

桑葚酒中花青素含量的测定方法优化

郭浩然, 郑心怡, 张 静, 李小定*

(环境食品学教育部重点实验室, 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北武汉 430070)

摘要:为确定 pH 示差法测定桑葚酒中花青素的最佳测定条件, 本文对 pH 示差法测定桑葚酒中花青素含量的最佳测定波长、缓冲液的最适 pH、平衡温度和时间等条件进行优化, 并且对优化的 pH 示差法进行方法学评价。结果表明, 在波长 519 nm、缓冲液 pH 为 1.0 和 4.5、于 30 ℃ 下恒温 40 min 后测定桑葚酒中花青素含量是最佳的条件。测定桑葚酒中花青素的含量为 23.80 mg/L。该方法的相对标准偏差 (RSD) 为 2.076%, 加标回收率为 99.59%~102.70%, 说明用优化后的 pH 示差法测定桑葚酒中花青素含量是准确可靠的。本文为酒中存在介质的花青素定量分析提供了借鉴。

关键词: pH 示差法, 桑葚酒, 花青素, 优化

Optimization of Determination Method of Anthocyanin Content in Mulberry Wine

GUO Hao-ran, ZHENG Xin-yi, ZHANG Jing, LI Xiao-ding*

(Key Laboratory of Environmental Correlative Dietology, Ministry of Education, College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: In order to seek out the best condition to determine anthocyanin content in mulberry wine by pH differential spectroscopic method, the determination wavelength, pH value of buffer solution, equilibrium temperature and time were optimized. Then the optimized pH differential spectroscopic method was evaluated. The results showed that the best condition were when the wavelength was 519 nm, the pH of buffer solutions were 1.0 and 4.5, and kept at 30 ℃ for 40 min. The content of anthocyanin in mulberry wine was 23.80 mg/L. The relative standard deviation (RSD) of this method was 2.076%, and recoveries of the spiking samples were between 99.59% and 102.70%. The results demonstrate that it is accurate and reliable to determine the anthocyanin content in mulberry wine by the optimized pH differential spectroscopic method. This research provides some reference for the quantitative analysis of anthocyanin in alcoholic drink.

Key words: pH differential spectroscopic method; mulberry wine; anthocyanin; optimization

中图分类号: TS262.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)09-0255-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.09.041

引文格式: 郭浩然, 郑心怡, 张静, 等. 桑葚酒中花青素含量的测定方法优化[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 255-259.

花青素 (Anthocyanin) 又称为花色素, 在天然状态下花青素常与各种单糖结合形成花色苷^[1]。花青素有较强的体外抗氧化能力, 可以作为氧自由基的清除剂, 可以保护 H_2O_2 引起的细胞凋亡^[2]。并且花色苷具有显著的抗疲劳作用^[3], 对血糖调节、降低血脂、保护神经系统有重要作用^[4], 对于治疗心血管疾病也具有重要的意义^[5]。桑葚富含丰富的营养物质和有效的生物活性物质^[6], 有明目、保肝、降血压等作用^[7]。桑葚的储藏性较差, 含糖量较高且酸度适宜, 是一种较好酿酒原料^[8]。近年来, 有研究表明, 在长时间存放的果酒和果汁中存在一类吡喃型花青素衍生物。这类吡喃型花青素相对于普通花青素呈现出更高的 pH、 SO_2 以及储藏稳定性, 具有更加优越的色泽稳定性^[9]; 并且, 吡喃型花青素具有一定的抗氧化

能力、抗癌和抗炎症等生理活性功能^[10], 这些发现均为花青素广泛应用于食品从而发挥其生理功能提供了新的可能。

常用的花青素分析方法主要有高效液相色谱法、单一 pH 法、差减法和 pH 示差法等^[11-16]。其中 pH 示差法的原理是基于花青素在不同 pH 环境中结构和呈色转变是 pH 的函数, 而样品中其他干扰物的特征光谱却不会随环境 pH 变化而变化, 通过加入不同 pH 缓冲溶液后测定吸光值, 根据两者最大的吸光值的差异通过公式计算出花青素的含量^[17]。pH 示差法测定花青素的含量不需要纯度较高的标准品, 因此该方法成本较低, 并且操作简便, 是花青素定量分析最常用的方法之一。一般在使用 pH 示差法前, 需要对测定波长、使用缓冲液的 pH、反应的平衡温

