

# 热处理对红肉火龙果色素稳定性及其清除羟基自由基能力的影响

胡坤, 邢锐伟, 黎景恒, 陈冠林

(广东药学院食品科学学院, 广东中山 528458)

**摘要:** 本文研究了异维生素 C、柠檬酸、六偏磷酸钠对火龙果色素热稳定性的影响及热处理后火龙果色素清除羟基自由基能力的变化。研究发现异维生素 C 和柠檬酸对保护火龙果色素在热处理时的色素损失方面作用有限, 而六偏磷酸钠能有效的抑制热处理造成的色素损失。pH 3~6 时,  $\beta$ -花青素 (Betacyanins) 清除羟基自由基的能力比较稳定, 而 pH 2 时下降。90 °C 热处理 10 min 使色素清除羟基自由基能力下降 50% 以上, 且 pH 越低, 清除羟基自由基的能力越弱。 $\beta$ -花青素的稳定性与其清除羟基自由基能力之间有直接的相关性。

**关键词:** 火龙果色素; 羟基自由基;  $\beta$ -花青素

文章编号: 1673-9078(2012)8-945-948

## Effects of Heat Treatment on Stability and Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Red Pitaya Pigment

HU Kun, XING Rui-wei, LI Jing-heng, CHEN Guan-lin

(Food Science School, Guangdong Pharmaceutical University, Zhongshan 528458, China)

**Abstract:** The effects of isoascorbic acid, citric acid, and sodium hexametaphosphate on heat stability and hydroxyl radical scavenging activity of red pitaya pigment were studied and the results showed that isoascorbic acid and citric acid were not efficient in protecting pigment from heat degrading, while sodium hexametaphosphate can effectively inhibit pigment from decoloring during heat treatment. The hydroxyl radical scavenging activity of betacyanins was relative stable at pH 3.0~6.0, but decreases at pH 2.0. Heat treatment of the pigment at 90 °C for 10 min remarkably reduced its radical scavenging activity up to 50% and this reducing effect increased with decreasing pH. The results also showed that there was some dependence between the heat degrading stability and hydroxyl radical scavenging activity of the pigment.

**Key words:** red pitaya pigment; hydroxyl radical; betacyanins

火龙果 (pitaya) 俗称红龙果、仙人果等, 是仙人掌科量天尺属 (*Hylocereus undatus cv. viet nam*) 植物的果实, 红肉火龙果果皮和果肉中含有丰富的甜菜红素 (Betalains), 该色素一种水溶性的含氮类化合物, 可分为 $\beta$ -花青素和甜菜黄素 (Betaxanthins), 而 $\beta$ -花青素为其主要的成分, 其最大吸收波长在 535~538 nm。目前商业化的甜菜红素是从甜菜根中提取得来, 但这种来源的色素有土臭味、含有吡嗪及能形成亚硝胺的硝酸盐等物质<sup>[1]</sup>。因此从火龙果中提取甜菜红色素具有广阔的市场前景。

近年来, 火龙果的开发利用在国际上越来越受到重视, 火龙果甜菜红素的组成<sup>[2,3]</sup>、理化性质<sup>[4]</sup>、影响色素稳定性的因素 (温度、pH、金属离子等)<sup>[5,6]</sup>、色素的

生物活性等已有报道<sup>[1]</sup>。有研究发现, 向果肉原汁中添加抗坏血酸、异抗坏血酸、柠檬酸能增加果汁贮藏时色素的稳定性<sup>[7,8]</sup>。但对加热时色素的稳定性影响还没有深入的研究。在生物活性方面, 已发现 $\beta$ -花青素具有很强的抗氧化和清除自由基能力, 抑制黑色素瘤细胞、革兰阳性菌、革兰阴性菌、酵母菌以及霉菌的生长等生物活性<sup>[9,10]</sup>, 有关热处理后色素生物活性的变化也鲜有报道。

因此, 本文拟研究异抗坏血酸、柠檬酸、六偏磷酸钠对火龙果色素热稳定性的影响及热处理与色素清除羟基自由基能力的变化, 以期获得保护色素热损失的方法及揭示色素热稳定性与羟基自由基清除能力之间的关系。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

