

紫薯色素稳定性及与防腐剂复配抑菌实验研究

宋洁, 孙书伟*, 王丹丹, 唐婧媛^①

(辽东学院农学院, 辽宁丹东 118003)

摘要: 研究了不同 pH 值、光照、温度、氧化剂/还原剂和金属离子影响下, 紫薯色素的稳定性及与防腐剂复配抑菌最佳比例。结果表明: 紫薯色素颜色随 pH 值发生明显变化, pH ≤ 3.0 时色素较稳定, 温度高于 60 °C 色素不稳定, 光照、氧化剂/还原剂对色素稳定性影响较大, 含有不同浓度 Na⁺、Ca²⁺、Al³⁺ 离子的色素稳定性好, Fe³⁺ 离子色素稳定性较差。紫薯色素与山梨酸钾, 苯甲酸钠复配抑菌最佳比例分别为 0.97, 0.40, 0.31 mg/mL, 对大肠杆菌的实际抑菌直径为 20.057 mm。

关键词: 紫薯色素; 稳定性; 复配抑菌

中图分类号: TS201.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-4939 (2015) 03-0175-05

紫薯 (purple sweet potato) 是一种具有较好色素基源的旋花科植物。紫薯色素属于天然花青素类色素, 主要成分为矢车菊和芍药素^[1], 具有抗突变、抗氧化和保健等功效^[2-4]。花青素类色素是植物特有的次生代谢产物, 具有抗病、抗旱、价廉等优点, 同时可视为特殊的抑菌类物质, 无污染、无耐药性、无毒副作用, 是一种很好的天然色素原料和食品防腐剂^[5,6]。目前, 国内外已大量开发植物天然色素^[7,8], 紫薯色素也有一些报道^[9,10], 但是并未获得广泛应用。本实验通过对紫薯色素稳定性及与防腐剂复配抑菌的实验研究, 为紫薯色素作为一种天然健康有益的食用色素原料和防腐剂提供可能性, 并期望为开发色素新的功能特性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

紫薯: 美国黑薯, 辽东学院生物研究所提供; 菌种: 大肠杆菌, 辽东学院微生物工程实验室保存。

主要仪器: RE-2000 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; UV-5500 型紫外/可见分光光度计,

上海元析仪器有限公司; 循环水多用真空泵, 巩义市予华仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 紫薯色素稳定性

紫薯清洗切块, 放入榨汁机制成浆状备用, 10 g 浆状紫薯中加入 100 mL 酸化乙醇溶液 (95% 乙醇: 1 mol/L 盐酸 = 9: 1) 提取 3 h, 10 000 r/min 离心 25 min, 取上清液纯化减压浓缩, 得色素提取液^[5]。

(1) pH 对色素稳定性影响: 7 份紫薯色素提取液, 用酸度计分别调至 pH = 1.0、3.0、5.0、7.0、9.0、11.0、14.0, 静置 20 min, 观察提取液颜色变化, λ_{530 nm} 处分别测量各酸碱度下的吸光值^[5]。

(2) 光照对色素稳定性影响: 紫薯色素提取液 (pH = 3.0), 分别置于避光和日光灯下存放 3 d, 隔一定时间测 λ_{530 nm} 下的吸光值。

(3) 温度对色素稳定性影响: 紫薯色素提取液 (pH = 3.0), 分别置于 20、40、60、80、100 °C 下恒温处理 1 h, 测得 λ_{530 nm} 下吸光值。

(4) 氧化剂/还原剂对色素稳定性影响:

氧化剂: 10 mL 紫薯色素提取液 (pH = 3.0)

① 收稿日期: 2015-06-01

作者简介: 宋洁 (1985—), 女, 辽宁丹东人, 硕士, 实验师, 研究方向: 农业生物化学与分子生物学应用。

* 通讯作者: 孙书伟 (1970—), 女, 辽宁鞍山人, 高级实验师, 研究方向: 生物技术与生物工程。

中, 分别加入 10% 的双氧水 0.25、0.50、1.00 mL, 室温静置 12 h^[6]。以未加入氧化剂色素提取液为空白对照, 测得 λ530 nm 下吸光值。

还原剂: 10 mL 紫薯色素提取液 (pH = 3.0) 中, 分别加入 0.002 5、0.005 0、0.010 0 g 的亚硫酸钠室温静置 12 h^[6]。以未加入还原剂色素提取液为空白对照, 测得 λ530 nm 下吸光值。

