

## 桑椹花青素分析及其安定性之探討

吳旻霈 黃莉婷 劉嘉琪 駱錫能\*

國立宜蘭大學食品科學系

### 摘要

本研究的目的是在探討桑椹花青素的組成及含量，並以不同的麥芽糊精進行桑椹萃取液的微膠囊化，觀察其對花青素與色澤的影響。結果顯示，桑椹以 50% 乙醇（含 0.1% HCl）連續萃取三次，每次 15-40 分鐘，所獲取的總花青素含量並無顯著差異，含量介於  $1995.6 \pm 43.8$  至  $2222.9 \pm 85.6$  mg CGE/100g dry weight 之間。萃取液經以 HPLC 和 LC/MS<sup>n</sup> 分析鑑定後得知桑椹中主要的花青素有 cyanidin-3-*O*-glucoside、cyanidin-3-*O*-rutinoside 和 pelargonidin-3-*O*-glucoside，其含量分別為  $165.2 \pm 7.2$  ppm、 $61.6 \pm 3.7$  ppm 和  $4.5 \pm 0.2$  ppm。利用 DE (4-7)、DE (16.5-19.5) 及二者 1:1 混合 (DE (1:1)) 的麥芽糊精進行微膠囊化處理後，分別儲藏於 25°C 及 40°C 下 28 天，顯示以 DE (16.5-19.5) 處理之微膠囊化桑椹粉末的 a 值和 b 值較其他兩組數據顯著偏低，然而其之花青素儲藏安定性最佳，其可維持花青素含量 28 天，且儲藏過程中亮度微量下降，而紅色度和黃色度則有些微的上升，顯示微膠囊化具有保護花青素及維持色澤之效果。

**關鍵詞：**桑椹、總花青素、LC/MS<sup>n</sup>、cyanidin-3-*O*-glucoside、麥芽糊精、微膠囊化

\*通訊作者 E-mail: snlou@niu.edu.tw

# Analysis and Stability of Anthocyanins in Mulberry Fruits

Min-Pei Wu, Li-Ting Huang, Jia-Ci Liou, Shyi-Neng Lou\*

Department of Food Science, National Ilan University, Taiwan

## Abstract

The purpose of this study was to determine the composition and content of anthocyanins in mulberry. And, the effect of microencapsulated mulberry extraction by different maltodextrin on anthocyanins and color was also evaluated. The results indicated that there was no significant difference in total anthocyanin content after three times extraction each for 15-40 minutes by 50% ethanol (included 0.1% HCl). The content of total anthocyanin of mulberry was in range of  $1995.6 \pm 43.8$  to  $2222.9 \pm 85.6$  mg CGE/ 100g dry weight. The major anthocyanins of mulberry were cyanidin-3-*O*-glucoside, cyanidin-3-*O*-rutinoside, and pelargonidin-3-*O*-glucoside, which was identified by HPLC and LC/MS<sup>n</sup>, with the level of  $165.2 \pm 7.2$  ppm,  $61.6 \pm 3.7$  ppm, and  $4.5 \pm 0.2$  ppm, respectively. The microencapsulated mulberry extract treated by DE (4-7), DE (16.5-19.5), and DE (1:1) (DE(4-7):DE (16.5-19.5)=1:1) maltodextrin were produced, individually. These three samples stored at 25 and 40°C for 28 days. The treated sample by DE (16.5-19.5) showed lower a and b value than the other two samples. However, it revealed the best stability of anthocyanin and retained anthocyanins up to 28 days. The lightness of the DE (16.5-19.5) sample decreased slightly during storage, while the redness as well as yellowness increased also a little. This hinted that the microencapsulation by DE (16.5-19.5) maltodextrin can protect the degradation of anthocyanins for 28 days and retain the color of mulberry.

Keywords: mulberry, total anthocyanin, cyanidin-3-*O*-glucoside, LC/MS<sup>n</sup>, maltodextrin, microencapsulation

\*Corresponding author. E-mail: snlou@niu.edu.tw

## 壹、前言

桑椹 (Mulberry fruit) 為多年生木本植物桑樹的果實，產期為三至五月，全球分布廣泛，從熱帶到溫帶皆有種植。桑椹的酚類化合物含量相當高，主要是由花青素、蘆丁和綠原酸所組成。花青素具有許多生理功能，例如 cyanidin-3-*O*-glucoside 有抑制脂多醣防止其

誘導出一氧化氮 (NO) 的生合成，達到抗發炎的目的 (Pergola *et al.*, 2006)。delphinidin 具有抑制脂質過氧化的效果，與許多蔬果相比甚至擁有較高的自由基清除活性 (Noda *et al.*, 2000)。且 cyanidin 和 delphinidin 抑制血小板衍生生長因子的能力較其他的類黃酮及酚酸為佳 (Oak *et al.*, 2006)。此外亦具抗氧化 (Yang *et al.*, 2010; Pervin *et al.*, 2014)，抗發炎 (Paun *et al.*, 2017; Blando *et al.*, 2018) 以及抗癌 (Lim *et al.*, 2013; Bontempo *et al.*, 2015) 等生理功能。

花青素其結構複雜且不安定 (蔡等, 1995)，屬於類黃酮當中最容易隨著酸鹼值變動而有色澤上的改變 (Aramwit *et al.*, 2010)。桑椹根據外觀顏色及成熟度可分成四個階段，從綠色逐漸轉變成完熟的紫黑色 (Lee *et al.*, 2016)，現今對於桑椹主要是以色素或保健食品的開發為主軸，因此為了防止桑椹的花青素含量及色澤受到外在環境及儲藏時間影響，如何加以保護遂為頗受關注之課題。微膠囊包覆技術為近年來常用之方法 (Mahdavi *et al.*, 2016)，可用載體有多醣、脂質和蛋白質等 (Mahdavi *et al.*, 2016; Yamashita *et al.*, 2017)。麥芽糊精具有低黏度及良好溶解度的特性，且能增加膠囊化的產率 (Righetto and Netto, 2005)，另外，其能夠有效提升玻璃轉化溫度且能降低吸濕性，故常作為天然色素粉末膠囊化的壁材 (Jakubczyk *et al.*, 2010)。

因此，本實驗除了探討萃取桑椹花青素的條件外，再以 LC-PDA 及 LC/MS<sup>n</sup> 鑑定出其所含的花青素化合物並加以定量，後續進行微膠囊水包覆安定性實驗，採用不同還原糖當量 (DE 值) 之麥芽糊精包覆桑椹花青素，探討儲藏過程中花青素含量及色澤的變化，做為後續開發桑椹花青素保健產品之參考依據。