收稿日期: 2012-06-18

基金项目: 广东药学院师资队伍建设项目

作者简介: 胡坤 (1975-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为天然产物化学

紫 红 肉 火 龙 果 [*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose] 购于广东省阳江市; 无水乙醇、FeSO<sub>4</sub>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、水杨酸、HCl 和 NaOH 等都为分析纯; 异维生素 C 钠、柠檬酸、六偏磷酸钠等为食品添加剂。

1.2 主要仪器与设备

V-1200 型可见分光光度计, 上海美谱达仪器有限公司; LGJ-25 型冷冻干燥机, 北京四环科学仪器厂; PHS-3C 型 pH 计, 上海精密科学仪器有限公司; WB-2000 恒温水浴锅, 郑州长城科工贸有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 色素的提取

取新鲜火龙果果肉, 以组织捣碎机匀浆, 冷冻干燥后粉碎, 按照 1:50 的料液比加入 40% 的乙醇溶液提取, 砂芯漏斗抽滤, 滤液用蒸馏水稀释 10 倍后制成色素溶液。参照参考文献<sup>[1]</sup>的方法, 测得色素溶液中 β-花青素[以甜菜苷(Betainin)当量计]的含量为 0.08 mg/mL。

1.3.2 色素热稳定性实验

将 1.3.1 提取的色素溶液置于 90 °C 水浴中, 每隔 20 min 测定吸光度 A, 测定波长为 538 nm。色素损失率按以下公式计算:

$$\text{色素损失率}(\%) = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100\%$$

其中 A<sub>0</sub> 为热处理 0min 时的吸光度, A<sub>t</sub> 为热处理 t min 时的吸光度。

1.3.2.1 异维生素 C 钠对色素热稳定性的影响

取 3 份色素溶液各 100 mL, 分别加入 0.1%、0.2%、0.3% 的异维生素 C 钠, 然后测定经 90 °C 热处理后色素损失率的变化。

1.3.2.2 柠檬酸对色素热稳定性的影响

取 3 份色素溶液各 100 mL, 分别加入 0.05%、0.08%、0.1% 的柠檬酸, 然后测定经 90 °C 热处理后色素损失率的变化。

1.3.2.3 六偏磷酸钠对色素稳定性的影响

取 3 份色素溶液各 100 mL, 分别加入 0.1%、0.2%、0.35 的六偏磷酸钠, 然后测定经 90 °C 热处理后色素损失率的变化。

1.3.3 色素溶液清除羟基自由基的实验方法

在 25 mL 比色管中加入 2 mmol/L FeSO<sub>4</sub> 3mL、6 mmol/L 水杨酸的乙醇溶液 3 mL、1 mL 色素溶液、1 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 mL, 摇匀, 于 37 °C 水浴加热 30min 后, 在波长为 510 nm 处测其吸光度, 记为 A。反应液中不加色素溶液测得的吸光度记为 A<sub>0</sub>。以蒸馏水 3 mL 代替 1 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 mL, 测得的吸光度值 A<sub>b</sub> 为背景吸光度。

待测液对·OH 清除率为:

$$\cdot\text{OH清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A - A_b)}{A_0} \times 100\%$$

1.3.3.1 pH 对色素清除自由基的影响

以 0.1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 将色素溶液的 pH 调至 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0, 按照上述方法测定不同 pH 条件下, 色素溶液清除羟基自由基的能力。

1.3.3.2 热处理对色素清除羟基自由基的影响

将上述各 pH 的色素溶液在 90 °C 热处理不同时间, 自来水浴冷却后迅速测定其清除羟基自由基能力。

2 结果与分析

2.1 热处理对色素稳定的影响

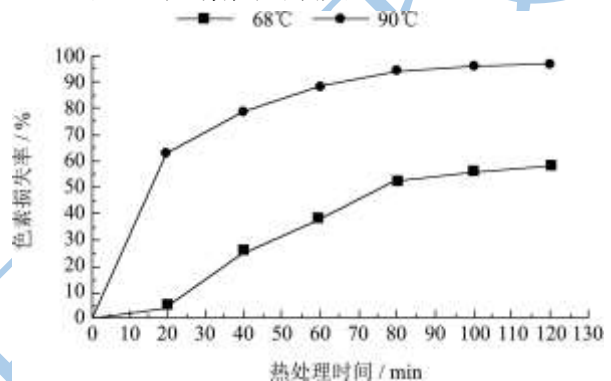


图 1 不同温度热处理与色素损失率的关系

Fig.1 Relationship between color degrading ratio and heat treatment temperature

甜菜红素的稳定性随热处理温度和时间而变化(图 1), 68 °C 处理 20 min, 色素的损失率为 4.3%, 而 90 °C 处理相同的时间, 色素损失率高达 62.7%。这说明, 甜菜红素的热稳定较差, 高温短时间的处理, 都会造成色素的严重损失。90 °C 热处理 80 min 时, 色素的损失率已达 94%, 而 68 °C 时也达到 52%。