(5) 金属离子对色素稳定性影响: 分别配置含 Na⁺、Ca²⁺、Zn²⁺、Fe³⁺、Al³⁺, 五种金属离子的紫薯色素提取液 (pH = 3.0), 每种金属离子的浓度为 0.01、0.02、0.03 mol/L, 以未加入金属离子的紫薯色素提取液为空白对照, 测得 λ530 nm 下吸光值。

1.2.2 紫薯色素与防腐剂复配抑菌

(1) 紫薯色素对大肠杆菌最小抑菌浓度的测定: 已融化的牛肉膏蛋白胨培养基中加入不同浓度的紫薯色素稀释液 (紫薯色素提取液烘干制粉, 按比例配成不同浓度) 3 mL, 混匀冷却凝固后, 每皿加入 200 μL 菌悬液涂布均匀, 37 °C 培养 24 h, 以不长菌的色素稀释液最低浓度为最小抑菌浓度。

(2) 单因素实验:

紫薯色素水平的确定: 固定山梨酸钾为 0.56 mg/mL, 苯甲酸钠为 0.32 mg/mL, 紫薯色素分别为 0.000、0.280、0.466、0.777、1.296、2.160、

3.60 和 6.00 mg/mL。复配抑制大肠杆菌, 测量抑菌圈直径 mm。山梨酸钾水平的确定: 固定紫薯色素为 0.777 mg/mL, 苯甲酸钠为 0.32 mg/mL, 山梨酸钾分别为 0.000、0.017 5、0.035、0.07、0.14、0.28、0.56、1.12 mg/mL。复配抑制大肠杆菌, 测量抑菌圈直径 mm。苯甲酸钠水平的确定: 固定紫薯色素为 0.777 mg/mL, 山梨酸钾为 0.56 mg/mL, 苯甲酸钠分别为 0.000、0.002 5、0.005、0.01、0.02、0.04、0.08、0.16、0.32 mg/mL。复配抑制大肠杆菌, 测量抑菌圈直径 mm。

(3) 响应面优化紫薯色素与防腐剂复配抑菌: 单因素实验基础上, 采用滤纸片法做抑菌实验, 响应面法分析紫薯色素与防腐剂复配作用, 得出最佳抑菌比例。

2 结果与分析

2.1 紫薯稳定性分析

(1) pH 值对色素稳定性影响

不同 pH 值环境下, 紫薯色素稳定性实验结果见图 1。由图 1 可知: 随着 pH 值增加, 吸光值不断变化, 色素稳定性逐渐降低。当 pH ≤ 3.0 时色素较稳定, pH = 14.0 时色素稳定性最差。色素颜色随 pH 值发生明显改变, 酸性时红色到粉红色; 中性时呈紫色; 碱性时紫蓝色到深绿色。

