

挪威槭叶片花色素苷的提取及稳定性研究

张冬梅¹, 马晓², 苏金乐², 钱又宇¹ (1. 上海市园林科学研究所, 上海200232; 2. 河南农业大学林学院, 河南郑州450002)

摘要 通过对挪威槭叶片花色素苷不同提取液、提取时间的研究, 结果表明: 1% 盐酸乙醇和1% 盐酸甲醇所提取的花色素苷含量明显高于0.1 mol/L 盐酸提取的花色素苷含量; 最佳的提取时间是5~6 h。通过对不同光源、温度、酸碱度对挪威槭叶片中花色素苷稳定性的研究, 结果表明: 挪威槭花色素苷对光强和温度比较敏感, 低温黑暗条件能较好地保持花色素苷的稳定性; 随着pH值的增加, 花色素苷颜色由红变褐, 花色素苷特征吸收峰逐渐消失。

关键词 挪威槭; 花色素苷; 提取; 稳定性

中图分类号 Q946 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)13-3055-02

Study on the Extraction of Anthocyanin of *Acer platanoides* and its Stability

ZHANG Dong-mei et al (Shanghai Landscape Gardening Research Institute, Shanghai 200232)

Abstract The experiment in the effect of the different solutions and time on the extraction of the anthocyanin of *acer platanoides* indicated that there was significant difference in the concentration of it between with 0.1 mol/L HCl and methanol containing 1% HCl or ethanol containing 1% HCl. 5~6 h was proper extracting time. Based on the experiments of the anthocyanin's stability to light, temperature and pH, the conclusions can be drawn as follows: the anthocyanin of *A. platanoides* was sensitive to light and temperature but it was stable in darkness and low temperature. With pH increasing, the color of extracted anthocyanin changed from red to brown.

Key words *Acer platanoides*; Anthocyanin; Extraction; Stability

挪威槭(*A. platanoides*)为槭树科槭树属落叶乔木。叶掌状5裂, 常年紫红色, 叶柄细长, 具有极高的观赏价值。然而, 在上海引种栽培挪威槭的过程中发现, 其叶色在高温季节出现生产上的“高温返青”现象, 降低了挪威槭的观赏价值。显然, 弄清挪威槭叶色变化的机理, 对制定正确栽培措施意义重大。

花色素苷是影响挪威槭叶色变化的主要色素, 花色素苷的颜色因细胞液pH值、温度、光照、糖、金属离子、氧化还原物质、酶等的不同而呈现不同的颜色(赵昶灵等, 2004; 庞学群等, 2001; 张志良, 1990), 如何保证花色素苷的提取及稳定性尤为关键。笔者研究了不同提取液、提取时间、温度、光源、提取液pH等条件对挪威槭叶片中花色素苷的含量及稳定性的影响, 为挪威槭叶色机理的探索、花色素苷的提取及色素的开发利用提供参考和依据。

1 材料与方

1.1 材料的采集 供试树种为2004年4月从加拿大引种的5年生挪威槭, 胸径6 cm左右, 高6.5~10 m。晴天上午9:00~10:00采集枝条中部叶片, 采后立即放入冰盒保存。用自来水冲洗叶片3~4次, 然后用蒸馏水冲洗, 晾干; 去叶柄及叶脉后剪碎混匀, 备用。

1.2 色素的提取

1.2.1 浸提液的选择。 分别称取1 g叶片, 加10 ml不同浸提剂: 0.1 mol/L 盐酸、1% 盐酸甲醇、1% 盐酸乙醇, 置于32、160转的振荡培养箱中浸提5 h, 过滤。取1 ml滤液用浸提液稀释25倍, 立即用可见分光光度计在400~700 nm范围内扫描。每处理重复3次。

