

D_{101A}大孔吸附树脂吸附和分离桑椹红色素的研究^{*}

刘学铭 肖更生 徐玉娟 吴继军 陈卫东

(广东省农业科学院蚕业研究所·广东省农业科学院农产品加工工程重点实验室 广州 510640)

摘 要 研究了利用 D_{101A}大孔吸附树脂吸附和分离桑椹红色素的方法和条件。该树脂对桑椹红色素有良好的吸附能力,体积分数为 0.5% 的盐酸乙醇解吸效果良好。纯化的桑椹红色素价大大提高,容易制成粉末,不易吸潮。

关键词 桑椹红色素,大孔吸附树脂,纯化

随着现代科学的发展,人们发现食品生产中大量使用人工合成色素会对人体产生不同程度的损害,世界各国对食品添加剂的安全性越来越重视,合成色素的使用种类和数量也越来越受到限制。天然色素以其安全性高、能够呈现自然色彩而受到广大消费者的欢迎,已在食品工业中得到广泛的应用。

桑椹红色素是从桑椹中提取的一种天然色素,目前对桑椹红色素的性质和提取工艺均有一些报道^[1-3]。研究表明,桑椹红色素属于花青素类色素,易溶于水、乙醇和甲醇,不溶于丙酮、石油醚等低极性溶剂,为水溶性色素,该色素在酸性条件下较为稳定,在 pH 3.0 以下时呈现鲜玫瑰红色,鲜艳悦目;该色素在 pH 3.0 时的最大吸收峰(λ_{\max})为 537.5~538.7 nm,也有报道说该色素的 λ_{\max} 为 512~514 nm;该色素能耐短期高温,在 80℃ 保温 12 h 色素稳定,但随着温度升高、时间延长发生部分降解,该色素随日照时间延长易氧化分解。桑椹红色素的价值较高,使用面广,利用桑椹开发桑椹红色素,可以提高桑椹的价值,增加蚕桑业的经济效益,因此桑椹红色素的开发前景很好。尚未看到有关桑椹红色素的纯化及精制工艺报道。

色素的分离与提纯是天然色素生产加工中的一个重要环节。众多文献表明,大孔吸附树脂对多种天然色素具有良好的吸附和提

纯效果^[4-8]。为此,本文研究了大孔吸附树脂 D_{101A}在分离和提纯桑椹红色素中的效果。

1 材料与方法

1.1 材 料

桑椹原汁:广东省农业科学院蚕业研究所自产,为成熟桑椹鲜榨,经过加热、护色、离心去渣、高温瞬时灭菌等工艺生产,4℃ 冷库保存。

大孔吸附树脂:D_{101A}型,购自天津市友昌工贸公司。

乙醇、盐酸(分析纯),广州化学试剂厂。

1.2 仪 器

755B 紫外-可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司。

离心机,上海安亭科学仪器厂。

冷冻干燥机,上海医疗器械高等专科学校实验工厂。

1.3 实验方法

1.3.1 树脂的预处理

将树脂用蒸馏水充分淋洗,除去破碎和粒度极小的树脂;用体积分数 80% 乙醇溶液浸泡过夜,去掉残留在树脂中的溶剂,并活化树脂;采用湿法装柱,以避免带入气泡,并使树脂分布均匀,将树脂慢慢装入 ϕ 3 cm 的层析柱中;再分别用 40 mg/L 氢氧化钠溶液和体积分数 4% 盐酸溶液冲洗,以除去树脂中

第一作者:博士,助理研究员。

^{*} 广东省农业科学院博士启动基金资助项目(2000-博士-03)

收稿时间 2001-09-12 改回时间 2001-11-19

的杂质,最后用蒸馏水反复冲洗至中性,备用。

1.3.2 色素的提取与纯化工艺

新鲜成熟桑椹→桑椹原汁→离心→上清液→大孔吸附树脂→蒸馏水冲洗→酸性乙醇洗脱→低温减压浓缩→冷冻干燥→色素粉末

经过研究发现,桑椹中的绝大多数色素位于桑椹果汁中,因此本实验采用桑椹原汁作为提取红色素的原料。尽管在桑椹原汁的生产过程中已经过离心程序,但在冷库贮存过程中仍会产生较多的沉淀,因此在使用大孔树脂吸附之前用离心的方法去除沉淀。

