

金属离子辅助矢车菊素花色苷呈色效果的影响因素研究

韩丽婷^{1,2,3}, 张波^{*1,2,3}, 吴娟弟^{1,2,3}, 王学庆^{1,2,3}, 杨培玉^{1,2,3}, 吕转转^{1,2,3}

(1. 甘肃农业大学 食品科学与工程学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃农业大学 甘肃省葡萄与葡萄酒工程学重点实验室, 甘肃 兰州 730070; 3. 甘肃农业大学 甘肃省葡萄酒产业技术研发中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 为了解金属辅色因子在不同因素下对花色苷呈色的影响,以矢车菊素-3-O-葡萄糖苷为原材料,采用 CIELab 颜色评估法对其相关颜色指标进行分析。结果表明, K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 的加入可引起色素溶液的颜色加深,并有效增强色素溶液的贮藏稳定性,且 Al^{3+} 的辅色效果要优于 K^+ 、 Mg^{2+} 。金属辅色因子的加入可有效延缓花色苷在贮藏期内的颜色变化。同时, K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 的添加可降低由于 pH 升高造成的颜色损失,特别在强酸 (pH<3.0) 条件下更利于呈色效果的表达。此外,还研究了乙醇、葡萄糖及酚酸对金属离子辅色作用的影响,这些结果将为深入研究金属离子辅色作用,以及金属离子在保护食品色泽中的应用提供数据参考。

关键词: 金属离子; 矢车菊素-3-O-葡萄糖苷; 辅色作用; CIELab; 呈色

中图分类号: TS 201.2 文章编号: 1673-1689(2023)12-0032-11 DOI: 10.12441/spyswjs.20220804003

Investigation of Influencing Factors on Coloration Effect of Cyanidin Anthocyanins Assisted by Metal Ions

HAN Liting^{1,2,3}, ZHANG Bo^{*1,2,3}, WU Juandi^{1,2,3}, WANG Xueqing^{1,2,3},
YANG Peiyu^{1,2,3}, LYU Zhuanzhuan^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. Gansu Key Laboratory of Viticulture and Enology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 3. Research and Development Center of Wine Industry in Gansu Province, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: In order to understand the co-pigmentation effect of metal ions on the coloration of anthocyanin under different conditions, cyanidin-3-O-glucoside was used as the raw material, and CIELab color evaluation was used to analyze the relevant color indicators. The results showed that the addition of K^+ , Mg^{2+} , and Al^{3+} could lead to a deepening in the color of pigment solution, effectively enhancing its storage stability. Notably, the co-pigmentation effect of Al^{3+} was superior to that of K^+ and Mg^{2+} . The inclusion of metal co-pigments could effectively delay the color change of anthocyanin during storage. Additionally, the addition of K^+ , Mg^{2+} , and Al^{3+} could alleviate the color loss caused by an increase in pH, especially under strong acid conditions (pH<3.0), which facilitated a

收稿日期: 2022-08-04 修回日期: 2022-11-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31860440); 甘肃省科技计划项目 (20JR10RA519, 20YF3NA017); 甘肃省葡萄酒产业发展专项资金项目 (2017010)。

* 通信作者: 张波 (1983—), 男, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事葡萄酒化学与酿造研究。E-mail: zhangbo@gsau.edu.cn

more pronounced color expression. Moreover, the effects of ethanol, glucose, and phenolic acids on the co-pigmentation effect of metal ions were also studied. These results could provide data and reference for the in-depth study of the co-pigmentation effect of metal ions and their application in preserving food color.

Keywords: metal ions, cyanidin-3-O-glucoside, co-pigmentation, CIELab, coloration

近年来随着人们生活水平的不断提高和食品工业的持续发展,消费者对食用色素质量的要求也越来越高。天然色素因安全、无毒、可食用^[1],且部分具有生理活性的优势备受研究者青睐^[2-3]。花色苷作为一类广泛存在于植物中的天然色素,构成了植物中大多数品种的色彩,并赋予其加工产品独特的颜色。虽然花色苷的来源较为广泛,但是由于其化学性质不稳定,加工、贮藏过程中易受外界因素影响而限制其使用^[4-5]。因此,提高天然色素的稳定性是天然色素得以推广使用的关键。

辅色反应是一种有效提升花色苷稳定性的天然方法。通过花色苷与辅色因子的作用,形成呈色的辅色复合体,进而影响溶液的颜色特征和色泽稳定性^[6-7]。研究发现,影响辅色作用的因素有很多,包括介质的 pH、温度、离子强度、乙醇以及花色苷与辅色因子种类等。其中,酚类物质作为常见的辅色因子已在生产中得以应用,但是酚类物质的添加会引起氧化褐变或是产品口味的变化,具有一定的潜在风险^[8]。

研究显示,金属离子可作为一类辅色因子与花色苷作用用来提升溶液的色泽,表现出较强的红移能力和增色性能^[9-10]。例如,有研究者发现 Fe^{3+} 等金属离子与花色苷反应形成的红移改变,要远高于阿魏酸和芥子酸等酚类物质产生的变化^[11-12]。同时,金属离子还能增强酚类物质与花色苷的作用,提升其辅色性能^[13]。此外,金属离子还对花色苷贮藏稳定性和热稳定性有增强作用^[14]。利用 Fe^{3+} 进行辅色,可使含接骨木和紫胡萝卜色素的凝胶基质在常温 (20 ℃) 和高温 (>50 ℃) 下很好地维持花色苷的稳定^[15]。并且其在酸奶等乳制品体系中也具有良好的应用效果^[16]。而与未处理的样品相比,添加 Al^{3+} 的实验样品可显著减缓覆盆子等植物的色素提取物在贮藏过程中的降解速率,相似的结果在 K^{+} 处理的模拟红葡萄酒体系中也发现^[17]。

目前已有一些对金属离子辅色作用的研究,但多数集中在不同金属离子辅色性能的比较方面,对

金属离子辅色作用引起的呈色变化,特别是在不同因素下的呈色情况,目前的研究还很有限。例如,有研究指出,浓度大于 1.0 mmol/L 的 Al^{3+} 会使刺葡萄皮色素的颜色得到加强^[18]。含 K^{+} 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 等的化合物常作为食品添加成分以改善和提高食品品质^[19]。因此,采用 CIELab 颜色评估法,以食品中常见的 3 种金属离子 (K^{+} 、 Mg^{2+} 和 Al^{3+}) 作为辅色因子,研究其在不同因素 (辅色因子浓度、贮藏时间、pH、乙醇、葡萄糖及酚酸物质添加量等) 下对花色苷溶液呈色效果的影响,分析不同金属离子的作用差异及颜色特征,以期为进一步深入研究金属离子辅色效果和在食品中的应用提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

矢车菊素-3-O-葡萄糖苷标准品 (纯度 ≥ 98%); 中原植提标准品经销中心提供; 氯化钾 (纯度 ≥ 99.99%); 六水氯化镁 (纯度 99.99%); 六水氯化铝 (纯度 99%); 上海麦克林生化科技有限公司; 无水乙醇 (分析纯); 成都市科隆化学品有限公司; 咖啡酸 (纯度 99%); 北京百灵威科技有限公司; 绿原酸 (纯度 98%); 上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

T9CS 双光束紫外可见分光光度计; 北京普析通用仪器有限责任公司; PHSJ-3F 实验室 pH 计; 上海雷磁有限责任公司; FA2004B 电子天平; 上海佑科仪器仪表有限公司; DKT-100 干式恒温器; 杭州米欧仪器有限公司; F-100S 超声波清洗机; 深圳福洋科技集团有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 不同金属辅色因子溶液的制备 配制 pH 为 3.0、浓度为 0.2 mmol/L 的花色苷溶液和金属辅色因子 (K^{+} 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+}) 浓度为 1、5、10 mmol/L 的溶液,即花色苷与金属离子物质的量比为 1:5、1:25、1:50。将两种溶液以体积比 1:1 混合,最终花色苷浓度为 0.1 mmol/L,金属离子浓度为 0.5、2.5、5.0 mmol/L。混合

