

丝棉木果肉黄色素的萃取及稳定性研究

苏卫国, 孟庆田, 王 伟

(天津农学院 园艺系, 天津 300384)

摘 要:以丝棉木果实为试材,研究其果肉萃取黄色素方法及其稳定性,以期找出萃取丝棉木果肉黄色素的最佳方案。结果表明:乙酸乙酯是制备丝棉木黄色素的最佳萃取剂,而乙醇可以作为研究色素稳定性时的萃取剂,最佳萃取时间为2 h,萃取温度为40℃,料液比为1:5。

关键词:丝棉木;黄色素;萃取;稳定性

中图分类号:S 642.5 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)08-0052-04

丝棉木(*Euonymus maackii* Rupr)别名白杜卫矛、明开夜合,是卫矛科卫矛属落叶小乔木,或灌木。高6~10 m,树冠圆形或卵圆形;树皮灰色或灰褐色;小枝细长,种子有桔红色的假种皮;花期5~6月,果熟期9~10月^[1]。原产中国北部、喜光,耐寒、稍耐荫,对土壤的要求不严,可在含盐5~7 g/kg(氯化钠含量)的盐碱土中生长。耐干旱,也耐水湿,而以肥沃、湿润而排水良好之土壤生长最好。生长速度中等偏慢。对二氧化硫的抗性较强。可用播种及扦插等方法繁殖。

丝棉木枝叶秀丽,红色或粉红色蒴果悬挂枝上甚久,亦颇可观,是良好的园林绿化及观赏树种。种子含油约40%,可榨油。种子及根可药用,治关节酸痛。种子有桔红色的肉质假种皮,可萃取色素。与化学合成色素相比,天然色素最大的优点是相对安全性较高,而植物色素是天然色素中应用最多的一类。植物中的主要色素有脂溶性和水溶性两大类^[2]。该研究的丝棉木果肉黄色素属于脂溶性色素。为了正确评价丝棉木色素的实际应用价值,并为该色素的实际生产和应用提供科学依据,对其性质进行了研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用丝棉木果实采于天津农学院。秋末或冬初将丝棉木果实采后除去外果壳得到丝棉木的果肉及种子,在室内自然干燥,备用。

1.2 试验仪器与试剂

UV-754型分光光度计,DL-102型电热鼓风干燥

箱,DK-98-I电子恒温水浴锅,电炉,pH值计,电子分析天平,量筒,容量瓶。氢氧化钠,37%浓盐酸,无水乙醇,95%乙醇,柠檬酸,乙醚,石油醚,丙酮,乙酸乙酯,氯化钠,亚硫酸钠,30%过氧化氢,蔗糖,葡萄糖,硫酸锌,五水硫酸铜,氯化钙,氯化镁,氯化铁等。

1.3 萃取工艺流程

丝棉木果实→去除果壳→果肉→室内自然干燥→称重→萃取→过滤→滤液→浓缩→粗色素。

1.4 试验方法

1.4.1 色素萃取剂的选择 根据前期的试验对照丝棉木果肉黄色素萃取剂进行了筛选,结果以乙酸乙酯为最佳,故该试验得出以乙酸乙酯作为萃取剂,对萃取温度、萃取时间及料液比对萃取的影响进行研究。

1.4.2 试验方案 试验设置研究的因素为料液比、萃取时间、萃取温度。分别用A、B、C代表3个因素。其中各因素各水平是根据各因素的预备试验筛选而定的,3个水平分别为料液比(A因素)设1:5、1:10、1:20,萃取时间(B因素)设1.5、2.0、2.5 h,萃取温度(C因素)设20、40、60℃,采用正交实验设计,2次重复。

1.4.3 丝棉木果肉黄色素的理化性质测定 丝棉木果肉黄色素的最大吸收峰的测定:用UV-754型分光光度计对各项指标均为400~750 nm以下测定^[3-1],试验所得的色素萃取液测定最大吸收峰;黄色素对热的稳定性测定:取酸度、浓度、体积相同的丝棉木果肉色素的萃取液5份置于带塞试管中,分别用水浴加热不同的温度,时间为1 h,取出冷却至室温;黄色素对光的稳定性测定:取酸度、浓度、体积相同的丝棉木果肉色素的萃取液6份置于带塞试管中,放在室内光照处照射1、2、3、5、7 d;pH值对黄色素的稳定性测定:配置一系列不同pH值的色素萃取液,摇匀静置1 h测定;金属离子对黄色素的稳定性测定:分别配置含不同浓度金属离子(Na^+ 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+})的黄色素萃取液,摇匀在室温下