1.3.3 桑椹红色素的色价测定与计算

根据 Beer 定律 $A = \epsilon bc$ 即 $A = kc$ 本文以吸光度 A 代表色素液的浓度。桑椹红色素的色价是 $E_{1\text{cm}}^{1\%}(\lambda_{\text{max}})$,即用分光光度计测定 10 mg/L 色素溶液在最大吸收波长处的吸光度值。

进行色价测定时,精确称取色素样品 1.0 g(准确至 0.000 2 g),用盐酸-乙醇溶液(0.15 mol/L 盐酸:体积分数 95% 乙醇 = 15 mL:85 mL)定容至 100 mL。以盐酸-乙醇溶液作空白对照,用 1 cm 比色皿于最大吸收波长处测定吸光度值。由于 10 g/L 质量浓度的桑椹红色素吸光度很大,因此测定前要进行稀释。色价的计算公式为:

$$E_{1\text{cm}}^{1\%}(\lambda_{\text{max}}) = A \times \text{稀释倍数} / \text{色素重量(g)}$$

2 结果与讨论

2.1 树脂对桑椹红色素的饱和和吸附

将桑椹原汁以 30~45 mL/min 的流速通过树脂柱,开始时流出液显现出白色浑浊状态,随着加入桑椹原汁量的增加,颜色由浅变深,最后达到与加入桑椹原汁颜色相当。动态检测流出液的吸光度值,当流出液的吸光度值与桑椹原汁基本接近时,可以认为树脂对桑椹红色素的吸附已达饱和状态。然后用蒸馏水冲洗脂柱至流出液透亮,再用盐酸-乙醇溶液洗脱,至洗脱液接近无色为止。将洗脱液在 60℃ 条件下减压浓缩至粘稠状,然

后冷冻干燥,得到紫黑色粉末状固体,称重,计算树脂对桑椹红色素的饱和吸附量。

通过实验,发现该树脂对桑椹红色素的饱和吸附量为 桑椹红色素重量/湿树脂体积 = 12.83 g/388 mL = 0.033 g/mL。

2.2 乙醇浓度对树脂吸附桑椹红色素解吸效果的影响

洗脱液中的乙醇浓度对树脂吸附色素的洗脱效果影响较大,本文进行了不同浓度酸性乙醇的洗脱效果试验。各称取已预先饱和和吸附桑椹红色素的树脂 5 g 置三角瓶中,分别加入不同浓度的酸性乙醇(体积分数为 0%~95%)100 mL,在摇床上振荡洗脱 1 h,取洗脱液测定吸光度值,结果如图 1 所示。在测定前将各洗脱液调整至相同乙醇浓度和 pH 值,以减少因色素在不同乙醇浓度和酸碱度条件下的吸收误差。

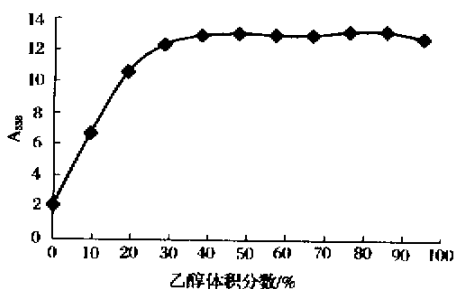


图 1 乙醇浓度对树脂吸附桑椹红色素洗脱效果的影响

从图 1 可以看出,在乙醇的体积分数低于 40% 时,随着乙醇浓度的提高,洗脱效果急剧增加;当乙醇的体积分数大于 40% 时,洗脱效果基本不变,只是体积分数 95% 乙醇的洗脱效果有轻度的降低。因此,在进行树脂吸附色素的动态洗脱时,只要洗脱后色素溶液中的乙醇体积分数能达到 40%,就有较好的洗脱效果。事实上,在色谱柱中进行的色素洗脱中,洗脱后色素溶液中的乙醇含量是不断变化,浓度由低渐高,直至达到加入的洗脱液中的乙醇浓度。由于高浓度的乙醇在色谱柱中洗脱时所形成的浓度范围较广,因此能取得较好的效果。本研究中采用了体积

