

黑豆红色素光稳定性辅色剂的筛选

褚盼盼,吴姣姣,陈月桃

(吕梁学院,山西 吕梁 033000)

**摘要:**以黑豆红色素为试验材料,采用分光光度法,研究不同光照处理对黑豆红色素稳定性的影响,筛选有助于提高黑豆红色素光稳定性的辅色剂并确定其最佳添加量。结果表明:太阳光下照射4 h时黑豆红色素保存率最低。对辅色剂的筛选结果表明:柠檬酸、苹果酸、草酸、丙二酸、酒石酸、冰乙酸和乳酸均可以提高黑豆红色素对光的稳定性,最佳添加量分别为0.06%、0.06%、0.03%、0.05%、0.05%、0.10%、0.10%,色素保存率分别可达到103.19%、94.00%、111.88%、106.56%、103.73%、112.44%、102.04%。

**关键词:**黑豆红色素;辅色剂;色素保存率;光稳定性

**中图分类号:**TS202.3;S565.1      **文献标识码:**A      **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2017.01.0131

Screening of Photostability Complementary Color Agent in Black Beans Red Pigment

CHU Pan-pan, WU Jiao-jiao, CHEN Yue-tao

(Lyuliang University, Lyuliang 033000, China)

**Abstract:** In this study, we mainly studied the effect of different light processing on the stability of the black beans red pigment. Spectrophotometric method was used to screen the auxiliary agent which was helpful to improve the light stability of black beans red pigment and determine the best additive content. The results showed that beans red pigment preservation rate was the lowest processing under the sun black, through the selection of auxiliary reagent we could conclude that, citric acid, malic acid, oxalic acid, malonic acid, tartaric acid, ice acetic acid and lactic acid could improve the light stability of the black beans red pigment. The best addition amount was 0.06%, 0.06%, 0.03%, 0.05%, 0.05%, 0.10%, 0.10% respectively, pigment preservation rate reached 103.19%, 94.00%, 111.88%, 106.56%, 103.73%, 112.44% and 102.04%, respectively.

**Keywords:** Black beans red pigment; Complementary color agent; Preservation rate of pigment; Light stability

黑豆红色素从黑色大豆种皮中提取,是一种天然的、水溶性的、安全无毒的花青素苷类色素<sup>[1]</sup>,不仅提取工艺简单,还具有抗氧化<sup>[2]</sup>、抗菌<sup>[3]</sup>、降血糖<sup>[4]</sup>、抗动脉粥样硬化<sup>[5]</sup>、抗肥胖、降血脂<sup>[6]</sup>等重要功能。我国食品添加剂使用标准(GB2760-2014)中允许添加黑豆红色素(“黑豆红”)。黑豆红色素目前已被广泛应用于食品、医药、化妆品等领域。国内外很多学者<sup>[7-9]</sup>经大量研究证明,黑豆红色素对光极其不稳定,在光照条件下色素保存率明显下降,严重制约了该色素的进一步开发和应用。

辅色法<sup>[10-13]</sup>是提高天然植物色素稳定性的一种经济、实用的方法,某些食品添加剂如氨基酸、有机酸、生物碱、黄酮类等物质一般可以与色素通过非共价键(主要以氢键和疏水键为主)结合,产生分子间的共色效应,这种共色效应可以使色素本身的稳定性大大增加<sup>[14]</sup>,从而起到提高色素保存率,增强色素稳定性的效果。但目前市场上对辅色剂的使用并没有充分重视,大多数仅处于研究阶段,对黑豆红色素辅色剂的研究也尚未见报导。本试验

通过研究不同光照处理对黑豆红色素稳定性的影响,筛选可以提高黑豆红色素光稳定性的辅色剂并确定其最佳添加量,旨在明确在食品生产加工过程中如何通过合理使用辅色剂来提高黑豆红色素对光的稳定性,为合理的开发和利用植物天然色素奠定一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料 黑豆皮,市售。磨粉后过60目筛,采用超声波辅助法<sup>[3]</sup>提取得到黑豆红色素。

1.1.2 主要试剂与仪器 无水乙醇、苹果酸、冰醋酸、对羟基苯甲酸、丙二酸、L-缬氨酸、没食子酸、阿魏酸、酒石酸、草酸、乳酸、氯化钠、蔗糖、果糖、柠檬酸、葡萄糖等均为国产分析纯。D25-2F电动搅拌机(杭州仪表电机厂),HH-6数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),RE-52旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),SHB-III A循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司),UV-1601分光光度计(北京北分