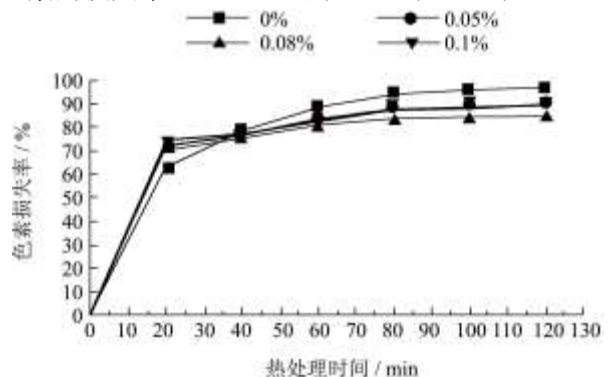


图 2 柠檬酸添加量对色素损失率的影响(热处理温度 90°C)

Fig.2 Effect of citric acid addition level on color loss ratio

柠檬酸对色素热稳定性的影响如图 2, 添加柠檬酸后, 色素溶液经 90 °C 热处理 20 min, 损失率即超过 70%, 而未添加柠檬酸的对照样品则为 62.7%, 这可能是柠檬酸降低了色素的 pH, 从而使其稳定性下

降。随着热处理时间的延长, 柠檬酸对色素的热分解又有一定的抑制作用: 含 0.08% 柠檬酸的色素经 120 min 的热处理, 其损失率为 84.5%, 而未加柠檬酸的对照样品在 80 min 时已达 94%。这表明, 柠檬酸对防止色素因长时间加热造成的损失有一定的保护作用。

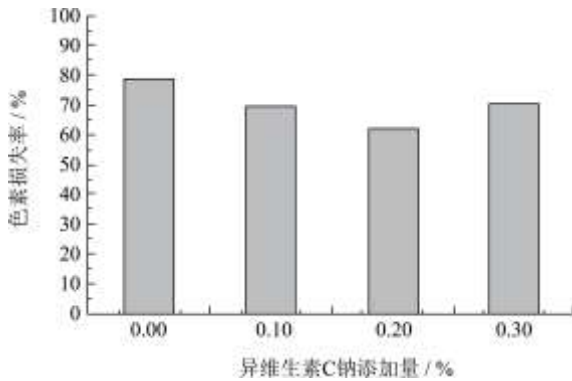


图3 异维生素C对色素损失率的影响(90°C, 40min)

Fig.3 Effect of isoascorbic acid addition level on color loss ratio

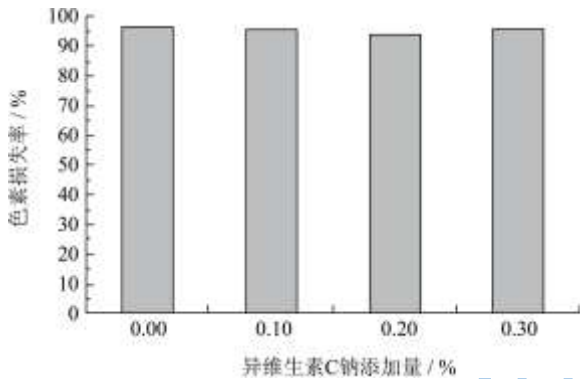


图4 异维生素C对色素损失率的影响(90°C, 120min)

Fig.4 Effect of isoascorbic acid addition level on color loss ratio

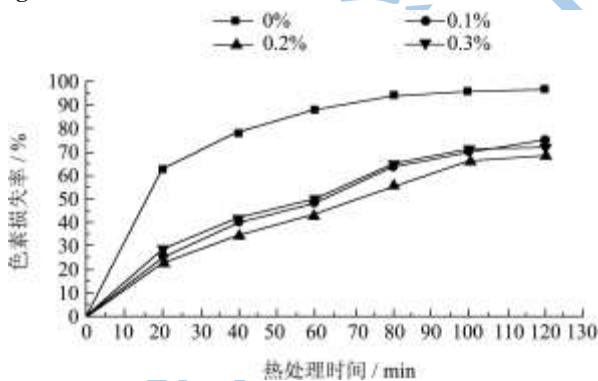


图5 六偏磷酸钠对色素损失率的影响(热处理温度90°C)