溶液置于 25 ℃避光放置 30 min 后进行 CIELab 测定。

按上述方法制备不同贮藏时间的样品。选择浓度为 10 mmol/L 的金属离子溶液与花色苷溶液等体积混合,避光置于 25 ℃恒温培养箱 0~12 d,每 3 d 取样进行 CIELab 测定。

1.3.2 不同 pH 溶液的制备 分别配制 pH 为 1.0、3.0、5.0 且浓度为 0.2 mmol/L 的花色苷溶液和金属辅色因子(K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+})浓度为 10 mmol/L 的溶液。将两种溶液以体积比 1:1 混合,最终花色苷浓度为 0.1 mmol/L,金属离子浓度为 5 mmol/L。以未加金属离子的花色苷溶液作对照,置于 25 ℃避光放置 30 min 后进行 CIELab 测定。

1.3.3 不同乙醇体积分数溶液的制备 分别配制 pH 为 3.0、浓度为 0.3 mmol/L 的花色苷溶液和金属辅色因子(K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+})浓度为 15 mmol/L 的溶液,以及体积分数分别为 0、15%、30%、60%的乙醇溶液。将 3 种溶液以体积比 1:1:1 混合,最终花色苷浓度为 0.1 mmol/L,金属离子浓度为 5 mmol/L,乙醇体积分数分别为 0、5%、10%、20%。混合溶液置于 25 ℃避光放置 30 min 后进行 CIELab 测定。

1.3.4 不同葡萄糖质量分数溶液的制备 分别配制 pH 为 3.0、浓度为 0.3 mmol/L 的花色苷溶液和金属辅色因子(K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+})浓度为 15 mmol/L 的溶液,以及质量分数分别为 0、15%、30%、60%的葡萄糖溶液。将 3 种溶液以体积比 1:1:1 混合,最终花色苷浓度为 0.1 mmol/L,金属离子浓度为 5 mmol/L,葡萄糖质量分数分别为 0、5%、10%、20%。混合溶液置于 25 ℃避光放置 30 min 后进行 CIELab 测定。

1.3.5 添加绿原酸和咖啡酸的溶液制备 分别配制 pH 为 3.0、浓度为 0.3 mmol/L 的花色苷溶液和金属辅色因子(K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+})浓度为 15 mmol/L 的溶液,以及浓度均为 15 mmol/L 的绿原酸溶液和咖啡酸溶液。将花色苷溶液、金属离子溶液与酚酸溶液以体积比 1:1:1 混合,最终花色苷浓度为 0.1 mmol/L,金属离子浓度为 5 mmol/L,绿原酸和咖啡酸浓度均为 5 mmol/L。混合溶液置于 25 ℃避光放置 30 min 后进行 CIELab 测定。

1.4 CIELab 颜色评估

使用紫外可见分光光度计,以去离子水作为对照,检测波长 400~700 nm,扫描间隔 1 nm,在 2 mm 宽度的玻璃比色皿中测定,得到吸收光谱。在 D65

和 10°的观察条件下,采用 CIELab 法计算亮度 L^* 、红绿值 a^* 、黄蓝值 b^* 、色度 C^*_{ab} 、色调 h_{ab} 及色差 ΔE^*_{120} 。

L^* 表示亮度(从 0 到 100 表示黑色到白色的变化)。 a^* 与红绿色相关(从负到正表示从绿色到红色的变化)。 b^* 与黄蓝色相关(从负到正表示从蓝色到黄色的变化)。 C^*_{ab} 与颜色鲜艳程度成正比。 h_{ab} 表示不同的颜色,如红、橙、黄、绿、青、蓝、紫^[21]。 ΔE^* 表示颜色变化的程度, ΔE^* 越大,越容易被肉眼识别,根据空间两点之间的欧几里得距离计算样品之间的颜色差异 ΔE^* ,规定 $\Delta E^*>3.0$ 时,会产生肉眼可辨别的颜色变化。参照 Ayala 等的研究^[23-24]得出 CIELab 法相关指标的计算公式,如公式(1)~(9)所示:

$$X=15.779 A_{440\text{ nm}}+16.707 A_{530\text{ nm}}+60.681 A_{600\text{ nm}}+1.503 \quad (1)$$

$$Y=6.922 A_{440\text{ nm}}+53.309 A_{530\text{ nm}}+41.728 A_{600\text{ nm}}-1.891 \quad (2)$$

$$Z=92.143 A_{440\text{ nm}}+18.648 A_{530\text{ nm}}-4.647 A_{600\text{ nm}}+1.331 \quad (3)$$

$$L^*=116 f\left(\frac{y}{y_i}\right)-16 \quad (4)$$

$$a^*=500 \left[f\left(\frac{y}{y_i}\right) - f\left(\frac{x}{x_i}\right) \right] \quad (5)$$

$$b^*=200 \left[f\left(\frac{y}{y_i}\right) - f\left(\frac{z}{z_i}\right) \right] \quad (6)$$

$$C^*_{ab}=\sqrt{a^{*2}+b^{*2}} \quad (7)$$

$$h_{ab}=\arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (8)$$

$$\Delta E^*=\sqrt{\Delta L^{*2}+\Delta a^{*2}+\Delta b^{*2}} \quad (9)$$

式中: X 、 Y 、 Z 为样品的三原色刺激值,分别表示红、绿、黄色刺激值; A_λ 为相应波长下的吸光度; λ 为相应波长,nm; x_i 、 y_i 、 z_i 为颜色匹配函数。

采用 Photoshop 2022 绘制色板并对 CIELab 数据进行颜色表征。

1.5 数据统计分析

每个处理重复 3 次,采用 Microsoft Office Excel 2016 进行数据处理。采用 Origin 2018 绘图。采用 IBM SPSS Statistics 26 对数据进行方差分析,利用 Duncan's 多重比较在置信区间 0.05 下对数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 浓度对金属离子辅色作用的影响

通过计算对照溶液颜色参数,可以看出花色苷溶液在特定浓度(0.1 mmol/L)下具有较浅的红-紫色和较为明亮的颜色特征 ($L^*=90.40$, $a^*=21.70$, $b^*=$

