

马铃薯花色苷种类、含量和稳定性初步研究

卢其能^{1,2}, 杨清*

(1. 南京农业大学生命科学学院生化与分子生物学系, 江苏南京210095; 2. 宜春学院生命科学与资源环境学院, 江西宜春33600)

摘要 选择具有典型色泽的2个马铃薯品种为试验材料, 用1%(V/V)盐酸甲醇溶液分别从红色和紫色马铃薯中提取色素, 用正己烷萃取, 再用薄层层析(TLC)纯化, 最后用紫外-可见分光光度计扫描。根据提取液、R_f值和紫外-可见光谱特点, 参考已有相关资料, 初步判断马铃薯红色色素主要为天竺葵素衍生物, 而紫色色素主要为锦葵素的衍生物。紫色马铃薯的花色苷含量是红色马铃薯花色苷含量的2.9倍。光、热和pH值对花色苷的稳定性有显著影响, 但紫色马铃薯的花色苷的稳定性好于红色马铃薯花色苷。

关键词 花色苷; 马铃薯; 块茎; 颜色; 种类; 含量; 稳定性

中图分类号 Q946 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)16-04811-03

Preliminary Study on Categories, Contents and Stability of Anthocyanins from Potatoes

LU Qi-neng et al (Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095)

Abstract Two typical colored potato varieties were selected as experimental material. The color pigments of potatoes were extracted with 1% HCl (V/V) in methanol from red and purple tubers, respectively. The extract was separated with hexane, purified by Thin Layer Chromatography (TLC). The R_f and UV-Vis spectra analysis indicated primarily that the red pigments were pelargonins derivation and the purple pigments were petunins derivation. The content of anthocyanins in purple tubers were 2.9 times of that in red tubers. The stability of anthocyanins from potato was significantly influenced by light, heat and pH value, but the anthocyanins from purple tubers were more stable than that from red tubers.

Key words Anthocyanin; Potato; Tuber; Color; Categories; Contents; Stability

马铃薯块茎的皮色有白色、黄色、粉红色、红色和紫色, 块茎的肉色一般为白色、浅黄色和黄色, 少数呈红色和紫色, 马铃薯块茎的皮色形成是由于在周皮和皮层外围存在花青素苷^[1]。在我国对马铃薯花色苷的研究几乎是空白, 这对马铃薯作为天然色素资源的开发和应用、彩色薯的育种及其分子机制的研究有一定制约作用。笔者研究红色和紫色马铃薯色素的种类、含量和稳定性, 为马铃薯花色苷的开发利用和生物合成相关基因的克隆、表达分析提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 选择具有典型色泽的2个国内外品种, 分别是加拿大引进的皮色深红的马铃薯品种 Chieftan (Solanum tuberosum cv) 和从云南引种的皮色为紫色的马铃薯地方品种 YNZH (S. tuberosum cv)。于2003年9~12月将2个品种种植在南京农业大学温室的盆钵中, 薯块收获后用冷水洗净, 在弱光条件下晾干待用。

1.2 马铃薯色素种类的薄层层析(TLC)和光谱分析 色素提取和初步纯化。分别用锋利不锈钢小刀切取块茎中含色素的部分, 加入冷的含1%(体积比)盐酸的甲醇溶液, 迅速研磨至匀浆, 过滤^[2]。提取液用正己烷萃取, 取水相, 在无光条件下冷冻浓缩, 浓缩液用于薄层层析。色素种类的薄层层析(TLC)。在研钵中加2g硅胶G60, 再加10ml去离子水, 充分研磨后, 小心均匀地铺在15cm×15cm干净玻璃片上, 室温下晾干约1h, 呈纯白色时, 于110℃下活化1h, 用毛细管分别点样, 上样量要保证足够, 以便于下一步的光谱分析。等上样点干后, 在加有BAW展层液(正丁醇:乙酸:水=4:1:2)的层析缸中于4℃无光条件下层析^[3-4]。层析完成后, 测定R_f值并拍照。色素的光谱分析。用不锈钢刀片小心取下层析板硅胶上的色带, 放入1.5ml的离心管中, 加入200μl的1%(体积比)盐酸的甲醇溶液, 用力摇匀后, 于5000r/min

