

文章编号 :1009-038X(2000)01-0038-04

苋色藜细胞培养产生的天然红色素 性质及其稳定性*

赵 忠, 俞剑燊 孙 微, 陶文沂
(无锡轻工大学生物工程学院, 江苏无锡 214036)

摘 要 :从苋色藜(*Chenopodium Amaranticolor*)的愈伤组织中提取天然红色素. 此色素对热较敏感,对紫外线不敏感,在 pH 5~10 稳定, Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 和氧化剂对其有破坏作用, Fe^{2+} 、 Al^{3+} 和还原剂有一定的保护作用. 比较 MS 和 B_5 培养基,前者对苋色藜愈伤组织产色素有利.

关键词 :苋色藜 愈伤组织 色素 稳定性

中图分类号 :Q813.1 **文献标识码** : A

The Natural Red Pigment Produced by Plant Cells

ZHAO Zhong, YU Jian-xing, SUN Wei, TAO Wen-yi
(School of Biotechnology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

Abstract :The natural red pigment was extracted from callus of *Chenopodium amaranticolor*. The effects of physical and chemical factors (such as light, temperature, pH, metal ions, oxidants and reductants) on the stability of the pigment were discussed. The action of mediums (MS and B_5) on the yield of the pigment was compared. The pigment has the maximum absorbing wavelength at 540 nm. Some chemicals, such as Fe^{2+} , Al^{3+} , showed protective action at the pigment. And the medium MS adapted to the cells to produce the pigment.

Key words : *Chenopodium amaranticolor* ; callus ; pigment ; stability

色素长期以来,被广泛用于食品和化妆品中. 目前国际市场上,天然食用色素正以每年 10% 的速度增长^[1]. 许多天然色素是从植物中提取的,但植物的生长周期较长,且要占用不少耕地,而利用植物细胞和组织培养可以大大缩短色素生产周期,降低产品成本. 利用细胞培养技术生产色素,国内外已进行了一些研究^[2~4]. 但苋色藜的细胞培养工作,国内尚未见报道,国外也仅对其进行了较为初

步的研究,尚未对该色素的性质进行系统研究. 以苋色藜的愈伤组织为材料,用水提取得到紫红色天然色素. 研究了不同理化因子对该色素稳定性的影响以及培养基对色素产量的影响.

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为苋色藜愈伤组织.

* 收稿日期 :1999-04-07 修订日期 :1999-12-10.

基金项目 :无锡轻工大学青年基金资助项目.

作者简介 赵忠(1968 年 7 月生),男,甘肃兰州人,工学硕士,讲师.

万方数据

1.2 愈伤组织培养

选用 MS^[5] 和 B5^[6] 作为培养基. 将苋色藜的愈伤组织接在平板上, 置于生化培养箱中, 在 25 ℃ 光照条件下培养, 每 20 d 继代一次.

1.3 色素含量测定

将愈伤组织培养 20 d 后, 称取 0.5 g, 加蒸馏水 30 mL 研磨, 以蒸馏水为空白测其滤液 OD₅₄₀ 值. 将此溶液在沸水浴中煮沸 1 h, 对色素漂白, 再测其 OD₅₄₀ 值. 以两次 OD₅₄₀ 值之差表示色素含量^[7].

2 结果与讨论

2.1 色素含量测定用波长的确定

用 721 分光光度计测定不同波长下色素溶液的 OD 值, 图 1 表明该色素在可见光区的最大吸收波长 λ_{max} 为 540 nm.

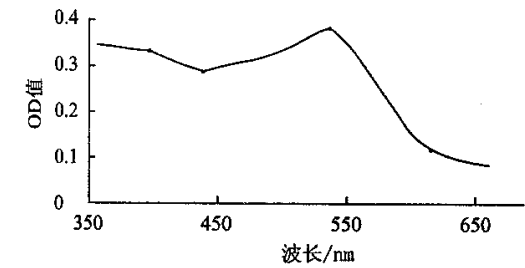


图 1 苋色藜色素可见光波长吸收值

Fig.1 The absorbing values of *C. amaranticolor* pigment in visible light wavelength

为提高色素含量测定的灵敏度和稳定性, 避免其它因素的干扰, 对苋色藜色素进行含量测定的最佳波长为 540 nm.

