

刘国敏,吴玉,郑虚,等.桂彩薯1号马铃薯花色苷提取方法的比较及降解影响因子研究[J].黑龙江农业科学,2020(6):93-97.

桂彩薯1号马铃薯花色苷提取方法的比较及降解影响因子研究

刘国敏¹,吴玉²,郑虚¹,叶亦心²,韦兰刚²,石达金³,闫飞燕³,邓英毅²

(1. 广西农业科学院经济作物研究所,广西南宁530007;2. 广西大学农学院,广西南宁530004;3. 广西农业科学院玉米研究所,广西南宁530007)

摘要:为开发利用马铃薯新品种桂彩薯1号花色苷及研究其储存条件,以桂彩薯1号和紫云1号为研究对象,采用两种不同花色苷提取液进行提取比较,T1:1.5 mol·L⁻¹ HCl:95%乙醇=15:85(体积比),pH1.0;T2:1% HCl 甲醇溶液,pH1.0,并对T1提取的桂彩薯1号花色苷提取液进行3个环境条件处理,分别为室温(25~30℃)自然光,4℃低温自然光,4℃低温黑暗,在放置天数为2,5,7,15和75 d时进行花色苷含量测定,观察花色苷降解过程,对马铃薯块茎中花色苷的提取方法进行比较,并对其提取后的降解影响因子等进行分析研究。结果表明:不同提取方法差异显著,用盐酸甲醇(T2)作提取液提取出的花色苷含量显著高于盐酸乙醇(T1);温度和光照均能影响马铃薯花色苷的降解,但温度影响效应大于光照。

关键词:马铃薯;花色苷;光照;温度;降解

马铃薯又名洋芋或土豆,被誉为21世纪最有发展前景的经济作物之一^[1],也被称为“地球未来的粮食”^[2-3]。2015年我国将马铃薯列为继小麦、玉米和水稻之后的第四大主粮作物^[4-5]。近年来,紫色马铃薯因其富含花色素渐为人所知,并且发展迅速,市场上涌现出各种各样的新品种,其中,

桂彩薯1号是广西农业科学院经济作物研究所从2005年开始通过马铃薯资源的引进、筛选与创新研究而选育出的新品种,2013年通过省级品种审定,据检测桂彩薯1号块茎中花色苷含量为178.6 mg·100 g⁻¹ FW^[6],是目前我国花色苷含量最高的马铃薯品种。花色苷是花色素与糖,以糖苷键结合而成的一种水溶性色素,属类黄酮化合物,广泛存在于植物的花、果实、茎、叶和根器官的细胞液中,使其呈现由红、紫红到蓝等不同颜色^[7]。花色苷除了赋予植物丰富的色彩外,还可吸引昆虫传粉,提高植物的光保护能力、抗冻能力、抗旱能力、抗氧化能力及抗菌抗虫能力等^[8]。同时,研究还表明,花色苷对人体具有许多保健功能如强抗氧化,清除自由基能力,预防心血管疾病、抗肿瘤、抗突变和辐射、调节血小板活性、防血

收稿日期:2019-12-18

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项经费(201503001-5,20150312713);广西创新驱动发展专项;广西科技重大专项(桂科AA17204054);国家现代农业产业技术体系广西薯类创新团队建设专项(nycytgxxtid-11-02);广西农业科学院基本科研业务专项(2015YT62);广西农业科学院基本科研业务专项(桂TS201432)。

第一作者:刘国敏(1989-),女,硕士,助理研究员,从事作物栽培与生理生态研究。E-mail:1158593947@qq.com。

通信作者:邓英毅(1972-),女,博士,副教授,从事园艺植物育种与栽培生理研究。E-mail:yingyideng@163.com。

Abstract: In order to improve the biogas yield, response surface methodology was used to optimize the parameters of anaerobic fermentation. Based on Box-Behnken central combination experiment design, the effects of fermentation temperature, total solid concentration and biochar dosage on biogas yields were studied. The relevant mathematical model was established and validated by experiments. The results showed that the effects of three factors on the biogas yield were all significant. The optimum conditions were: fermentation temperature 40℃, total solid concentration 8.7%, and corn straw carbon 7.8%. The average biogas yield reached 2544 mL under the optimal condition and the deviation between predicted value and experimental biogas yield 2451 mL was 3.8%. It was proved that the model can be used to predict the biogas yield of biochar-cow manure by anaerobic fermentation.