1.2.2 浸提时间的选择。 分别称取1.00 g叶片, 加10 ml 1% 盐酸乙醇置于32、160转的振荡培养箱中分别提取2、3、4、5、6、7、8、24 h, 过滤, 取1 ml滤液用1% 盐酸乙醇稀释25倍, 迅速检测530、657 nm处的吸光值。

1.3 色素稳定性测定 称取10 g叶片, 加1% 盐酸乙醇100 ml, 置于32、160转的振荡培养箱中浸提5 h, 过滤, 置于4℃的冰箱中冷藏备用。

1.3.1 不同光源处理。 取20 ml提取液用1% 盐酸乙醇稀释25倍, 分别置于: 黑暗、日光灯(置于光照培养箱)中、自然光条件下, 每隔1h取样1次。

1.3.2 不同温度处理。 取20 ml提取液用1% 盐酸乙醇稀释25倍, 分别放置于4、25、35、55、75℃的黑暗条件下, 每隔1h取样1次, 用自来水冷却至室温, 测定530、657 nm的吸光值。

1.3.3 不同pH值的缓冲液处理。 取1 ml提取液于具塞比色试管, 分别用pH值为0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9的缓冲液定容至25 ml, 摇匀后于黑暗中平衡3 h, 在400~700 nm范围扫描。pH值0: HCl 1.0 mol/L; pH值1: HCl 0.1 mol/L; pH值2: HCl 0.011 mol/L; pH值3.0~8.0: 用磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液配制。

以上每处理均重复3次, 花色素苷的含量均以鲜重 $A_{530}/0.25A_{657}/g$ 来表示。

2 结果与分析

2.1 各因素对花色素苷提取效果的影响

2.1.1 不同浸提液。 由图1可以看出: 1% 盐酸甲醇和1% 盐酸乙醇的吸收光谱大致相同, 有3个吸收峰: 420、530、657 nm; 0.1 mol/L 盐酸的吸收峰单一为515 nm。从图1还可以看出0.1 mol/L 盐酸提取的花色素苷含量显著低于1% 盐酸甲醇和1% 盐酸乙醇提取的花色素苷的含量。因此在提取挪威槭组织中花色素苷时应选用1% 盐酸甲醇或1% 盐酸乙醇作为提取液, 以充分抽提其组织中的花色素苷。

2.1.2 时间长短。 图2显示: 浸提时间在5 h前, 随着时间增长花色素苷含量急剧增加, 在达到5 h时, 花色素苷含量达到最高值, 浸提5~6 h, 花色素苷含量比较稳定, 以后随着浸提时间的延长花色素苷含量下降。因此, 在提取挪威槭花色素苷的稳定性及浸提液的研究中浸提时间选用5 h。

2.2 光源、温度、pH值对花色素苷特性的影响

2.2.1 不同光源。 如图3所示, 黑暗条件下花色素苷基本不

降解,自然光和日光灯均导致挪威槭叶片花色素苷降解,花色素苷含量下降。其中自然光作用最强烈,8 h 时花色素苷含量仅为原来的 79.06%;日光灯次之,8 h 时花色素苷含量为原来的 90.35%;而黑暗时花色素苷含量则为原来的 99.34%。由表1 可以看出,各处理间差异极显著,表现出花色素苷类色素光稳定性差的特征。