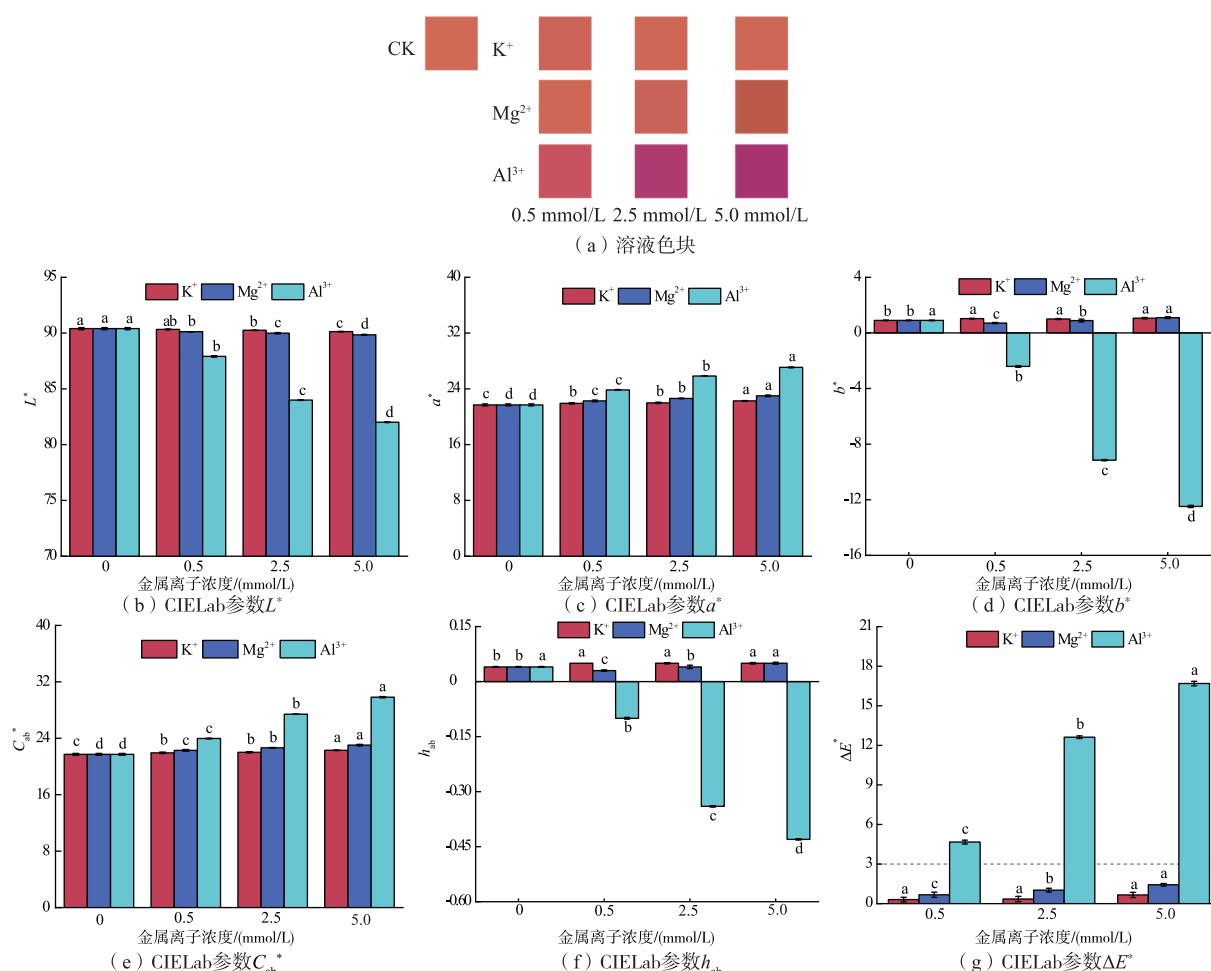
0.90, $C_{ab}^* = 21.72$, $h_{ab} = 0.04$) (见图 1)。向溶液中加入不同浓度的金属离子后,溶液体系的亮度开始逐渐下降,特别是在浓度较高的情况时(花色苷与金属离子物质的量比为 1:50),其 L^* 均达到最低,呈现较暗的亮度特征。此时溶液的 a^* 、 C_{ab}^* 、 b^* 和 h_{ab} 也分别达到了各自的极值,相比于对照溶液,显示出艳丽的红-紫色。并且随着金属辅色因子浓度的升高,溶液的颜色呈逐渐向较深的红-紫色过渡的趋势,这与张波等的研究一致^[25]。一般认为,辅色效果会在辅色因子浓度较高时较为明显。因此,添加金属辅色因子对溶液体系的颜色起到维持并加深的作用,并且随着浓度的增加,亮度逐渐变暗,红色增强,减缓了体系黄化程度的升高,增强了颜色饱和度,有助于溶液体系颜色的保持与改善。

此外, Al^{3+} 辅色效果较好, Mg^{2+} 次之,而 K^+ 相对较弱,这与吴娟弟等的研究结果一致^[26]。例如,当花色

苷与金属离子物质的量比从 1:5 到 1:50 时, Al^{3+} 的 L^* 和 b^* 分别降低了 6.71% 和 80.69%, a^* 和 C_{ab}^* 分别提高了 11.93% 和 19.62%; 相比于 Mg^{2+} 和 K^+ 处理组(物质的量比为 1:50), L^* 分别低 6.40% 和 116.14%, b^* 分别低 6.49% 和 83.52%, a^* 分别高 8.76% 和 16.41%, C_{ab}^* 分别高 10.31% 和 18.01%。比较 ΔE^* 的结果可知, Al^{3+} 在较低的浓度下,溶液就已表现出明显的色差($\Delta E^* = 4.67 > 3.00$),是同浓度的其他辅色因子(Mg^{2+} 和 K^+) 的 6.97 倍和 15.06 倍。

2.2 贮藏时间对金属离子辅色作用的影响

由图 2 可知,随着贮藏时间的推移,由于溶液体系中的花色苷会出现降解、聚合等反应,因此对照样品的颜色逐渐向浅红色方向变化(L^* 为 90.40~90.96, a^* 为 20.39~21.70), 并且更容易形成色饱和度的损失(C_{ab}^* 从 21.72 降至 20.42),影响感官体验。但是金属辅色因子的添加可明显减缓溶液的颜色



图中小写字母代表同一离子在不同浓度下的指标差异显著($P < 0.05$); 以未加金属离子的花色苷溶液为对照组(CK)。

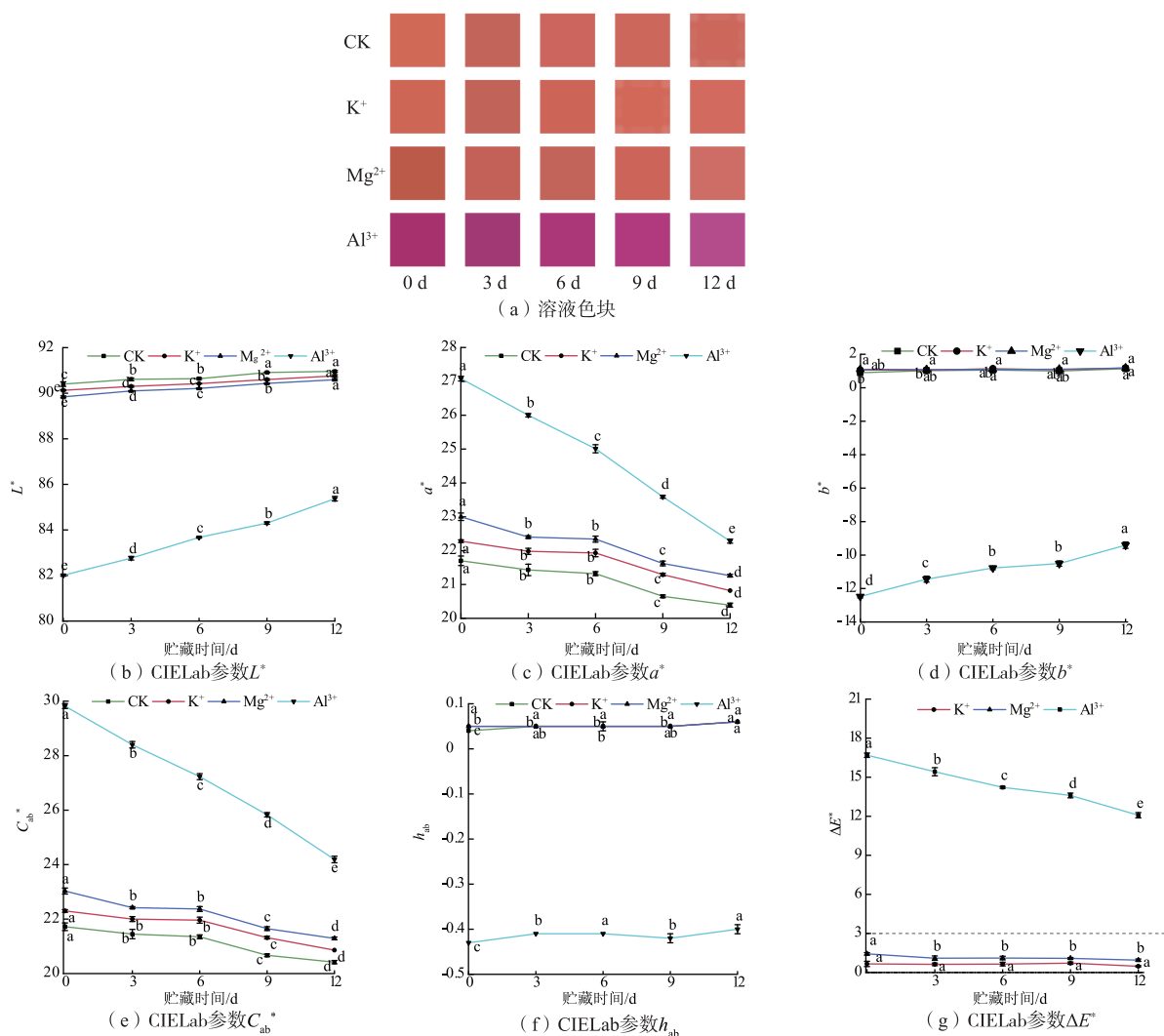
图 1 不同金属辅色因子浓度下的溶液色块及 CIELab 参数

Fig. 1 Color block and CIELab parameters of the solution under different concentrations of metal co-pigments

