

一株新的海洋放线菌所产黄色素稳定性研究及其16S rDNA序列分析

李平¹, 闫培生^{1,2,*}

(1. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 黑龙江哈尔滨 150090;

2. 哈尔滨工业大学(威海)海洋学院, 山东威海 264209)

摘要: 对一株分离自威海海域的产黄色素的海洋放线菌新菌株MA01进行了色素提取方法及其稳定性的研究。测定其最大吸收波长, 考察了pH、光照、温度、金属离子、氧化剂和还原剂、防腐剂等因素对黄色素稳定性的影响。此外, 对菌株MA01进行分子鉴定, 利用PCR技术扩增其16S rDNA序列, 并构建了系统进化树。实验结果表明, 该黄色素在300nm处有最大吸收峰, 超声波法提取色素优于溶剂法。该黄色素为水溶性色素, 易溶于甲醇和乙醇, 在弱酸性、中性和碱性条件下稳定, 温度小于60℃时热稳定性良好, 对紫外光和可见光照射稳定性良好, 基本不受金属离子K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Mn²⁺、Ca²⁺影响, 防腐剂食盐和蔗糖对其均无不良影响。该黄色素不耐氧化剂, 还原剂也会降低其稳定性。16S rDNA序列分析和系统进化树显示菌株MA01与多株*Streptomyces* sp. 的16S rDNA具有99%的相似性, 初步鉴定菌株MA01是链霉菌属*Streptomyces* sp. 的一种。菌株MA01具有较高的研究和开发价值。

关键词: 海洋放线菌, 黄色素, 稳定性, 16S rDNA, 链霉菌属

Study on stability of the yellow pigment from a new marine actinomycete and 16S rDNA analysis of the strain

LI Ping¹, YAN Pei-sheng^{1,2,*}

(1. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;

2. School of the Ocean, Harbin Institute of Technology at Weihai, Weihai 264209, China)

Abstract: Extraction conditions, basic properties and the stability of the yellow pigment produced by a new marine actinomycete strain MA01, which was isolated from Weihai sea area, were investigated in this paper. The maximum absorption wavelength was measured, and the stability of the pigment was assessed under the conditions as following: the different pH values, UV, fluorescent lighting, the different temperatures, some kinds of ions, oxidant/reducer and preservatives. In addition, the 16S rDNA fragment of MA01 was amplified by PCR for molecular characterization, and the phylogenetic tree was constructed. Results showed that the maximum absorption wavelength of this yellow pigment was 300nm. The pigment was extracted better by ultrasonic extraction method than by solvent method. This yellow pigment was classified as a kind of water-soluble pigment, and is soluble in methanol and ethanol. Furthermore, it was stable at the temperature below 60℃ and under the neutral and alkaline conditions, but sensitive to oxidant, while had a good resistance to UV and light. Some metal ions (e.g. K⁺, Na⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺) and common preservatives (e.g. salt and sucrose) did not affect the stability of the pigment. Phylogenetic tree analysis of 16S rDNA sequence indicated that the similarity between MA01 and multiple strains of *Streptomyces* sp. was higher than 99%. Therefore, MA01 was identified as a new strain belonging to *Streptomyces* sp., and had good value for research.

Key words: marine actinomycete; yellow pigment; stability; 16S rDNA; *Streptomyces* sp.

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)22-0275-06

色素广泛应用于糕点、饮料、酒类等食品工业以及化妆品、医药、印染等化工领域^[1]。色素目前主要分

为两类: 天然色素和人工合成色素。合成色素曾被广泛使用, 但研究发现合成色素具有不同程度的毒性, 危害人体健康, 而天然色素源于自然, 安全性高、无毒、无副作用, 不仅能给人体提供某些营养物质, 而且多数还具有好的医疗与保健功能, 如抗氧化活性^[2]。因此, 天然色素日益受到重视, 天然色素的研究和开发已成为必然趋势。

在食品着色方面, 黄色素是主要食用色素之一^[3]。

收稿日期: 2013-05-07 * 通讯联系人

作者简介: 李平(1983-), 女, 博士, 主要从事海洋微生物方面的研究。

基金项目: 国际海域资源调查与开发“十二五”重大项目(DY125-15-R-01)。

目前已经开发利用的黄色素大多来自植物,有栀子黄色素^[4-5]、姜黄色素^[6-7]、红花黄色素^[8-9]、玉米黄色素^[10-11]、桔皮黄色素^[12]、南瓜黄色素^[13]等。但植物来源的天然色素提取困难,难以大规模生产,而来源于微生物的天然色素则不受资源限制。采用微生物发酵生产食用黄色素,生产规模容易控制,产品质量能得到保证,并可大大降低成本,具有无可比拟的优势^[14-15]。

