

提取剂对紫薯花青素提取效果的影响及 pH 响应

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2019.05.007

朱安娜¹ 方兰兰¹ 余 晶²
张 涛² 王家俊^{1,2}

1. 浙江理工大学
材料与纺织学院
浙江 杭州 310018
2. 浙江理工大学
艺术与设计学院
浙江 杭州 310018

摘 要: 花青素, 是一种天然水溶性色素, 因其对环境友好、安全无毒, 且对 pH 变化敏感的特点, 在智能包装领域展现了独特的研究价值。以紫薯为原料, 通过保持提取剂的总体积不变, 改变提取剂中冰醋酸和无水乙醇的体积比的方法, 研究了提取剂中不同冰醋酸和无水乙醇的体积比对花青素提取效果的影响, 并分析了不同 pH 值下花青素溶液的显色反应。结果表明, 不同配比的提取剂对紫薯中提取花青素有较大影响。在冰醋酸和无水乙醇体积一定的条件下, 通过紫外-可见吸收光谱、pH 示差法等分析发现, 冰醋酸和无水乙醇的体积比为 1:1 时提取的花青素含量最高, 显色效果明显。

关键词: 紫薯; 花青素; 冰醋酸; 无水乙醇; pH; 显色

中图分类号: TS264.4

文献标志码: A

文章编号: 1674-7100(2019)05-0044-06

引文格式: 朱安娜, 方兰兰, 余 晶, 等. 提取剂对紫薯花青素提取效果的影响及 pH 响应 [J]. 包装学报, 2019, 11(5): 44-49.

1 研究背景

近年来, 消费者对食品安全问题越来越重视, 尤其是对食品新鲜程度的要求不断提高。目前, 对于食品的新鲜度主要通过化学试剂来检测, 如溴甲酚绿^[1]、甲酚红^[2]、溴甲酚紫^[3]等。然而, 这些化学染料对身体有害, 只能用于样品检测, 而不能实时跟踪食品的新鲜度。因此, 研发出一种能够实时检测食品新鲜度的智能包装具有重要意义, 这不仅可以提醒消费者食品是否新鲜, 还可以减少食品浪费。目前, 已有研究人员从红白菜^[4]、葡萄^[5]、蓝莓^[6]和紫白菜^[7]中提取花青素作为检测食品新鲜度的指示剂。

花青素^[8]是自然界中的天然水溶性色素, 属黄

酮多酚类化合物, 其基本结构包含两个苯环, 并以 C₆-C₃-C₆ 为骨架, 基础结构为 3, 5, 7- 三羟基-2- 苯基苯吡喃^[9], 以天竺葵色素 (pelargonidin)、矢车菊色素 (cyanidin)、飞燕草色素 (delphinidin)、芍药色素 (peonidin)、矮牵牛花色素 (petunidin) 及锦葵色素 (malvidin) 6 种色素为主^[10]。花青素主要储存于植物的花、果实及茎叶细胞的液泡中^[11], 是植物花瓣、水果、蔬菜等呈色的主要物质。

研究表明, 紫薯中富含大量的花青素, 主要是矢车菊色素、芍药色素、天竺葵色素、咖啡酸、阿魏酸、p- 香豆酸等^[12-13]。在植物中, 花青素大多与糖以糖苷键的形式结合组成花色苷存在。至今, 紫薯中一共发现了 39 种花色苷^[14], 这相对于其它原材料来说, 花色苷的种类更加丰富。文献 [15-16] 指出, 紫薯中提

收稿日期: 2019-07-17

基金项目: 浙江理工大学基本科研业务费专项基金资助项目 (2019Q084)

作者简介: 朱安娜 (1995-), 女, 浙江台州人, 浙江理工大学硕士生, 主要研究方向为包装材料,

E-mail: 18368494341@163.com

通信作者: 王家俊 (1963-), 男, 浙江理工大学教授, 博士生导师, 主要从事包装材料与技术, 先进复合材料, 生物与仿生材料等方面的研究, E-mail: wangjjhz@163.com