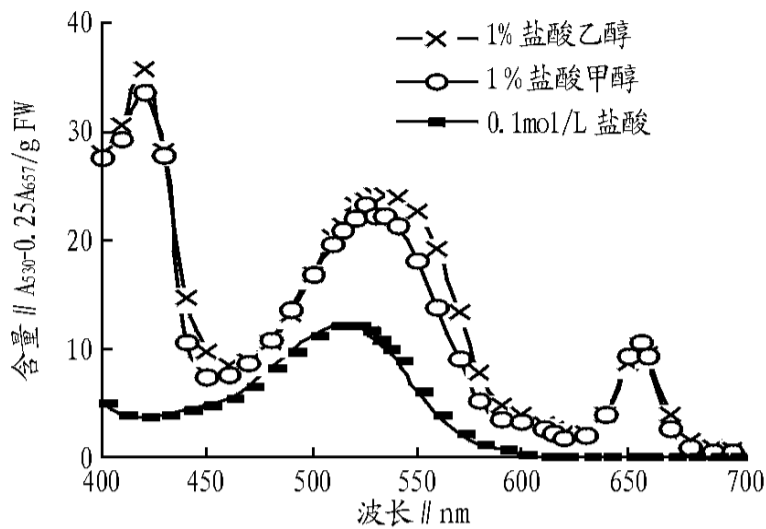


图1 不同提取液中花色素苷的含量

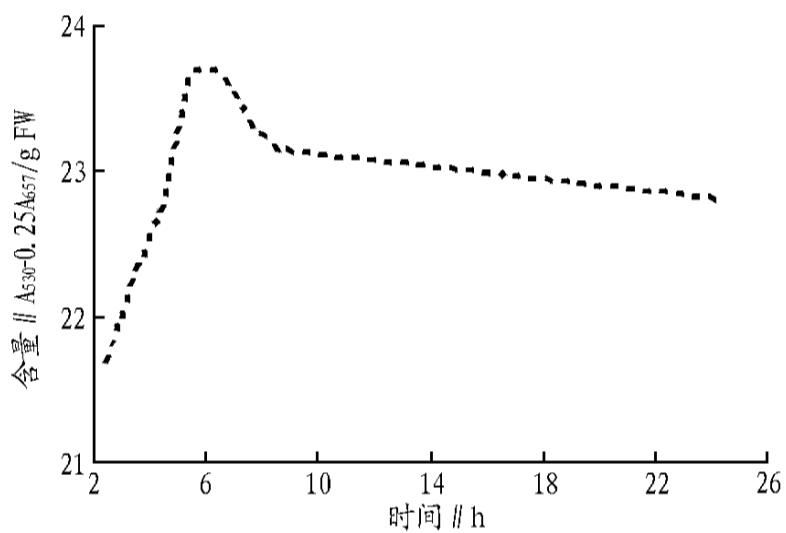


图2 不同提取时间花色素苷的含量

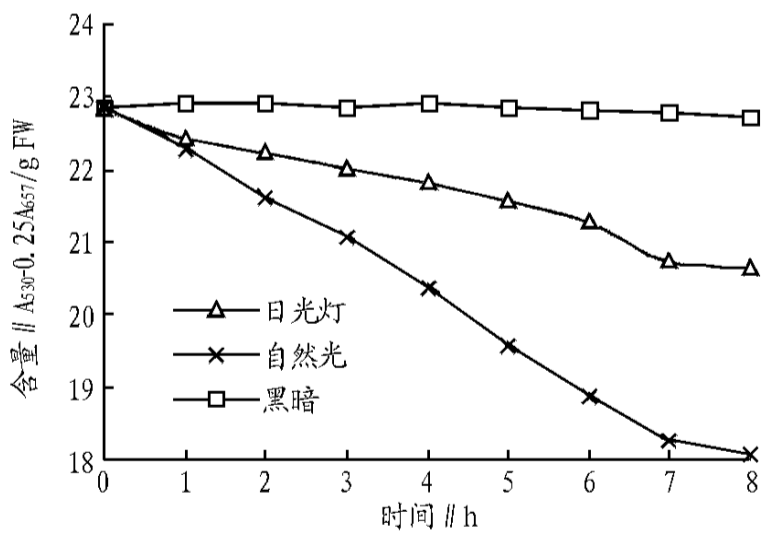


图3 不同光源对花色素苷稳定性的影响

表1 光源对花色素苷稳定性的显著性测验

处理	均值	差异显著性	
		0.05	0.01
黑暗	22.85	a	A
日光灯	21.60	b	B
自然光	20.01	c	C

2.2.2 不同温度。表2、图4 表明:4 的花色素苷含量显著高于其他处理的花色素苷含量,8 h 后的降幅仅为0.66%;25 时花色素苷降解加快,8 h 后的降幅为2.93%;当温度继续升高降幅则持续升高,35 时为4.51%、55 时为9.01%、75 时为17.06%。故挪威槭叶片的花色素苷对温度表现出敏

