

紫色番茄花青素提取条件筛选及稳定性分析

张艳晖^{1,2}, 刘娜², 朱为民², 郭世荣^{*1}

(1. 南京农业大学 园艺学院, 江苏 南京 210095; 2. 上海市农业科学院 园艺研究所/上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201106)

摘要: 以紫色番茄为原料测定果实中花青素质量分数并优化其提取条件。以花青素质量分数为指标, 通过设计单因素和正交试验对影响紫色番茄提取效果的甲醇体积分数、提取时间和提取温度进行分析, 得出紫色番茄果实花青素的最佳提取条件, 并分析了光、温度、pH 值和金属离子对紫色番茄浸提液中花青素的影响效应。结果表明, 基于单因素试验和正交试验发现体积分数 80% 甲醇, 30 ℃ 提取温度, 浸提时间为 2 h 的提取效果最好; 光、温度、pH 值、某些金属离子均能对花青素浸提液产生显著影响, 光强和温度均与花青素质量分数呈现出负相关性, pH 值在酸性范围内对花青素影响较小, 受测离子中 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Na^{+} 、 Mn^{2+} 在提取过程中能保护和提高花青素, 而 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 却降低了花青素的提取量。该结论为简单、快速、高效、测定紫色番茄果实中花青素质量分数提供了依据。

关键词: 紫色番茄; 花青素; 单因素试验; 正交试验; 稳定性

中图分类号: S 641.2 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2018)01-0088-05

Anthocyanin Extraction Conditions Screening and Stability Analysis of Purple Tomato

ZHANG Yanhui^{1,2}, LIU Na², ZHU Weimin², GUO Shirong^{*1}

(1. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Horticultural Research Institute / Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China)

Abstract: In this study, the content of anthocyanin in fruit was determined by purple tomato, and the extraction conditions were optimized. Based on the relative content of anthocyanin, through the single factor and orthogonal test extraction, the effect of methanol concentration, extraction time and extraction temperature were analyzed. Analysis of the effects of light, temperature, pH and metal ions on the purple tomato extract anthocyanin. Based on single factor and orthogonal tests, the optimum extraction was achieved with 80% methanol concentration at 30 ℃ for 2 hours. Light, temperature, pH value, certain metal ions could have a significant impact on the anthocyanin extracts. Light intensity and temperature were associated with anthocyanin content showed a negative correlation.

收稿日期: 2015-11-09

基金项目: 上海市科技支撑计划项目(13391901203); 上海市市级农口系统青年人才成长计划(沪农青字(2016)第 1-23 号); 上海市星火富民项目(15391918700)。

* 通信作者: 郭世荣(1958—), 男, 山西运城人, 农学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事蔬菜生理及设施园艺研究。

E-mail: srguo@njau.edu.cn

引用本文: 张艳晖, 刘娜, 朱为民, 等. 紫色番茄花青素提取条件筛选及稳定性分析[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(01): 88-92.

pH value in the acidic range of the internal anthocyanins less affected. Mg^{2+} , Ca^{2+} , Al^{3+} , Na^{+} , Mn^{2+} in the extraction process to protect and improve the anthocyanin, and Zn^{2+} , Cu^{2+} , but reduces the amount of anthocyanin extract. The conclusions provided a basis, which was simple rapid and efficient determination of the purple tomato fruit anthocyanin content.

Keywords: purple tomato, anthocyanin, single factor test, orthogonal test, stability

花青素(Anthocyanin)是源于苯丙烷代谢生化途径的多酚类化合物,属于植物次生代谢产物黄酮类^[1-2],与脂溶性的胡萝卜素共同决定花朵和果实的颜色。花青素极具营养和药理价值,能清除自由基、且清除能力大于VC和芦丁。因此,植物中花青素受到人们越来越多的关注^[3-6]。

紫色番茄是番茄的一个特色品种,果肉呈紫红色,具有独特的外观和较高的营养价值。紫色番茄不仅含有普通番茄所具有的营养物质,而且富含具有强抗氧化能力的花青素和醛类、醇类、酮类、酯类等多种挥发性物质^[7-9]。花青素已成为紫色番茄一个重要的品质指标。