收稿日期: 2019-07-15

作者简介: 郭浩然 (1997-), 女, 本科, 研究方向: 食品质量与安全, E-mail: 3300858525@qq.com。

* 通讯作者: 李小定 (1968-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 粮食油脂与植物蛋白工程、天然产物化学, E-mail: lixd@mail.hzau.edu.cn。

基金项目: 湖北省科技创新专项重大项目 (2016ABA106)。

度和时间进行确定,以达到最准确的测定效果。测定波长的确定大多研究方法是选择花青素处理液的最大吸收波长,通常在 520 nm 左右;缓冲液 pH 则是选择两个具有最大吸光值差异且较为稳定的 pH。pH 示差法的反应平衡温度一般不会选择较高温度,因为温度对花青素的稳定性有较大的影响^[18];而对于反应平衡时间,不同研究报道的平衡时间具有一定差异,因为花青素的稳定性与其所处的食品基质的酸度、加工方式有很大关系^[19]。

本文在以上研究的基础上,为获得发酵酒及其他发酵饮品中花青素测定的优化方法,对 pH 示差法测定桑葚酒中花青素含量的最佳测定波长、缓冲液的最适 pH、平衡温度和时间等条件进行优化,并进行方法学评价,为今后 pH 示差法应用于发酵酒中花青素测定提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

桑葚干红 由湖北省圣源酒业提供;矢车菊素-3-葡萄糖苷标准品 色谱级,成都瑞芬思生物技术有限公司;乙酸、乙酸钠、盐酸、氯化钾、柠檬酸、柠檬酸钠 均为分析纯,国药集团化学试剂;蒸馏水 实验室自制。

紫外分光光度计 日本岛津有限公司;721 可见分光光度计 天津冠泽科技有限公司;HH-2 数显恒温水浴锅 国华电器有限公司;pH 计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;高速冷冻离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 缓冲液的配制 配制不同 pH 的缓冲液,具体方法参考文献[14]。pH 为 0.5 和 2.0 的缓冲溶液的配制:向 0.1 mol/L 的柠檬酸溶液中逐滴加入盐酸,并使用 pH 计校准至所需的 pH 即可。pH 为 1.0 的缓冲液的配制:0.2 mol/L 的氯化钾溶液和 0.2 mol/L 的盐酸溶液以 25:67 的体积比混合。pH = 4.5 的缓冲液的配制:0.2 mol/L 的乙酸钠溶液与 0.2 mol/L 的乙酸溶液按照体积比 1:1 混合后即得。pH = 3、4、5、6 的柠檬酸缓冲液配制方法见表 1。

表1 不同 pH 柠檬酸缓冲液配制方法

Table 1 Different pH citrate buffer configuration method

pH	0.1 mol/L 的柠檬酸 (mL)	0.1 mol/L 的柠檬酸钠 (mL)
3	82	18
4	59	41
5	35	65
6	11	88.5

1.2.2 样品前处理 将桑葚酒样品装入离心管后配平,放置于高速冷冻离心机中,以 10000 r/min 的速度离心 15 min,吸取上层清液待用。

1.2.3 花青素的定量分析 准确吸取离心后的桑葚酒 1 mL 至 20 mL 的具塞试管中,分别用 pH 为 1.0 和 4.5 的缓冲溶液定容至 20 mL,后置于 30 ℃ 下水浴恒温 40 min,取出试管冷却至室温。以蒸馏水为空白

对照,分别测定用 pH = 1.0 和 pH = 4.5 的缓冲液稀释后在 519 和 700 nm 下的吸光值,以矢车菊素-3-葡萄糖苷计,按照 Fuleki 公式计算出桑葚酒中花青素的含量^[20]。

$$\Delta A = (A_{519 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}=1.0} - (A_{519 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}=4.5} \quad \text{式(1)}$$

$$C(\text{mg/L}) = \frac{\Delta A \times DF \times M}{\varepsilon L} \times 1000 \quad \text{式(2)}$$

式中: ΔA 为桑葚酒中花青素的总吸光值; $A_{519 \text{ nm}}$ 为样品在 519 nm 处测定的吸光值; $A_{700 \text{ nm}}$ 为样品在 700 nm 处测定的吸光值;DF 为稀释倍数;M 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的相对分子质量 449.2 g/mol; ε 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的消光系数,26900 L·mol⁻¹·cm⁻¹;L 为光程,值为 1 cm。