## 貳、材料與方法

### 一、材料

本實驗所用之桑椹 (*Morus alba*) 產自宜蘭縣冬山鄉童話村休閒農場，表皮呈紫黑色為成熟果實，平均果長  $2.90 \pm 0.14$  公分，平均果徑  $1.41 \pm 0.04$  公分，乾燥後每顆平均重量為 0.5254 g，水分含量為 89.25%。

## 二、桑椹粉末製備

新鮮桑椹以蒸餾水清洗，擦乾平鋪於夾鏈袋內，再以真空凍結乾燥機進行冷凍乾燥（條件為冷凝管-85.8°C、真空度約 0.207 torr 和棚板溫度 35°C）。凍乾後之樣品用快速粉碎機磨碎，並以 60 mesh 篩網過篩，儲存於褐色瓶中放置乾燥箱備用。

## 三、超音波輔助萃取

參考劉（2021）的方法並加以修飾，取 1 g 桑椹粉末與 50%乙醇（含 0.1% HCl）以 1：20（w/v）比例混合，震盪機混合均勻，使用超音波震盪機（42 kHz）進行萃取 15-40 分鐘後，離心（10870 xg、25°C、10 分鐘），收集上清液，殘渣部分以相同溶劑再次萃取，共萃取三次。合併三次萃取液，進行減壓濃縮（溫度<40°C），以 50%乙醇（含 0.1% HCl）回溶定量至 10 mL，經 0.22 μm Nylon 過濾膜過濾後-18°C 凍藏備用（以上操作皆須避光處理）。

## 四、總花青素含量測定

### （一）緩衝溶液配製

配製 0.2 M 氯化鉀溶液及 0.2 M 鹽酸溶液，以 pH meter 調配成 pH=1.0 之緩衝溶液，再將 0.1 M 醋酸鈉溶液及 0.1 M 醋酸溶液，調配成 pH=4.5 之緩衝溶液。

### （二）pH 差分法計算總花青素含量

萃取液分別以 pH=1.0 及 pH=4.5 緩衝溶液稀釋十倍後，取 200 μL 置於 96 孔盤中，使用微量盤式分析儀分別測定在 530 nm 及 700 nm 之吸光值，並依以下公式進行計算：

$$A = (A_{530 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{530 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}4.5}$$

再以下列公式計算總花青素含量（Total anthocyanin content, TAC），以 cyanidin-3-O-glucoside 當量（cyanidin-3-O-glucoside equivalent, CGE）表示：

$$\text{CGE} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times \text{Ve} \times 1000}{\epsilon \times 0.5 \times M} \times 100 \quad (\text{CGE mg} / 100\text{g dry weight})$$

A：吸光值

Ve：回溶體積 (L)

DF：稀釋倍數

ε：26900 Lmol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>

MW：449.2 (g / mol)

M：樣品重 (g)

## 五、花青素組成

### (一) 高效能液相層析 (HPLC) 分析

參考 Bosiljkov et al. (2017) 的方法加以修飾, 使用 Shimadzu LC-10ATVP HPLC 系統, 分析管柱使用 Agilent C18 (150 × 4.6 mm, 3.5 μm), 樣品注射體積 20 μL, 流速為 0.8 mL/min, 移動相為 (A) 1% 甲酸水 (B) 甲酸/去離子水/乙腈 (1:69:30), PDA 偵測器 (Shimadzu, SPD-M10AVP) 偵測波長 520 nm。移動相梯度條件如下: 0-10 分鐘 80% A; 10-20 分鐘 40% A; 20-30 分鐘 20% A; 30-35 分鐘 15% A; 35-45 分鐘 80% A, 再設定五分鐘洗脫回到原始梯度。

定量分析係以 cyanidin-3-*O*-glucoside 標準品配製不同濃度後, 以 HPLC 分析其波峰面積, 再以波峰面積和濃度做圖, 計算其迴歸曲線作為標準曲線, 所分析定性之花青素均以此標準曲線換算其濃度, 以 cyanidin-3-*O*-glucoside equivalent 表示。

### (二) 液相層析質譜儀 (HPLC/MS<sup>n</sup>) 定性分析

參考 Wang et al. (2014) 及 Oliveira et al. (2015) HPLC-DAD-ESI-MS/MS 鑑定方法並加以修飾。使用 Thermo Fisher, Scientific LCQ-FLEET LC/MS<sup>n</sup>, 以 Agilent C18 為分離管柱 (150 × 4.6 mm, 3.5 μm), 樣品注射體積為 10 μL, 流速為 0.8 mL/min, 串聯 UV-VIS 偵測器 (Shimadzu, SPD-10AVP), 偵測波長 520 nm 進行定性分析, 移動相及其梯度分析條件同花青素組成 HPLC 之方法。質譜儀游離源為電噴灑游離 (ESI), *m/z* 全離子掃描 (full mass) 範圍為 50 至 2000, 其設定參數如下: 採用正離子模式分析萃取液之花青素; Aux gas flow: 0 arbitrary units; Sweep gas flow rate: 0 arbitrary units; Sheath gas flow rate: 15.0 arbitrary units; Capillary temperature: 275°C; ESI capillary voltage: 35 V; Ion spray voltage: 4.0 kV; Tube lens voltage: 105 V, 採用分析軟體為 Xcalibur 2.5。

## 六、桑椹萃取液微膠囊安定性試驗

### (一) 麥芽糊精配製

麥芽糊精 (採購自美國 Sigma 公司, St. Louis, Mo, USA) DE (4-7)、DE (16.5-19.5) 及 DE (1:1) 係以 DE (4-7) 和 DE (16.5-19.5) 兩者 1:1 混合之麥芽糊精粉末, 分別配製成 25% (w/w) 的麥芽糊精溶液, 並以磁石攪拌機攪拌一小時, 放置冷藏 24 小時儲藏備用。

## (二) 桑椹微膠囊粉末的製備

桑椹萃取液與麥芽糊精溶液以 1:5 (w/w) 混合，並以固定轉速 (250 rpm) 之磁石避光攪拌一小時後，進行冷凍乾燥 2 天，凍乾條件同桑椹粉末製備之方法，後以研磨鉢磨粉。

## (三) 儲藏條件

凍乾樣品存放在密封夾鏈袋內，並以鋁箔紙包覆避光處理，分別儲存於 25°C 及 40°C，每 7 天測定一次總花青素含量，分別測定 0、7、14、21 及 28 天，比較不同的 DE 值麥芽糊精包覆下，儲藏在不同溫度其總花青素含量下降之趨勢以及色澤之變化。

## 七、色澤分析 (Hunter L, a, b)

將桑椹微膠囊粉末樣品 3 克放入樣品皿中，以 Hunter L, a, b 色差分析儀進行測定。

## 八、統計分析

實驗使用 SAS 統計軟體分析數據間之相關性，以單因子變異數分析 (One-way ANOVA) 比較組間之差異，再以鄧肯式多變異分析法 (Duncan's New Multiple Range Test, DMRT) 測定各組間是否具有顯著性差異 ( $p < 0.05$ )，試驗皆採三重複進行，實驗數據以平均值 (mean)  $\pm$  標準差 (standard deviation, S.D.) 表示。