作者采用传统的有机溶剂提取法对紫色番茄果实中花青素进行提取,并通过单因素和正交试验确定其最佳提取条件,以便找到更为简便、精确的提取方式,通过稳定性实验测定了紫番茄花青素对光、温度、酸碱度和一些金属离子的反应情况,以期对紫色番茄果实中花青素提取保存以及开发利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料由上海市农业科学院番茄课题组提供的综合性状较好的紫色番茄,品种编号为D15-156-15。

1.2 方法

1.2.1 花青素的提取与测定 参照 Mehrtens 等的方法进行,略有改动^[10-11]。在避光条件下称取番茄果实鲜样 0.5 g,加入 7 mL 不同体积分数的盐酸甲醇溶液(A),于研钵快速研磨,并完全转移至 15 mL 离心管中,于不同温度(B)、不同时间条件下浸提(C),然后置于振荡培养箱中,180 r/min 振荡,8 000 离心 10 min,取 0.4 mL 上清,加入盐酸甲醇 0.6 mL,混匀,用分光光度计分别测量提取液在波长 525 nm 和 657 nm 处的吸收值。

1.2.2 甲醇体积分数的筛选 样品分别用体积分数 0、20%、40%、60%、80%、100% 相同酸度的酸化甲醇于 20 ℃ 条件下浸提 2 h 后,测定花青素的质量分数,筛选最佳甲醇体积分数。

1.2.3 浸提温度的筛选 利用得到的最佳甲醇体积分数,样品分别在 20、30、40、50、60 ℃ 温度条件下于盐酸甲醇溶液中浸提 2 h 后测定花青素的相对含量,筛选最佳浸提温度。

1.2.4 浸提时间的筛选 利用得到的最佳甲醇体积分数和浸提温度,样品分别震荡浸提 1、2、4、6、8 h 后测定花青素的质量分数,筛选最佳浸提时间。

1.2.5 设计正交试验 选择主要影响因素甲醇体积分数(A)、提取温度(B)和提取时间(C)为研究对象,以花青素质量分数为指标,采用三因素三水平正交试验优化紫色番茄果实花青素提取条件。

1.2.6 紫番茄花青素的光稳定性 取等量紫番茄花青素浸提液分为 4 个组,第 1 组放置于光照培养箱中黑暗处理、第 2 组置于光照培养箱中光照强度为 50%(约 10 000 Lx)、第 3 组置于光照培养箱中光照强度为 100%(约 20 000 Lx),测定 0、12、24、36、48 h 的吸光度。第 4 组实验室自然光下进行,夜晚不进行补光处理。

1.2.7 紫番茄花青素的热稳定性 取等量紫番茄花青素浸提液,置于恒温水浴锅中,分别在 0、10、20、30、40、50、60、70、80 ℃ 条件下保存 1 h (遮光处理),冷却至室温后,在最大吸收波长处测定吸光度。

1.2.8 紫番茄花青素的酸碱度稳定性 用 0.1 mol/L HCl 溶液和 0.1 mol/L NaOH 溶液分别调节浸提液 pH 1、3、5、7、9、11、13,静置 30 min 后测吸光值。

1.2.9 紫番茄花青素的金属离子稳定性 取等量紫番茄花青素浸提液,分别加入质量浓度为 0.5 g/L 的 NaCl、CaCl₂、MgCl₂、ZnSO₄、AlCl₃、CuSO₄、MnSO₄ 溶液,放置 48 h 后测定吸光度。

1.3 数据处理与统计分析 采用 Excel 软件对数据进行处理和制图,用 SPSS 统计软件进行正交试

验的设计和后续数据的处理。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 甲醇体积分数的筛选 将无水甲醇与蒸馏水以不同比例混匀,得到体积分数为0、20%、40%、60%、80%、100%的甲醇溶液,用酸化的这些甲醇溶液浸提紫番茄中的花青素,结果如图2,花青素质量分数整体呈现出先上升后下降的趋势,说明加入甲醇溶剂,可明显提高浸提效率。当甲醇体积分数在60%~100%之间,花青素质量分数下降,这说明水在花青素提取过程中也起着不可或缺的作用。综合分析发现60%的甲醇浸提液效果最好,花青素质量分数达到0.365 FW/g。

