

甘蔗皮花色苷的提取及辅色剂对花色苷的辅色作用研究

闫怀锋, 赵振刚

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 采用溶剂提取法提取甘蔗皮中的花色苷, 通过单因素实验方法和正交实验方法确定了花色苷的最佳提取工艺条件; 选取三种辅色剂(阿魏酸、香草酸和4-香豆酸)与甘蔗皮花色苷进行辅色反应, 研究不同温度和pH值条件下辅色剂的辅色效应。结果表明, 最佳提取工艺条件为: 提取剂组成($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}=2:2:1$, pH=1.0), 料液比1:10(g/mL), 提取时间120 min, 提取温度20℃。在此条件下, 花色苷总含量为 125.01 ± 1.77 mg/100 g DW(甘蔗皮干重)。在模拟酒体系中, 辅色剂对甘蔗皮花色苷的辅色效果随辅色剂质量浓度的增加而增强; 降低pH可增强辅色效应, 当达到最适辅色pH时辅色反应达到平衡; 达到最适辅色温度后辅色效应随温度升高而减弱; 三种辅色剂的辅色效应从强到弱依次为: 4-香豆酸>阿魏酸>香草酸。

关键词: 甘蔗皮; 辅色; 花色苷; 提取

文章编号: 1673-9078(2017)9-176-182

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.9.026

Extraction of Anthocyanins from Sugarcane Rind and Co-pigmentation Effect of Co-pigments on Anthocyanins

YAN Huai-feng, ZHAO Zhen-gang

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Anthocyanins were extracted from sugarcane rind with mixed organic reagents as extraction solvents. The optimum extraction conditions were determined by single-factor and orthogonal experiments. The co-pigmentations of anthocyanin extracts were conducted with three co-pigments (ferulic acid, vanillic acid, and *p*-coumaric acid), and the effect of reaction temperature and pH on the co-pigmentation using co-pigments was determined. The optimum extraction conditions were as follows: extraction solvent composition: $V_{\text{methanol}}:V_{\text{acetone}}:V_{\text{water}}=2:2:1$ (pH = 1.0); material to liquid ratio: 1:10 (g/mL); extraction time: 120 min; extraction temperature: 20°C. Under this condition, the total anthocyanin content reached 125.01 ± 1.77 mg/100 g dry rind (dry weight). In the wine model system, an increase in the co-pigmentation effect was observed with increasing mass concentration of co-pigments. A decrease in pH value could promote the co-pigmentation effect of co-pigments on anthocyanins, and co-pigmentation reached an equilibrium when the optimal pH value for co-pigmentation was reached. After the optimal temperature for co-pigmentation was reached, a decrease in co-pigmentation was observed with increasing temperature. The co-pigmentation effects of three co-pigments were in a descending order: *p*-coumaric acid > ferulic acid > vanillic acid.

Key words: sugarcane rind; co-pigmentation; anthocyanins; extraction

甘蔗 (*Saccharum L.*) 是一年生或多年植物, 在我国南方各省均有种植。甘蔗皮占植物质量的20%且含有丰富的花色苷, 至今没有得到充分的利用。花色苷类物质广泛存在于色彩鲜艳的水果蔬菜中, 不仅具有抗氧化等生物功能^[1], 而且是潜在天然植物色素^[2]。

收稿日期: 2017-03-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(31301506); 华南理工大学“探索性实验”教学项目; 广东省水利厅科技创新项目(2016-24)

作者简介: 闫怀锋(1989-), 男, 硕士, 研究方向: 食品营养与健康

通讯作者: 赵振刚(1979-), 男, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 制糖工程, 功能碳水化合物, 碳水化合物分子修饰的研究

目前花色苷的提取工艺主要为溶剂浸提法^[3]、微波^[4]和超声波辅助法^[5], 溶剂浸提法提取率较低, 而微波和超声波辅助法增加生产成本, 但是溶剂具有不同极性效应, 通过选择恰当极性的溶剂能够进一步地提高溶剂法提取甘蔗皮花色苷的产量。甘蔗皮花色苷不稳定, 高温、碱性条件和光照均会引起花色苷降解^[6], 辅色剂可以有效地保护花色苷^[7], 可能的过程是辅色剂与花色苷之间发生非共价辅色作用如氢键(hydrogen bond)和范德华力(van der Waals)^[8]。辅色反应受到体系的pH值^[9]、花色苷和辅色剂的种类、浓度^[10]及温度^[11]等因素影响。酚酸类物质广泛存在于

果蔬中,在甘蔗及其产品中也有发现,其作为辅色剂可以增加产品颜色并增强产品色泽的稳定性,国外学者对酚酸类物质辅色能力的研究已有报道。但国内关于甘蔗皮花色苷的研究主要集中在花色苷的提取和鉴定^[12],而有关辅色剂对甘蔗皮花色苷辅色作用的研究鲜有报道,因此研究不同酚酸类物质在模拟体系中对花色苷的辅色效果具有较高的实用价值。本研究优化了甘蔗皮花色苷的提取方法;通过模拟体系光谱的变化研究了三种辅色剂与甘蔗皮花色苷的辅色作用,同时研究了辅色剂浓度、温度和 pH 对花色苷辅色反应的影响,为甘蔗皮花色苷的提取和稳定提供理论依据,以更好地实现甘蔗资源综合利用。

