

樟树果红色素的稳定性及抗氧化活性研究

褚衍亮, 王 娜

(江苏科技大学 生物与环境工程学院, 江苏 镇江 212018)

摘 要: 该试验研究了樟树果红色素的稳定性及抗氧化活性。结果表明:室内光线和紫外光对色素的稳定性影响较小,室外强光影响较大;色素适合在酸性条件下使用(pH 1~3);对热有一定的耐受性,在80℃以下稳定;大多数金属离子对色素影响较小,而 Fe^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Al^{3+} 对吸光度值和颜色影响较大;食品添加剂NaCl、蔗糖、苯甲酸钠和柠檬酸钠对色素无不良影响,但VC有明显的降色作用。樟树果红色素表现出一定的清除DPPH自由基、羟自由基、超氧阴离子自由基能力和还原能力,但清除DPPH自由基能力较强,清除羟自由基能力和还原能力均不如同浓度的VC。

关键词: 樟树;色素;稳定性;抗氧化活性

中图分类号: S 792.23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)12-0044-04

樟树[*Cinnamomum camphora* (L.) Presl.] 为樟树属常绿乔木植物,是我国特产珍贵用材和经济林树种,可制造香料、油脂、优质木材、工艺品、医药、日用化工品等^[1-2]。成熟樟树果呈亮黑色,含有丰富的天然色素,其色素属黄酮类花色苷化合物,具有亮丽的玫瑰红色,是良好的色素资源^[3-4]。由于大多数天然色素对光、热、pH及氧化剂的敏感性较高,在多数情况下,天然色素的成本远高于合成色素的成本,所以在天然色素的应用范围上受到一定的限制。该试验在前期提取方法和毒性研究^[5]的基础上对光照、酸碱、温度、金属离子及食品添加剂等对樟树果红色素稳定性的影响进行了进一步探讨,以期天然色素的应用提供理论参考。

第一作者简介: 褚衍亮(1976-),男,山东微山人,硕士,讲师,现从事生理生化研究工作。E-mail: biojustwn@126.com。

基金项目: 江苏省普通高校自然科学基金资助项目(08KJD180001)。

收稿日期: 2010-03-11

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 色素样品的制备 樟树成熟果于2008年10月采自江苏科技大学校园内,采回后洗净,自然晾干,果皮粉碎备用。取樟树果皮粉末,按1:30(W/V)比例加入pH 1的水溶液,水浴60℃提取40 min(间隙搅拌),过滤得红色澄清透明色素液。色素液和浓缩成的暗红色浸膏均在4℃冰箱中保存,备用。

1.1.2 仪器和试剂 主要仪器为日本导津UV-2450紫外可见分光光度计,HH系列恒温水浴锅,UV-9600紫外可见分光光度计,等。所用试剂均为国产分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 色素的稳定性 吸收光谱的测定:各取色素溶液和添加不同添加剂的色素溶液适量,经UV-2450波长扫描(400~700 nm),确定最大吸收波长(λ_{max})。光对色素稳定性的影响:取3份等量色素溶液,分别置于室内暗柜、室外太阳光和室内紫外光(功率15 W,照射距离30 cm)下,定时取样于525 nm处测定吸光度值,并观察颜

Effect of Different Types of Fertilizers on the Seedling of *Eustoma grandiflorum*

JIANG Yue-li¹, SHI Jin-lin²

(Yuxi Agricultural Vocational Technical College, Yuxi, Yunnan 653106)

Abstract: The experiment studied three kinds of different proportion of the fertilizer on the effect of platycodon floating culture of seedling system. The selection of three fertilizers showed that the tobacco seedling fertilizer of N:P:K=18-9-8 could shorten the seeding time, which was 78 days, 11 days earlier than CK(water). It had great impact on the stub height, leaf length, leaf width, taproot length, fibrous roots and root system, but had little impact on the number of true leaves.

