

紫甘薯花色苷

快速检测方法初探

涂宗财, 李金林, 王辉, 张雪春

(南昌大学食品科学教育部重点实验室, 江西南昌 330047)

摘要:以 2.5% 柠檬酸提取的紫甘薯色素为样品, 通过紫外-可见分光光度计检测研究紫甘薯花色苷快速检测的方法。研究了紫甘薯色素检测的最佳 pH、最大吸收波长、吸光度的线性范围和漂白剂的最佳用量, 得到最佳检测条件。结果发现, 紫甘薯花色苷定量检测的最佳 pH 为 3, 最大吸收波长为 $527 \pm 1\text{nm}$, 吸光度线性范围在 0.2~2.9, 亚硫酸钠的用量控制在 0.3~0.5g/10mL。

关键词:紫甘薯花色苷, 紫外-可见分光光度法, 检测方法

Abstract:Analyzing method for anthocyanins extracted from purple sweet potato was developed in this paper. The anthocyanins were extracted with 2.5% citric acid. The pH, wavelength, linearity range and decolourant quantity have been investigated to confirm the best determination condition. The results show that the most suitable pH is 3, the maximum absorbing wavelength is $527 \pm 1\text{nm}$, good linearity was obtained when absorbency fell in between 0.2 and 2.9, and the results of bleaching are acceptable when the quantity of sodium sulfite was between 0.3g/10mL and 0.5g/10mL.

Key words:purple sweet potato anthocyanins; UV - spectrometry; analyzing method

中图分类号: TS255.1 文献标识码: A
文章编号: 1002-0306(2006)11-0185-03

食用色素是食品中重要的添加剂, 鉴于合成色素影响人体健康, 而天然食用色素则具有安全无毒的优点, 人们对天然绿色食品的渴求日益强烈, 现已研制开发出的有萝卜红、红曲红、辣椒红和葡萄红等色素。紫心甘薯是近年来国内外新兴的特种甘薯品种, 所含花色甙类红色素与葡萄皮等原料相当, 其稳定性又优于葡萄皮和黑莓色素等, 是一种重要的天然色素源, 在食品和医药等行业有广泛的应用前景^[1]。目前,

研究紫甘薯花色苷提取、纯化和功能性质的较多, 而对检测方法的研究较少, 检测的方法一般是延用其他色素的检测方法, 由于影响花色苷显色的因素很多, 建立紫甘薯花色苷自己的检测方法很有必要。

1 实验原理

由于亚硫酸钠只对花色苷具有漂白作用, 对其他非花色苷类物质的吸光度值不会产生影响, 以漂白后的样品作为空白, 用紫外-可见分光光度计对紫甘薯花色苷进行检测, 吸光度值即为花色苷的吸光度。结果以色价计算^[2]: $E1\%1\text{cm} = A * V / W$, 式中, $E1\%1\text{cm}$ 表示色价; A 表示样品的吸光度; V 表示最终色素溶液的总容积; W 表示固体样品的质量。并可结合标准曲线法, 以苋菜红为标准样, 来计算样品的相对含量^[2]。

2 材料与方法

2.1 材料与设备

紫甘薯 由江西鹰潭紫甘薯色素厂提供; 柠檬酸, 磷酸氢二钠, 盐酸, 氢氧化钠, 亚硫酸钠。

飞利浦 HRI707 型捣碎机, BECHMAN 公司 DC-640 紫外分光光度计, 320-SpH 计, 抽滤装置一套。

2.2 花色苷的提取

经梁华正, 徐琼^[3]等的研究表明, 紫甘薯花色苷在酸性条件下具有较好的稳定性, 为在研究阶段花色苷稳定, 选择在酸性条件下提取花色苷, 本实验用柠檬酸溶液进行提取^[4]。

称取新鲜紫甘薯 20.0g, 按 1:20 量取 400mL 水, 并加入 10g 柠檬酸(按 2.5% 加入), 一起放入捣碎机中捣碎。在室温下提取 2~4h, 用 300 目的滤布过滤, 然后用抽滤瓶抽滤样品。