瑞利分析仪器有限公司),Neofuge 13R 台式高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 不同光照处理对黑豆红色素稳定性的影响

将 50 mL 0.06% 的黑豆色素溶液分别置于 100 mL 的烧杯中,加盖(培养皿作盖子),分别放置于不同光照处理:(1)白炽灯下强光照处理及光照处理;(2)室内自然光照射;(3)室外太阳光照射。每隔 1 h 取一次样,连续取样 4 次,将蒸馏水作为参比,测量黑豆红色素在 510 nm 处的吸光度值 A,以未接受光照的色素溶液为吸光度值 B,各自的色素保存率计算公式:色素保存率(%)=(A/B)×100,选择保存率较低的光照处理及照射时间作为下一步辅色剂筛选的条件<sup>[10]</sup>。

1.2.2 黑豆红色素辅色剂的筛选 准备 16 个盛有 50 mL 0.06% 的黑豆红色素溶液的烧杯,分别加入不同种类的辅色剂(苹果酸、柠檬酸、冰醋酸、对羟基苯甲酸、丙二酸、L-缬氨酸、没食子酸、阿魏酸、酒石酸、草酸、乳酸、氯化钠、蔗糖、果糖、葡萄糖),添加量均为 0.04%,摇匀。

按照 1.2.1 试验结果进行光照处理,以蒸馏水为参比,测其在 510 nm 处的吸光度值 A,以未接受光照处理的 0.06% 的黑豆红色素水溶液为吸光度值 B,每组试验做 3 次重复,按 1.2.1 中公式计算各自的色素保存率,选择保存率较高的辅色剂进行后续试验。

1.2.3 不同辅色剂的添加量对提高黑豆红色素光稳定性的研究 辅色剂的添加量的设计参考国家标准 GB 2760-2014《食品添加剂使用标准》。

按照 1.2.2 试验结果选择具有较强增色或护色效果的不同辅色剂,加入至盛有 50 mL 0.06% 的黑豆红色素溶液的烧杯中,设置不同浓度梯度的辅色剂的添加量,摇匀。

按照 1.2.1 试验结果进行光照处理,以蒸馏水为参比,测其在 510 nm 处的吸光度值,为吸光度 A,以未接受光照处理的 0.06% 的黑豆红色素水溶液的吸光度为吸光度值 B,每组试验做 3 次重复,按 1.2.1 中公式计算各自的色素保存率,确定辅色剂的最佳添加量。

1.3 数据分析

所有试验数据及图表均在 Excel 2007 表格中进行分析处理,方差分析使用 SPSS 19.0 软件完成。

2 结果与分析

2.1 不同光照处理对黑豆红色素稳定性的影响

从图 1 可知,未添加辅色剂的黑豆红色素在不

同光照处理(室内光、白炽灯、太阳光)下,色素保存率均随着照射时间的延长而有所下降。这表明黑豆红色素对光不稳定,且照射时间越长,黑豆红色素保存率越低。黑豆红色素在室内光下照射 4 h,色素色调变化最小,保存率从 100% 下降到 91.18%;在白炽灯下照射 4 h,色素色调变化程度略大于室内光照,保存率从 100% 下降到 89.25%;在太阳光下照射 4 h,色素颜色变化比较明显,其颜色逐渐变淡,保存率从 100% 下降到 79.41%。在前提条件相同的情况下,黑豆红色素经太阳光照射后色素保存率最低,表明太阳光对黑豆红色素稳定性的影响最大。这可能与太阳光中的紫外线对黑豆红色素的破坏作用有关,所以下一步试验选择太阳光照射研究辅色剂对黑豆红色素光稳定性的影响。

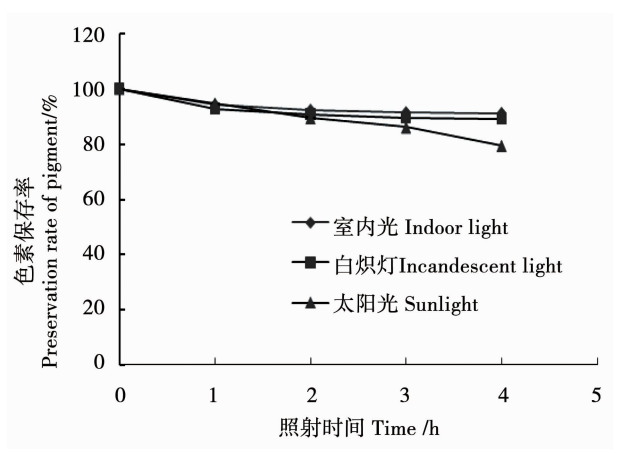


图 1 不同光照处理对黑豆红色素稳定性的影响  
Fig.1 The effect of different light processing on the stability of the black beans red pigment

