

河东乌麦色素提取及其理化性质的研究

余杰 郭慧敏 陈美珍

(汕头大学生物系, 汕头, 515063)

T5202 A

摘要 首次从河东乌麦麸皮中提取一种天然红色素, 用酸性乙醇水溶液提取, 粗色素得率为 14.7%。经光谱学、薄层色谱及定性分析初步推断该色素为水溶性黄酮类花色苷色素, 主要由 3 种组分组成。理化性质试验表明, 该色素吸收光谱随 pH 值而改变, pH=3.0 时, 色素的 λ_{\max} 为 530 nm; 该色素对短时间高温耐受性较好, 但光稳定性及耐氧化还原性差; 2N^{2+} 、 K^+ 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Al^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对色素无不良影响, Fe^{3+} 使其变色; 蔗糖、食盐、柠檬酸能使色素增色, 茶多酚有突出的增色、稳定作用; 质量分数 0.1% 的苯甲酸钠和山梨酸钾对色素影响不大; 急性毒性实验表明该色素为实际无毒。

关键词 河东乌麦, 色素, 提取, 理化性质

天然色素主要存在于植物体内, 由于具有纯天然、色泽鲜艳、安全性高等特点而倍受关注。近年来发现黑色植物资源具有独特的营养价值和保健功效。研究表明, 黑色植物营养与其颜色的深浅有一定的相关性^[1], 这预示着研究开发黑色植物天然色素的价值和潜力。

河东乌麦(526)是山西运城小麦研究开发中心近年来选育成功的黑小麦新品种, 其各种营养成分含量显著高于白粒小麦, 具有较高的营养保健价值^[2], 是理想的黑色食品新资源。河东乌麦富含天然色素, 具有很大的开发利用价值^[3], 对河东乌麦色素的抗氧化试验表明, 它具有较强的清除氧阴离子自由基的作用(将另文发表)。本文从河东乌麦麸皮中提取色素及其理化性质进行研究, 为进一步开发新的天然色素以及综合利用河东乌麦资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

河东乌麦(526)麸皮, 由山西省运城小麦研究所提供。

1.2 仪器及试剂

751G 型紫外分光光度计, 岛津红外光谱仪, pH5-2 型精密酸度计, ZFQ-85 型旋转蒸发仪, 日立 CT5DL 型离心机, HH-2 型恒温水浴锅, 磁力搅拌器。

质量分数 95% 乙醇、乙醚、 H_2O_2 、Vc、柠檬酸、 NaHSO_3 等为分析纯, 蔗糖、茶多酚、山梨酸钾、苯甲酸钠等为国产食品级。

1.3 试验方法

1.3.1 色素的提取

新鲜乌麦麸皮用乙醚脱脂处理后, 加入 pH 3.0 的体积分数 60% 乙醇溶液, 料液比为 1g:15 mL, 室温下浸提 12 h, 再于 60℃ 搅拌回流提取 2 h, 过滤、离心, 上清液经减压浓缩、回收溶剂、真空干燥后得到紫红色干燥固体粗色素; 取上述浓缩液过硅胶层析柱, 用 pH 3.0 的乙醇洗脱, 收集带红色的洗脱液, 经浓缩、反复冷却结晶和重结晶, 得深红色色素粉末, 备用。

1.3.2 色素薄层色谱分析

采用硅胶 GF₂₅₄ 为薄层层析支持物, 以 BAW V(正丁醇):V(醋酸):V(水)=4:1:5 为展开剂, 将乌麦色素提取液点样后在室温(21℃)下展层, 在紫外光下显色并测量层析斑点的 R_f 值。

第一作者: 学士, 副教授。

收稿时间: 2002-07-13, 改回时间: 2002-09-15

1.3.3 色素的光谱学分析

将适量色素溶解于 pH 1 的体积分数 60% 乙醇溶液中, 在 200~620 nm 波长范围, 以乙醇作参比测定其吸收光谱; 取上述纯化色素与 KBr 混合研磨压膜, 用红外光谱仪扫描吸收谱图。

