

乌鸡黑色素抗紫外线功能的应用研究*

蔡华珍 吴 勇

(安徽科技学院工学院, 凤阳, 233100)

摘 要 探讨了乌鸡黑色素的抗紫外线功能。结果表明:当乌鸡黑色素水悬液浓度高于 0.009 mg/mL 时,对紫外线照射的唾液链球菌嗜热亚种和德氏乳杆菌保加利亚亚种,以及食品中的 Vc 有明显的保护作用,浓度越高保护作用越强;黑色素的保护作用随着照射时间的延长而减弱,但与对照相比差异仍极显著($P < 0.01$);黑色素经光照、室温或低温处理后,其抗紫外线性质几乎未受影响,高温处理则影响较大,温度越高影响越严重,但与对照相比仍具有较强的抗紫外线功能。

关键词 乌鸡, 黑色素, 紫外线

近年来研究发现,乌鸡的药用机理与其体内的黑色素密切相关^[1,2]。乌鸡黑色素具有抗诱变作用,可以避免紫外线引起的急慢性改变,还具有清除自由基、抗氧化功能,从而预防癌症、抗衰老、提高机体的免疫力^[3,4]。

在食品加工中,乌鸡黑色素是一种优良的功能型添加剂^[5]。目前,对于乌鸡黑色素在食品中的功能作用研究报道的不多,本研究从紫外线的角度探讨乌鸡黑色素对食品成分的保护作用,为进一步探讨乌鸡黑色素的功用,也为乌鸡产品的综合利用奠定一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材 料

乌鸡:江西省泰和县生物谷食品科技工业园;木瓜蛋白酶(U/mg \geq 6 000):国药集团化学试剂有限公司;脱脂奶粉、青椒,市售。

1.1.2 菌 种

唾液链球菌嗜热亚种(1.1855)(*Bulgaricus Streptococcus salivarius subsp*, 简称 St),德氏乳杆菌保加利亚亚种(1.1480)(*Lactobacillus delbrueckii subsp*, 简称 Lb),购于中国科学院微生物研究所。

1.1.3 培养基

MRS 琼脂培养基(培养 St, 调 pH 7.2~7.4;培养 Lb, 调 pH 6.2~6.4)。

1.1.4 主要试剂

草酸(AR),抗坏血酸(AR),2,6-二氯酚(AR),

碘酸钾(AR),淀粉(AR)等。

1.2 实验方法

1.2.1 乌鸡黑色素的提取工艺^[5]

全净膛乌鸡→剔骨取肉→绞碎→加热(肉水质量比 1:1, 100℃ 15 min)→木瓜蛋白酶酶解(质量分数 3.8%, pH 5.5, 65℃ 2 h)→风味酶酶解(质量分数 0.6%, pH 6.0, 55℃ 6 h)→灭酶→过滤→离心(10 000 r/min, 5 min)→沉淀物→乙醚、蒸馏水反复洗涤、离心→沉淀物→冷冻干燥→黑色素。

1.2.2 乌鸡黑色素对紫外线照射乳酸菌的保护作用^[6]

以脱脂乳为培养基活化菌种,取充分活化的菌液于已灭菌的三角瓶中,按菌液:无菌生理盐水体积比 1:9 的比例加入无菌生理盐水,震荡 30 min,打碎菌块,制得菌悬液备用。

1.2.2.1 不同浓度黑色素的抗紫外线能力

取 10 mL 菌悬液分别与 1 mL 浓度为 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/mL 黑色素水悬液于平皿(ϕ 90 mm)中充分混合,标记为 A、B、C、D、E 5 组,以 10 mL 菌悬液 + 1 mL 无菌水的平皿为对照组,置 20 W 紫外灯下方 30 cm 处照射 10 min,其间经常振摇平皿;每组取出 1 mL 按 10 倍稀释法稀释,取 0.1 mL 合适稀释度菌液涂布于 MRS 琼脂平板上,置于 42.5℃ 恒温培养箱中培养 12~24 h 后进行菌落计数。同法,每组于照射前进行平板培养计数,比较照射前后菌落数差别,用活菌率表示。实验重复 3 次。

活菌率 = 照射后的平均菌落数 / 照射 0 min 时的平均菌落数

1.2.2.2 紫外线照射时间对乌鸡黑色素抗紫外线功能的影响

取 10 mL 菌悬液与 1 mL 浓度为 2 mg/mL 的黑色素水悬液于平皿(ϕ 90 mm)中充分混合,以 10 mL

第一作者:硕士,教授。

* 安徽科技学院学科建设项目(No. YZ2004-13)

收稿日期:2006-09-15, 改回日期:2006-10-12

St 菌悬液 + 1 mL 无菌水为对照组,置于 20 W 紫外灯下方 30 cm 处照射,其间经常振摇平皿。在照射的 0、2、4、6、8、10 min 后取样,按 1.2.2.1 方法进行活菌培养计数。