取的花青素在光照和高温下都具有较好的稳定性,可以减少在提取过程中因花青素不稳定而造成的损失。

在花青素提取工艺中,提取方法、提取剂、料液比、提取时间等都是影响花青素提取的重要因素^[17]。有机溶剂提取法^[18]操作简单安全、设备要求度低。在提取过程中,常在提取剂中加入一定浓度的酸溶液,使溶液保持酸性,防止非酰基化的花青素降解,但在蒸发浓缩时这些酸又会导致酰基化的花青素部分或全部水解^[19]。因此,本文提出以紫薯为原料,采用有机溶剂提取法,改变提取剂中冰醋酸和无水乙醇的体积比,探究花青素提取工艺中提取剂对花青素提取的影响。

2 实验材料与方法

2.1 实验材料

紫薯,超市购买;无水乙醇、冰醋酸,杭州高晶精细化工有限公司。实验中所用的水均为电导率为 $18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 的去离子水。

2.2 花青素的提取

在参考文献[20-21]的基础上,本研究按下面所述方法提取花青素。将新鲜紫薯洗净,切成 $2\sim 3\text{ mm}$ 厚的紫薯片,平摊于培养皿表面;在 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 真空干燥箱内烘干至恒重,研磨成粉末,过 $80\text{ }\mu\text{m}$ 筛筛选备用。首先将质量分数为 99.5% 的冰醋酸稀释成质量分数为 1% 的冰醋酸水溶液(以下简称冰醋酸);然后与无水乙醇分别按体积比 $1:0, 1:0.5, 1:1, 0.5:1, 0:1$ 混合,配置成 5 种不同配比等体积的提取剂;最后将紫薯粉末和提取剂按固液比 $1:5\text{ (g/mL)}$ 混合,磁力搅拌 24 h 、静置 24 h 、真空抽滤,得到花青素溶液。其工艺流程如图 1 所示。经 5 种提取剂浸渍和抽滤得到的花青素溶液分别用 $1:0, 1:0.5, 1:1, 0.5:1, 0:1$ 表示;其中, $1:0$ 指提取剂中冰醋酸的体积和无水乙醇的体积比为 $1:0$ 。

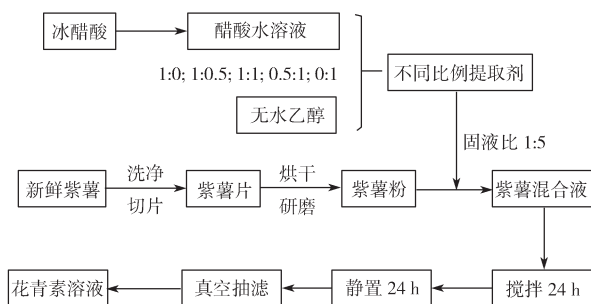


图 1 花青素提取工艺流程图

Fig. 1 Process flow diagram of anthocyanin extraction

2.3 测试与表征

1) 紫外-可见吸收光谱

采用安捷伦科技有限公司生产的 UV756 紫外-分光光度计 (UV-VIS), 测试 5 组不同提取剂提取的花青素溶液的紫外-可见吸收光谱, 波长设置为 $400\sim 800\text{ nm}$; 以及 $1:1$ 的花青素溶液, 在不同 pH 值下的紫外-可见吸收光谱, 波长设置为 $450\sim 800\text{ nm}$ 。

2) 实物图片

在同一环境下, 利用数码相机拍摄冰醋酸和无水乙醇不同配比的提取剂提取的花青素溶液, 以及不同 pH 值下花青素显色溶液图片。

3 结果与讨论

3.1 不同配比提取剂对花青素提取效果的影响

保持冰醋酸和无水乙醇制成的提取剂总体积为 100 mL 恒定不变, 改变提取剂中冰醋酸和无水乙醇的体积比来提取花青素, 结果如图 2 所示。从图 2 可以看出, 改变提取剂中冰醋酸和无水乙醇的体积比, 所得花青素溶液的颜色和透明度发生了明显的变化。随着提取剂中无水乙醇的增加, 提取液由浑浊的玫红色转变为清透的酒红色, 再由清透的酒红色转变为清透的黄色。

