

紫薯色素的微波提取及其稳定性和抗氧化活性的研究

余 凡, 杨恒拓, 葛亚龙, 田光辉*

(陕西理工学院化学与环境科学学院, 陕西汉中 723000)

摘要:研究了紫薯色素的提取方法及其稳定性。采用微波提取法,选取溶剂比例、时间、温度、料液比作为提取因素,进行单因素实验和 $L_9(3^4)$ 正交实验,探讨紫薯中色素的提取工艺,考察了pH、温度、不同金属离子、氧化剂还原剂、不同的食品添加剂等因素对紫薯色素的稳定性的影响,并对紫薯色素的抗氧化性进行了研究。结果表明:紫薯色素在450nm处有最大吸收峰,用质量分数10%的柠檬酸溶液提取,温度为30℃,功率为75W,时间为15min,料液比为1:15时,紫薯色素的提取率达到较高值。此时,紫薯色素有较好的稳定性,且具有较强的抗氧化活性。

关键词:紫薯色素, 微波提取, 稳定性, 抗氧化性

Microwave extraction and stability of purple sweet potato pigment and antioxidant activity

YU Fan, YANG Heng-tuo, GE Ya-long, TIAN Guang-hui*

(School of Chemistry and Environmental Sciences, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China)

Abstract: The extraction and stability of the pigment of the purple sweet potato were studied. Microwave extraction method, select the proportion of solvent, time, temperature, solid-liquid ratio as the extraction of factors, single-factor experiments and $L_9(3^4)$ orthogonal experiment to explore the extraction process of the pigment in the purple sweet potato. The effect of pH, temperature, different metal ions, oxidizing agents reducing agent, the impact of different food additives and other factors on the stability of the pigment of the purple sweet potato, and purple sweet potato pigment oxidation resistance were studied. The result showed that: purple sweet potato pigments with maximum absorption peak at 450nm, the mass fraction of 10% citric acid solution, the temperature of 30℃, the power of 75W, time of 15min, solid to liquid ratio of 1:15, purple sweet potato pigment the extraction rate was higher, the pigment of the purple sweet potato better stability, and had a strong antioxidant activity.

Key words: purple sweet potato pigment; microwave extraction; stability; oxidation resistance

中图分类号:TS255.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2013)04-0322-05

紫薯(*Solanum tuberosum* L.)俗称紫山芋、黑薯,薯肉呈紫色至深紫色,煮熟后肉味紫黑色,故又叫“紫黑薯”,现已经在国内外广泛种植,有良好的经济效益,在国内外市场上十分走俏,应用和发展前景广阔。紫薯中营养成分丰富多样^[1-2],含有淀粉、蛋白质、粗脂肪、多糖^[3]、膳食纤维素,还含有多种维生素、胡萝卜素、色素^[4]、绿原酸以及钙、磷、铁等微量元素^[5]。紫薯色素是一种从紫薯中提取的水溶性紫红色素^[6],在紫薯的块根、茎、叶和薯皮含量都较高,属于天然花青类色素,该类色素清除自由基的能力是维生素C的20倍、维生素E的50倍,还具有强耐热性和耐光性,稳定性好,抗突变性强,对动物的肝功能阻碍具有缓

解作用^[6],是广泛应用的功能性食品添加剂和保健食品的好原料。紫薯花青素分子结构中含有多个酚羟基,生物活性显著,也已将紫薯色素应用于化妆品和纺织品染织中,由于天然色素安全可靠用途广泛,且种类繁多,不少天然色素兼有营养和药理作用,具有非常广阔的开发应用前景^[7]。目前提取紫薯色素已有微波或超声等方法的研究报道,但对紫薯色素的稳定性和抗氧化性的研究还尚少。本研究采用微波辅助提取紫薯色素,可以大幅度地提高紫薯色素的溶出率,简化提取操作步骤,节约溶剂,缩短生产周期,通过单因素实验和正交实验,确定紫薯色素最佳提取工艺,使紫薯中色素提取达到一个较高水平。对紫薯色素在常见氧化剂、还原剂、食品添加剂以及一些金属离子等存在下测试其稳定性,并进行了体外抗氧化实验,探讨其清除羟自由基•OH的能力,为紫薯色素天然色素的工业化提取及规模化生产提供理论依据。