1.3.4 色素的呈色反应

取适量色素溶液分别与盐酸-镁粉、中性醋酸铅饱和溶液、质量分数 1% 三氯化铁溶液等试剂反应, 根据反应的颜色变化情况对色素进行初步化学定性^[4]。

1.3.5 色素理化性质试验

加入各种溶剂考察乌麦色素(固状提取物)的溶解性能; 在不同的 pH 值、温度、光照条件下分别测定色素溶液吸光值或观察其颜色的变化; 在色素溶液中添加不同浓度的金属离子、氧化还原剂和食品添加剂, 于 λ_{\max} 处, 试剂空白作参比, 测定吸光值, 结果用吸光值或保留率表示。保留率 = (末吸光度/初始吸光度) $\times 100\%$ ^[5]。

1.3.6 色素急性毒性试验

采用霍恩氏(Horn)法^[6]。取昆明种小白鼠(由汕头大学医学院动物实验中心提供)20只, 体重(20 \pm 2) g, 雌雄各半, 随机分成4组, 给药前小白鼠隔夜禁食, 分别以粗色素(蒸馏水为溶剂)1.0、2.15、4.64、10.0 g/kg 的剂量24 h内多次灌胃, 给药后小白鼠自由摄食、饮水, 连续观察7d, 随时记录出现的症状和死亡情况。

2 结果与讨论

2.1 乌麦色素提取得率

按 1.3.1 所述提取方法, 从河东乌麦麸皮中提取粗色素的平均得率达 14.7%。

2.2 乌麦色素的光谱特征及呈色反应

从乌麦色素的体积分数 60% 乙醇溶液(pH=1)的紫外-可见光吸收曲线(如图1所示)可看出, 该色素在紫外区 270 nm 附近和可见光区 530 nm 处有最大吸收。与有关文献及图谱比较可知, 该谱带为黄酮类花色苷

化合物所特有^[7-9]。色素溶液中加入盐酸-镁粉, 产生粉红色气泡; 加入中性饱和醋酸铅, 出现灰白色沉淀, 最终色素暗红色消失; 与质量分数 1% 三氯化铁溶液反应, 溶液颜色变为深褐色, 亦反映该色素具有黄酮类花色苷的共同特征。

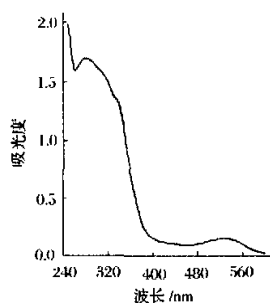


图1 乌麦色素乙醇溶液的紫外-可见光谱

图2红外光谱显示, 乌麦色素在 3 350 cm^{-1} 有吸收, 可推断色素中有 OH 存在; 在 2 900 cm^{-1} 吸收表明, 有芳香族联苯环结构; 在 1 720 cm^{-1} 、1 190 cm^{-1} 吸收表示有四取代苯环及 C=O 结构; 在 1 040 cm^{-1} 吸收表明, 存在 C—O 结构。因此, 可初步推断乌麦麸皮所含红色素的主要成分为黄酮类花色苷化合物。

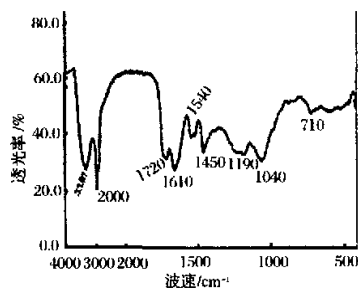


图2 乌麦色素的红外光谱

2.3 乌麦色素薄层色谱分析

用薄层层析将乌麦色素分离得到3个明显展层色斑, 其 R_f 值分别是 0.40、0.21、0.09, 由此可知该色素至少由3种组分组成。

2.4 乌麦色素的理化性质研究

2.4.1 乌麦色素溶解性

常温下取固体色素,分别用不同溶剂进行溶解试验,结果(见表1所示)显示,该色素不溶于乙醚、石油醚、 CHCl_3 和 CCl_4 等非极

性溶剂,易溶于水、酸、醇等极性溶剂,并呈不同程度的红色,属水溶性色素。

表1 乌麦色素的溶解性

溶 剂	水	乙 酸	乙 醇	甲 醇	体积分数 60%酸性乙醇	乙 醚	CHCl_3	CCl_4	丙 酮	乙酸乙酯
溶解性	易溶	易溶	易溶	易溶	易溶	不溶	不溶	不溶	不溶	不溶
色 泽	橙红	深红	橙红	橙红	紫红	-	-	-	-	-

