

菠菜色素提取方法的改进及稳定性研究

翟虎¹, 陈小全¹, 孙兆国¹, 邵辉莹¹, 周秀艳², 左之利³

1(泰山医学院化学与化学工程学院, 山东泰安, 271000)

2(四川大学化工学院, 四川成都, 610065) 3(中国科学院上海药物研究所, 上海, 201203)

摘要 采用有机溶剂浸泡法和超声波辅助技术从菠菜叶中提取色素, 比较两者的提取效率, 并对其在 pH、光照、温度、氧化剂、还原剂、常见金属离子及食品添加剂等条件下的稳定性进行了研究。结果表明: 菠菜色素的最佳提取工艺条件: 提取剂, 乙醇; 料液比(g : mL), 1 : 5; 提取温度, 50℃; 提取时间, 60 min; 超声波功率, 200W; 色素在酸性条件下相对稳定; K⁺、Na⁺、Ca²⁺、温度的变化, 氧化剂、还原剂及食品添加剂的加入对色素的影响不大; 其耐光性比较差。

关键词 菠菜色素, 提取, 超声波, 稳定性

菠菜^[1,2]中含有叶绿素、胡萝卜素、叶黄素等多种天然色素。叶绿素是植物进行光合作用所必需的催化剂, 也是食用绿色色素, 可用于糕点、饮料、胶姆糖等中。胡萝卜素的 3 种异构体中 β -胡萝卜素具有 V_A 的生理活性, 可代替 V_A 使用, 也可作为食品工业的食用色素使用, β -胡萝卜素还有防癌功能。

超声波^[3~6]辅助提取技术是近年来广泛应用于天然植物提取领域的一种新的较为成熟的手段。所以, 超声波辅助提取菠菜色素具有很高的研究价值, 本文主要研究在不同的提取溶剂, 提取温度, 提取时间, 料液比, 超声波辐射功率, 辐射时间, 相同功耗等条件下提取菠菜色素, 确定最佳的提取条件, 并研究光、热、酸、碱、氧化还原剂、金属离子及食品添加剂对菠菜色素稳定性的影响

1 仪器与试剂

1.1 原料与试剂

市售菠菜, NaCl, 无水 Na₂SO₄, NaNO₂, NaHSO₃, H₂O₂, KCl, 无水 CaCl₂, MgCl₂, FeCl₂, FeCl₃, 体积分数为 95% 的乙醇, 丙酮, 石油醚, 四氯化碳。正丁醇, 苯甲酸, 蔗糖, 均为 AR 级。

1.2 仪器

732 型可见分光光度计(上海第三仪器厂), 比色管, 超声波清洗器(DS2060 型、KQ-250DB 型), 分析天平, 研钵, 移液管(若干), 分液漏斗, 蒸馏设备, 胶头滴管(若干), 玻璃棒, 烧杯(若干), 锥形瓶(若干), 铁架台等。

2 实验方法

2.1 提取剂的选择

取体积分数 95% 乙醇、丙酮、石油醚、正丁醇各 50 mL 于锥形瓶中, 分别加入 5.00 g 菠菜叶, 在室温条件下, 用 DS2060 型超声波清洗器处理 30 min。取 0.5 mL 提取液用 95% 乙醇稀释定容到 25 mL, 在 $\lambda_{\max}=430$ nm 处用 732 型可见分光光度计测其吸光度 A (见表 1)。

表 1 提取剂对提取效果的影响

提取剂	95%乙醇	丙酮	石油醚	正丁醇
吸光度(A)	0.698	0.436	0.034	0.381

结果表明, 当用 95% 乙醇为提取剂时, 提取液的吸光值最大。因此, 选择体积分数 95% 乙醇为提取剂效果较好。

2.2 料液比的选择

称取 2.00g 新鲜、干净菠菜叶于锥形瓶中, 分别加入 6、8、10、12、14 mL 95% 乙醇, 在室温条件下, 用 KQ-250DB 型超声波清洗器处理 30 min。取 0.5 mL 提取液用 95% 乙醇稀释定容到 25 mL, 在 $\lambda_{\max}=430$ nm 处用 732 型可见分光光度计测其吸光度 A (见表 2)。

