

葵花壳红色素提取方法

谢 姣^{1,2}, 王 华^{2,*}, 谈安群², 任庭院^{1,2}, 张 银^{1,2}, 李元虎^{1,2}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.中国农业科学院柑桔研究所, 重庆 400712;

3.石河子大学食品学院, 新疆 石河子 832003)

摘 要:通过对葵花壳红色素的提取、纯化方法以及稳定性实验研究, 证实提取葵花壳红色素的可行性及其利用价值。以葵花壳为原料, 采用超声波辅助溶剂法, 即 50% 乙醇溶液(pH1~2)提取红色素, 通过正交试验得最佳提取条件为超声温度 55℃、料液比 1:16(g/mL)、超声时间 10min, 经验证实验得葵花壳红色素的提取率为 8.2%。葵花壳红色素的稳定性实验表明: 加入不同浓度的氧化剂、还原剂、食品添加剂及不同环境光照处理, 红色素的颜色、OD 值变化较小, 稳定性较好; 但温度大于 80℃及 pH ≥ 3 条件下, 红色素颜色和 OD 值变化较大, 稳定性不好。将提取的粗品进行纯化试验, 所得葵花壳红色素的提纯率为 6.30%。

关键词: 葵花壳红色素; 提取; 稳定性; 纯化

Extraction of Red Pigment from Sunflower Seed Shells

XIE Jiao^{1,2}, WANG Hua^{2,*}, TAN An-qun², REN Ting-yuan^{1,2}, ZHANG Yin^{1,2}, LI Yuan-hu^{1,2}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400712, China; 3. Food College, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract: With the aim of demonstrating the feasibility of extracting red pigment from sunflower seed shells and its utilization potential, the extraction, purification and stability of red pigment from sunflower seed shells was studied. Sunflower seed shells were extracted with 50% ethanol solution (pH 1–2) under ultrasonic assistance. Employing orthogonal array design, the optimal extraction conditions were determined as follows: temperature 55 °C, material/liquid ratio 1:16, and extraction time 10 min. Under these conditions, the extraction yield of red pigment was 8.2%. The results from stability experiments indicated that the OD value and color of the pigment changed little when exposed to hydrogen peroxide, sodium sulfite, food additives or light, indicating good stability. However, poor stability was observed at temperatures higher than 80 °C or pH ≥ 3 as a result of notable changes in the color and OD. The purification yield of red pigment from crude extract was 6.30%.

Key words: red pigment from sunflower seed shells; extraction; stability; purification

中图分类号: TS275.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)04-0128-06

目前, 食用色素主要为合成色素和从无毒无害的天然产物中提取的天然色素。合成色素虽然具有成本低、着色性好的优点, 但合成色素除了改善食品的外观外, 色素本身并无营养价值, 且过多食用某些合成色素会严重影响人体健康^[1], 如在人体代谢过程中产生有害物质, 以及在合成过程中还可能被砷、铅等重金属污染等缺陷。天然色素的使用安全无毒, 稳定性良好, 色调自然, 颜色逼真且具有相当的营养和医疗保健作用而倍受人们推崇, 因此寻找和开发更多种类天然色素已成为食用色素发展的总趋势^[2-3], 如红色素主要为花色素苷类, 属于类黄酮化合物, 具有抑制血小板凝固、

预防血栓、抗癌等作用^[4-6]。

油葵(oil sunflower)即油用向日葵, 是我国四大油料作物之一。我国向日葵产区主要分布在西南、北方的一些地区, 年产量达 125 万吨, 而葵花籽壳是其主要副产品, 作为食用油脂工业的下脚料, 大部分作为燃料烧掉。而葵花籽壳中红色素含量较高, 是一种较为理想的天然色素资源, 因此从葵花壳中提取天然红色素既有利于农产品的深加工又有益于废弃物的回收利用。目前, 对葵花壳红色素的研究有王鹏等^[7]对葵花壳红色素的纯化研究, 但未见对葵花壳红色素的提取条件的优化、纯化以及稳定性实验进行系统而全面的报道。本

