

水提紫甘薯色素废渣中花色苷及总黄酮生物活性的研究

吴志霜, 王瑞欣, 周建于, 王琦, 吴少雄, 潘红梅, 冯月梅, 王松梅, 张雪辉, 徐芳, 殷建忠
(昆明医科大学营养与食品研究所, 云南昆明 650500)

摘要: 本研究对水提紫甘薯色素剩余废渣中的花色苷和总黄酮进行生物活性研究和评价。采用滤纸片扩散法研究两种组分对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制作用; 选取 DPPH 体系评价抗氧化活性; 采用 MTT 法检测两种组分对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的抑制作用。结果显示: 水提紫甘薯色素废渣中花色苷和总黄酮均具有明显抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌生长、清除 DPPH 自由基及抵抗人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 生长的作用。花色苷和总黄酮对两种供试菌的最小抑菌浓度分别为 400 $\mu\text{g/mL}$ 和 4.0 mg/mL ; 花色苷对 DPPH 自由基的半数清除浓度 (IC_{50}) 为 42.32 $\mu\text{g/mL}$, 其对照 Vc 标准品 IC_{50} 为 44.65 $\mu\text{g/mL}$; 总黄酮对 DPPH 自由基的 IC_{50} 为 0.023 $\mu\text{g/mL}$, 其对照 Vc 标准品 IC_{50} 为 0.011 $\mu\text{g/mL}$; 花色苷作用于 MDA-MB-231 细胞 24、48、72 h 的 IC_{50} 值分别为 202.12、58.01、0.232 $\mu\text{g/mL}$; 总黄酮作用于 MDA-MB-231 细胞 24、48、72 h 的 IC_{50} 值分别为 0.42、12.05、12.11 mg/mL ; 本研究为水提紫甘薯色素废渣的综合利用提供了科学依据。

关键词: 水提紫甘薯色素废渣; 花色苷; 总黄酮; 生物活性

文章编号: 1673-9078(2015)7-123-129

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.021

Biological Activity of Anthocyanins and Total Flavonoids in Pigment

Extraction Residue from *Ipomoea batatas* L.

WU Zhi-shuang, WANG Rui-xin, ZHOU Jian-yu, WANG Qi, WU Shao-xiong, PAN Hong-mei, FENG Yue-mei,
WANG Song-mei, ZHANG Xue-hui, XU Fang, YIN Jian-zhong

(Research Institute of Nutrition and Food Science, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

Abstract: Anthocyanins and total flavonoids present in pigment extraction residue obtained from *Ipomoea batatas* L. were evaluated for their biological activity. Inhibitory effects on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were studied by filter paper diffusion, antioxidant activities were evaluated by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging ratio, and growth inhibition of human breast cancer cell line was determined by MTT assay. The results showed that proliferation of *E. coli*, *S. aureus*, and human breast cancer cell line, MDA-MB-231 was significantly inhibited, while significant DPPH radical-scavenging activity was also observed. The minimal inhibitory concentration (MIC) of anthocyanins and total flavonoids for *E. coli* and *S. aureus* was 400 and 4.0 mg/mL , respectively. Additionally, the values of half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) and standard control (Vc) for DPPH radicals were 42.32 and 44.65 $\mu\text{g/mL}$ for anthocyanins, and 0.023 and 0.011 $\mu\text{g/mL}$ for flavonoids, respectively. The IC_{50} for MDA-MB-231 within 24, 48, and 72 h were 202.12, 58.01, and 0.232 $\mu\text{g/mL}$ for anthocyanins, and 0.42, 12.05 and 12.11 mg/mL for flavonoids, respectively. These results demonstrate potential for value-added utilization of the residue after pigment extraction of *Ipomoea batatas* L.

Key words: pigment extraction residue of *Ipomoea batatas* L.; anthocyanins; total flavonoids; biological activities

紫甘薯(*Ipomoea batatas* L.)又称紫薯,薯肉呈紫至深紫色,为旋花科一年生草本植物,是一类优良特异

收稿日期: 2014-10-10

基金项目: 云南省科技计划项目(2008ZC107M); 云南公共卫生与疾病防控协同创新中心资助项目(2014YNPHXT07)

作者简介: 吴志霜(1975-),女,博士,研究方向: 食品化学与营养学

通讯作者: 殷建忠(1970-),男,教授,硕士生导师,研究方向: 云南特有食物资源研究与开发

的甘薯品种。除了具有普通甘薯的营养价值外,紫甘薯还具有抗癌变、改善肝机能以及缓解心血管疾病等多种保健功能^[1]。紫甘薯中的紫红色素含量高、色泽鲜艳、性质稳定,在食品、化妆品、医药等方面都具有较高的应用价值^[2-3]。目前,企业主要采用成本较低且安全性较高的柠檬酸水溶液提取生产紫甘薯色素,但企业面临的难题是提取色素后大量的废渣无法处理,大多只能以饲料低价出售。如何变废为宝、提高