2.3 紫甘薯花色苷定量分析 pH 的选择

pH 是影响花色苷最大吸收峰和吸光度的最重

收稿日期: 2006-04-17

作者简介: 涂宗财(1965-), 男, 教授, 硕士生导师。

要的因素之一^[5],pH不同,花色苷的最大吸收峰不同,最大吸光度也不同。为了确保相同浓度的花色苷具有相同的吸光度,可在花色苷的吸光度达到最大值时进行检测。本实验的目的就是确定吸光度达最大值时的pH,这样相同浓度的吸光度能同时达到最大,这点具有同一性。由于花色苷在酸性条件下较稳定,且吸光度随着酸性的增强而增大,即在酸性条件下的吸光度大于在碱性条件下的吸光度^[6],因此在酸性范围内确定pH。分别取10mL提取液于7个烧杯中,用0.1mol/L的盐酸和0.1mol/L的氢氧化钠调节pH至1、2、3、4、5、6、7,然后转移至100mL的容量瓶中,分别用pH为1、2、3、4、5、6、7的磷酸氢二钠-柠檬酸的缓冲溶液定容至100mL。待其平衡2h,以蒸馏水为空白样进行检测。在400~600nm的波长范围内进行扫描,得到不同pH下的最大吸收波长和最大吸收值。

2.4 紫甘薯花色苷定量分析测定波长的选择

在最佳pH下,用紫外-可见分光光度计在波长400~600nm下进行光谱扫描,得到吸收光谱图,确定最大的吸收波长。

2.5 紫甘薯花色苷吸光度线性范围的确定

色素的浓度是影响光谱检测的另一重要因素,分别取2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30mL于15g烧杯中,用0.1mol/L的盐酸和0.1mol/L的氢氧化钠调节pH至最佳,然后转移至100mL的容量瓶中并定容至100mL。

空白样的制备:分别从上述容量瓶中取20mL样品,加入足量的亚硫酸钠,静置30min使花色苷完全漂白,分别作为对应的空白样。

然后在上述波长下进行定点检测,最终确定吸光度的线性范围。

2.6 漂白剂用量的确定

以在线性关系内最大浓度的紫甘薯色素作为样品,称取0.3、0.4、0.5、0.6、0.7g的亚硫酸钠,分别对10mL紫甘薯花色苷溶液进行漂白,确定漂白最佳效果的亚硫酸钠的用量。

3 结果与讨论

3.1 紫甘薯色素定量分析pH的选择

相同浓度的紫甘薯花色苷在不同pH下的吸收情况见表1。

表1 pH对紫甘薯色素吸光度和最大吸收波长的影响

pH	吸收峰波长(nm)	吸光度(A)
1	524±1	1.76711
2	525±1	1.62473
3	527±1	1.64841
4	531±1	1.13687
5	538±1	0.60843
6	541±1	0.48411
7	543±1	0.58342

从表1可以看出,随着pH的下降,紫甘薯吸光度增加,即在pH为1时达到最大。从数据还可看出,在pH为1、2、3时,紫甘薯的花色苷吸光度接近,由于没有扣除干扰的影响,需对其进一步确定。

