

荔枝果皮组织中疏水色素提取方法比较

胡志群, 王惠聪

(华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642)

摘要: 以易褐变的荔枝 *Litchi chinensis* Sonn. 果皮为材料, 对比研究了乙醚研磨提取、体积分数为 95% 乙醇热浸提法、 $V(\text{乙醇}) : V(\text{丙酮}) = 1 : 1$ 热浸提和 $V(\text{乙醇}) : V(\text{丙酮}) = 1 : 1$ 浸提法对果皮中叶绿素、类胡萝卜素和叶绿素 b/叶绿素 a 测定值的影响, 发现不同的提取方法测得的上述 3 个指标的数值有较大的差异; 进一步研究提取液的吸收光谱后发现, 4 种提取方法中只有乙醚研磨的提取液具有类胡萝卜素和叶绿素的典型吸收光谱, 其余的 3 种提取方法普遍提高了光密度, 且在 350 nm 波长附近出现了杂乱的吸收峰。

关键词: 荔枝; 果皮褐变; 疏水色素; 色素提取

中图分类号: S666

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2005)01-0021-03

Methods for extracting hydrophobic pigments in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp

HU Zhi-qun, WANG Hui-cong

(College of Horticulture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Easily browned litchi pericarp was chosen to study the extraction effects of chlorophyll, carotenoid and chlorophyll b/chlorophyll a. Different extraction methods showed different results with the same material. The absorption spectrum characteristics were subsequently subjected to study. Results displayed that only that of extraction methods used with ether was accordance with the former reports. The other related extractions showed higher optical density and there were irregular unknown absorbance peaks appeared around the wavelength of 350 nm.

Key words: litchi; pericarp browning; hydrophobic pigments; pigment extraction

荔枝是我国特产的名优果树, 果实色泽是影响其经济价值的关键因素, 因此受到越来越多研究者的关注。叶绿素、类胡萝卜素是两大类脂溶性植物色素, 在决定器官色泽中起重要的作用。目前色素的提取方法主要有体积分数为 95% 乙醇热浸提法、体积分数为 80% 丙酮热浸提法和 $V(\text{乙醇}) : V(\text{丙酮}) = 1 : 1$ 浸提法等^[1-4], 所用的材料均为叶片; 对于其他材料特别是果皮则少有研究。王惠聪等^[5]采用乙醚研磨提取测得的糯米糍果皮中叶绿素和类胡萝卜素含量, 明显低于陈大成等^[6]利用乙醇/丙酮热浸提和尹金华等^[7]用体积分数为 80% 丙酮研磨提取, 测定同一个发育时期糯米糍果皮中叶绿素和类胡萝卜素含量, 结果是否准确往往会影响到试验结论的准确性。有

鉴于此, 作者比较了不同提取方法的提取效果及对测定荔枝果皮中叶绿素、类胡萝卜素含量的影响, 以寻求更适合荔枝果皮材料的叶绿素和类胡萝卜素的测定方法。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2001 年进行。供试的荔枝 *Litchi chinensis* 品种为‘糯米糍’, 取自广东增城市万田农场荔枝园, 1989 年种植的 12 年生树, 砧木为准枝。

1.2 方法

乙醚研磨提取: 称取果皮 0.5 g 待测, 样品剪碎后放入研钵中加乙醚 2 mL, 石英砂少许, 用研杵研

收稿日期: 2003-11-20

作者简介: 胡志群(1966-), 助理研究员, 通讯作者; 王惠聪(1972-), 女, 讲师, 博士; E-mail: wanghc1972@263.net

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30200188)

©1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

磨提取, 提取液转移到 10 mL 刻度试管, 继续用乙醚按同样的方法重复提取残渣 3~4 次直到提取液无色为止, 定溶至刻度加塞摇匀置暗处供比色用. 设 3 次取样和 2 次测定重复.

体积分数为 95% 乙醇热浸提: 称取果皮 0.5 g, 剪成 3 cm×10 cm 的条状, 放入盛有 10 mL 体积分数为 95% 乙醇的三角瓶加塞 60~65 °C 温箱浸提, 浸提至材料变白色后将浸提液倒入试管加塞摇匀, 置于暗处待测. 设 3 次取样和 2 次测定重复.

$V(\text{乙醇}):V(\text{丙酮})=1:1$ 热浸提: 称取果皮 0.5 g, 剪成 3 cm×10 cm 的条状, 放入盛有 10 mL $V(\text{乙醇}):V(\text{丙酮})=1:1$ 的三角瓶加塞 60~65 °C 温箱浸提, 浸提至材料变白色后将浸提液倒入试管加塞摇匀, 置于暗处待测. 设 3 次取样和 2 次测定重复.