1.2.4 样品测定波长的选择 分别用 pH 为 1.0 和 4.5 的缓冲液稀释处理后的桑葚酒样品,后在 520 nm 处测定样品吸光值,使得吸光值在 0.2~0.7 范围左右同时不影响缓冲液的缓冲能力下,确定稀释倍数。后将分别用两种缓冲液稀释一定倍数的处理液在 370~800 nm 进行光谱扫描,根据吸光值的差值确定最佳吸收波长。

1.2.5 样品测定 pH 的选择 用不同 pH 的缓冲溶液将样品稀释至 1.2.4 中确定的稀释倍数后,在扫描光谱中的最佳测定波长下测定吸光值,确定最适合的缓冲液 pH。要求在最适 pH 时吸光值左右波动不大、较稳定,且两个缓冲 pH 所测吸光值具有最大的差异。

1.2.6 样品体系反应平衡温度和时间选择 根据 1.2.4 和 1.2.5 得到的稀释倍数和缓冲液的 pH,将缓冲液稀释过的待测液分别置于 20、30、40 ℃ 下,以蒸馏水为空白对照,每隔 10 min 测定一次在最大吸收波长下的吸光值。

1.2.7 精密度实验 根据上述实验所得确定的条件,分别用 pH 为 1.0 和 4.5 的缓冲溶液将样品稀释 20 倍,后置于 30 ℃ 下水浴恒温 40 min,取出试管冷却至室温。以蒸馏水为空白对照,分别测定用 pH = 1.0 和 pH = 4.5 的缓冲液稀释后在 519 和 700 nm 下的吸光值。连续 8 次进行花青素的定量分析,评价条件优化后方法的精确度。

1.2.8 加标回收率实验 准确称取一定量的矢车菊素-3-葡萄糖苷的标准品,溶解后用 pH 示差法测定标准品溶液中花青素的含量,然后进行标准品溶液的二倍和四倍稀释。取四份处理后的桑葚酒样品,其中一份直接利用 pH 示差法测定其花青素的含量。其他 3 份分别取 10 mL,后分别加入 0.1 mL 的标准品原液、标准品二倍稀释液和四倍稀释液。分别用 pH 示差法测定加入标准品后样品中花青素的含量,并根据以下公式计算加标回收率。

$$P(\%) = \frac{C_2 - C_1}{C_3} \times 100$$

其中:P 为加标回收率; C_1 为空白式样测定量; C_2 为加入标准品后测定含量; C_3 为加入标准品量。

1.3 数据处理

每组实验重复平行三次,实验结果以 $\bar{X} \pm SD$ 形

式表示。实验数据的处理以及显著性差异分析使用 SPSS 17.0 统计分析软件,图表使用 Excel 2010 软件绘制。

2 结果与分析

2.1 测定波长的选择

吸收光谱图曲线如图 1 所示,在 370~800 nm 的波长范围内,加入 pH 为 4.5 和 1.0 的缓冲溶液后,两者吸光值的差值在 519 nm 处有最大的吸收峰。单一的花色苷在可见区有一个最大吸收峰,且吸收带范围较窄,在 80~100 nm 之间;但是花色苷种类较为复杂时就可能有多个峰值或者更宽的吸收带范围^[21]。且桑葚酒中花青素经不同 pH 的缓冲溶液稀释后,花青素生色团所处的 pH 环境随之发生改变,使得扫描光谱在高度和宽度发生变化或者波长发生位移,因此出现由 pH 变化引起的紫外差光谱现象。有研究表明矢车菊素葡萄糖苷在 pH = 1.0 条件下最大吸收波长为 510 nm,而随 pH 增加最大吸收波长发生红移,在中性条件下最大吸收波长为 554 nm^[22]。而花青素在不同的 pH 条件下有不同的存在结构形式,当处于 pH 为 1.0 的环境条件下,花青素以花色烱离子形式存在,呈现红色;当以 pH 为 4.5 的缓冲液稀释时,花青素以甲醇假碱形式存在,呈无色^[17],所以当样品其他介质特征光谱不变时,能够表征由花青素结构变化导致的吸光值差异最大所对应的波长为最佳测定波长,因此 519 nm 为最佳测定波长。而花青素在 700 nm 处应无吸收,因此选择 700 nm 处作为另一测定波长,以消去食品中其他非花青素成分产生的影响。