# 參、結果與討論

## 一、桑椹花青素的萃取

表 1 為以 50% 乙醇 (含 0.1% HCl) 在不同的萃取時間下，經超音波輔助連續萃取桑椹粉末三次後所得之總花青素含量，萃取時間分別為 15、20、25、30、35 及 40 分鐘，結果顯示萃取 15 分鐘後其總花青素含量可達  $2077.0 \pm 68.0$  mg CGE/100g dry weight，之後隨著萃取時間的增加至 25 分鐘時，總花青素含量增加至  $2139.0 \pm 102.0$  mg CGE/100g dry weight，萃取時間增加至 35 分鐘時，總花青素含量略為下降至  $1995.6 \pm 48.3$  mg CGE/100g dry weight，延長萃取時間至 40 分鐘後，其含量有升高至  $2222.9 \pm 85.6$  mg CGE/100g dry weight。整體而言，在萃取時間 15-40 分鐘之間，其所得之總花青素含量呈現穩定波動的情形，其數值則介於  $1995.6 \pm 43.8$ - $2222.9 \pm 85.6$  mg CGE/100g dry weight 的範圍。觀察統計分析的結果，

得知以 50%乙醇 (含 0.1% HCl) 萃取桑椹粉末的花青素，萃取 15-40 分鐘之間，其所得總花青素含量並無顯著性差異 ( $p > 0.05$ )，考量到節省時間和能源，故後續試驗均以萃取 15 分鐘作為超音波輔助萃取桑椹花青素之條件。

表 1. 桑椹以 50%乙醇 (含 0.1% HCl) 萃取不同時間連續三次之總花青素含量  
Table 1. Total anthocyanin content of mulberry fruit extracted by 50% ethanol (included 0.1% HCl) for three times after different time durations

Extraction time (min)	Total anthocyanin content (mg CGE/100g dry weight) *
15	2077.0 ± 68.0 <sup>a</sup>
20	2125.7 ± 51.8 <sup>a</sup>
25	2139.0 ± 102.0 <sup>a</sup>
30	2117.4 ± 84.2 <sup>a</sup>
35	1995.6 ± 48.3 <sup>a</sup>
40	2222.9 ± 85.6 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Values (Mean ± SD, n=3) in the same column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

\*CGE = cyanidin-3-*O*-glucoside equivalent.

## 二、桑椹花青素之分析與定量

所得之桑椹萃取液以高效能液相層析儀在波長 520 nm 下進行分析，結果如圖 1 所示，圖 1A 為 cyanidin-3-*O*-glucoside 標準品的 HPLC 層析圖，cyanidin-3-*O*-glucoside 的滯留時間為 14.919 分鐘。圖 1B 則為桑椹萃取液，發現桑椹中主要有三個波峰，分別暫時命名為 peak 1、2 和 3。peak 1 的滯留時間為 15.84 分鐘，與 cyanidin-3-*O*-glucoside 標準品的滯留時間相近，進一步以 PDA 掃描其 UV-Vis 圖譜，發現二者完全一致 (圖 2A 和 B)，以 LC/MS<sup>n</sup> 分析 peak 1 得知其 m/z 為 449，MS<sup>2</sup> 的主要碎片離子則為 m/z=287。因此比對後確定其為 cyanidin-3-*O*-glucoside。

Peak 2 在 HPLC 分析時的滯留時間為 16.18 分鐘，進一步以 LC/MS<sup>n</sup> 在正離子模式下分析所得圖譜如圖 3，顯示 peak 2 的滯留時間為 12.56 分鐘，其 MS<sup>1</sup> 的 m/z=595.05 [M+H]<sup>+</sup>，MS<sup>2</sup> m/z 為 287.09 和 449.02，m/z=287 [M+H-308] 顯示為 cyanidin，[M+H-308] 則為脫去 rutinose 的離子碎片，m/z=308 恰為 1 個 rutosyl (Qin *et al.*, 2010)。m/z 449 [M+H-146] 則為 [M+H-deoxyglucosyl]<sup>+</sup>，推測是脫去 rhamnose 的離子碎片，顯示 peak 2 應為 cyanidin-rutinoside，經參考比對文獻資料 (Wu *et al.*, 2011)，暫時鑑定為 cyanidin-3-*O*-rutinoside。

Peak 3 在 HPLC 分析時的滯留時間為 16.83 分鐘，以 LC/MS<sup>n</sup> 在正離子模式下分析之圖譜如圖 4，顯示 peak 3 的滯留時間為 13.76 分鐘，其 MS<sup>1</sup> 的  $m/z=433.01 [M+H]^+$ ，MS<sup>2</sup>  $m/z$  為 271.11， $m/z=271 [M+H-162]$ ，162 顯示該化合物中含有 1 個 hexoside，且 271.11 為 pelargonidin 的特徵離子 (Kajdžanoska *et al.*, 2010)，因此推測 peak 3 可能為 pelargonidin-hexoside 化合物，暫時鑑定為 pelargonidin-3-*O*-glucoside。

綜合以上，桑椹所含之花青素主要有 cyanidin-3-*O*-glucoside、cyanidin-3-*O*-rutinoside 和 pelargonidin-3-*O*-glucoside 等三種。以 HPLC 分析並利用 cyanidin-3-*O*-glucoside 製作標準曲線進行三種花青素的定量，結果顯示如表 2，桑椹中主要的花青素為 cyanidin-3-*O*-glucoside，含量有  $165.2 \pm 7.2$  ppm，其次為 cyanidin-3-*O*-rutinoside ( $61.6 \pm 3.7$  cyanidin-3-*O*-glucoside equivalent ppm)，含量最少的為 pelargonidin-3-*O*-glucoside，僅含有  $4.5 \pm 0.2$  cyanidin-3-*O*-glucoside equivalent ppm。Wu *et al.* (2011) 研究指出桑椹中最主要的兩個花青素為 cyanidin-3-*O*-glucoside 和 cyanidin-3-*O*-rutinoside。本研究另發現桑椹中尚含有 pelargonidin-3-*O*-glucoside。