为进一步确定最佳测定pH,对pH为1、2、3的花色苷溶液进行漂白,漂白时间为30min,图1为用足量亚硫酸钠漂白的结果。

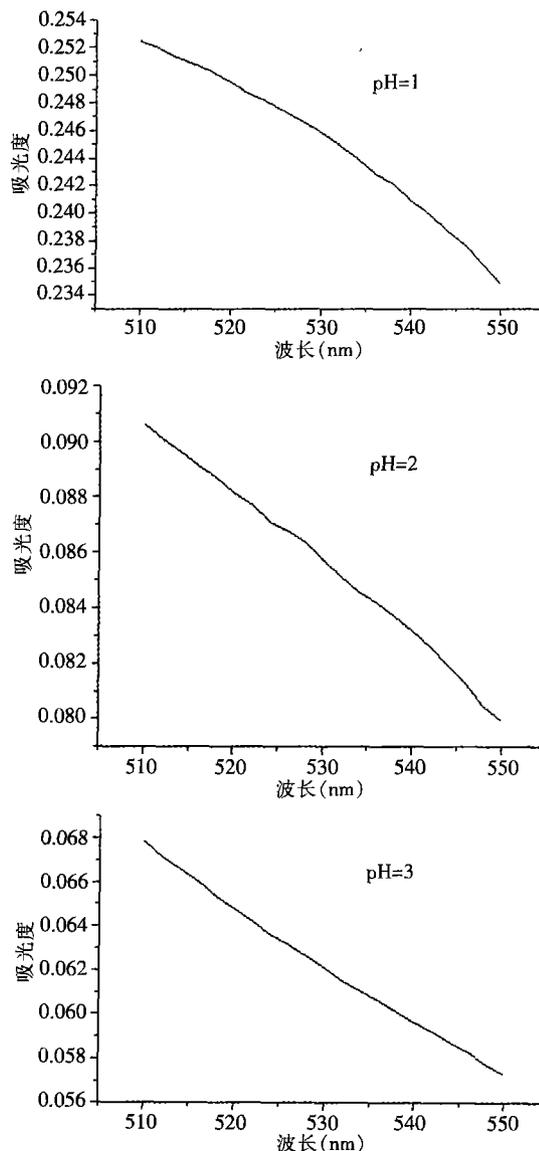


图1 亚硫酸钠对pH为1、2、3的花色苷溶液的漂白效果

从图1可看出,pH为1和2时,吸光度下降曲线呈弧线,表明漂白不彻底,不能作为测定的空白值;而pH为3的漂白曲线为直线下降,漂白效果好。因此,最佳检测pH为3,检测的pH确定为3。

3.2 紫甘薯色素在pH3下的紫外可见吸收光谱

图2为在pH=3下,在400~600nm进行紫外可见分光扫描的光谱图。

从图2可看出,在pH=3时,紫甘薯花色苷的最大吸收波长为527±1nm。

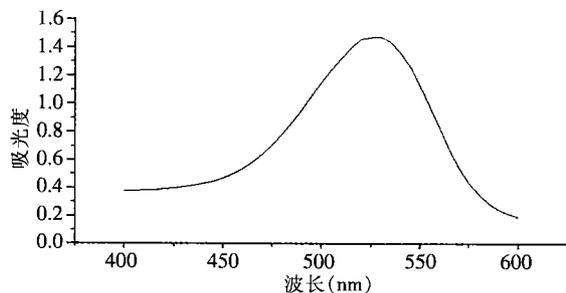


图2 紫甘薯色素在 pH=3 时的可见吸收光谱

3.3 紫甘薯花色苷吸光度线性范围

图3为不同浓度紫甘薯色素的吸光度。

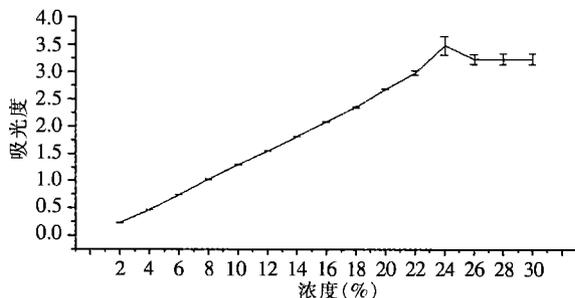


图3 紫甘薯色素浓度对线性关系的影响

从图3可看出,在浓度小于22%,吸光度小于2.9时,花色苷浓度与吸光度具有线性关系,即吸光度的大小与花色苷的浓度成正比。由于吸光度太小,检测的误差会加大,应大于0.2,因此紫甘薯色素吸光度检测范围为0.2~2.9。

