

金叶榆叶片黄色素的提取及性质研究

史宝胜¹,任子蓓¹,杨露¹,郝晓飞²,黄印冉³

(1.河北农业大学园林与旅游学院,河北 保定 071000;2.河北省木兰林场 国有林场管理局,河北 围场 068450;
3.河北省林业科学研究院,河北 石家庄 050051)

摘要:为了明确金叶榆(*Ulmus pumila*)叶片中黄色素的适宜提取试剂及黄色素的理化性质,采用分光光度计法测定不同溶液提取黄色素的吸光度。结果表明:金叶榆叶片中黄色素的适宜提取试剂为乙醇,吸收波长为440 nm。呈色反应表明黄色素中含有类胡萝卜素和黄酮类物质。稳定性研究表明金叶榆的黄色素对热较稳定,80℃以下2 h色素颜色变化不明显;黄色素对光不稳定,全光照处理2 h后吸光度仅保持11.5%,贮存时宜避光;黄色素在弱酸、弱碱和大部分金属离子条件下稳定,还原剂、氧化剂及Al³⁺对色素具有不利影响。以上研究表明,金叶榆黄色素具有一定的开发利用价值,这为充分开发利用金叶榆资源,增加其经济附加值以及开拓新的天然食品着色剂提供了理论依据。

关键词:金叶榆;叶片;色素;提取;性质

中图分类号:S 792.19 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)16-0133-04

金叶榆(*Ulmus pumila*)属榆科榆属,是从白榆的芽变株中选育出的彩叶新品种。金叶榆的观赏性极佳,在初春时期,金叶榆便绽放出娇黄的叶芽,似无数朵蜡梅花绽放枝头,娇嫩可爱,早早给人们带来春天的信息;夏初季节叶片变得金黄艳丽,格外醒目,将街道、公园等景点打扮得富丽堂皇;盛夏后至落叶前,树冠中下部的叶

第一作者简介:史宝胜(1969-),男,博士,副教授,现主要从事园林植物的栽培生理及分子生物学等研究工作。E-mail:baoshengshi@163.com.

基金项目:河北农业大学园林与旅游学院院基金资助项目。

收稿日期:2014-03-28

片渐变为浅绿色,枝条中上部的叶片仍为金黄色,黄绿相衬,在炎热中给人带来清新的感觉。金叶榆生长迅速,枝条密集,耐强度修剪,造型丰富,既可培育为黄色乔木,做为园林风景树,又可培育成黄色灌木及高桩金球,广泛应用于绿篱、色带、拼图、造型^[1]。此外,金叶榆根系发达,耐干旱、耐盐碱、抗旱能力强,大量推广应用可显著增添我国北方的绿化色彩,提高盐碱地和干旱贫瘠地区的绿化效果,创造出巨大的生态、经济和社会效益^[2-3]。

食品色素主要分为天然色素和化学合成的色素两大类。天然色素由于具有食用安全、营养保健价值高的特点在实际生产中得到广泛关注。目前国内天然黄色

Effect of Selenium and Boron on Quality of Refrigerated Nectarine Fruit

GUO Yan¹, YU Ji-zhou², LIU He¹, WANG You-nian³

(1. Department of Horticulture, Shanxi Forestry Vocational Technical College, Taiyuan, Shanxi 030009; 2. Department of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801; 3. Beijing Agricultural College, Beijing 102206)

Abstract: Taking “Hongshanhu” of nectarine fruit cultivated in Beijing as material, spraying fruit with B, Se and B+Se before harvest stage of fruit were conducted. In (2±1)℃ storage stage, the changes of quality under different treatment were studied. The results showed that B, Se and B+Se treatments could inhibit the “Hongshanhu” firmness, Vitamin C content decreased, increased fruit soluble solids content, and increased the “Hongshanhu” fruit red, delayed the fruit surface color to change yellow, keep the fruit brightness. Among the treatments, B+Se treatment had significant effect.