主体间效应的检验结果如表 1 所示,时间和光的种类对色素保存率均没有显著影响( $P>0.05$ )。照射时间方差分析的 LSD 多重比较结果如表 2 所示,4 h 和 1 h 之间存在显著性差异( $P<0.05$ ),其它照射时间之间不存在显著性差异( $P>0.05$ )。从照射时间均值的差异上看,4 h 的均值差值均低于其它 3 个照射时间,说明照射 4 h 对黑豆红色素保存率的影响比其它照射时间大,所以选择照射 4 h 进行下一步试验研究。

光的种类方差分析的 LSD 多重比较结果如表 3 所示,不同种类的光照之间的  $P$  值均大于 0.05,说明不同光照处理之间均不存在显著性差异。从光的种类均值的差异上看,太阳光的均值差值低于其它两种光照,说明太阳光对黑豆红色素保存率的影响比其它种类的光照大,所以选择太阳光进行下一步试验研究。

表 1 不同光照处理对黑豆红色素稳定性影响的主体间效应检验

源	III 型平方和	DF	均方	F	P
The source	Type III sum of squares		MS		
校正模型 Correction model	133.41	5	26.68	3.11	0.10
截距 Intercept	97398.10	1	97398.10	11337.94	0.00
时间 Time	84.65	3	28.22	3.28	0.10
光的种类 The types of light	48.77	2	24.38	2.84	0.14
误差 Error	51.54	6	8.59		
总计 Total	97583.06	12			
校正的总计 Correction of a total	184.96	11			

表 2 对照射时间进行方差分析的 LSD 多个比较结果

Table 2 LSD multiple comparison results from the analysis of variance of the irradiation time

时间 Time(I)/h	时间 Time(J)/h	均值差值 MD(I-J)	标准误差 SD	P	95% 置信区间 95% confidence interval	
					下限	上限
					The lower limit	The upper limit
1	2	3.05	2.39	0.25	-2.80	8.91
	3	4.86	2.39	0.09	-0.99	10.72
	4	7.28	2.39	0.02	1.42	13.13
2	1	-3.05	2.39	0.25	-8.91	2.80
	3	1.81	2.39	0.48	-4.05	7.67
	4	4.22	2.39	0.13	-1.63	10.08
3	1	-4.86	2.39	0.09	-10.72	0.99
	2	-1.81	2.39	0.48	-7.67	4.05
	4	2.41	2.39	0.35	-3.44	8.27
4	1	-7.28	2.39	0.02	-13.13	-1.42
	2	-4.22	2.39	0.13	-10.08	1.63
	3	-2.41	2.39	0.35	-8.27	3.44

表 3 对光的种类方差分析的 LSD 多个比较结果

Table 3 LSD multiple comparison results from the analysis of variance of the light types

光的种类 The types of light(I)	光的种类 The types of light(J)	均值差值 MD(I-J)	标准误差 SD	P	95% 置信区间 95% confidence interval	
					下限	上限
					The lower limit	The upper limit
室内光 Indoor light	白炽灯 Incandescent light	1.70	2.07	0.44	-3.37	6.77
	太阳光 Sunlight	4.86	2.07	0.06	-0.21	9.94
白炽灯 Incandescent light	室内光 Indoor light	-1.70	2.07	0.44	-6.77	3.37
	太阳光 Sunlight	3.17	2.07	0.18	-1.91	8.24
太阳光 Sunlight	室内光 Indoor light	-4.86	2.07	0.06	-9.94	0.21
	白炽灯 Incandescent light	-3.17	2.07	0.18	-8.24	1.91