Keywords: corn straw; biochar; cow manure; anaerobic fermentation; parameter optimization

小板凝结以及免疫调节活性等^[9-19]。近年来对花色苷进行开发和应用已逐渐成为世界食用色素发展的总趋势。彩色马铃薯块茎中除含有大量淀粉外,还富含许多天然抗氧化成分如花色苷和类胡萝卜素,其中紫肉马铃薯品种的花色苷含量高于红肉、黄肉和白肉品种^[20],并且其单位面积的花色苷产量潜力远高于其他色素作物。因此,马铃薯花色苷的研究和开发利用日益受到各国科学家的关注和重视^[21-24]。本试验以紫色马铃薯新品种桂彩薯1号为试验材料,通过对马铃薯块茎中花色苷的提取方法进行比较并对其提取后的降解等进行分析研究,旨在为开发利用桂彩薯1号花色苷及其储存条件提供理论参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

田间试验于2017年在广西大学试验田进行,供试马铃薯品种为桂彩薯1号和紫云1号,选择地势相对平坦,肥力中等,有代表性,灌排方便的田块进行试验。

1.2 方 法

1.2.1 试验设计 两个马铃薯品种田间种植采用随机区组设计,设置3次重复,每小区种植4畦,小区面积 $4.0\text{ m}\times 4.0\text{ m}=16.0\text{ m}^2$,株行距为 $25\text{ cm}\times 40\text{ cm}$,基施有机肥 $205\text{ kg}\cdot 667\text{ m}^2$,硅钙磷肥(三柳牌,可溶性硅 $\text{SiO}_2\geq 30.0\%$,可溶性钙 $\text{CaO}\geq 30.0\%$,有效磷 $\text{P}_2\text{O}_5\geq 2.0\%$) $10\text{ kg}\cdot 667\text{ m}^2$,复合肥(含量为 45% , $\text{N}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O}=15:15:15$) $10\text{ kg}\cdot 667\text{ m}^2$,尿素 $10\text{ kg}\cdot 667\text{ m}^2$;苗期追施尿素 $10\text{ kg}\cdot 667\text{ m}^2$,块茎膨大期追施复合肥(含量为 45% , $\text{N}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O}=15:15:15$) $10\text{ kg}\cdot 667\text{ m}^2$ +硫酸钾 $15\text{ kg}\cdot 667\text{ m}^2$ 。其他田间管理及收获过程按当地生产技术标准进行。

1.2.2 马铃薯花色苷的提取 马铃薯花色苷采用2种不同提取液进行提取比较,T1: $1.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HCl}:95\%\text{乙醇}=15:85$ (体积比), $\text{pH}1.0$;T2: $1\%\text{HCl}$ 甲醇溶液, $\text{pH}1.0$ 。

将收获后的薯块清洗干净,鲜薯纵切,称取

1 g 左右的鲜薯肉薄片,加入一定量的预冷提取液,研磨成匀浆后,在低温冰浴($4\text{ }^\circ\text{C}$)超声波上进行超声浸提(超声波清洗器:SB25-12D,宁波新芝生物科技股份有限公司),然后将上部含有色素的溶液移至 50 mL 离心管中, $4\text{ }^\circ\text{C}$, $5\ 000\sim 10\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min (超速冷冻离心机:Optimal-100XP,美国贝克曼库尔特公司),上清液即为花色苷提取液,重复提取 $3\sim 4$ 次至无色为止(整个过程约 $12\sim 24\text{ h}$)。将所有上清液移至 100 mL 容量瓶定容。以提取剂作为参比,用紫外-可见分光光度计(紫外-可见分光光度计:UV2450,日本岛津公司)扫描 $200\sim 800\text{ nm}$ 的吸收曲线,确定 $500\sim 550\text{ nm}$ 范围内最高光吸收值的波长,测定其吸光度值。

1.2.3 花色苷的降解 花色苷的降解过程设置3个不同环境条件,分别为常温($25\sim 30\text{ }^\circ\text{C}$)自然光照,低温($4\text{ }^\circ\text{C}$)自然光照和低温($4\text{ }^\circ\text{C}$)黑暗。

将桂彩薯1号T1提取液分别在常温($25\sim 30\text{ }^\circ\text{C}$)自然光照下,低温黑暗条件下,低温自然光照条件下放置 $2,5,7,15$ 和 75 d ,每个环境条件做3次重复。

1.2.4 花色苷含量的计算方法 用单个花色苷(矢车菊素-3-葡萄糖苷)比消光度计算花色苷含量:

$$\text{花色苷含量}(\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{FW})=A\times\text{MW}\times\text{DV}\times\text{DF}\times 100/(\epsilon\times l\times m)$$