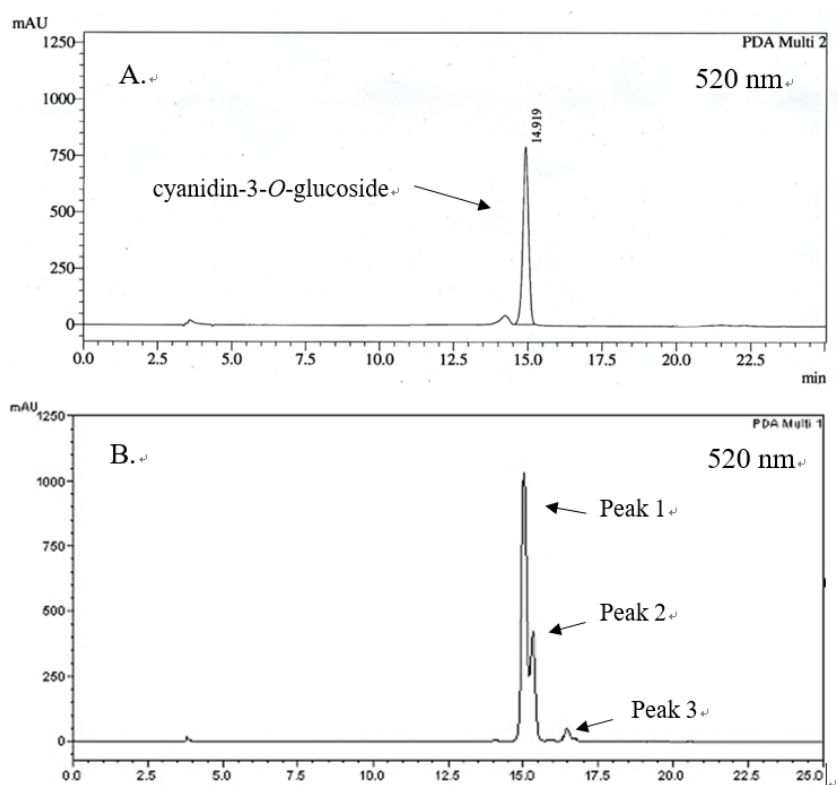


圖 1. Cyanidin-3-*O*-glucoside 標準品(A)和桑椹萃取液(B)之 HPLC 層析圖譜。

Fig. 1. HPLC chromatograms of cyanidin-3-*O*-glucoside standard (A) and the extract of mulberry fruit (B).



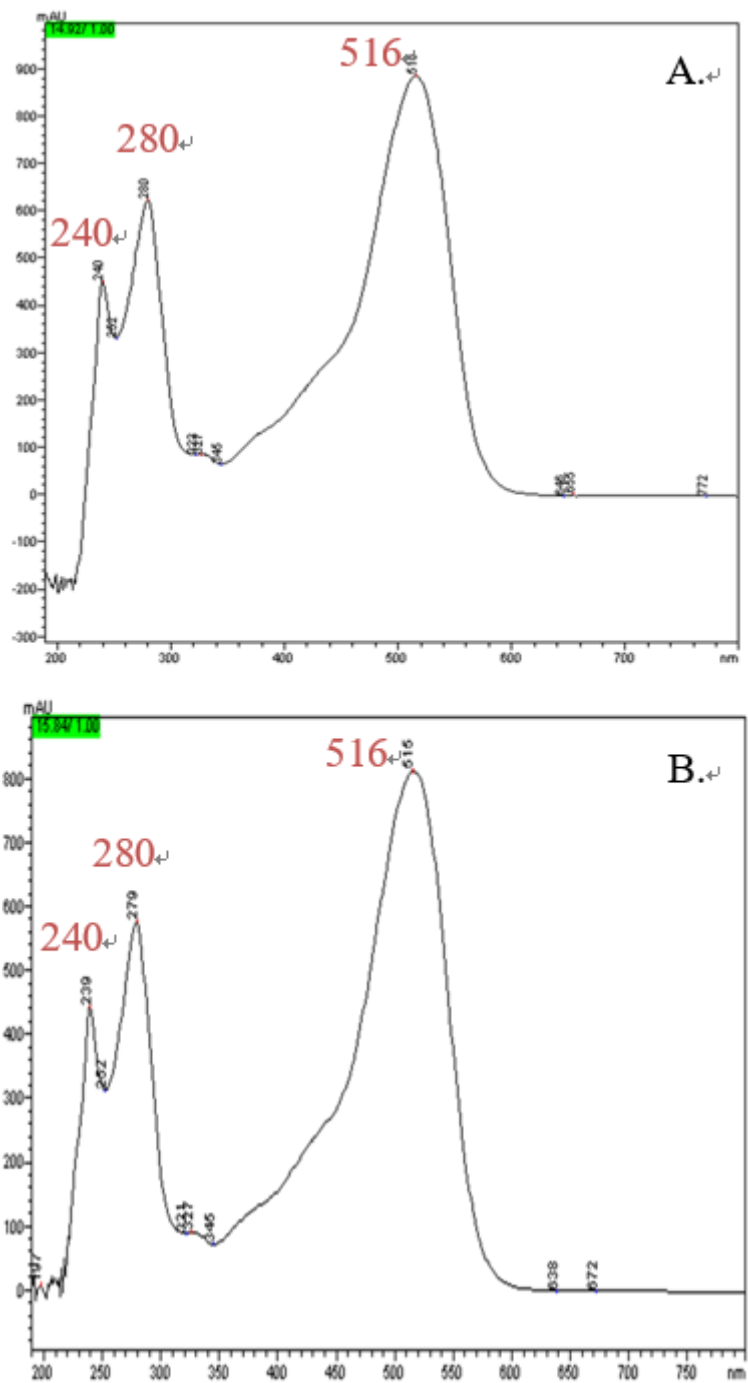


圖 2. Cyanidin-3-*O*-glucoside 標準品(A)和桑椹萃取液之 HPLC 層析圖譜中之 peak 1 (B)的紫外及可見光掃描圖譜。

Fig. 2. UV-Vis scan of cyanidin-3-*O*-glucoside standard (A) and peak 1 (B) in HPLC chromatogram of mulberry fruit extract.