2.2 黑豆红色素辅色剂的筛选结果

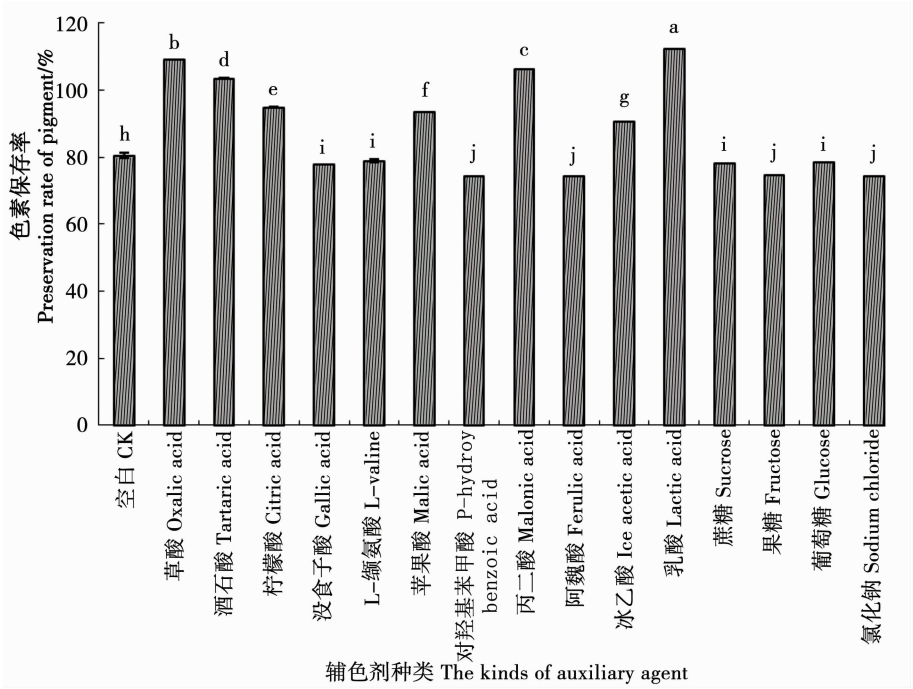
由图 2 可知,在试验剂量下,与空白相比吸光度值增大最多和保存率增幅最大的 7 种辅色剂依次为

柠檬酸、苹果酸、草酸、丙二酸、酒石酸、冰乙酸和乳酸。因此选择这 7 种试剂作为黑豆红色素辅色剂研究的下一步试验。

2.3 不同辅色剂的添加量对黑豆红色素光稳定性的影响

2.3.1 柠檬酸 由图3可知,柠檬酸的浓度在0~0.06%时,色素保存率逐步上升,柠檬酸的浓度高于

0.06%时,色素保存率逐步下降。说明0.06%的柠檬酸为最佳添加用量,经4h后,色素保存率为103.20%。



不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。  
Different letters mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same below.

图2 黑豆红色素辅色剂的筛选结果  
Fig.2 Screening results of black beans red pigment auxiliary reagent

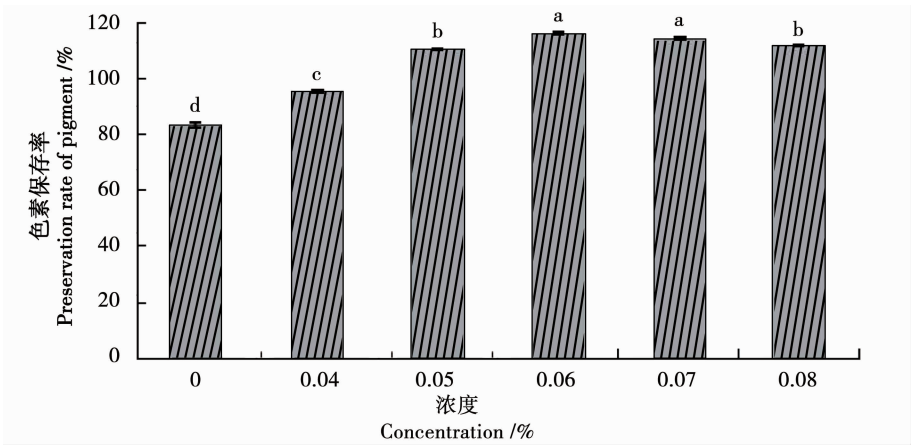


图3 不同柠檬酸添加量对黑豆红色素保存率的影响  
Fig.3 The influence of different citric acid content on the preservation rate of black beans red pigment

2.3.2 苹果酸 由图4可知,苹果酸的浓度在0~0.06%时,色素保存率逐步上升,苹果酸的浓度高于0.06%时,色素保存率逐步下降。说明0.06%的苹果酸为最佳添加用量,经4h后,色素保存率为94.00%。