Key words: *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.; fertilizer; seedling

色变化。温度对色素稳定性的影响: 取 4 份等量色素溶液, 分别放于 30、60、80、100℃的环境中, 定时取样于 525 nm 处测定吸光度值, 并观察颜色变化。pH 对色素稳定性的影响: 取 20 mL 色素母液, 加入 140 mL 蒸馏水, 将其稀释 8 倍。各取 10 mL 稀释后的色素溶液分装于 14 个试管中, 用 HCl 和 NaOH 调 pH 1~14, 调后再将各管色素溶液定容至 25 mL。定时取样作光程扫描, 记录最大吸光度值, 并观察颜色变化。金属离子对色素稳定性的影响: 取一价阳离子 (Na^+ 、 K^+)、二价阳离子 (Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Pb^{2+}) 和三价阳离子 (Fe^{3+} 、 Al^{3+}) 各适量, 配成 0.02 mol/L 的金属离子溶液。各取溶液 5 mL 分别加入 5 mL 色素溶液, 混匀后定时取样在 525 nm 处测定吸光度值, 并观察颜色变化。食品添加剂对色素稳定性的影响: 各取 2 mL 色素溶液分别添加到含 2 mL 不同浓度氯化钠、蔗糖、柠檬酸钠和苯甲酸钠的溶液中, 定时取样在 525 nm 处测定吸光度值, 并观察颜色变化。VC 对色素稳定性的影响: 各取 2 mL 色素溶液分别添加到含 2 mL 不同浓度的 VC 溶液中 (0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%), 定时取样测定吸光度值, 并观察颜色变化。

1.2.2 色素的抗氧化活性 清除 DPPH 能力的测定^[9]: 各取 2 mL 不同浓度的色素溶液于试管中, 再加入 2 mL 浓度为 0.04 mg/mL 的 DPPH 溶液, 混合均匀, 反应 20 min 后在 517 nm 处测其吸光值为 A_i ; 另各取 2 mL 上述浓度的色素溶液于试管中, 分别加入无水乙醇 2 mL, 反应 20 min 后在 517 nm 处测其吸光值为 A_j ; 以 2 mL 0.04 mg/mL DPPH 溶液和 2 mL 无水乙醇反应作参比, 其吸光值记为 A_0 。相同浓度梯度 VC 溶液代替色素溶液做同样处理, 作为对照。清除率 (%) = $[1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$ 。清除羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 能力的测定: 参照 Fenton 反应的方法建立反应体系模型^[7]。各取 2 mL 不同浓度的色素溶液, 依次加入 2 mL 6 mmol/L 的 FeSO_4 和 2 mL 6 mmol/L 的 H_2O_2 , 混合均匀后静置 10 min, 再加入 2 mL 6 mmol/L 的水杨酸, 混匀, 静置 30 min, 在 510 nm 处测其吸光值记为 A_i ; 用双蒸水代替水杨酸时的吸光度值记为 A_j 。空白对照组以双蒸水代替色素溶液, 吸光值为 A_0 。相同浓度梯度 VC 溶液代替色素溶液做同样的处理, 作为对照。清除率 (%) = $[1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$ 。还原能力的测定: 采用普鲁士蓝法测定^[8]。在 2.5 mL pH 6.6 的磷酸盐缓冲液中加入不同浓度色素溶液 1 mL、1% 铁氰化钾 2.5 mL, 混合物 50℃恒温 20 min 后, 再加 2.5 mL 10% 三氯乙酸 3 500 r/min 离心 10 min。取上清液加蒸馏水 2.5 mL 和 0.1% FeCl_3 0.5 mL, 700 nm 处测其吸光度值。吸光度值越高, 表明样品的还原力越强。用 VC 溶液作为对照。清除超氧阴离子自由基的测定: 采用邻苯三酚自氧化

法^[9]。取 0.05 mol/L pH 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液 4.5 mL, 置 25℃水浴预热 20 min 后, 再加入 0.1 mL 色素溶液和 0.4 mL 2.5 mmol/L 的邻苯三酚, 混匀后在 25℃水浴反应 4 min, 立即用 VC 溶液终止反应, 测 420 nm 处吸光度值。以蒸馏水代替色素溶液做空白组。清除率 = $(A_{\text{空白}} - A_{\text{样}}) / A_{\text{空白}} \times 100\%$ 。

2 结果与讨论

2.1 色素的稳定性

2.1.1 光对色素的影响 不同的光照对色素的影响如图 1 所示。随着光照时间的延长, 室内暗柜处和紫外光下, 吸光度值变化不大, 颜色基本无变化; 强光下, 吸光度值明显降低, 色素颜色变浅。说明弱光和紫外光对色素的影响较小, 强光对色素影响较大。