式中:A为 $500\sim 550\text{ nm}$ 范围内最高光吸收值波长下的吸光度;MW为矢车菊素-3-葡萄糖苷分子量(取 $449.2\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);DV表示提取液总体积(mL);DF为稀释倍数; ϵ 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数(取 $26\ 900\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$); l 为比色皿光程(1 cm); m 表示提取马铃薯质量(g)。

1.2.5 数据分析 试验数据采用Excel 2015进行输入数据和制作图表,用SPSS21.0统计软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 马铃薯花色苷不同提取方法的差异比较

不同提取液提取马铃薯花色苷在 $300\sim$

800 nm的吸收峰是不一样的,用 T1 法来提取桂彩薯1号和紫云1号薯肉的花色苷,其在500~600 nm的吸收峰为543 nm,用 T2 法来提取其相应范围内的吸收峰则为538 nm。由表1可知,马

铃薯花色苷不同提取方法所测定的花色苷含量有差异,两个品种提取出的花色苷含量均是 T2 大于 T1,其中紫云1号提高44.98%,桂彩薯1号提高46.57%。

表1 马铃薯花色苷不同提取方法的花色苷含量比较

Table 1 Comparison of anthocyanin content of potato in different methods

品种	花色苷含量 Anthocyanin content/(mg·100 g ⁻¹ FW)		T2 比 T1 的增加率
Varieties	T1	T2	Increase rate of T2 over T1/%
紫云1号	32.50±1.04 a	47.12±1.71 a	44.98±0.04 a
桂彩薯1号	133.49±2.82 b	195.66±5.50 b	46.57±0.07 b

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference among treatments at 5% level.

2.2 马铃薯花色苷的降解

从图1 马铃薯花色苷含量降解变化可以看出,温度对桂彩薯1号花色苷的降解比光照的影响更大,在低温条件下花色苷降解较慢。花色苷提取液在常温(25~30℃)自然光照下放置2 d,花色苷含量就开始显著下降,比刚提取出来时下降24%,放置5 d则下降73%,放置7 d则下降80%,放置15 d基本降解为无色;而在4℃低温自然光照条件下花色苷放置5 d下降15%,放置7 d下降25%,放置75 d下降40%;在4℃低温黑暗条件下花色苷降解慢,放置5 d才下降8%,放置7 d下降15%,放置75 d则仅下降22%(图1,图2)。

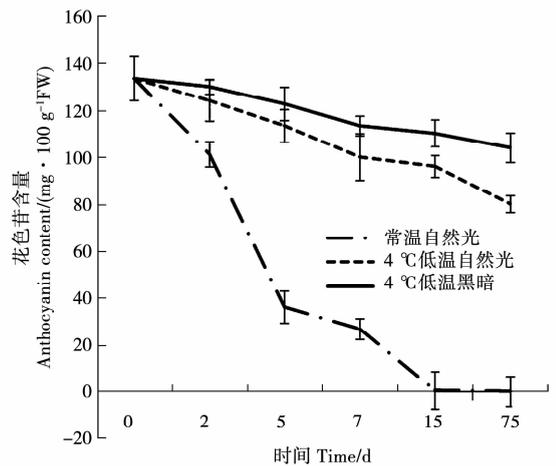


图1 桂彩薯1号马铃薯花色苷的降解

Fig. 1 Degradation of anthocyanins from Guicaishu No. 1 potato

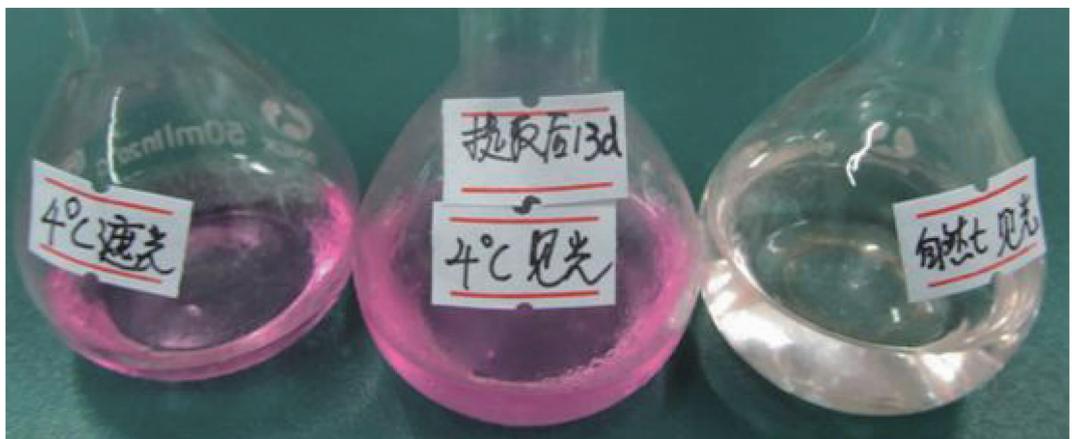


图2 桂彩薯1号马铃薯花色苷在不同条件下的降解

Fig. 2 Degradation of anthocyanins from Guicaishu No. 1 potato under different conditions