Key words: nectarine; selenium; boron; storage; quality

素市场需求量在 10 万 t 以上,占色素总需求量的 60%,而我国黄色素实际产量不足 6 000 t^[4]。另外,由于国外市场的大量需要,天然黄色素呈现出供不应求的势头。黄色素是广泛存在于植物中的一大类天然色素,有关的研究主要集中在玉米、红花、橘皮、桅子、南瓜果肉、野菊花、沙棘等植物上^[5~7],而对于从植物叶片中提取黄色素的研究较少。金叶榆的叶片中含有丰富的黄色素,提取其黄色素作为食品着色剂,在人们日益关注食品安全的当今,具有积极意义。该研究以金叶榆叶片为试材,研究不同溶剂对叶片中黄色素的提取效果及其性质,以期开发出新的天然色素产品、提高金叶榆的综合利用率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试金叶榆叶片采摘自河北农业大学西校区苗圃地。选择无病虫害叶泽光鲜的叶片,去除叶柄和主脉,于室温阴暗处保存。

试剂:无水乙醇、丙酮、石油醚、乙醚、氯仿、盐酸、氢氧化钠、氯化钠、氯化钙、氯化钾、氯化铝、过氧化氢、亚硫酸钠、硫酸钠、三氯化锑、浓硫酸、镁粉均为国产分析纯。

仪器:UV8500 紫外可见分光光度计(无锡科达仪器厂);HS-3C 数字酸度计(杭州万达仪器仪表厂);DZKW-4 恒温水浴锅(南昌市恒顺化验设备制造有限公司);FA2104 电子天平(上海方瑞仪器有限公司);MODEL-3 旋转蒸发仪(上海医疗器械厂)。

1.2 试验方法

1.2.1 金叶榆叶片的预处理 采摘足量的新鲜金叶榆叶片,去除叶柄等,置干燥箱内 50℃ 烘干,研碎至粉末,过 200 目筛,收集粉末,装入棕色瓶中保存备用。

1.2.2 金叶榆黄色素提取剂的筛选 用电子天平准确称取 6 份 0.2 g 样品,分别加入水、无水乙醇、丙酮、石油醚、乙醚、氯仿等溶剂各 20 mL,室温下浸提至叶片粉末呈白色,过滤得到浸提液原液,目测浸提液颜色和溶解情况,并在 200~700 nm 波长范围内用紫外可见分光光度计测定光度值。

1.2.3 黄色素的提取 称取金叶榆叶片粉末 2.0 g,加入 20 mL 乙醇溶液,浸提,过滤,收集滤液,将黄色素乙醇溶液减压浓缩,备用。

1.2.4 金叶榆黄色素石油醚溶液 准确称取金叶榆叶片 5.0 g,用石油醚-丙酮(100:5, V/V)混合溶液 50 mL 提取,过滤,直至无色。合并滤液,置于分液漏斗中,并用水洗涤醚层,出现乳化时,加入饱和 NaCl 溶液 2.5 mL,剧烈震荡,静置分层,弃下层水相。重复操作 2~3 次。醚层经无水硫酸钠除去微量水分后,用石油醚定容至

25 mL,暗处保存,备用,此为黄色素石油醚溶液^[8]。

1.2.5 色素的显色反应 与浓硫酸反应:取金叶榆黄色素石油醚溶液 5 mL 于试管中,并在试管中加入 5 mL 乙醚溶液,待充分溶解后,加入 1~2 mL 浓硫酸,静置反应 10 min 以上,观察颜色的变化。与 25% 三氯化锑(SbCl₃)反应:取金叶榆黄色素石油醚溶液 2 mL 于试管中,并在试管中加入 10 mL 氯仿,待充分溶解后,加入 1~2 mL 25% SbCl₃ 氯仿溶液,静置反应 10 min 以上,观察颜色反应。与盐酸-镁(HCl-Mg)粉的反应:取金叶榆黄色素乙醇溶液 1 mL 于试管中,并在试管中加入 0.020 g Mg 粉,振摇,待充分溶解后再滴加 3 滴浓 HCl,在 1~2 min 内观察颜色变化。与三氯化铝(AlCl₃)的反应:取金叶榆黄色素乙醇溶液 1 mL 于试管中,滴加 1% AlCl₃ 乙醇溶液,充分反应后观察颜色反应。与乙酸镁的反应:取黄色素乙醇溶液在滤纸上点样,待斑点干后,滴加 1% 乙酸镁甲醇溶液,吹干,在紫外光下观察斑点颜色^[9]。