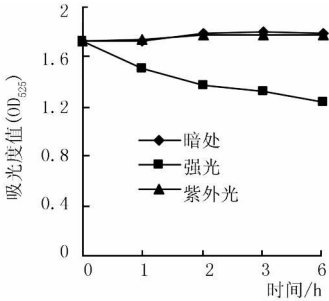


图1 光对色素的影响

2.1.2 色素的耐热性 温度对红色素的稳定性有一定的影响(表 1), 温度越高, 时间越长对色素的影响越大, 但在 80℃以内, 色素的耐热性较好。

表 1 温度对色素的影响

温度/℃	时间/h			
	0.5	2	3	6
30	1.555	1.551	1.556	1.552
60	1.669	1.644	1.641	1.639
80	1.556	1.551	1.551	1.541
100	1.586	1.433	1.392	1.321

2.1.3 色素的酸碱稳定性 不同 pH 值下的樟树果红色素外观颜色发生变化如表 2 所示。经 UV-2450 波长扫描, pH 1~3 时光谱曲线有最大吸收峰, pH ≥ 4 时, 吸收峰基本消失。这表明, 色素的分子结构随体系 pH 值不同而有所变化^[10]。随着 pH 值的升高, 色素的吸光度值下降。pH 1~3 时, 色素吸光度值下降幅度较小, 且随着时间的延长下降幅度增加。综合说明樟树果红色素在 pH 1~3 的酸性条件下, 外观红色较为稳定。

2.1.4 金属离子对色素稳定性的影响 金属离子对色素的影响如表 3 所示。 Fe^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 对樟树果红色素的外观颜色影响较大, 其它金属离子对色素的颜色影响较小。 Fe^{2+} 、 Pb^{2+} 对色素的吸光度值影响很大, 使色素的吸光度值大幅下降; Fe^{3+} 使色素的吸光度值上升, 有一定的增色作用。在实践中应避免与 Fe^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Fe^{3+} 接触; 其它离子随着时间的延长, 吸光度值有所下降, 但颜色变化不大, 影响较小。

表 2 pH 对色素的影响				
pH 值	颜色	λ_{\max} / nm	9 h 后的 λ_{\max} / nm	24 h 后的 λ_{\max} / nm
1	深红色	0.723	0.671	0.606
2	红色	0.44	0.405	0.373
3	粉红色	0.253	0.232	0.218
4	浅红			
5	浅红			
6	浅红			
7	浅红, 失光			
8	浅灰			
9	灰色			
10	深灰色			
11	浅墨绿色			
12	墨绿色			
13	墨绿色			
14	深墨绿色			

表 3 金属离子对色素的影响									
离子	一价阳离子		二价阳离子					三价阳离子	
	K ⁺	Na ⁺	Fe ²⁺	Ba ²⁺	Mg ²⁺	Zn ²⁺	Ca ²⁺	Pb ²⁺	Fe ³⁺
颜色	红色	红色	棕红色	红色	红色	红色	红色	蓝色	草绿色
0 h	0.80	0.809	1.327	0.869	0.911	0.825	0.933	1.185	1.108
1 h	0.762	0.759	0.886	0.819	0.796	0.789	0.807	0.563	1.167
3 h	0.726	0.717	0.472	0.809	0.789	0.788	0.803	0.193	1.195

表 4 氯化钠和蔗糖对色素稳定性的影响											
NaCl 浓度 / %	时间/ h					蔗糖浓度 / %	时间/ h				
	0	2	6	12	24		0	2	6	12	24
0	0.494	0.503	0.501	0.504	0.488	0	0.496	0.496	0.495	0.497	0.498
0.5	0.482	0.494	0.490	0.494	0.473	2.5	0.478	0.494	0.495	0.495	0.490
1	0.485	0.496	0.492	0.492	0.469	5	0.481	0.510	0.516	0.516	0.506
1.5	0.488	0.500	0.498	0.499	0.477	10	0.489	0.501	0.512	0.500	0.490
2	0.494	0.500	0.499	0.504	0.481	15	0.478	0.483	0.480	0.482	0.476
2.5	0.480	0.495	0.490	0.494	0.473	20	0.480	0.490	0.490	0.484	0.474