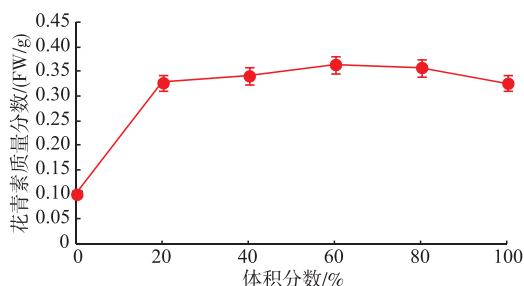


图1 甲醇体积分数对花青素提取的影响

Fig. 1 Methanol extracts of different concentrations of anthocyanin content

2.1.2 浸提温度筛选结果 在筛选得到的体积分数为60%的甲醇溶液中,2 h的浸提处理,由图3可以看出花青素质量分数随温度变化非常显著,呈现出先上升再下降的趋势,在30℃时达到峰值,在20℃时,花青素质量分数最低,且在20~30℃之间花青素质量分数上升幅度很大。

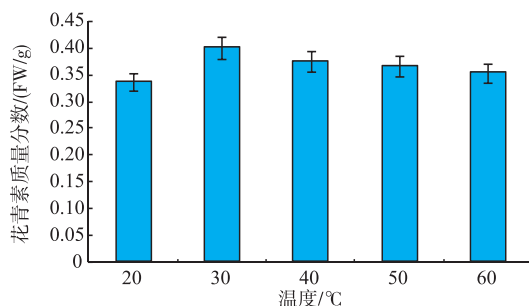


图2 温度对花青素提取的影响

Fig. 2 At different temperatures anthocyanin extraction conditions

2.1.3 浸提时间筛选结果 在筛选得到的体积分数为60%的甲醇溶液和最佳浸提温度30℃条件下,分别采用1、2、4、6、8 h浸提紫色番茄匀浆,由图4可见,花青素质量分数呈现出先上升后下降的趋势。

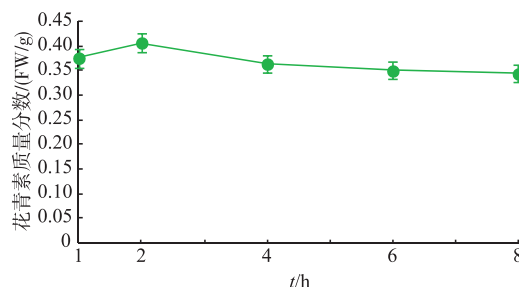


图3 时间对花青素提取的影响

Fig. 3 Under different circumstances time anthocyanin extraction

2.2 正交试验筛选结果

分析表4可以看出,在紫番茄花青素提取过程中,3个因素均达到了显著水平,且因素影响顺序为 $A > B > C$,即甲醇体积分数对提取效果影响最大,提取时间影响最小,提取温度影响居中。

通过分析表3,以甲醇为溶剂紫色番茄花青素提取过程中,由3个因素的均值分析得到最佳组合为 $A_2B_2C_1$,即甲醇体积分数为80%,浸提温度为30℃,时间为2 h,花青素达到最高值。综合考虑提取成本等各方面因素,最终选用 $A_2B_2C_1$ 为最优化的提取方式。

表1 红熟期正交试验结果

Table 1 Results of the orthogonal test in red ripe stage

试验号	A 甲醇体积分数	B 提取温度	C 提取时间	花青素质量 分数(FW/g)
1	1.00	2.00	2.00	0.372
2	3.00	2.00	3.00	0.366
3	3.00	3.00	1.00	0.360
4	2.00	1.00	3.00	0.380
5	2.00	2.00	1.00	0.454
6	1.00	1.00	1.00	0.336
7	2.00	3.00	2.00	0.388
8	3.00	1.00	2.00	0.342
9	1.00	3.00	3.00	0.300
均值 1	0.336	0.407	0.356	
均值 2	0.353	0.397	0.349	
均值 3	0.383	0.367	0.349	
极差	0.035	0.048	0.071	

表 2 红熟期方差分析

Table 2 Analysis of variance in red ripe stage

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著差异
A	0.008	2	0.004	94.216	0.011	*
B	0.004	2	0.002	49.990	0.020	*
C	0.002	2	0.001	20.948	0.046	*

注:*, $P < 0.05$, 差异显著。

2.3 花青素的稳定性

2.3.1 光照对紫番茄花青素的影响 光处理实验结果如图 4, 避光条件下, 花青素质量分数几乎不下降, 只由开始的 0.402 FW/g, 48 h 后最终降为 0.387 FW/g, 降解率只有 3.7%。在 100% (约为 20 000 Lx) 强光照照射下, 花青素含量降低最多, 最终降为 0.321 FW/g。50% 的弱光照射和实验室自然光处理两条折线几乎重合, 但是自然光处理比 50% 的弱光处理结果变化波动性更大一些。