2.3.3 草酸 由图5可知,草酸的浓度在0~0.03%时,色素保存率逐步上升,草酸的浓度高于

0.03%时,色素保存率逐步下降。说明0.03%的草酸为最佳添加用量,经4h后,色素保存率为111.88%。

2.3.4 丙二酸 由图6可知,丙二酸的浓度在0~0.05%时,色素保存率逐步上升,丙二酸的浓度高于0.05%时,色素保存率逐步下降。说明0.05%的丙二酸为最佳添加用量,经4h后,色素保存率为106.56%。

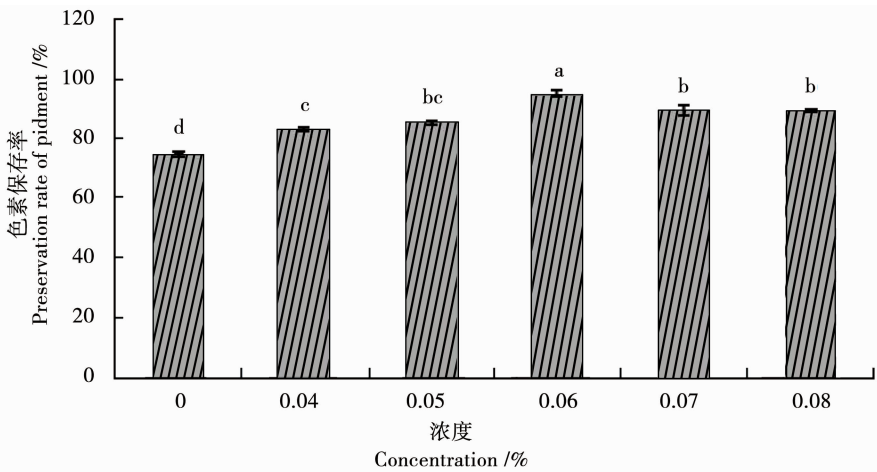


图 4 不同苹果酸添加量对黑豆红色素保存率的影响

Fig.4 The influence of different malic acid content on the preservation rate of black beans red pigment

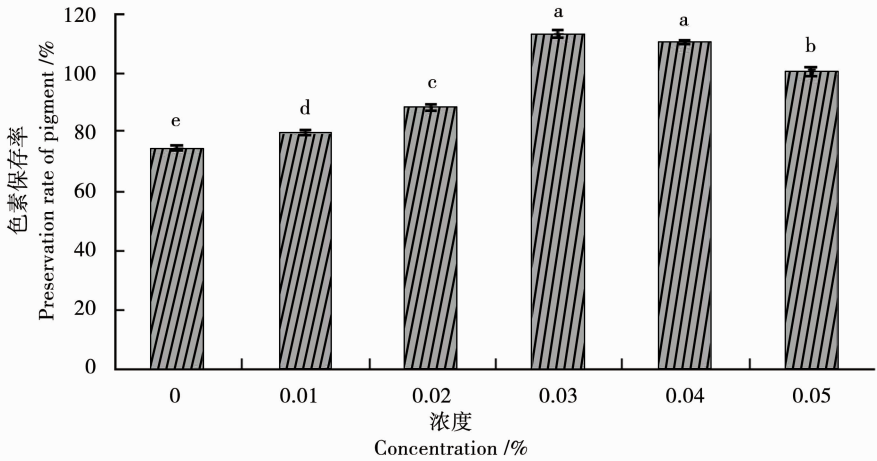


图 5 不同草酸添加量对黑豆红色素保存率的影响

Fig.5 The influence of different oxalic acid content on the preservation rate of black beans red pigment