第一作者简介:苏卫国(1952-),男,本科,高级实验师,现从事园林实验及栽培技术研究工作。

基金项目:天津市委自然科学基金资助项目。

投稿日期:2010-12-20

静置 1 h; 食品添加剂对黄色素的稳定性测定: 分别配置含不同浓度的葡萄糖、蔗糖、柠檬酸的色素萃取液, 摇匀在室温下静置 1 h。黄色素的抗氧化性和抗还原性的测定: 分别配置含不同浓度 H_2O_2 和 Na_2SO_3 的色素萃取液, 在室温下静置 1 h。

2 结果与分析

2.1 正交实验结果

通过预备试验初步选定在每个因素下分设不同的 3 个水平, 根据上述温度、时间、料液比 3 个因素的试验结果, 确定各因素的 3 个水平, 进行正交实验。对萃取温度、时间、料液比对丝棉木果肉黄色素萃取率的测定结果及方差分析。由表 1、2 可看出, F 测验的结果表明, A 因素、B 因素和 C 因素各水平的差异均达到极显著, 说明料液比不同, 萃取温度不同, 萃取时间不同, 其萃取率有极显著差异, 从此分析可知, 影响萃取率的因素次序为 $A > B > C$, 即不同料液比的影响大于不同萃取时间的影响, 大于不同萃取温度的影响。由表 3 可看出, 料液比中以 1:5 萃取率最高, 极显著高于 1:10 和 1:20。所以 1:5 的料液比为好, 其次是 1:10。从萃取时间看以萃取 2 h 为好, 因为 2 h 的萃取率极显著高于 1.5 h 和 2.5 h。萃取温度对萃

取率的影响为 60℃、40℃ 的萃取率, 极显著高于 20℃。而 40~60℃ 二者之间差异不显著。

表 1 温度、时间、料液比萃取正交实验

序号	处理组合	因素			A 值/nm		T _t
		A	B	C	I	II	
1	A ₁ B ₁ C ₁	1	1	1	0.601	0.633	1.234
2	A ₁ B ₂ C ₂	1	2	2	2.420	2.370	4.790
3	A ₁ B ₃ C ₃	1	3	3	1.553	1.634	3.187
4	A ₂ B ₁ C ₂	2	1	2	0.435	0.412	0.847
5	A ₂ B ₂ C ₃	2	2	3	1.302	1.389	2.691
6	A ₂ B ₃ C ₁	2	3	1	0.342	0.336	0.678
7	A ₃ B ₁ C ₃	3	1	3	0.235	0.226	0.461
8	A ₃ B ₂ C ₁	3	2	1	0.169	0.162	0.331
9	A ₃ B ₃ C ₂	3	3	2	0.290	0.280	0.570

表 2 温度、时间、料液比萃取方差分析

变因	df	SS	S ₂	F	F _{0.05}	F _{0.01}
区组	1	0.0005	0.0005	0.0192	4.96	10.04
A	2	5.2612	2.6306	101.2548**	4.10	7.56
B	2	2.3756	1.1878	45.7198**	4.10	7.56
C	2	1.8060	0.9030	34.7575**	4.10	7.56
误差	10	0.2598				
总变异	17+	9.7031				

表 3 萃取率的多重比较

料液比	平均萃取率	显著性	萃取时间/h	平均萃取率	显著性	萃取温度/℃	平均萃取率	显著性
1:5	1.5352	a A	B2 2	0.8783	a A	60	1.0565	a A
1:10	0.7027	b B	B3 2.5	0.3155	b B	40	1.0345	a A
1:20	0.2270	C B	B1 1.5		b B	20	0.3738	b B