$V(\text{乙醇}):V(\text{丙酮})=1:1$ 浸提: 称取果皮 0.5 g, 剪成 3 cm×10 cm 的条状, 放入盛有 10 mL $V(\text{乙醇}):V(\text{丙酮})=1:1$ 的三角瓶加塞浸提. 浸提至材料变白色后将浸提液倒入试管加塞摇匀, 置于暗处待测. 设 3 次取样和 2 次测定重复.

测定: 用分光光度计测定提取液在 663、645 和 440 nm 3 个波长的光密度, 按 Arnon^[8] 公式计算叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素的含量, 按波钦诺克^[9] 报道的方法计算类胡萝卜素含量.

2 结果与分析

2.1 提取液的外观比较

用乙醚研磨提取的提取液在果皮发育的前中期呈绿色, 到后期则表现为黄绿色; 体积分数为 95% 乙醇热浸提液在果皮的整个发育过程中均呈褐色, 并且颜色随着提取时间的延长而加深; 乙醇+丙酮热浸提液也表现为褐色, 颜色较热乙醇提取液浅; 乙醇+丙酮浸提液呈现浅褐色中夹带绿色.

2.2 不同提取方法对荔枝果皮中叶绿素含量的影响

荔枝果皮用不同方法提取的叶绿素含量有不同的表现(图 1): 体积分数为 95% 乙醇热浸提法测定的总叶绿素含量显著高于其余 3 种提取方法, 并且随着果实发育测得的果皮叶绿素含量与其余 3 种相比差异越来越大, 这个结果显然与荔枝果实发育后期转色褪绿的现象极不相符; 其余 3 种提取方法测得的总叶绿素含量也有一定的差异. 在叶绿素降解的过程中, 叶绿素 a 分解比叶绿素 b 快, 所以叶绿素 b/叶绿素 a 值可作为叶绿体衰老程度的一个指标. 这 4 种方法测得的叶绿素 b/叶绿素 a 值有显著的差异, 其中热乙醇和热丙酮+热乙醇提取测得的叶绿素 b/叶绿素 a 值明显比其他两种高.

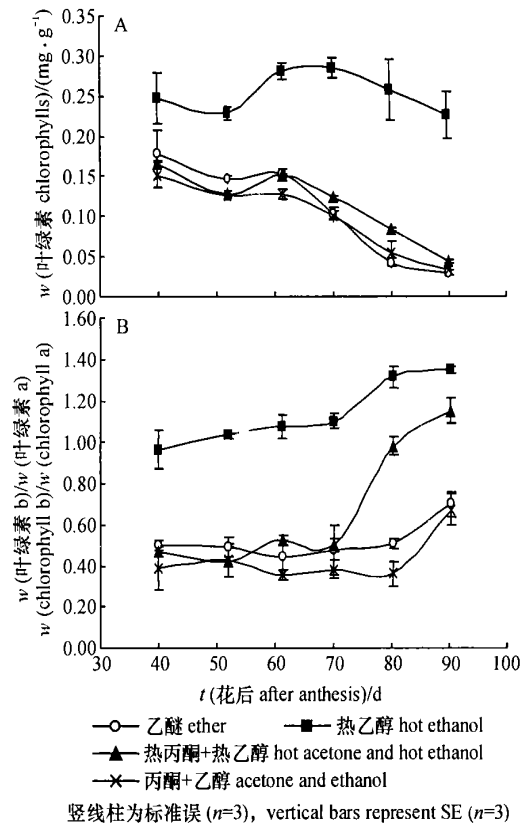


图 1 不同提取方法对荔枝果皮中叶绿素含量(A)和叶绿素 b/叶绿素 a (B)测定值的影响

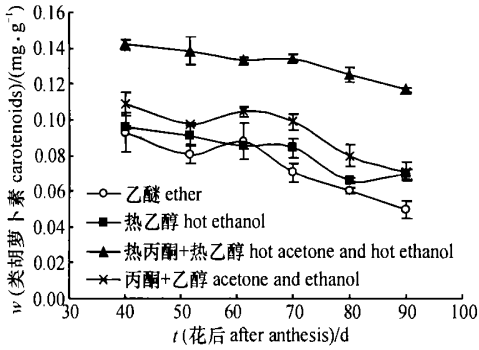
Fig. 1 Effects of different extracting methods on the contents of chlorophylls (A) and the ratio chlorophyll b/a (B) in litchi pericarp

2.3 不同提取方法对荔枝果皮中的类胡萝卜素含量的影响

不同提取方法测得的荔枝果皮类胡萝卜素含量有很大的差异(图 2). 几种提取方法中乙醚提取测得的荔枝果皮中的类胡萝卜素含量最低, 其余的 3 种提取方法均不同程度提高了类胡萝卜素的测定值, 其中丙酮+乙醇热浸提方法提高的幅度最大, 丙酮+乙醇提取也明显提高了果皮类胡萝卜素的测定值, 热乙醇提取的类胡萝卜素值与乙醚提取较为接近.