1.2.6 酸碱度对色素稳定性的影响 在 7 个试管中分别加入 5 mL 黄色素提取液,室温下用盐酸和氢氧化钠溶液调节其 pH 值在 1~13 之间,用 10 mL 容量瓶定容后转入新试管,加盖后室温避光 4 h,用分光光度计测定吸光度值,并观测颜色的变化。

1.2.7 温度对色素稳定性的影响 分别取 10 mL 黄色素浸提液置于 5 个试管中,分别在 25、40、60、80、100℃ 条件下用水浴锅恒温加热处理 2 h,冷却至室温后用分光光度计测定吸光度值,每个温度处理 3 次重复。

1.2.8 光照对色素稳定性的影响 取相同浓度的黄色素溶液 3 份各 20 mL,其中 2 份密封后分别置于日光直射处、室内自热光处;另 1 份用棕色容量瓶密封后置于室内暗处,每个处理均在处理后 0、1、2、3、4、5 h 时测定其吸光度值,计算吸光度残留率,并观察颜色变化。吸光度残留率(%)=A/A₀×100%,式中,A 为测得的溶液吸光度;A₀ 为初始溶液吸光度。

1.2.9 部分金属离子对色素稳定性的影响 量取 5 份 10 mL 黄色素溶液置于试管中,分别加入 1.0 mol/L 的氯化钠、氯化钾、氯化钙、氯化铝溶液各 1.0 mL,以加入 1.0 mL 蒸馏水的为对照。摇匀,避光静置,分别测定 0、1、2、3、4、5 h 时的吸光度值,计算吸光度残留率,并观察颜色变化。

1.2.10 氧化还原剂对色素稳定性的影响 量取 10 mL 黄色素溶液 12 份置于试管中,分别加入 1 mL 不同浓度的 H₂O₂ 和 Na₂SO₃ 溶液,密封后黑暗中放置 2 h 后测定吸光度值。

2 结果与分析

2.1 提取剂的选择

由表 1 可知,金叶榆黄色素不溶于强极性的水溶液,而溶于无水乙醇、丙酮、石油醚、乙醚、氯仿等脂溶性溶剂。在丙酮、氯仿、石油醚的浸提液中出现明显的黄色,尤其在丙酮浸提液中色泽深而亮丽。由于提取剂的分子极性不同,最大吸收波长和吸光度值亦不同,在乙醇和丙酮提取液的吸收波长分别为 440 nm 和 433 nm。虽然丙酮的吸收值最大,但考虑到丙酮是一种有毒、对环境产生污染的溶剂,因此试验采用无水乙醇作为色素提取的理想试剂。

表 1 不同溶剂提取效果比较

Table 1 Comparison on extraction process in different solvents

提取剂	蒸馏水	无水乙醇	丙酮	石油醚	乙醚	氯仿
溶解性	微溶	速溶	速溶	速溶	速溶	溶
颜色	微黄	黄色	深黄	亮黄	浅黄绿	黄褐
最大吸收波/nm	—	440	433	470	662	665
吸光度值 A	—	0.685	0.866	0.452	0.420	0.311

2.2 黄色素的显色反应

与浓硫酸充分反应后,溶液产生分层现象,且溶液呈淡蓝色;金叶榆黄色素石油醚溶液与三氯化锑试剂反应后,溶液呈蓝色。以上 2 项反应为类胡萝卜素的特征反应,表明黄色素组分中含有类胡萝卜素^[10]。

与盐酸-镁粉反应,结果产生大量白色热气,颜色变深,并出现浅红色泡沫。如果不加镁粉,而直接加入盐酸,则没有气泡产生。说明黄色素在盐酸-镁粉作用下,被氧化还原。与三氯化铝反应后出现带有荧光的黄颜色。与乙酸镁反应后,在紫外光下可观测到呈黄色的斑点。根据以上 3 项反应的化学变化,说明黄色素中含有黄酮类的物质^[11]。

2.3 酸碱度对色素稳定性的影响

由表 2 可知,pH≤3 时,溶液颜色为黄绿色;pH>3 时溶液颜色为黄色,并随着 pH 值的增大,黄色逐渐加深;pH>9 时,溶液出现浑浊的现象。这表明黄色素在弱酸、弱碱环境中稳定性较好。