离心, 先取上清50μl加入1cm光径石英的比色杯中, 用Utro-spec 3000紫外-可见分光光度计测定, 扫描波长范围为200~700nm。记录扫描曲线和吸收峰。再取上清100μl滴入1滴5%AlCl₃甲醇溶液(质量体积比), 混匀后, 立即取50μl再次在同样条件下扫描, 观察其最大吸收峰的变化^[5], 重复3次, 参考相关资料, 初步确定2个品种薯皮中色素的种类。

1.3 色素含量的测定 从2个试验材料中各随机取3个薯块, 用直径为7mm的打孔器每个材料各随机取下6块厚约2mm的含色素薯皮, 加入冷的含1%(体积比)盐酸的甲醇溶液, 迅速研磨至匀浆, 过滤^[6-7]。滤液于5000r/min离心后, 取上清, 稀释3倍, 测定最大吸收峰的值, 3次重复, 分别计算出2个材料薯皮中总花色苷的含量。

1.4 不同光、温和pH条件下色素稳定性检测 光照条件。设3组处理, 分别是:I太阳光, 将样品放在无云阳光下; II日光灯, 将样品放在30W日光灯下2m处; III白炽灯光, 将样品放在30W白炽灯下2m处。每隔1h检测1次最大吸收峰的值, 连续检测5h, 3次重复^[8]。温度条件。在室内弱光条件下, 用电热恒温水浴加热器加热, 温度分别设为25、35、45、55、65、75、85、95℃处理, 每隔1h检测1次最大吸收峰的值, 连续检测5h, 3次重复^[8]。pH对色素的呈色效应。取1ml提取液于具塞试管, 分别加pH值为0~8.0的溶液9ml, 摇匀后于黑暗中平衡3h, 在200~700nm范围内扫描, 检测可见光区最大吸收波长和最大吸收波长处的吸光值。其中, pH值为0的HCl 1.00mol/L, pH值为1.0的HCl 0.10mol/L, pH值为2.0的HCl 0.01mol/L, 用磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液配制, 使pH值为3.0~8.0^[9]。

2 结果与分析

2.1 马铃薯块茎的颜色和相应色素提取液的颜色 在含1%(体积比)盐酸的甲醇溶液中马铃薯红色品种 Chieftan 的色素提取液呈红色, 而马铃薯紫色品种 YNZH 呈紫红色, 如图1。

2.2 马铃薯色素的薄层层析(TLC) 2个品种 Chieftan 和 YNZH 的色素提取液的TLC分别各出现1条红色带和1条宽的

作者简介 卢其能(1968-), 男, 江西宜春人, 博士, 副教授, 从事植物色素的分子遗传与基因工程研究。* 通讯作者。

收稿日期 2007-03-06

紫色带, 两者的 R_f 值分别平均为 0.71、0.59, 这表明 Chieftain 可能是天竺葵素类色素, 而 YNZH 的色素在可能是飞燕草素类色素, 如图 2。

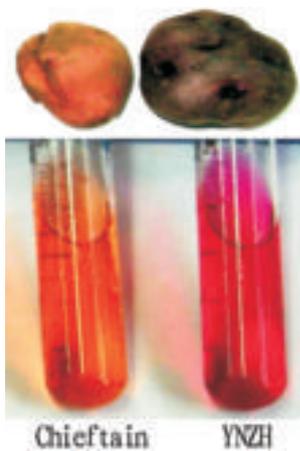


图1 2个品种提取液颜色

2.3 马铃薯色素的紫外可见分光光谱
2个品种 Chieftain 和 YNZH 的色素的 1% 浓盐酸甲醇提取液的吸收光谱具备 2~3 个吸收峰, 两者的光谱图相差较大, 但都在 500~550 nm