根据正交实验设计的情况, 为找到最优组合, 将处理组合间的萃取率进行了多重比较。由表 4 可知, A₁B₂C₂ 萃取效果极显著高于其它处理组合, 即料液比 1:5, 在 40℃ 下萃取 2 h 为该试验的最优组合, 在生产上可以推广应用。

表 4 处理组合间的萃取率比较

处理组合	萃取率 X _i	显著性	
		$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
A ₁ B ₂ C ₂	2.3590	a	A
A ₁ B ₃ C ₃	1.5935	b	B
A ₂ B ₂ C ₃	1.3455	b	B
A ₁ B ₁ C ₁	0.6170	c	CD
A ₂ B ₁ C ₂	0.4235	cd	D
A ₂ B ₃ C ₁	0.3390	cd	D
A ₃ B ₃ C ₂	0.2850	cd	D
A ₃ B ₁ C ₃	0.2305	d	D
A ₃ B ₂ C ₁	0.1655	d	D

2.2 丝棉木果肉黄色素的理化性质

2.2.1 黄色素的吸收峰 由表 5 可知, 丝棉木果肉黄色素在可见光区的最大吸收峰波长为 460 nm。

表 5 可见光区不同波长下色素的吸光度值(A 值)

波长/nm	400	420	440	460	470	480	500	520	540	560	580	600
A 值	0.481	0.657	0.793	0.812	0.776	0.722	0.404	0.113	0.033	0.020	0.014	0.011

2.2.2 黄色素对热的稳定性 取滤液测其在波长为 460 nm 处吸光度^[3-4], 由表 6 可知, 色素在 80℃ 或 80℃ 以下较稳定, 在 60℃ 以下随温度升高吸光度值增加, 说明当温度大于 60℃ 时, 吸光度随着温度的升高而降低, 所以在生产和加工中温度不宜超过 80℃。

表 6 温度对黄色素的影响

温度/℃	20	40	60	80	100
A 值	0.473	0.507	0.648	0.415	0.163

2.2.3 黄色素的光稳定性 分别测定放置不同天数的滤液在波长为 460 nm 处的吸光度 A 值^[3,5]。由表 7 可知, 该色素对日光照射的耐受性差, 随着放置时间的增长, 吸光度值在逐渐减小, 而且随着天数的增加, 吸光度值的减少量越来越大, 到 7 d 后基本上所剩无几, 因此该色素对日光的稳定性差。

表 7 日光对黄色素稳定性的影响

光照时间/d	0	1	2	3	5	7
A 值	0.169	0.151	0.138	0.117	0.033	0.019

2.2.4 pH 值对黄色素稳定性的影响 取滤液在 460 nm 下测其吸光度,并观察其颜色的变化。由表 8 可知,在中性或酸性条件下为橙黄色。当 $\text{pH} > 7$ 时,色素颜色仍为橙黄色,且随 pH 值增大颜色亦加深;但 $\text{pH} > 7$ 时,随着 pH 值增大而颜色的加深程度;pH 值 < 7 时,随着 pH 值降低而颜色加深的程度大。因此,不同 pH 值的介质对丝棉木果肉色素的影响很大。丝棉木果肉色素适用于酸性食品中^[3,5]。

表 8 pH 对黄色素稳定性的影响

pH	1.65	2.40	3.12	4.98	5.76	6.53	7.05	8.66	9.32
A 值	1.166	0.955	0.810	0.800	0.685	0.780	0.784	0.908	0.940

2.2.5 金属离子对黄色素的影响 取滤液观察其颜色变化并在波长为 460 nm 处测其吸光度(A 值)。由表 9 可知,不同浓度的 Na^+ 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的存在对丝棉木果肉色素色泽有的有增色作用,有的稍有降解作用,但无明显的不良影响。不同浓度的 Cu^{2+} 使得色素萃取液颜色由橙黄色变为浅绿色,同样也随着浓度增加而依次加深;不同浓度的 Fe^{3+} 对色素亦有极显著的不良影响,使得色素萃取液变为棕黄色至棕色,且随浓度增加颜色加深。