1 实验部分

1.1 原料、试剂与仪器

甘蔗,采购于广州甘蔗糖业研究所。

AB-8 大孔吸附树脂(南开大学化工厂);丙酮、无水醋酸钠、氯化钾、无水甲醇、氯化钠、柠檬酸和盐酸均为 AR(天津市大茂化学试剂厂)。

紫外分光光度计(DU730 美国 Beckman Coulter 有限公司);DW 100 型号 Milli-Q Advantage A10 超纯水系统(德国 Merck Millipore 有限公司);FE20/EL20 pH 计(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)

1.2 方法

1.2.1 原料的预处理

取采购的甘蔗皮洗净晾干,去除甘蔗皮里层的白色纤维,置于通风阴凉处晾干,用中草药粉碎机(天津泰斯特)将其破碎成粉末状,过 40 目筛,装袋,4℃ 避光保存。

1.2.2 甘蔗皮花色苷的提取

取适量的甘蔗皮粉末,按一定的料液比,加入一定体积比的甲醇,丙酮和水混合溶液,在一定温度下浸提一段时间,然后减压抽滤,3000 r/min 离心 10 min,取上清液用去离子水定容至 1000 mL,得到甘蔗皮花色苷粗提液。

1.2.3 甘蔗皮花色苷的纯化

将经过预处理后的 AB-8 大孔吸附树脂 300 mL 湿法装柱,取 800 mL 质量浓度为 4 g/L 的甘蔗皮花色苷粗提液,以 3.0 mL/min 的流速缓慢倒入层析柱中,静置 60 min 使花色苷被充分吸附,用 3 倍柱体积的去离子水进行冲洗除去杂质,之后用体积分数为 60% 的乙醇洗脱液以 3.0 mL/min 的流速进行洗脱,直到流出的洗脱液在 520 nm 处的吸光值为零后停止洗脱。将收

集的洗脱液在 20~30℃,100 r/min 的条件下真空旋转蒸发浓缩,3000 r/min 离心后得到甘蔗皮花色苷母液,-20℃ 冻藏备用。

1.2.4 单因素实验

1.2.4.1 提取剂组成

分别称取 10 g 甘蔗皮粉于各烧杯中,加入提取剂,其体积比 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}$ 分别为 1:7:2, 5:11:4, 2:2:1, 11:5:4 和 7:1:2,加入 6 mol/L 的盐酸,用 pH 计调节溶液 pH 至 1.0,下同。提取温度为 20℃,提取时间 120 min,料液比 1:10 (g/mL)。抽滤,3000 r/min 离心,定容至 10 mL,测定其吸光度并计算含量。

1.2.4.2 料液比

分别称取 10 g 甘蔗皮粉于各烧杯中,加入体积比 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}=2:2:1$ (pH=1.0) 的溶剂,提取温度为 20℃,提取时间 120 min。以料液比 1:5、1:10、1:15、1:20 和 1:25 (g/mL) 进行提取,抽滤,3000 r/min 离心,定容至 10 mL,测定其吸光度并计算含量。

1.2.4.3 提取时间

分别称取 10 g 甘蔗皮粉于各烧杯中,加入体积比 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}=2:2:1$ (pH=1.0) 的溶剂,提取温度为 20℃,料液比 1:10 (g/mL)。以提取时间 30 min、60 min、90 min、120 min 和 150 min 进行提取,抽滤,3000 r/min 离心,定容至 10 mL,测定其吸光度并计算含量。

1.2.4.4 提取温度

分别称取 10 g 甘蔗皮粉于各烧杯中,加入体积比 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}=2:2:1$ (pH=1.0) 的溶剂,提取时间为 120 min,料液比 1:10 (g/mL)。以提取温度 10℃、15℃、20℃、25℃ 和 30℃ 进行提取,抽滤,3000 r/min 离心,定容至 10 mL,测定其吸光度并计算含量。

1.2.5 甘蔗皮花色苷总含量的测定

采用 pH 示差法^[13]测定甘蔗皮中花色苷总含量。按下列公式计算:

$$H(\text{mg}/100 \text{ g DW})=(A \times \text{Mr} \times \text{DF} \times V)/(\varepsilon \times L \times W_t)$$

$$\text{其中, } A=(A_{\lambda_{\text{max}}}-A_{700})_{\text{pH}1.0}-(A_{\lambda_{\text{max}}}-A_{700})_{\text{pH}4.5}$$

式中: H 为花色苷总含量; A 为吸光度值; ε 为矢车菊-3-O-葡萄糖苷的消光系数, 29600; L 为光程, 1 cm; Mr 为矢车菊-3-O-葡萄糖苷的相对分子量, 449.2; DF 为稀释倍数; V 为最终体积; W_t 为样品质量, g; λ_{max} 为甘蔗皮花色苷的最大吸收波长, 经扫描确定。