目前对海洋微生物资源的开发和研究越来越受到国内外的重视^[16]。侯竹美等^[17]从胶州湾海域中筛选到一株产蓝色素海洋链霉菌(*Streptomyces* sp.); Maskey等^[18]从海洋放线菌*Pseudonocardia* sp. B6273中提取到了2种phenazostatin D类的黄色素化合物; Solano等^[19]发现了一种能以L型酪氨酸为原料合成黑色素的海单胞菌属MMB-1。本研究室从威海海域筛选分离得到了一株能够产生黄色素的新的海洋放线菌菌株MA01,本实验利用分子生物学技术,对该新菌株首次进行分子水平的鉴定,构建了该菌株的系统发育树,初步确定了其分类地位。此外,首次研究了该新菌株MA01所产黄色素的提取方法及其基本的理化性质,以期为进一步开发有价值的海洋微生物天然黄色素奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

菌株来源 一株新海洋放线菌MA01,为本实验室分离筛选保藏菌种,分离自山东威海近海海域;培养基 采用改良海水高氏1号固体培养基和液体培养基;本实验所用到的试剂 均为分析纯。

HZQ-F160型全温振荡培养箱 太仓市实验设备厂;**DRP-9082型电热恒温培养箱** 上海森信公司;**B-260型恒温水浴锅** 上海亚荣生化仪器厂;**PHS-3C型精密酸度计** 上海大普仪器有限公司;**SK3200H型超声波清洗仪** 上海科导超声仪器有限公司;**KDC-160HR型高速冷冻离心机** 安徽中科中佳科学仪器有限公司;**RE52CS型旋转蒸发器** 上海亚荣生化仪器厂;**L96G PCR仪** 杭州朗基科学仪器有限公司;**TU-1810型紫外可见分光光度计** 北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的培养 将菌株MA01的孢子悬液接种到改良海水高氏1号液体培养基中,28℃、160r/min摇瓶培养9d。

1.2.2 色素的提取 在相同的条件下,以乙醇为溶剂,采用超声波辅助提取法和溶剂法提取菌体黄色素,比较了两种方法的提取效果。

1.2.2.1 超声波法 将发酵液7500r/min离心25min,弃上清液,得金黄色菌体,烘干至恒重,研碎,准确称取1.0g的研碎菌体放入试管中,添加一定体积的乙醇,浸泡2h后,进行超声提取,离心得黄色素浸提液,浓缩得黄色素粗提物^[20-22]。

1.2.2.2 溶剂法 取1.0g研碎菌体放于试管,加入相同体积乙醇,振荡,离心得黄色素浸提液,浓缩得黄色素粗品^[22]。

1.2.3 色素的溶解性测定 利用5mL不同溶剂(石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、正丁醇、甲醇、乙醇和水)分别浸泡0.2g的研碎菌体3h,离心弃去沉淀,观察该黄色素在不同溶剂里的溶解情况。

1.2.4 最大吸收波长的测定 取色素的乙醇浸提液,利用TU-1810型紫外可见分光光度计进行光谱扫描,空白对照为无水乙醇,选取扫描波长为200~700nm,确定其最大吸收波长。

1.2.5 色素的稳定性测定

1.2.5.1 色素的pH稳定性 取黄色素粗品,配制1% (m/v)的黄色素水溶液,平均分成8份置于试管中,用HCl和NaOH溶液调节pH分别为2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14,处理2~3h,观察颜色变化,并测量OD₃₀₀。其中,色素溶液的pH是8.06,所以pH8.06的样品可作为空白对照。

1.2.5.2 色素的光稳定性 取1%的黄色素水溶液,置于紫外灯下照射,每隔一段时间测量样品OD₃₀₀值。取色素水溶液,置于日光恒温箱中照射,每天的同一时间测量吸光值。

1.2.5.3 色素的热稳定性 取0.8%的黄色素水溶液,平均分成5份置于试管中,将试管分别置于20、40、60、80、100℃水浴中,每隔15min测量OD₃₀₀。

1.2.5.4 色素的金属离子稳定性 配制0.8%的黄色素水溶液,各取5mL于6支试管中,其中5支试管分别加入KCl、CaCl₂、NaCl、MgCl₂、MnCl₂使得溶液的金属离子浓度为1mol/L,第6支试管作为空白对照。静置8h后测量其在300nm处的吸光值。

1.2.5.5 色素的氧化剂和还原剂稳定性 取0.8%的黄色素水溶液各5mL,分别加入20%的H₂O₂和Na₂SO₃溶液1、2、3、4、5mL,用蒸馏水补足10mL。静置1h,测量其OD₃₀₀。