表 1 不同 pH 值下色素提取液颜色的变化

pH 值	1.0	3.0	5.0	7.0	9.0	11.0	14.0
颜色	红色	粉红色	紫红色	紫色	紫蓝色	墨绿色	深绿色

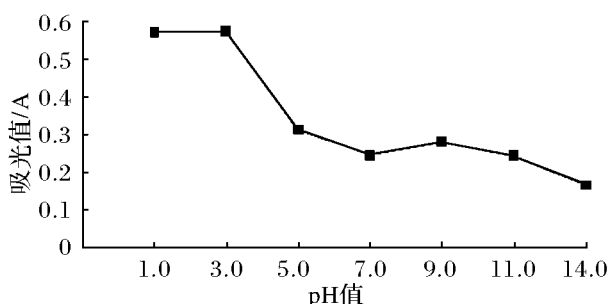


图 1 不同 pH 值下色素提取液吸光值的变化

(2) 光照对色素稳定性影响

避光与日光灯环境下, 紫薯色素稳定性实验结果见图 2。由图 2 可看出: 紫薯色素避光条件下, 吸光值变化小, 稳定性较好; 日光灯照射条件下,

随着光照时间延长, 吸光值逐渐降低, 紫薯色素稳定性相对较差。

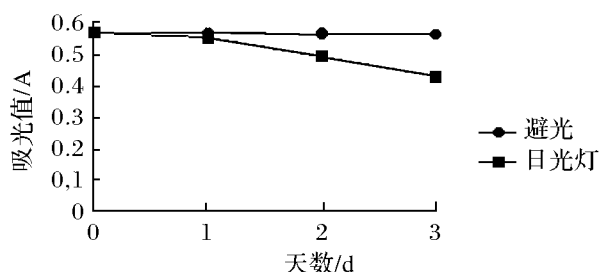


图 2 色素提取液避光与日光灯条件下吸光度值的变化

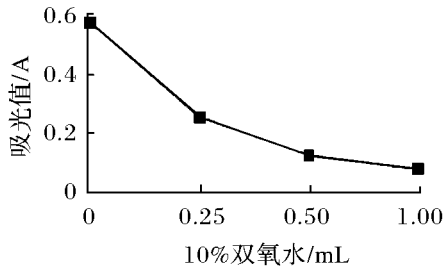
(3) 温度对色素稳定性影响

不同温度处理 1 h 后, 测得色素提取液吸光值见表 2。由表 2 可知: 随着温度的不断升高, 色素

的吸光值减小, 稳定性有下降趋势。

表2 不同温度下色素提取液吸光值的变化

温度/℃	20	40	60	80	100
吸光值/A	0.573	0.573	0.57	0.56	0.549



(4) 氧化剂/还原剂对色素稳定性影响

随着氧化剂 10% 双氧水/还原剂亚硫酸钠的不断 增加, 紫薯色素提取液吸光值发生明显变化, 色素在氧化剂/还原剂中的稳定性较差。

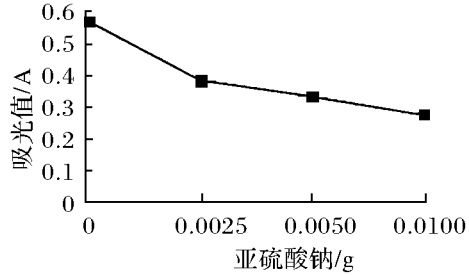


图3 色素提取液氧化剂和还原剂作用下吸光值的变化

(5) 金属离子对色素稳定性影响

紫薯色素提取液中加入不同浓度的五种金属离子处理前后吸光值变化见图4。由图4可看出: 紫薯色素在含中 Na⁺、Ca²⁺、Al³⁺ 的离子溶液中吸光

值基本不变, Fe³⁺ 离子溶液中吸光值变化较大, 紫薯色素提取液在五种金属离子中的稳定性 Na⁺、Ca²⁺、Al³⁺ > Zn²⁺ > Fe³⁺。

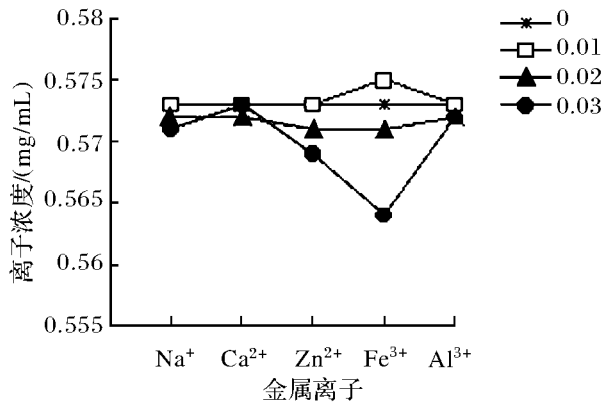


图4 色素提取液在不同浓度的金属离子的作用下吸光值的变化

2.2 紫薯色素与防腐剂复配抑菌分析

对大肠杆菌抑菌效果明显, 最小抑菌浓度为 0.777

(1) 紫薯色素最小抑菌浓度: 紫薯色素稀释液

mg/mL, 具体见表3。

表3 紫薯色素最小抑菌浓度

菌种	紫薯色素稀释液浓度/ (mg/mL)							
	6.00	3.60	2.160	1.296	0.777	0.466	0.280	0.168
大肠杆菌	-	-	-	-	+	+	+	+

注: “-”表示无菌生长, “+”表示有菌生长

(2) 响应面法优化复配抑菌配比与结果分析

低水平分别为 0.56, 0.28 mg/mL; 苯甲酸钠高水平, 低水平分别为 0.32, 0.16 mg/mL。

根据 GB2760 - 2011 食品添加剂使用规定及单因素实验数据综合分析: 紫薯色素高水平, 低水平分别为 1.296, 0.777 mg/mL; 山梨酸钾高水平,