表 2 料液比对提取效果的影响

料液比(g : mL)	1 : 3	1 : 4	1 : 5	1 : 6	1 : 7
吸光度(A)	0.263	0.394	0.625	0.482	0.465

2.3 提取温度的选择

取 2.00 g, 新鲜、干净菠菜叶于锥形瓶中, 加入 10 mL 95% 乙醇, 分别在 30、40、50、60、70、80℃ 下, 用 KQ-250DB 型超声波清洗器经过功率为 250W 的超声波处理 30 min 后, 取 0.5 mL 提取液

第一作者: 硕士, 讲师。

收稿日期: 2007-10-8, 改回日期: 2008-01-21

用 95% 乙醇稀释定容到 50 mL, 在 $\lambda_{\max}=430\text{ nm}$ 处用 732 型可见分光光度计测其吸光度 A (见表 3)。

表 3 温度对提取剂提取效果的影响

$T/^{\circ}\text{C}$	30	40	50	60	70
吸光度 (A)	0.363	0.416	0.505	0.426	0.381

2.4 超声波提取时间的选择

称取 2.00 g 新鲜、干净菠菜叶于锥形瓶中, 加入 10 mL 95% 乙醇, 在 50°C 处恒温, 用 KQ-250DB 型超声波清洗器经过功率为 250 W 的超声波分别处理 15、30、45、60、75 min。取 0.5 mL 提取液用 95% 乙醇稀释定容到 25 mL, 在 $\lambda_{\max}=430\text{ nm}$ 处用 732 型可见分光光度计测其吸光度 A (见表 4)。

表 4 超声波处理时间对提取效果的影响

t/min	15	30	45	60	75
吸光度 (A)	0.346	0.482	0.521	0.675	0.684

2.5 超声波功率的选择

称取 2.00 g 新鲜、干净菠菜叶于锥形瓶中, 加入 10 mL 95% 乙醇, 在 50°C 处恒温, 用 KQ-250DB 型超声波清洗器(额定功率为 250 W)经过功率分别为 150、175、200、225、250 W 的超声波处理 60 min 后, 取 0.5 mL 提取液用 95% 乙醇稀释定容到 25 mL, 在 $\lambda_{\max}=430\text{ nm}$ 处用 732 型可见分光光度计测其吸光度 A (见表 5)。

表 5 超声波功率对提取效果的影响

P/W	150	175	200	225	250
吸光度 (A)	0.343	0.471	0.582	0.586	0.592

3 菠菜色素稳定性实验

3.1 pH 对菠菜色素稳定性影响的测定

取菠菜色素乙醇溶液 0.5 mL 用 95% 乙醇稀释、定容到 25 mL, 用体积分数 1% HCl, 质量分数 1% NaOH 溶液调剂其 pH 值, 于室温下用 732 型可见分光光度计在 $\lambda_{\max}=430\text{ nm}$ 处测其吸光度, 得 pH 与吸光度、颜色的关系如表 1 所示。

表 6 菠菜色素乙醇溶液 pH 与吸光度关系

pH	5	6	7	8	9
吸光度 A	0.298	0.310	0.356	0.364	0.409
颜色	黄褐	黄	黄	浅黄	浅黄

结果表明, 菠菜色素在酸性条件下相对稳定, 耐酸性较好, 在碱性条件下相对不稳定, 因此菠菜色素可在酸性条件下使用。

3.2 光照对菠菜色素稳定性影响的测定

取菠菜色素乙醇溶液 0.5 mL 用 95% 乙醇稀释、定容到 25 mL, 于室温下用 732 型可见分光光度计在

$\lambda_{\max}=430\text{ nm}$ 处测其吸光度, 后放置室温向光处, 定时(0、6、12、24、48 h)测定吸光度并观察菠菜色素颜色变化。光照对菠菜色素稳定性影响如表 7 所示。