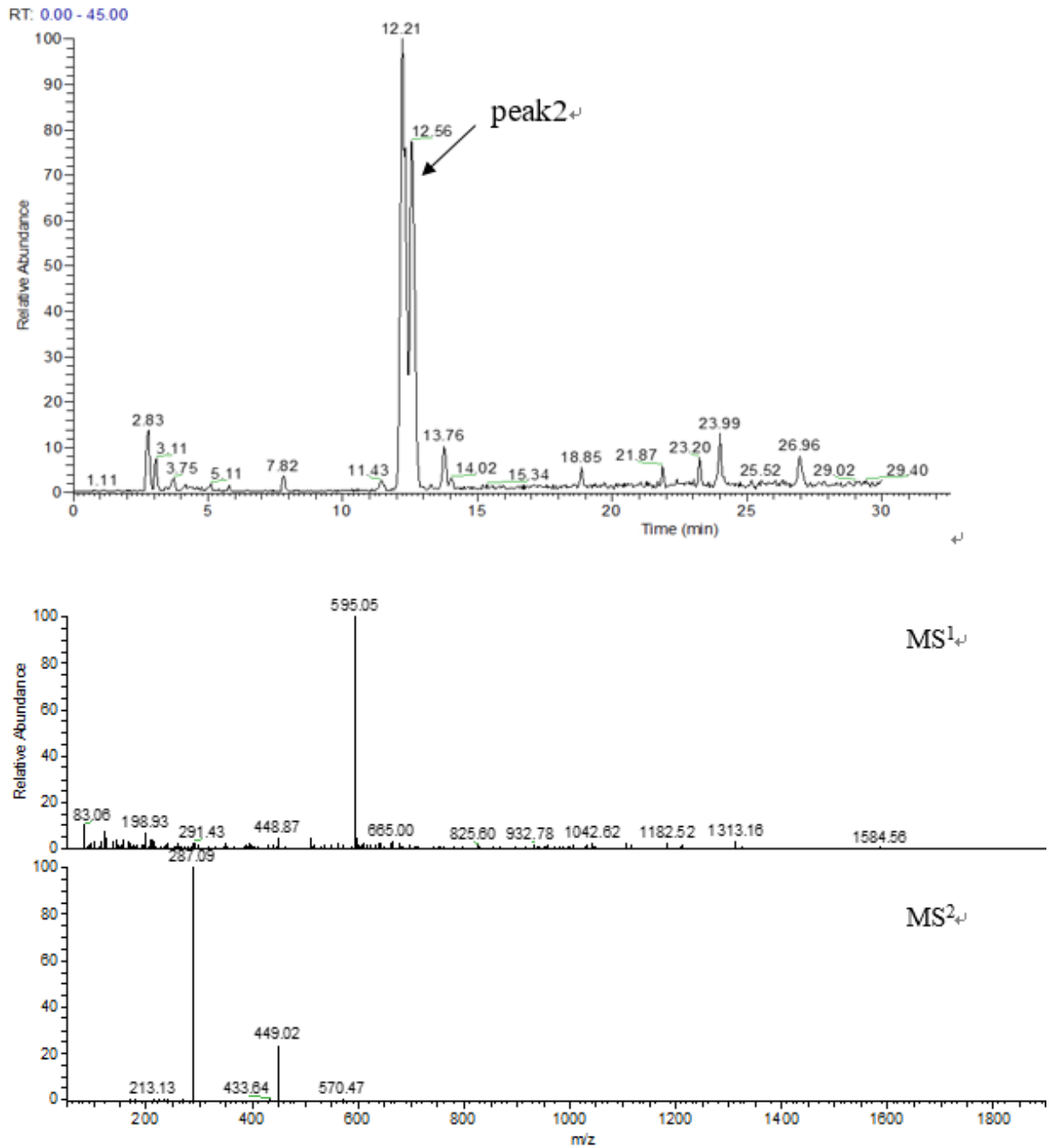


圖 3. 桑椹萃取液之 LC/MS<sup>n</sup> 層析全離子圖譜及 peak 2 之 MS<sup>1</sup> 及 MS<sup>2</sup> 之正離子質譜圖。  
Fig. 3. Total ion chromatogram and MS<sup>1</sup> 及 MS<sup>2</sup> mass spectra of peak2 in mulberry fruit extract analyzed by LC/MS<sup>n</sup> with positive ion mode.

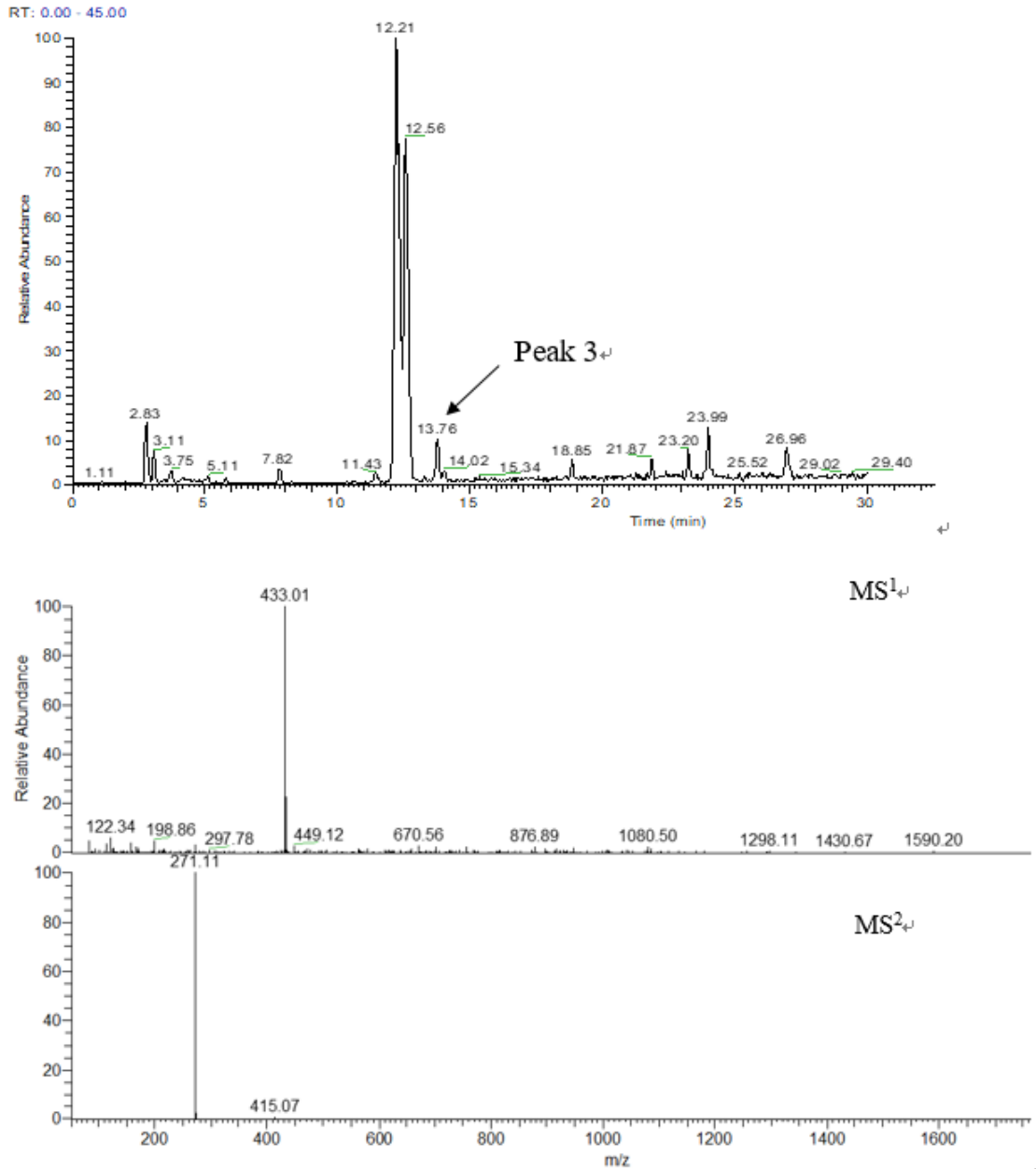


圖 4. 桑椹萃取液之 LC/MS<sup>n</sup> 層析全離子圖譜及 peak 3 之 MS<sup>1</sup> 及 MS<sup>2</sup> 之正離子質譜圖。  
 Fig. 4. Total ion chromatogram and MS<sup>1</sup> 及 MS<sup>2</sup> mass spectra of peak3 in mulberry fruit extract analyzed by LC/MS<sup>n</sup> with positive ion mode.