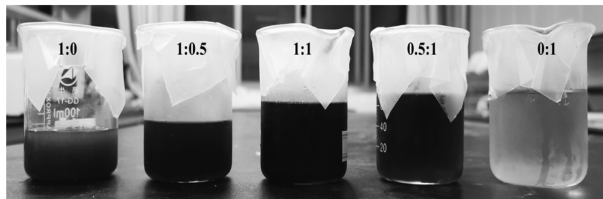


图 2 不同配比提取剂提取的花青素溶液

Fig. 2 Anthocyanin solution extracted with different ratios of extractants



彩图

图 2 所示的花青素溶液的紫外-可见吸收光谱 ($400\sim 800\text{ nm}$) 如图 3 所示, 光谱图在 530 nm 处的吸光度如图 4 所示。

由图 3 可知, 当冰醋酸和无水乙醇的体积比分别为 $1:0.5, 1:1, 0.5:1$ 时, 在 530 nm 处都出现一个宽的吸收峰, 这是花青素在酸性环境中的典型特征峰, 这与文献[22]中的结果相符。

由图 4 可知, 随着冰醋酸含量的增加, 530 nm 处吸光度的峰值呈先上升后下降再上升的趋势。在无水乙醇含量大于冰醋酸的情况下, 冰醋酸含量的增加有利于花青素的提取。

由图 3 和图 4 可知, 当冰醋酸和无水乙醇的体积比为 $1:0$ 时, 530 nm 吸光度出现了最大值, 然而光谱

图像上特征峰的显示却不明显,这可能是因为酸性环境过强,导致紫薯中的其它纤维素在 H^+ 的作用下被水解,产生了较多的副产物^[23]。当冰醋酸和无水乙醇体积比为 0:1 的提取液的吸光度曲线始终呈现出低而平缓的状态,冰醋酸含量太低也不利于花青素的提取。

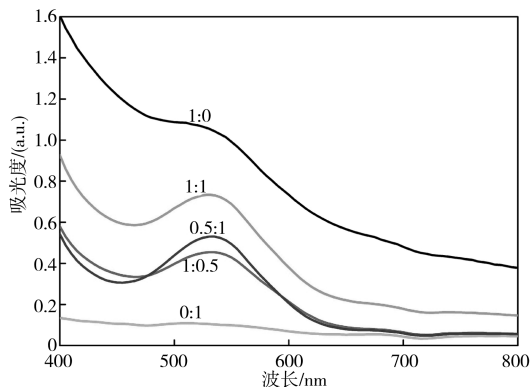


图 3 花青素溶液紫外-可见吸收光谱图

Fig. 3 UV-vis absorption spectra of anthocyanin solution

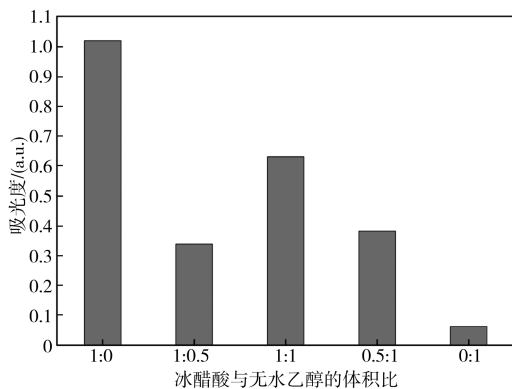


图 4 花青素溶液在 530 nm 处的吸光度

Fig. 4 Absorption intensity of anthocyanin solution at 530 nm

文献[24]采用 pH 示差法来计算提取液中花青素的含量,该方法通过盐酸来调节氯化钾缓冲液和乙酸钠缓冲液的 pH 值。首先将 pH 值调为 1 和 4.5;然后量取 0.4 mL 上述 5 种花青素溶液分别与 3.6 mL 两种不同 pH 值的缓冲溶液混合;最后在 530 nm 和 700 nm 处测得相应的吸光度,并运用公式(1)计算花青素的含量。

$$\text{花青素含量} = A \times MW \times DF \times 100 / MA, \quad (1)$$

式中: A 为吸光度值,且

$$A = (A_{530} - A_{700})_{pH=1} - (A_{530} - A_{700})_{pH=4.5};$$

MW 为花青素平均相对分子质量(449.2);

DF 为稀释倍数(10);