图2 2个品种色素提取液 TLC

处有吸收峰, 而该处吸收峰正是花色苷的特征峰^[10-13], 其中 Chieftain 为 513 nm, YNZH 为 539 nm。Chieftain 在 230 nm、330 nm 处存在吸收峰, 表明色素中含有相同的非红色的黄酮类化合物^[14]; YNZH 在 230 nm 处存在吸收峰, 在 310~330 nm 间肩峰的存在, 表明还可能含异黄酮。此外, 在加入 $AlCl_3$ 甲醇溶液后 Chieftain 的光谱图变化很小, 包括 513 nm 处吸收峰位置均保持不变, 说明该色素属天竺葵素类色素; 而当加入 $AlCl_3$ 甲醇溶液后 YNZH 的光谱图却向前移动了约 23 nm, 这表明该色素属飞燕草素类色素, 如图 3(a,b)。

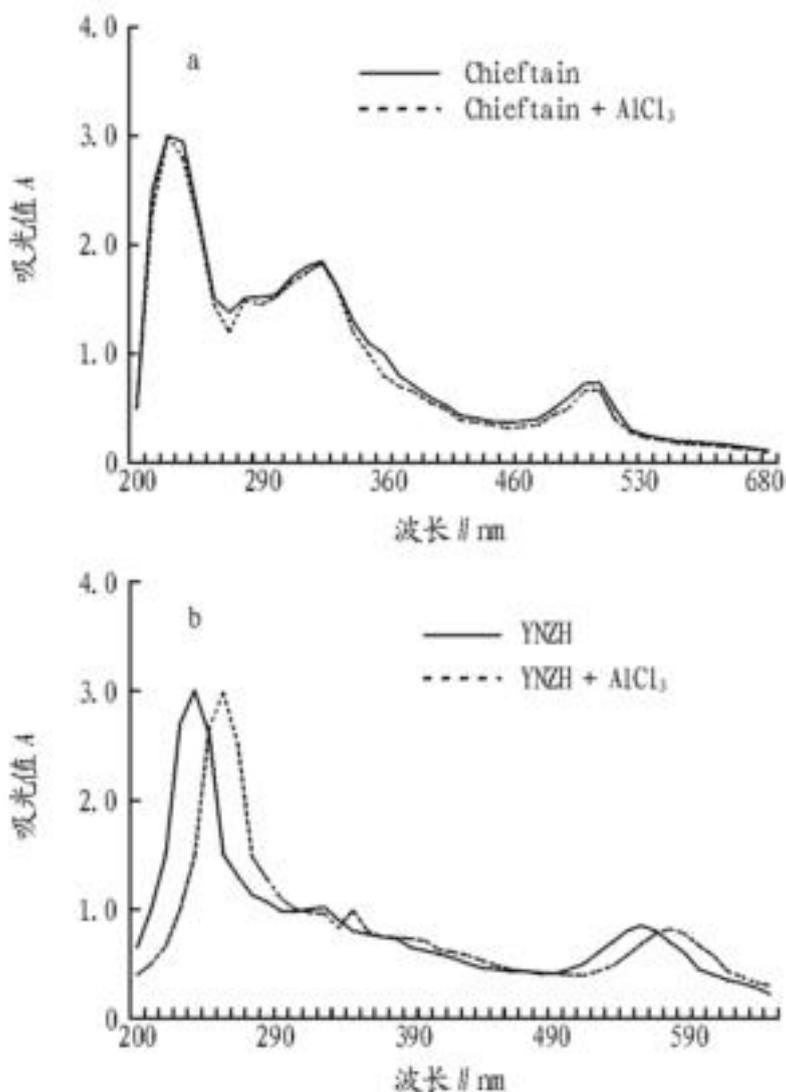


图3 色素的紫外可见分光光谱及加入 $AlCl_3$ 甲醇溶液后移动情况

2.4 马铃薯色素的含量 由于 Chieftain 和 YNZH 的色素在 1% 浓盐酸甲醇溶液中的最大吸收峰分别为 513、539 nm。因此, 在测定两者的花色苷含量时可分别测定相同面积 (6 块直径为 7 mm 的含色素薯皮) 色素提取液的 A_{513} 、 A_{539} 的值, 比较两者的大小可知 YNZH 的色素含量比 Chieftain 的色素含量高 2.9 倍, 如图 4。