表 2. 桑椹萃取液的花青素組成及其含量

Table 2. Compositions and content of anthocyanins in mulberry fruit

Anthocyanins	Anthocyanin content (ppm)
cyanidin-3- <i>O</i> -glucoside	165.2 ± 7.2
cyanidin-3- <i>O</i> -rutinoside	61.6 ± 3.7*
pelargonidin-3- <i>O</i> -glucoside	4.5 ± 0.2*

\*Values, calculated based on the standard curve of cyanidin-3-*O*-glucoside, presented as cyanidin-3-*O*-glucoside equivalent ppm.

### 三、麥芽糊精處理對桑椹花青素儲藏安定性的影響

微膠囊化處理可有效延長產品的保存期限，為了延緩桑椹花青素在儲藏過程中產生的變化，本實驗參考 Ersus and Yurdagel (2007) 的方法加以修飾，嘗試使用 DE (4-7)、DE (16.5-19.5) 及兩者 1:1 混合之麥芽糊精 (後續以 DE (1:1) 表示) 為載體，進行桑椹花青素的微膠囊化處理，之後置於 25°C 及 40°C 進行儲藏試驗，評估儲藏過程中不同溫度及不同 DE 值的麥芽糊精對桑椹總花青素含量以及色澤的影響。

儲藏過程中不同 DE 值麥芽糊精對花青素含量的影響 (表 3)，顯示以麥芽糊精微膠囊化的桑椹總花青素含量在 147.1-148.5 mg CGE/100 g dry weight 之間，在 25°C 下儲藏時，DE (4-7) 的微膠囊化桑椹粉末儲藏至第 14 天的總花青素含量下降至  $103.6 \pm 17.8$  mg CGE/100 g dry weight，與第 0 天比較已有顯著差異，之後數值有大幅上下變動，但是並無顯著的變化至儲藏第 28 天。而 DE (16.5-19.5) 和 DE (1:1) 的微膠囊化桑椹粉末在儲藏至第 28 天時，二者的總花青素含量分別為  $137.8 \pm 17.0$  mg (CGE/100 g dry weight) 和  $124.8 \pm 14.2$  mg CGE/100 g dry weight，二者與第 0 天比較皆無顯著差異，顯示以 DE (16.5-19.5) 和 DE (1:1) 麥芽糊精包埋的桑椹粉末，在 25°C 下儲藏，其總花青素可穩定維持達 28 天而無明顯的下降。

在 40°C 之加速儲藏試驗中 (表 3)，DE (4-7) 的微膠囊化桑椹粉末儲藏至第 7 天，其總花青素的含量即有顯著的下降，其值僅有  $67.8 \pm 1.6$  mg CGE/100g dry weight，隨後上升又下降至第 28 天的  $100.0 \pm 14.5$  mg CGE/100g dry weight，其原因尚有不明，推測可能與微膠囊化不均勻有關，本實驗並未測定膠囊化的包覆率，因此尚待進一步之探討。然而，DE (16.5-19.5) 的膠囊化桑椹粉末儲藏期間其總花青素的含量並無顯著的變化，儲藏至第 28 天時總花青素含量仍有  $114.8 \pm 19.8$  mg CGE/100g dry weight，顯示其良好的花青素保護效果。DE (1:1) 的膠囊化桑椹粉末儲藏至第 7 天時 ( $84.2 \pm 16.5$  mg CGE/100g dry weight)，總花青素含量與其最初的數值比較已有明顯的下降，到第 21 天時，其總花青素含量已經降至  $51.4 \pm 5.7$  mg CGE/100g dry weight，之後至第 28 天維持穩定無顯著變化。

綜合以上，不論儲存在 25°C 或是 40°C 的條件下，皆以 DE (16.5-19.5) 之麥芽糊精進行桑椹微膠囊化處理之粉末的儲藏安定性最佳，能維持桑椹粉末總花青素含量達 28 天之

久，顯示本實驗條件中，DE 值愈高的麥芽糊精膠囊其花青素保護作用也愈高。

表 3. 以不同麥芽糊精微膠囊化桑椹粉末於不同溫度下儲存過程中總花青素含量之變化  
Table 3. Changes in total anthocyanin content of microencapsulated mulberry fruit powder by various maltodextrins stored at different temperatures

Temp.	Maltodextrin	Storage days				
		0	7	14	21	28
		Total anthocyanin content (CGE mg / 100g dry weight)				
25 °C	DE (4-7)	147.1±1.3 <sup>a</sup>	123.6±2.9 <sup>abc</sup>	103.6±17.8 <sup>bc</sup>	95.5±6.1 <sup>c</sup>	117.7±19.9 <sup>abc</sup>
	DE (16.5-19.5)	147.2±6.7 <sup>a</sup>	126.5±4.5 <sup>abc</sup>	133.3±2.4 <sup>abc</sup>	127.2±3.9 <sup>abc</sup>	137.8±17.0 <sup>ab</sup>
	DE(1 : 1)	148.5±1.7 <sup>a</sup>	134.6±6.3 <sup>ab</sup>	133.8±6.0 <sup>abc</sup>	132.2±9.1 <sup>abc</sup>	124.8±14.2 <sup>abc</sup>
40 °C	DE (4-7)	147.1±1.3 <sup>ab</sup>	67.8±1.6 <sup>de</sup>	136.0±3.7 <sup>abc</sup>	113.9±6.6 <sup>abcd</sup>	100.0±14.5 <sup>abcde</sup>
	DE (16.5-19.5)	147.2±6.7 <sup>ab</sup>	137.5±18.9 <sup>ab</sup>	137.3±2.4 <sup>ab</sup>	101.3±10.8 <sup>abcde</sup>	114.8±19.8 <sup>abcd</sup>
	DE(1 : 1)	148.5±1.7 <sup>a</sup>	84.2±16.5 <sup>cde</sup>	78.4±3.8 <sup>de</sup>	51.4±5.7 <sup>e</sup>	96.41±36.0 <sup>bcde</sup>