此外,针对 pH 示差法测定花青素的波长,有研究选择用花色苷标准品而非待测样品在可见区扫描出的最大吸收波长或缓冲液稀释标准品后扫描出的最大吸收波长^[12,14],但是这种方法忽略了花青素存在的食品介质以及 pH 变化对扫描结果的影响。也有学者选择样品扫描出的在可见区的最大吸收波长^[13],但是同样忽略了 pH 对花青素结构变化的影响以及 pH 示差法测定花青素含量的原理。

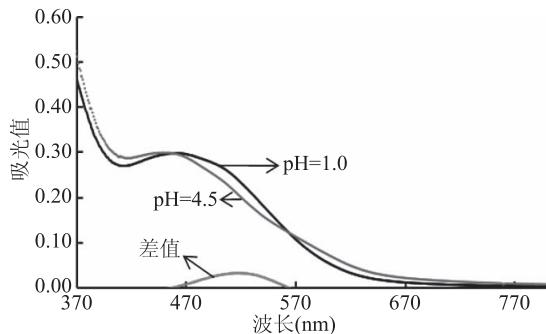


图1 桑葚酒样品的扫描光谱图

Fig.1 Scanning spectra of mulberry wine samples

2.2 测定缓冲液 pH 的选择

在 519 nm 条件下,测定在 pH 为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、4.5、5.0、6.0 的缓冲溶液中桑葚酒样品的吸光值结果如图 2。由图 2 得出,在 pH 为 0.5 时具有最大吸光值,且与 pH = 1.0 时吸光值差异不显著 ($P <$

0.05);在 pH 大于 1.0 后吸光值逐渐下降,并且于 pH = 4.5 趋于稳定,且有最小的吸光值,pH = 4.5 之后吸光值无显著差异 ($P > 0.05$)。当 pH 为 0.5 和 4.5 时,具有最大的吸光值的差异,然而考虑到 pH 为 1.0 时的吸光值与 0.5 时吸光值差异不显著且与 2.0 时的吸光值不显著,即 pH 为 1.0 左右时具有较为不显著的吸光值波动,因此使用 pH 1.0 和 4.5 的缓冲液。

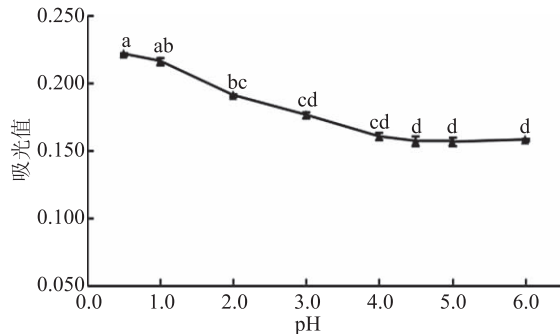


图2 不同 pH 条件下桑葚酒样品的吸光值

Fig.2 Absorbance of mulberry wine under different pH conditions

注:不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.3 反应平衡时间和温度的确定

使用 pH 为 1.0 的缓冲液将桑葚酒样品稀释 20 倍后,分别放置于 20、30、40 °C 下每隔 10 min 测定吸光值,所得结果如图 3。在 30 °C 下,测定样品的吸光值较稳定,当恒温水浴 40 min 后样品吸光值基本达到平衡。在 40 °C 下恒温 10~70 min 时,反应体系吸光值出现增加的现象,可能是由于温度导致花青素损失同时伴随着褐变指数和聚合物色值的增加导致^[23]。而在 80 min 时出现吸光值下降的现象,这可能是由于温度使游离型花青素分解。图 4 是 pH = 4.5 的缓冲溶液在不同温度下吸光值随温度变化的结果,20 °C 下吸光值随时间变化的波动较大;30 °C 下水浴恒温 40 min 后反应趋于平衡。因此,选择优化后的反应平衡条件为 30 °C 下恒温 40 min。针对 pH 示差法测定花青素含量的报道选择平稳温度和时间一般为 20 °C 下平衡 100 min 左右^[12,16],或者是于 40 °C 下平衡 20~30 min^[11,14]。而本文优化后条件相比于之前研究而言,既避免了温度较高导致花青素稳定性变差,从而降低方法测定的准确性,又缩短了反应体系的平衡时间。