Fig.5 Effect of sodium hexametaphosphate addition level on color loss ratio

异维生素C钠对色素热稳定性的影响如图3、4所示。热处理时间较短时, 异维生素C钠对色素有一定的保护作用, 含 0.2% 异维生素C钠的色素经 40min 热处理, 损失率为 61.5%, 而对照样品的损失率已达 78.2% (图3)。随着热处理时间的延长, 异维生素C钠对色素的保护作用下降, 热处理 120 min 时, 添加

异维生素C钠的色素损失率与对照样品已没有明显的区别。这表明, 异维生素C不能有效保护色素的热分解。

多聚磷酸盐在饮料中的使用比较普遍, 主要作用是防止饮料混浊沉淀、稳定色泽等。多聚磷酸盐对甜菜苷类色素稳定性的影响目前还未见文献报道。本文研究发现, 添加适量的六偏磷酸能显著提高色素的热稳定性(图5)。含 0.2% 六偏磷酸钠的色素溶液经 90 °C 热处理 20 min, 色素损失率仅为 22.7%, 而对照样品的损失率已达 62.7%。热处理 40 min 时对照样品色素损失率为 78.2%, 而添加有 0.2% 六偏磷酸钠的样品仅为 34.2%。经 120 min 的热处理后, 添加六偏磷酸钠的样品色素损失率不超过 70%。而对照样品色素损失率已达 96.4%, 外观上几乎变为无色的溶液, 从图5还发现, 添加 0.2% 的六偏磷酸钠对色素的稳定作用优于 0.1% 和 0.3%。

## 2.2 热处理对色素清除羟基自由基能力的影响

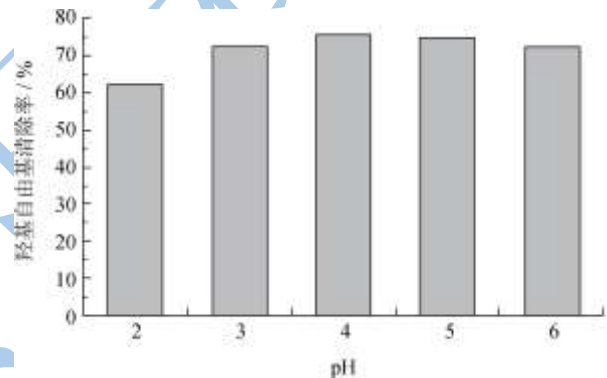


图6 不同 pH 时色素清除羟基自由基的能力(β-花青素含量 0.08 mg/mL)

Fig.6 Effect of pH on hydroxyl radical scavenging activity of the pigment

不同 pH 时, 甜菜苷色素清除羟基自由基能力有明显的差异(图6): pH 2.0 时, 色素溶液清除羟基自由基的能力最低, 为 62.1%, pH 3.0 时增加到 72.3%, pH 4.0 时达到最大值 75.6%, 此后逐渐下降, 在 pH 6.0 时降为 72.2%。有报道表明, 火龙果甜菜苷在 pH 3.0~7.0 的范围内比较稳定, 在 pH 4.0~6.0 时稳定性最好<sup>[12]</sup>。比较发现, 在 pH 3.0~6.0 时, 其清除羟基自由基的能力明显高于 pH 2.0 时的情形。因此, 火龙果甜菜苷清除羟基自由基的能力与其 pH 稳定性有较强的依存关系。

90 °C 热处理明显降低了色素溶液清除羟基自由基的能力, 且不同 pH 时, 清除羟基自由基的能力变化也有差别(图7): 10 min 的热处理使甜菜苷清除羟基自由基的能力下降了约 50%。例如, 在 pH 2.0 时, 未经热处理的甜菜苷对羟基自由基的清除率为

