

李紫薇,刘伟,欧阳艳,等. 有机酸和糖对野生櫻桃李花色苷的辅色作用[J]. 江苏农业科学,2018,46(13):183-186.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.13.043

有机酸和糖对野生櫻桃李花色苷的辅色作用

李紫薇,刘伟,欧阳艳,徐维义

(伊犁师范学院化学与环境科学学院,新疆伊宁 835000)

摘要:为了提高野生櫻桃李色素的稳定性,拟研究比较 7 种有机酸和 3 种糖对野生櫻桃李花色苷的辅色作用。结果表明,在邻苯二甲酸氢钾(KHP)缓冲体系(pH 值=3、4)和 HAc-NaAc 缓冲体系(pH 值=4)中,花色苷浓度为 4.3×10^{-3} mol/L(以矢车菊-3-葡萄糖苷计)和辅色剂浓度为 0.01~0.10 mol/L 时,草酸、丙二酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸和丁二酸对野生櫻桃李花色苷具有不同程度的辅色作用,辅色处理后提高了花色苷的热稳定性,其中草酸辅色作用最强。葡萄糖、果糖、蔗糖在 3 种缓冲溶液体系中对花色苷的辅色作用不明显,葡萄糖、果糖对花色苷有促降热解作用,蔗糖能够明显抑制亚硝酸钠对花色苷的氧化降解作用。

关键词:野生櫻桃李;花色苷;辅色作用;有机酸;糖

中图分类号: TS202.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)13-0183-04

花色苷作为一种天然食用色素,资源丰富、安全,而且具有一定的营养和药理作用,但其很容易变色,稳定性受到很多因素影响,如酸碱度变化、氧化剂、酶、金属离子、温度和光照等,在一定程度上限制了其广泛应用。野生櫻桃李(*Prunus divaricata* Ehrh.)系蔷薇科李属落叶灌木或小乔木,是世界上极为珍贵并且濒临灭绝的原始野生林果^[1-4]。野生櫻桃李成熟果实的颜色可分为紫、红、黄 3 大类型。紫果的色价较高,含有矢车菊 3-半乳糖苷、矢车菊 3-葡萄糖苷、矢车菊 3-芸香糖苷、矢车菊(乙酰基)3-葡萄糖苷^[5]。目前已有关于野生櫻桃李紫果色素的提取、稳定性和抗氧化活性^[6-8]等研究,但对野生櫻桃李花色苷的辅色作用研究未见报道。

本研究选取 7 种有机酸(草酸、丙二酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸、丁二酸、甘氨酸)和 3 种糖(葡萄糖、果糖和蔗糖),研究其在邻苯二甲酸氢钾(KHP)缓冲溶液体系(pH 值=3、4)和醋酸-醋酸钠(HAc-NaAc)缓冲溶液体系(pH 值=4)中对野生櫻桃李花色苷的辅色作用,旨在为野生櫻桃李色素在食品加工中的应用提供理论依据。

收稿日期:2017-09-30

基金项目:新疆维吾尔自治区教育厅普通高校重点实验室资助项目(编号:2017YSHXYB01)。

作者简介:李紫薇(1970—),女,山东梁山人,硕士,副教授,主要从事天然产物活性成分研究。E-mail:yili92@163.com。

参考文献:

- [1] 卢东升,贾晓,罗春芳. 白鬼笔生物学特征研究[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版),2010,23(2):242-244.
- [2] 张智,符群. 食用菌栽培与加工技术[M]. 北京:中国林业出版社,2011:147-213.
- [3] Doungporn S, Poomsa-ad N, Wiset L. Drying equations of Thai Hom Mali paddy by using hot air, carbon dioxide and nitrogen gases as drying media[J]. Food and Bioproducts Processing, 2012, 90(2): 187-198.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

野生櫻桃李于 2016 年 9 月初采自新疆伊犁霍城县大西沟,洗净、剥皮,果皮烘干后粉碎,过 60 目筛备用。D101 大孔树脂,购自郑州勤实科技有限公司;无水乙醇、氯化钾、盐酸、无水乙酸钠、丁二酸、甘氨酸、草酸、丙二酸、DL-苹果酸、柠檬酸、酒石酸、邻苯二甲酸氢钾、葡萄糖、果糖、蔗糖和亚硝酸钠,均为分析纯。实验用水为去离子水。