1.2.6 酒模拟体系中辅色剂浓度对甘蔗皮花色苷辅色的影响

用无水乙醇配制浓度为 1.00 mg/mL 的阿魏酸,香草酸和 4-香豆酸溶液;取 1.00 mL 甘蔗皮花色苷母液,分别添加 0.08 mL、0.32 mL、0.48 mL、0.64 mL 和 0.80

mL 上述辅色剂; 用 pH 为 3.0 的柠檬酸-柠檬酸钠溶液 (15%乙醇, *V/V*) 定容至 8.00 mL, 得到辅色剂浓度分别为 0.01 mg/mL、0.04 mg/mL、0.06 mg/mL、0.08 mg/mL 和 0.10 mg/mL 的混合溶液, 以不加辅色剂的溶液为对照。混匀后, 将混合物置于 20 °C 下避光静置 2.5 h, 在 400~700 nm 波长范围内扫描, 记录其可见光吸收光谱。

1.2.7 酒模拟体系中温度对甘蔗皮花色苷辅色的影响

取 1 mL 甘蔗皮花色苷母液, 分别加入 0.64 mL 的辅色剂, 用 pH 为 3.0 的柠檬酸-柠檬酸钠溶液 (15%乙醇, *V/V*) 定容至 8.00 mL, 混匀后, 分别置于 10 °C、15 °C、20 °C、25 °C 和 30 °C 下避光静置 2.5 h 在 400~700 nm 波长范围内扫描, 记录其可见光吸收光谱。

1.2.8 酒模拟体系中 pH 值对甘蔗皮花色苷辅色的影响

取 1.00 mL 甘蔗皮花色苷母液, 分别加入 0.64 mL 的辅色剂, 分别用 pH 值 1.0、2.0、3.0 和 4.0 的柠檬酸-柠檬酸钠溶液 (15%乙醇, *V/V*) 定容至 8.00 mL, 混匀后, 置于 20 °C 下避光静置 2.5 h, 在 400~700 nm 波长范围内扫描, 记录其可见光吸收光谱。

1.2.9 数据处理

采用 SPSS 17.0 对数据进行分析, 采用 Origin 9.1 进行绘图, 所有实验重复测定 3 次。

2 结果与讨论

2.1 单因素对甘蔗皮花色苷提取的影响

如图 1a 所示, 甘蔗皮花色苷的含量随甲醇浓度的增大而增大, 当甲醇体积分数达 40% 时, 花色苷的含量达到最大, 继续增加甲醇体积分数, 含量逐渐降低。有研究表明甲醇溶液提取效率高于乙醇及水溶液^[14], 加入丙酮不仅可以消除果胶对提取花色苷效果的影响, 而且可获得更接近于天然状态的花色苷。采用盐酸酸化可保持提取液 pH 值较低, 降低花色苷的降解速率^[15]。因此, 选定体积比 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}$ 为 2:2:1 的溶剂组合 (pH=1.0) 为提取剂。

由图 1b 可知, 甘蔗皮花色苷的含量随料液比的增大先增加后减小, 当料液比为 1:10 时, 花色苷的浸出率最高。可能的原因是当料液比为 1:10 时, 甘蔗皮中花色苷与提取剂之间达到溶解平衡, 提取剂体积增加会溶解更多的杂质, 反而影响甘蔗皮花色苷的提取。因此, 选择料液比 1:10 为最适料液比, 进行后续实验。