感性。

表2 温度对花色素苷稳定性的显著性测验

处理	均值	差异显著性	
		0.05	0.01
4	22.85	a	A
25	22.30	b	B
35	21.98	b	B
55	21.19	c	C
75	20.24	d	D

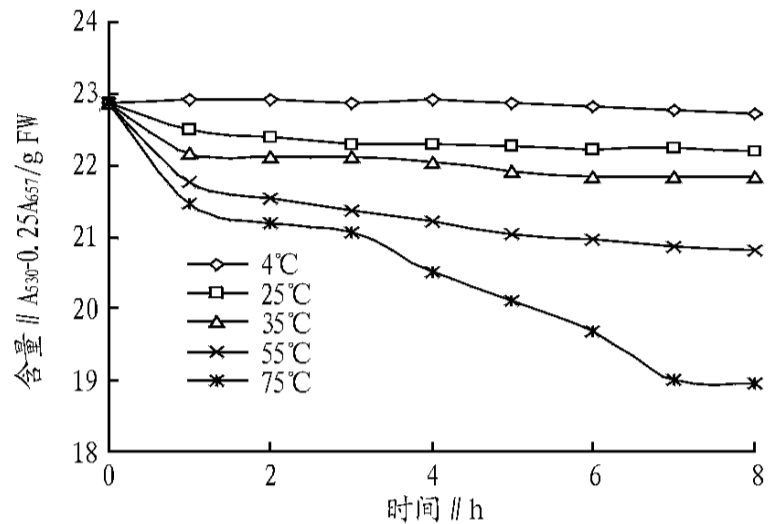


图4 不同温度对花色素苷稳定性的影响

2.2.3 不同pH 值。由图5 可以看出,pH 值在0~3.0 时花色素苷呈现其特征吸收峰,最大吸收波长在515nm。pH 值为1.0 时花色素苷含量最高,以后随着pH 值升高其含量逐渐减小,当pH 值达到4.0 时特征吸收峰几乎完全消失,而花色素苷颜色在此pH 值下开始褪色,pH 值>4.0 时花色素苷的颜色逐渐变淡直至趋于淡黄色,当pH 值达到7.0 时变为褐色。由此可见,挪威槭叶片花色素苷的颜色呈现具有pH 值依赖性:在低pH 值时较稳定且呈现增色效应,提高pH 值导致花色素苷褪色和变色。