MA 为摩尔吸光系数(26 900)。

通过计算,得到不同比例提取剂提取的花青素含

量如表 1 所示。

表 1 不同比例提取剂提取的花青素含量

Table 1 Anthocyanin content in different proportion extractant

提取剂配比	1:0	1:0.5	1:1	0.5:1	0:1
花青素质量浓度/(mg·L ⁻¹)	7.625	15.291	24.383	24.196	4.224

在 5 种不同比例提取剂中,冰醋酸和无水乙醇的体积比为 1:1 时,提取的花青素溶液吸光度较高,透明度好,花青素含量高。综合分析可知,提取剂中冰醋酸和无水乙醇的体积比为 1:1,是提取花青素的最佳比例。

3.2 不同 pH 值下花青素溶液的颜色变化

采用最佳配比(冰醋酸和无水乙醇的体积比为 1:1)提取剂得到的花青素溶液,配制成不同 pH 值的花青素溶液:利用 pH 计将冰醋酸溶液和氢氧化钠溶液配制成 pH 值为 2~13 的缓冲溶液;分别移取 2 mL 的花青素溶液,通过滴加冰醋酸溶液和氢氧化钠溶液,将花青素溶液 pH 值调节为 2~13 并与相应的 pH 值的缓冲溶液混合,得到等体积(15 mL)的不同 pH 值的花青素溶液;最后利用紫外-可见分光光度计在 450~800 nm 范围内分别测定其紫外-可见吸收光谱。

不同 pH 值下花青素溶液的颜色变化如图 5 所示。

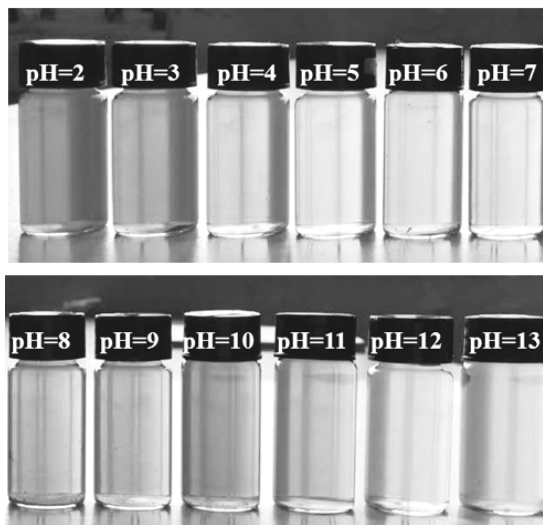


图 5 不同 pH 值下花青素溶液的颜色变化

Fig. 5 Color changes of anthocyanin extracts at different pH values



彩图

由图 5 可知,花青素溶液在酸性条件下呈红色,随着酸性增强,颜色加深;在中性条件下,溶液呈淡紫色透明,接近无色透明;在碱性条件下,溶液由蓝色到绿色再到黄色。当 pH=2 时,溶液呈鲜红色;当 pH 为 3~6 时,溶液呈浅红色;当 pH=7 时,溶液

由红色向蓝色转变, 呈紫色; 当 pH=8 时, 溶液呈蓝色; 当 pH=9 时, 溶液呈绿色; pH=11 时, 颜色由绿色向黄色转变。

在不同 pH 值下, 花青素溶液显色图片的 RGB 值如表 2 所示。由表 2 可知, 在酸性环境下, 随 pH 值的增大, R 值逐渐减小, G 值和 B 值大体上逐渐增大, 因此花青素溶液主要呈不同程度的红色。在碱性环境下, 随 pH 值的增大, R 值先减小再增大, G 值大体呈增大趋势, B 值大体呈减小趋势, 因此花青素溶液由蓝色到绿色再到黄色。

表 2 不同 pH 值下花青素溶液颜色的 RGB 值

Table 2 RGB values of anthocyanin solution colors at different pH values

pH	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
R	255	254	242	225	218	220	155	139	112	160	224	225
G	93	133	177	185	173	194	161	166	153	170	214	209
B	169	210	220	212	204	219	185	135	97	74	82	52