收稿日期:2012-07-04 * 通讯联系人

作者简介:余凡(1990-),男,本科在读,研究方向:绿色食品化学。

基金项目:陕西理工学院2012年大学生创新实验项目(UIRP1131)。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

紫薯 收集于秦巴山区优质种植地基,漂洗干净,研碎,避光低温密封备用;柠檬酸、葡萄糖、蔗糖、氯化钠、甲酸钠、无水乙醇、双氧水、亚硫酸钠、明矾、维生素C、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 CaCl_2 、 Na_2SO_4 、 MgSO_4 、 K_2SO_4 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、邻二氮菲等试剂 均为国产分析纯,西安试剂厂;水 为超纯水。

UWave-1000型微波反应仪 上海新仪微波化学有限公司;UV-6300PC型紫外可见分光光度计 上海美谱达仪器有限公司;DOB-2003型光电分析天平 重庆实验设备厂;PHS-3C型数字显示酸度计 上海精密科学仪器有限公司雷磁厂;SHB-III型循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;101型电热鼓风干燥箱 北京科伟永兴仪器有限公司;HH-系列恒温水浴锅 河北省黄骅市渤海电器厂;800型离心机 上海磁极器材厂;LRH-250A型生化培养箱 广东省医疗器械厂。

1.2 实验方法

1.2.1 紫薯色素的提取 将紫薯洗净,切成小块在研钵中研碎,然后用电子天平准确称取1.5g,加入一定浓度的柠檬酸提取液,微波提取一定的时间,抽滤,再重复提一次,合并滤液并定容,在450nm处测其吸光度。

1.2.2 紫薯色素最大吸收峰的确定 用电子天平准确称取1.5g研碎的紫薯,加入15mL 5%的柠檬酸溶液,微波提取额15min,抽滤,滤渣再重复提取一次,再次抽滤,合并滤液并定容在50mL的容量瓶中,取15mL溶液稀释至100mL。然后取一定量的溶液放入1cm的比色皿中,在波长为300.00~700.00nm范围内进行扫描,测定吸光度,筛选最大吸收波长。

1.2.3 单因素实验

1.2.3.1 微波温度对紫薯色素提取的影响 在微波功率为100W、提取时间为15min、柠檬酸浓度为5%、料液比为1:10的条件下,温度依次为10、20、30、40、50、60℃下提取,测定其在最大吸收波长处的吸光度。

1.2.3.2 时间的影响 在微波功率为100W、温度为30℃、柠檬酸浓度为5%、料液比为1:10的条件下,时间将依次为3、6、9、12、15、18min下提取,测定其在最大吸收波长处的吸光度。

1.2.3.3 柠檬酸浓度对紫薯色素提取的影响 在微波功率为100W、温度为30℃、时间为15min、料液比为1:10的条件下,柠檬酸浓度将依次为0.5%、1%、5%、10%、15%下提取,测定其在最大吸收波长处的吸光度。

1.2.3.4 微波功率对紫薯色素提取的影响 在温度为30℃、柠檬酸浓度为5%、料液比为1:10、时间为15min的条件下,微波功率为25、50、75、100、125W下提取,测定其在最大吸收波长处的吸光度。

1.2.3.5 料液比对紫薯色素提取的影响 在微波功率为75W、温度为30℃、柠檬酸浓度为5%、时间为15min的条件下,料液比依次为1:5、1:10、1:15、1:20、1:25下提取,测定其在最大吸收波长处的吸光度。

1.2.4 正交实验的设计 在单因素实验中选取温度、时间、料液比、柠檬酸浓度4个影响较大的因素对紫薯色素提取率的影响进行考察,设计四因素三水平 $L_9(3^4)$ 的正交实验,寻求最佳提取工艺条件,正交实验设计如表1所示。