<sup>a-c</sup>Values (Mean ± SD, n=3) in the same row with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

#### 四、麥芽糊精處理對桑椹粉末儲藏期間色澤的影響

微膠囊化的桑椹粉末儲藏期間色澤的影響結果如表 4，觀察 DE (4-7)、DE (16.5-19.5) 和 DE (1:1) 之麥芽糊精桑椹微膠囊化處理之粉末的 L. a. b.值變化，發現第 0 天時，三者的 L 值相近，範圍在 48.65-51.54 之間，DE (16.5-19.5) 的粉末 a 值 ( $27.91 \pm 0.05$ ) 和 b 值 ( $0.85 \pm 0.04$ ) 明顯較其他兩種處理之桑椹粉末為低 (a 值:36.91-33.98, b 值:4.32-4.68)，顯示 DE (16.5-19.5) 處理組的粉末色澤與其他兩組比較時，紅色度和黃色度均較為弱，但是亮度則相當。在 25°C 下儲藏 28 天，DE (4-7) 的 L 值呈現略為下降的現象，a 值和 b 值則有略為上升的變化，DE (1:1) 之麥芽糊精桑椹微膠囊化粉末的 L. a. b.值變化與 DE (4-7) 處理組有相似的趨勢，然而，DE (16.5-19.5) 處理組的 L 值於儲藏中呈現上下波動的現象，a 值和 b 值則隨著儲藏期間的延長而略有上升。3 種不同條件處理的微膠囊化桑椹粉末，儲藏在 40°C 下儲藏 28 天的變化如表 3，其 L. a. b.值的變化趨勢與在 25°C 下相似，數值亦在相似的範圍內，顯示提高儲藏溫度至 40°C 時，對於色澤的變化並無顯著的影響。

綜合以上，DE (16.5-19.5) 之麥芽糊精桑椹膠囊化粉末的紅色度和黃色度較其他兩種

處理組弱。不論是在 25°C 或是 40°C 下儲藏，3 種麥芽糊精桑椹微膠囊化粉末於儲藏期間亮度皆會些微下降，但是紅色度和黃色度則均會上升。顯示麥芽糊精桑椹微膠囊化粉末可維持色澤至 28 天之久。

表 4. 以不同麥芽糊精微膠囊化桑椹粉末於不同儲存溫度下之色澤變化  
Table 4. Changes in color of microencapsulated mulberry fruit powder by various maltodextrins stored at different temperatures

Temp.	Storage days	Maltodextrin								
		DE (4-7)			DE (16.5-19.5)			DE (1:1)		
		L	a	b	L	a	b	L	a	b
25°C	0	51.54±0.14 <sup>a</sup>	36.91±0.07 <sup>e</sup>	4.32±0.10 <sup>e</sup>	48.65±0.07 <sup>c</sup>	27.91±0.05 <sup>e</sup>	0.85±0.04 <sup>d</sup>	48.91±0.06 <sup>a</sup>	33.98±0.07 <sup>e</sup>	4.68±0.07 <sup>e</sup>
	7	51.12±0.19 <sup>b</sup>	37.90±0.05 <sup>d</sup>	4.75±0.03 <sup>d</sup>	50.10±0.16 <sup>a</sup>	28.34±0.07 <sup>d</sup>	0.73±0.05 <sup>e</sup>	45.97±0.07 <sup>b</sup>	34.99±0.05 <sup>d</sup>	5.66±0.06 <sup>d</sup>
	14	50.07±0.04 <sup>c</sup>	38.49±0.05 <sup>c</sup>	5.13±0.03 <sup>c</sup>	46.34±0.13 <sup>d</sup>	29.31±0.06 <sup>c</sup>	1.51±0.05 <sup>c</sup>	43.70±0.04 <sup>d</sup>	38.50±0.06 <sup>b</sup>	7.38±0.05 <sup>b</sup>
	21	49.98±0.08 <sup>c</sup>	39.84±0.06 <sup>a</sup>	7.05±0.05 <sup>a</sup>	49.20±0.10 <sup>b</sup>	29.50±0.03 <sup>b</sup>	2.28±0.09 <sup>b</sup>	43.74±0.03 <sup>d</sup>	39.67±0.09 <sup>a</sup>	9.21±0.05 <sup>a</sup>
	28	48.37±0.13 <sup>d</sup>	38.88±0.08 <sup>b</sup>	5.58±0.04 <sup>b</sup>	43.24±0.06 <sup>e</sup>	31.68±0.05 <sup>a</sup>	2.80±0.06 <sup>a</sup>	44.55±0.05 <sup>c</sup>	37.10±0.03 <sup>c</sup>	6.72±0.07 <sup>c</sup>
40°C	0	51.54±0.14 <sup>c</sup>	36.91±0.07 <sup>e</sup>	4.32±0.10 <sup>c</sup>	48.65±0.07 <sup>b</sup>	27.91±0.05 <sup>d</sup>	0.85±0.04 <sup>d</sup>	48.91±0.06 <sup>a</sup>	33.98±0.07 <sup>d</sup>	4.68±0.07 <sup>d</sup>
	7	53.79±0.06 <sup>a</sup>	37.45±0.02 <sup>c</sup>	5.62±0.05 <sup>b</sup>	47.68±0.15 <sup>d</sup>	30.95±0.06 <sup>b</sup>	2.81±0.06 <sup>b</sup>	46.81±0.05 <sup>b</sup>	38.92±0.04 <sup>b</sup>	8.21±0.04 <sup>b</sup>
	14	52.37±0.04 <sup>b</sup>	37.24±0.10 <sup>d</sup>	4.28±0.05 <sup>c</sup>	48.24±0.11 <sup>c</sup>	28.69±0.09 <sup>c</sup>	1.13±0.03 <sup>c</sup>	44.21±0.06 <sup>d</sup>	38.91±0.05 <sup>b</sup>	7.30±0.07 <sup>c</sup>
	21	49.52±0.08 <sup>d</sup>	40.91±0.04 <sup>a</sup>	7.34±0.04 <sup>a</sup>	49.24±0.11 <sup>a</sup>	27.69±0.09 <sup>e</sup>	1.04±0.02 <sup>c</sup>	44.54±0.08 <sup>c</sup>	40.55±0.08 <sup>a</sup>	9.25±0.06 <sup>a</sup>
	28	49.05±0.02 <sup>e</sup>	39.20±0.02 <sup>b</sup>	5.53±0.07 <sup>b</sup>	43.74±0.05 <sup>e</sup>	32.44±0.11 <sup>a</sup>	3.10±0.07 <sup>a</sup>	44.07±0.08 <sup>c</sup>	38.55±0.07 <sup>c</sup>	7.28±0.04 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup> Values (Mean ± SD, n=3) in the column at the same temperature with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## 肆、結論