紫甘薯色素生产废渣的利用价值,是值得研究的重要课题^[4]。

目前,随着人民生活水平的不断提高以及生活方式和节奏的转变,心脑血管病、癌症、糖尿病等慢性病成为危害人们健康的重要因素,越来越多的研究资料表明营养与膳食因素是预防和治疗这些疾病的重要手段。随着人们对健康的重视,营养、健康、并具有一定保健作用的食物将成为消费者追求的主流。相关研究表明,紫甘薯中花色苷、黄酮含量丰富,是其多种生理功效的主要活性成分^[1-5]。紫甘薯花色苷具有抗突变、缓解动物肝功能障碍、抗高血糖、调节血压、抗肿瘤等多种生物活性^[6-7]。而黄酮类化合物具有清除自由基、抗肿瘤、抗炎、预防心脑血管疾病、抑菌等多种生物活性^[8]。经过色素提取后的紫甘薯废渣食用安全^[9],营养成分丰富^[10],并具有通便作用等保健功能,在营养及保健食品等开发领域具有较好的前景^[11]。本研究对水提紫甘薯色素废渣中的花色苷、总黄酮提取纯化后,研究和评价两种组分的生物活性,为水提紫甘薯色素废渣保健功能的深入研究及其综合利用提供基础资料和科学依据。

1 材料与方法

1.1 原料

紫甘薯片由云南省玉溪市太和生物开发有限公司提供。水提紫甘薯色素废渣制备模拟工厂色素提取工艺,将紫甘薯片用 pH 3.0 的柠檬酸水溶液浸提色素后,经干燥、粉碎后过 100 目筛制得。

1.2 供试菌种、培养基及乳腺癌细胞

抑菌实验菌种为大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*),均为昆明医科大学提供。采用牛肉膏蛋白胨培养基:3 g 牛肉膏,10 g 蛋白胨,5 g NaCl,17 g 琼脂。

供试人乳腺癌细胞 MDA-MB-231,由昆明医科大学提供。

1.3 试剂和仪器

1.3.1 试剂

PBS 缓冲液:研域(上海)试剂有限公司; DPPH:美国 Sigma 公司;抗坏血酸:德国 Applichem 公司;胎牛血清:杭州四季青生物工程有限公司;青霉素、链霉素:哈药集团制药总厂; MTT (噻唑蓝):Sigma 公司;二甲基亚砜 (DMSO):北京化工厂; RPMI1640 培养基: Gibico 公司;芦丁标准品:中国药品生物制

品检定所;无水乙醇、NaOH、NaNO₂、Al(NO₃)₃、KCl、无水乙酸钠均为分析纯。

1.3.2 主要仪器和设备

722S 可见分光光度计; GZX-9070MBE 型数显鼓风干燥箱; SP060 隔水式电热培养箱; SW-CJ-2FD 洁净工作台; GI54TW-全自动立式高压灭菌锅; GL-16G-C 型高速冷冻离心机; 倒置荧光显微镜; 96 孔培养板; 酶标仪; SZ-93 自动双重纯水蒸馏器; CO₂ 细胞培养箱。

1.4 实验方法

1.4.1 水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮的提取、纯化

采用微波萃取法对水提紫甘薯色素废渣中的花色苷和总黄酮进行提取。花色苷的提取工艺为:5%甲酸为提取剂,提取时间 4 min, pH 值 1.5, 料液比 1:20, 微波功率 708 W, 提取 2 次。总黄酮的提取工艺为:体积分数 70% 乙醇为提取剂,提取时间 4 min, 微波功率 708 W, 料液比 1:40, 提取 2 次。花色苷和总黄酮提取液分别采用 AB-8 大孔吸附树脂进行 2 次纯化,两种纯化液分别采用旋转蒸发浓缩后,经冷冻干燥分别制得水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮的冻干粉。采用 pH 示差法^[12]对花色苷冻干粉中的花色苷进行定量,测得花色苷的含量为 91.37%。采用 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 比色法^[13]对总黄酮冻干粉中的总黄酮进行定量,测得总黄酮的含量为 94.79%。

1.4.2 水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮抑菌实验^[14-15]

1.4.2.1 菌种活化及菌悬液的制备

用划线法将供试菌种接种到牛肉膏蛋白胨斜面培养基上,每个菌种活化 2 支备用,在 37 °C 条件下培养 18~24 h。取 2~5 环活化菌种,放入无菌 PBS 缓冲液中,调配成 0.5 麦氏比浊标准的菌悬液,相当于 1.5×10⁸ CFU/mL。