收稿日期: 2010-11-09

作者简介: 谢姣(1985—), 女, 硕士研究生, 主要从事农产品贮藏及加工研究。E-mail: xj19850104@126.com

* 通信作者: 王华(1963—), 男, 研究员, 硕士, 主要从事柑橘深加工及贮藏研究。E-mail: wanghua40@126.com

实验主要通过超声法辅助溶剂优化葵花壳红色素的提取条件;并利用乙醚沉淀法研究葵花壳红色素的纯化条件;研究光照、温度、pH 值、氧化剂、还原剂以及食品添加剂对红色素稳定性影响以获得葵花壳红色素的适用范围。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

新葵 8 号(产于新疆)。95% 乙醇、盐酸、甲醇、丙酮、乙醚等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

TU-190 双光束紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;FAZO04B 电子天平 上海精密科学仪器有限公司;R124 旋转浓缩蒸发器 瑞士 Büchi 公司;MR300 电磁搅拌器 德国 Heidolph 公司;PHS-3CT 酸度计 上海大普仪器有限公司;L-550 台式低速离心机 湖南湘仪实验仪器开发有限公司;DZKV4 电子恒温水浴锅 北京中兴伟业仪器有限公司;KQ5200B 数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;BCD243 双开门冰箱 广东科龙电器股份有限公司;HN101-1A 电热恒温鼓风干燥箱 南通沪南科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 提取剂的选择

葵花壳红色素为水溶性色素,根据相似相溶原理,对红色素的提取可采用溶剂提取法。称取 1g 葵花壳各加入 20mL 蒸馏水、30%、50%、75%、80%、95% 乙醇、5mL 浓盐酸-50% 乙醇溶液(95mL)、丙酮、乙醚、石油醚等^[8-10],在 50℃ 水浴中提取 2h,过滤,并将滤液定容到 100mL,以相应的溶剂作参比,在紫外分光光度计扫描后的最大吸收波长 530nm 测其 OD 值。

1.3.2 超声波辅助提取葵花壳红色素正交试验

利用超声波辅助 1.3.1 节选择的提取剂进行优化试验,因素水平见表 1、2。将提取的滤液吸取 2mL 入 100mL 容量瓶中,并将其定容,用紫外分光光度计于 530nm 测定 OD 值,以确定最佳试验条件,最后,利用以上确定的优化条件进行扩大试验,并计算葵花壳红色素的粗提率。

1.4 纯化试验设计

1.4.1 单因素试验

1.4.1.1 加入乙醚倍数的影响

称取 6 份红色素粗品,每份 10.0g,分别用质量分数 0.1% 盐酸与纯甲醇的混合溶液(两溶液体积比为 1:1),溶解色素粗品,抽滤;6 份滤液中分别加入乙醚(加入乙醚的倍数分别为色素溶液体积的 1、2、3、4、5、6 倍),充分振荡后,静置于 5℃ 冰箱中,色素以沉淀析

出;重复以上相应操作直到色素以粉末状沉淀析出,得较纯色素,最后将色素沉淀置于 60℃ 恒温鼓风干燥,得固体粉末色素,并分别将 6 份固体色素称量,记录。

1.4.1.2 放置温度的影响

称取 5 份红色素粗品,余下步骤除滤液中加入乙醚倍数为上述 1.4.1.1 节中试验最终确定倍数;静置于冰箱中的温度分别为 1、2、3、4、5℃,其余同 1.4.1.1 节。

1.4.2 扩大试验

称取葵花壳红色素粗品 20.0g,用质量分数 0.1% 的盐酸与纯甲醇的混合溶液(两溶液体积比为 1:1),溶解色素粗品,抽滤;滤液中加入 1.4.1.1 节所得的加入乙醚的最佳倍数,充分振荡后,静置于冰箱中(温度为 1.4.1.2 试验所得的最佳温度),色素以沉淀析出;重复以上相应操作直到色素以粉末状沉淀析出,得较纯的色素,最后将色素沉淀置于 60℃ 恒温鼓风干燥,得固体色素。

$$\text{色素提纯率/\%} = \frac{\text{色素纯化后的质量}}{\text{葵花壳色素粗品的质量}} \times 100 \quad (1)$$