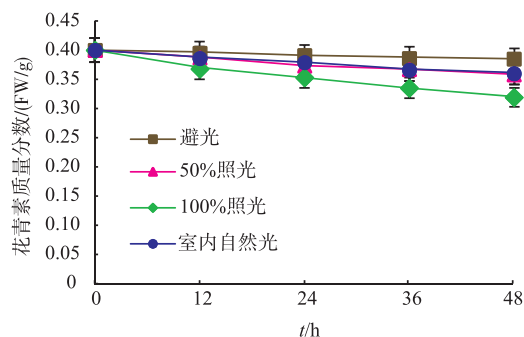


图 4 紫番茄花青素的光稳定性

Fig. 4 Light stability of anthocyanin in purple tomato

2.3.2 温度对紫番茄花青素的影响 温度对花青素的影响也很显著, 除 0 到 10 °C 之间花青素质量分数不降低以外, 总体看来花青素质量分数与水浴温度呈现负相关, 即随水浴温度的增高呈现出下降趋势, 且温度越高, 花青素质量分数降低幅度越大, 温度高于 60 °C 以后, 下降幅度尤为明显。但是在 60 °C 以下, 尤其是低于 40 °C 时, 花青素质量分数变化幅度很小, 只从初始的 0.402 FW/g 降低为 0.380 FW/g。

2.3.3 酸碱度对紫番茄花青素的影响 酸碱度对花青素浸提液的影响也很大, 在 pH=3 时, 花青素质量分数最高为 0.397 FW/g, 在 pH=5 时略微降低至 0.388 FW/g, 其次是 pH=1 时 0.381 FW/g。在 pH=13 时, 花青素质量分数低至 0.122 FW/g (如图 6)。

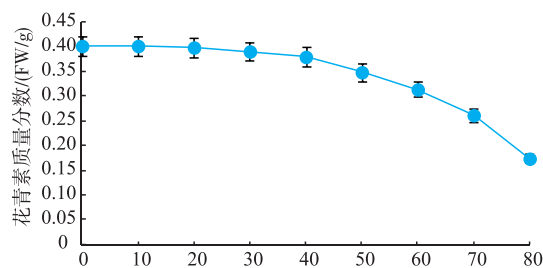


图 5 紫番茄花青素的热稳定性

Fig. 5 Temperatures stability of anthocyanin in purple tomato

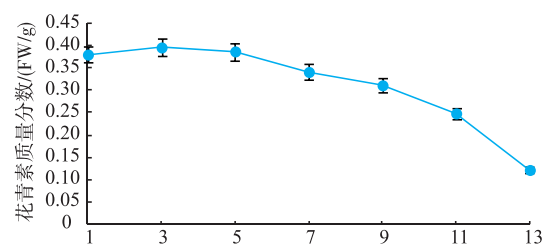


图 6 紫番茄花青素的 pH 稳定性

Fig. 6 pH value stability of anthocyanin in purple tomato

2.3.4 金属离子对紫番茄花青素的影响 如图 7 所示, 各类金属离子也能够影响浸提液中花青素的含量。与对照相比, Mg^{2+} 对浸提液的增色作用非常明显, 最高可达到 0.489 FW/g。 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Na^{+} 、 Mn^{2+} 对浸提液也具有一定的增色护色作用, 而 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 能够降低花青素的质量分数, 尤其是 Cu^{2+} , 可使花青素质量分数低至 0.113 FW/g。

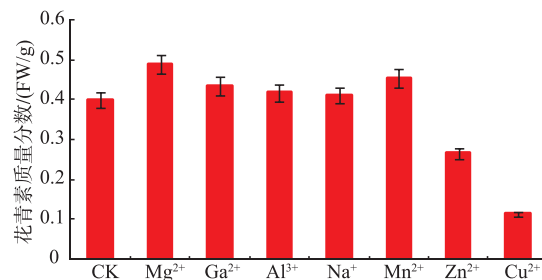


图 7 紫番茄花青素对金属离子的稳定性

Fig. 7 Metal ions stability of anthocyanin in purple tomato

3 结语

综合考虑各因素对提取花青素影响的大小, 以及各因素之间的交互作用等方面, 选择正交试验结果作为紫番茄花青素最优提取条件, 即 30 °C 下, 用 80% 的酸化盐酸甲醇溶液处理 2 h。