桑椹以 50%乙醇（含 0.1% HCl）萃取 3 次，每次 15 分鐘，可獲取  $2077.0 \pm 0.68$  mg CGE/100 g dry weight 的總花青素。經鑑定得知其中主要有 cyanidin-3-*O*-glucoside、cyanidin-3-*O*-rutinoside 和 pelargonidin-3-*O*-glucoside 等三種花青素。利用 DE (16.5-19.5) 麥芽糊精製備之桑椹微膠囊化粉末，在 25°C 和 40°C 下儲藏可維持總花青素含量至 28 天，且儲藏期間色澤並無明顯的變化。

## 伍、參考文獻

蔡正宗、陳中文、楊正憲。1995。紅鳳菜 (*Gynura Bicolor*) 所今兩種主要花色素苷之研究。

食品科學。22：149-160。

劉嘉琪。2021。紅鳳菜的酚類與花青素組成及其抗氧化活性。國立宜蘭大學食品科學系碩

士論文。宜蘭。

- Aramwit, P., N. Bang, and T. Srichana. 2010. The properties and stability of anthocyanins in mulberry fruits. *Food Res. Int.* 43: 1093-1097.
- Blando, F., N. Calabriso, H. Berland, G. Maiorano, C. Gerardi, M. A. Carluccio, and O. M. Andersen. 2018. Radical scavenging and anti-inflammatory activities of representative anthocyanin groupings from pigment-rich fruits and vegetables. *Int. J. Mol. Sci.* 19: 169-184.
- Bontempo, P., L. De Masi, V. Carafa, D. Rigano, L. Scisciola, C. Iside, R. Grassi, A. M. Molinari, R. Aversano, and A. Nebbioso. 2015. Anticancer activities of anthocyanin extract from genotyped *Solanum tuberosum* L. "Vitelotte". *J. Funct. Foods* 19: 584-593.
- Bosiljkov, T., F. Dujmić, M. C. Bubalo, J. Hribar, R. Vidrih, M. Brnčić, E. Zlatic, I. R. Redovniković, and S. Jokić. 2017. Natural deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction: Green approaches for extraction of wine lees anthocyanins. *Food Bioprod. Process.* 102: 195-203.
- Ersus, S., and U. Yurdagel. 2007. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *J. Food Eng.* 80: 805-812.
- Jakubczyk, E., E. Ostrowska-Ligeza, and E. Gondek. 2010. Moisture sorption characteristics and glass transition temperature of apple puree powder. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45: 2515-2523.
- Kajdžanoska, M., V. Gjamovski, and M. Stefova. 2010. HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from Macedonia. *Maced. J. Chem. Chem. Eng.* 29: 181-194.
- Lee, K. M., T. J. Oh, S. H. Kim, H. Y. Kim, H. Chung, D. S. Min, J. H. Auh, H. J. Lee, J. Lee, and H. K. Choi. 2016. Comprehensive metabolic profiles of mulberry fruit (*Morus alba* Linnaeus) according to maturation stage. *Food Sci. Biotechnol.* 25: 1035-1041.
- Lim, S., J. Xu, J. Kim, T. Y. Chen, X. Su, J. Standard, E. Carey, J. Griffin, B. Herndon, and B. Katz. 2013. Role of anthocyanin-enriched purple-fleshed sweet potato p40 in colorectal cancer prevention. *Mol. Nutr. Food Res.* 57: 1908-1917.

- Mahdavi, S. A., S. M. Jafari, E. Assadpoor, and D. Dehnad. 2016. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *Int. J. Biol. Macromol.* 85: 379-385.
- Noda, Y., T. Kneyuki, K. Igarashi, A. Mori, and L. Packer. 2000. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels. *Toxicology* 148: 119-123.
- Oak, M. H., J. E. Bedoui, S. V. Madeira, K. Chalupsky, and V. B. Schini-Kerth. 2006. Delphinidin and cyanidin inhibit PDGF(AB)-induced VEGF release in vascular smooth muscle cells by preventing activation of p38 MAPK and JNK. *Br. J. Pharmacol* 149: 283-290.
- Oliveira, J., M. Alinho da Silva, N. R. Teixeira, V. De Freitas, and E. Salas. 2015. Screening of anthocyanins and anthocyanin-derived pigments in red wine grape pomace using LC-DAD/MS and MALDI-TOF techniques. *J. Agric. Food Chem.* 63: 7636-7644.
- Paun, N., V. Niculescu, and M. Miricioiu. 2017. Comparative study on using ethanol and methanol for black grapes polyphenols extraction. *Smart Energy Sustainable Environ.* 20: 51-56.
- Pergola, C., A. Rossi, P. Dugo, S. Cuzzocrea, and L. Sautebin. 2006. Inhibition of nitric oxide biosynthesis by anthocyanin fraction of blackberry extract. *Nitric. Oxide.* 15: 30-39.
- Pervin, M., M. Hasnat, Y. M. Lee, D. H. Kim, J. E. Jo, and B. O. Lim. 2014. Antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibition of grape skin anthocyanin (GSA). *Mol.* 19: 9403-9418.
- Qin, C., Y. Li, W. Niu, Y. Ding, R. Zhang, and X. Shang. 2010. Analysis and characterisation of anthocyanins in mulberry fruit. *Czech J. Food Sci.* 28: 117-126.
- Righetto, M. A., and M. F. Netto. 2005. Effect of encapsulating materials on water sorption, glass transition and stability of juice from immature acerola. *Int. J. Food Prop.* 8: 337-346.
- Wang, E., Y. Yin, C. Xu, and J. Liu. 2014. Isolation of high-purity anthocyanin mixtures and monomers from blueberries using combined chromatographic techniques. *J. Chromatogr. A* 1327: 39-48.
- Wu, X., L. Liang, Y. Zou, T. Zhao, J. Zhao, F. Li, and L. Yang. 2011. Aqueous two-phase extraction, identification and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea*



Roxb.). *Food Chem.* 129: 443-453.

Yamashita, C., M. M. S. Chung, C. dos Santos, C. R. M. Mayer, I. C. F. Moraes, and I. G. Branco.

2017. Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. *LWT-Food Sci. Technol.* 84: 256-262.

Yang, X., L. Yang, and H. Zheng. 2010. Hypolipidemic and antioxidant effects of mulberry (*Morus alba* L.) fruit in hyperlipidaemia rats. *Food Chem Toxicol.* 48: 2374-2379.

110年 10月 27日 投稿

110年 11月 18日 接受