UV-3900 紫外可见分光光度计,日本日立高技术公司生产;723PC 可见分光光度计,上海舜宇恒平科学仪器有限公司生产;RE-52AA 型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂生产;TD25-WS 多管架自动离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司生产;XH-2008D 型电脑智能温控超声波合成萃取仪,北京祥鹄科技发展有限公司生产;PHSJ-5 pH 计,上海精密科学仪器有限公司生产;FA2104N 电子天平,上海民桥精密科学仪器有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 野生櫻桃李花色苷的制备 以盐酸-乙醇溶液(盐酸浓度为 0.1 mol/L,乙醇体积分数为 50%)为提取剂,提取野生櫻桃李紫果皮中花色苷,料液比为 1 g:25 mL,超声波功率为 250 W,浸提 15 min。抽滤后收集滤液,将滤液在 0℃左右低温冷置 6 h,离心(4 000 r/min,15 min),收集上清液,于

- [4] 杜利平,赵恒强,周冰谦,等. 金银花红外鼓风干燥特性、失水动力学及干制品品质研究[J]. 食品工业科技,2016,37(16):93-97,102.
- [5] Wang Z F, Sun J H, Liao X J, et al. Mathematical modeling on hot air drying of thin layer Apple pomace[J]. Food Research International, 2007, 40(1):39-46.
- [6] Falade K O, Abbo E S. Air-drying and rehydration characteristics of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79(2):724-730.
- [7] 陈健凯,林河通,李辉,等. 杏鲍菇的热风干燥特性与动力学模型[J]. 现代食品科技,2013,29(11):2692-2699,2579.

50 ℃ 减压浓缩。粗提物过 D101 大孔树脂柱,以体积分数 80% 乙醇为洗脱剂,将所得洗脱液于 50 ℃ 以下减压浓缩,浓缩液经冷冻干燥后得暗紫红色花色苷提取物^[6]。

1.2.2 花色苷含量的测定 本试验采用 pH 值示差法测定野生櫻桃李花色苷含量^[9-11],参考宋德群等对蓝莓花色苷含量测定用的 pH 值示差法中缓冲液配制方法^[12]。具体花色苷含量计算公式如下:

$$\text{花色苷含量 (mg/g)} = \frac{\Delta D \times M \times n \times V}{\varepsilon L m}; \quad (1)$$

$$\Delta D = (D_{520 \text{ nm, pH 值 } 1.0} - D_{700 \text{ nm, pH 值 } 1.0}) - (D_{520 \text{ nm, pH 值 } 4.5} - D_{700 \text{ nm, pH 值 } 4.5})。 \quad (2)$$

式中: D 为吸光度; ε 为矢车菊-3-葡萄糖苷的消光系数(26 900); n 为稀释倍数; M 为矢车菊-3-葡萄糖苷的分子量(449.2); V 为溶液体积,mL; m 为纯化后的花色苷粉末质量,g; L 为光程(1 cm)。此外,以缓冲溶液作参比,用 $D_{700 \text{ nm}}$ 来消除样液混浊的影响。

1.2.3 不同缓冲溶液体系中有有机酸对野生櫻桃李花色苷的辅色效果 以 KHP 缓冲溶液(pH 值=3.0)为溶剂,分别配制 0.200 mol/L 草酸、丙二酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸、丁二酸、甘氨酸 7 种有机酸储备液。取 1 mL 花色苷溶液于 10 mL 容量瓶中,加入一定体积 0.200 mol/L 有机酸作为辅色剂,用 KHP 缓冲溶液定容至 10 mL,研究不同浓度各有机酸对野生櫻桃李花色苷的辅色效果。各有机酸系列浓度分别为 0、 1.0×10^{-2} 、 3.0×10^{-2} 、 5.0×10^{-2} 、 7.0×10^{-2} 、 9.0×10^{-2} 、 1.0×10^{-1} mol/L,花色苷浓度为 4.3×10^{-3} mol/L(以矢车菊-3-葡萄糖苷计),将有机酸-花色苷混合溶液静置 2 h,以缓冲溶液为参比,于 520 nm 处测吸光度。参考顾林等的计算方法^[13-14],有机酸对野生櫻桃李花色苷的辅色效果以/mol 有机酸引起的野生櫻桃李花色苷吸光度增加量,即用辅色度(I)表示:

$$I = \frac{D_{520 \text{ nm}} - D_{520 \text{ nm}(0)}}{C}。 \quad (3)$$

式中: $D_{520 \text{ nm}(0)}$ 、 $D_{520 \text{ nm}}$ 分别为加入有机酸前、后野生櫻桃李花色苷溶液的吸光度; C 为有机酸浓度(mol/L)。

有机酸浓度为 0.09 mol/L,花色苷浓度为 4.3×10^{-3} mol/L,将各有机酸与花色苷的混合溶液(pH 值=3.0)分别置于 15、20、25、35、45、55、65 ℃ 恒温水浴 2 h,以 pH 值=3.0 的 KHP 缓冲溶液为参比测吸光度,重复 3 次。

参照上述方法,分别考察各有机酸在 KHP 缓冲溶液体系(pH 值=4)和 HAc-NaAc 缓冲溶液体系(pH 值=4)中对花色苷的辅色效果。

1.2.4 不同缓冲溶液体系中糖对野生櫻桃李花色苷的辅色效果 以 KHP 缓冲溶液(pH 值=3.0)为溶剂,分别配制 0.200 mol/L 葡萄糖、蔗糖、果糖储备液。吸取 1 mL 花色苷溶液 7 份,加入 0.200 mol/L 葡萄糖作为辅色剂,缓冲溶液稀释并定容至 10 mL,使花色苷浓度为 4.3×10^{-3} mol/L,各糖系列浓度分别为 0.0、 1.0×10^{-2} 、 3.0×10^{-2} 、 5.0×10^{-2} 、 7.0×10^{-2} 、 9.0×10^{-2} 、 1.0×10^{-1} mol/L。将花色苷-糖溶液静置 2 h,以缓冲溶液为参比,于 520 nm 处测吸光度,重复 3 次,研究不同浓度葡萄糖对野生櫻桃李花色苷的辅色效果。将 4.3×10^{-3} mol/L 花色苷和 0.09 mol/L 糖混合溶液分别置于

15、20、25、35、45、55、65 ℃ 恒温水浴锅中,恒温 2 h 后测其吸光度。以缓冲溶液为参比,测定波长为 520 nm,并与未辅色的花色苷溶液对照试验,重复 3 次,考察温度对辅色效果的影响。参照上述方法,分别考察葡萄糖、蔗糖、果糖在 KHP 缓冲溶液体系(pH 值=4)和 HAc-NaAc 缓冲溶液体系(pH 值=4)中对花色苷的辅色效果以及温度对辅色效果的影响。

1.2.5 糖与亚硝酸钠共存时的辅色效果 设花色苷浓度为 4.3×10^{-3} mol/L,亚硝酸钠浓度分别是 0.0、 1.0×10^{-2} 、 3.0×10^{-2} 、 5.0×10^{-2} 、 7.0×10^{-2} 、 9.0×10^{-2} 、 1.0×10^{-1} mol/L,野生櫻桃李花色苷溶液与亚硝酸钠溶液一经混合即刻测定吸光度,比较不同浓度亚硝酸钠在 3 种缓冲溶液体系中对花色苷的氧化降解作用。在 KHP 缓冲溶液体系(pH 值=3)中,蔗糖、果糖、葡萄糖浓度为 0.09 mol/L,考察糖与亚硝酸钠共存时对花色苷的辅色效果,测定波长为 520 nm,绘制动力学曲线,重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 花色苷含量的测定

准确称取 0.050 0 g 制备的花色苷粉末,用 KHP 缓冲溶液(pH 值=3)溶解并定容至 100 mL。移取 5 mL 该色素溶液于 50 mL 容量瓶中,平行 2 份,分别用氯化钾-盐酸(pH 值=1.0)和醋酸钠-盐酸的缓冲溶液(pH 值=4.5)稀释定容,静置 2 h 后在 520、700 nm 处测吸光度。本试验采用 pH 值示差法测定花色苷含量,根据公式(1)和公式(2),测得野生櫻桃李花色苷的含量为 38.27 mg/g。