上述 12 种不同 pH 值下花青素溶液的紫外 - 可见吸收光谱如图 6 所示, 最宽吸收峰值如图 7 所示。

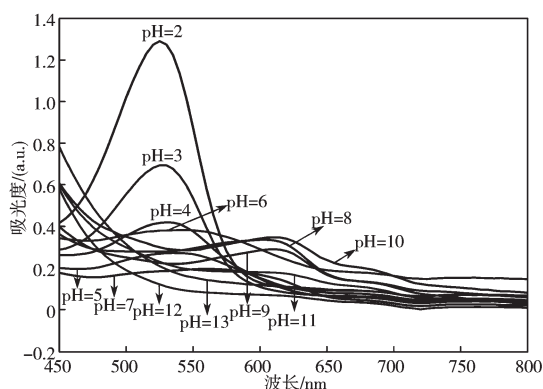


图 6 不同 pH 值下花青素溶液紫外 - 可见吸收光谱图

Fig. 6 UV-vis absorption spectrum of anthocyanin solution at different pH values

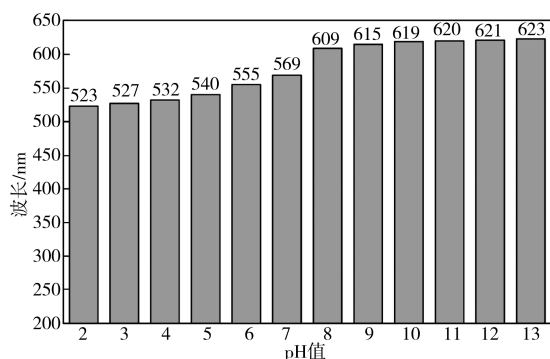


图 7 不同 pH 值下花青素溶液紫外 - 可见吸收光谱的峰值

Fig. 7 Peak values of UV-vis absorption of anthocyanin solution at different pH values

由图 6 可知, 当 pH 值为 2~4 时, 花青素溶液在 530 nm 处出现最大吸收峰, 这是黄烺盐阳离子^[20, 25]的作用; 当 pH 值为 5~6 时, 花青素溶液吸收峰移至 550 nm 处; 当 pH 值为 7~8 时, 花青素溶液吸收峰移至 590 nm 处, 这是黄烺盐阳离子吸收氢氧根离子 (OH^-) 后形成无色假醇碱^[25-26]; 当 pH 值为 9~10 时, 花青素溶液在 617 nm 出现吸收峰, 且吸收峰随着 pH 值的增加而继续增加, 溶液的颜色也随之加深; 当 pH 值为 11~13 时, 花青素溶液吸收峰逐渐消失, 这是由于花色苷中心环打开, 形成查尔酮^[25-26]。

在不同 pH 环境中, 花青素的结构会发生变化, 从而使得溶液颜色和深浅程度也发生了相应的改变, 其结构变化如 8 图所示。

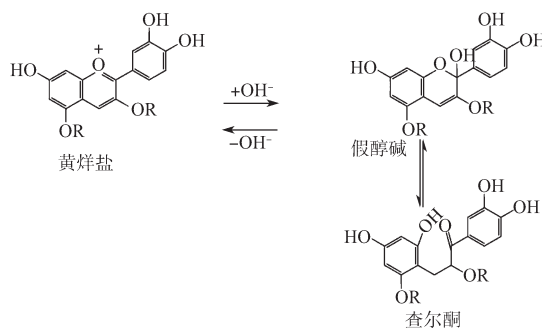


图 8 花青素显色结构变化原理图

Fig. 8 Schematic diagram of anthocyanin color structure change

4 结语

天然水溶性花青素具有环境友好、安全无毒、智能显色的特性, 在智能包装检测领域展现出了重要的研究价值。本文以紫薯为原料, 探究了提取剂中冰醋酸和无水乙醇的不同配比对花青素提取效果的影响。综合花青素溶液的颜色、透明度及紫外 - 可见吸收光谱分析, 确定提取剂中冰醋酸和无水乙醇最佳的体积比为 1:1。在该提取条件下得到的花青素溶液, 在不同 pH 值环境下可产生明显的颜色变化, 作为 pH 响应材料, 在智能包装领域具有较大的发展潜力。

参考文献:

- [1] PIRSA S, KARIMI SANI I, KHODAYVANDI S. Design and Fabrication of Starch-Nano Clay Composite Films Loaded with Methyl Orange and Bromocresol Green for Determination of Spoilage in Milk Package[J].