3 结论与讨论

房岩强等^[25]曾采用浸提法提取“紫罗兰”马铃薯中的花色苷,他提出紫色马铃薯中花色苷提取的最佳工艺条件为:乙醇体积分数 70%,提取温度 50 ℃,提取时间 90 min, pH1.00,液料比 10:1(mL·g⁻¹);杨玲等^[26-27]认为,不同提取剂影响花色苷的含量,放置时间和温度则影响花色苷的降解。本试验结果表明采用不同的提取方法提取马铃薯花色苷,盐酸甲醇提取方法比盐酸乙醇提取出来的花色苷含量更多,两种提取方法差异显著,但甲醇具有一定毒性,建议采用更为安全低毒的盐酸乙醇提取液来进行提取。李彩霞等^[27]的研究表明,光照对“黑美人”马铃薯花色苷稳定性的影响比温度大,低温避光储存和室温避光储存的吸光度稍有下降但基本稳定。张春秋等^[28]研究发现花色苷的合成与否及其合成量与光受体和光信号转导因子密切相关。Lewis 等^[29]将 Desiree 和 Arran Victory 两个品种的块茎贮存在 4 ℃时,块茎表皮中的花色苷含量增加,而在 10 ℃或更高温度下则下降,这说明影响马铃薯花色苷降解的因素主要是温度和光照,本研究结果表明温度对桂彩薯 1 号马铃薯花色苷降解的影响显著大于光照,在低温条件下花色苷降解较慢,与前人研究结果一致。综上所述,桂彩薯 1 号马铃薯应该在低温避光的条件下储存,保持低温尤为重要。

下一步将从温度、提取时间、乙醇百分比、pH 等方面继续对桂彩薯 1 号花色苷的提取进行探讨,提高花色苷提取率,并从酸碱度、食品添加剂等方面对花色苷的降解影响因子进行分析研究,为提高花色苷利用率提供理论依据。

参考文献:

[1] 周蓓. 马铃薯研究现状与产业发展对策[J]. 上海农业学报, 2008,24(3): 89-92.

- [2] 李明朝. 马铃薯主食产业化的南阳探索[J]. 农村. 农业. 农民(B版), 2017(4): 52-53.
- [3] Charles C M. 1493: Uncovering the new world Columbus created[M]. New York: Knopf, 2011, 274.
- [4] FAOSTAT. [DB/OL]. [2019-12-18]. <http://faostat3.fao.org/home/E>.
- [5] Akyol H, Riciputi Y, Capanoglu E, et al. Phenolic compounds in the potato and its byproducts: An overview[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(6): 835.
- [6] Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology[J]. Plant Physiology, 2001, 126: 485-493.
- [7] 卢其能. 马铃薯花色苷及其生物合成的主要关键酶基因的克隆与表达分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2006.
- [8] Brown C R. Antioxidants in potato[J]. American Journal of Potato Research, 2005a, 82(2): 163-172.
- [9] Brown C R, Culley D, Yang C P, et al. Variation of anthocyanin and carotenoid contents and associated antioxidant values in potato breeding lines[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2005b, 130: 174-180.
- [10] Han K H, Sekikawa M, Shimada K I, et al. Anthocyanin-rich purple potato flake extract has antioxidant capacity and improves antioxidant potential in rats[J]. British Journal of Nutrition, 2006, 96: 1125-1133.
- [11] Hayashi K, Mori M, Knox Y M, et al. Antiinfluenza virus activity of a red-fleshed potato anthocyanin[J]. Food Science and Technology Research, 2003, 9(3): 242-244.
- [12] Hayashi K, Hibasami H, Murakami T, et al. Induction of apoptosis in cultures human stomach cancer cells by potato anthocyanins and its inhibitor effects on growth of stomach cancer in mice[J]. Food Science and Technology Research, 2006, 12(1): 22-26.
- [13] Stintzing F C, Carle R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants food and in human nutrition[J]. Trends in Food Science & Technology, 2004, 15: 19-38.
- [14] Pascual-Teresa S D, Sanchez-Ballesta M T. Anthocyanins: from plant to health[J]. Phytochemistry Reviews, 2008,