2.2 有机酸对野生櫻桃李花色苷的辅色作用

2.2.1 不同 pH 值的缓冲溶液中有有机酸的辅色效果 本试验考察了草酸、丙二酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸、丁二酸和甘氨酸在 3 种缓冲体系中对野生櫻桃李花色苷的辅色效果。由图 1 可知,在研究的 7 种有机酸中,除甘氨酸外,其他 6 种有机酸在考察的浓度范围内具有辅色作用,其原因可能是几种有机酸与野生櫻桃李花色苷形成了氢键,从而产生了辅色和稳定作用。有机酸的浓度为 0.01~0.03 mol/L 时,对野生櫻桃李花色苷的辅色度最大,有机酸浓度为 0.03 mol/L 时,在 KHP 缓冲溶液体系(pH 值=3)中有有机酸辅色度相对大小排列是草酸>丙二酸>柠檬酸、酒石酸、丁二酸>苹果酸、甘氨酸;在 KHP 缓冲溶液体系(pH 值=4)中有有机酸辅色度相对大小排序是草酸>柠檬酸>丙二酸>酒石酸>苹果酸>丁二酸>甘氨酸;在 HAc-NaAc 缓冲体系(pH 值=4)中有有机酸辅色度相对大小排序是:草酸>丙二酸>酒石酸、柠檬酸>苹果酸>丁二酸>甘氨酸。综上所述,在研究的 7 种有机酸中,草酸的辅色作用最强,甘氨酸的辅色作用最弱。pH 值为 3 时,野生櫻桃李花色苷溶液较 pH 值为 4 时的颜色深,有机酸在 pH 值=4 的 2 种缓冲溶液中的辅色度明显大于在 pH 值=3 的 KHP 缓冲体系中的辅色度。由于花色苷在 pH 值=3 的缓冲溶液体系中吸光度最大最稳定,故后续选取 pH 值=3 的 KHP 缓冲体系进行试验。

2.2.2 不同温度有机酸的辅色作用 在 KHP 缓冲体系(pH 值=3)中,考察了 0.09 mol/L 有机酸在不同温度下对野生櫻桃李花色苷的辅色效果。在考察的温度范围内,野生櫻桃李花色苷经草酸、丙二酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、丁二酸辅色