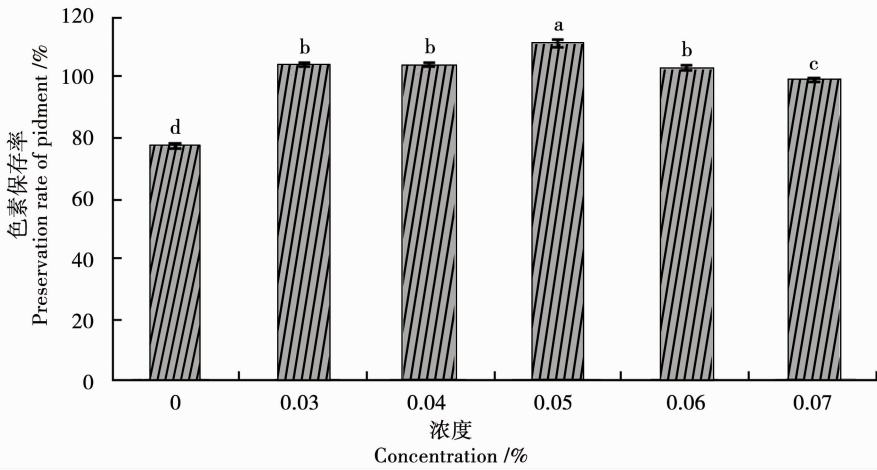


图 6 不同丙二酸添加量对黑豆红色素保存率的影响

Fig.6 The influence of different malonic acid content on the preservation rate of black beans red pigment

2.3.5 酒石酸 由图 7 可知,酒石酸的浓度在 0 ~ 0.05% 时,色素保存率逐步上升,酒石酸的浓度高于 0.05% 时,色素保存率逐步下降。说明 0.05% 的酒石酸为最佳添加用量,经 4 h 后,色素保存率为 103.73%。

2.3.6 冰乙酸 由图 8 可知,冰乙酸的浓度在 0 ~ 0.10% 时,色素保存率逐步上升,冰乙酸的浓度高于 0.10% 时,色素保存率逐步下降。说明 0.10% 的冰乙酸为最佳添加用量,经 4 h 后,色素保存率为 112.44%。



2.3.7 乳酸 由图 9 可知,乳酸的浓度在 0 ~ 0.10%时,色素保存率逐步上升,乳酸的浓度高于 0.10%时,色素保存率逐步下降。说明 0.10% 的乳

酸为最佳添加用量,经 4 h 后,色素保存率为 102.04%。

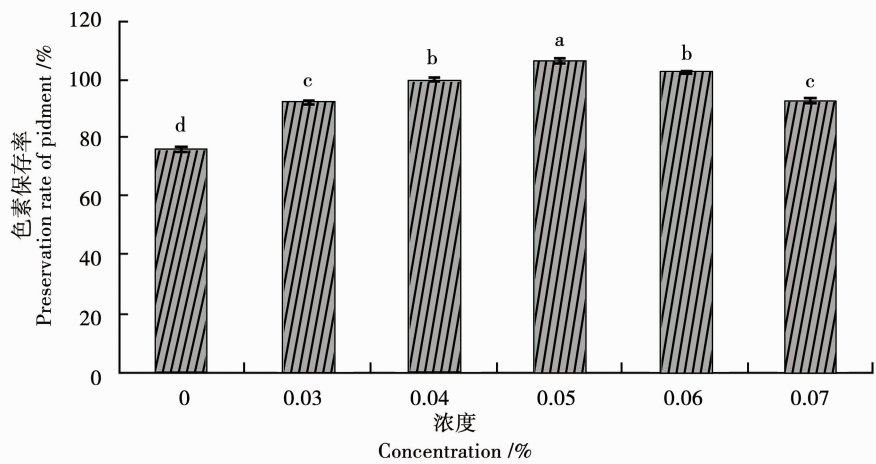


图 7 不同酒石酸添加量对黑豆红色素保存率的影响

Fig. 7 The influence of different tartaric acid content on the preservation rate of black beans red pigment

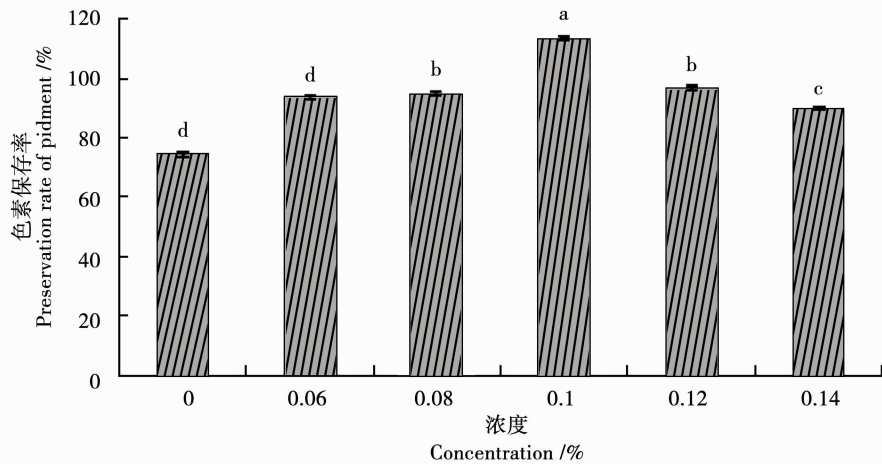


图 8 不同冰乙酸添加量对黑豆红色素保存率的影响

Fig. 8 The influence of different ice acetic acid content on the preservation rate of black beans red pigment