表 7 光照时间对菠菜色素稳定性影响

t/h	0	6	12	24	48
吸光度 (A)	0.285	0.146	0.031	0.016	0.008

结果表明, 该色素耐光性比较差, 在 2 d 之内颜色明显变浅, 随着时间推移变化率逐渐减小。在暗处放置一个月未见颜色改变。

3.3 温度对菠菜色素稳定性影响的测定

取菠菜色素乙醇溶液 0.5 mL 用 95% 乙醇稀释、定容到 25 mL, 分别调节 pH 为 5、7、9, 分别在 20、40、60、80、 100°C 的水浴锅中恒温 30 min, 冷却至室温用 732 型可见分光光度计在 $\lambda_{\max}=430\text{ nm}$ 下测定色素溶液的吸光度, 结果如表 8 所示。

表 8 温度对菠菜色素稳定性影响

pH	吸光度 (A)				
	20°C	40°C	60°C	80°C	100°C
5	0.353	0.366	0.377	0.384	0.406
7	0.364	0.376	0.365	0.362	0.353
9	0.378	0.394	0.409	0.398	0.403

由表 8 可见, 表中数据变化较小, 表明温度对色素的影响比较轻微。

3.4 氧化剂对菠菜色素稳定性影响的测定

取菠菜色素乙醇溶液 0.5 mL 用 95% 乙醇稀释、定容到 25 mL, 分别加入 0 滴(1 滴相当于 0.05 mL, 下同), 2 滴、4 滴、6 滴、8 滴体积分数 3% H_2O_2 溶液, 在放置 30、60、90、10 h 后, 用 732 型可见分光光度计在 $\lambda_{\max}=430\text{ nm}$ 下测定色素溶液的吸光度, 结果如表 9 所示。

表 9 氧化剂(3% H_2O_2)对菠菜色素稳定性影响

时间	吸光度 (A)				
	0 滴	2 滴	4 滴	6 滴	8 滴
30 min	0.294	0.279	0.256	0.255	0.284
60 min	0.295	0.276	0.258	0.361	0.288
90 min	0.296	0.282	0.345	0.272	0.310
10 h	0.284	0.286	0.247	0.317	0.312

3.5 还原剂对菠菜色素稳定性影响的测定

取菠菜色素乙醇溶液 0.5 mL 用 95% 乙醇稀释、定容到 25 mL, 分别加入 0 滴、2 滴、4 滴、6 滴、8 滴质量分数 1% NaHSO_3 溶液, 在放置 30 min、60 min、90 min、10 h 后, 用 732 型可见分光光度计在 $\lambda_{\max}=430\text{ nm}$ 下测定色素溶液的吸光度, 结果如表 10 所示。

表 10 还原剂(1% NaHSO₃)对菠菜色素稳定性影响

时间	吸光度(A)				
	0 滴	2 滴	4 滴	6 滴	8 滴
30 min	0.250	0.235	0.289	0.296	0.284
60 min	0.249	0.224	0.293	0.300	0.280
90 min	0.249	0.240	0.301	0.315	0.284
10 h	0.236	0.228	0.278	0.329	0.326

表 12 食品添加剂对菠菜色素影响

添加剂	吸光度 A			
	2 滴	4 滴	6 滴	8 滴
1%氯化钠溶液	0.358	0.347	0.335	0.330
1%苯甲酸溶液	0.304	0.293	0.281	0.287
1%蔗糖溶液	0.253	0.247	0.240	0.235
1%亚硝酸钠溶液	0.277	0.267	0.270	0.268

3.6 常见金属离子对菠菜色素影响的测定

取菠菜色素乙醇溶液 0.5 mL 用 95%乙醇稀释、定容到 25 mL,分别加入等量质量分数 1%的 KCl、NaCl、CaCl₂、MgCl₂、FeCl₂、FeCl₃ 溶液,放置 1 h 后,用 732 型可见分光光度计在 $\lambda_{\max}=430$ nm 下测定色素溶液的吸光度,结果如表 11 所示。