褪变,其 L^* 可维持在较低的程度(82.01~85.37),且 a^* 和 C^*_{ab} 明显高于对照组 8.48%~19.87%和 15.58%~27.16%,说明添加金属辅色因子后溶液的颜色更加稳定。对于辅色效果较好的 Al^{3+} 而言,还改善了溶液的黄化状况,相比对照组,添加 Al^{3+} 的溶液在贮藏 12 d 时, b^* 、 h_{ab} 分别降低了 21.15%、2.12%,表现出明显的蓝-紫色特征。经过时间的推移, Al^{3+} 辅色作用产生的颜色强度依然比其他两种离子高,相比于 Mg^{2+} 、 K^+ 引起的微弱亮度(L^* 为 89.84~90.76), Al^{3+} 对 L^* 产生的影响分别是 Mg^{2+} 、 K^+ 和对照组的 4.48 倍、5.33 倍和 6.00 倍。类似的现象在其他颜色参数(a^* 、 C^*_{ab} 、 b^* 和 h_{ab})上也有体现,例如 Al^{3+} 处理组的 a^* 分别比 Mg^{2+} 、 K^+ 处理组和对照组高 2.76 倍、3.29 倍、3.66 倍, C^*_{ab} 分别高 3.24 倍、3.91 倍、4.33 倍,而 b^*

和 h_{ab} 则低于其余组。最终金属离子在 ΔE^* 的排序为 Al^{3+} (14.40)> Mg^{2+} (1.14)> K^+ (0.63),并随着贮藏时间的延长逐渐降低。因此,与对照组相比,金属辅色因子的添加可有效改善花色苷在贮藏期的稳定性并延长花色苷溶液的贮藏期。

随着贮藏时间的延长,金属辅色复合溶液的颜色逐渐变浅,但相对对照组,处理组具有较好的颜色稳定性,这可能与花色苷和金属离子之间存在的分子间相互作用有关。这种相互作用稳定了花色苷的结构,抑制了其在溶液环境中的水化作用,延缓了花色苷溶液的颜色损失^[16]。而贮藏期间含不同金属离子的溶液间产生颜色差异,可能与离子本身的性质有关,价态较高的金属离子更容易与花色苷 B 环上的游离羟基结合,具有更好的颜色稳定性以及



图中小写字母代表同一离子在不同贮藏时间下的指标差异显著($P < 0.05$);以未加金属离子的花色苷溶液为对照组(CK)。

图 2 不同贮藏时间下溶液色块及 CIELab 参数

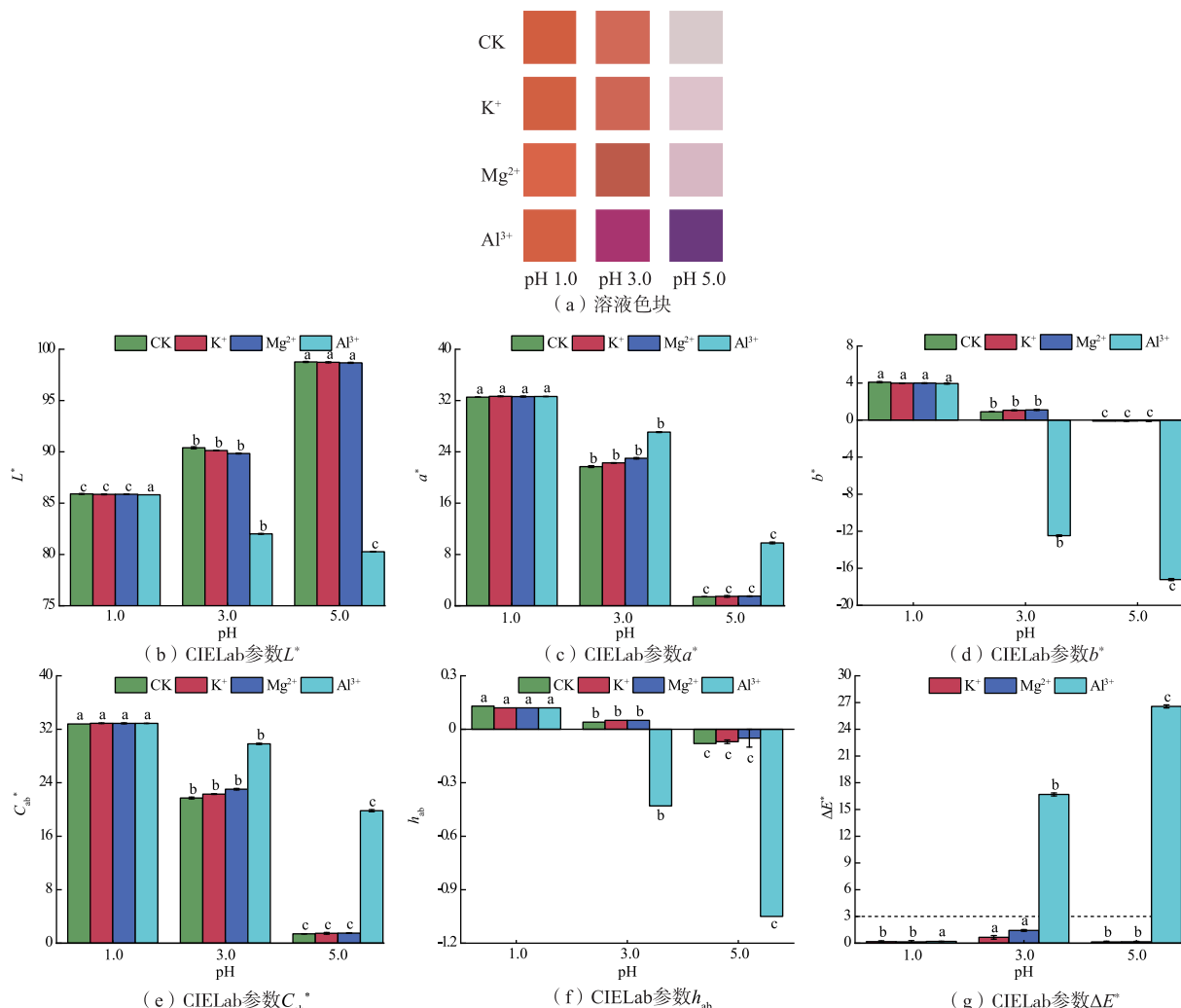
Fig. 2 Color block and CIELab parameters of the solution under different storage times

更强的增色特性^[27],从而导致溶液颜色出现差异。

2.3 pH 对金属离子辅色作用的影响

由图 3 可知,随着 pH 的升高,对照组、K⁺和 Mg²⁺处理组的 L^* 分别升高了 13.03%、13.03%、12.98%,亮度增加。同时 a^* 和 b^* 均呈下降趋势。这使实验溶液的红色剧烈下降,蓝色逐渐增强,表现出颜色变浅以及较淡的红-紫色特征。考虑可能是由于在 pH 升高的过程中,呈色的花色苷盐离子比例下降,逐渐形成无色结构的甲醇假碱及查尔酮的结果。但是相比对照溶液,添加金属辅色因子的样品可引起花色苷水解平衡向有色的盐离子方向移动,产生较大的颜色恢复,从而有效缓解由于 pH 升高造成的颜色损失。特别是 Al³⁺,由于其较强的辅色效果使溶液的 L^* 不仅未随 pH 的上升而增大,反而出现持