1.4.2.2 抑菌活性测定—滤纸片扩散法

分别将水提紫甘薯色素废渣花色苷及总黄酮在无菌条件下用一定量灭菌水溶解。采用二倍稀释法,将花色苷配制质量浓度为 800、400、200、100、50 μg/mL 五个剂量水平,将总黄酮配制质量浓度为 8.0、4.0、2.0、1.0、0.5 mg/mL 五个剂量水平。将直径 6 mm 的圆形滤纸片于 121 °C 条件下干热灭菌 20 min,冷却。然后用各剂量水平的花色苷、总黄酮溶液以及灭菌水分别浸泡 24 h,在无菌条件下取出滤干备用。分别取 100 μL 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌菌悬液 (1.5×10⁸ CFU/mL) 加在平板表面,涂匀。然后用

无菌镊子夹取制备好的滤纸片,贴于含菌培养皿中,每皿等距离的放置4片,其中3片为相应剂量水平的样品,1片为阴性对照。每个样品重复2皿,倒置放于37℃培养箱中培养,24h后取出,测量抑菌圈直径。

1.4.2.3 最小抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)测定

分别将100 μL大肠杆菌、金黄色葡萄球菌菌悬液(1.5×10^8 CFU/mL)加入到用1.0 mL不同浓度的水提紫甘薯色素废渣花色苷或总黄酮溶液处理过的平板中,涂匀,同时设置阴性对照。置于37℃下培养24h后,取出观察细菌生长情况。以完全无菌生长的稀释液最低浓度为最小抑菌浓度(MIC);将水提紫甘薯色素废渣花色苷或总黄酮溶液浓度高于MIC(包括MIC)的各平板继续37℃下培养24h,观察细菌生长情况。以仍无菌生长的添加量为该提取液的最低杀菌浓度(MBC)。

1.4.3 水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮抗氧化实验^[16-17]

在预实验的基础上,采用二倍稀释法,将水提紫甘薯色素废渣花色苷纯品及其对照抗坏血酸(Vc)样品分别配制成质量浓度为800、400、200、100、50 μg/mL五个剂量水平,将水提紫甘薯色素废渣总黄酮纯品及其对照抗坏血酸(Vc)样品分别配制成质量浓度为8.0、4.0、2.0、1.0、0.5 mg/mL五个剂量水平。精确吸取各剂量水平的水提紫甘薯色素废渣花色苷或总黄酮溶液及对照Vc溶液各2 mL,分别与 2×10^{-4} mol/L的DPPH无水乙醇溶液2 mL混合,摇匀,静置30 min。以相对应的溶剂(2 mL双蒸水与2 mL无水乙醇的混合溶液)为对照,在517 nm处测定吸光值 A_i ;精确吸取各剂量水平的水提紫甘薯色素废渣花色苷或总黄酮溶液及对照Vc溶液各2 mL,分别与2 mL双蒸水混合均匀后,以双蒸水为对照,在517 nm处测定吸光值 A_j ;精确吸取 2×10^{-4} mol/L的DPPH无水乙醇溶液2 mL与2 mL双蒸水混合均匀后,以相对应的溶剂(2 mL双蒸水与2 mL无水乙醇的混合溶液)为对照,在517 nm处测定吸光值 A_c 。按下式计算清除率:

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100\%$$

根据清除率概率单位与浓度对数求出线性方程($y=ax+b$),再根据线性方程求出样品的半抑制浓度(IC₅₀)。

1.4.4 水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮对人乳腺癌细胞MDA-MB-231抑制作用的实验^[18-19]

采用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法进行实验。

将水提紫甘薯色素废渣花色苷或总黄酮用一定量灭菌水溶解。采用二倍稀释法,将花色苷用培养液配制成质量浓度为500、250、125、62.5、31.25 μg/mL五个剂量水平,将总黄酮用培养液配制成质量浓度为50、25、12.5、6.25、3.125 mg/mL五个剂量水平。

将人乳腺癌细胞MDA-MB-231培养于含10%胎牛血清、100 μg/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的RPMI1640培养基中,于37℃,5% CO₂,相对湿度为98%的培养箱中培养。取对数生长期的细胞以0.25%胰酶-PBS液充分消化后,以RPMI1640培养基稀释成 5.0×10^4 /mL单细胞悬液,接种于96孔细胞培养板,每孔100 μL。实验组分别加入花色苷或总黄酮各剂量水平溶液200 μL,对照组加入等体积的培养基。每个处理设置6个平行,37℃,5% CO₂条件下培养24 h、48 h、72 h后,小心弃所有孔中的培养液,用PBS清洗两遍。每孔重新加入200 μL新鲜的培养基及MTT 20 μL,继续培养4 h,小心弃孔内培养液,每孔加150 μL DMSO,100 r/min条件下振荡10 min,置酶标仪上于492 nm波长处测定各孔吸光度值(A),按下式计算抑制率。

$$\text{细胞生长抑制率} = (1 - \frac{A_{\text{实验组}}}{A_{\text{对照组}}}) \times 100\%$$

根据抑制率与浓度数,求出线性方程($y=ax+b$),再根据线性方程求出样品的半抑制浓度(IC₅₀)。

1.4.5 统计分析

实验数据采用SPSS17.0统计软件进行分析,并以 $\bar{x} \pm s$ 表示。通过 χ^2 检验对数据进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮的抑菌活性