表 2 酸碱度对色素稳定性的影响

Table 2 Effect of pH value on stability of pigment

pH 值	1.0	3.0	5.0	7.0	9.0	11.0	13.0
吸光度值 A	0.810	0.814	0.845	0.868	0.874	0.887	0.902

2.4 温度对色素稳定性的影响

金叶榆叶片黄色素的随温度的升高,吸光度值逐渐降低,但在温度小于 80℃ 时变化较小,表明其热稳定较高(表 3)。当温度高于 80℃ 时,黄色素的吸光度值急剧降低,所以应该避免在 80℃ 以上保存和使用黄色素溶液。目测不同温度下黄色素溶液的颜色变化不明显。

表 3 温度对色素稳定性的影响

Table 3 Effect of temperature on stability of pigment

温度/℃	25	40	60	80	100
吸光度值 A	0.886	0.860	0.856	0.821	0.683

2.5 光照对色素稳定性的影响

由图 1 可知,在 3 种光照条件下,色素溶液的吸光度值均随着光照时间的延长,吸光度值下降,表明光照可显著影响色素的稳定性。通过比较 3 种光照条件对金叶榆叶片黄色素的影响可发现,变化最明显的是阳光直射处理,随光照时间的延长其吸光度值急剧降低,颜色也逐渐由黄色变成白色;在处理 1、2、3 h 后吸光度分别降低为处理前的 60.0%、11.5% 和 4.1%。在暗处棕色瓶处理的稳定性较好,颜色变化不大,处理 5 h 后的吸光度还保持 74.6%;室内自然光处理的介于前二者之间,颜色变化较明显,说明不同光照强度的光对色素稳定性的影响不同,且光照条件下色素很不稳定,所以黄色素应避光阴暗保存。

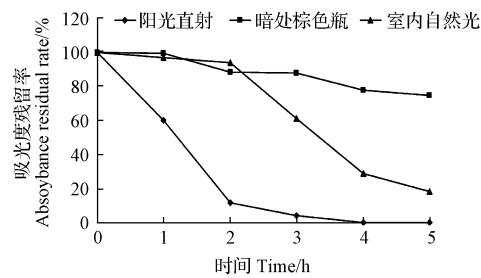


图 1 光照对色素稳定性的影响

Fig. 1 Effect of light on stability of pigment

2.6 部分金属离子对色素稳定性的影响

由图 2 可知,随时间延长,不同金属离子均可降低色素的稳定性。降低最大的是 Al^{3+} ,处理 5 h 后吸光度值比开始处理时降低了 34.85%,并且色素颜色显著变浅。因此,黄色素在提取和使用时应避免与 Al^{3+} 接触。

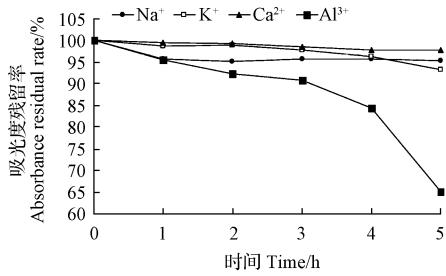


图 2 金属离子对色素稳定性的影响

Fig. 2 Effect of metallic ion on stability of pigment

2.7 氧化还原剂对色素稳定性的影响

由表 4 可知,通过测定不同浓度氧化剂对色素的影

响可发现,黄色素的抗氧化能力较差。当加入低浓度的过氧化氢水溶液时,色素颜色立即变浅,吸光度下降明显,并有溶液浑浊的现象。在不同浓度的氧化剂处理时发现,黄色素随着氧化剂浓度的增加,吸光度基本保持稳定。还原剂 Na_2SO_3 对色素的稳定性影响很大,当加入低浓度 Na_2SO_3 的水溶液时,颜色马上变浅,吸光度值显著降低。但在不同浓度的还原剂作用下,色素溶液的吸光度值基本保持稳定,其颜色变化也不明显。

表 4 氧化还原剂对色素稳定性的影响

Table 4 Effect of anti-oxidation and anti-deoxidize on the stability of pigment

浓度/%	0	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0
H_2O_2 吸光度值 A	0.953	0.566	0.568	0.562	0.560	0.566
Na_2SO_3 吸光度值 A	0.926	0.524	0.518	0.518	0.528	0.502