2.5 不同光照条件对马铃薯花色苷颜色的影响 太阳光、日光灯和白炽灯光均导致马铃薯花色苷的降解, 表现为红色和紫红变淡。其中, 日光的作用最强烈, 其次为日光灯, 白炽灯光的影响较小。但 2 个品种色素对光的敏感性存在明显差异, Chieftain 的红色色素表现出明显不如 YNZH 的紫红色素稳定, 如图 5(a,b)。故马铃薯花色苷对光敏感, 表现出花色苷类色素光稳定性差的明显特征^[15]。

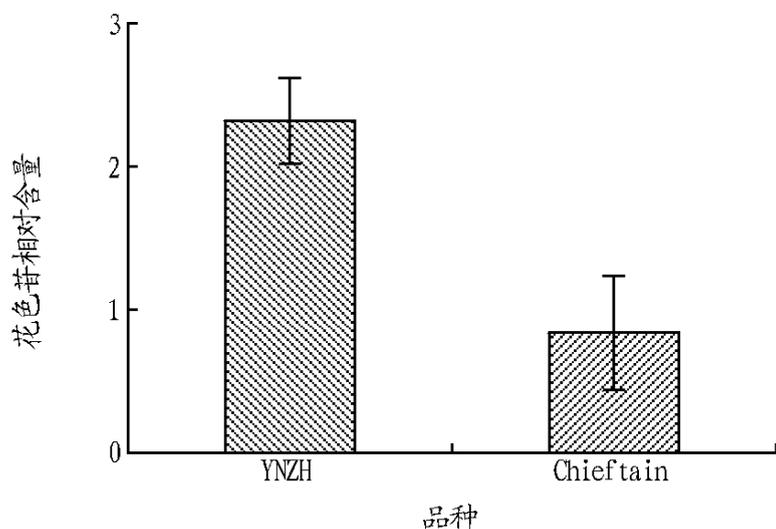


图4 2个品种薯皮花色苷含量

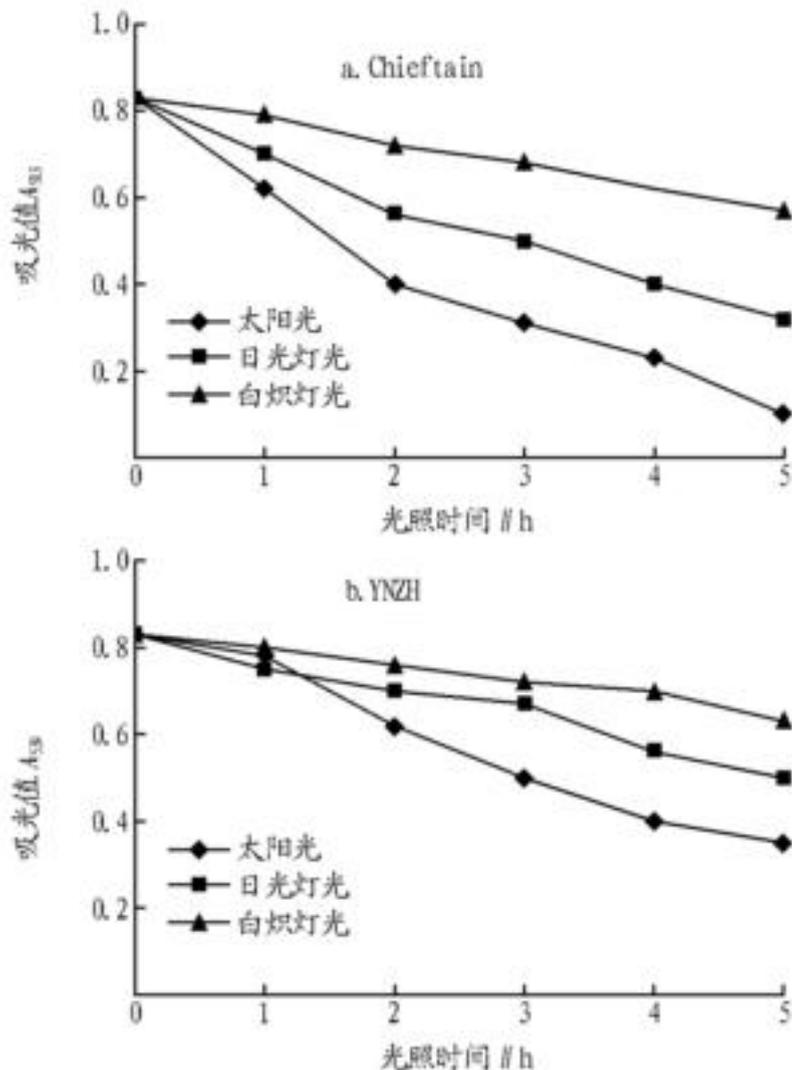


图5 不同光照条件对马铃薯花色苷颜色的影响

2.6 温度对马铃薯花色苷颜色的影响 温度对马铃薯花色苷颜色的影响比较明显, 45℃ 以上吸光值显著减小, 吸光值随处理时间的延长和温度的升高而大幅下降, 2 个品种色素对温度的敏感性存在差异, Chieftain 的红色色素表现出不如 YNZH 的紫红色素的温度稳定好, 如图 6(a,b)。温度越高、处理时间越长, 色素的颜色越淡, 这是因为温度影响花色苷与辅色素的共色作用, 高温也可导致花色苷趋向转化为无色的查尔酮, 但这种转化是可逆的^[16-17]。

2.7 pH 对马铃薯花色苷颜色的影响 马铃薯 Chieftain 的花色苷色素在 pH 值为 0~3 时由深红色变为粉红, pH 值为 4 时褪色, pH 值大于 5 时逐渐由浅黄变为棕色; 513 nm 处的吸收峰在 pH 值为 4 时基本消失。YNZH 的花色苷色素在 pH 值为

0~3 时由深紫变为浅红色,pH 值4 时为无色,pH 值大于5 时逐渐由棕色变黑;539 nm 处的吸收峰在 pH 值为4 时也消失(表1)。这与前人^[18-19]的研究基本一致,表明花色色素颜色呈现也具pH 依赖性;在低pH 时较稳定,在pH 为微酸近中性时就变色,表现出花色苷类色素颜色因pH 而变的最重要特征^[20]。pH 直接关系到花色苷与辅色素间的共色作用能否发生^[20]。