2.1.1 水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮的抑菌能力

企业提取生产紫甘薯色素后仍残留一定量的花色苷于废渣中,这部分花色苷对紫甘薯废渣的功能活性有积极的作用。由图1、表1可知,水提紫甘薯色素废渣中花色苷对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有明显的抑菌作用,不同菌种间抑菌效果无统计学意义($P > 0.05$)。王关林等研究也报道了紫甘薯花青素作用大肠杆菌后,使菌体出现严重质壁分离,细胞质固缩并解体成空泡、细胞致死^[20]。韩永斌等^[14]的研究报道,紫甘薯花色苷的抑菌作用可能是通过增强细胞膜的通

透性,使细胞异常生长,抑制对数生长期的细胞分裂,使细胞质稀薄、解体,导致细胞死亡。同时这些研究者的研究结果中花色苷的抑菌效果与本实验有一定差异,这可能是因为在实验中的花色苷是从水提紫甘薯色素废渣中提取并纯化所得,水提取色素过程降低了紫甘薯废渣中花色苷的抑菌活性,也可能是花色苷提取、纯化过程的不同所致。本实验的研究结果也提示,以后工作中开展水提紫甘薯色素废渣花色苷对真菌、病毒等更多微生物抑制作用的研究是有意义的。

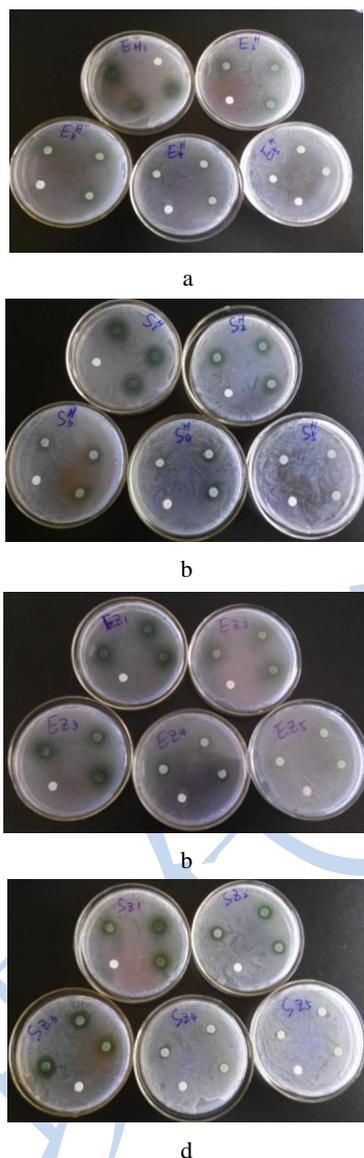


图1 水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮的抑菌效果

Fig.1 Antibacterial effect of anthocyanins and total flavonoids in pigment extraction residue of *Ipomoea batatas* L

注: a、b: 分别为花色苷对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑制效果; c、d: 分别为总黄酮对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑制效果。

由图1、表2可知,水提紫甘薯色素废渣总黄酮对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有明显的抑菌效果,

不同菌种间抑菌效果无统计学意义($P>0.05$)。钱建亚等研究者报道^[21]紫甘薯黄酮含量为252.8 mg/kg,是黄酮物质较为丰富的植物。紫甘薯黄酮化合物分子结构上较多的酚羟基会与蛋白质或酶通过氢键方式结合,破坏蛋白质分子结构而变性或失去活性,导致菌体细胞质的固缩和解体^[22]。

2.1.2 最小抑菌浓度(MIC)

水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮对细菌的抑制效果明显,最小抑菌浓度试验结果如表3所示,花色苷对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最低抑制浓度均为400 $\mu\text{g/mL}$,总黄酮对细菌对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最低抑制浓度均为4.0 mg/mL。

2.1.3 最低杀菌浓度(MBC)

将水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮溶液浓度高于MIC(包括MIC)的各平板继续培养24 h,发现各平板中均有少量细菌生长。说明水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮抑菌作用明显,但杀菌作用尚不明确。