3.4 漂白剂用量的确定

由图4可知,亚硫酸钠不同的用量对漂白效果有一定的影响,但影响不大,最大值与最小值相差为0.0573,而此时花色苷的吸光度为2.97848,误差为1.9%,在误差允许范围内,即0.3g/10mL的用量即可达到较好的漂白效果,因此亚硫酸钠的用量控制在

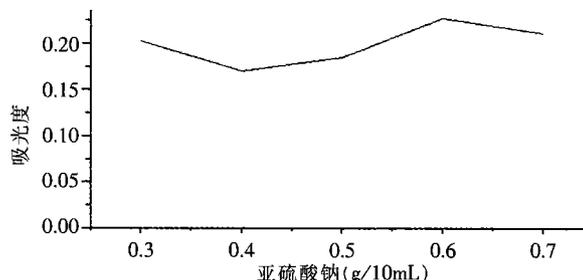


图4 漂白剂用量对漂白效果的影响

0.3~0.5g/10mL的范围内最佳。

4 结论

紫甘薯花色苷检测的pH为3;在pH=3时,紫甘薯花色苷最大吸收波长为 $527\pm 1\text{nm}$;紫甘薯花色苷在吸光度小于2.9时具有线性关系,吸光度在0.2~2.9为紫甘薯花色苷较好的检测范围;漂白剂亚硫酸钠的用量控制在0.3~0.5g/10mL为最佳。

参考文献:

- [1] 尹晴红,刘卮洲,谢一芝,蒋宁,蔺定运.紫甘薯花色苷的提取条件[J].江苏农业学报,2002,18(4):236~240.
- [2] 杨朝霞,王亦军,高磊.紫甘薯花色苷色素研究进展[J].青岛大学学报,2004,19(2):32~36.
- [3] 梁华正,徐琼,廖夫生,孙杰.番薯紫色素的提取、精制及稳定性的研究[J].广州食品工业科技,2004,20(3):32~34.
- [4] 陆国权,邱永军,楼晓波.紫心甘薯红色素提取技术研究[J].浙江农业大学学报,1997,23(1):22~24.
- [5] 冯建光,谷文英.葡萄皮红色素的示差法测定[J].食品工业科技,2002,23(9):85~86.
- [6] 李浩明,高蓝.紫甘薯色素的提取工艺与性质研究[J].中国食品添加剂,2003(4):23~27.

(上接第184页)

综上,通过对体系条件的改变,优化了检测 O_2^- 和 $\cdot\text{OH}$ 的化学发光体系,此方法步骤少、操作简单、反应快、测定时间短,因此有一定的实用价值,为抗氧化剂的评价和筛选奠定了基础。

参考文献:

- [1] Barry Halliwell, John M C Gutteridge. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease[J]. Methods Enzymol, 1990, 186:1~85.
- [2] Virginia J Forrest, Yuan-Hsu Kang, David E McClain, Douglas H. Robinson and Narayani Ramakrishnan. Oxidative stress-induced apoptosis prevented by trolox[J].

Free Radical Bio and Med, 1994, 16:675~684.

- [3] Parra Cid T, Conejo García JR, Carballo Álvarez F, de Arriba G. Antioxidant nutrients protect against cyclosporine A nephrotoxicity [J]. Toxicol, 2003, 189(1~2): 99~111.
- [4] Jeon TI, Hwang SG, Park NG, Jung YR, Shin SI, Choi SD, Park DK. Antioxidative effect of chitosan on chronic carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats[J]. Toxicology, 2003, 187(1): 67~73.
- [5] Richard E Bensinger, Charles M Johnson, Richard E, et al. Luminol assay for superoxide dismutase[J]. Analytical Biochem, 1981, 116:142~145.
- [6] 郭蔼光,王振铤.邻苯三酚自氧化—化学发光法测定SOD活性[J].植物生理学通讯,1989(3):54~57.