利用 Design - Expert. V8. 0. 6 软件, 采用 Box - Behnken 中心组合实验设计, 以抑菌圈直径为响应

值(Y),紫薯色素(X_1)、山梨酸钾(X_2)、苯甲酸钠(X_3)为3因素,进行3水平实验。17个试验点(5个误差估计零点,12个析因点)实验设计方案和结果具体见表4。对结果数据进行多元回归拟合,得到以抑菌圈直径(Y)为目标函数的二次回归方程模型: $Y = 20.50 + 0.64X_1 + 2.00X_2 + 0.74X_3 + 0.67X_1X_2 + 2.40X_1X_3 + 0.3X_2X_3 - 2.08X_1^2 - 3.70X_2^2 - 5.02X_3^2$ 。

检测回归方程可靠性,对方程进行方差分析结果表5中显示: $P < 0.0001$ 模型极显著,三因素物质不同配比下的差异显著。 $P = 0.1003 > 0.05$ 失拟项不显著,残差由随机误差引起,模型的实际值与预测值拟合效果好。 $R^2 = 0.9969 > 0.9$ 响应值与三因素之间相关度好, $CV\% = 2.23$ 模型可以很好地反映真实的实验值,试验操作可靠。所以该回归方程可以用来研究紫薯色素、山梨酸钾、苯甲酸钠复配抑菌的最佳配比。

回归模型方差分析的基础上,利用软件获得紫薯色素,山梨酸钾,苯甲酸钠复配抑菌最佳配比分别为0.97、0.40、0.31 mg/mL,抑菌圈直径为20.112 mm,模拟验证试验得到实际抑菌圈平均直径为

20.057 mm,与理论预测值基本吻合,模型合理有效。

表4 响应面实验设计方案和结果

序号	X_1 紫薯色素 /(mg/mL)	X_2 山梨酸钾 /(mg/mL)	X_3 苯甲酸钠 /(mg/mL)	Y 抑菌圈直径 /mm
1	-1	1	0	11.4
2	0	0	0	20.6
3	0	1	-1	10.2
4	1	0	1	18.4
5	-1	0	1	15.4
6	1	0	-1	12.7
7	0	0	0	20.2
8	0	0	0	20.8
9	1	-1	0	10.6
10	0	-1	-1	9.7
11	0	-1	1	12.6
12	0	0	0	20.4
13	0	1	1	14.6
14	1	1	0	17.1
15	0	0	0	20.5
16	-1	0	-1	12.4
17	-1	-1	0	14.5

表5 回归方程的方差分析

来源	平方和	自由度	均分	F值	P值	显著性
模型	265.46	9	29.50	249.51	<0.0001	**
X_1	3.25	1	3.25	27.50	0.0012	**
X_2	4.35	1	4.35	36.81	0.0005	**
X_3	32.00	1	32.00	270.69	<0.0001	**
X_1X_2	23.04	1	23.04	194.90	<0.0001	**
X_1X_3	1.82	1	1.82	15.42	0.0057	**
X_2X_3	0.56	1	0.56	4.76	0.0655	
X_1^2	18.13	1	18.13	153.36	<0.0001	**
X_2^2	106.32	1	106.32	899.37	<0.0001	**
X_3^2	57.64	1	57.64	487.61	<0.0001	**
残差	0.83	7	0.12			
失拟项	0.63	3	0.21	4.18	0.1003	
纯误差	0.20	4	0.050	总和	266.28	16

注:* $P < 0.05$ 显著,** $P < 0.01$ 极显著。 $R^2 = 0.9969$, $CV\% = 2.23$

3 讨论

紫薯色素以花色苷形式存在,在溶液介质中,随pH的变化有4种结构转换^[11]。pH较低时溶液呈红色,pH的不断增大,花色苷颜色由粉红色变成紫色或蓝色,并且pH范围内颜色表现出相当好的稳定性。紫薯色素中已发现6种双酰基化结构^[12],酰基化和甲氧基化,使花青素比许多天然

色素的稳定性好。但受到花色苷化学结构中裸露的阳离子影响,在氧化剂、还原剂、长时光照与高温的攻击下,紫薯色素不稳定。金属离子可以与B-环上含有邻位羟基的花色苷络合,有利于提高色素稳定性^[13],本实验中 Al^{3+} 离子对色素有保护作用, Fe^{3+} 离子具有氧化性,能够破坏色素分子结构^[14],稳定性较差。紫薯色素具有抗菌能力,对大肠杆菌

和金黄葡萄球菌的生长均产生抑制作用^[15]。本研究以抑菌圈直径为指标, 通过单因素实验, 应用响应面法优化紫薯色素、山梨酸钾、苯甲酸钠复配抑菌用量, 回归分析和验证实验表明响应面法优化的合理性和可行性。

紫薯色素作为一种天然色素, 安全、无毒、无异昧、色彩鲜艳且抑菌, 可用于食品、药品、化妆品的着色和防腐。由于不同品种花色苷的含量差异较大, 选育花色苷含量较高的新品种、合理开发紫薯色素、加强原料的综合利用和提高色素品质将成为今后的研究重点。

参考文献:

[1] TERANARA N, KATO Y, SHIMIZU T. Six diacylated anthocyanins from storage roots of purple sweet potato, *Ipomoea batatas* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1999, 63: 1420 - 1424.