续下降的变化,并在 pH 为 5.0 时降至最低(80.27),降低幅度是 K⁺、Mg²⁺处理组和对照组的 18.70%、18.66%、18.72%。此外,Al³⁺处理组的 a^* 、 b^* 、 h_{ab} 、 C_{ab}^* 较 K⁺、Mg²⁺处理组均有明显降低。Al³⁺引起的变化比其他金属离子处理样品强烈。例如,在 pH 3.0 时,Al³⁺处理组的颜色指标均有所变化,相比 K⁺、Mg²⁺的 a^* 增强 9.28 倍和 4.14 倍, b^* 增强 83.63 倍和 66.90 倍, C_{ab}^* 增强 13.97 倍和 6.18 倍,而 h_{ab} 减弱。通过 ΔE^* 的数据发现,各处理在 pH 3.0 时的指标要明显高于 pH 1.0 和 5.0 时的结果(Al³⁺处理组在 pH 5.0 时除外)。尽管部分样品在 pH 3.0 时未产生肉眼可辨识的差别($\Delta E^* < 3.0$),但还是能从一定程度上表明该 pH 是较好的辅色条件。而 Al³⁺处理组的差异可能与其较高的辅色性能有关。



图中小写字母代表同一离子在不同 pH 下的指标差异显著($P < 0.05$);以未加金属离子的花色苷溶液为对照组(CK)。

图 3 不同 pH 下溶液色块及 CIELab 参数

Fig. 3 Color block and CIELab parameters of the solution under different pH values

研究显示,花色苷受 pH 的影响较大,pH 在较低范围内($\text{pH} < 2.0$),花色苷主要以红色的烺盐离子形式存在^[27],花色苷溶液的水化反应不活跃,金属离子辅色作用表现不突出^[28]。而当 pH 逐渐升高(2.0~5.0),花色苷溶液的水化反应逐渐增强。此时花色苷的结构多为无色或浅色的甲醇假碱和查尔酮形式^[27],所以加入金属辅色因子后,花色苷溶液中水化反应向辅色反应的方向移动,使原有的无色或浅色溶液表现出一定的颜色恢复,特别是在 pH 3.0 左右时,辅色效应最大^[28],有利于溶液的呈色效果。不过,溶液在 pH 作用下的呈色还与金属离子的种类有关。例如,由于 Al^{3+} 较强的辅色性能,所以相较于 K^+ 、 Mg^{2+} 而言, Al^{3+} 处理组在所测 pH 水平内均表现出较好的呈色特征。

2.4 乙醇体积分数对金属离子辅色作用的影响

由图 4 可知,随着乙醇和金属离子的添加,相

比于对照组, L^* 平均降低了 13.50%,表现出较暗的亮度特征, a^* 、 C^*_{ab} 平均增大了 25.83%和 37.77%, b^* 和 h_{ab} 均呈降低趋势。当花色苷溶液中乙醇体积分数为 5%~10%时,相比于无乙醇的溶液, K^+ 、 Mg^{2+} 处理组呈现出了辅色作用减弱的现象,其 L^* 增大了 0.15 和 0.17, a^* 和 C^*_{ab} 分别降低了 0.19、0.25 和 0.20、0.26。但是当花色苷溶液中乙醇体积分数为 20%时,辅色作用增强, K^+ 、 Mg^{2+} 处理组的 L^* 、 b^* 分别降低了 0.21、0.17 和 2.19、2.32, a^* 、 C^*_{ab} 分别增大了 1.11、0.98 和 1.18、1.05,使花色苷溶液呈现出良好的色泽。此外,当乙醇体积分数为 5%~20%时,相比于无乙醇的溶液, Al^{3+} 的添加使花色苷溶液的 L^* 、 a^* 、 b^* 、 h_{ab} 均降低,分别降低了 3.29、4.12、6.84、0.28, C^*_{ab} 增加了 0.96,溶液表现出较鲜艳的颜色,且 Al^{3+} 效果优于 K^+ 、 Mg^{2+} 。 ΔE^* 随乙醇体积分数增大而增大,其中 Al^{3+} 处理组的 ΔE^* 通过肉眼可辨。

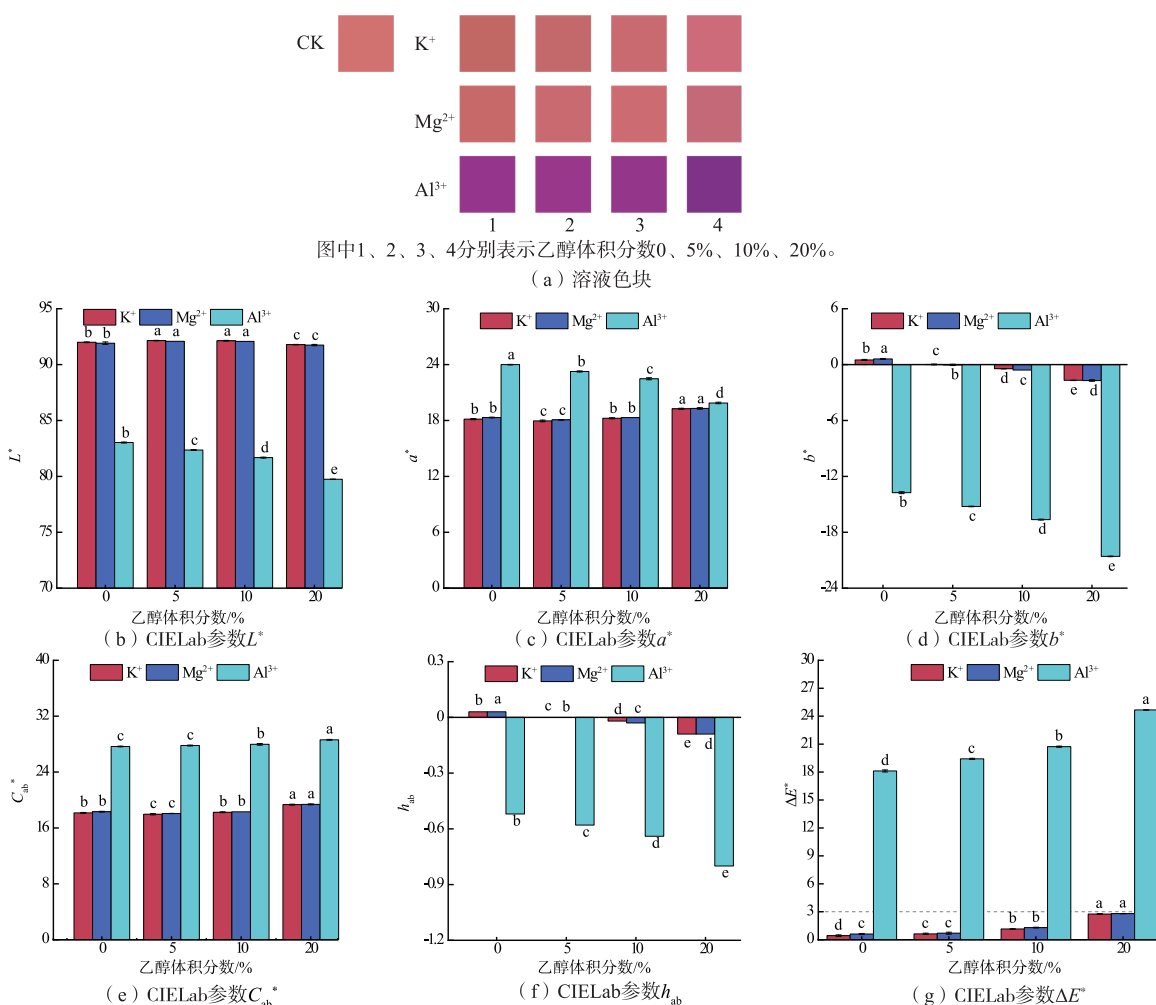


图 4 不同乙醇体积分数下溶液色块及 CIELab 参数

Fig. 4 Color block and CIELab parameters of the solution under different ethanol volume fraction

