科学,2014,39(1):74-79.
- [14] 赵权. 干旱胁迫对山葡萄花色苷合成及相关品质的影响[J]. 北方园艺,2012(24):44-46.

Changes of Anthocyanins Content of *Prunus maackii* Fruit During Maturation

LIU Qingwei,ZHAO Quan

(Jilin Agricultural Science and Technology University,Jilin,Jilin 132101)

Abstract: Fruit of *Prunus maackii* was used as test materials. Anthocyanin,anthocyanins-3-glucoside and PAL of *Prunus maackii* fruit were measured,and the relationship between the anthocyanin content and the PAL activity of fruit were determined during the mature period. The results showed that contents of anthocyanins and cyanidin-3-glucoside increased during maturation period, and PAL played a positive role for anthocyanins, cyanidin-3-glucoside was significantly correlated with anthocyanins.

Keywords: *Prunus maackii*; anthocyanins; cyanidin-3-glucoside; PAL