1.2.5.6 色素的防腐剂稳定性 取1%的黄色素水溶液,分别加入0.5%、1% (v/m)的食盐和蔗糖,混合后静置1h,测其300nm处的吸光值。

1.2.6 菌株16S rDNA序列测定及系统发育分析

1.2.6.1 基因组DNA的提取和16S rDNA扩增 采用CTAB法提取菌株MA01的基因组DNA,然后扩增其16S rDNA。正向引物采用F8:5'-GAGAGTTTGATCC TGGCTCAG-3',反向引物采用R1492:5'-CGGCTAC CTTGTTACGAC-3'。PCR反应体系(50μL):模板DNA 1μL,10×PCR缓冲液5μL,MgCl₂(25μmol/L)6μL,引物(10μmol/L)各2μL,dNTP(2.5μmol/L)4μL,Taq DNA聚合酶2μL(5U/μL),加ddH₂O补至50μL。PCR反应条件为:94℃预变性5min;94℃变性1min,55℃复性1min,72℃延伸1.5min,38个循环;最后72℃温育10min。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后,进行序列测定。

1.2.6.2 基于16S rDNA的系统发育分析 将测序得到的序列运用Blast程序在GenBank数据库进行相似序列的搜索、同源性比对,获得与实验菌株同源性较高的菌株序列,同时查找得到诺卡氏菌属(*Nocardiopsis* sp.)、异壁放线菌属(*Actinodloteichus* sp.)以及放线菌属(*Actinomyces* sp.)的三个菌株的16S rDNA

序列,运用软件MEGA 4.1,采用邻接法(neighbor joining method)构建系统进化发育树。并且利用DNAMAN软件计算得出MA01与其余各菌株的相似性百分比。

2 结果与分析

2.1 超声波法与有机溶剂萃取法的比较以及该色素最大吸收波长的确定

本实验使用两种方法所提取黄色素(乙醇为溶剂)的吸收光特性见图1和图2。经测定发现,该黄色素溶液在300nm处有最大吸收峰。

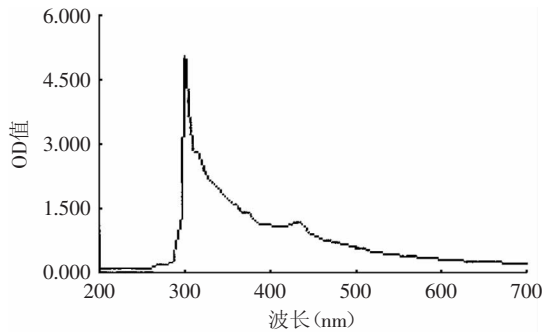


图1 超声波法提取的色素溶液光谱扫描

Fig.1 The spectrum scanning of the yellow pigment extracted by ultrasonic method

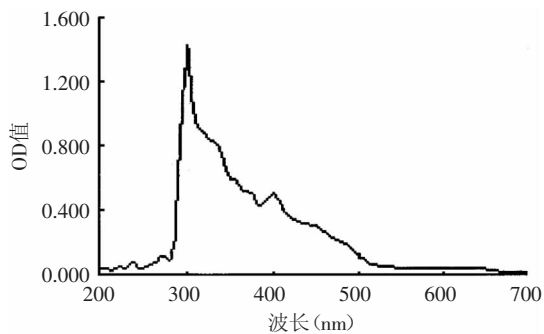


图2 有机溶剂萃取法提取的色素溶液光谱扫描

Fig.2 The spectrum scanning of the yellow pigment extracted by organic solvent method

由图1、图2可知,相同质量的菌体使用两种方法提取的色素,采用相同体积的乙醇溶解时,其最大吸收峰处的波长相同,都是300nm。但是使用超声波法提取的色素在300nm处的OD值为5.000,而有机溶剂萃取法提取的色素在该波长下的OD值为1.416。采用超声波法提取的色素OD值更高,并且肉眼可见超声

波法提取的黄色素颜色更深,说明采用超声波法提取色素效果更好。

2.2 黄色素在不同溶剂中的溶解情况

将等量的菌体浸泡于多种有机试剂3h后,观察发现,该黄色素在极性不同的有机溶剂中的溶解度存在明显的差异,如表1所示。石油醚、乙酸乙酯、三氯甲烷等极性较小的溶剂浸泡菌体后,所得溶液几乎不呈现黄色,因此该黄色素在其中的溶解度极小;而正丁醇、乙醇、甲醇等极性较大的溶剂中浸泡菌体所得溶液黄色明显较深,说明该黄色素易溶于极性较大的有机溶剂,而且易溶于水,说明该黄色素属于水溶性色素。

