

# 红树莓色素提取及稳定性研究

王 丰, 明 哲

(吉林农业科技学院 吉林 九站 132101)

**摘 要:**以红树莓浆果为原料,采用超声波法对红树莓果实中的色素进行提取及稳定性研究。结果表明:红树莓色素最大吸收波为 510 nm,最佳提取条件为体积分数 50%的乙醇溶液,按 1:10 的料液比,浸提温度 40℃,浸提时间 30 min,提取 2 次。稳定性研究表明,pH 对红树莓色素呈色影响较大,在低于 50℃、避光条件下有较好的稳定性。红树莓色素具有一定抗氧化能力,蔗糖对色素无明显影响,VC 对色素具有降解作用,Fe<sup>3+</sup> 离子对红树莓色素具有保护作用,能够稳定其结构。

**关键词:**红树莓;色素;提取;稳定性

**中图分类号:**Q 949.751.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)20-0014-05

红树莓又称木莓,为蔷薇科悬钩子属植物。东北野生红树莓的成熟果实富含红色素,是提取天然色素的很好原料。红树莓中含有的红色素以花色素苷形式存在,属于类黄酮类物质<sup>[1]</sup>。花色素苷在生理环境下表现出强烈的抗氧化、清除自由基、抗突变、降低血清胆固醇、预防心脑血管疾病、保护肝脏、抑制肿瘤细胞发生、抗菌等生物活性<sup>[2,5]</sup>。此外花色素苷还具有镇痛解热的作用<sup>[6]</sup>。红树莓中含有丰富的红色素,其作为一种天然食用色素,安全、无毒、资源丰富而且具有一定的营养和药理作用,在食品、化妆、医药方面具有很大的应用潜力,有着良好的开发利用价值。该研究采用乙醇作为提取剂结合超声波进行辅助提取,对红树莓色素的提取技术及性质进行了初步研究,旨在为红树莓色素的开发和应用奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验仪器

721 型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)、托盘天平(上海医用激光仪器厂)、KQ3200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、RE5223 旋转蒸发器(上海沪西分析仪器厂)、数显水浴恒温振荡器(金坛市晶玻实验仪器厂)、UV-1700 紫外可见光分光光度计。

### 1.2 试验材料

该试验用树莓冻果(购自吉林市丰满),HCl、

第一作者简介:王丰(1973-),女,硕士,讲师,现主要从事分析化学和天然产物提取方面的科研与教学工作。E-mail: jlnkjxgc@126.com。

基金项目:吉林省教育厅“十一五”科学技术研究资助项目(吉教科合字 2008 第 238 号)。

收稿日期:2010-07-19

NaOH、FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O、抗坏血酸、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、蔗糖、乙醇、甲醇、乙酸乙酯、丙酮、水、石油醚、试剂均为分析纯。

### 1.3 红树莓色素提取工艺研究

1.3.1 红树莓色素提取方法 洗净的红树莓冻果在室温放置 40 min→捣碎→加浸提液提取→提取液→过滤 3 次→合并滤液→定容→测吸光度→计算鲜果中花色苷总量。

1.3.2 红树莓色素提取单因素研究 包括浸提溶剂、时间、温度、次数、料液比等因素对红树莓色素提取效果的影响。

1.3.3 正交实验 根据单因素试验,选取正交实验因素水平,做 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交设计。因素及水平设计如表 1。

表 1 红树莓色素的提取正交实验因素水平

Table 1 Design of levels and factors in orthogonal test for pigment extraction from red raspberry

水平 Levels	因素 Factors			
	A(乙醇浓度 Alcohol content/%)	B(温度 Temperature /℃)	C(时间 Time/min)	D(料液比 Solid liquid ratio/g:mL)
	1	40	30	20
2	50	40	30	1:10
3	60	50	40	1:15

### 1.4 红树莓色素在不同条件下的稳定性

1.4.1 pH 值对红树莓色素的影响 用量筒分别称取 6 份红树莓色素提取液各 10 mL,然后分别装在 6 个三角瓶当中,再分别用 NaOH 溶液或者 HCl 溶液调节溶液的 pH 值到 1~12,并在 510 nm 波长下测定不同 pH 值的吸光度,吸光值的变化反应色素含量的变化。

1.4.2 温度对红树莓色素的影响 用量筒分别称取 7 份红树莓色素提取液各 10 mL,分别装在 7 个小三角瓶中,分别在室温(25℃)、40、50、60、70、80、90℃下恒温