62.1%，而经 10 min 的热处理后降为 30.2%。随着热处理时间的延长，甜菜苷清除羟基自由基的能力下降的幅度明显变缓。比较不同 pH 时，热处理对色素清除羟基自由基的能力可以看出，pH 2.0 时，色素清除羟基自由基的能力明显低于 pH 3.0~6.0 时的情形，且随着 pH 由 3.0 增加到 6.0，其清除自由基的能力也逐渐增加。比较图 1 中色素损失率与热处理时间的关系可以发现，短时间的热处理使色素的损失率达到了 60% 以上，而其清除羟基自由基的能力也下降了 50%，此后，色素的损失率随热处理时间的变化趋缓，其清除羟基自由基能力的下降的幅度也变得平缓，这充分说明了甜菜苷的稳定性与其清除羟基自由基能力之间的相关性。

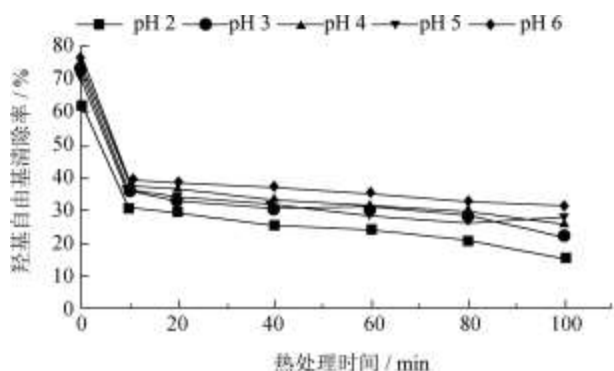


图 7 热处理对色素清除羟基自由基能力的影响 (热处理温度 90℃,  $\beta$ -花青素含量 0.08mg/mL)

Fig.7 Effect of heat treatment on hydroxyl radical scavenging activity of the pigment

### 3 结论

通过研究发现，热处理时间较短时，柠檬酸增加了火龙果色素的损失，但热处理时间较长时，却对色素损失有一定的抑制作用。添加异维生素 C 钠对短时间热处理 (40 min) 的色素损失有抑制作用，但延长热处理时对色素无保护作用。六偏磷酸钠能有效的抑制热处理造成的色素损失。 $\beta$ -花青素清除羟基自由基的能力与 pH 有关，以 pH 4.0 时最高，在 pH 3.0~6.0 的范围内清除自由基的清除率达到 72% 以上，而 pH 2.0 时则仅为 62.1%。90℃ 热处理 10 min 使色素清除羟基自由基能力下降 50% 以上，且 pH 越低，清除羟基自由基的能力也越低。色素的稳定性与其清除羟基自由基能力之间有直接的相关性。

### 参考文献

- [1] Florian C Stintzing, Reinhold Carle. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition [J]. Trends in Food Science & Technology, 2004, 15: 19-38
- [2] Letícia Christina Pires Goncalves, Marco Aurélio de Souza Trassi, Nahana Barbosa Lopes, et al. A comparative study of the purification of betanin [J]. Food Chemistry, 2012, 13: 231-238
- [3] 刘小玲,许时婴,王璋.火龙果色素的基本性质及结构鉴定[J]. 无锡轻工大学学报,2003,3:62-66
- [4] Florian C Stintzing, Andreas Schieber, Reinhold Carle. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose [J]. Food Chemistry, 2002, 77: 101-106
- [5] Kirsten M Herbach, Florian C Stintzing, Reinhold Carle. Betalain Stability and Degradation-Structural and Chromatic Aspects [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(4): 41-50
- [6] 庄明珠,刘青茹,李婉霞,等.多酚类物质和金属离子对火龙果果皮色素稳定性的影响[J].现代食品科技,2011,11:1320-1324
- [7] Herbach K, Maier C, Stintzing F, et al. Effects of processing and storage on juice colour and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) juice [J]. European Food Research and Technology, 2007, 224(5): 649-658
- [8] Czapski J. Heat stability of betacyanins in red beet juice and in betanin solutions [J]. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A, 1990, 191(4): 275-278
- [9] Wu L, Hsu H, Chen Y, et al. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya [J]. Food Chemistry, 2006, 95(2): 319-327
- [10] Tenore G C, Novellino E, Basile A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts [J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(1): 129-136
- [11] Cai Y, M Sun, et al. Characterization and Quantification of Betacyanin Pigments from Diverse Amaranthus Species [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(6): 2063-2070
- [12] Huang A S, Elbej H V. Effect of pH on the Degradation and Regeneration of Betanin [J]. Journal of Food Science, 1987, 52(6): 1689-1693