2.3 pH对黄色素稳定性的影响

由表2中OD值及色素颜色的变化可以看出,在强酸性条件下(pH2~3),该黄色素在300nm波长下的吸光值明显降低,颜色变淡;pH在4~7的酸性及中性范围内,色素液OD₃₀₀值基本保持一致,并且只比对照液略小;在碱性条件下(pH大于8)该黄色素也较为稳定。说明该黄色素在极酸环境下不稳定,而在弱酸性、中性及碱性环境下较为稳定。因此,该黄色素的酸碱稳定性良好,适合在弱酸性、中性和碱性中保存并应用。

2.4 光照对黄色素稳定性的影响

2.4.1 紫外线照射对黄色素稳定性的影响 从图3可以看出,将色素水溶液置于紫外线照射下,随着时间的延长至120min,与照射0min相比,其OD₃₀₀没有发生明显变化,肉眼观察颜色无明显改变。因此,紫外线对该黄色素的稳定性几乎无影响。

2.4.2 日光照射对黄色素稳定性的影响 由图4可

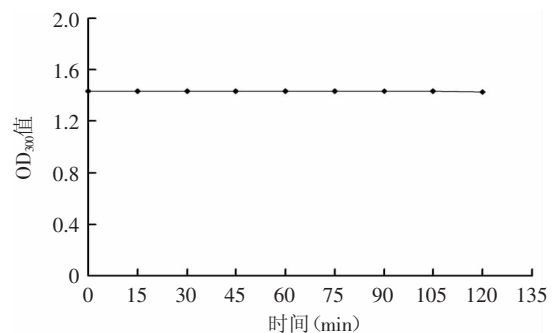


图3 紫外线照射对黄色素稳定性的影响

Fig.3 Effect of UV irradiation time on the stability of the yellow pigment

表1 黄色素的溶解情况

Table 1 The solubility analysis of the yellow pigment

| 溶剂 | 石油醚 | 乙酸乙酯 | 二氯甲烷 | 三氯甲烷 | 正丁醇 | 甲醇 | 乙醇 | 纯水 |
|------|-----|------|------|------|-----|----|----|----|
| 溶解情况 | 不溶 | 微溶 | 不溶 | 不溶 | 溶解 | 易溶 | 易溶 | 易溶 |

表2 pH对黄色素稳定性的影响

Table 2 Effect of pH on the stability of the yellow pigment

| pH | 对照 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| OD ₃₀₀ 值 | 1.414 | 0.708 | 0.901 | 1.232 | 1.250 | 1.271 | 1.295 | 1.413 | 1.391 | 1.350 | 1.330 | 1.344 | 1.349 | 1.368 |
| 颜色 | 明黄色 | 淡黄色 | 淡黄色 | 黄色 | 黄色 | 黄色 | 黄色 | 明黄色 | 明黄色 | 黄色 | 黄色 | 黄色 | 黄色 | 黄色 |

知,色素对日光灯照射是比较稳定的。该色素液未经日光灯照射时的 OD_{300} 值是0.976,在日光灯下连续照射10d后,其 OD_{300} 值为0.933,吸光值没有发生显著改变,颜色深度也无明显变化,因此该黄色素在短时间内保存无需避光。

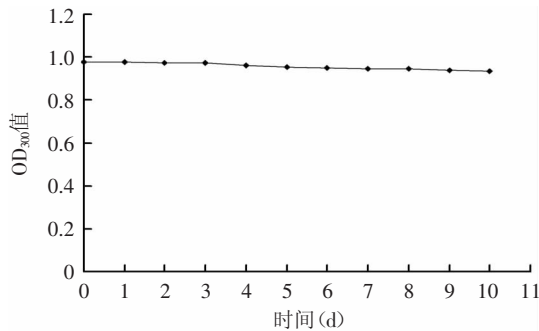


图4 日光照射对黄色素稳定性的影响

Fig.4 Effect of fluorescent lamp irradiation time on the stability of the yellow pigment