30 min, 然后用不同温度处理后的红树莓色素溶液在紫外分光光度计在 510 nm 处测吸光度, 吸光值的变化反应色素含量的变化。

1.4.3 光对红树莓色素的影响 分别取 10 份红树莓色素提取液 50 mL, 再分别置于自然光下和避光处, 分别在 5、15、25、35 d 后观察红树莓色素在 510 nm 处测吸光度, 吸光值的变化反应色素含量的变化。

1.4.4 双氧水对红树莓色素的影响 以双氧水作为氧化剂, 配制体积分数为 0.03%、0.3%、3% 的等量双氧水, 加入红树莓色素提取液中, 振荡后室温放置 1、2、3、4、5 h 后观察红树莓色素在 510 nm 处测吸光度, 吸光值的变化反应色素含量的变化。

1.4.5 蔗糖对红树莓色素的影响 配制质量分数为 1%、2%、3% 的蔗糖溶液。然后用量筒量取红树莓色素提取液 50 mL, 并加入上述不同浓度的溶液, 分别在 5、15、25、35、45 d 后观察红树莓色素在 510 nm 处测吸光度, 吸光值的变化反应色素含量的变化。

1.4.6 抗坏血酸对红树莓色素的影响 配制 0.03%、0.3%、3% 的抗坏血酸, 然后用量筒量取红树莓色素提取液各 50 mL, 并加入上述不同浓度的抗坏血酸溶液, 分别在 5、15、25、35、45 d 后观察红树莓色素在 510 nm 处测吸光度, 吸光值的变化反应色素含量的变化。

1.4.7  $Fe^{3+}$  对红树莓色素的影响 配制  $6.25 \times 10^{-5}$ 、 $12.5 \times 10^{-5}$ 、 $25 \times 10^{-5}$ 、 $50 \times 10^{-5}$  mol/L 的  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  溶液, 然后用量筒量取红树莓色素溶液各 10 mL, 并加入不同浓度  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  溶液, 室温下保存, 在 510 nm 处测定其吸光度, 吸光值的变化反应色素含量的变化。

## 2 结果与分析

### 2.1 红树莓色素提取方法的研究

2.1.1 提取溶剂的确定 称取红树莓果实各 2 g, 分别用水、石油醚、乙酸乙酯、甲醇、乙醇、丙酮做红树莓色素的提取溶剂, 物料配比(W/V)为 1:10, 超声波清洗器温度 40℃, 浸提 30 min, 频率 24 kHz, 过滤, 合并提取液, 3

次重复, 将滤液定容至 50 mL, 在波长 510 nm 处测定吸光度, 用改进的 Fulcki 方法, 计算出花色苷的总量, 通过试验确定其最佳的提取溶剂(图 1)。从图 1 可知, 乙醇提取液颜色较深, 其花色苷总量最大; 甲醇、水、丙酮提取液颜色次之, 乙酸乙酯和石油醚提取液颜色较淡, 花色苷总量也较小, 证明不能用来提取红树莓色素。甲醇、乙醇的提取效果明显好于丙酮、水, 由于要获得天然色素, 甲醇有毒性, 因此选取乙醇为红树莓色素的最佳提取液。

2.1.2 乙醇浓度对色素提取率的影响 称取红树莓果实各 2 g, 分别加入不同浓度的乙醇溶液 20 mL, 超声波清洗器温度 40℃, 频率 24 kHz, 浸提 30 min, 抽滤, 合并提取液, 3 次重复, 定容至 50 mL, 在波长 510 nm 处测吸光度, 用改进的 Fulcki 方法, 计算花色苷总量, 确定最佳乙醇浓度(图 2)。从图 2 可看出, 乙醇提取液颜色较深, 其中 50% 乙醇的提取液颜色最深, 红树莓色素的花色苷总量达到最大值为 0.163 mg/g。随着浓度进一步增大, 红树莓色素的花色苷总量有所下降, 故最佳乙醇浓度为 50%。

2.1.3 提取时间对色素提取率的影响 称取红树莓果实各 2 g, 分别加入浓度为 50% 的乙醇溶液 20 mL, 用超声波清洗器温度 40℃, 频率 24 kHz, 浸提不同时间, 抽滤, 合并提取液, 3 次重复, 定容至 50 mL, 在波长 510 nm 处测定吸光度, 用改进的 Fulcki 方法, 计算出花色苷的总量, 确定最佳浸提时间(图 3)。从图 3 可知, 用超声波提取在很短的时间内就可以较充分的提取出色素。随着时间的延长, 提取率不断提高, 30 min 提取率最高, 然后提取率平稳下降。这是由于色素不稳定, 红树莓色素溶液会因氧化反应导致分解而退色, 空气中的氧化作用使其含量降低。在提取的过程中采用的是塑料布封口浸提, 很大程度上降低了这种色素的分解。因此, 最佳提取时间为 30 min。