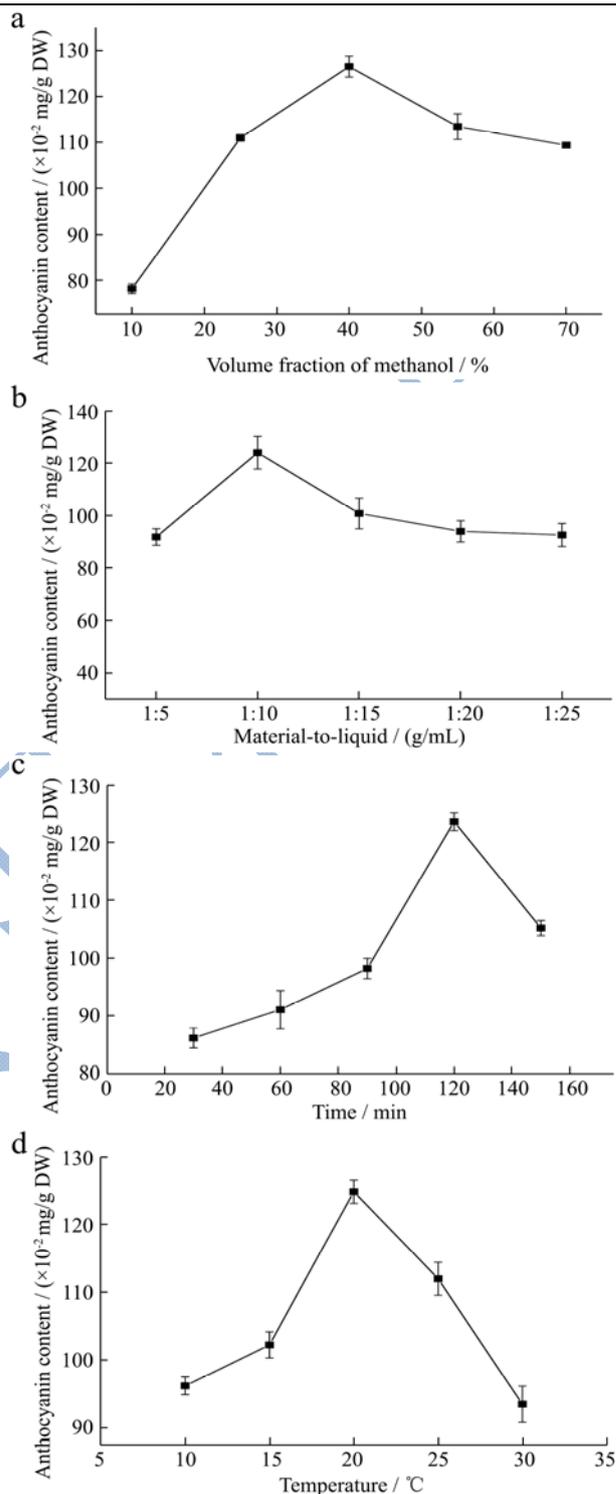


图 1 甲醇体积分数 (a)、料液比 (b)、时间 (c) 和温度 (d) 对甘蔗皮花色苷提取的影响

Fig.1 Effect of volume fraction of methanol (a), material-to-liquid ratio (b), time (c), and temperature (d) on the anthocyanin extraction yield

由图 1c 可知, 甘蔗皮花色苷的含量随提取时间的增加而增大, 当提取时间达到 120 min 时, 提取效果

最好。时间超过 120 min, 含量增加不明显, 反而有所下降。可能是提取时间过长, 提取剂中部分甲醇和丙酮挥发, 花色苷受到的保护减弱, 水分子攻击花色苷母核频繁, 部分花色苷降解, 花色苷提取量降低。因此, 选择 120 min 为最适提取时间, 进行后续实验。

如图 1d 所示, 甘蔗皮花色苷的含量随提取温度的增加而增大, 当温度达到 20 °C 时花色苷含量达到最大, 原因可能是 20 °C 之前, 温度升高, 甘蔗皮花色苷分子热运动加剧, 此时由于溶液中酸度较大, 花色苷分子多以黄烺盐离子形式存在, 容易溶于提取剂, 故花色苷提取量随温度升高而增加; 此后随着温度的上升, 花色苷的提取量逐渐下降, 30 °C 时的提取量甚至低于 10 °C, 原因可能是高温导致花色苷类物质发生降解。因此, 选择 20 °C 为最佳提取温度, 进行后续实验。

2.2 正交实验优化提取工艺

2.2.1 正交实验设计及结论

由于各个因素间相互作用, 本实验以甘蔗皮花色苷含量作为考察指标, 对影响提取效果的提取溶剂浓

度组合 (A)、料液比 (B)、提取时间 (C) 和提取温度 (D) 四个因素进行 $L_9(3^4)$ 正交实验。因素水平见表 1, 实验结果见表 2。由表 2 中结果可知, 最佳提取工艺为 $A_2B_2C_2D_2$, 即体积比 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}=2:2:1$ (pH=1.0), 料液比 1:10, 提取时间 120 min, 提取温度 20 °C。由极差结果分析可知, 甘蔗皮花色苷提取因素主次顺序为: 料液比>有机溶剂浓度组成>提取时间>提取温度。

2.2.2 最佳提取工艺条件验证

由于表中没有 $A_2B_2C_2D_2$ 组合, 故重新进行验证, 得到甘蔗皮花色苷的含量 $125.01 \pm 1.77 \text{ mg}/100 \text{ g DW}$, 高于 $A_1B_2C_2D_2$ 组合, 因此确定最佳工艺提取条件为: 有机溶剂浓度组成为体积比 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}=2:2:1$ (pH=1.0), 料液比 1:10, 提取时间 120 min, 提取温度 20 °C, 此方法得到的花色苷含量明显高于 Li 等^[12] 的实验结论: 提取甘蔗各部分的花色苷最高含量为 $12.7 \text{ mg}/100 \text{ g DW}$, 原因可能是选取的甘蔗品种不同, 所含花色苷含量不同, 提取剂等外部环境也可能对提取效果产生影响。

表 1 正交实验的因素和水平

Table 1 Factors and levels of the orthogonal experiment

| 水平 | 因素 | | | |
|----|--|--------------|------------|---------|
| | A 体积比 ($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}$) | B 料液比/(g/mL) | C 提取时间/min | D 温度/°C |
| 1 | 5:11:4 | 1:5 | 90 | 15 |
| 2 | 2:2:1 | 1:10 | 120 | 20 |
| 3 | 11:5:4 | 1:15 | 150 | 25 |