表 5 柠檬酸钠和苯甲酸钠对色素稳定性的影响											
柠檬酸钠 浓度 / %	时间/ h					苯甲酸钠 浓度 / %	时间/ h				
	0	2	6	12	24		0	2	6	12	24
0	0.496	0.496	0.495	0.497	0.498	0	0.496	0.496	0.495	0.497	0.498
0.02	0.507	0.533	0.533	0.540	0.526	0.1	0.476	0.486	0.488	0.492	0.486
0.05	0.474	0.487	0.488	0.492	0.486	0.5	0.445	0.452	0.454	0.458	0.453
0.1	0.475	0.486	0.487	0.491	0.481	1	0.109	0.121	0.124	0.126	0.116
0.5	0.226	0.230	0.227	0.228	0.216	1.5	0.104	0.113	0.116	0.116	0.107
1	0.099	0.113	0.112	0.116	0.105	2	0.105	0.110	0.112	0.114	0.104

表 6 VC 对色素稳定性的影响						
时间 h	浓度/ %					
	0	0.5	1	1.5	2	2.5
0	0.496	0.484	0.484	0.471	0.485	0.513
2	0.496	0.471	0.463	0.478	0.466	0.416
6	0.495	0.289	0.236	0.408	0.343	0.259
12	0.497	0.209	0.182	0.312	0.277	0.204
24	0.498	0.094	0.087	0.157	0.160	0.128
48	0.492	0.068	0.064	0.102	0.096	0.105

2.2 色素的抗氧化活性

2.2.1 清除 DPPH 自由基 色素清除 DPPH 自由基能力如图 2 所示。色素对 DPPH 的清除作用随色素浓度的升高而升高, 在浓度达到 0.6% 以后, 清除率达到 100% 不再发生变化。樟树果红色素对 DPPH 自由基的清除率明显高于同浓度 VC 的清除率。

2.2.2 清除羟自由基(·OH) 色素对羟自由基的清除作用随浓度的升高而升高, 浓度达到 1.2% 以后, 清除

2.1.5 食品添加剂对色素稳定性的影响 食品添加剂对色素稳定性的影响如表 4.5 所示。不同食品添加剂随着浓度的升高和时间的延长吸光度值先增加而后降低, 但变化较小, 颜色也基本无变化。说明樟树果红色素可以和 NaCl、蔗糖、苯甲酸钠和柠檬酸钠同时使用。

2.1.6 VC 对色素稳定性的影响 不同浓度 VC 对色素稳定性的影响如表 6 所示。随着时间的延长, 不添加 VC 的色素溶液吸光度值基本没有变化, 而添加 VC 的色素溶液均有不同程度的损失。说明 VC 对色素具有降色作用, 不能和色素同时使用。

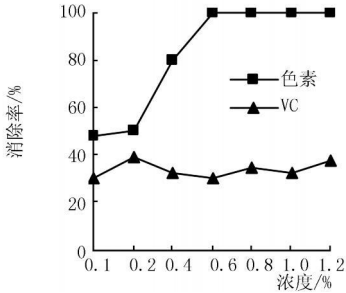


图 2 色素对 DPPH 自由基的清除能力

率基本不再发生变化, 为 77.6%。VC 浓度在 0.2% 以后对羟自由基的清除率达到 100% 不再发生变化(图 3)。VC 对羟自由基的清除作用比同浓度的樟树果红色素强。