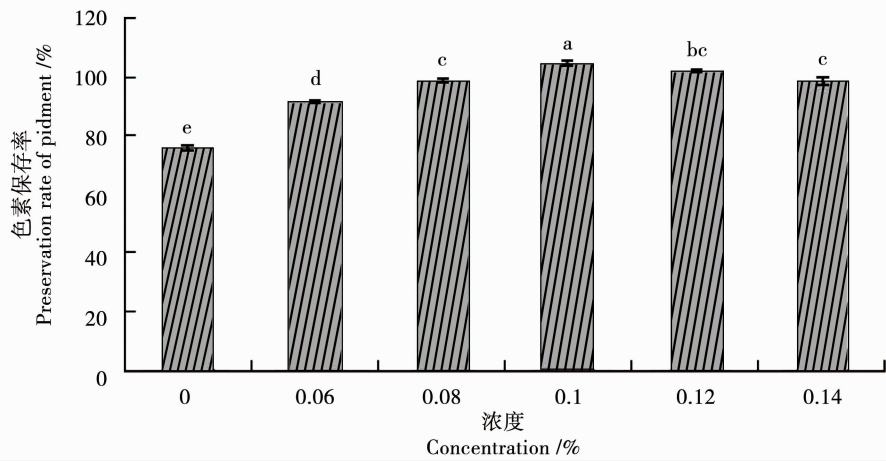


图 9 不同乳酸添加量对黑豆红色素保存率的影响

Fig. 9 The influence of different lactic acid content on the preservation rate of black beans red pigment

3 结论与讨论

近年来,天然色素的应用越来越受到重视。黑豆红色素是我国允许添加的天然食用色素,但该色素存在对光极其不稳定的特点,使其应用范围受到一定的限制。因此,在实际使用过程中首先要解决其在使用环境中稳定性的问题,陈玉等<sup>[15]</sup>研究黑豆皮红色素的提取工艺及稳定性,发现柠檬酸的加入对黑豆皮红色素有明显的增色作用,并且随着柠檬酸浓度的增加及时间的延长,增色效果越好。另外,孙晓侠等<sup>[11]</sup>对紫甘薯红色素稳定性的研究也证实,花色苷构型在柠檬酸环境下比较稳定。

本文对常用辅色剂进行筛选,试验结果表明:太阳光照射 4 h 时黑豆红色素保存率最低,添加柠檬酸、草酸、苹果酸、酒石酸、冰乙酸、丙二酸和乳酸的黑豆红色素溶液色素保存率较高,可以作为黑豆红色素的辅色剂使用。以上辅色剂大多数呈酸性,说明黑豆红色素在酸性环境下较为稳定。经研究,柠檬酸、苹果酸、草酸、丙二酸、酒石酸、冰乙酸和乳酸等辅色剂最佳添加量分别为 0.06%、0.06%、0.03%、0.05%、0.05%、0.10%、0.10%,色素保存率分别可达到 103.19%、94.00%、111.88%、106.56%、103.73%、112.44%、102.04%,均显著( $P<0.05$ )高于未添加辅色剂的色素保存率,说明加入这 7 种辅色剂均可以有效地提高黑豆红色素对光的稳定性。Jasmina 等<sup>[16]</sup>研究表明,辅色剂与花色苷的辅色反应是放热反应,可自发聚合起来产生分子间辅色作用。加入上述辅色剂后,色素保存率大多数超过了 100%,可能是黑豆红色素本身发生了缩合反应,或者是黑豆红色素与辅色剂在太阳光下发生了分子间的辅色效应<sup>[10]</sup>。其中,草酸和丙二酸在我国食品添加剂使用标准(GB2760-2014)中没有提及,所以不推荐使用。而柠檬酸、苹果酸、酒石酸、冰乙酸和乳酸是国标中允许添加的,使用安全,但规定仅可以作为酸度调节剂,而这 5 种食品添加剂可以显著提高黑豆红色素对光的稳定性,所以在生产过程中也可以作为黑豆红色素的辅色剂使用。

参考文献

[1] 王金亭. 天然黑豆红色素的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2010(3):171-174. (Wang J T. Advances on research of natural red pigment from black beans[J]. China Food Additives, 2010 (3):171-174. )

[2] Xu B J, Chang S K C. Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean, and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins, and isoflavones [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(18): 8365-8373.