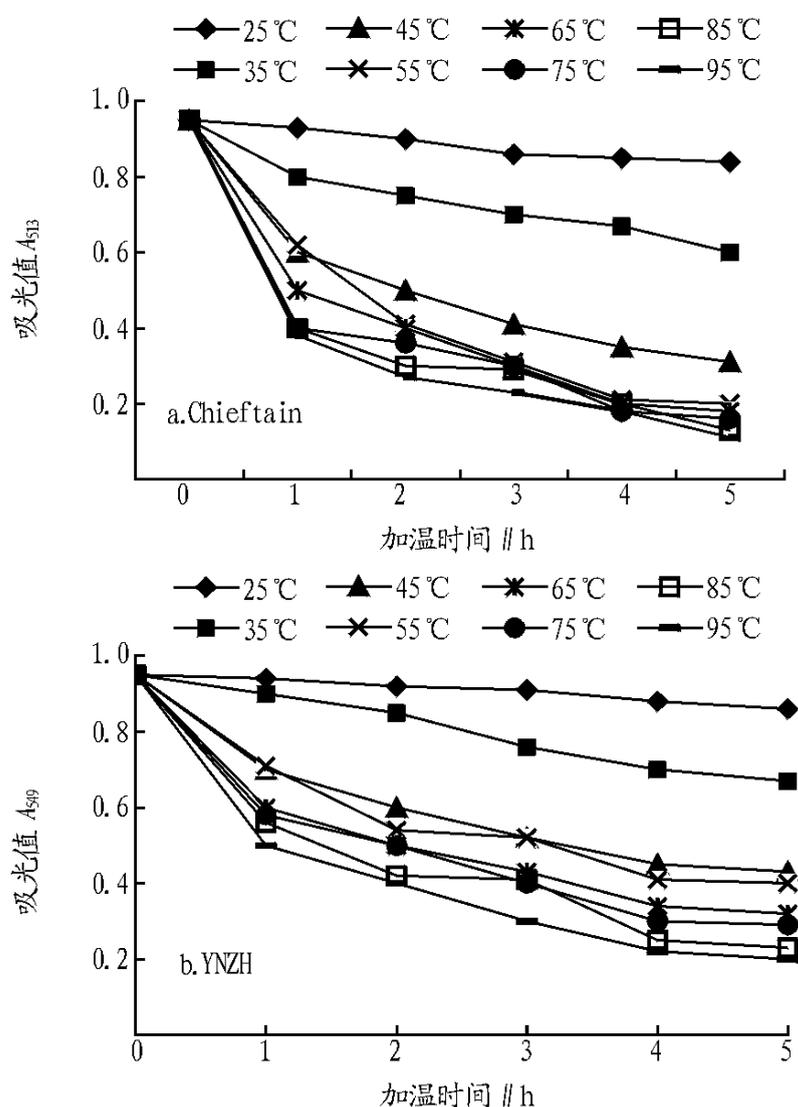


图6 温度对2 个品种薯皮花色苷颜色的影响

表1 pH 对马铃薯花色苷颜色的影响

pH	Chieftain		YNZH	
	颜色	A ₅₁₃	颜色	A ₅₃₉
0	深紫	0.632	深紫	0.913
1	红	0.522	紫红	0.764
2	浅红	0.431	红	0.720
3	粉红	0.294	浅红	0.465
4	褪色	0.100	无色	0.300
5	浅黄	-	棕色	-
6	棕黄	-	浅黑	-
7	棕	-	黑	-

3 讨论

(1) 根据花色苷的主要理化特性并参考前人的经验,采用1%(体积比)盐酸的甲醇溶液从马铃薯皮中能有效地提取其中的色素,经萃取和薄层层析(TLC)使花色苷得到初步纯化。2 个品种的 R_f 值分别为0.71、0.59,紫外可见分光光谱分析表明Chieftain 和 YNZH 的色素在500~550 nm 的吸收峰分别为513、539 nm,在加入 AlCl₃ 后 Chieftain 的色素在513 nm 处吸收峰位置保持不变,表明 B 环上不存在相邻的羟基,而 YNZH 的色素在539 nm 处吸收峰位置向前移动了约23 nm,表明 B 环上存在相邻的羟基。综合试验结果,参照相关资料可以推定 Chieftain 的红色素主要为天竺葵素类色素花色苷,YNZH 的紫红色素主要为飞燕草素类色素花色苷,这与前人

报道的关于马铃薯紫色花青苷主要为锦葵素(飞燕草素类)的衍生物,而红色花青苷主要为天竺葵素衍生物相一致^[21-23]。

(2) Chieftain 和 YNZH 的花色苷在含体积分数1%浓盐酸的甲醇中分别为红色和紫红色,pH 低时变为深红和深紫色,这是因为pH 直接关系到花色苷与辅色素间的共色作用能否发生。