2.2 B₅ 与 MS 培养基的比较

不同培养基对于细胞色素产生有一定的影响, 分别比较 MS 和 B₅ 培养基的影响, 结果表明 MS 培养基有利于细胞产色素, 所产色素含量为 B₅ 培养基的 1.12 倍. 培养基成分对色素形成量的影响机理有待进一步研究. 两种培养基主要区别在于 MS 中铵离子含量比 B₅ 高很多, 故铵盐对色素的合成有利.

2.3 色素的热稳定性

天然色素受热与光照会分解或氧化褪色, 考察了在不同温度下色素的色泽吸光度变化. 从图 2 可知, 该色素对温度较敏感, 当温度大于 60 ℃ 时, 该色素褪色较快. 因此, 该色素不能用热灭菌法进行灭菌. 在 80 ℃、100 ℃ 下保温 1 h 以后曲线已基本走平, 这表明敏感性色素已被全部破坏, 故实验中采用 100 ℃ 加热 1 h 作为对照来测定敏感性的色素

含量.

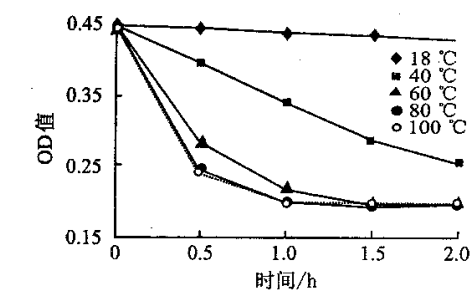


图 2 温度对色素稳定性的影响

Fig.2 Thermal stability curve of *C. amaranticolor* pigment

2.4 pH 对色素的影响

pH 对色素的吸光度、颜色和最大吸收波长有很大的影响. 表 1 为不同 pH 值下色素颜色的变化, 随 pH 值升高色素颜色加深.

表 1 pH 对色素颜色的影响

Tab.1 The effect of pH on *C. amaranticolor* pigment color

pH	颜色	pH	颜色
2.0	橙色	7.0	紫红
3.0	橙红	8.0	紫红
4.0	紫红	9.0	紫红
5.0	紫红	10.0	紫褐
6.0	紫红	11.0	紫褐
		12.0	棕褐

对苋藜红色素在不同 pH 值下的 OD₅₄₀ 值测定结果如图 3 所示, pH 值在 4~9 范围色素未被破坏. 对不同 pH 下最大吸收波长的测定发现最大吸收波长在 pH 5~10 范围内没有变化(图 4), 但 pH 值小于 5 与大于 10 时最大吸收峰发生偏移, 说明色素结构发生了变化.

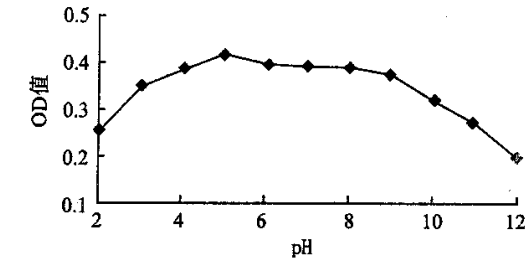


图 3 pH 对色素色度的影响

Fig.3 The effect of pH on *C. amaranticolor* pigment

2.5 紫外线对色素的影响

以日光灯照射为对照, 采用 30 W 紫外灯在 30 cm 距离照射研究紫外线对色素稳定性的影响, 结果如图 5 所示, 在强紫外线照射下, 此色素有一定的稳定性, 在 12 h 内变化不大.

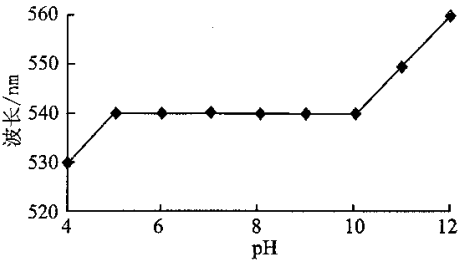


图 4 pH 值对色素最大吸收波长的影响
Fig. 4 The effect of pH on the max absorb wavelength

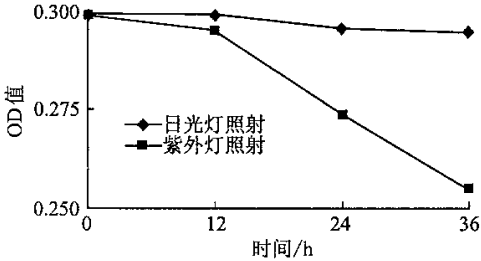


图 5 紫外线对色素稳定性的影响

Fig. 5 The effect of ultraviolet radiation on the pigment stability

2.6 氧化剂和还原剂对色素的影响

为寻求对色素有保护作用的物质,作者研究了氧化剂和还原剂对色素的影响,实验以 H_2O_2 为氧化剂,以 Na_2SO_3 为还原剂,实验结果见图 6.