3 结论

金叶榆叶片中黄色素微溶于水,易溶于乙醇、丙酮、乙醚、氯仿等有机溶剂,属于脂溶性色素,在乙醇中的最大吸收波长为 440 nm。通过对金叶榆黄色素显色反应表明,黄色素中含有类胡萝卜素和黄酮类物质。通过对黄色素溶液的稳定性与化学特性的分析可知,黄色素在弱酸、弱碱环境中较稳定;对 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 等离子稳定,而 Al^{3+} 对其影响较大;黄色素对光、氧化剂、还原剂较敏感,而耐热性较强。因此,在开发利用金叶榆叶片黄色素产品时应注意采取避光措施,避免与氧化剂、还原剂及 Al^{3+} 一起使用。

参考文献

- [1] 张均营,黄印冉,任建新.中华金叶榆的繁育及在园林绿化中的应用[J].河北林业科技,2006(2):48-49.
- [2] 邢晓蕾,史宝胜,刘冬云,等.盐胁迫对中华金叶榆生理生化的影响[C]//2007年中国观赏园艺研究进展.北京:中国林业出版社,2007:486-490.
- [3] 张晓磊,史宝胜,刘冬云,等.水分胁迫对中华金叶榆生理生化的影响[C]//2007年中国观赏园艺研究进展.北京:中国林业出版社,2007:508-511.
- [4] 马自超,庞业珍.天然食用色素化学及生产工艺学[M].北京:中国林业出版社,1994:121-126.
- [5] Anke K, Hermann B, Victor W, et al. Identification of a yellow pigment formed in maize roots upon mycorrhizal colonization[J]. Phytochemistry, 1995, 38(1):53-55.
- [6] Verena H, Katja K, Jürgen H, et al. Spectrophotometric determination of yellow pigment content and evaluation of carotenoids by High-Performance Liquid Chromatography in durum wheat grain[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(23):6663-6668.
- [7] Harborne J B. Plant polyphenols-XV: Flavonols as yellow flower pigments[J]. Phytochemistry, 1965, 4(5):647-657.
- [8] 唐琳,付荣恕,张志威,等.迎春花黄色素的提取及性质研究[J].食品科学报,2005,26(8):188-191.
- [9] 唐琳,于旸.迎春花黄色素的化学及光谱性质研究[J].食品科学,2006,27(10):68-72.
- [10] 刘钟栋.食品添加剂原理及应用技术[M].北京:中国轻工业出版社,1997:75.
- [11] 林棋,魏林海.微波萃取花生壳天然黄色素及其稳定性的研究[J].食品科学,2002,23(12):32-35.

Research on Extraction and Properties of the Pigment of *Ulmus pumila* Leaves

SHI Bao-sheng¹, REN Zi-bei¹, YANG Lu¹, HAO Xiao-fei², HUANG Yin-ran³

(1. College of Landscape and Tourism, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000; 2. The Mulan Forestry Management Bureau of Hebei, Weichang, Hebei 068450; 3. Forestry Research Institute of Hebei, Shijiazhuang, Hebei 050051)

Abstract: Taking *Ulmus pumila* leaf as material, the physicochemical properties and the suitable reagent of the pigment from *Ulmus pumila* leaf was investigated in this study. The extraction solvent kind and the change in maximum absorption wavelength of this pigment under different conditions were determined through a spectrophotometer. The results showed that the suitable reagent for the extraction was ethanol. The pigments dissolved in ethanol exhibited a maximum absorption at 440 nm wavelength. The color generation manifest that the yellow pigment contained carotenoids and flavonoids. The pigments had poor light stability. The absorbance only maintained 11.5% after 2 hours reaction and consequently should be stored in the dark condition. After 2 hours exposure to a temperature below 80°C, a low degradation ratio was observed in the pigments. The pigments were stable in acidic and alkalescent media. There were negative influences of light, oxidants, deoxidants and Al^{3+} on the yellow pigment. These investigations demonstrated that the pigment had the exploitation and utilization values. These results had provided a new theoretical basis for the full utilization of *Ulmus pumila* resources, increasing its economic value and the exploration of natural food colorants.

Key words: *Ulmus pumila*; leaf; pigment; extraction; property