表1 正交实验因素表

Table 1 Factor level of orthogonal design

水平	因素			
	A 温度 (℃)	B 时间 (min)	C 柠檬酸浓度 (%)	D 料液比 (w:v)
1	20	12	1	1:5
2	30	15	5	1:10
3	40	18	10	1:15

1.2.5 紫薯色素的稳定性 选取正交实验中温度、时间、柠檬酸浓度、料液比的最优结果,进行提取,用50%的乙醇提取一定量的紫薯色素溶液,稀释至所需浓度备用。色素稳定性(用加入其他溶液后其溶液中色素保留率表示)的计算:色素保留率(%)=加其他溶液以后的吸光度/加蒸馏水的吸光度×100。

1.2.5.1 温度对紫薯色素稳定性的影响 取3mL紫薯色素溶液,加入7mL蒸馏水,分别在室温(25℃)、35、45、55、65、75℃下放置2h,测定其在450nm处的吸光度,并计算色素保留率。

1.2.5.2 食品添加剂对紫薯色素稳定性的影响 取3mL紫薯色素提取液,分别加入7mL 0.001、0.002、0.003mol/L的食盐、柠檬酸、葡萄糖、蔗糖、乙酸钠和 V_c 溶液,另取一支加7mL蒸馏水,室温下放置12h,分别测定其在450nm处的吸光度,计算色素保留率。

1.2.5.3 常见的饮料对紫薯色素稳定性的影响 取3mL紫薯色素提取液,分别加入7mL碳酸饮料、苏打水、矿泉水(均无色),另取一支加7mL蒸馏水室温下放置12h,分别测定其在450nm处的吸光度,计算色素保留率。

1.2.5.4 不同pH对紫薯色素稳定性的影响 取3mL紫薯色素提取液,分别加入7mL pH为3、4、5、6、7、8、9、10、11的溶液,另取一支加7mL蒸馏水,室温下放置4h,分别测定其在450nm处的吸光度,计算色素保留率。

1.2.5.5 氧化剂和还原剂对紫薯色素稳定性的影响 取3mL紫薯色素提取液,分别加入7mL浓度为1%、2%、3%的 H_2O_2 ,浓度为1%、2%、3%的 Na_2SO_3 溶液,另取一支加7mL蒸馏水,室温下放置4h,分别测定其在450nm处的吸光度,计算色素保留率。

1.2.5.6 常见的金属离子对紫薯色素稳定性的影响 取3mL紫薯色素提取液,分别加入7mL 0.001、0.002、0.003mol/L的只含有 Mg^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Fe^{2+} 的溶液,另取一支加7mL蒸馏水,室温下放置12h,分别测定其在450nm处的吸光度,计算色素保留率。

1.2.6 体外清除•OH作用的实验 体外抗氧化活性实验采用 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 体系法^[8-9]。将紫薯色素配成浓度为1.54mg/L的乙醇溶液,取8支试管分别加入0.75mmol/L

邻二氮菲溶液1mL、200mmol/L pH为7.4的PBS(Phosphate Buffered Saline混合磷酸盐缓冲剂)1.5mL,充分混匀后再加入0.75mmol/L FeSO₄ 1mL立即混匀,然后向8支试管分别加入不同梯度的紫薯色素溶液,混匀,最后向其中加入0.01%的H₂O₂ 1mL,摇匀。另2支分别为损伤管和未损伤管,这两支试管不加紫薯色素溶液,除0.01%的H₂O₂外依次加入与前面8只试管中等量的不同溶液,最后在损伤管中加入0.01%的H₂O₂ 1mL,未损伤管不加H₂O₂,对10支试管都以二次蒸馏水补充到相同的体积,将10支试管置于生化培养箱中,在37℃保温1h,测A₅₁₀值。重复三次取平均值。对•OH清除率计算公式为:

$$\cdot\text{OH} \text{清除率} (\%) = (A_2 - A_1) / (A_0 - A_1) \times 100$$

式中,A₀为未损伤管吸光度;A₁为损伤管吸光度;A₂为加入紫薯色素溶液的吸光度。

2 结果与讨论

2.1 紫薯色素最大吸收峰的确定

以紫薯色素吸收的波长为横坐标,以不同波长下的吸光度为纵坐标,在不同波长下的吸光度如图1所示,紫薯色素光谱吸收曲线图,紫薯色素最大吸收峰长为450nm。

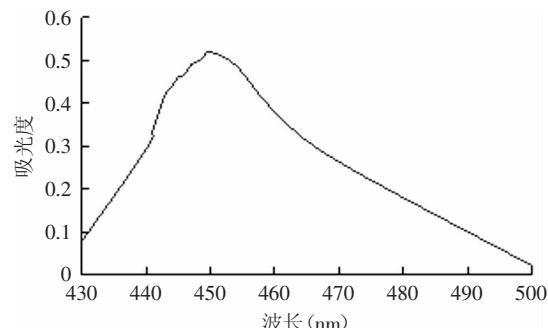


图1 紫薯色素的光谱吸收图

Fig.1 Purple sweet potato pigment spectral absorption in Figure

2.2 单因素实验

2.2.1 温度对紫薯色素提取的影响 如图2所示,表明紫薯色素在10~30℃时提取率(用吸光度表示,下文同)随温度升高而增大,在30℃时,紫薯色素的提取率最大,超过30℃提取率会随温度升高而降低,可能是由于微波温度过高将紫薯色素破坏了。所以从经济及提取率角度考虑,30℃的提取温度最佳。

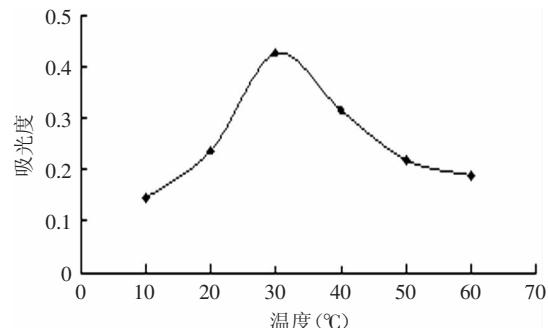


图2 不同温度对紫薯色素的提取的影响

Fig.2 The impact of different temperatures on the extraction of the pigment of the purple sweet potato

2.2.2 时间对紫薯色素提取的影响 如图3所示,微波时间对紫薯色素提取率随时间增大;在15min时,紫薯色素提取率达到最大;超过15min增幅不明显,18min时开始有小幅度的下降,可能原因是搅拌的时间过长,将紫薯色素中一些易碎物搅碎了。综合经济考虑,紫薯色素的最佳提取时间为15min。

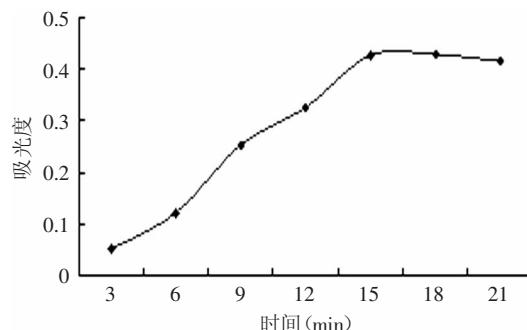


图3 不同时间对紫薯色素的提取的影响

Fig.3 Different time on the extraction of the pigment of the purple sweet potato

2.2.3 柠檬酸浓度对紫薯色素提取的影响 如图4所示,在柠檬酸浓度小于5%时,随着柠檬酸浓度的增大,紫薯色素的提取率有显著的提高,柠檬酸浓度为5%时,紫薯色素的提取率最大,但柠檬酸浓度超过5%时基本保持不变,从经济的角度考虑,紫薯色素提取时柠檬酸浓度在5%是最经济实惠的。

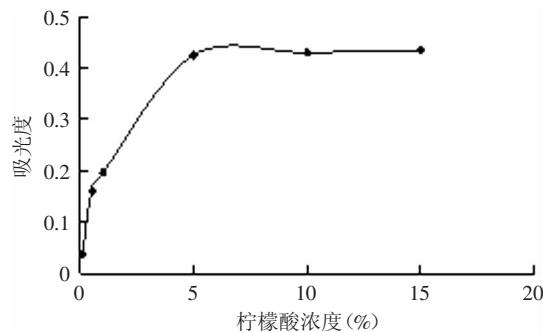


图4 不同的柠檬酸浓度对紫薯色素提取率的影响

Fig.4 Different concentrations of citric acid on the purple sweet potato pigment extraction