表 2 正交实验结果

Table 2 Results of the orthogonal experiment

| 试验号 | A | B | C | D | 含量/(mg/100 g DW) |
|-----|--------|--------|--------|--------|------------------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 55.65 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 111.37 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 65.57 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 89.23 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 97.46 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 78.46 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 71.15 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 77.98 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 60.80 |
| K1 | 232.59 | 216.03 | 212.09 | 213.91 | |
| K2 | 265.15 | 286.81 | 261.40 | 260.98 | |
| K3 | 209.93 | 204.83 | 234.18 | 232.78 | |
| k1 | 77.53 | 72.01 | 70.70 | 71.30 | |
| k2 | 88.38 | 95.60 | 87.13 | 86.99 | |
| k3 | 69.98 | 68.28 | 78.06 | 77.59 | |
| R | 18.41 | 27.33 | 16.44 | 15.69 | |

2.3 酒模拟体系下的辅色反应

2.3.1 辅色剂浓度对甘蔗皮花色苷辅色的影响

图2为不同质量浓度下阿魏酸, 香草酸和4-香豆酸与甘蔗皮花色苷发生辅色反应的可见光吸收图谱。

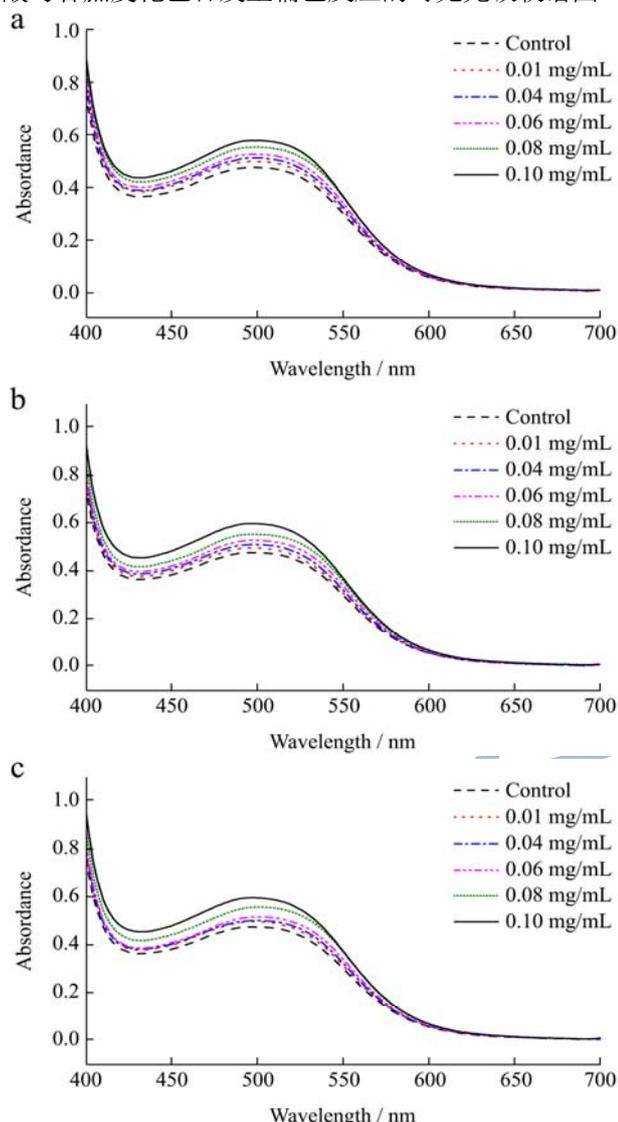


图2 不同质量浓度的辅色剂与甘蔗皮花色苷辅色后的可见光吸收图谱

Fig.2 Visible absorption spectra of the solution after co-pigmentation of anthocyanin with co-pigments at different concentrations

注: a~c 分别表示添加的阿魏酸、香草酸和4-香豆酸。

由图2可知, 与对照组相比, 随着辅色剂质量浓度从0.01 mg/mL增加到0.10 mg/mL, 添加阿魏酸的溶液最大波长处的吸收值($A_{\lambda_{max}}$)从5.68%增加到22.02%, 香草酸从1.22%增加到21.47%, 4-香豆酸从1.62%增加到22.20%。由此可见, 三种辅色剂对甘蔗皮花色苷均具有辅色效应; 辅色剂质量浓度越高, 辅色效果越好; 阿魏酸和4-香豆酸的辅色作用要强于香草

酸。



式1~3中, AH^+ 为黄烱盐离子, CP为辅色剂。无色的辅色剂与花色苷黄烱盐离子结合导致平衡朝着生成黄烱盐离子方向移动。辅色剂浓度对矢车菊素类花色苷辅色作用的影响已有研究报道^[16], 即辅色剂浓度增加, 体系的 $A_{\lambda_{max}}$ 越大, 辅色效果越强。原因是高浓度的辅色剂中羟基和甲氧基更易与 AH^+ 发生分子间辅色作用, 式1~3中平衡朝生成复合物的方向移动。通过体系 $A_{\lambda_{max}}$ 的变化, 可以推测, 辅色剂的结构会影响辅色效应, 阿魏酸和香草酸的分子中含有较多的羟基和甲氧基, 但可能形成分子内氢键。4-香豆酸的分子中虽含有较多的羟基和甲氧基, 但更倾向于形成分子间氢键, 故4-香豆酸对甘蔗皮花色苷的辅色效果更强。