2.4.2 乌麦色素对 pH 的反应

配制不同 pH 值的色素稀溶液,静置 1 h 后以蒸馏水作参比,在 400~600 nm 波长范围内测定吸光度并观察其颜色变化(如图3所示)。随 pH 值改变,色素的 λ_{max} 基本不变,而峰高变化却十分明显。在 pH 1~4 之间, pH 值升高 1.0,吸光度就下降 0.2~0.3,色素的红色亦由深变浅。当 pH>5 时,吸收峰都消失。色素溶液色调随 pH 值改变而呈可逆性变化:紫红色(pH≤4)⇌橙红色(pH5~6)⇌黄至黄绿色(pH7~11)。可见该色素对介质酸碱性的变化较敏感,这一现象正是花色苷类色素的特性之一。由于花色苷的苯基苯并吡喃环上缺电子,在不同 pH 条件下有多种结构形态存在,介质的氢离子浓度变化使色素结构发生可逆性改变,因而出现不同的色调^[10]。在实际应用中,乌麦色素适合于酸性条件下使用。

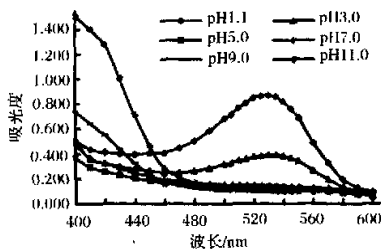


图3 色素在不同 pH 时的吸收光谱

2.4.3 乌麦色素耐热性

取 pH 3.0 的色素稀溶液分装于 50 mL 具塞比色管中,分别置于 60、80、100℃ 水浴中保温,定时取样,迅速冷却至室温后,在 530 nm 下测其吸光度并计算保留率,结果如图4所示。从图4可知,高温及受热时间对

色素稳定性都有一定影响,且受热时间越长,对色素破坏就越大。加热温度小于 100℃,受热时间为 1 h 内,色素较稳定(保留率>91%),色素溶液颜色无变化,表明乌麦色素在高温短时间的条件下耐热性较好。

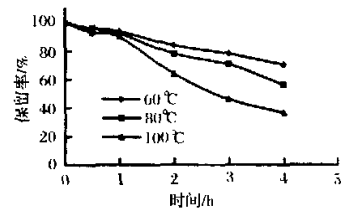


图4 不同温度对色素的影响

2.4.4 乌麦色素光稳定性

取稀释至一定浓度 pH 3 的色素溶液分置于 50 mL 比色管中,分别在直射日光、室内自然光及避光条件下密封存放,定时测定其保留率,结果如表2所示。从表2可知,日光直射对色素的破坏作用最大,日光照射 8 h,

表2 光照对色素的影响(保存率/%)

时 间	日光直射	自然光	避 光
0	100	100	100
1 h	92.7	-	-
4 h	75.5	-	-
8 h	62.0	-	-
3 d	-	95.6	98.2
7 d	-	88.9	97.3
15 d	-	75.3	94.6
35 d	-	68.4	90.1
60 d	-	60.0	88.7

色素损失 38.0% 并明显褪色。避光贮存比室内自然光下贮存的色素保留率高得多,前者贮存 60 d 达 88.7%,颜色变化很小,后者

保留率仅为 60%。试验表明, 乌麦色素对光不稳定。因此, 提取和应用时应尽量避免日光照射, 以确保产品色泽。

2.4.5 金属离子对乌麦色素的影响

在 pH 3 的色素溶液中分别添加不同的盐类, 使金属离子浓度达 80 $\mu\text{g/mL}$, 放置 24 h, 于 $\lambda_{\text{max}} = 530 \text{ nm}$ 处测其吸光度并观察溶