- Polymers for Advanced Technologies, 2018, 29(11): 2750–2758.
- [2] UZAIR S, FAROOQ U, BIDHURI P, et al. Interaction of Cresol Red Dye with Some Basic Amino Acids Under Different pH Conditions[J]. Journal of the Chinese Chemical Society, 2017, 64(8): 969–977.
 - [3] KIM D, LEE S, LEE K, et al. Development of a pH Indicator Composed of High Moisture-Absorbing Materials for Real-Time Monitoring of Chicken Breast Freshness[J]. Food Science and Biotechnology, 2017, 26(1): 37–42.
 - [4] PEREIRA JR V A, DE ARRUDA I N Q, STEFANI R. Active Chitosan/PVA Films with Anthocyanins from Brassica Oleraceae (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for Application in Intelligent Food Packaging[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 180–188.
 - [5] MACIEL V B V, YOSHIDA C M P, FRANCO T T. Chitosan/Pectin Polyelectrolyte Complex as a pH Indicator[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 132: 537–545.
 - [6] LUCHESE C L, SPEROTTO N, SPADA J C, et al. Effect of Blueberry Agro-Industrial Waste Addition to Corn Starch-Based Films for the Production of a pH-Indicator Film[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 104: 11–18.
 - [7] CHEN C C, WANG Y R, YANG Y N, et al. High Strength Gelatin-Based Nanocomposites Reinforced by Surface-Deacetylated Chitin Nanofiber Networks[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 195: 387–392.
 - [8] 江友洋. 利用植物花青素制取快速指示剂[J]. 生物学教学, 1958(3): 21–22.
JIANG Youyang. Preparation of Rapid Indicator from Plant Anthocyanin[J]. Biology Teaching, 1958(3): 21–22.
 - [9] DEMIRDÖVEN A, KARABIYIKLI S, TOKATLI K, et al. Inhibitory Effects of Red Cabbage and Sour Cherry Pomace Anthocyanin Extracts on Food Borne Pathogens and Their Antioxidant Properties[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 63(1): 8–13.
 - [10] 韩海华, 梁名志, 王 丽, 等. 花青素的研究进展及其应用[J]. 茶叶, 2011, 37(4): 217–220.
HAN Haihua, LIANG Mingzhi, WANG Li, et al. Research Progress of Anthocyanin[J]. Journal of Tea, 2011, 37(4): 217–220.
 - [11] 何 琼. 紫心大白菜花青素合成和积累的分子机理研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2018.
HE Qiong. Mechanism of Anthocyanin Biosynthesis and Accumulation in Purple-Head Chinese Cabbage[D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2018.
 - [12] TERAHARA N, KONCZAK I, ONO H, et al. Characterization of Acylated Anthocyanins in Callus Induced from Storage Root of Purple-Fleshed Sweet Potato, Ipomoea Batatas L[J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2004(5): 279–286.
 - [13] SHI Z U, BASSA I A, GABRIEL S L, et al. Anthocyanin Pigments of Sweet Potatoes-Ipomoea Batatas[J]. Journal of Food Science, 1992, 57(3): 755–757.
 - [14] HARBORNE J B. Spectral Methods of Characterizing Anthocyanins[J]. Biochemical Journal, 1958, 70(1): 22–28.
 - [15] LI J, LI X D, ZHANG Y, et al. Identification and Thermal Stability of Purple-Fleshed Sweet Potato Anthocyanins in Aqueous Solutions with Various pH Values and Fruit Juices[J]. Food Chemistry, 2013, 136(3/4): 1429–1434.
 - [16] KITA A, BKOWSKA-BARCZAK A, LISISKA G, et al. Antioxidant Activity and Quality of Red and Purple Flesh Potato Chips[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 62(1): 525–531.
 - [17] 章萍萍. 紫薯花青素的提取、纯化及其抗氧化和益生元活性研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017.
ZHANG Pingping. Study on Extraction, Purification and Activity of Antioxidant and Prebiotics of Purple Sweet Potato Anthocyanins[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2017.
 - [18] 李俊儒, 胡继红, 张 彩, 等. 花青素提取方法的研究进展[J]. 现代食品, 2018(8), 10–12.
LI Junru, HU Jihong, ZHANG Cai, et al. Research Progress of Anthocyanins Extraction Methods[J]. Modern Food, 2018(8): 10–12.
 - [19] HE Z Y, XU M Z, ZENG M M, et al. Interactions of Milk α - and β -Tasein with Malvidin-3-O-Glucoside and Their Effects on the Stability of Grape Skin Anthocyanin Extracts[J]. Food Chemistry, 2016, 199: 314–322.
 - [20] CHOI I, LEE J Y, LACROIX M, et al. Intelligent pH Indicator Film Composed of Agar/Potato Starch and Anthocyanin Extracts from Purple Sweet Potato[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 122–128.
 - [21] 邹小波, 蒋彩萍, 张俊俊, 等. 紫薯花青素与淀粉/PVA复合膜的制备与表征[J]. 现代食品科技, 2018(1): 148–153.
ZOU Xiaobo, JIANG Caiping, ZHANG Junjun, et al. Preparation and Characterization of Starch/PVA Composite Films Incorporated with Anthocyanins of