2.2.4 微波功率对紫薯色素提取的影响 如图5所示,微波功率小于75W时,紫薯色素的提取率随功率

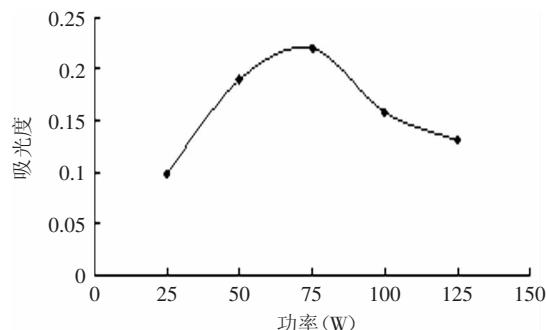


图5 不同的微波功率对紫薯色素提取率的影响

Fig.5 Different microwave power on the purple sweet potato pigment extraction

的升高而增大,75W时紫薯色素的提取率最大,但当功率超过75W时随着功率的升高紫薯色素的提取率会下降,原因可能微波功率过大对紫薯色素造成破坏。所以紫薯的最佳微波功率为75W。

2.2.5 料液比对紫薯色素提取的影响 如图6所示,当料液比在1:10左右时,紫薯色素提取率基本稳定,超过1:10基本保持不变,从经济角度考虑,最佳料液比为1:10。

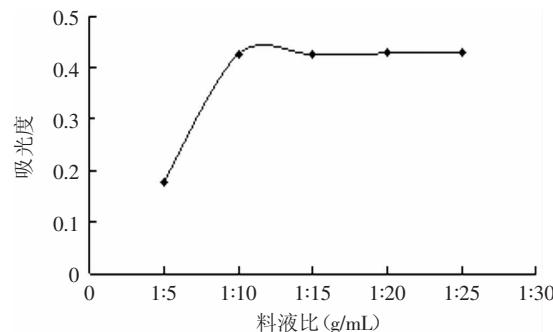


图6 不同的料液比对紫薯色素提取率的影响

Fig.6 The impact of different solid-liquid ratio of purple sweet potato pigment extraction

2.3 紫薯中色素提取的优化

将温度、时间、柠檬酸浓度、料液比四个因素各取三个水平,正交实验结果及分析如表2所示。

表2 正交实验结果与分析

Table 2 Results and analysis of orthogonal test

实验号	A	B	C	D	提取率 (以吸光度表示)
1	1	1	1	1	0.320
2	1	2	2	2	0.418
3	1	3	3	3	0.420
4	2	1	2	3	0.445
5	2	2	3	1	0.453
6	2	3	1	2	0.427
7	3	1	3	2	0.421
8	3	2	1	3	0.398
9	3	3	2	1	0.386
k_1	0.386	0.392	0.382	0.386	
k_2	0.442	0.423	0.416	0.419	
k_3	0.399	0.411	0.428	0.421	
R	0.056	0.031	0.046	0.335	

由表2直观分析可知,紫薯色素提取工艺的影响因素次序大小是D>A>C>B,由此可知适当的料液比对提取率的影响很大,其次是温度、柠檬酸浓度、时间;结合各因素k值可知紫薯色素的最佳提取条件是A₂B₂C₃D₃,即温度为30℃,时间为15min,柠檬酸浓度为10%,料液比为1:15,在最优条件下,经验证提取率为

表6 不同pH对紫薯色素稳定性的影响

Table 6 The impact of pH on the stability of the pigment of the purple sweet potato

pH	3	4	5	6	7	8	9	10	11
色素保留率(%)	120.6	115.5	114.2	112.3	97.83	98.20	99.74	90.23	85.09