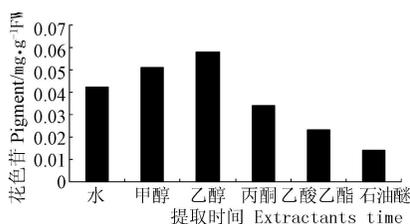


图 1 提取剂对红树莓色素提取率的影响

Fig. 1 Effect of different extractants on extraction rate of red raspberry pigment

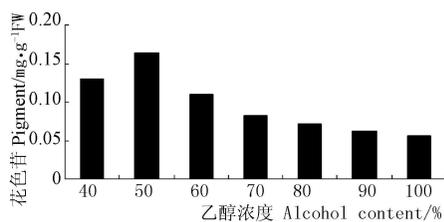


图 2 乙醇浓度对红树莓色素提取率的影响

Fig. 2 Effect of alcohol content on extraction rate of red raspberry pigment

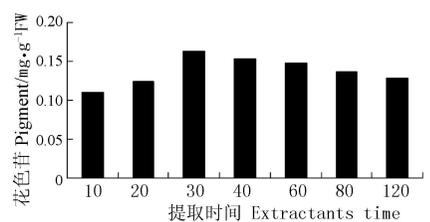


图 3 不同时间对红树莓色素提取率的影响

Fig. 3 Effect of different extraction time on yield rate of red raspberry pigment

2.1.4 提取温度对色素提取率的影响 称取红树莓果实各 2 g, 分别加入浓度为 50% 的乙醇溶液 20 mL, 不同

水浴温度, 超声波清洗器浸提 30 min, 频率 24 kHz, 抽滤, 合并提取液, 每处理 3 次重复, 定容至 50 mL, 在波长

510 nm 处测定吸光度,用改进的 Fulcki 方法,计算出花色素苷的总量,确定最佳浸提温度(图 4)。从图 4 可看出,温度的升高会促进色素向提取液中扩散,提取量增加,但温度升高的同时,伴随着色素的降解。当温度升至一定温度时,色素的扩散和降解达到平衡。红树莓色素在温度为 40℃ 时即达到平衡,从花色苷化学结构角度考虑,加热时,蓝色的醌式碱(A)、红色的黄洋阳离子(AH<sup>+</sup>)之间是可逆的,平衡向形成查耳酮的方向移动,其结果是显色物质(AH<sup>+</sup>和A)含量降低。因此,红树莓色素提取的温度选择 40℃ 左右即可。

2.1.5 提取次数对色素提取的影响 使用最佳提取工艺,准确称取红树莓各 2 g,按时间 30 min,料液比 1 : 10,温度 40℃,乙醇浓度为 50%的条件下,分别比较提取 1 次、2 次、3 次、4 次、5 次的效果,在波长 510 nm 处测定吸光度,用改进的 Fulcki 方法,计算出花色素苷的总量,确定最佳提取次数,研究浸提次数对红树莓色素提取的影响(图 5)。由图 5 可知 红树莓色素的花色苷总量随

次数的增多而趋于稳定,第 1 次到第 2 次增大的效果很明显,增加了 0.126 mg/g,第 2 次到第 5 次增大的效果不是很明显。所以色素提取 2 次就可以,没有必要多次提取,可以很好的节约成本。

2.1.6 料液比对提取率的影响 按 1 : 5、1 : 10、1 : 15、1 : 20(g/mL)料液比分别加入浓度为 50%的乙醇溶液,超声波清洗器温度 40℃,浸提 30 min,频率 24 kHz,抽滤,合并提取液,每处理 3 次重复,减压蒸馏温度为 35℃,定容至 5 mL,在波长 510 nm 处测定吸光度,用改进的 Fulcki 方法,计算出花色素苷的总量,确定最佳料液比(图 6)。从图 6 可知,红树莓色素的花色苷总量随着料液比的增大而增大。而料液比到达(1 : 10)~(1 : 20)时的提取率没有显著差异。继续增大料液比不但增加成本,而且提取液的浓缩工作负荷增加。由于料液比在试验过程中影响因素最小,从节约成本方面考虑,该试验选择了 1 : 10 的料液比。