2.5 温度对黄色素稳定性的影响

根据在不同温度下,该黄色素溶液在不同时间的 OD_{300} 值的变化,绘制出变化曲线,如图5所示。

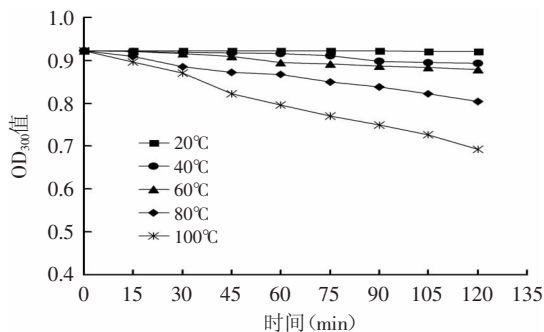


图5 温度对黄色素稳定性的影响

Fig.5 Effect of the temperature on the stability of the yellow pigment

由图5可以看出,该色素液在20、40℃以及60℃下处理2h后,其 OD_{300} 值没有发生显著变化,色素液颜色深度也未出现肉眼可察觉的改变,因此该色素在以上温度下损失很小,稳定性很好;而当处理温度升至80℃和100℃时,随着处理时间的延长,其 OD_{300} 值有所降低,其中100℃处理时, OD_{300} 由0.923降到0.692,下降约25%,肉眼观察黄色素褪色少许,总体来说,该黄色素的热稳定性还是比较好的,能应用于热加工的食品。

2.6 金属离子对色素稳定性的影响

为了研究金属离子对该黄色素稳定性的影响,本实验选取了生活或工业中常见的5种金属离子对0.8%的色素水溶液进行了处理,根据添加不同金属离子后色素溶液的吸光值变化如图6所示。

由图6可知,与对照组相比, K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 对该色素有微弱的破坏作用, Mn^{2+} 对色素的稳定性基本没有影响, Ca^{2+} 对该色素有一定的增色作用,其 OD_{300} 值

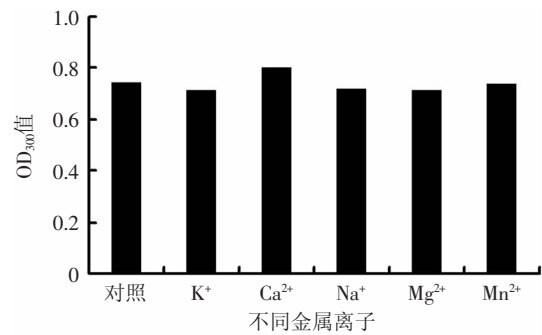


图6 金属离子对黄色素稳定性的影响

Fig.6 Effect of metal ions on the stability of the yellow pigment

有所上升。所以,该黄色素对于常见金属离子具有良好的稳定性。

2.7 氧化剂和还原剂对黄色素稳定性的影响

表3 氧化剂和还原剂对黄色素稳定性的影响

Table 3 Effect of oxidant and reducing agent on the stability of the yellow pigment

| 项 | 不同加入量下的 OD_{300} 值 | | | | | |
|------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 对照组 | 1mL | 2mL | 3mL | 4mL | 5mL |
| H_2O_2 | 0.968 | 0.718 | 0.424 | 0.251 | 0.126 | 0.017 |
| Na_2SO_3 | 0.968 | 0.900 | 0.872 | 0.838 | 0.801 | 0.769 |

利用常见的氧化剂和还原剂对1%的黄色素水溶液进行了处理,由表3可知,与对照组相比,氧化剂 H_2O_2 的加入对色素的影响较大,随着加入量的增加 OD_{300} 值不断减小,肉眼颜色逐渐消退,当 H_2O_2 加至5mL时,其 OD_{300} 接近于0,溶液几乎变为无色。还原剂 Na_2SO_3 的加入对色素稳定性也存在一定的影响,随着浓度的增加 OD_{300} 值也呈现减小的趋势,当 Na_2SO_3 加入量达到5mL时, OD_{300} 值为0.769,肉眼观察溶液颜色,虽有所褪色,但是仍然呈现较深的黄颜色。因此,该黄色素对氧化剂不稳定,但对还原剂较为稳定。