1.2.3 乌鸡黑色素对 Vc 的保护作用^[7]

称取 150 g 青椒,加等量的质量分数为 2% 草酸溶液,捣成匀浆。称取 10.00 g 浆状样品于小烧杯中,实验组添加 20 mg 黑色素,以不加黑色素者为对照,2 组均置于 20 W 紫外灯下方 30 cm 处照射。其间经常振摇平皿,在照射的 0、30、60、120 min 后每组各取出一个烧杯,用质量分数为 1% 草酸溶液将样品移入 100 mL 容量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,过滤,白陶土脱色,弃去最初数毫升滤液,然后迅速吸取 5 mL 滤液,置于 50 mL 三角烧瓶中,按 2,6-二氯酚的方法测定 Vc 含量,实验重复 3 次。

1.2.4 温度、光照对黑色素抗紫外线性能的影响

1.2.4.1 温度的影响

将黑色素分装于洁净的称量瓶中,分别采用 0、25、85、100℃ 处理 4 h,然后配成 1 mg/mL 黑色素水悬液,另设一组不加黑色素的无菌水组。黑色素水悬液组、无菌水组与菌悬液的混合,紫外线处理,以及稀释、涂布、培养和菌落计数,按 1.2.2.1 方法进行。

1.2.4.2 光照的影响

将黑色素分装于洁净的称量瓶里,分别于光照培养箱中进行 300、2 700lx 12 h 光照,其间经常翻动黑色素。将经处理的黑色素配成 1 mg/mL 水悬液,另做一组不加黑色素的无菌水组。按 1.2.2.1 的方法进行菌液混合、紫外线处理、以及细菌培养计数。

1.3 统计方法

数据均以平均值表示,采用 Microsoft Excel 软件,进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 乌鸡黑色素对紫外线照射乳酸菌的保护作用

2.1.1 不同浓度黑色素液对紫外线照射乳酸菌的保护作用

由表 1 可知,黑色素对乳酸菌有很强的保护功效。当菌悬液中黑色素浓度在 0.009 mg/mL 时(A 组),活菌率与未加黑色素的对照间存在极显著差异 ($P<0.01$),对照组的活菌率只有 0.006 3%,而 A 组达 0.02%,是对照的 3 倍多。随着黑色素量的增加,St 的活菌率随之大幅增加,但增幅呈减小趋势。

在对 Lb 的研究中,发现 Lb 与 St 有着相同的规律,但 Lb 的活菌率上升比例略小于 St,可能 Lb 对紫外线耐受能力略小于 St。

为了研究方便,以下的实验中,选用 St 进行研究。

表 1 不同浓度黑色素对紫外线照射后 St 菌落数的影响

组别	菌落数		活菌率/%
	照射前($\times 10^{-6}$ 个)	照射后(个)	
对照	2.3 \pm 0.13	144 \pm 7.1	0.006 3
A	1.9 \pm 0.13	380 \pm 9.19	0.02
B	2.0 \pm 0.05	3 600 \pm 13.43	0.18
C	2.0 \pm 0.23	15 000 \pm 3 818	0.75
D	2.0 \pm 0.09	25 400 \pm 3 182	1.27
E	1.9 \pm 0.18	36 500 \pm 4 596	1.92

注:表 1 中数据为重复测定的平均值 \pm 标准差,下同。

2.1.2 不同紫外线辐照时间对照射菌的黑色素保护作用的影响

由表 2 可明显看出,随着照射时间的延长,各组活菌率均随之显著下降,然而,黑色素组在各照射时间段的活菌率均远远高于对照组。照射 2 min 后,黑色素组的活菌率达 83.87%,对照只有 1.29%。黑色素组能忍耐 10 min 紫外线照射,而对照组 8 min 后活菌率即几乎为零。

2.2 黑色素对 Vc 的保护应用

黑色素对 Vc 也具有一定的保护作用,由表 3 可知,在紫外线照射 30 min 时,黑色素的保护功能不明显,但当照射达 60 min 时,与对照差异极显著 ($P<0.01$)。

表 2 不同紫外线照射时间对 St 菌落数的影响

照射时间/min		0	2	4	6	8	10
对照组	残存菌落数/个	5.8×10^6	7.5×10^4	7.0×10^3	3.6×10^3	1.2×10^2	<10
	活菌率/%	100	1.29	0.12	0.062	0.002 1	0
黑色素组	残存菌落数/个	6.2×10^6	5.2×10^6	7.0×10^5	2.98×10^5	2.1×10^4	1.55×10^4
	活菌率/%	100	83.87	11.29	4.81	0.34	0.25

黑色素对 Vc 保护作用可能基于黑色素的抗氧化功能以及对紫外线的吸收功能。Vc 由紫外线引起

的氧化作用需要一定的时间,所以,在照射近 60 min 时,表现出了黑色素的功能。

表3 黑色素对Vc的保护作用 $\times 10^2 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