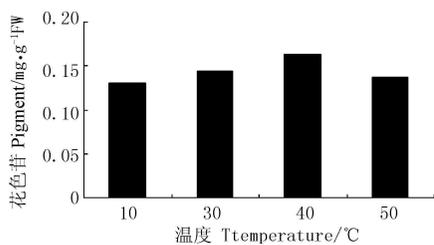


图 4 不同温度对红树莓色素提取率的影响

Fig. 4 Effect of different extraction temperature on yield rate of red raspberry pigment

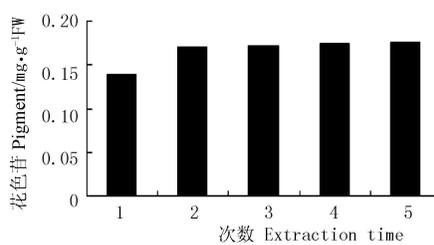


图 5 提取次数对红树莓色素提取率的影响

Fig. 5 Effect of extraction times on yield rate of red raspberry pigment

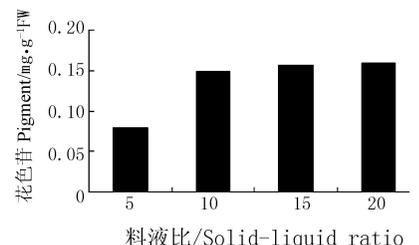


图 6 不同料液比对红树莓色素提取率的影响

Fig. 6 Effect of solid-liquid ratio on yield rate of red raspberry pigment

2.1.7 红树莓色素提取的正交实验 由于提取剂浓度、料液比、温度、时间因素对试验结果影响显著,故选择乙醇浓度、料液比、温度、时间进行正交实验(表 2)。结果表明,溶剂提取红树莓色素的最佳工艺条件为:提取溶剂乙醇的浓度为 50%,料液比 1 : 10,提取温度为 40℃,提取时间为 0.5 h。极差分析显示,各影响因素的主次顺序为提取时间> 提取液浓度> 提取温度> 料液配比。

## 2.2 红树莓色素在不同条件下的稳定性

2.2.1 pH 值对红树莓色素的影响 由图 7 可知,不同 pH 值下所测得的吸光度表明酸含量对吸光度影响不大,而碱浓度对吸光度影响较大,吸光度随碱浓度增大而增大。目测结果也说明,随碱浓度的增加,溶液颜色也越深。红树莓色素的颜色随 pH 值的变化而改变,其原因是在不同 pH 值下,花青素的分子结构发生改变所致。由此可见, pH 影响树莓色素的呈色。

表 2 正交实验结果

Table 2 Analysis of orthogonal test for pigment extraction from red raspberry

试验号 Test No	A B C D				花色苷总量 Content of pigment / mg·g <sup>-1</sup> (FW)
	1	1	1	1	1
2	1	2	2	2	0.159
3	1	3	3	3	0.146
4	2	1	3	2	0.155
5	2	2	1	3	0.156
6	2	3	2	1	0.157
7	3	1	2	3	0.153
8	3	2	3	1	0.149
9	3	3	1	2	0.150
K1	0.152	0.153	0.153	0.153	
K2	0.156	0.155	0.156	0.155	
K3	0.151	0.151	0.150	0.152	
R	0.005	0.004	0.006	0.003	

2.2.2 温度对红树莓色素的影响 由图 8 可知,在室温到 90℃ 下处理后的红树莓色素提取液的吸光度,随温度的增加吸光度逐渐下降,在温度为 50~90℃ 时色素的吸

光度迅速下降,原因是随着温度的升高,色素的分解率会加快,色素就会不稳定,这就说明在生产或使用过程中,应尽量避免持续高温,从而降低其受热破坏程度,起到保护色素的作用。说明温度对红树莓色素有一定的影响。

2.2.3 光对红树莓色素的影响 由图 9 可知,随着时间的推移,红树莓色素提取液的吸光度不断下降。原因是

光对花色苷的影响是二方面的,首先是花色苷生物合成的重要因子,但同时光又会加速花色苷的降解。避光条件下色素的吸光度下降较小,在 5 d 后自然光照射下色素的吸光度下降较快,在 25 d 后红树莓色素的吸光度下降幅度较小,因此红树莓色素在避光条件下保存效果好。