2.2.3 还原能力的测定 色素的还原能力如图 4 所示。樟树果红色素的还原能力随色素浓度的升高而增加; VC

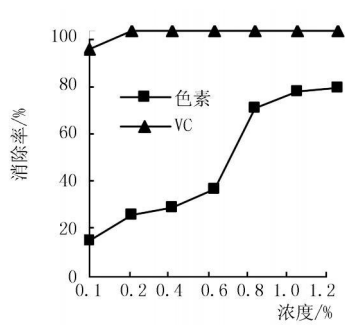


图3 色素对羟自由基的清除能力

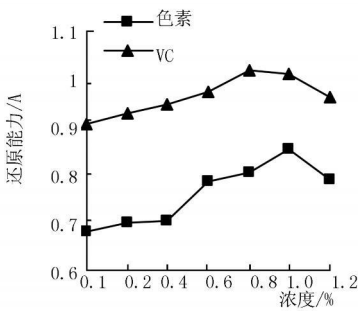


图4 色素的还原能力

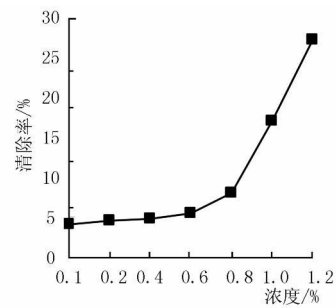


图5 色素对超氧阴离子的清除能力

的还原能力随浓度的增减变化不明显。VC 的还原性始终比同浓度的樟树果红色素强。

2.2.4 清除超氧阴离子自由基 色素对超氧阴离子自由基的清除能力如图 5 所示。樟树果红色素对超氧阴

离子自由基有一定的清除能力,在 1.2% 的浓度范围内樟树果红色素对超氧阴离子的清除率随浓度的增加而增加。

3 结论

樟树果红色素适合在酸性条件下使用 (pH 1 ~ 3); 对热有一定的耐受性,室内光线和紫外光对色素的影响较小,室外强光影响较大;大多数金属离子对色素影响较小,而 Fe^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Al^{3+} 对吸光度值和颜色影响较大,在生产中应避免接触;食品添加剂 NaCl、蔗糖、苯甲酸钠和柠檬酸钠对色素无不良影响,在食品中可以同时使用;VC 对色素有一定的影响,随着添加量的增加,作用时间的延长,色素损失越多。樟树果红色素属于黄酮类花色苷色素,表现出一定的清除 DPPH 自由基、羟自由基、超氧阴离子自由基能力和还原能力,但清除 DPPH 自由基能力较强,清除羟自由基能力和还原能力均不如同浓度的 VC。

参考文献

[1] 陈秀萍, 刘晓庚. 樟树叶红、绿色素的提取及性质研究 [J]. 江西化工, 2000(2): 19-24.
[2] 王春台, 刘学群. 樟树落叶棕黑色色素的稳定性及其应用 [J]. 中南民族学院学报(自然科学版), 1997, 16(1): 44-47.
[3] 蒋益龙. 樟树果红色素在不同环境条件下稳定性的研究 [J]. 食品科技, 2007, 32(7): 178-180.
[4] 周艳华, 文亦夫, 马美湖. 樟树果实红色素各单体的定性分析 [J]. 食品科技, 2008, 33(8): 161-164.
[5] 王娜, 褚衍亮, 汪君, 等. 樟树果红色素的提取及对果蝇的毒理性研究 [J]. 食品科技, 2009(11): 231-235.
[6] DeCker E A, Welch B L. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1990, 38(3): 674-677.
[7] 李贵荣, 杨胜圆. 党参多糖的提取及其对活性氧自由基的清除作用 [J]. 化学世界, 2001, 42(8): 421-422.
[8] 吕晓玲, 曹东旭, 张泽生, 等. 天然萝卜红色素的抗脂质过氧化功能 [J]. 食品科学, 2001, 22(5): 19-21.
[9] 赵云涛, 国兴明, 李付振. 金樱子多糖的抗氧化作用 [J]. 生物学杂志, 2003, 20(2): 23-24.
[10] 吴萍, 李奕仁. 桑椹花青素的研究进展及其应用前景 [J]. 中国蚕业, 2005, 26(2): 4-6.

Study on Stability and Antioxidative Activity of Red Pigment in Fruit of Camphor Tree

CHU Yan-liang, WANG Na

(College of Biological and Environmental Engineering, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang, Jiangsu 212018)

Abstract: The stability and antioxidative activity of red pigment in fruit of camphor tree were studied in this paper. The results showed that door natural light and ultraviolet ray had little effects but strong light had more outside. It could applied according to the condition of pH 1 ~ 3 and had good resistance to temperature that was low 80 °C. It was also found that NaCl, sucrose, sodium benzoate, sodium citrate and most of metal ions did not exert negative effects on the stability of red pigment, except Fe^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} and VC. The red pigment had the ability to eliminate DPPH free radical, hydroxyl radical, superoxide anion and restoring ability, but effect to DPPH free radical was strong and relatively weak to hydroxyl radical and restoring ability.

Key words: camphor tree; pigment; stability; antioxidative activity