由此可知, 含有较多羟基和甲氧基的辅色剂与花色苷之间可能更易产生非共价键作用^[8]。同时本实验的结论与 Zhang 等^[8]的研究结论: 锦葵色素与有机酸的辅色效应随辅色剂摩尔浓度的增加而增强相一致。综上所述, 三种辅色剂与花色苷发生了分子间辅色作用, 并且随着辅色剂质量浓度的增加辅色作用越强, 辅色剂的辅色作用从强到弱为: 4-香豆酸>阿魏酸>香草酸。

2.3.2 pH值对甘蔗皮花色苷辅色的影响

图3为在不同pH值下三种辅色剂与甘蔗皮花色苷发生辅色反应的可见光吸收图谱。

pH能够改变花色苷在溶液中的酸式平衡和水化平衡, 决定着花色苷分子的主要形式, 也决定了辅色剂与何种花色苷分子存在形式相互作用^[17]。体系 $A_{\lambda_{max}}$ 的变化可以表示辅色作用的强弱。由图3可知, pH从1.0增加到2.0时, 三种辅色剂的 $A_{\lambda_{max}}$ 分别降低30.31%、27.34%和32.07%; pH从2.0增加到3.0时, 三种辅色剂的 $A_{\lambda_{max}}$ 分别增加了4.91%、1.77%和4.38%; pH从3.0增加到4.0时, 三种辅色剂的 $A_{\lambda_{max}}$ 分别降低了8.17%、10.14%和4.41%。随着pH值的减小, 式1和2中平衡朝着生成 AH^+ 的方向移动, 辅色剂与 AH^+ 通过非共价键结合的可能增大, 体系 $A_{\lambda_{max}}$ 增加, 辅色效果增强; 随着pH值的增加, 平衡朝着生成无色查尔酮和假碱的方向移动, AH^+ 含量减少, 体系中复合物生成量降低, $A_{\lambda_{max}}$ 减小, 辅色效果减弱。由 $A_{\lambda_{max}}$ 的变化可知, pH由2.0增加到4.0的过程中4-香豆酸的 $A_{\lambda_{max}}$ 变化最小, 其次是阿魏酸和香草酸。在pH 1.0~4.0范围内, 阿魏酸、香草酸和4-香豆酸均

与花色苷发生了辅色作用，且随 pH 值增大而减弱，由此可知辅色剂种类和 pH 是辅色反应的关键因素^[18]。因此三种辅色剂进行辅色的最适 pH 为 3.0，生成复合物的稳定性由强到弱依次为：4-香豆酸>阿魏酸>香草酸。

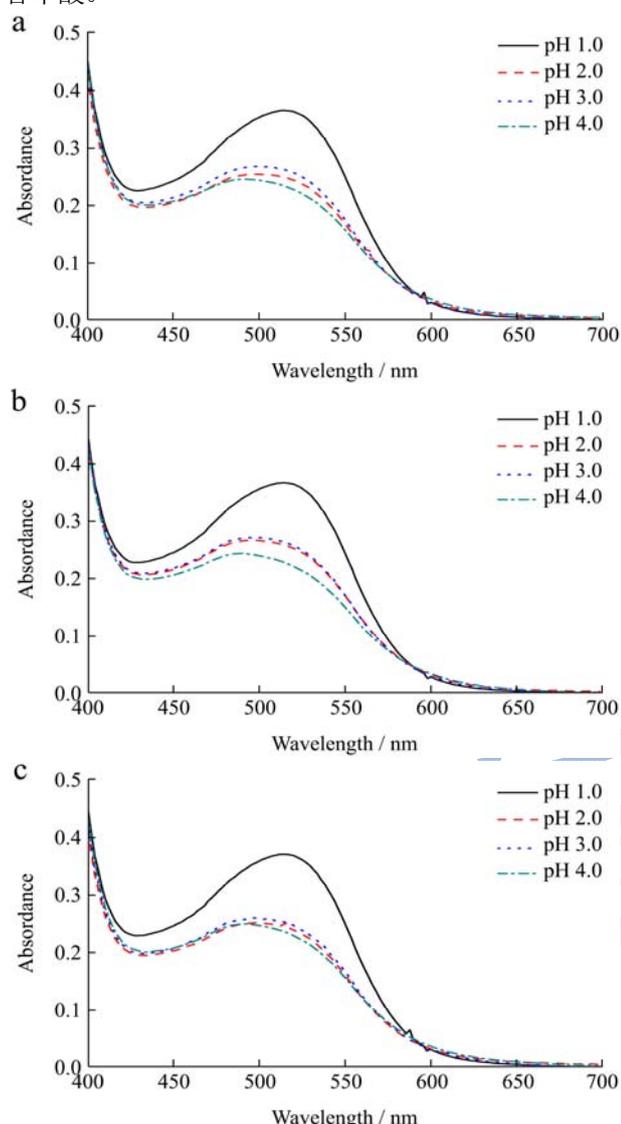


图3 不同 pH 值下辅色剂 (0.08 mg/mL) 与甘蔗皮花色苷辅色后的可见光吸收图谱

Fig.3 Visible absorption spectra of the solution after co-pigmentation of anthocyanin with co-pigments (0.08 mg/mL) at pH values from 1.0–4.0