液颜色变化, 结果如表 3 所示。从表 3 可知, 除 Sn^{4+} 、 Fe^{3+} 外, 金属离子对色素无不良影响, 且无沉淀产生。 Fe^{3+} 的影响较大, 使吸光值大大下降, 色素变色, 并伴有沉淀。由此可见, 该色素对多数金属离子具有良好的稳定性。

表 3 金属离子对色素的影响(吸光度)

时 间/h	空 白	Zn^{2+}	K^{+}	Cu^{2+}	Sn^{4+}	Mn^{2+}	Al^{3+}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Fe^{3+} *
0	0.300	0.302	0.303	0.302	0.309	0.306	0.302	0.303	0.303	0.408
24	0.297	0.300	0.301	0.299	0.280	0.301	0.300	0.302	0.301	0.288
颜 色	紫 红	紫 红	紫 红	紫 红	紫 红	紫 红	紫 红	紫 红	紫 红	棕 黄

* Fe^{3+} 的浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4.6 氧化还原剂对乌麦色素的影响

表 4 显示了乌麦色素溶液(pH 3), 分别添加 Vc、茶多酚、 H_2O_2 及 Na_2HSO_4 放置 2 h 后的保留率。由表 4 可知, 低浓度(质量分数 0.1%) 的 Vc 对色素无影响, 但当其质量分数增至 1.0% 时, 保留率大幅下降, 说明该色素对 Vc 敏感。 H_2O_2 、 Na_2HSO_4 对色素有较强褪色作用, 其浓度越高, 色素保留率越低。其中 Na_2HSO_4 影响最大, 可能的原因是 SO_2

作用于花色苷类色素的苯并吡喃环的 C_4 上, 生成了一种无色物质^[11]。

茶多酚对色素具有较强增色、稳定作用, 随浓度增加和时间的延长, 其作用愈明显。试验中曾在色素溶液中加入质量分数 0.04% 的茶多酚, 再分别经加热及日照处理, 结果显示, 65℃ 加热 3 h 和日晒 5 h 后, 色素保留率比空白对照样分别提高了 2 倍与 38.7%。

表 4 氧化还原剂对色素的影响

质量分数	Vc			茶多酚		H_2O_2		NaHSO_3	
/ %	0	0.1	1.0	0.01	0.04	0.1	0.5	0.1	0.5
保留率/%	100	99.2	64.9	112.5	130.6	87.5	57.8	18.3	9.9
颜 色	紫 红	紫 红	浅 红	深红色		浅 红		淡 红	

2.4.7 食品添加剂对乌麦色素的影响

在 pH 3.0 色素溶液中加入不同浓度的食盐、糖、柠檬酸、山梨酸钾和苯甲酸钠, 室温下放置 24 h, 测其吸光度并计算保存率。从试验结果(见表 5 所示)可知, 添加一定浓度的蔗糖、柠檬酸和 NaCl 后, 色素溶液的保留率提高(吸光度增大), 说明上述添加物在适

当的浓度下对色素有一定增色效果。2 种防腐剂质量分数为 0.1% 时, 对色素无影响或影响不大。当质量分数增至 0.2% 时, 苯甲酸钠使色素保留率明显降低, 色素溶液颜色变浅, 这可能是因苯甲酸钠浓度大到一定程度时表现出碱性, 致使色素测定液吸光度显著减小及色调改变。

表 5 添加剂对色素的影响

质量分数	蔗 糖			柠 檬 酸		食 盐		山梨酸钾		苯甲酸钠	
/ %	0	3.0	8.0	1.0	3.0	1.0	3.0	0.1	0.2	0.1	0.2
保留率/%	100	99.3	120.3	103.5	113.2	108.1	119.7	101.0	94.0	90.2	84.8
颜 色	紫 红	深 红		紫 红	深 红	紫 红	深 红	紫 红		紫 红	浅红