(以吸光度表示)可高达0.462,均高于表2中其他组合的提取率,比普通浸提高(普通浸提为用蒸馏水室温浸提24h,吸光度为0.225)。

2.4 紫薯稳定性的影响

2.4.1 温度对紫薯色素稳定性的影响 如表3所示,可以看出紫薯色素在65℃以下稳定性较好,但在65℃以上稳定性会显著降低,因此其在保存和使用的过过程中应尽量避免高温。

表3 温度对紫薯色素稳定性的影响

Table 3 The influence of temperature on pigment stability of the purple sweet potato

温度(℃)	室温(25)	35	45	55	65	75
色素保留率(%)	98.72	94.23	90.50	89.71	85.09	73.89

2.4.2 食品添加剂对紫薯色素稳定性的影响 如表4所示,紫薯色素在食盐、柠檬酸、葡萄糖、蔗糖、乙酸钠、V_c溶液中都较稳定,因此,说明紫薯色素是一种极好的天然食品着色剂。

表4 食品添加剂对紫薯色素稳定性的影响

Table 4 The impact of food additives on the stability of the pigment of the purple sweet potato

浓度(mol/L)	食盐	柠檬酸	葡萄糖	蔗糖	乙酸钠	V _c
0.01	87.50	188.3	99.79	98.75	97.98	98.81
0.02	96.35	144.7	95.74	94.32	94.32	95.72
0.03	100	140.0	84.57	89.94	88.75	90.08

注:表中数据为色素保留率(%);表8同。

2.4.3 常见的饮料对紫薯色素稳定性的影响 如表5所示,可以看出常见的苏打水和矿泉水对紫薯色素的稳定性影响很小,但碳酸饮料对其影响有利。

表5 常见的饮料对紫薯色素稳定性的影响

Table 5 Common beverages on the stability of the pigment of the purple sweet potato

常见的饮料	蒸馏水	碳酸饮料	苏打水	矿泉水
色素保留率(%)	78.72	159.57	100.85	97.74

2.4.4 不同pH对紫薯色素稳定性的影响 如表6所示,紫薯色素在酸性条件下稳定性较好且在酸性条件下随pH的增大稳定性减小,在碱性条件下随pH的增大,稳定性先增大后减小。在实验中还观察到紫薯色素在酸性条件下呈红色,在中性条件下呈紫色,在碱性条件下呈蓝色。

2.4.5 氧化剂和还原剂对紫薯色素稳定性的影响 如表7所示,紫薯色素在有氧化剂存在的条件下极不稳定,可能已被氧化成其他物质,在有还原剂存在的条件下较稳定,所以,紫薯色素在使用的过程中应尽量避免与氧化剂一起使用,以防止其稳定性被破坏。

2.4.6 常见的金属离子对紫薯色素稳定性的影响 如表8所示,紫薯色素在Na⁺、Ca²⁺、Al³⁺的溶液中较稳

表7 氧化剂和还原剂对紫薯色素稳定性的影响

Table 7 Oxidizing and reducing agents on the stability of pigment of the purple sweet potato

试剂	H ₂ O ₂			Na ₂ SO ₃			蒸馏水
	1%	2%	3%	1%	2%	3%	
色素保留率(%)	140.43	225.53	380.85	99.35	89.36	82.98	98.85

表8 常见的金属离子对紫薯色素稳定性的影响

Table 8 Common metal ions on the stability of pigment of purple sweet potato

浓度(mol/L)	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Al ³⁺	Zn ²⁺	Mg ²⁺	Cu ²⁺	Mn ²⁺	Fe ²⁺	Fe ³⁺
0.01mol/L	98.94	120.3	99.75	98.20	130.0					
0.02mol/L	95.32	95.74	97.87	94.68	112.8	↓	↓	↓	↓	↓
0.03mol/L	74.47	82.98	93.62	90.56	103.2					

注: ↓表示有沉淀生成。

定,在有K⁺、Zn²⁺离子的溶液中会形成一种非沉淀的配合物,在Mg²⁺、Cu²⁺、Mn²⁺、Fe²⁺、Fe³⁺的溶液中会生成沉淀,所以在使用时应注意不要和这些离子混用。