注：a~c 分别表示添加的阿魏酸、香草酸和 4-香豆酸。

2.3.3 温度对甘蔗皮花色苷辅色的影响

图 4 为不同温度下三种辅色剂与甘蔗皮花色苷发生辅色反应的可见光吸收图谱。温度决定辅色反应的平衡状态，由图 4 可知，阿魏酸和 4-香豆酸在 10 °C 到 20 °C 溶液 $A_{\lambda_{max}}$ 分别增加了 12.05% 和 9.69%；在 20 °C 到 30 °C 分别降低了 57.92% 和 41.03%；香草酸在 10 °C 到 15 °C 溶液 $A_{\lambda_{max}}$ 增加了 5.73%；在 15 °C 到 30 °C

降低了 43.02%。

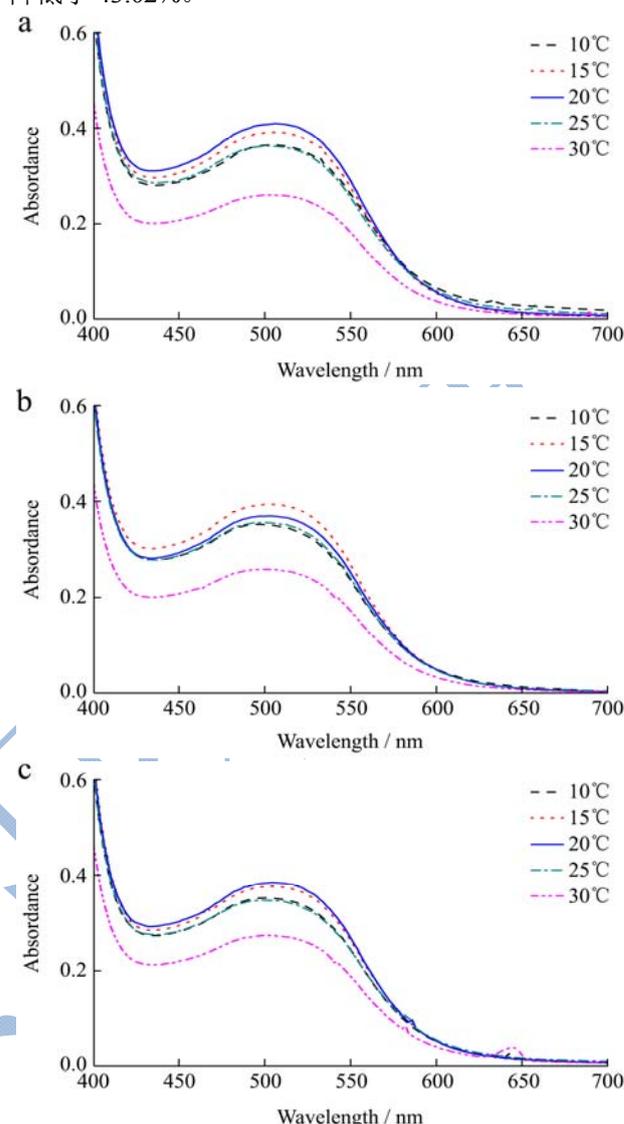


图4 不同温度下辅色剂 (0.08 mg/mL, pH 3.0) 与甘蔗皮花色苷辅色后的可见光吸收图谱

Fig.4 Visible spectra of the solution after co-pigmentation of anthocyanin with co-pigments (0.08 mg/mL, pH 3.0) solutions at the temperature ranging from 10–30 °C

注：a~c 分别表示添加的阿魏酸、香草酸和 4-香豆酸。

辅色剂与花色苷以非共价键方式连接形成复合物的过程是自发过程，反应前期加热促进了分子热运动，分子间的碰撞增加，形成的复合物随之增加，达到最适温度后，由于辅色反应为放热反应，升温导致非共价键断裂，所以复合物的生成减少^[8]。温度升高，体系 $A_{\lambda_{max}}$ 呈现降低的趋势，说明辅色剂与甘蔗皮花色苷的辅色反应属于放热反应，高温会减弱辅色效应。在温度变化过程中，体系 $A_{\lambda_{max}}$ 变化不同，可以推测不同辅色剂形成的复合物的稳定性也不相同，加入阿魏酸和 4-香豆酸形成的复合物在 20 °C 较稳定，而加入香草酸形成的复合物在超过 15 °C 时可能发生了分

解,故阿魏酸和4-香豆酸形成的复合物稳定性强于香草酸。加入4-香豆酸的溶液 $A_{\lambda_{\max}}$ 在10到30℃过程中的变化大于加入阿魏酸的溶液。结果表明三种辅色剂与甘蔗皮花色苷的辅色反应为放热反应,阿魏酸,香草酸和4-香豆酸的最适辅色温度分别为20℃、15℃和20℃,形成复合物的稳定性强弱依次为:4-香豆酸>阿魏酸>香草酸,这与上文中得到的结论相一致。