2.2 水提紫甘薯色素废渣花色苷对DPPH自由基清除能力

由图2得知,在相同的浓度下,水提紫甘薯色素废渣花色苷溶液对DPPH自由基的清除能力稍高于Vc对DPPH自由基的清除能力,经 χ^2 检验,二者对DPPH自由基的清除能力无明显差异($P>0.05$)。在本实验浓度范围内水提紫甘薯色素废渣花色苷的浓度与其体外清除DPPH自由基的能力呈正相关。半数清除浓度(IC₅₀)分别为:紫甘薯废渣花色苷纯化物42.32 $\mu\text{g/mL}$,Vc标准品44.65 $\mu\text{g/mL}$ 。花色苷抗氧化的主要活性基团是分子中的酚羟基^[23],而紫甘薯红色素的主要化学组分为带有酰基的矢车菊苷和芍药苷,其结构中有多个酚羟基,是羟基供体,同时也是一种自由基清除剂。

黄酮化合物是一种天然的抗氧化剂,具有清除自由基的活性^[24]。黄酮化合物的抗氧化能力与其组分的分子结构有关,酚羟基位置对DPPH自由基的清除能力有主要影响。异黄酮清除DPPH自由基的活性弱于相应的黄酮,黄酮醇清除DPPH自由基的活性强于相应的双氢黄酮醇^[25],所以,不同来源的黄酮化合物不同分子结构的组分不同,具有不同的抗氧化能力。由图3可以看出,水提紫甘薯色素废渣总黄酮对DPPH自由基的清除率随质量浓度的增加而增大,并呈现明显的量效关系。在相同的浓度下,水提紫甘薯色素废渣总黄酮溶液对DPPH自由基的清除能力稍高于Vc

对 DPPH 自由基的清除能力, 经 χ^2 检验, 二者对 DPPH 自由基的清除能力无明显差异 ($P>0.05$)。IC₅₀ 分别为:

水提紫甘薯废渣总黄酮纯化物 0.023 $\mu\text{g/mL}$, Vc 标准品 0.011 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 1 水提紫甘薯色素废渣花色苷抑菌圈直径 (mm)

Table 1 Diameter of bacteriostatic zone for anthocyanins in pigment extraction residue of *Ipomoea batatas* L.

浓度/ $\mu\text{g/mL}$	800	400	200	100	50
大肠杆菌	15.37 \pm 1.10	12.13 \pm 0.31	10.07 \pm 0.49	9.97 \pm 1.04	8.57 \pm 0.32
金黄色葡萄球菌	15.83 \pm 0.55	13.20 \pm 0.46	12.43 \pm 0.51	9.93 \pm 0.42	8.87 \pm 0.21

表 2 水提紫甘薯色素废渣总黄酮抑菌圈直径 (mm)

Table 2 Diameter of bacteriostatic zone for total flavonoids in pigment extraction residue of *Ipomoea batatas* L.

浓度/ mg/mL	8.0	4.0	2.0	1.0	0.5
大肠杆菌	11.83 \pm 0.42	10.17 \pm 0.15	12.27 \pm 0.76	10.97 \pm 0.25	9.50 \pm 0.30
金黄色葡萄球菌	11.53 \pm 0.25	10.3 \pm 0.10	14.33 \pm 0.21	9.90 \pm 0.46	9.30 \pm 0.53

表 3 水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮的最小抑菌浓度 (MIC)

Table 3 MIC of anthocyanins in pigment extraction residue of *Ipomoea batatas* L.

浓度	花色苷/ $\mu\text{g/mL}$					总黄酮/ mg/mL				
	800	400	200	100	50	8.0	4.0	2.0	1.0	0.5
大肠杆菌	-	-	+	++	++	-	-	+	++	++
金黄色葡萄球菌	-	-	+	++	++	-	-	+	++	++

注: “-”为无菌生长; “+”为少量菌生长; “++”为大量菌生长。

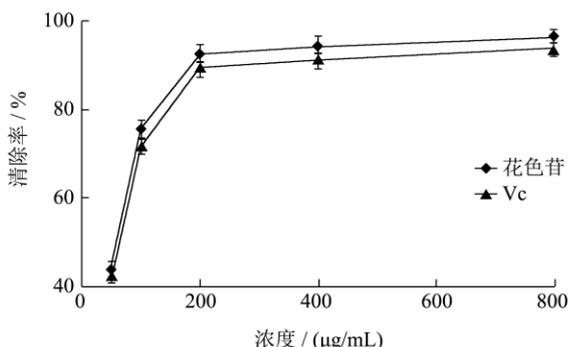


图 2 水提紫甘薯色素废渣花色苷对 DPPH 自由基的清除能力测定

Fig.2 DPPH free radical-scavenging activity of anthocyanins in pigment extraction residue of *Ipomoea batatas*

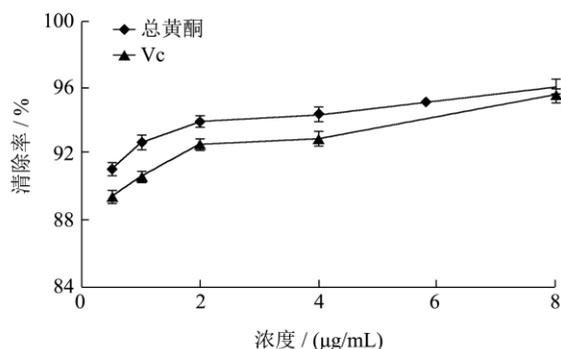


图 3 水提紫甘薯色素废渣总黄酮对 DPPH 自由基的清除能力
Fig.3 DPPH free radical-scavenging activity of total flavonoids in pigment extraction residue of *Ipomoea batatas* L.