1.5 稳定性实验设计

1.5.1 温度对葵花壳红色素稳定性的影响

配制质量分数 0.1%、pH1.0 的色素溶液,以室温 25℃ 作对照,在不同温度(25、40、60、80、100℃)恒温 4.0h,每隔 1.0h 取 1 次样,冷却后分别在 530nm 测其 OD 值^[11]。

1.5.2 光照对葵花壳红色素稳定性的影响

配制质量分数 0.1% 的色素溶液,分别在室内阴暗处、室内自然光、室外自然光放置,每隔 1h 在 530nm 测其 OD 值,并比较 OD 值以确定红色素在光照下的稳定性^[9,12]。

1.5.3 pH 值对葵花壳红色素稳定性的影响

采用柠檬酸-磷酸二氢钾-硼酸作为稳定性试验的缓冲液,分别量取 1.0mL 质量分数 0.1% 色素溶液与 9.0mL 缓冲液(pH1.0~14.0)配成 pH 值为 1.0~11.0 的溶液后^[13],530nm 测其 OD 值并观察颜色变化。

1.5.4 金属离子对葵花壳红色素稳定性的影响

分别将无水 CaCl_2 、 Na_2SO_4 、无水 AlCl_3 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 MgSO_4 配制成 0.025、0.05、0.1、0.2mol/L 4 个梯度浓度,分别取 2mL 不同浓度的 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 溶液,并分别将其加入到 8mL 质量分数 0.1% 葵花壳红色素溶液中,其中,对照液为 8mL 质量分数 0.1% 葵花壳红色素溶液加 2mL 蒸馏水。最后,在室温阴暗处放置,每隔 1h 取 1 次样,测定其 OD 值,同时观察颜色变化^[14]。

1.5.5 氧化剂、还原剂对葵花壳红色素稳定性的影响

配制 H_2O_2 、 NaHSO_3 (质量分数梯度为 0.00%、0.10%、0.30%、0.60%、0.90%、1.2%^[15]) 溶液, 分别吸取不同质量分数的氧化剂、还原剂 2mL, 加入 8mL 0.1% 葵花壳色素溶液, 放置 1h 后, 测定其 OD 值, 同时观察颜色变化。空白组为 2mL 的蒸馏水加 8mL 0.1% 葵花壳色素溶液。

1.5.6 食品添加剂对葵花壳红色素稳定性的影响

分别配制质量分数 5% NaCl 、10% 蔗糖、20% 葡萄糖溶液, 吸取 2mL, 加入 8mL 的葵花壳红色素溶液 (质量分数 0.1%), 放置 1h 后, 测定其 OD 值, 同时观察颜色变化。空白组是用 2mL 的蒸馏水来代替添加剂溶液, 并将 pH 值调为 1.0^[16]。

2 结果与分析

2.1 提取试验分析

2.1.1 提取剂的选择

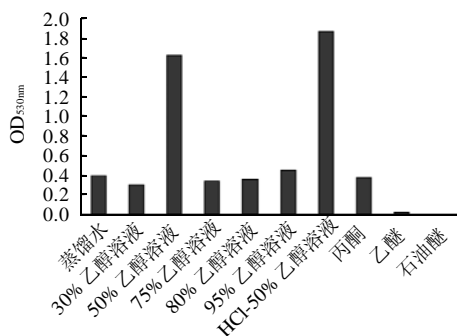


图1 提取剂的选择

Fig.1 Selection of optimal extraction solvent

由图1分析表明: 5mL 浓盐酸-50% 乙醇溶液(95mL) 的 OD 值最大且颜色最深(紫红色), 50% 乙醇溶液次之, 选择提取剂为 50% 盐酸-乙醇, 由于色素在 pH1~2 较稳定, 故本试验所用提取剂为 pH1~2、50% 酸性乙醇溶液。