表 9 不同浓度的金属离子对色素的影响

浓度/%	A 值					
	Na^+	Zn^{2+}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Fe^{3+}	Cu^{2+}
0	1.356	1.482	1.347	1.668	溶液为棕黄色,影响很大	溶液为浅绿色,影响很大
0.005	1.470	1.856	1.675	1.873		
0.01	1.566	1.167	1.631	1.799		
0.05	1.762	1.642	1.226	1.739		
0.1	1.647	1.631	1.358	1.903		

2.2.6 不同食品添加剂对黄色素稳定性的影响 取滤液在波长为 460 nm 处测其吸光度(A 值)。由表 10 可知,色素萃取液在葡萄糖、蔗糖溶液的作用下 A 值稍有降低,但降低的程度不大,而色素萃取液在柠檬酸的作用下 A 值增大。因此可知,葡萄糖、蔗糖溶液对色素的影响不大,而柠檬酸溶液随其浓度增加色素液颜色逐渐加深。

表 10 不同食品添加剂对黄色素稳定性的影响

浓度/%	A 值/nm		
	葡萄糖	蔗糖	柠檬酸
0	0.704	0.708	0.712
5	0.574	0.544	1.030
10	0.576	0.534	0.980
20	0.538	0.505	1.098
30	0.512	0.471	1.196

2.2.7 黄色素的抗氧化性和抗还原性 取滤液在波长为 460 nm 处测其吸光度(A 值)。由表 11 可知,色素萃取液在 H_2O_2 的作用下吸光度(A 值)没有太

大的变化,基本上趋于平衡,而色素萃取液在 Na_2SO_3 的作用下吸光度(A 值)有所下降,因此可认为丝棉木果肉色素的抗氧化性比较强,但抗还原性较差。所以,色素在氧化剂的作用下稳定,在还原剂的作用下不稳定。

表 11 氧化剂和还原剂对黄色素稳定性的影响

浓度/%	A 值	
	H_2O_2	Na_2SO_3
0	1.587	1.624
0.005	1.429	1.415
0.01	1.471	1.215
0.05	1.446	1.197
0.1	1.533	0.997

3 结论与讨论

影响丝棉木果肉黄色素萃取率最显著因素为料液比,萃取时间、萃取温度,采用原料二次循环萃取工艺,可以更多的萃取色素。根据试验数据认为,最佳萃取时间为 2 h,萃取温度为 40°C ,料液比为 1:5。色素在 pH 3~7 内表现较稳定;温度低于 80°C 稳定性较强,但高温下易分解;在长时间光照下不稳定。金属离子(Na^+ 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+})对丝棉木果肉色素无明显的不良影响,并且大部分有增色作用。丝棉木果肉黄色素的抗氧化性比较强,但抗还原性差;所以在氧化剂的作用下稳定,在还原剂的作用下不稳定。

丝棉木果肉黄色素为脂溶性色素,通过试验测定其吸光度值可以得出乙酸乙酯是在同等条件下最优的萃取剂。但由于乙酸乙酯难溶于水且成本高。这给研究色素的稳定性带来了决定性的困难。如使用乙醇作为萃取色素的萃取剂来研究色素的稳定性,可以很好地解决色素萃取液与溶液成本高的问题,因为乙醇溶液还可以回收,但其萃取效果没有乙酸乙酯好,乙醇可以作为研究色素稳定性时做萃取剂。通过试验测定色素的稳定性,吸光度值在特定因素的影响下值不变或变化幅度不大,说明该色素在此因素的影响下比较稳定。根据试验得出的数据,可以认为,丝棉木果肉黄色素具有一定的稳定性,但还需进一步更深入研究,使丝棉木色素得到更好的利用。

参考文献

- [1] 孙立元,任宪威.河北树木志[M].北京:中国林业出版社,1997.
- [2] 李琳,吴永娟,曾凡坤.番茄红素的研究进展[J].食品科学,2000,21(5):8-11.
- [3] 成坚,曾庆孝.番茄红素性质及生理功能研究进展[J].食品与发酵工艺学,2000,26(2):75-79.
- [4] 胡晓丹.金盏菊花色素的研究[D].武汉:华中农业大学,1985:5-11.
- [5] 徐雅琴,于泽源,邵铁华.草莓红色素稳定性研究[J].食品与发酵工业,2000(4):15-18.
- [6] 奥,米克斯.色谱及有关方法的试验室手册[M].杨文澜,译.北京:机械工业出版社,1986:422-499.