表 11 金属离子对菠菜色素影响

试剂	KCl	NaCl	CaCl ₂	MgCl ₂	FeCl ₂	FeCl ₃
吸光度(A)	0.306	0.252	0.270	0.520	0.638	0.255

实验结果表明,K⁺、Na⁺、Ca²⁺、离子加入色素溶液中,吸光度略有改变,但目视色素溶液的颜色几乎无变化;Mg²⁺会使色素溶液稍变浑浊,Fe²⁺、Fe³⁺离子能使绿色溶液变为棕黄色。

3.7 食品添加剂对菠菜色素影响的测定

取菠菜色素乙醇溶液 0.5 mL 用 95%乙醇稀释、定容到 25 mL,分别加入 2 滴,4 滴,6 滴,8 滴质量分数 1%的 NaCl,苯甲酸,蔗糖,亚硝酸钠溶液,放置 30 min 后,用 732 型可见分光光度计在 $\lambda_{\max}=430$ nm 下测定色素溶液的吸光度,结果如表 12 所示。

由上述数据得,食品添加剂(氯化钠,苯甲酸,蔗糖,亚硝酸钠)对菠菜色素影响较小,说明再生产过程中食品添加剂的加入不会影响菠菜色素的性质。

4 结 语

从实验结果可知,菠菜色素的最佳提取工艺条件:提取剂:体积分数 95%乙醇;料液比(g:mL)1:5;提取温度:50℃;提取时间:60 min;超声波功率:200W。色素在酸性条件下相对稳定;K⁺、Na⁺、Ca²⁺、温度的变化,氧化剂、还原剂及食品添加剂的加入对色素的影响不大;其耐光性比较差。

参 考 文 献

- 1 李好祥,冯轶雪. 菠菜色素的提取与分离[J]. 太原师范学院学报(自然科学版),2004,13(3):62~64
- 2 贾淑梅,王君玲. 菠菜中色素的提取及其性质的研究[J]. 喀什师范学院学报,2002,23(3):48~49
- 3 陈小全,周 鲁,左之利,等. 超声波作用下桑葚红色素的提取及其稳定性实验[J]. 西南民族大学学报 2004,30(4):392~394
- 4 李云雁,宋光森. 超声波协助提取板栗壳色素的研究[J]. 食品科技,2003,28(8):57~58,65
- 5 欧阳玉祝,石爱华,陈小东,等. 花椒油的超声提取及其成分分析[J]. 食品与发酵工业,2007,33(3)133~135
- 6 肖 虹,张晓丽,申纯湿,等. 超声乙醇法提取大豆异黄酮的研究[J]. 食品与发酵工业,2006,32(5)138~139

Study of the Improvement of the Spinach Pigments Extraction and Its Stability

Zhai Hu¹, Chen Xiaoquan¹, Sun Zhaoguo,

Shao Huiying¹, Zhou Xiuyan², Zuo Zhili³

1(Chemistry and Chemical Engineering School, Taisan medical University, Taian 271000, China)

2(Chemical Engineering School, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

3(Shanghai Institute of Materia Medical, Chinese Academy of Science, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT Pigments was extracted from the leaves of spinach by the organic solvent immersion and the ultrasonic-assisted extraction. The extraction efficiency was compared. Meanwhile the effects of pH, sun light, temperature, oxidizing agents, reducing agents, metallic ions and food additives on the stability of the pigment were also studied. The result showed that the best extraction technological conditions of Spinach pigments was: alcohol to material fluid ratio was 1:5; Extraction temperature 50℃; Extraction time 60min; Ultrasonic power 200W. The pigment was relatively stable in the acidic condition and it had slightly changed by K⁺, Na⁺, Ca²⁺, temperature, oxidation and reduction food additives; But it was not stable in light.

Key words spinach pigments, extraction, ultrasonic wave, stability