- Purple Sweet Potato[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018(1): 148–153.
- [22] LI Y, YING Y B, ZHOU Y Q, et al. A pH-Indicating Intelligent Packaging Composed of Chitosan-Purple Potato Extractions Strength by Surface-Deacetylated Chitin Nanofibers[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 127: 376–384.
- [23] 王希国, 杨 谦, 燕 红. 纤维素酶催化水解和氧化机制的研究进展 [J]. *林产化学与工业*, 2005(3): 125–130.
- WANG Xiguo, YANG Qian, YAN Hong. Advances in Studies on Mechanism of Cellulose Degradation by Enzymic Hydrolysis and Oxidation[J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2005(3): 125–130.
- [24] ÇAM M, HISIL Y, DURMAZ G. Classification of Eight Pomegranate Juices Based on Antioxidant Capacity Measured by Four Methods[J]. *Food Chemistry*, 2009, 112(3): 721–726.
- [25] 周培剑. 紫甘蓝和紫甘薯色素提取及酸碱指示真丝织物的制备 [D]. 杭州: 浙江理工大学, 2012.
- ZHOU Peijian. The Extraction of Red Cabbage/Purple Sweet Potato and Preparation of Acid-Base Indicator Silk Fabric[D]. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University, 2012.
- [26] PRIETTO L, MIRAPALHETE T C, PINTO V Z, et al. pH-Sensitive Films Containing Anthocyanins Extracted from Black Bean Seed Coat and Red Cabbage[J]. *LWT*, 2017, 80: 492–500.
- (责任编辑: 邓光辉)

Effect of Extractants on Anthocyanin Extraction from Purple Potato and Relevant pH Response

ZHU Anna¹, FANG Lanlan¹, YU Jing², ZHANG Tao², WANG Jiajun^{1,2}

(1. College of Materials and Textiles, Zhejiang Sci-Tec University, Hangzhou 310018, China;

2. College of Art and Design, Zhejiang Sci-Tec University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: Anthocyanin, a natural water-soluble pigment, has shown its unique research value in the field of intelligent packaging as it is environmentally friendly, safe and non-toxic, and sensitive to pH changes. With purple potato as the raw material, by keeping the total volume of the extractant unchanged and changing the volume ratio of glacial acetic acid and anhydrous ethanol in the extractant, the effect of the volume ratio of different glacial acetic acid and anhydrous ethanol in the extractant on the anthocyanin extraction effect was studied, and the color reactions of anthocyanin solution at different pH values were analyzed. The results showed that different proportion of extractant had a great influence on the extraction of anthocyanin from purple potato. Under the condition of certain volume of glacial acetic acid and anhydrous ethanol, the content of anthocyanin was the highest and the color effect was obvious by the analysis of ultraviolet-visible absorption spectrum and pH difference method when the volume ratio of glacial acetic acid and anhydrous ethanol was 1:1.

Keywords: purple potato; anthocyanin; glacial acetic acid; absolute ethyl alcohol; pH; coloration