作者通过稳定性实验,发现光、温度、pH 值、某些金属离子均能对花青素浸提液产生显著影响。其中花青素随着光强的增强,呈现出明显的下降趋势。这可能是因为强光能够破坏花青素的稳定机构,所以在花青素的提取过程中尽量避光保存。温度对花青素的影响也很显著,在 40℃ 以下,花青素

质量分数变化不大,在 60℃ 以上,花青素质量分数下降幅度剧增。因此,花青素的提取和存放温度最好是在 40℃ 以下。碱度与花青素含量呈现区间性,即在 $\text{pH} < 3$, 对花青素的提取有促进作用。 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Na^{+} 、 Mn^{2+} 这些金属离子对花青素的提取起到促进作用。

参考文献

- [1] KOES R, VERWEIJ W, QUATTROCCHIO F. FLAVONOIDS: A colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways[J]. **Trends in Plant Science**, 2005, 10(5): 236-242.
- [2] TANAKA Y, OHMIYA A. Seeing is believing: engineering anthocyanin and carotenoid biosynthetic pathways [J]. **Current Opinion in Biotechnology**, 2008, 19(2): 190-197.
- [3] LI Chunyang, XU Shiyang, WANG Zhang. Measuring the antiradical efficiency of proanthocyanidin from grape seed by the DPPH· Assay[J]. **Food Science and Biotechnology**, 2006(2): 102-106. (in Chinese)
- [4] HUANG H R, SHIH Y W, CHANG Y C, et al. Chemoinhibitory effect of mulberry anthocyanins on melanoma metastasis involved in the Ras/Pi3k pathway[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2008, 56(19): 9286-9293.
- [5] DU , ZHENG , YU . Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity [J]. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2008, 21(5): 390-395.
- [6] LIU L K, LEE H J, SHIH Y W, et al. Mulberry anthocyanin extracts inhibit ldl oxidation and macrophage-derived foam cell formation induced by oxidative ldl[J]. **Journal of Food Science**, 2008, 73(6): H113-H121.
- [7] GUIL-GUERRERO J, REBOLLOSO-FUENTES M. Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties[J]. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2009, 22(2): 123-129.
- [8] CHANG Peipei, ZHANG Jing, YANG Jianhua, et al. Analysis of volatile compounds in purple tomato fruits [J]. **Food Science**, 2014, 14: 165-169. (in Chinese)
- [9] 李红艳. 紫色番茄中主要活性成分的组成及其抗氧化抗癌活性的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- [10] 刘超. 紫甘薯花青素的提取及其稳定性和抗氧化性的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2008.
- [11] MEHRTENS F, KRANZ H, BEDNAREK P, et al. The Arabidopsis transcription factor MYB 12 is a flavonol-specific regulator of phenylpropanoid biosynthesis[J]. **Plant Physiology**, 2005, 138: 1083-1096.

会 议 消 息

会议名称(中文): 第一届全国环境微塑料污染与管控学术研讨会

所属学科: 生态学, 环境科学, 环境管理与规划, 环境生态

开始日期: 2018-06-08 结束日期: 2018-06-10

所在城市: 浙江省 舟山市 具体地点: 浙江省舟山市浙大圆正海际酒店

主办单位: 浙江工业大学、浙江大学

协办单位: 华东师范大学; 中国科学院烟台海岸带研究所; 国家海洋环境监测中心; 南京大学; 暨南大学; 中国环境科学研究院; 中国科学院院刊编辑部; 浙江农林大学; 中国科学院南京土壤研究所; 国家海洋局第一海洋研究所; 中国科学院武汉水生生物研究所; 新疆蓝山屯河聚酯有限公司; 上海仁渡海洋公益发展中心

全文截稿日期: 2018-04-08 参会报名截止日期: 2018-05-08 联系人: 罗宏伟, 李玉, 项亚慧, 赵瑶瑶, 费茵

联系电话: 0571-88320634, 0580-2092707 E-MAIL: lhw0106@163.com 会议注册费: 1600

会议网站: <http://www.zjut.edu.cn/newsDetail.jsp?id=16755>