2.8 防腐剂对黄色素稳定性的影响

根据添加不同浓度的防腐剂食盐和蔗糖后,色素溶液在300nm处的吸光值变化如图7所示。

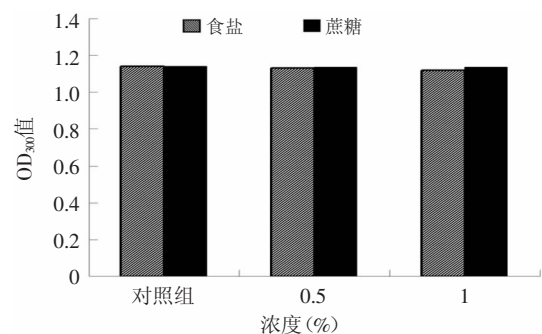


图7 防腐剂对黄色素稳定性的影响

Fig.7 Effect of preservatives on the stability of the yellow pigment

从图7可以看出,与对照组相比,添加0.5%和1%的防腐剂蔗糖和食盐后,该黄色素溶液 OD_{300} 值没有

发生显著改变,肉眼观察,其溶液颜色深度也未出现明显变化。因此该黄色素的稳定性受以上2种防腐剂的影 响很小,并且不受其浓度的影响。该黄色素可与防腐剂混合使用。

2.9 基于16S rDNA序列的聚类结果与分析

菌株MA01的16S rDNA经PCR扩增、测序,获得的核苷酸序列长度为1493bp(图8),通过与GenBank数据库中的相似度高的序列进行比对,并构建系统进化树,如图9所示。系统进化树和DNAMAN分析结果均显示,菌株MA01与*Streptomyces* sp. 16S rDNA具有99%的相似性,与*Streptomyces* sp. ls-a24的同源性最好,相似性为99.13%。一般认为16S rDNA序列同源性>99%,则可认为属于同一个种^[23],因此初步鉴定菌株MA01是链霉菌属*Streptomyces* sp.的一种。另外,MA01与诺卡氏菌*Nocardopsis* sp.(EF209052.1)、异壁放线菌属*Actinoalloteichus cyanogriseus*(AB006178.1)、放线菌属*Actinomyces* sp.(KC999383.1)的同源性较低,其16S rDNA序列相似性仅分别为85.77%、87.92%、77.51%。

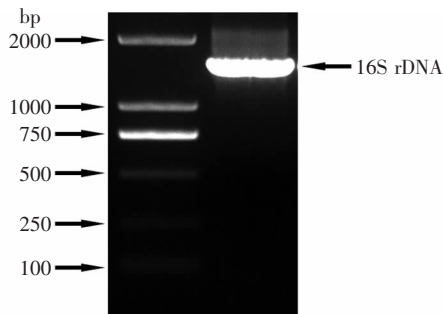


图8 菌株MA01 16S rDNA的PCR扩增

Fig.8 PCR amplification of 16S rDNA of MA01

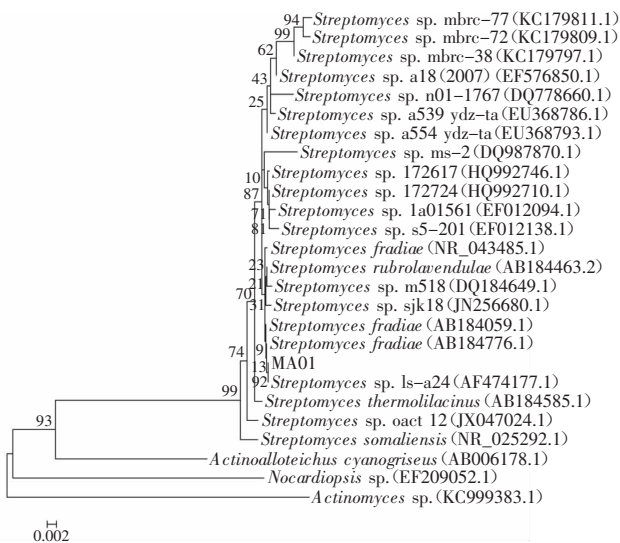


图9 基于16S rDNA序列构建的菌株MA01的系统发育树分析

Fig.9 Phylogenetic tree analysis of MA01 based on 16S rDNA sequences

3 结论

色素的稳定性决定了其用途,本实验对一株筛选自威海海域的海洋放线菌新菌株MA01所产黄色

素的性质作了初探,对其稳定性进行了研究,以探究其应用于食品工业着色的可能性。16S rDNA分析结果显示,该菌株属于链霉菌属*Streptomyces* sp.的一种。MA01所产生的黄色素提取方法简单,是一种水溶性色素,不溶于石油醚、甲烷等极性小的溶剂,易溶于甲醇、乙醇等溶剂。该黄色素在波长300nm处具有最大吸收峰,在弱酸性、中性和碱性环境中稳定,在小于60℃时耐热性能良好,对紫外线照射非常稳定,对日光也较为稳定,对金属离子K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Mn²⁺、Ca²⁺稳定性好,此外对防腐剂蔗糖和食盐也很稳定。MA01所产黄色素在极酸性环境中、在氧化剂H₂O₂存在时稳定性显著下降,色素褪色。温度在80℃以上以及还原剂如Na₂存在时,该色素的色素稳定性降低。总体来说,因此该黄色素具备非常好的开发前景。