2.4 精密度实验

根据上述确定的条件,将桑葚酒样品使用 pH 为 1.0 和 4.5 的缓冲溶液稀释 20 倍,在 30 °C 条件下恒温水浴 40 min,后冷却分别在 519 和 700 nm 下测定吸光值,根据公式计算花青素的含量。按照这个方法连续取样 8 次,重复测定花青素的含量。结果如表 2 所示,桑葚酒中花青素含量平均为 23.80 mg/L,花青素含量的相对标准偏差 (RSD) 为 2.076%。实验表明,使用该方法进行桑葚酒中花青素的定量分析重复性好、准确率高。

2.5 加标回收率

根据上述条件优化后应用 pH 示差法测定花青

表2 pH 示差法测定桑葚酒中花青素含量精密度实验结果

Table 2 Precision experiment results of anthocyanin content in mulberry wine by pH differential method

样品号	1	2	3	4	5	6	7	8
ΔA	0.069	0.074	0.071	0.073	0.071	0.071	0.071	0.07
花青素含量(mg/L)	23.04	24.71	23.71	24.38	23.71	23.71	23.71	23.38
平均值(mg/L)	23.80							
相对标准偏差 RSD(%)	2.076							

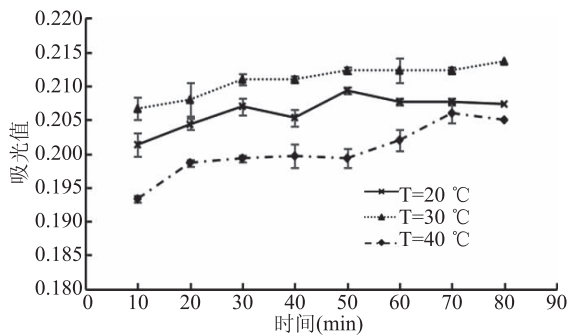


图3 桑葚酒在 pH = 1.0 条件下的平衡结果

Fig.3 Balance results of mulberry wine at pH1.0

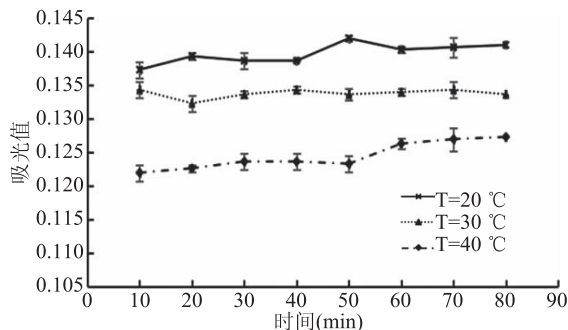


图4 桑葚酒在 pH = 4.5 条件下的平衡结果

Fig.4 Balance results of mulberry wine at pH4.5

素的加标回收率结果如表 3 所示。当加标量为 0.1062 mg 时,平均加标回收率为 99.59%;当加入 0.0531 mg 时,加标回收率为 102.70%;加标量为 0.0266 mg 时,平均加标回收率为 100.6%。上述加标回收率均在可接受范围内,该结果表明,优化条件后的 pH 示差法能够准确可靠地测定桑葚酒中花青素的含量。

表3 桑葚酒中花青素加标回收率实验结果

Table 3 Anthocyanin recovery experiment results in mulberry wine

实验组别	样品含量 (mg/L)	加标样品含量 (mg/L)	加标量 (mg)	加标回收率 (%)
1	20.26	30.84	0.1062	99.59
2	20.26	25.72	0.0531	102.70
3	20.26	23.04	0.0266	100.60

3 讨论与结论

针对 pH 示差法测定波长的选择,有研究以矢车菊素葡萄糖苷在 pH 为 1.0 环境下扫描出的最大波长^[12],或是选用矢车菊素葡萄糖苷在 pH 为 1.0 环境下的摩尔系数对应的最大吸收波长为最佳测定波