本研究表明, 水提紫甘薯色素废渣中花色苷和总

黄酮具有显著的抗氧化活性。

2.3 水提紫甘薯色素废渣花色苷对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的抑制作用

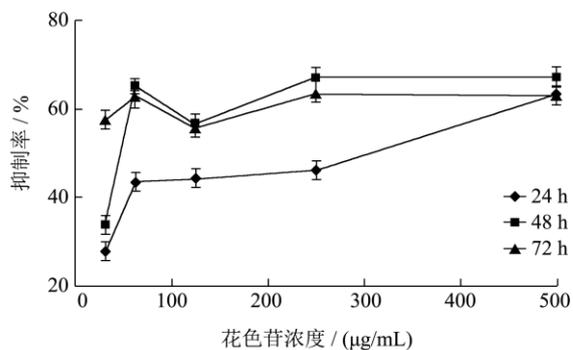


图 4 水提紫甘薯色素废渣花色苷对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的抑制作用

Fig.4 Inhibitory effect of anthocyanins in pigment extraction residue of *Ipomoea batatas* L on human breast cancer cell line MDA-MB-231

如图 4 所示, 水提紫甘薯色素废渣花色苷对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的生长有明显的抑制作用, 且抑制率随着剂量浓度增大而增大。以 31.25、62.5、125、250、500 $\mu\text{g/mL}$ 水提紫甘薯色素废渣花色苷作用于 MDA-MB-231 细胞 24 h 后, 抑制了细胞生长, 抑制率分别为 27.87%、43.53%、44.54%、46.06%、63.02%; 在培养 48 h 后, 抑制率达到 33.78%、64.53%、

56.35%、66.83%、66.99%；培养 72 h 后，维持在 57.62%、62.76%、55.62%、63.30%、62.98% 水平。24、48、72 h 的 IC_{50} 值分别为 202.12、58.01、0.232 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，抑制作用随着作用时间的延长而增大。与本研究结果类似的是：曹东旭等^[26]研究紫甘薯花色苷对人肝癌细胞 HepG2 的作用，发现低浓度紫甘薯花色苷促进细胞的生长，高浓度抑制细胞生长，其抑制作用随药物浓度的增大而增大，随着作用时间的延长而增大。在以后的研究中，可选择多株人乳腺癌细胞进行验证实验，并通过流式细胞凋亡分析、线粒体膜电位的激光扫描共聚焦显微镜观察等实验，对花色苷的作用机制进行深入的探讨。

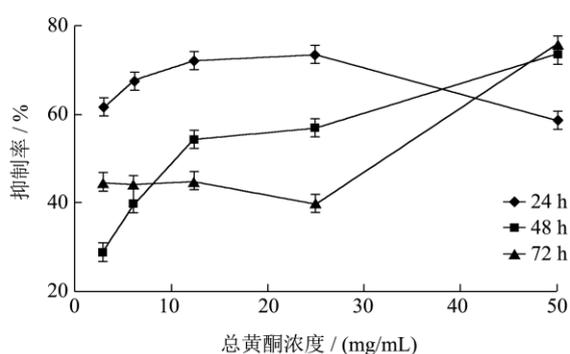


图 5 水提紫甘薯色素废渣总黄酮对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的抑制作用

Fig.5 Inhibitory effect of total flavonoids in pigment extraction residue of *Ipomoea batatas L* on human breast cancer cell line MDA-MB-231

如图 5 所示，水提紫甘薯色素废渣总黄酮对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的生长有明显的抑制作用。抑制作用随着剂量浓度增大呈增大的趋势。以 3.125、6.25、12.5、25、50 mg/mL 水提紫甘薯色素废渣花色苷作用于 MDA-MB-231 细胞 24 h 后，抑制了细胞生长，抑制率分别为 61.70%、67.55%、72.15%、73.52%、58.63%；在培养 48 h 后，抑制率为 28.82%、39.78%、54.01%、56.90%、73.29%；培养 72 h 后，维持在 44.76%、44.15%、44.88%、40.14%、75.61% 水平。24、48、72 h 的 IC_{50} 值分别为 0.42、12.05、12.11 mg/mL 。表明抑制作用随着作用时间的延长而稍减弱。这可能是由于随着细胞培养时间的延长，培养液的 pH 值有所改变，黄酮活性成分发生异构化所致。