参考文献

- [1] 苏龙,詹萍,陈旭健,等.微生物产天然红色素提取技术[J]. 玉林师范学院学报:自然科学版,2008,29(3):84-86.
- [2] 郑亚军,苏冰霞,陈卫军,等. 槟榔红色素的抗氧化活性[J]. 热带作物学报,2009,30(6):881-884.
- [3] 唐秋琳,赵海,戚天胜.天然食用黄色素研究进展[J]. 中国食品添加剂,2006(2):68-73.
- [4] 邱斌,陈卫平,王青. 栀子黄色素稳定性研究[J]. 食品研究与开发,2009,30(9):190-192.
- [5] 闫绍辉,张德权. 栀子色素研究进展与开发[J]. 食品研究与开发,2000,21(6):28-31.
- [6] 陈合,李世玉,舒国伟,等. 黄姜色素提取条件的研究[J]. 陕西科技大学学报,2009,27(4):52-54,72.
- [7] Korutla L, Cheung JY, Medelsohn J, et al. Inhibition of ligand-induced activation of epidermal growth factor receptor tyrosine phosphorylation by curcumin[J]. Carcinogenesis, 1995, 16(8): 1471-1475.
- [8] Watanabe T, Terabe S. Analysis of natural food pigments by capillary electrophoresis[J]. J Chromatography A, 2000, 880: 311-322.
- [9] 许钢. 天然红花黄色素稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2000, 21(1): 16-18.
- [10] 姚艾东. 玉米黄色素的提取及工艺研究[J]. 食品工业科技, 2001, 22(4): 32-34.
- [11] 张宏宸,沈萼芮,谭毅. 玉米黄素性质和应用研究[J]. 酿酒, 2009, 36(3): 54-55.
- [12] 钟岩,李泽鸿,周丹. 桔皮黄色素提取方法的研究[J]. 北方园艺, 2008(3): 30-31.
- [13] 刘铮. 天然南瓜黄色素的性能研究[J]. 广西科学, 2004, 11(1): 58-60.
- [14] 廖振林,徐丽华,蔡淑娇,等. 一株新的海洋放线菌黄色素的提取与稳定性研究[J]. 食品科技, 2008(10): 170-172, 177.
- [15] 施思,胡承,张文学. 一株放线菌产棕色素初探及其16S rDNA序列分析[J]. 食品工业科技, 2010, 31(10): 239-240, 250.
- [16] 魏力,方加玮,周俊初,等. 一株海洋细菌的初步鉴定及其产黑色素相关新基因(簇)的分离[J]. 微生物学通报, 2007, 34(6): 1118-1122.

(下转第293页)

L^* 值为71.50, 优于表中其他实验组结果, 因此最优组合 $A_2B_2C_2$ 是可行的。

2.5 储藏期间鲜切莲藕品质的变化

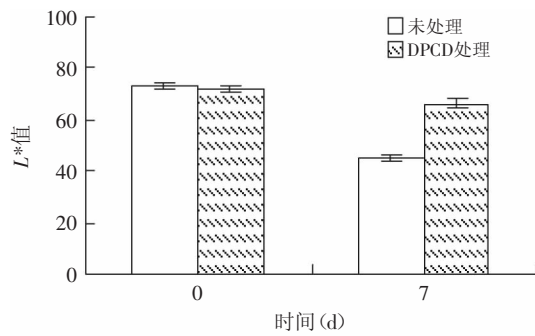


图4 褐变程度 (L^* 值) 的变化

Fig.4 The browning (L value) changes during storage

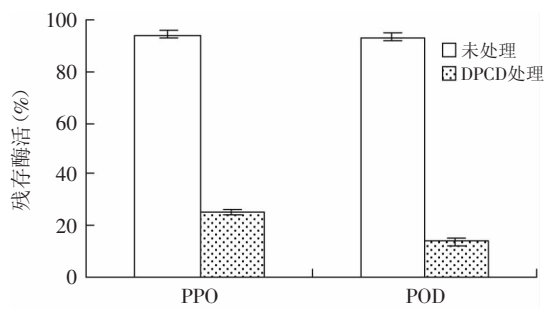


图5 一周后鲜切莲藕的酶活性

Fig.5 The residual enzyme activity after a week

图4、图5是鲜切莲藕经最优DPCD条件处理后, 储藏一周后的各指标的变化图, 未经处理的鲜切莲藕在一周后 L^* 值从73.42下降到45.32, 褐变严重, PPO、POD残存酶活仍高达94.42%和93.41%, 品质变差, 已基本无贮藏价值, 而DPCD处理很好地抑制了鲜切莲藕的褐变, 一周后 L^* 值为66.31, 色泽良好, PPO、POD残存酶活仅为22.32%、13.72%, 钝化了鲜切莲藕的酶活性, 较好地保护了鲜切莲藕的色泽和品质, 延长了莲藕的贮藏期。