长^[14],然而这两种方法均忽略食品介质对花青素扫描结果的影响,波长选择应该根据具体样品进行优化。另有研究选择样品分别在 pH1.0 和 4.5 处的最大吸收波长^[13],忽略了环境 pH 变化会影响花青素结构从而对扫描结果产生影响。本文则选择样品在 pH 为 1.0 和 4.5 环境下吸光值差值最大处为最佳吸收波长进行方法优化,具有更好的合理性。缓冲液稀释桑葚酒处理液扫描后显示在两种缓冲液稀释后都未在可见光区出现吸收峰值,且吸光值大小差异不大,这与其他研究结果有较大出入。笔者认为出现这样的现象的原因与花色苷所处的介质有很大关系。桑葚酒中花色苷的种类较为复杂,在发酵和后续陈酿等过程中,花色苷和一些糖代谢的中间产物例如丙酮酸以及乙醛等发生反应,形成许多新型的花色苷。已有研究表明在发酵过程中会形成吡喃型花青素、花色双糖苷、聚合型花青素衍生物等结构的花青素^[24-26]。而这些花色苷因结构不同,在显色性能、吸收波长以及 pH 稳定性等方面都有所不同。例如 Vitisin B 会发生较大的吸收波长的位移,吸收波长在 490 nm 附近,并且颜色呈橙黄色^[26];Portisins 型吡喃花青素具有极高的 pH 稳定性,在 pH 为 3.6 和 1.0 的环境下仍具有相同显色^[9]。因此,由于介质不同导致的种类繁多且复杂的花色苷结构组成的样品体系和较为简单结构组成的样品体系获得的扫描结果必定不同。这也是本文对经过发酵酒或其他发酵处理后的饮品作为花青素介质的样品进行 pH 示差法的测定波长条件优化研究的意义之一。

对于反应平衡时间的确定,不同的学者研究结果不同。基于温度对花青素稳定性有较大影响,不同研究中反应平衡时间确定虽多有差异,但平衡时间都不长。因此,本文确定平衡时间为 40 min 具有一定合理性。在 pH < 7.0 的环境中花色苷结构不同,化学平衡的时间不同。因此,反应平衡时间的确定除了与温度有关外,与花色苷的结构密不可分。由此,不同介质对 pH 示差法的测定条件有极大的影响。

然而,pH 示差法测定酒中或者饮料中花青素含量是具有一定局限的,体现在计算中使用的消光系数 ϵ 不同。由消光系数不同引起的花青素含量测定结果与真实结果的差异可能是非常显著的。不同的学者研究中选定的消光系数不尽相同^[11-16],然而 ϵ 值不仅与选定的基准花色苷有关,也与样品的基质有关,例如酸度、极性^[27]。因此为保证方法的准确,不同食品基质类型使用 pH 示差法时具有不同的参数和条件。

本文对桑葚酒中测定花青素含量方法的波长、缓冲液 pH 以及平衡温度和时间进行优化,发现消光

系数对测定结果会产生一定影响。最佳的条件为：在波长 519 nm, 缓冲液 pH 为 1.0 和 4.5, 于 30 ℃ 下恒温 40 min。此时测定桑葚酒中花青素的含量为 23.80 mg/L。该方法的 RSD 为 2.076%, 加标回收率为 99.59%~102.70%, 表明该方法具有较高的精确性, 为发酵酒类食品测定花青素含量提供一定参考。然而, 为进一步准确定量分析, 应继续根据食品介质普遍特性确定消光系数, 并进一步完善方法。

参考文献

- [1] 由璐, 赵艳雪, 刘素稳. 花色苷分子结构修饰及其生理活性研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 351-359.
- [2] 罗春丽, 王林, 李杏, 等. 紫薯花青素体外抗氧化及对 H₂O₂ 诱导 HepG2 细胞氧化损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2015, 36(17): 225-230.
- [3] 张卓睿, 毛迪锐, 高晗, 等. 蓝莓花青素对小鼠抗疲劳及体内抗氧化作用[J]. 食品科学, 2017, 38(21): 207-211.
- [4] 阎笑洁. 桑葚花色苷对糖代谢的调控作用及其机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018: 6-154.
- [5] Wallace T C. Anthocyanins in cardiovascular disease[J]. Advances in Nutrition, 2011, 2(1): 1-7.
- [6] 李冬香, 陈清西. 桑葚功能成份及其开发利用研究进展[J]. 中国农学通报, 2009, 25(24): 293-297.
- [7] Huang H P, Ou T T, Wang C J. Mulberry (桑葚子 Sang Shèn Zi) and its bioactive compounds, the chemoprevention effects and molecular mechanisms *in vitro* and *in vivo* [J]. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 2013, 3(1): 7-15.
- [8] 游义琳, 张倩雯, 梁晨, 等. 不同品种桑椹酒抗氧化能力及其多酚含量分析[J]. 中国酿造, 2014, 33(9): 53-57.
- [9] 何静仁, 邱敏杰, 齐敏玉, 等. 吡喃花色苷类衍生物家族的研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(7): 228-234.
- [10] 王二雷, 刘彦君, 刘静波. 吡喃型花青素类化合物的研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(12): 325-333.
- [11] 杨萍, 李哲. pH 示差法与 HPLC 测定黑枸杞花青素方法比较[J]. 中国农机化学报, 2017, 38(7): 74-78.
- [12] 翦祎, 韩舜愈, 张波, 等. 单一 pH 法、pH 示差法和差减法快速测定干红葡萄酒中总花色苷含量的比较[J]. 食品工业科技, 2012, 33(23): 323-325.
- [13] 鲁明, 付欣, 迟吉捷. pH 示差法测定黑米发酵饮料中花色苷的含量[J]. 黑龙江农业科学, 2017(4): 100-103.
- [14] 孙婧超, 刘玉田, 赵玉平, 等. pH 示差法测定蓝莓酒中花
- raw sugar[J]. Chromatographia, 2015, 78(13-14): 873-879.
- [19] 林榕. 离子色谱同时测定食品中糖醇和糖的方法学研究与应用[D]. 天津: 天津大学, 2010.
- [20] 李仁勇, 梁立娜, 牟世芬. 高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测食品中糖的应用进展[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(7): 97-101.
- [21] 汪少芸. 蛋白质纯化与分析技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2016: 65-66.
- [22] 朱伟, 宁啸骏, 杜茹芸. 高效离子色谱法检测婴幼儿配方奶粉中的功能性低聚糖[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 224-228.
- [23] 黎小兰, 陈彩云, 蔡伟江, 等. 液相色谱-质谱法测定保健