有研究表明,乙醇对辅色作用有影响,加入乙醇将破坏辅色反应体系,弱化辅色效果^[29],并且随着乙醇体积分数的上升弱化效果越强^[30]。因此,这可能是乙醇体积分数小于10%时,辅色作用较弱的金属离子(K^+ 、 Mg^{2+})呈现“反辅色”现象以及溶液颜色减退的原因之一。但也有研究发现,乙醇可作为辅色因子参与反应,提高溶液的色泽^[25]。有研究表明,乙醇在辅色作用中存在临界状态。例如,当乙醇体积分数低于临界状态(体积分数8%)时,花色苷周围水醇溶剂层的亲水端会朝向辅色物,导致辅色复合物周围的溶剂介电常数略有降低,不利于辅色物之间的反应;当乙醇体积分数超过临界状态后,花色苷周围水醇溶剂层的疏水端将朝向辅色物,导致辅色反应逐渐加强^[25,31]。所以当乙醇体积分数大于10%时, K^+ 、 Mg^{2+} 辅色作用又得到增强,不过相关原

因还需要进一步研究。

2.5 葡萄糖质量分数对金属离子辅色作用的影响

葡萄糖是食品中常见的成分,食品加工产业中会用葡萄糖代替蔗糖,来改善产品的口感。有研究表明,葡萄糖在一定的浓度范围内有较好的护色效果^[27]。因此,选择葡萄糖作为一个反应因素,分析其在金属离子辅色作用中对呈色效果的影响。根据图5可知,随着葡萄糖质量分数的变化(0~20%),添加金属离子后的花色苷溶液与对照组相比,其 L^* 、 b^* 、 h_{ab} 分别降低了0.29%~12.72%、4.69%~103.59%、25.00%~106.45%;但 a^* 、 C_{ab}^* 、 ΔE^* 却分别增加了2.92%~29.86%、2.86%~42.75%、24.02%~85.27%,颜色亮度变暗,红、蓝色增强,颜色饱和度增加。当葡萄糖质量分数最大时, K^+ 、 Mg^{2+} 处理组的 b^* 与 h_{ab} 变化相似,都为负值。而 Al^{3+} 处理组在所有葡萄糖质量

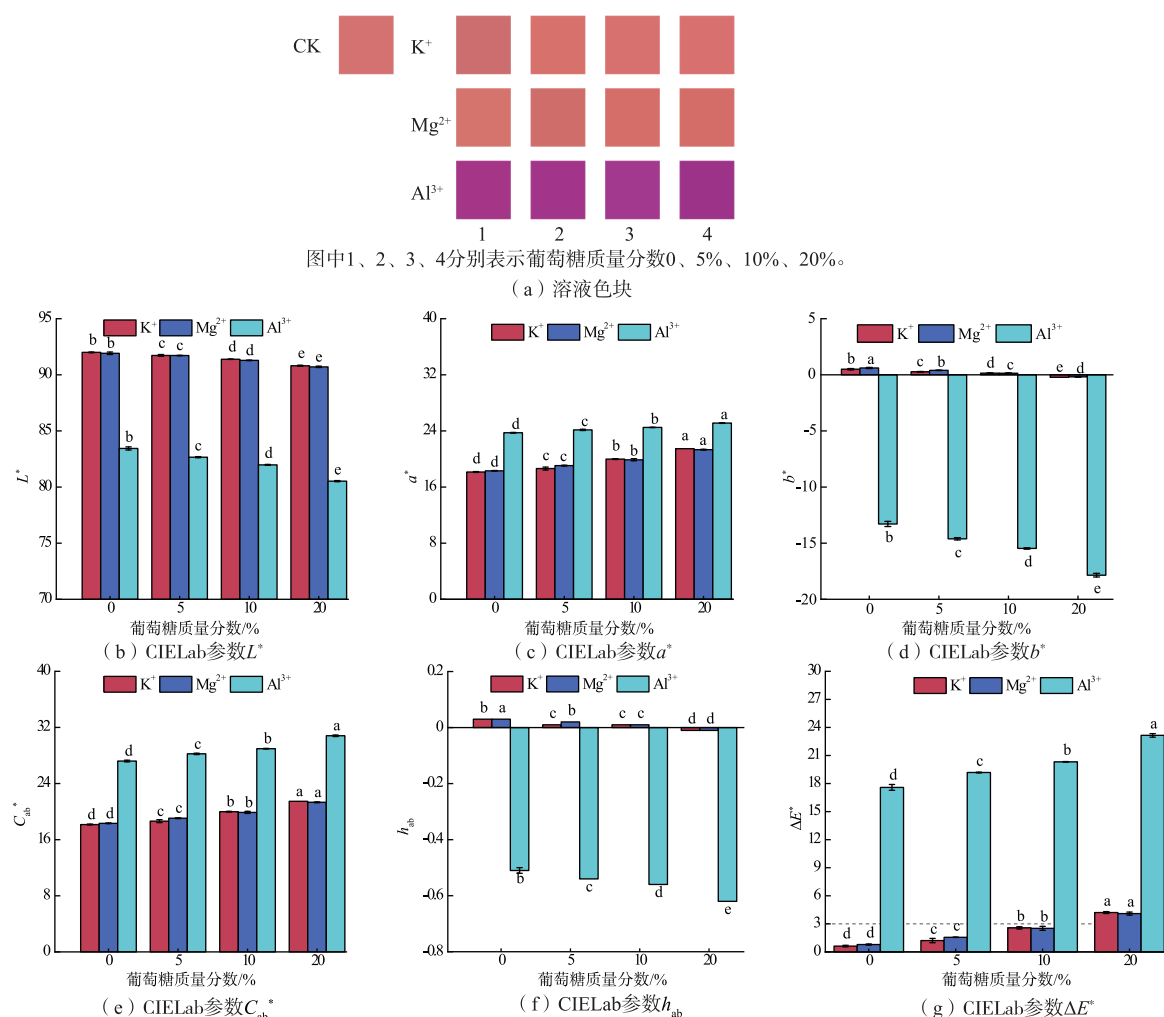


图5 不同葡萄糖质量分数下溶液色块及 CIELab 参数

Fig. 5 Color block and CIELab parameters of the solution under different glucose mass fraction

分数下, b^* 与 h_{ab} 都为负值, 在葡萄糖质量分数最大时, Al^{3+} 处理组的 b^* 分别是 K^+ 、 Mg^{2+} 处理组的 21.50 倍、22.55 倍, h_{ab} 为其余两组的 13.20 倍。因此, 随葡萄糖质量分数的增加, 添加金属离子的花色苷溶液黄色减弱且向蓝色转变, 并且 Al^{3+} 的作用效果优于 K^+ 、 Mg^{2+} 。除此之外, 当葡萄糖质量分数为 20% 时, K^+ 、 Mg^{2+} 处理组的 ΔE^* (4.21 和 4.10) 均肉眼可辨, 而在整个葡萄糖质量分数变化范围内, Al^{3+} 处理组的 ΔE^* (17.58~23.15) 均肉眼可辨。

结果表明, 葡萄糖作为一种“促进”物质, 可与花色苷和金属离子相互作用, 使其具有更稳定的护色作用。相比单独添加金属辅色因子, 葡萄糖的加入能进一步稳定色泽, 相似的研究在其他辅色复合物中也有报道。例如, 有研究者发现 Zn^{2+} 和多糖通过复合形式来保护紫玉米花色苷, 并且结合后还可改善紫玉米花色苷的颜色和化学稳定性^[32]。对于高浓度的葡萄糖与金属辅色因子结合所表现出的较强护色效果, 推测可能与高浓度葡萄糖溶液影响反应体系的水分活度和防止水分子对花色苷的亲核攻击有关^[27]。特别是 Al^{3+} , 其本身的辅色效果较强, 与适量的葡萄糖配合后可能形成协同作用, 因此对花色苷的呈色产生了积极效应。