3 结论

水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有明显的抑菌作用，花色苷和总黄酮对两种供试菌的最小抑菌浓度均分别为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 4.0 mg/mL ，但杀菌作用尚不明确；同时，

水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮都具有清除 DPPH 自由基的作用， IC_{50} 分别为：紫甘薯花色苷纯化物 IC_{50} 为 42.32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，花色苷对照 Vc 标准品 IC_{50} 为 44.65 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；紫甘薯总黄酮纯化物 IC_{50} 为 0.023 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，其对照 Vc 标准品 IC_{50} 为 0.011 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；水提紫甘薯色素废渣花色苷和总黄酮对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的生长均表现出明显的抑制作用，抑制率基本呈随着剂量浓度增大而增大的趋势，花色苷作用于 MDA-MB-231 细胞 24、48、72h 的 IC_{50} 值分别为 202.12、58.01、0.232 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。总黄酮作用于 MDA-MB-231 细胞 24、48、72 h 的 IC_{50} 值分别为 0.42、12.05、12.11 mg/mL 。水提紫甘薯色素废渣黄酮类化合物含量较高，同时残留一定量的花色苷，总黄酮及花色苷的抑菌、抗氧化、抗肿瘤作用明显，具有较高的生物活性。本研究为水提紫甘薯色素废渣在营养保健食品及生态动物饲料开发等领域的应用提供了科学依据。

参考文献

- [1] Suda I, Oki T, Masuda M, et al. Review physiological functionality of purple-fleshed sweetpotatoes containing anthocyanins and their utilization in foods [J]. Japan Agricultural Research Quarterly, 2003, 37(3): 167-173
- [2] 朱洪梅, 韩永斌, 顾振新, 等. 大孔树脂对紫甘薯色素的吸附与解吸特性研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(5): 153-156
ZHU Hong-mei, HAN Yong-bin, GU Zhen-xin, et al. Adsorption and desorption characteristics of macroporous resins to purple sweet potato pigments [J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(5): 153-156
- [3] 肖素荣, 李京东. 新型天然色素-紫甘薯色素[J]. 中国食物与营养, 2009, 6: 29-31
XIAO Su-rong, LI Jing-dong. A new kind of natural pigment of purple sweet potato pigment [J]. Food and Nutrition in China, 2009, 6: 29-31
- [4] 殷建忠, 王琦, 吴少雄, 等. 正交试验法优化水提紫甘薯色素废渣发酵酒工艺及模糊综合评判模型评价感官质量[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 131-134
YIN Jian-zhong, WANG Qi, WU Shao-xiong, et al. Orthogonal Array Optimization of Wine Fermentation from Purple Sweet Potato Residue after Pigment Extraction and Sensory Evaluation by Fuzzy Comprehensive Evaluation Model [J]. Food Science, 2011, 32(6): 131-134
- [5] 陆国权, 任韵, 唐忠厚, 等. 甘薯黄酮类物质的提取及其基因型差异研究[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2005, 31(5): 541-544