2.5 紫薯色素体外清除·OH的作用

按照1.2.6的方法确定紫薯色素对·OH的清除作用,结果如图7所示,结果说明紫薯色素对H₂O₂/Fe²⁺体系通过Fenton反应产生的·OH有明显的清除作用,且随着加入量的增加清除率呈上升趋势,清除率和紫薯色素的用量存在一定的量效关系。羟基自由基是造成组织细胞损伤的主要活性氧之一,能引起膜过氧化,蛋白质交联变性,核酸损伤等,许多疾病如肿瘤、炎症、癌症、衰老、动脉硬化等的引发大多数和羟基自由基有关,紫薯色素对·OH有清除作用,是一种待开发且非常具有前景的天然保健色素。

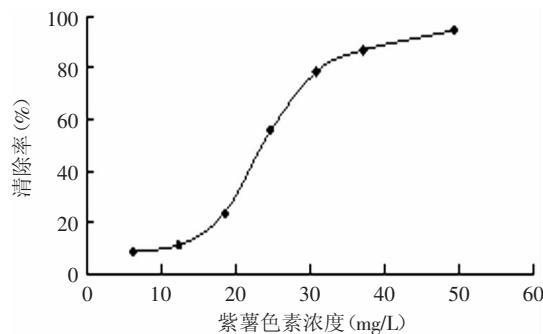


图7 紫薯色素体外清除·OH作用

Fig.7 Purple sweet potato pigment to clear the role of ·OH in vitro

3 结论

紫薯色素在提取过程中用10%的柠檬酸较好,对环境无危害,温度、柠檬酸浓度、料液比、时间、微波功率对紫薯色素提取率影响较大。紫薯色素的提取温度不宜太高,在常温下最好,也很节能,时间为15min,微波功率为75W时提取效果较好,较为绿色节能。紫薯色素在室温下较稳定,易保存,在一些常

见的食品添加剂和常见的饮料中也较稳定,是一种很好的天然食品着色剂,会有很好的市场;在酸性介质中较为稳定,而且呈现出鲜艳的红色,在碱性下也较稳定,颜色会随着介质酸碱性的改变而发生变化;和还原剂共存时也很稳定,但在氧化剂中易被氧化成其他物质;在Mg²⁺、Cu²⁺、Mn²⁺、Fe²⁺、Fe³⁺的溶液中会有沉淀生成,所以使用时应避免这些不利的因素。紫薯色素是一种待开发且具有前景的天然保健色素,在保健食品或饮品开发方面具有较大的应用空间,其具体的应用还需要进一步深入探讨。

参考文献

- [1] Alexander A T Johnson, Richard E Veilleux. Integration of transgenes into sexual polyploidization schemes for potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. *Euphytica*, 2003, 133 (1): 125–138.
- [2] K V Boris, N N Ryzhova, E Z Kochieva. Identification and characterization of intraspecific variability of the sucrose synthase gene *Sus4* of potato (*Solanum tuberosum*) [J]. *Russian Journal of Genetics*, 2011, 47(2): 168–175.
- [3] 姚惠伶,蒋林彬.超声波提取紫薯多糖的工艺优化[J].安徽农业科学,2011(14):8357–8358.
- [4] 万莹,杨青,谢鑫,等.膜技术用于紫薯花色苷色素分离纯化的工艺研究[J].中国食品添加剂,2012(2):86–89.
- [5] 邵兵.火焰原子吸收法测定紫薯中的微量元素[J].中国现代医生,2011(2):81–82.
- [6] 朱美娟,姚勇芳,韩雪钗,等.紫薯色素的提取及其稳定性研究[J].安徽农业科学,2009,7(36):17885–17887.
- [7] 田光辉,雷迎,贺磊,等.云芝紫薯色素的提取及其稳定性研究[J].食品工业科技,2011(8):343–345.
- [8] 刘存芳.三种真菌子实体脂溶性成分的研究[J].食品工业科技,2009,30(3):172–174.
- [9] 刘存芳.秦巴山区5种花挥发性物质抗氧化和抗菌活性研究[J].中国实验方剂学杂志,2011(3):103–107.

权威·核心·领先·实用·全面