3 结论

DPCD技术能很好地抑制鲜切莲藕的褐变, DPCD处理压力、时间、温度对鲜切莲藕的品质都有显著影响, 通过正交实验进行优化, 得出鲜切莲藕DPCD最

佳处理工艺条件为18MPa、30℃、30min, PPO、POD的残存酶活分别为下降到24.14%、10.84%, L^* 值为71.50。贮藏一周后鲜切莲藕色泽良好, 基本无褐变, 钝化了鲜切莲藕的酶活性, 较好地保护了鲜切莲藕的色泽和品质。

参考文献

- [1] 刘文营, 黄丽艳, 卢晓明, 等. 高密度二氧化碳技术在食品加工中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(12): 509-510.
- [2] 闫文杰, 崔建云, 戴瑞彤, 等. 高密度二氧化碳处理对冷却猪肉品质及理化性质的影响 [J]. 农业工程学报, 2010, 26(7): 346-349.
- [3] 王洪芳, 刘毅, 姚中峰, 等. 高密度二氧化碳对蛋清液中沙门氏菌和大肠杆菌杀菌效果和杀菌动力学的研究[J]. 农产品加工·学刊, 2011(7): 36-39.
- [4] Seyderheim L, Bogusiawski S. Pressure induced inactivation of selected food enzymes[J]. J Food Sci, 1996, 61: 3008-3101.
- [5] 黄永峰, 宋俊梅. ClO_2 对鲜切莲藕多酚氧化酶影响的研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(10): 995-986.
- [6] 杨修斌, 卢影, 郑建仙, 等. 复合护色保鲜液抑制鲜切梨褐变的效果[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(11): 156-160.
- [7] Spilinger S, Mantoan D, Dalser A. Supercritical gases pasteurization of apple juice[J]. Journal of Supercritical Fluids, 2007, 40(3): 485-489.
- [8] 徐玉娟, 温靖, 肖更生, 等. 高密度二氧化碳对荔枝汁品质的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(15): 71-74.
- [9] 肖建, 张静, 孟艳霞, 等. 高密度二氧化碳技术对哈密瓜汁中多酚氧化酶的钝化效果研究[J]. 食品科技, 2009, 34(5): 42-45.
- [10] 李思越. 高密度二氧化碳技术对鲜榨梨汁主要品质影响的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011: 32-38.
- [11] 张华, 董月强, 李星科, 等. 高密度二氧化碳技术对鲜切莲藕中酶活性的影响[J]. 食品与机械, 2013, 29(1): 170-172.
- [12] 于有伟, 李惠, 邱金花, 等. 壳聚糖植酸天然复合涂膜对鲜切莲藕保鲜效果的研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(3): 131-136.
- [13] 金定梁, 夏文水. 柠檬酸亚锡二钠对鲜切莲藕护色作用的研究[J]. 食品与机械, 2011, 27(4): 129-132.
- [14] 陈海光, 冯卫华, 白卫东, 等. 鲜切竹笋褐变控制的研究[J]. 中国食品学报, 2010, 10(4): 233-239.
- [15] 叶文斌, 贡汉伯, 樊亮, 等. 复合涂膜对杨梅贮藏过程中POD、PPO、PAL酶活性的影响[J]. 包装与食品机械, 2012, 30(2): 10-16.

(上接第279页)

- [17] 侯竹美, 王淑军, 赵方庆, 等. 胶州湾产蓝色素海洋链霉菌的初步研究[J]. 海洋科学, 2007, 31(5): 39-44, 57.
- [18] Maskey RP, Kock I, Helmke E, et al. Isolation and structure determination of phenazostatin D, a new phenazine from a marine actinomycete isolate *Pseudonocardia* sp. B6273 [J]. Zeitschrift Für Naturforschung, 2003, 58b(7): 692-694.
- [19] Solano F, García E, Perez D, et al. Isolation and characterization of strain MMB-1 (CECT 4803), a novel melanogenic marine bacterium[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(9): 3499-3506.

- [20] 张晔, 赵晶晶, 王锴, 等. 超声波辅助提取辣椒红色素[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(1): 71-74.
- [21] 张秋荣, 单丽红, 杜斌, 等. 超声波提取玉米黄色素的工艺研究[J]. 郑州大学学报: 工学版, 2005, 26(2): 100-112.
- [22] 谢凤霞, 邱祖民, 涂盛辉, 等. 浸提法与超声波提取法提取栀子黄色素的比较[J]. 南昌大学学报: 理科版, 2005, 29(3): 278-281.
- [23] 杜宗军, 赵苑, 李美菊, 等. 青岛近海琼胶降解细菌的筛选和多样性分析[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2007, 37(2): 277-282.