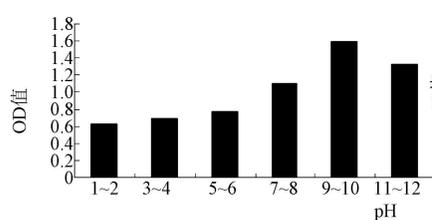


图 7 不同 pH 值对红树莓色素稳定性的影响

Fig.7 Effect of different pH value on red raspberry pigment stability

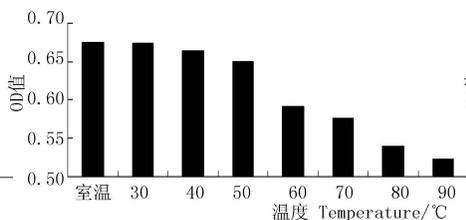


图 8 温度对红树莓色素稳定性的影响

Fig.8 Effect of different temperature on red raspberry pigment stability

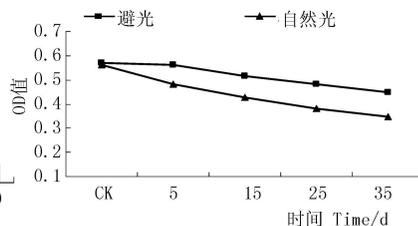


图 9 不同光照对红树莓色素吸光度的影响

Fig.9 Effect of light strength on OD values of red raspberry pigment

2.2.4 双氧水对红树莓色素的影响 由图 10 可知,红树莓色素吸光度随 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液浓度的增加而迅速降低。当 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度 > 0.3% 时,红树莓色素吸光度下降的越快。原因是 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的强氧化作用破坏了红树莓色素的结构,分子氧对色素具有毒害作用,其机理是氧可以通过直接氧化或间接氧化使色素降解。可见氧化剂 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对

红树莓色素的稳定性有一定的影响。

2.2.5 蔗糖对红树莓色素的影响 由图 11 可知,红树莓色素提取液的吸光度都在降低,加入不同浓度的蔗糖色素溶液跟对照相比吸光值变化幅度不大。所以,蔗糖对红树莓色素几乎没有影响。表明蔗糖可以在红树莓色素制品中使用。

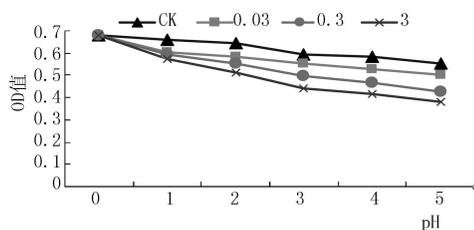


图 10 不同浓度氧化剂对红树莓色素稳定性的影响

Fig.10 Effect of different oxidant on red raspberry pigment stability

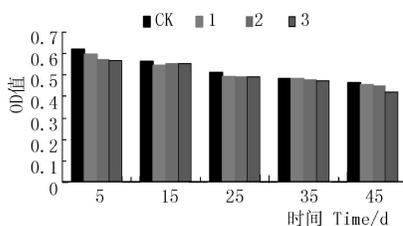


图 11 不同浓度蔗糖溶液对红树莓色素稳定性的影响

Fig.11 Effect of sugar content on red raspberry pigment stability

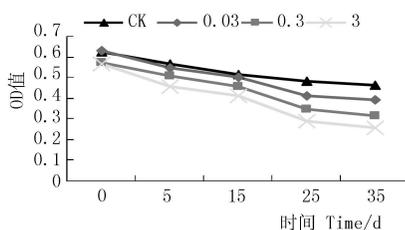


图 12 不同浓度抗坏血酸对红树莓色素稳定性的影响

Fig.12 Effect of VC content on red raspberry pigment stability

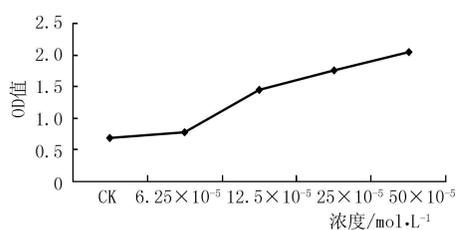


图 13 不同浓度 FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O 对红树莓色素稳定性的影响

Fig.13 Effect of FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O content on red raspberry pigment stability

2.2.6 抗坏血酸对红树莓色素的影响 由图 12 可知, 添加抗坏血酸的红树莓色素溶液颜色略变红, 在短时间内吸光度值稍有下降。在 15 d 后加入抗坏血酸的红树莓提取液的吸光度迅速下降, 原因是由抗坏血酸引发的花色苷的结构破坏所引起的, 花色苷降解时, 氧和抗坏血酸起协同作用。