分数 80 % 的乙醇。

2.3 桑椹红色素的解吸

树脂吸附一定量的桑椹红色素后,用蒸馏水洗至流出液透明,再用体积分数 80 % 酸性乙醇溶液洗脱,分段收集,得到洗脱曲线如图 2 所示。

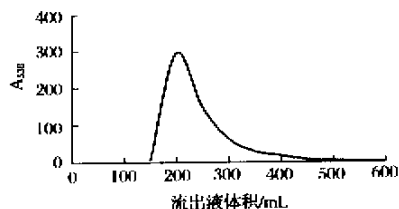


图 2 桑椹红色素的解吸曲线

从图 2 可以看出,体积分数为 80 % 的酸性乙醇溶液能够较好地解吸被树脂 D_{101A} 吸附的桑椹红色素,而且在洗脱高峰期的 250 mL 洗脱液(共 600 mL)洗脱了占洗出总量 96 % 的色素。前面 150 mL 共洗脱出占总量 1.5 % 的色素,这是因为其中大部分是冲洗了留在树脂中的蒸馏水,并没有把色素有效洗出。洗脱高峰后的 200 mL 共洗脱了占总量 2.5 % 的色素,说明体积分数 80 % 酸性乙醇溶液洗脱桑椹红色素较为集中,但也存在一定的拖尾现象。

通过实验,发现在洗脱后期直接加入蒸馏水作为洗脱液能够大大减少拖尾现象的发生。究其原因,可能是桑椹红色素为多种成分组成的混合物,它们的极性有一定的差别,在同一浓度酸性乙醇中的溶解度不一致,后期加入蒸馏水可以使树脂中的乙醇逐渐被取代,形成不同浓度梯度的乙醇溶液,进而把不同极性的色素洗脱出来,从而避免了单纯用体积分数 80 % 酸性乙醇溶液洗脱时发生的拖尾现象。使用这种方法,基本上能把被树脂吸附的桑椹红色素全部解吸出来,而且洗脱溶剂(酸性乙醇)用量有一定的减少,在工业生产中有一定的意义。

2.4 洗脱速度对桑椹红色素收率的影响

洗脱速度是影响洗脱效果的一个重要因

素。速度过快,色带易拖长,单位体积的洗脱效果降低,使得洗脱液用量增加,加大了后处理成本;速度过慢,洗脱时间过长,生产效率低。因此,需要选择合适的洗脱速度。

本文研究了在饱和吸附条件下,体积分数为 80 % 酸性乙醇 200 mL 和 300 mL 在不同流速下的色素得率,结果如表 1 所示。

表 1 洗脱速度对色素得率的影响

洗脱液体积 /mL	洗脱液流速 /mL·min ⁻¹	色素得率 /%
200	13	22.3
	22	33.6
	31	43.5
	39	39.4
300	10	97.75
	21	95.86
	31	82.29

从表 1 可知,当用 200 mL 洗脱液时,洗脱液流速低于 30 mL 时,随着流速的增加,色素的得率增加;继续提高流速,得率开始下降。当用 300 mL 洗脱液时,色素得率随流速的增加而下降。

在实验中还观察到,在固定调节阀后,当洗脱速度较快时,洗脱液的流速不断变化,随着洗脱的进行,洗脱液流速逐渐降低;只有当洗脱速度足够慢时,洗脱液的流速才是基本固定的。这可能存在两方面的原因,一是洗脱液加入后色谱柱的压力发生变化(由水压逐渐向乙醇压转变);二是随着色素的逐渐解脱,往下移行,树脂间的间隙有一定程度的堵塞,从而影响洗脱液的流速。因此,表 1 中的洗脱液流速是平均值。