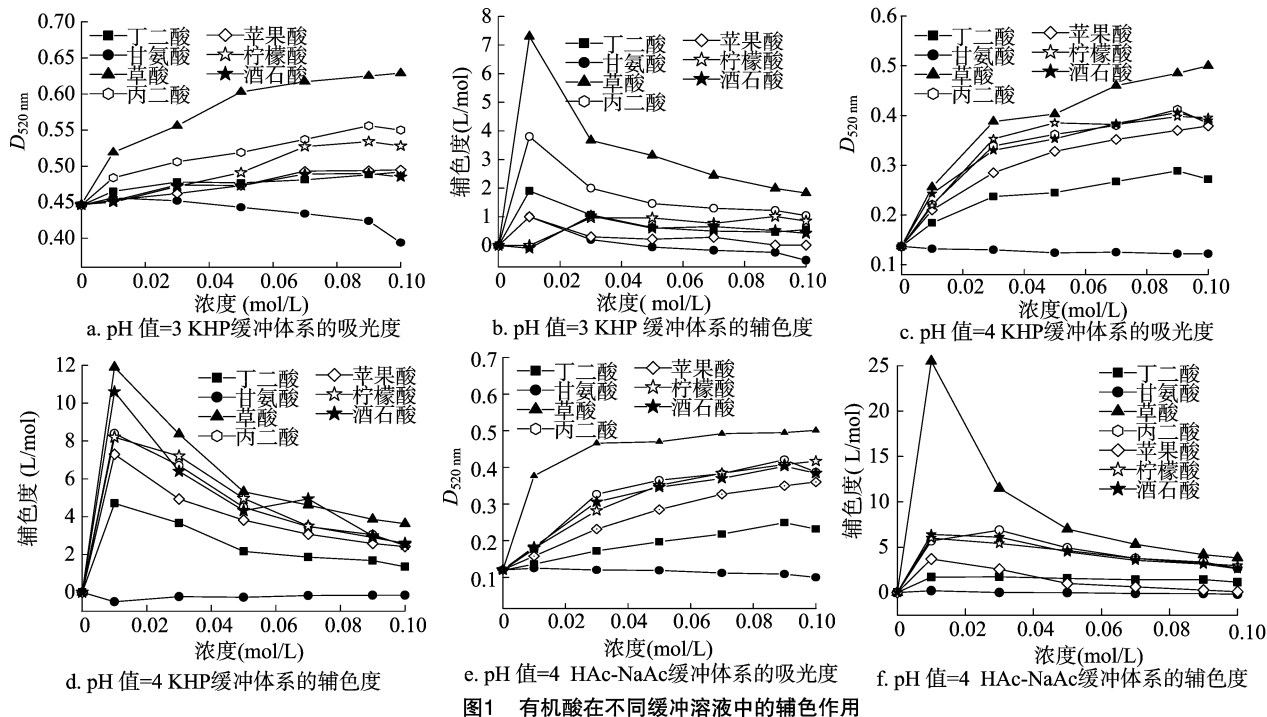


图1 有机酸在不同缓冲溶液中的辅色作用

处理后的热稳定性有不同程度的提高,其中草酸、丙二酸、柠檬酸、酒石酸对花色苷的热稳定性影响最大。

2.3 葡萄糖、果糖、蔗糖对花色苷的辅色作用

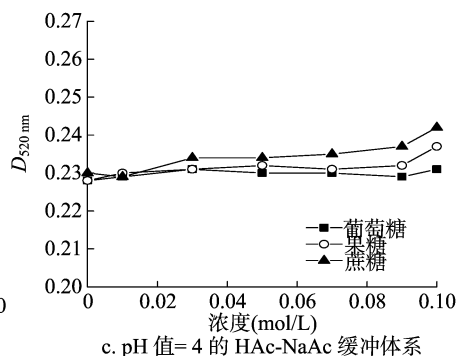
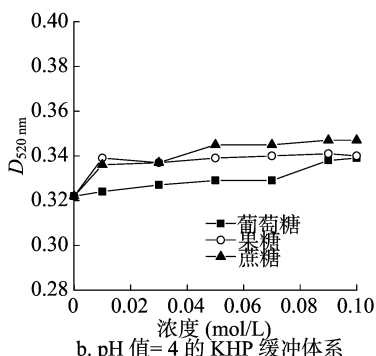
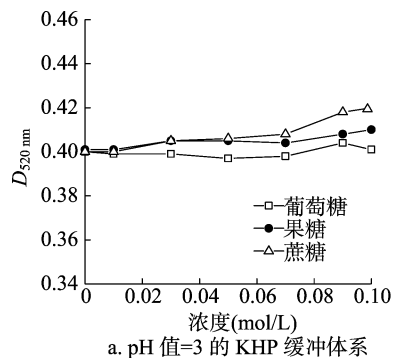


图2 葡萄糖、果糖、蔗糖在不同缓冲体系中的辅色作用

2.3.2 不同温度下糖对花色苷的辅色作用 在不同温度条件下,本试验考察了 0.09 mol/L 葡萄糖、果糖、蔗糖对花色苷的辅色效果。如图 3 所示,野生櫻桃李花色苷的降解速度随着温度的升高而加快。葡萄糖、果糖、蔗糖的存在对野生櫻桃李花色苷的热稳定性是不利的。有研究表明,果糖较葡萄糖和蔗糖会更容易地转化为糠醛类物质,降解效果比葡萄糖、蔗糖要大一些,但是由于每种植物所含花色苷组分和成分背景不同,稳定性也不同^[15]。在本试验体系中,葡萄糖和果糖对野生櫻桃李花色苷的降解作用无明显差异,且这 2 种糖对花色苷的促降解作用大于蔗糖。温度大于 35 ℃ 时,葡萄糖、果糖对花色苷的促降解作用较低温时明显。蔗糖在温度大于 55 ℃ 时,表现出对花色苷的轻微护色作用。