2.2.7  $Fe^{3+}$  对红树莓色素的影响 由图 13 可知, 添加  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  溶液的红树莓色素提取液颜色为红棕, 红树莓色素提取液的吸光度随着  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  溶液浓度的增加迅速增大, 直到不再次稀释就不能透光。原因是, 红树莓色素与  $Fe^{3+}$  相遇, 能形成蓝黑色金属螯合物, 而起到稳定花色苷的作用。但只限于 B 环上含有邻二羟基的花色苷, 在加工时不能使用铁制器皿。

### 3 讨论

提取花色苷的方法有很多种。常用的有溶剂浸提法, 超声波萃取、超临界  $CO_2$  萃取技术、微波辐射诱导萃取法、酶法处理等方法。树莓色素为亲水性的色素, 用超声波法既提取了色素成分, 又获得了挥发油, 对树莓色素提取来说, 是一种经济高效的方法。利用超声波产生的强烈振动、空化效应、搅拌作用等可以加速活性成分进入溶剂, 提高提取率, 有效缩短提取时间。利用超声波技术提取红树莓色素的最佳工艺条件为 50% 乙醇作提取剂, 料液比 1:10, 提取温度为  $40^\circ C$ , 提取时间为 0.5 h, 最佳提取次数为 2 次。

pH 对红树莓色素的呈色有很大影响。pH 1~5 均

为红色, 当  $pH > 5$  时, 颜色发生改变, 呈现棕褐色; 当  $pH > 9$  时, 色素呈现青绿色。红树莓适合保存在低温、避光条件下。可以作为低温冷饮食品, 碳酸型饮料等的着色剂, 但不能用于需要高温杀菌的食品。高浓度的  $H_2O_2$ 、抗坏血酸影响色素的稳定性, 甜味剂蔗糖对红树莓色素无明显影响。  $Fe^{3+}$  对红树莓色素稳定性的影响较明显,  $Fe^{3+}$  对红树莓色素具有保护作用, 能够稳定其结构。而在加工过程中, 这种配合作用往往是不受欢迎的。原因是红树莓色素与  $Fe^{3+}$  相遇, 能形成蓝黑色金属螯合物, 这种结构一旦形成不宜分解, 在加工时不能使用铁制器皿。

### 参考文献

- [1] 龚盛昭. 天然食用色素的化学结构和稳定性的关系[J]. 广州化工, 2002, 30(4): 11-14.
- [2] 王文芝. 树莓果实营养成分初报[J]. 西北园艺, 2001(2): 13-14.
- [3] Seok H N, Sun P C, Mi Y K, et al. Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented ricecultivars [J]. Food Chemistry, 2006, 94: 613-620.
- [4] 李春阳, 许时婴, 王璋. DPPH 法测定葡萄籽原花青素清除自由基的能力[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(2): 102-106.
- [5] 李春阳, 许时婴, 王璋. 葡萄籽原花青素结构单元的红外光谱分析[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(2): 47-51.
- [6] 邓军哲, 屈惠鸽. 葡萄花色苷的研究概况[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 1996(2): 25-27.
- [7] 高向阳, 李桂云, 刘娜. 郑州市火棘果红色素的提取及理化特性研究[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 242-244.

## Research on Extraction and Stability of Pigment of Raspberry

WANG Feng MING Zhe

(Jilin Agricultural Science and Technology College Jiuzhan, Jilin 132101)

**Abstract:** With the berries of raspberry as raw material, the extraction technology for pigment from the berries of raspberry was optimized through ultrasonic-assisted method and verification for the coloring of stability. The results indicated that the largest absorbance value of the berries of raspberry pigment was 510 nm. The best extraction technology was extracted solution of 50% ethanol solution, the solid-liquid ratio of 1:10, extracting temperature of  $40^\circ C$ , the extracting time of 30 min, and extracting of two times. Through studied on the stability of the pigment, the results had that color of the pigment will be different when the pH value changes. Pigment of raspberry needed dark light and below  $50^\circ C$ ; it was easily oxidized by  $H_2O_2$ ; sucrose had no obvious influence on its stability. The properties of the pigment were affected by VC acid.  $Fe^{3+}$  had protected the stability of Raspberry pigment.

**Key words:** raspberry; pigment; extraction; stability