色苷条件的优化[J]. 中国酿造, 2011(11): 171-174.

- [15] 刘书晶, 吴彩娥, 范冀健, 等. 桑葚酒发酵期间花色苷及抗氧化活性变化[J]. 食品与生物技术学报, 2018(6): 624-631.
- [16] 桑戈, 赵力, 谭婷婷, 等. pH 示差法测定紫薯酒中花青素的含量[J]. 酿酒科技, 2015(6): 88-91.
- [17] Wrolstad R E, Acree T E, Decker E A, et al. Current protocols in food analytical chemistry[M]. New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2001: F1.2.1-F1.2.13.
- [18] Cabrita L, Fossen T, Anderssen M Ø. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions[J]. Food Chemistry, 2000, 68(1): 101-107.
- [19] 汪慧华, 赵晨霞. 花青素结构性质及稳定性影响因素研究进展[J]. 农业工程技术(农产品加工业), 2009(9): 36-39.
- [20] Fuleki T, Francis F J. Quantitative methods for anthocyanins. 4. determination of individual anthocyanins in cranberry and cranberry products[J]. Journal of Food Science, 1968, 33(5): 471-478.
- [21] Galloway K R, Bretz L S, Novak M. Paper chromatography and UV-Vis spectroscopy to characterize anthocyanins and investigate antioxidant properties in the organic teaching laboratory[J]. Journal of Chemical Education, 2015, 92(1): 183-188.
- [22] Fossen T, Cabrita L, Andersen O M. Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region[J]. Food Chemistry, 1998, 63(4): 435-440.
- [23] Tian J, Ying M, Lushan S, et al. Degradation of anthocyanins and polymeric color formation during heat treatment of purple sweet potato[J]. Food Chemistry, 2019, 274: 460-470.
- [24] 韩富亮, 李杨, 李记明, 等. 红葡萄酒花色苷结构和颜色的关系研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(3): 328-336.
- [25] Oliveira J, Dasilva M A, Jorge P A, et al. Structural characterization of a A-type linked trimeric anthocyanin derived pigment occurring in a young Port wine[J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 1987-1996.
- [26] 张波, 韩舜愈, 马腾臻, 等. 红葡萄酒中花色苷衍生物结构研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(5): 284-295.
- [27] Tonutare T, Moor U, Szajdak L. Strawberry anthocyanin determination by pH differential spectroscopic method-how to get true results? [J]. Acta scientiarum Polonorum-Hortorum cultus, 2014, 13(3): 35-47.

食品乳清蛋白粉类中叶酸含量的前处理条件的优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(8): 3085-3091.

- [24] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.89-2016 食品安全国家标准 食品中烟酸和烟酰胺的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [25] 张水铎, 盛华栋, 姜侃, 等. 梯度洗脱优化-离子色谱-脉冲安培法分析婴幼儿配方乳粉中的糖和糖醇[J]. 2016, 34(10): 946-950.
- [26] 中华人民共和国卫生部. GB 28050-2011 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.