3 结论

采用优化后的工艺条件:提取剂组成($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}=2:2:1$, pH=1.0),料液比1:10(g/mL),提取时间120 min,提取温度20℃,提取纯化后,甘蔗皮中花色苷的含量可以达到 125.01 ± 1.77 mg/100 g DW。在模拟酒体系中,阿魏酸,香草酸和4-香豆酸与甘蔗皮花色苷均发生了分子间辅色反应。随着辅色剂浓度从0.01 mg/mL增加到0.10 mg/mL,模拟体系的 $A_{\lambda_{\max}}$ 分别增加了16.34%、20.25%和20.58%;在pH值从1.0增加到2.0时,模拟体系的 $A_{\lambda_{\max}}$ 分别降低30.31%、27.34%和32.07%,从2.0增加到3.0时分别增加了4.91%、1.77%和4.38%,从3.0增加到4.0时分别降低了8.17%、10.14%和4.41%,并且在最适辅色pH值为3.0处辅色反应达到平衡;辅色反应为放热反应,温度升高辅色效应减弱,阿魏酸,香草酸和4-香豆酸分别在最适温度20℃、15℃和20℃下,模拟体系的 $A_{\lambda_{\max}}$ 最高,辅色效应最强;三种辅色剂的辅色效果由强到弱依次为:4-香豆酸>阿魏酸>香草酸。甘蔗皮中富含花色苷,可以作为天然植物色素的来源,本研究为甘蔗皮花色苷的开发和利用提供理论依据,不仅丰富了花色苷色素的来源,而且延伸了甘蔗产业链,提高了甘蔗产品附加值。

参考文献

- [1] Konczak I, Zhang W. Anthocyanins-more than nature's colours [J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2004, 5: 239-240
- [2] Castaneda-Ovando A, de Lourdes Pacheco-Hernandez M, Elena Paez-Hernandez M, et al. Chemical studies of anthocyanins: a review [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 859-871
- [3] Kahkonen M P, Hopia A I, Heinonen M. Berry phenolics and their antioxidant activity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(8): 4076-4082
- [4] Liazid A, Guerrero R F, Cantos E, et al. Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins [J]. Food Chemistry, 2011, 124(3): 1238-1243
- [5] 何雄,周静峰,师邱毅,等.甘蔗皮花色苷的提取工艺及稳定性初探[J].食品工业科技,2011,12:371-373,376
- [6] HE Xiong, ZHOU Jing-feng, SHI Qiu-yi, et al. Study on extraction and stability of anthocyanins from sugarcane skin [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 12: 371-373, 376
- [7] Cevallos-Casals B A, Cisneros-Zevallos L. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants [J]. Food Chemistry, 2004, 86(1): 69-77
- [8] Bimpilas A, Panagopoulou M, Tsimogiannis D, et al. Anthocyanin copigmentation and color of wine: the effect of naturally obtained hydroxycinnamic acids as cofactors [J]. Food Chemistry, 2016, 197(8): 39-46
- [9] Zhang B, Liu R, He F, et al. Copigmentation of malvidin-3-o-glucoside with five hydroxybenzoic acids in red wine model solutions: experimental and theoretical investigations [J]. Food Chemistry, 2015, 170: 226-233
- [10] Williams M, Hrazdina G. Anthocyanins as food colorants: effect of pH on the formation of anthocyanin-rutin complexes [J]. Journal of Food Science, 2006, 4(1): 66-68
- [11] Scheffeldt P, Hrazdina G. Co-pigmentation of anthocyanins under physiological conditions [J]. Journal of Food Science, 1978, 43(2): 517-520
- [12] Setareh P, Heidari R, Ghasemifar E, et al. Effect of heating, UV irradiation and pH on stability of the anthocyanin copigment complex [J]. Pakistan Journal of Biological Sciences Pjbs, 2007, 10(2): 267-272
- [13] Li X, Yao S, Tu B, et al. Determination and comparison of flavonoids and anthocyanins in Chinese sugarcane tips, stems, roots and leaves [J]. Journal of Separation Science, 2010, 33(9): 1216-1223
- [14] Li R, Wang P, Guo Q, et al. Anthocyanin composition and content of the *Vaccinium uliginosum* berry [J]. Food Chemistry, 2011, 125(1): 116-120
- [15] Giusti M M, Polit M F, Ayvaz H, et al. Characterization and quantitation of anthocyanins and other phenolics in native Andean potatoes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(19): 4408-4416
- [16] Bunea A, Rugina D, Sconta Z, et al. Anthocyanin determination in blueberry extracts from various cultivars and their antiproliferative and apoptotic properties in B16-F10 metastatic murine melanoma cells [J]. Phytochemistry, 2013, 95(6): 436-444

- [15] Sun J, Cao X, Bai W, et al. Comparative analyses of copigmentation of cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-sophoroside from red raspberry fruits [J]. Food Chemistry, 2010, 120(4): 1131-1137
- [16] 田小燕. 刺葡萄花色苷有机酸及黄酮辅色效果研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2013
TIAN Xiao-yan. Study on co-pigmentation effect of organic acids and flavonoids on anthocyanins from spine grape [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2013
- [17] Trouillas P, Sancho-Garcia J C, De Freitas V, et al. Stabilizing and modulating color by copigmentation: insights from review theory and experiment [J]. Chemical Reviews, 2016, 116(9): 4937-4982

现代食品科技