2.3.3 糖与亚硝酸钠共存时的辅色作用 葡萄糖、果糖、蔗糖虽然对花色苷没有明显的辅色作用,但根据相关报道,葡萄

2.3.1 不同 pH 值缓冲溶液中糖对花色苷的辅色效果 如图 2 所示,室温条件下,在考察的浓度范围内,葡萄糖、果糖、蔗糖对野生櫻桃李花色苷的辅色作用不明显。

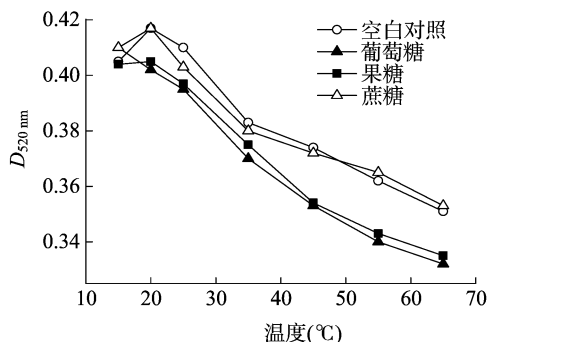


图3 葡萄糖、果糖、蔗糖在不同温度下对花色苷的辅色作用

糖和蔗糖能够提高花色苷的稳定性。本试验进一步考察了糖在与亚硝酸钠共存时,对野生櫻桃李花色苷的辅色作用。如图 4 所示,亚硝酸钠浓度越大,对花色苷的降解作用越明显。

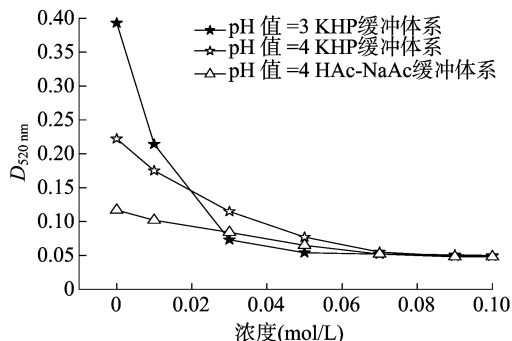


图4 不同缓冲体系中亚硝酸钠浓度对花色苷稳定剂的影响

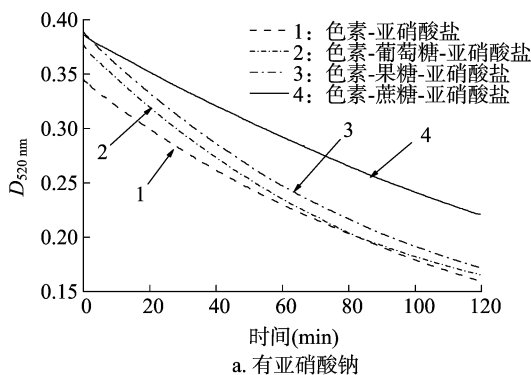
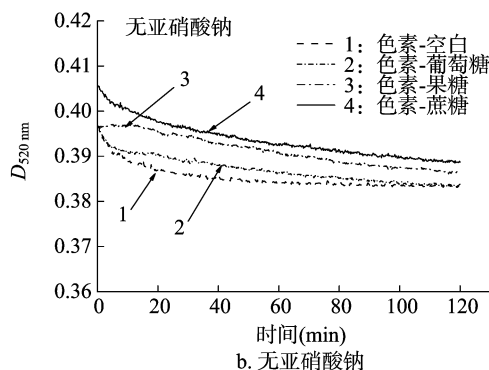


图5 糖与亚硝酸钠共存时的辅色作用动力学曲线

在 KHP 缓冲体系 (pH 值 = 3.0) 中, 0.09 mol/L 糖与 0.18 mmol/L 亚硝酸钠混合溶液在 3 h 后退至无色。由图 5 可知, 葡萄糖、果糖和蔗糖在一定程度上能够提高野生樱桃花色苷的抗氧化作用, 蔗糖的作用尤为明显。这可能是由于糖类降低了水活度, 水活度的降低会相应地导致花色苷的降解反应速率下降, 当水成为一种限制因素时, 花色苷发色团就不易水化生成无色化合物。