2.5 急性毒性试验结果

试验表明, 雌雄小白鼠给药后未出现任

何症状,食欲、大小便正常,精神状态良好,7天后全部健康存活。乌麦色素小鼠急性经口毒性半数致死量(LD_{50})大于10 g/kg。根据动物毒理学评价标准,该色素可视为实际无毒级。

3 结 论

(1) 乌麦色素为首次从乌麦麸皮中提取的新的天然(红)色素,原料价廉易得,提取方法简单,粗色素得率高达14%以上。初步试验表明,该乌麦色素属水溶性黄酮类花色苷,主要由3种组分组成,基本结构母核是2-苯基苯并吡喃环(2-phenylbenzopylium)。其详细分子结构值得进一步深入研究。

(2) 该色素在酸性介质中呈现亮丽的红紫色,适合于酸性条件下使用。它在短时高温下表现出良好耐热性,对光十分敏感,耐氧化还原性差。常见金属离子 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 K^{+} 、 Mn^{2+} 、 Al^{3+} 、 Mg^{2+} 对该色素均无不良影响,但 Fe^{3+} 使其变色且吸光度大幅降低。蔗糖、柠檬酸和食盐对色素有增色效果,茶多酚是乌麦色素的理想稳定剂。山梨酸钾与苯甲酸钠在质量分数0.1%时对该色素影响不

大。急性毒性试验证实,该色素安全无毒,表明该色素具有较好的开发利用价值。

参 考 文 献

- 1 孙 玲,张名位,池建伟等. 食品研究与开发, 1998, 20(4):39~41
- 2 孙 玲,张名位,池建伟等. 中国粮油学报, 1999, 14(2):1~3
- 3 张建诚,王秋叶,姚景珍等. 河东乌麦营养保健功能与开发利用, 21世纪中国食品与农业科技讨论论文集. 西安:陕西人民出版社, 1999. 268~272
- 4 蔺定运. 食用色素的识别与应用. 北京:中国食品出版社, 1987
- 5 赵哲勋. 农牧产品开发, 1999, (4):17~18
- 6 郑建仙. 功能性食品(第3卷). 北京:中国轻工业出版社, 1999. 9
- 7 Jurd L. Spectral Properties of Flavonoid Compounds. In: Teissman T A. ed. The Chemistry of Flavonoid Compounds. New York: Pergamon Press, 1962. 130~135
- 8 Francis F J. Analysis of Anthocyanins. In: Markakis P. ed. Anthocyanins as Food Colors. New York: Academic Press, 1962. 181~207
- 9 Harbone J B et al. Phytochemical Method. London: Chapman and Hall, 1973
- 10 王 璋,许时婴,汤 坚编. 食品化学. 北京:中国轻工业出版社, 1999. 288~291
- 11 任玉林,李 华,金钦汉等. 食品科学, 1995, 16, (7):22~27

Study on the Physicochemical Properties and Extraction Process of Red Pigment from He Dong Black Wheat

Yu Jie Guo Huimin Chen Meizhen

(Department of Biology, Shantou University, Shantou, 515063)

ABSTRACT A natural red pigment was extracted from the bran of He Dong black wheat for the first time. When a sour ethanol solution was used to extract, the total yield of raw pigment can reach 14.7%. It can be preliminarily concluded by the spectroscopy, thin-layer chromatography and qualitative analysis that the pigment belonged to water-soluble anthocyanins consisting of three kinds of components. Experiments on the pigment's absorption spectrum changed with the difference of pH value, when $pH = 3.0$, $\lambda_{max} = 530nm$. It had fine heat-resisting to high temperature in a short time, but poor optical stability, weak oxidation and reduction resistivities. Its colour was changed by Fe^{3+} , increased by saccharose, common salt and citric acid, but not harmfully affected by Zn^{2+} , K^{+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Al^{3+} , Ca^{2+} and Mg^{2+} . Tea polyphenols was splendid helpful for the pigment's colour and stability. Potassium sorbate and sodium benzoate had not too effect on the pigment's stability under low concentration(0.1% m/m). It was testified that the pigment was factual innocuous by the acute toxicity experiment.

Key words He Dong black wheat, pigment, extraction, physicochemical properties