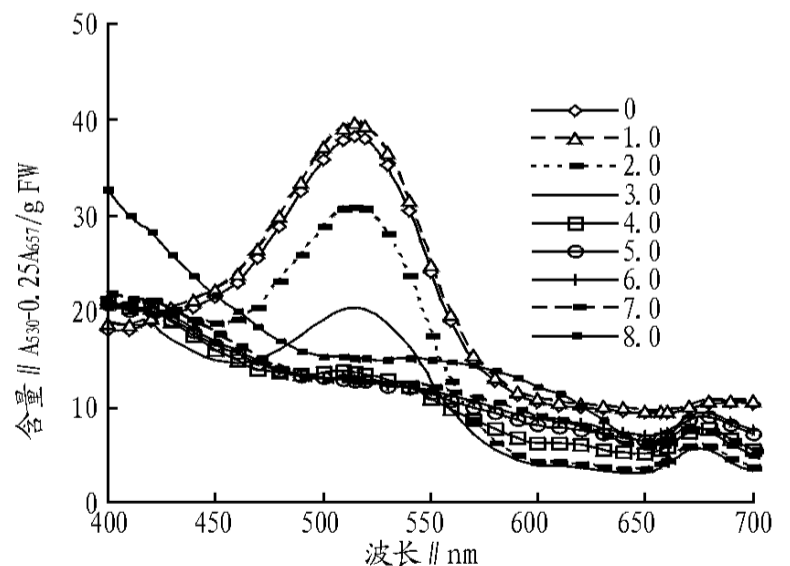


图5 不同pH 值花色素苷吸收的光谱

3 讨论

(1) 不同植物的花色素苷的最佳提取条件不同,就挪威槭而言,应选用1% 盐酸甲醇或1% 盐酸乙醇作为提取液、最佳提取时间是5~6 h,以充分抽提植物组织中的花色素苷。

(2) 挪威槭的花色素苷表现出光、热稳定性差的明显特征,低温和黑暗条件能较好地保持花色素苷的稳定性,因此,在整个提取分析过程中应尽量避光操作,同时还应注意控制提取温度。

(3) 花色素苷含量的计算方法

(上接第3056页)

A_{530}/g (张志良,1990), $A_{530} \cdot 0.25 A_{657}/g$ (Rabino & Mancinelli,1986), $A_{525} \cdot A_{385}/g$ (Nemat Alla,1995), A_{510}/g , 在pH值为3时测定(蒋世云等,1999), $A_{530} \cdot A_{600}/g$ (林植芳等,1988)。挪威槭叶片中含有大量的叶绿素,在检测花色苷含量时必须考虑叶绿素及其降解产物的干扰性吸收。对其花色苷的提取液在400~700 nm范围内扫描,发现在530、657 nm有明显的吸收峰,因此以鲜重 $A_{530} \cdot 0.25 A_{657}/g$ 来计算挪威槭叶片中花色苷的含量。

(4) 对挪威槭叶片花色苷稳定性研究表明:高温、强光和高pH值条件下均能促使花色苷降解,因此在挪威槭的栽培中,建议可在高温季节采取遮阴、叶面喷低浓度的酸性水溶液(如柠檬酸水溶液、矾肥水)等措施来防止叶色出现“高温返青”。

(5) 花色苷是100多种水溶性植物色素的总称,由于种类和含量的不同其特征吸收峰也有所不同,而提取液的种类和酸碱度对其特征吸收峰也有明显的影响。因此,在

测定植物组织中花色苷含量时,应先用“紫外-可见分光光度计”扫描提取液的波长,确定花色苷的最大吸收波长后,才能根据相应公式进行计算,若仅根据参考文献确定特征吸收峰,计算花色苷含量,可能会造成严重的偏差。

参考文献

- [1] NEMAT ALLA MM, YOUNIS ME. Herbicide effects on phenolic metabolites in maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) seedlings [J]. *J of Experimental Botany*, 1995, 46(252): 1731 - 1734.
- [2] RABINOI, MANCINELLI A L. Light, temperature and anthocyanin production [J]. *Plant Physiol*, 1986, 81: 922 - 924.
- [3] 蒋世云, 宁正祥, 师玉钟. 荔枝果皮变色机理的研究[J]. *食品科学*, 1999 (4): 18 - 20.
- [4] 林植芳, 李双顺, 张东林, 等. 采后荔枝果皮色素、总酚及有关酶活性的变化[J]. *植物学报*, 1988, 30(1): 40 - 45.
- [5] 庞学群, 张昭其, 段学武, 等. pH值和温度对荔枝果皮花色苷稳定性的影响[J]. *园艺学报*, 2001, 28(1): 25 - 30.
- [6] 唐前瑞. 红木遗传多样性及其叶色变化的生理生化研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2001.
- [7] 张志良. *植物生理学实验指导* [M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 183 - 191.
- [8] 赵昶灵, 陈俊愉, 刘雪兰, 等. 理化因素对梅花“南京红须”花色色素颜色呈现的效应[J]. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2004, 28(2): 27 - 32.