组别	照射时间/min			
	0	30	60	120
对照组	2.10 \pm 0.026	1.95 \pm 0.025	1.58 \pm 0.035	0.98 \pm 0.035
实验组	2.06 \pm 0.041	1.97 \pm 0.015	1.91 \pm 0.015**	1.56 \pm 0.065**

注: ** 表示与对照相比差异极显著, $P < 0.01$

2.3 不同温度、光照处理对黑色素抗紫外线功能的影响

从表4中可以看出,不同温度处理黑色素,对黑色素保护功效的影响不同。室温(25℃)或低温处理(0℃)对黑色素的功能几乎没有影响,当温度高于85℃则影响较大,温度越高影响越严重。尽管如此,与不加黑色素的无菌水组相比差异仍极显著,说明处理后的黑色素仍然具有较强的抗紫外线功能。

表4 温度处理的黑色素对辐照St保护作用的影响

温度(℃)	菌落数		存活率/%
	照射前($\times 10^{-6}$ 个)	照射后(个)	
无菌水组	2.8 \pm 0.54	95.5 \pm 23.33	0.003 4
0	3.15 \pm 0.2	35 900 \pm 4 384	1.14
25	2.25 \pm 0.16	25 050 \pm 1 768	1.11
85	3.04 \pm 0.24	26 700 \pm 2 263	0.88
100	2.9 \pm 0.52	22 450 \pm 1 768	0.79

表5表明,黑色素经300、2 700 lx的光照处理对St活菌率几乎没有影响,说明普通光照对黑色素的保护功效无不利作用。

表5 不同光照处理黑色素对辐照St保护作用的影响

光照/lx	菌落数		活菌率/%
	照射前($\times 10^{-6}$ 个)	照射后(个)	
300	3.05 \pm 0.40	27 900 \pm 3 394	0.96
2 700	2.7 \pm 0.23	24 750 \pm 4 031	0.91

3 结 论

(1) 乌鸡黑色素水悬液的浓度在0.009mg/mL以上时,能有效地保护St、Lb少受紫外线的损害;黑色素的保护作用随着照射时间的延长而减弱,但与对照相比差异仍极显著。

(2) 黑色素对Vc具有保护作用,在紫外线照射60min后,黑色素表现出较强的保护Vc的功能。

(3) 室温或低温处理黑色素对其功能几乎没有影响,但温度达85℃以上时则影响较大,温度越高影响越严重;黑色素对光较稳定,自然光照不改变其对St的保护作用;温度、光照处理过的黑色素仍具有较强的抗紫外线功能。

参 考 文 献

- 1 李 华,邱祥聘,龙继蓉. 乌骨鸡黑色素的研究进展[J]. 畜牧与兽医,2002,34(8):33~36
- 2 徐幸莲,陈伯祥,熊明民. 黑色素的研究进展[J]. 中国畜牧与食品,1997,4(3):135~136
- 3 袁 纛,袁 星,白庆余. 乌骨鸡黑色素抗诱变作用的初步研究[J]. 动物学报,1996,20(5):301~303
- 4 徐幸莲,庄苏,陈伯祥. 乌骨鸡对延缓果蝇衰老的作用[J]. 南京农业大学学报,1999,22(2):105~108
- 5 蔡华珍,陈守江,张 丽,等. 乌骨鸡黑色素的酶法提取及其抗氧化作用的初步研究[J]. 食品与发酵工业,2006,32(1):99~101
- 6 宁 华. 黑色素对苏云金芽孢杆菌抗紫外线的作用研究[J]. 湖北教育学院学报,2000(9):90~93
- 7 黄伟坤. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社,1997. 395

Applied Study on Ultraviolet Resistance of Silky Fowl Melanin

Cai Huazhen Wu Yong

(Engineering College, An Hui Science and Technology University, Fengyang 233100, China)

ABSTRACT Ultraviolet(UV) resistance of Silky fowl Melanin was studied with its application to food. The result indicated: the melanin had an obvious function protecting *Streptococcus salivariu* ssp. *thermophilus* Lac. delbrueckii subsp. bulgaricus, and Vc in green capsicum against ultraviolet irradiation when the concentration of the melanin suspending in water was equal to or above 0.009mg/mL. With increasing of the melanin concentration, the protection function of the melanin was also enhanced. And the protection function of the melanin became weak as UV irradiation time prolonged, but there were extremely significantly difference ($P < 0.01$) between the experimental group and the control group. Contrary to higher temperature, the UV resistance of the melanin had no affected after treated with room temperature, lower temperature, and visible light. Though the UV resistance was reduced significantly by higher temperature treatment, the experimental group was still higher than the control group.

Key words Silky fowl, melanin, ultraviolet radiation