2.4 不同提取液的吸收光谱扫描

以同一荔枝果皮为材料, 用上述的 4 种方法提取, 提取液在 300~700 nm 的光波范围内进行扫描, 得到不同波长下的相对吸收值组成的吸收光谱图(图 3). 结果显示用乙醚提取的果皮提取液的吸收光谱图与前人^[1,4]报道的相同, 分别在 663 和 430~440 nm 有吸收峰, 这两个吸收峰为叶绿素和类胡萝卜素的特征吸收峰; 其他的提取方法则表现为: 在 663 nm 处的吸收峰峰形不典型, 峰宽较大, 使得 645 nm 处的光密度增大; 在 440 nm 左右没有可见的吸收峰; 小于 400 nm 的波长处均有较大的吸收, 曲线杂乱, 光密度明显高于乙醚提取的样液.



竖线柱为标准误 ($n=3$), vertical bars represent SE ($n=3$)

图 2 不同提取方法对荔枝果皮中类胡萝卜素含量的影响
Fig. 2 Effects of different extracting methods on the contents of carotenoids in litchi pericarp

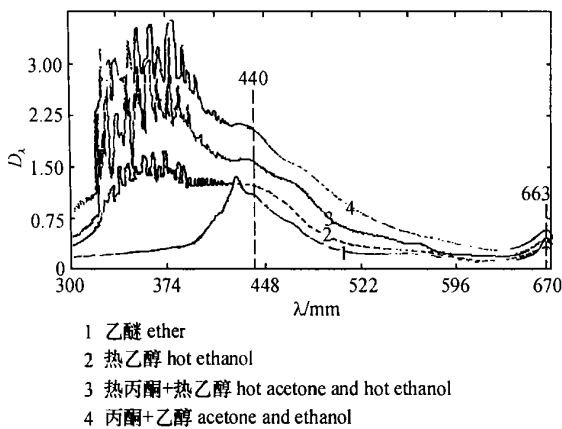


图 3 不同提取液提取叶绿素和类胡萝卜素的全波长吸收光谱扫描图
Fig. 3 Absorbance of chlorophyll and carotenoid supernatant extracted with different reagents under different wavelengths

3 结论

荔枝果皮材料与一般的叶片材料不同, 它不仅含有叶绿素和类胡萝卜素两种脂溶性色素, 而且含有大量的水溶性酚类色素(花青苷、类黄酮和可溶性酚), 同时又含有高活性的多酚氧化酶。水溶性色素

在用含有水、乙醇溶剂提取时也会同时被提取出来, 而且荔枝多酚氧化酶在乙醇和丙酮这两种溶剂里仍有相当的活性^[10], 发生褐变(即多酚氧化酶催化酚类物质形成不溶性的醌), 造成吸收光谱的变化从而影响测定的结果。用乙醚这种脂溶性溶剂提取只能提取叶绿素和类胡萝卜素两种色素, 避免了其他色素的影响和褐变的发生, 结果准确, 研磨后不需过滤, 操作简单, 但乙醚挥发性强, 须在通风橱中操作。

参考文献:

[1] 冯瑞云. 叶绿素的热醇快速提取法[J]. 江苏农学院学报, 1985, 6(3): 53—54.
 [2] 张宪政. 植物叶绿素含量测定——丙酮乙醇混合液法[J]. 辽宁农业科学学报, 1986, (3): 26—29.
 [3] 杨敏文. 快速测定植物叶片叶绿素含量方法的探讨[J]. 光谱实验室, 2002, (4): 478—481.
 [4] GARCIA A L, NICOLAS N. Influence of the degree of solvent impurity on the spectrophotometric determination of chlorophylls in 80% aqueous acetone and dimethyl formamide. — Application to non-abrasive extraction of leaves of *Citrus aurantium*[J]. Photosynthetica, 1998, 35(4): 545—550.
 [5] 王惠聪, 黄辉白, 黄旭明. ‘妃子笑’荔枝果实着色不良原因的研究[J]. 园艺学报, 2002, 29(5): 408—412.
 [6] 陈大成, 李平, 胡桂兵, 等. 套袋对妃子笑荔枝果实着色的影响[J]. 华南农业大学学报, 1999, 20(4): 65—69.
 [7] 尹金华, 高飞飞, 陈大成, 等. 荔枝果皮叶绿素、类胡萝卜素、花色苷的形成规律及对果色的影响[A]. 李可心. 中国青年农业科学学术年报[C]. 北京: 中国农业出版社, 1997. 954—958.
 [8] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*[J]. Plant Physiology, 1949, 24: 1—15.
 [9] 波钦诺克. 植物生物化学分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1981. 255—259.
 [10] 谭兴杰, 李月标. 荔枝果皮多酚氧化酶的部分纯化及性质[J]. 植物生理学报, 1984, 10(4): 339—346.

【责任编辑 柴 焰】