在实际生产过程中,应根据色谱柱的体积和高度、色素的吸附量、洗脱液的性质等对洗脱液的流速进行优化,以取得最佳洗脱工艺,达到提高效率和降低成本的双重作用。

2.5 纯化前后桑椹红色素的比较

桑椹原汁含丰富的色素,可以直接浓缩作为色素使用。此外,也可用乙醇从桑椹中直接提取桑椹红色素,浓缩后制得色素膏。用浓缩桑椹原汁制得的色素,由于杂质(糖

类、蛋白质等)含量高,色价均较低(一般低于4.0),且多呈浸膏状态,较难成为粉末。即使通过喷雾干燥的方法制成了粉末,也极易吸潮结块。用乙醇提取法制得的桑椹红色素也含有较多的单糖和其他一些脂溶性杂质,纯度也不高。它们的稳定性也较差,保质期较短。

通过树脂纯化后,很容易制得色素粉末,色价有明显提高,通常超过100,最高可达到130,比纯化前提高了25~30倍。初步测定表明,纯化后的色素杂质含量大大减少,性质较为稳定,保质期延长,在水中的溶解性降低,在水、乙醇中的溶解性能良好,整体质量明显提高。对其理化性质及各项卫生指标正在作进一步分析。

3 结 论

用新鲜桑椹制得的桑椹原汁含有大量的桑椹红色素,可以作为天然食用红色素的来源。大孔吸附树脂D_{101A}能很好地吸附桑椹红色素,饱和吸附量达33 mg/mL湿树脂。酸性乙醇对吸附的桑椹红色素有较好的解吸性能,在静态解吸时体积分数大于40%时即有良好效果,在动态解吸时宜用高浓度的乙

醇(体积分数70%以上),且在洗脱后期加入一定量的蒸馏水,以减少拖尾现象的发生。有足够的洗脱液时,降低流速可以提高色素得率。在生产中应根据色谱柱的体积和高度、色素的吸附量、洗脱液的性质等对洗脱液的流速进行优化,以取得最佳洗脱工艺。纯化后的桑椹红色素色价大大提高,且性质稳定,不易吸潮,容易制得粉末。

参 考 文 献

- 1 陈建国,傅逸根,胡欣等.食品工业科技,1996,18(2):15~18
- 2 计巧灵,苟萍.食品与发酵工业,1990,16(4):79~81
- 3 周奇,王文兵,钟建武.江苏蚕业,1989(3):15~18
- 4 郭克琳,史作清,何丙林.中国食品添加剂,1996,(2):4~7.
- 5 张晴.青岛大学学报,2000,15(3):15~17
- 6 张晴,陈勇.食品与发酵工业,1999,25(3):16~19
- 7 彭永芳,马银海,阎孝金等.食品科学,2001,22(5):39~41
- 8 史作清,施荣富,范云鸽等.中草药,2001,32(7):660~662

Study on the Absorption and Purification of Mulberry Red Pigment by Macro-porous Resin D_{101A}

Liu Xueming Xiao Gengsheng Xu Yujuan

Wu Jijun Chen Weidong

(Institute of Sericultural Research, Guangdong Academy of Agricultural Science,
Key Laboratory of Farm Produce Processing Technology of GAAS, Guangzhou, 510640)

ABSTRACT The methods and conditions of absorption and desorption of mulberry red pigment by macro-porous resin D_{101A} were studied. D_{101A} had good ability in absorbing mulberry red pigment, the maximum absorption was 33 mg/mL resin, while 80% ethanol with 0.5% HCl could desorb it effectively. After purification by D_{101A}, mulberry red pigment has high color value, is easy to be manufactured to powder and don't absorb humid air.

Key words mulberry red pigment, macro-porous resin, purification