(3) 光、热对 Chieftain 和 YNZH 的花色苷的稳定性有显著影响,在相同条件下 YNZH 的紫红花色苷更为稳定,这可能与具体结构、酰基化程度和辅色素的不同有关^[24]。马铃薯花色苷可作为酸性食品、冷饮食品的染色剂,色泽自然,并兼有药理作用^[25-26]。

参考文献

- [1] BURTON W G. The potato [M]. New York: Wiley, 1989:328-329.
- [2] 马卡姆. 黄酮类化合物结构鉴定技术 [M]. 北京: 科学出版社,1990:19-57.
- [3] HARBORNE J B. Phytochemical methods [M]. New York: Chapman and Hill, 1984:55-68.
- [4] JACKMAN R L, YADA R Y, TUNG M A. A review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis [J]. J Food Biochem, 1987, 11:297-308.
- [5] HARBORNE J B. Spectral methods of characterizing anthocyanins [J]. Biochem J, 1958, 70:22-28.
- [6] CHEN Y H, MURRAY J R, OHMANN S M et al. Anthocyanin accumulation during potato tuber development [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1997, 122:20-23.
- [7] ANDERSEN A W, TONG C B S, KRUEGER D E. Comparison of periderm color and anthocyanins of four red potato varieties [J]. Amer J Potato Res, 2002, 79(4):249-253.
- [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.
- [9] 周先碗, 胡晓倩. 生物化学仪器分析与实验技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003:316-321.
- [10] 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.
- [11] 孟祥春, 张玉进, 王小菁. 矮牵牛花瓣发育过程中花色色素、还原糖及蛋白质含量的变化 [J]. 华南师范大学学报: 自然科学版, 2001(2):96-99.
- [12] 张晴, 陈勇, 李钊, 等. 黑色素素的吸收光谱及色差分析研究 [J]. 食品科学, 1999(7):12-16.
- [13] 金波, 东惠茹. 一品红花色的探讨 [J]. 园艺学报, 1994, 21(1):87-90.
- [14] 谭任祥, 孟军才, 陈道峰. 植物成分分析 [M]. 北京: 科学出版社, 2002:498-500.
- [15] SWEENEY J G, WILKINSON M M, IACOBUCI G A. Effect of flavonoid sulfonates on the photobleaching of anthocyanins in acid solution [J]. J Agric Food Chem, 1981, 29:563-567.
- [16] MAZZA G, BROUILLARD R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products [J]. Food Chemistry, 1987, 25:207-225.
- [17] BROUILLARD R. Chemical structure of anthocyanins [C]// MARKAKIS P. Anthocyanins as food colors. New York: Academic Press, 1982.
- [18] SKREDE G. Color quality of blackcurrant syrups during storage evaluated by Hunter L', a', b' values [J]. J Food Sci, 1985, 50:514-517, 525.
- [19] 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.
- [20] BROUILLARD R. The in vivo expression of anthocyanin color in plants [J]. Phytochem, 1983, 22:1311-1323.
- [21] LEWIS C E, WALKER J R L, LANCASTER J E, et al. Determination of anthocyanins, flavonoid and phenolic acids in potatoes. I. colored cultivars of (*Solanum tuberosum* L) [J]. J Sci Food Agric, 1998, 77:45-57.
- [22] NATO K, UMEMURA Y, MORI M, et al. Acylated pelargonidin glycosides from a red potato [J]. Phytochemistry, 1998, 47:109-112.
- [23] RODRIGUEZ SACNA L E, GIUSI M M, WROLSTAD R E. Anthocyanin pigment composition of red-fleshed potatoes [J]. J Food Sci, 1998, 63(3):458-465.
- [24] TOMAS BARBERAN F A, ROBINS R J. Phytochemistry of fruits and vegetables [M]. Oxford: Clarendon Press, 1997:29-49.
- [25] 刘怡涛, 龙春林. 云南各民族使用花卉的初步研究 [J]. 云南植物研究, 2001, 23(4):41-56.
- [26] 肖崇厚, 陆蕴如. 中药化学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987:199-200.