2.6 酚酸对金属离子辅色作用的影响

由表 1 可知, 当花色苷溶液中添加绿原酸和咖啡酸时, 产生了明显的辅色效应, 并且添加绿原酸的 L^* 、 b^* 比添加咖啡酸低, 添加绿原酸的 a^* 、 C_{ab}^* 、 h_{ab} 、

ΔE^* 比添加咖啡酸分别高 0.68、0.66、0.02、1.01, 根据这些颜色指标变化趋势可以看出, 绿原酸比咖啡酸辅色效果好, 这与其分子结构有关, 含有较多甲氧基或羟基的辅色因子会与花色苷形成更稳定的复合物^[33]。另外, 当绿原酸和咖啡酸存在时, 添加 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 后, 溶液的 L^* 、 b^* 、 h_{ab} 逐渐降低, 亮度变暗, 蓝色增强; a^* 、 C_{ab}^* 逐渐增强, 溶液红色增强, 颜色饱和度增大, ΔE^* 逐渐增大。









结果表明, 在金属辅色因子存在的情况下, 酚酸对辅色作用有增强的效果。其他辅色复合物中也有相似的报道, 例如, 董楠等研究发现, 在 Cu^{2+} 和 Al^{3+} 存在的情况下, 咖啡酸对胭脂红萝卜色素具有辅色作用, 且这种作用随咖啡酸用量的增大而增强^[34]。虽然酚酸和金属离子间形成对颜色相互增强的辅色现象, 但是其中的组合不同导致相互作用的效果也有差异, 分析其原因可能与酚酸类物质的化学结构有关^[1]。因此, 当金属离子和酚酸都存在时, 绿原酸- Al^{3+} 复合物与咖啡酸- Al^{3+} 复合物呈现出的效果不尽相同, 但具体原因还需进一步研究。

3 结 语

研究了金属辅色因子浓度、贮藏时间、pH、乙醇体积分数、葡萄糖质量分数及酚酸种类对金属离子辅色作用的影响。结果表明, 辅色作用在辅色因子浓度较高时表现更明显, 金属离子浓度较大时, 花色苷溶液的颜色较深, 添加 Al^{3+} 的影响大于 K^+ 、 Mg^{2+}

表 1 添加绿原酸和咖啡酸后溶液色块及 CIELab 参数

Table 1 Color block and CIELab parameters of the solution with the addition of chlorogenic and caffeic acids

组别	溶液色块	L^*		a^*		b^*	
	绿原酸	绿原酸	咖啡酸	绿原酸	咖啡酸	绿原酸	咖啡酸
CK		90.29±0.03 ^a	90.74±0.06 ^a	21.95±0.10 ^c	21.27±0.04 ^c	-1.03±0.08 ^a	-1.50±0.04 ^a
K^+ 处理组		90.13±0.08 ^b	90.72±0.05 ^a	22.06±0.11 ^c	21.32±0.00 ^c	-0.98±0.06 ^a	-1.45±0.00 ^a
Mg^{2+} 处理组		90.03±0.02 ^b	90.59±0.08 ^b	22.35±0.06 ^b	21.50±0.10 ^b	-0.91±0.02 ^a	-1.42±0.04 ^a
Al^{3+} 处理组		84.57±0.02 ^c	84.02±0.04 ^c	22.98±0.04 ^a	21.84±0.05 ^a	-9.00±0.04 ^b	-11.79±0.06 ^b
组别	溶液色块	C_{ab}^*		h_{ab}		ΔE^*	
	咖啡酸	绿原酸	咖啡酸	绿原酸	咖啡酸	绿原酸	咖啡酸
CK		21.98±0.11 ^c	21.32±0.04 ^c	-0.05±0.00 ^a	-0.07±0.00 ^a	7.45±0.06 ^c	6.44±0.07 ^c
K^+ 处理组		22.08±0.11 ^c	21.37±0.00 ^c	-0.04±0.00 ^a	-0.07±0.00 ^a	7.60±0.08 ^c	6.48±0.02 ^c
Mg^{2+} 处理组		22.37±0.06 ^b	21.54±0.11 ^b	-0.04±0.00 ^a	-0.07±0.00 ^a	7.90±0.06 ^b	6.69±0.11 ^b
Al^{3+} 处理组		24.68±0.02 ^a	24.83±0.06 ^a	-0.37±0.00 ^b	-0.50±0.00 ^b	14.82±0.13 ^a	16.05±0.12 ^a

注: 同一行不同小写字母代表数据差异显著 ($P<0.05$); 以未加金属离子的花色苷溶液为对照组 (CK)。

的影响;金属辅色因子的加入可有效增强花色苷在贮藏期内的稳定性,延缓花色苷颜色变化。溶液 pH 能影响花色苷的颜色, K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 的添加可有效缓解由于 pH 升高造成的颜色损失,特别在强酸(pH<3.0)条件下更利于呈色效果的表达。随着乙醇体积分数的升高(0~10%), K^+ 、 Mg^{2+} 处理组呈现出颜色退化的现象,但是当花色苷溶液中乙醇体积分数为

20%时, K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 的辅色效果提高,使花色苷溶液呈现出良好的色泽。葡萄糖质量分数的增加能够提高花色苷溶液的色泽,当溶液中葡萄糖质量分数达到 20%时,金属离子辅色效果最佳,溶液颜色更加鲜艳。绿原酸和咖啡酸对金属离子与花色苷复合物的颜色有增强作用,使花色苷溶液颜色更加鲜丽。

参考文献:

- [1] 苏帆,薛佳,杨曦,等. 酚酸对红肉苹果花色苷辅色效果及稳定性的影响[J]. 中国农业科学,2017,50(4):732-742.
SU F,XUE J,YANG X,et al. Effects of phenolic acids on copigmentation and stability of anthocyanins in red-fleshed apple[J]. *Scientia Agricultura Sinica*,2017,50(4):732-742. (in Chinese)
- [2] 姚蓓,赵慧芳,吴文龙,等. 不同品种蓝莓花色苷色素稳定性的比较[J]. 食品科学,2017,38(11):142-147.
YAO B,ZHAO H F,WU W L,et al. Comparative stability of anthocyanins from five blueberry cultivars[J]. *Food Science*,2017,38(11):142-147. (in Chinese)
- [3] 由璐,隋茜茜,赵艳雪,等. 花色苷分子结构修饰及其生理活性研究进展[J]. 食品科学,2019,40(11):351-359.
YOU L,SUI Q Q,ZHAO Y X,et al. Recent progress in structural modification and physiological activity of anthocyanins[J]. *Food Science*,2019,40(11):351-359. (in Chinese)
- [4] KOPJAR M,JAKSIC K,PILIZOTA V. Influence of sugars and chlorogenic acid addition on anthocyanin content,antioxidant activity and color of blackberry juice during storage[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*,2012,36(6):545-552.
- [5] CAI D B,LI X S,CHEN J L,et al. A comprehensive review on innovative and advanced stabilization approaches of anthocyanin by modifying structure and controlling environmental factors[J]. *Food Chemistry*,2022,366:130611.
- [6] HE F,LIANG N N,MU L,et al. Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression[J]. *Molecules*,2012,17(2):1571-1601.
- [7] 唐柯,倪高玉,李记明,等. 辅色素对葡萄酒单体花色苷及颜色的影响[J]. 食品与发酵工业,2019,45(22):54-59.
TANG K,NI G Y,LI J M,et al. Effect of co-pigment on monomeric anthocyanin and color of wine[J]. *Food and Fermentation Industries*,2019,45(22):54-59. (in Chinese)
- [8] LI H,GUO A,WANG H. Mechanisms of oxidative browning of wine[J]. *Food Chemistry*,2008,108:1-13.
- [9] KUNSÁGI-MÁTÉ S,STAMPEL E,KOLLÁR L,et al. The effect of the oxidation state of iron ions on the competitive complexation of malvidin by caffeic or ellagic acid[J]. *Food Research International*,2008,41(7):693-696.
- [10] 刘婷婷,唐柯,韩业慧,等. 辅色素对单体花色苷辅色效果的研究[J]. 食品工业科技,2014,35(20):111-116.
LIU T T,TANG K,HAN Y H,et al. Copigmentation reactions between six copigments and three monomeric anthocyanins[J]. *Science and Technology of Food Industry*,2014,35(20):111-116. (in Chinese)
- [11] TACHIBANA N,KIMURA Y,OHNO T. Examination of molecular mechanism for the enhanced thermal stability of anthocyanins by metal cations and polysaccharides[J]. *Food Chemistry*,2014,143:452-458.
- [12] SIGURDSON G T,ROBBINS R J,COLLINS T M,et al. Evaluating the role of metal ions in the bathochromic and hyperchromic responses of cyanidin derivatives in acidic and alkaline pH[J]. *Food Chemistry*,2016,208:26-34.
- [13] FENGER J A,ROUX H,ROBBINS R J,et al. The influence of phenolic acyl groups on the color of purple sweet potato anthocyanins and their metal complexes[J]. *Dyes and Pigments*,2021,185:108792.
- [14] 潘飞,赵磊,周娜,等. 天然蓝色花色苷-亚铁螯合物的制备及稳定性研究[J]. 食品与生物技术学报,2021,40(5):70-77.
PAN F,ZHAO L,ZHOU N,et al. Preparation of natural blue ferrous anthocyanin chelate and its stability[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*,2021,40(5):70-77. (in Chinese)
- [15] BUCHWEITZ M,BRAUCH J,CARLE R,et al. Colour and stability assessment of blue ferric anthocyanin chelates in liquid pectin-stabilised model systems[J]. *Food Chemistry*,2013,138(2):2026-2035.
- [16] BUCHWEITZ M,BRAUCH J,CARLE R,et al. Application of ferric anthocyanin chelates as natural blue food colorants in polysaccharide and gelatin based gels[J]. *Food Research International*,2013,51(1):274-282.

- [17] CZIBULYA Z, HORVÁTH I, KOLLÁR L, et al. The effect of temperature, pH, and ionic strength on color stability of red wine[J]. **Tetrahedron**, 2015, 71(20):3027-3031.
- [18] 邓洁红, 谭兴和, 王锋, 等. 金属离子及辅色剂对刺葡萄皮色素稳定性的影响[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(11):48-53.
DENG J H, TAN X H, WANG F, et al. Effects of metal ions and copigments on the stability of vitis skin pigment[J]. **Food Research and Development**, 2009, 30(11):48-53. (in Chinese)
- [19] 王洋, 叶阳, 代路瑶, 等. 金属离子对鸡蛋清功能性质的影响研究[J]. 食品科技, 2015, 40(9):33-37.
WANG Y, YE Y, DAI L Y, et al. Influence of metal ions on functional properties of egg white[J]. **Food Science and Technology**, 2015, 40(9):33-37. (in Chinese)
- [20] GORDILLO B, CEJUDO-BASTANTE M J, RODRÍGUEZ-PULIDO F J, et al. Application of the differential colorimetry and polyphenolic profile to the evaluation of the chromatic quality of Tempranillo red wines elaborated in warm climate. Influence of the presence of oak wood chips during fermentation[J]. **Food Chemistry**, 2013, 141(3):2184-2190.
- [21] 雷用东, 邓小蓉, 罗瑞峰, 等. 3 种颜色体系在食品应用中的研究进展[J]. 食品科学, 2016, 37(1):241-246.
LEI Y D, DENG X R, LUO R F, et al. Progress in the application of three types of color system in color measurement of foods[J]. **Food Science**, 2016, 37(1):241-246. (in Chinese)
- [22] 王贵一, 于雅静, 何贵萍, 等. 金属离子对玫瑰花色苷水提液稳定性的影响[J]. 中国调味品, 2021, 46(5):161-166.
WANG G Y, YU Y J, HE G P, et al. Effect of metal ions on the stability of aqueous solution of rose anthocyanins[J]. **China Condiment**, 2021, 46(5):161-166. (in Chinese)
- [23] AYALA F, ECHÁVARRI J F, NEGUERUELA A I. A new simplified method for measuring the color of wines. I. red and rosé wines[J]. **American Journal of Enology and Viticulture**, 1997, 48(3):357-363.
- [24] 李运奎, 韩富亮, 张予林, 等. 基于 CIELab 色空间的红葡萄酒颜色直观表征[J]. 农业机械学报, 2017, 48(6):296-301.
LI Y K, HAN F L, ZHANG Y L, et al. Visualization for representation of red wine color based on CIELab color space[J]. **Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery**, 2017, 48(6):296-301. (in Chinese)
- [25] 张波, 祝霞, 盛文军, 等. 红葡萄酒中花色苷辅色化反应研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2017, 19(8):92-104.
ZHANG B, ZHU X, SHENG W J, et al. Studies on copigmentation of anthocyanins in red wines[J]. **Journal of Agricultural Science and Technology**, 2017, 19(8):92-104. (in Chinese)
- [26] 吴娟弟, 张波, 韩丽婷, 等. 金属离子及酚酸添加对模拟葡萄酒溶液辅色作用的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(6):15-24.
WU J D, ZHANG B, HAN L T, et al. Effects of metal ion and phenolic acid additions on the copigmentation of simulated wine solution[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2022, 48(6):15-24. (in Chinese)
- [27] LI X D, LI J, WANG M, et al. Copigmentation effects and thermal degradation kinetics of purple sweet potato anthocyanins with metal ions and sugars[J]. **Applied Biological Chemistry**, 2016, 59(1):15-24.
- [28] 彭常安, 姜雯翔, 袁晔, 等. 外源绿原酸对黑莓汁花色苷的辅色效果[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(6):357-362.
PENG C A, JIANG W X, YUAN Y, et al. Copigmentation effect of exogenous chlorogenic acid on anthocyanins in blackberry juice[J]. **Jiangsu Journal of Agricultural Sciences**, 2011, 27(6):357-362. (in Chinese)
- [29] HERMOSÍN G I. Influence of ethanol content on the extent of copigmentation in a cencibel young red wine[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2003, 51(14):4079-4083.
- [30] 杜文华, 刘忠义. 葡萄酒中花色苷的研究进展[J]. 食品与机械, 2011, 27(4):169-172.
DU W H, LIU Z Y. Research progress on anthocyanin of wine[J]. **Food and Machinery**, 2011, 27(4):169-172. (in Chinese)
- [31] KUNSÁGI-MÁTÉ S, ORTMANN E, KOLLÁR L, et al. Entropy-driven complex formation of malvidin-3-O-glucoside with common polyphenols in ethanol-water binary solutions[J]. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 2008, 70(4):860-865.
- [32] LUNA-VITAL D, CORTEZ R, ONGKOWIJOYO P, et al. Protection of color and chemical degradation of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.) by zinc ions and alginate through chemical interaction in a beverage model[J]. **Food Research International**, 2018, 105:169-177.
- [33] ZHANG B, HE F, ZHOU P P, et al. Copigmentation between malvidin-3-O-glucoside and hydroxycinnamic acids in red wine model solutions: investigations with experimental and theoretical methods[J]. **Food Research International**, 2015, 78:313-320.
- [34] 董楠, 宋会歌, 刘嘉, 等. 咖啡酸对胭脂萝卜红色素辅色作用及稳定性的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(7):61-64.
DONG N, SONG H G, LIU J, et al. Effect of caffeic acid on co-pigmentation and stability of Kermes radish red pigment[J]. **Food Science**, 2011, 32(7):61-64. (in Chinese)