- 7(2):281-299.
- [15] 贾娜,孔保华,张洪涛.黑加仑花色苷的提取及抗氧化活性研究[J].食品科学,2011,32(15):162-166.
- [16] 秦玉,凌文华.黑米花色苷提取物胶囊对高血脂症病人的降血脂作用[J].食品科学,2008,29(10):540-542.
- [17] 唐传核,彭志英.天然花色苷类色素的生理功能及应用前景[J].冷饮与速冻食品工业,2000(1):26-28.
- [18] 张名位,张瑞芬,郭宝江,等.黑米花色苷对血管内皮细胞过氧化损伤的保护作用[J].营养学报,2006,28(3):216-220.
- [19] Mazza G, Miniati E. Anthocyanins in fruits, vegetables, and grain[M]. CRC press, Boca Raton, FL, 1993.
- [20] Nayak B, Berrios J D J, Powers J R, et al. Colored potatoes (*Solanum tuberosum* L.) dried for antioxidant-rich value-added foods[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2011, 35(5):571-580.
- [21] 肖继坪,郭华春.云南马铃薯地方彩色品种“剑川红”和“转心乌”的花色苷主成分分析[J].天然产物研究与开发,2012,24(4):503-506,497.
- [22] 杨琼芬,白建明,杨万林,等.云南省彩色马铃薯产业的发展趋势和方向[J].中国马铃薯,2006,20(4):254-255.
- [23] 陈海霞,聂先舟,刘明月,等.马铃薯花色苷及其遗传研究进展[J].中国农业科学,2010,43(8):1634-1642.
- [24] 包丽仙,李山云,杨琼芬,等.引进彩色马铃薯资源的农艺性状及块茎性状评价[J].西南农业学报,2012,25(4):1187-1192.
- [25] 房岩强,刘建垒,赵丽,等.紫色马铃薯花色苷的浸提工艺研究[J].中国粮油学报,2009(8):143-146.
- [26] 杨玲,刘丽军,赵永莉,等.不同提取剂对紫罗兰马铃薯花青素提取含量的影响[J].石油化工应用,2008(10):7-9.
- [27] 李彩霞,杨小龙,李琼,等.“黑美人”土豆色素稳定性的研究[J].食品科学,2010(9):89-94.
- [28] 张春秋,金黎平.马铃薯色素的遗传及调控研究进展[J].中国蔬菜,2007(4):35-38.
- [29] Lewis C E, Walker J R, Lancaster J E. Changes in anthocyanin, flavonoid and phenolic acid concentrations during development and storage of coloured potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999, 79:311-316.

Comparison of Extraction Methods of Anthocyanins from Guicaishu No. 1 Potato and Study on Its Influencing Degradation Factors

LIU Guo-min¹, WU Yu², ZHENG Xu¹, YE Yi-xin², WEI Lan-gang², SHA Da-jin³, YAN Fei-yan³, DENG Ying-yi²

(1. Cash Crops Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; 2. Collage of Agronomy, Guangxi University, Nanning 530004, China; 3. Maize Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract: In order to develop and utilize the new potato variety Guicaishu No. 1 anthocyanin and study its storage conditions, taking Guicaishu No. 1 and Ziyun No. 1 as research objects, two different anthocyanin extracts were used for extraction and comparison. T1: 1.5 mol·L⁻¹ HCl:95% ethanol=15:85 (volume ratio), pH 1.0; T2: 1% HCl methanol solution, pH 1.0, and three environmental conditions were treated for the anthocyanin extract of Guicaishu No. 1 extracted at T1, respectively at room temperature (25-30 °C) natural light, low temperature natural light at 4 °C, dark low temperature at 4 °C, the content of anthocyanins was measured when the storage time was 2, 5, 7, 15, 75, and the degradation process of anthocyanins was observed, the extraction methods of anthocyanins in potato tubers were compared, and the degradation factors after extraction were analyzed and studied. The results showed that: the extraction methods were significantly different, and the content of anthocyanins extracted with methanol hydrochloride (T2) was significantly higher than that of ethanol hydrochloride (T1); both temperature and light could affect the degradation of potato anthocyanins, but the effect of temperature is greater than that of light.

Keywords: potato; anthocyanins; light; temperature; degradation