软儿梨中氨基酸的提取及总氨基酸的定量分析

王 虹^{1,2}, 任世霞¹, 王永宁¹

(1. 青海师范大学 化学系, 青海 西宁 810008; 2 青海大学 化工学院, 青海 西宁 810016)

摘 要:以青海产软儿梨为原料,以 70%乙醇回流提取总氨基酸 2 h,采用甲醛滴定法测定总氨基酸的含量。结果表明:软儿梨中总氨基酸的含量为 1.84%,标准偏差为 0.244。

关键词:软儿梨;氨基酸;甲醛滴定法;定量分析

中图分类号:S 661.2 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)08-0055-02

香水梨也称软儿梨,产于青海海东地区和甘肃兰州,其果实近圆形,平均果重在 125 g 左右,立冬后成熟,其色黄中带绿,青中泛红,果皮较厚,果肉脆,味道甘甜。若藏至冬季,则冻结成冰球,食用时需置于温暖处化开,果肉似一包香水,浆液极多,味如蜂蜜。吃时撕破表皮,用嘴吸吮,一包如糖似蜜的果汁顿时溶入口中,甜凉适口,清香无比。据《本草纲目》记载,软儿梨有润肺止咳、凉心消痰、降火、解疮毒酒毒等功效^[1]。

软儿梨营养价值丰富,含有蛋白质、各种氨基酸、糖类、黄酮类物质、生物碱和各种维生素等多种成分。氨基酸是生物体中重要的生命物质,是组成酶和蛋白质的基本单元,是动物体合成蛋白质的原料来源。氨基酸的提取可分为混合氨基酸、游离氨基酸和总氨基酸 3 种情

况^[2-3]。氨基酸含量分析的方法较多,现主要有分光光度法、平面色谱法、气相色谱法、反相高效液相色谱法、氨基酸自动分析仪法,化学分析法主要为甲醛滴定法。该试验对青海产软儿梨中总氨基酸进行了提取条件研究,采用甲醛滴定法^[4]对总氨基酸进行了定量分析,以期青海软儿梨的开发应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

软儿梨购于青海省黄南州尖扎县;试验药剂:乙醇、乙醚、浓盐酸、甲醛、氢氧化钠、丙酮均为分析纯。试验仪器:800 型离心沉淀器(上海手术器械十厂);旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);CS101-2A BN 型数显电热鼓风干燥箱(重庆市永生试验仪器厂);pH-酸度计。

1.2 试验方法

软儿梨的预处理:软儿梨榨汁后将果肉和果汁分离,将果肉 40℃条件下烘干、粉碎,烘干至恒重备用。

总氨基酸提取:精密称取软儿梨粉末约 5 g,加入 70%乙醇回流浸提 2 h,过滤,收集滤液,(洗涤残渣至滤液无色后再洗 1~2 次),水浴蒸至无醇味,备用。

第一作者简介:王虹(1978-),女,陕西咸阳人,在读硕士,研究方向为生物无机化学。

责任作者:王永宁(1951-),男,河南内乡人,教授,硕士生导师,现主要从事天然产物的研究与开发工作。

收稿日期:2011-02-22

Study on Extraction and Stability of Yellow Pigment from *Euonymus maackii* Rupr

SU Wei-guo, MENG Qing-tian, WANG Wei

(Department of Horticulture, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384)

Abstract: Taking fruit of *Euonymus maackii* Rupr as test material, the extraction method of *Euonymus maackii* and its stability were studied completely to find out the best method of extracting the flesh pigment of *E. maackii*. The results showed that ethyl acetate was the best extractant of extracting yellow pigment of *E. maackii*, and ethanol was better extractant of studying pigment stability. The best extracting time and temperature was respectively 2 h and 40℃, the ratio of feed to liquid was 1:5.

Key words: *Euonymus maackii* Rupr; yellow pigment; extraction; stability