[3] 褚盼盼, 靳泽荣, 乔元彪. 黑豆皮花青素不同提取方法及其体外抗菌活性研究[J]. 大豆科学, 2015, 34(4): 685-689.

(Chu P P, Jin Z R, Qiao Y B. Black soybean skin anthocyanin different extraction method and its antibacterial activity in vitro [J]. Soybean Science, 2015, 34(4): 685-689. )

[4] 张继曼. 黑豆红花色苷的优化提取及其降血糖作用的研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2010. (Zhang J M. The optimum and hypoglycemic effect of anthocyanins in black soybeans [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2010. )

[5] 张芳轩. 黑大豆种皮花色苷物质组成及其抗氧化活性与抗血管平滑肌细胞增生作用 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2010. (Zhang F X. Studies on anthocyanin composition and antioxidant activity of black soybean seed coat and its anti-proliferative effect of vascular smooth muscle cells [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010. )

[6] Kwon S H. Anti-obesity and hypolipidemic effects of black soybean anthocyanins[J]. Journal of Medicinal Food, 2007, 10(3): 552-556.

[7] 朱宏达, 张慧, 张美荣, 等. 黑豆红色素的提取工艺及其理化性质的研究[J]. 中国食品添加剂, 2009(1):86-90. (Zhu H D, Zhang H, Zhang M R, et al. The study of black bean red extracting from black soybean and its physical and chemical properties [J]. China Food Additives, 2009(1):86-90. )

[8] 杨卫民, 刘保琪, 李团霞, 等. 黑豆种皮中红色素的提取及稳定性研究[J]. 大豆科学, 2010, 29(4): 688-691. (Yang W M, Liu B Q, Li T X, et al. Extraction of red pigments from seed-coat of black soybean and its stability [J]. Soybean Science, 2010, 29(4): 688-691. )

[9] 崔蕊静, 李凤英, 李春华. 黑豆皮红色素提取及影响其稳定性因素分析[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(1): 48-51. (Cui R J, Li F Y, Li C H. Study on extraction of pnaeolus red pigment and the pigment stability [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2004, 19(1):48-51. )

[10] 蒋益花. 辅色剂对提高紫甘蓝红色素稳定性的研究[J]. 中国调味品, 2009, 34(3): 91-93. (Jiang Y H. Effects of co-pigments on enhancing stability of purple cabbage pigment [J]. China Condiment, 2009, 34(3):91-93. )

[11] 孙晓侠, 马龙, 王改玲, 等. 辅色剂提高紫甘薯红色素的稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2013(6): 330-333. (Sun X X, Ma L, Wang G L, et al. Effects of co-pigments on enhancing stability of red pigment from purple sweet potato [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013(6):330-333. )

[12] 赵辰辰, 吕晓玲, 梁宇航, 等. 辅色剂提高红米红色素稳定性研究[J]. 中国食品添加剂, 2014(7): 116-122. (Zhao C C, Lyu X L, Liang Y H, et al. Study on the copigmentation effect of auxiliary agent in improving the stability of red kernel color [J]. China Food Additives, 2014(7): 116-122. )

[13] Eva M H, Anja H, Heiko S, et al. Influence of acids, salt, sugars and hydrocolloids on the colour stability of anthocyanin rich black currant and elderberry concentrates[J]. European Food Research and Technology, 2006, 223(1):83-90.

[14] 王锋, 邓洁红, 谭兴和, 等. 花色苷及其共色作用研究进展 [J]. 食品科学, 2008, 29(2): 472-475. (Zhang F, Deng J H, Tian X H, et al. Research progress on anthocyanins and copigmentation [J]. Food Science, 2008, 29(2): 472-475. )

[15] 陈玉, 庄纯, 夏增务, 等. 黑豆皮红色素的提取工艺及稳定性研究[J]. 福建师大福清分校学报, 2012(5):69-77. (Chen Y, Zhuang C, Xia Z W, et al. Study on extraction and stability of red pigment from black bean [J]. Journal of Fuqing Branch of Fujian Normal University, 2012(5): 69-77. )