- LU Guo-quan, REN Yun, TANG Zhong-hou, et al. Flavonoid extraction and flavonoid content genotypic variation in sweet potato storage roots [J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences), 2005, 31(5): 541-544
- [6] Zhang Z F, Fan S H, Zheng Y L, et al. Purple sweet potato color attenuates oxidative stress and inflammatory response induced by D-galactose in mouse liver [J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(2): 496-501
- [7] 彭强,高彦祥,袁芳.紫甘薯及其花色苷的研究与开发进展[J].食品科学,2010,31(23):401-405
PENG Qiang, GAO Yan-xiang, YUAN Fang. Research Progress on Purple Sweet Potato and Its Anthocyanins [J]. Food Science, 2010, 31(23): 401-405
- [8] 黄富远,高明,楼云雁.黄酮类化合物的研究概况[J].中华中医药学刊,2007,25(8):1730-1732
HUANG Fu-yuan, GAO Ming, LOU Yun-yan. Survey from the Researches on Flavonoid [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2007, 25(8): 1730-1732
- [9] 张雪辉,徐芳,殷建忠,等.紫甘薯废渣的食用安全性评价[J].现代食品科技,2011,27(4):476-478
ZHANG Xue-hui, XU Fang, YIN Jian-zhong, et al. Food Safety Evaluation of Waste Residue of Ipomoea batatas L. after Pigment Extraction [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(4): 476-478
- [10] 杨解顺,王琦,吴少雄,等.水提紫甘薯色素废渣营养成分分析与评价[J].现代食品科技,2010,26(5):551-553
YANG Jie-shun, WANG Qi, WU Shao-xiong, et al. Analysis and Evaluation on Nutritional Components of Ipomoea batatas L. Residue after Pigment Extraction [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(5): 551-553
- [11] 起德丽,王琦,殷建忠,等.水提紫甘薯色素废渣促进小鼠通便作用的研究[J].现代食品科技,2013,29(1):59-62,67
QI De-li, WANG Qi, YIN Jian-zhong, et al. Study on the Effect of Catharsis Function of Waste Residue from Extracting Pigment of Ipomoea batatas L. in Mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(1): 59-62, 67
- [12] 范辉.紫甘薯色素纯化及其对糖尿病鼠的抗氧化作用[D].天津:天津科技大学硕士论文,2009
FAN Hui. Purification and Anthocyanins from Purple Sweet Potato and its antioxidant effects on diabetic rats [D]. Dissertation of master degree of Tianjin University of Science & Technology, 2009
- [13] 高丽威,李向荣.微波萃取法提取紫心甘薯总黄酮及其抗氧化活性研究[J].浙江大学学报:理学版,2009,36(5):571-574
GAO Li-wei, LI Xiang-rong. Study on microwave-assisted extraction and anti-oxidation activity of flavonoids from purple sweet potato [J]. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2009, 36(5): 571-574
- [14] 韩永斌,朱红梅,顾振新,等.紫甘薯花色苷色素抑制金黄色葡萄球菌作用初探[J].食品科学,2008,29(10):59-62
HAN Yong-bin, ZHU Hong-mei, GU Zhen-xin, et al. Preliminary Study on Inhibitory Effect of Anthocyanins from Purple Sweet Potato Against Staph. aureus [J]. Food Science, 2008, 29(10): 59-62
- [15] 高莹.紫甘薯叶多糖和黄酮的提取及抑菌作用研究[D].天津商业大学硕士学位论文,2007
GAO Ying. The Research on Extraction Technology of polysaccharide and flavonoids from Sweet Potato Leaves and Its Bacteriostasis [D]. Dissertation of master degree of Tianjin University of commerce, 2007
- [16] 高海峰.白皮锦鸡儿黄酮及其抗菌和抗氧化活性[D].石河子大学硕士学位论文,2011
Gao Hai-feng. Flavonoids from Cercargana leccophloea and Their Antimicrobial and Antioxidant Activities [D]. Dissertation of master degree of Shihezi University, 2011
- [17] Yang Z D, Zhai W W. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (zea mays L.) [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010(11): 169-176
- [18] Sun C D, Zheng Y X, Chen Q J, et al. Purification and anti-tumor activity of cyanidin-3-O-glucoside from Chinese bayberry fruit [J]. Food Chemistry. 2012. 131(4): 1287-1294
- [19] 王湛.桑葚花色苷的提取及其抗乳腺癌作用研究[D].第三军医大学硕士学位论文,2011
WANG Zhan. Study of Anthocyanin-Rich Extract from Mulberry Fruit and Its Anti-Cancer Effect Against Breast Cancer [D]. Dissertation of master degree of Third Military Medical University, 2011
- [20] 王关林,岳静,李洪艳,等.甘薯花青素的提取及其抑菌效果分析[J].中国农业科学,2005,38(11):2321-2326
WANG Guan-lin, YUE Jing, LI Hong-yan, et al. Extraction of Anthocyanin from Sweet potato by Macroporous Resin and Its Bacteriostatic Mechanism [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(11): 2321-2326.
- [21] 钱建亚,刘栋,李彩,等.甘薯紫色素性质研究[J].食品科学,2003,24(9):38-41
QIAN Jian-ya, LIU Dong, LI Cai, et al. Study on properties of purple sweet potato pigment [J]. Food Science, 2003, 24(9):38-41
- [22] Shi Z U, Bassa I A, Gabriel S L, et al. Anthocyanin pigments

- of sweet potato[J]. Food Science,1992,57(3):755-757
- [23] 胡林子,马永全,于新.紫甘薯色素抗菌与抗氧化作用研究进展[J]. 食品工业科技,2011,32(2):389-392
- HU Lin-zi, MA Yong-quan, YU Xin. Research development of antioxidant and antimicrobial effect of purple sweet potato pigment [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(2): 389-392
- [24] Julia P, Johanna D. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity [J]. Nutrition Research, 1998, 18(12): 1995-2018
- [25] 黄富远,高明,楼云雁.黄酮类化合物的研究概况[J].中华中医药学刊,2007,25(8):1730-1732
- HUANG Fu-yuan, GAO Min, LOU Yun-yan. Survey from the Researches on Flavonoid [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2007, 25(8): 1730-1732
- [26] 曹东旭,董海叶,李妍,等.紫甘薯花色苷对人肝癌细胞 HepG2 的作用[J].天津科技大学学报,2011,26(2):9-12
- CAO Dong-xu, DONG Hai-yue, LI Yan, et al. Effect of Purple Sweet Potato Anthocyanin on Human Liver Cancer HepG2 Cells [J]. Journal of Tianjin University of Science & Technology, 2011, 26(2):9-12