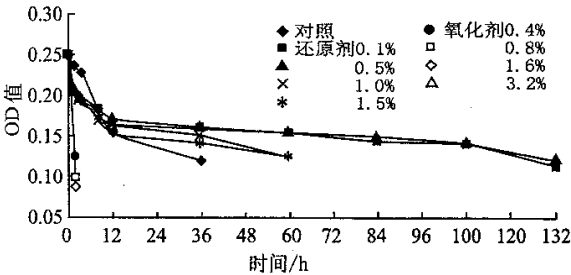


图 6 还原剂和氧化剂对色素稳定性的影响

Fig. 6 The effect of reductant and oxidant on C. amaranticolor pigment stability

从图 6 可知,适量的还原剂该色素有一定的保护作用.而添加了 0.1% 和 0.5% 的 Na_2SO_3 色素溶液到 132 h 才褪色,而对照组仅 36 h 就褪色.氧化剂对其有破坏作用,仅 2 h 就使色素褪色.这说明该色素易被氧化,因此在加工、储藏和使用中要尽量减少与氧化剂接触,可采用真空保藏或加抗氧化剂、还原剂以增加其储藏时间.

2.7 金属离子对色素稳定性的影响

在植物细胞培养、色素提取加工、运输、储藏过程中,不可避免地会接触到金属离子.因而需要了解金属离子对色素稳定性的影响.分别选择一些常见离子 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 、 Zn^{2+} ,考察其对该色素稳定性的影响.实验结果表明, Mg^{2+} 对色素无影响, Zn^{2+} 对色素略有破坏作用,但不明显. Cu^{2+} 对色素有较明显的破坏作用,特别是质量浓度为 20 mg/L 时,仅 4 h 就使色素溶液完全褪色. Fe^{3+} 对色素也有明显的破坏作用,当质量浓度为 100 mg/L 和 40 mg/L 时,仅 2 h 色素溶液就完全褪色.而 Al^{3+} 对色素却有一定的保护作用,且有使色素增色的趋势,添加 Al^{3+} 2 h 后 OD 值增加 13.5% 左右. Fe^{2+} 对色素有保护作用,当质量浓度为 20 mg/L 和 40 mg/L 时稳定效果明显,对照 34 h 褪色而实验样品经过 7 d 才褪色.

3 结 论

苋色藜植物细胞培养物中可以提取天然红色素,细胞培养所用培养基中,MS 比 B_5 对产色素更有利,可提高产量 12%. 该色素在可见光区的最大吸收波长为 540 nm,在 pH 值 5~10 范围内稳定,尤以微酸性时适宜.色素对热较敏感,对紫外线则比较稳定, Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 对色素有破坏作用,而 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 则对色素有保护作用,氧化剂有破坏作用,适量的还原剂有保护作用.因此,适用于冷食或食品热加工后的着色使用,采用真空保藏或添加保护剂可延缓色素的消褪.

参考文献

[1] 张铁鹰.天然色素及其稳定化技术[J],食品工业科技,1991,4:27~32
[2] 叶和春,尹作鸿,李国风等.不同理化因子对新疆紫草愈伤组织生长及紫草宁衍生物合成的影响[J].植物学报,1991,33(12):927~937
[3] 董教望,叶和春,吴新等.新疆紫草细胞悬浮培养和发酵培养的研究[J].植物学报,1993,35(1):57~61
[4] KILBY NIGEL J, HUNTE R. Christopher Stant[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1991, 34(4):478~480
[5] TOSHIO M, FOLKE S. Revised media for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture[J]. Physiol Plant, 1962,15.
[6] GANBORG O L, MILLER R A, OJIMA K. Nutrient requirements of suspension culture of soybean root cell[J]. Exp Cell Res, 1968, 50:150~158
[7] 任玉林.天然食用色素—花色苷[J].食品科学,1995,7:33~27

(责任编辑 朱明)