[2] ZHU H M, ZHAO M. Study on chemical constituents and antioxidant activity of anthocyanins from *Ipomoea batatas* L (purple sweet potato) [J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2009, 29 (1): 39 - 45.

[3] 魏蕾, 吕佳飞, 李志洲. 花青素的提取纯化抗氧化能力及功用方面的研究进展 [J]. *氨基酸和生物资源*, 2009, 31 (4): 83 - 86.

[4] 方忠祥, 倪元颖. 花青素生理功能研究进展 [J]. *广州食品工业科技*, 2001, 17 (3): 60 - 62.

[5] ALI M F, MALKI A A, ALI B E. Deep desulfurization of gasoline and diesel fuels using non - hydrogen consuming techniques [J]. *Fuel*, 2006, 85 (10/11): 1354 - 1363.

[6] ZHU W S, LI H M, GU Q Q, et al. Kinetics and mechanism for oxidative desulfurization of fuels catalyzed by peroxo - molybdenum amino acid complexes in water - immiscible ionic liquids [J]. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2011, 336: 16 - 22.

[7] TALCOTT S T, BRENES C H, PIRES D M, et al. Phytochemical stability and color retention of copigmented and processed muscadine grape juice [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003, 51: 957 - 963.

[8] SU M S, JUAN L S. Antioxidant activity, anthocyanins and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by - products as affected by fermentation [J]. *Food Chemistry*, 2006, 97: 447 - 451.

[9] 尹晴红, 刘邮洲, 谢一芝, 等. 紫甘薯花色苷的稳定性分析 [J]. *江苏农业学报*, 2004, 20 (2): 111 - 115.

[10] CEVALLOS - CASALS B A, CISNEROS - ZEVALLOS L. Stability of anthocyanin - based aqueous extracts of Andean purple corn and red - fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants [J]. *Food Chemistry*, 2004, 86: 69 - 77.

[11] 庞志申. 花色苷研究概况 [J]. *北京农业科学*, 2000, 18 (5): 37 - 42.

[12] ANNA B. The effects of heating, UV irradiation and storage on stability of the anthocyanin - polyphenol copigment complex [J]. *Food Chemistry*, 2003, 81: 349 - 355.

[13] 赵善仓. 不同品种的彩色小麦天然抗氧化活性物质的分析研究 [D]. 泰安: 山东农业大学博士学位论文, 2009.

[14] BERKE B, CHEZE C, VERAUTEREN J, et al. Bisulfite addition to anthocyanins; revisited structures of colourless adducts [J]. *Tetrahedron Letters*, 1998, 39 (32): 5771 - 5774.

[15] FAZELI M R. Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishane shirazi against some food - borne bacteria [J]. *Food Control*, 2007, 18: 646 - 649.

(责任编辑: 鞠衍清)

Stability of Purple Sweet Potato Pigment and Bacteriostasis Experiment of a Preservative Compounded with It

SONG Jie, SUN Shu - wei, WANG Dan - dan, TANG Jing - yuan

(College of Agriculture, Eastern Liaoning University, Dandong 118003, China)

Abstract: The stability of purple sweet potato pigment and formulation of a preservative with it as a composition were studied. It was found that the color of the pigment was stable when the pH is not more than 3.0 or the temperature was under 60 °C. Light, oxidant and reductant had a great influence on the stability of the pigment. The pigment with different concentrations of Na⁺, Ca²⁺ and Al³⁺ was stable, while it was poor with Fe³⁺. The optimum bacteriostatic result of the preservative was gotten when the proportion of the purple sweet potato pigment, potassium sorbate and sodium benzoate was 1.296, 0.38 and 0.33 mg/mL, respectively. The actual bacteriostatic diameter for *Escherichia coli* was 20.057 mm.

Key words: purple sweet potato pigment; stability; compound preservative