3 结论与讨论

本研究比较了 7 种有机酸和 3 种糖在 KHP 缓冲体系 (pH 值 = 3、4) 和 HAc - NaAc 缓冲体系 (pH 值 = 4) 中对野生



樱桃花色苷的辅色作用。有机酸在 pH 值 = 4 的 2 种缓冲溶液中的辅色度明显大于在 pH 值 = 3 的 KHP 缓冲体系中的辅色度。在研究的 7 种有机酸中除甘氨酸外, 草酸、丙二酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸和丁二酸在考察的浓度范围内都具有辅色作用, 有机酸浓度在 0.01 ~ 0.03 mol/L 范围内对野生樱桃花色苷的辅色度最大, 其中草酸的辅色作用最强, 甘氨酸具有减色作用。野生樱桃花色苷经草酸、丙二酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、丁二酸辅色处理后的热稳定性有不同程度的提高。葡萄糖、果糖、蔗糖对野生樱桃花色苷的辅色作用不明显。在与氧化剂亚硝酸钠共存条件下, 蔗糖明显表现出抑制亚硝酸钠对花色苷的氧化降解作用。

天然色素富含丰富的营养物质, 对人体无毒副作用, 具有一定的保健功能, 作为着色剂, 也有良好的着色效果。但在应用过程中, 天然色素稳定性受到很多因素的影响。本试验初步讨论了 7 种有机酸和 3 种糖对野生樱桃花色苷的辅色作用, 研究结果为野生樱桃花色苷的开发利用提供了参考依据。

参考文献:

- [1] 林培钧, 崔乃然, 王磊, 等. 天山野果林资源 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2000: 163.
- [2] 李利平, 海鹰, 安尼瓦尔·买买提, 等. 新疆伊犁地区野果林的群落特征及保护 [J]. 干旱区研究, 2011, 28(1): 60 - 66.
- [3] 王玮, 沈静, 姚军. 新疆野生樱桃李果皮中花色苷纯化工艺及体外抗氧化活性 [J]. 2018, 43(2): 247 - 252.

- [4] 刁永强, 许正, 陈淑英, 等. 新疆野生樱桃李种质资源研究现状及保护对策 [J]. 中国野生植物资源, 2017, 36(3): 57 - 61.
- [5] 王燕. 樱桃李 (*Prunus cerasifera* Ehrh.) 果实主要花青素组分及相关特性分析 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2012: 29.
- [6] 李紫薇, 欧阳艳, 腊萍, 等. 树脂法提取野酸梅皮色素工艺研究 [J]. 食品科学, 2012, 33(4): 62 - 65.
- [7] 张相铎, 焦子伟, 杨晓绒, 等. 基于微孔板对野生樱桃李果皮色素提取工艺的研究 [J]. 现代园艺, 2017(11): 6 - 9.
- [8] 李紫薇, 欧阳艳, 贾风勤, 等. 野酸梅皮色素抗氧化活性研究 [J]. 食品科技, 2011, 36(6): 269 - 271, 276.
- [9] 唐琳, 李子江, 赵磊, 等. 两种 pH 值法测定玫瑰花色苷含量的比较 [J]. 食品科学, 2009, 30(18): 310 - 313.
- [10] 翟硕, 张海悦, 于润美, 等. 响应面优化双水相提取黑豆皮花色苷工艺的研究 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(24): 24 - 31.
- [11] 霍琳琳, 苏平, 吕英华. 分光光度法测定桑葚总花色苷含量的研究 [J]. 酿酒, 2005, 33(4): 88 - 89.
- [12] 宋德群, 孟宪军, 王晨阳, 等. 蓝莓花色苷的 pH 示差法测定 [J]. 沈阳农业大学学报, 2013, 44(2): 231 - 233.
- [13] 顾林, 朱洪梅, 顾振新. 花青素的生物合成和成色机理及其提高其稳定性的途径 [J]. 食品工业科技, 2007, 28(11): 240 - 244.
- [14] 王萌, 李小定, 刘硕, 等. 有机酸对紫甘薯花色苷的辅色作用 [J]. 食品科学, 2014, 35(23): 119 - 124.
- [15] 曹少谦. 血橙花色苷结构及其在加工过程中的降解机制研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2009: 16.