2.1.2 提取条件的优化

根据预试验结果, 本试验设计 3 因素 4 水平的正交试验, 试验设计和结果见表 1。

从表 1 中直观分析得最优组合为 16 号处理, 即 $A_4B_4C_1$, 指标为料液比 1:16、温度 55℃、提取时间 25min。根据正交试验极差分析法^[17]分析 R 值可知因素的主次顺序为 $A > C > B$; 通过方差分析得因素 A 的 $F = 2.755 > F_{0.10(3,15)} = 2.490$, 故 A 因素具有显著性; 料液比、超声时间 F 值, 但均低于 $F_{\text{临界}} = 2.490$, 均不显著。根据方差分析结果以及考虑实际成本, 选取温度 55℃、料

液比 1:16、超声时间 10min 为最优条件, 即最优组合为 $A_4B_4C_1$ 。对所得最优组合进行验证实验, 测得 $\text{OD}_{530\text{nm}}$ 为 0.711, 说明此组合为葵花壳红色素提取试验最优条件。

表1 葵花壳红色素提取正交试验优化设计及结果
Table 1 Orthogonal array design arrangement and results

试验号	A 超声温度/℃	B 超声时间/min	C 料液比(g/mL)	OD _{530nm}
1	1(25)	1(10)	1(1:16)	0.055
2	1	2(15)	2(1:18)	0.065
3	1	3(20)	3(1:20)	0.096
4	1	4(25)	4(1:22)	0.074
5	2(35)	1	2	0.120
6	2	2	1	0.283
7	2	3	4	0.153
8	2	4	3	0.197
9	3(45)	1	3	0.168
10	3	2	4	0.196
11	3	3	1	0.574
12	3	4	2	0.344
13	4(55)	1	4	0.242
14	4	2	3	0.345
15	4	3	2	0.433
16	4	4	1	0.704
K_1	0.290	0.585	1.616	
K_2	0.753	0.889	0.962	
K_3	1.282	1.256	0.806	
K_4	1.724	1.171	0.665	
k_1	0.0725	0.1463	0.404	
k_2	0.1883	0.2223	0.2405	
k_3	0.3205	0.314	0.2015	
k_4	0.4130	0.2928	0.1663	
R	0.3405	0.1677	0.2377	

主次顺序

$A > C > B$

2.1.3 扩大试验结果

称取 10.0g 葵花壳, 在料液比 1:16、超声温度 55℃、超声时间 10min 条件下, 对葵花壳进行色素的提取, 得 0.82g 紫红色的色素粗品, 则色素粗品的得率为 8.2%。

2.2 葵花壳红色素稳定性

2.2.1 温度、光照对葵花壳红色素稳定性的影响

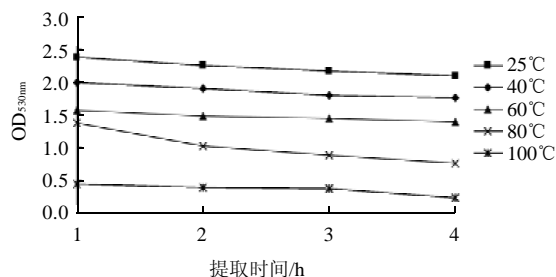


图2 温度对葵花壳稳定性的影响

Fig.2 Effect of temperature on the stability of red pigment from sunflower seed shells

从图2可以看出:在同一pH值和时间条件下,当温度 $< 80^{\circ}\text{C}$, $\text{OD}_{530\text{nm}}$ 变化较小,颜色为深红紫色;而温度 $\geq 80^{\circ}\text{C}$ 时 $\text{OD}_{530\text{nm}}$ 变化较大,颜色由深红紫色变为红紫色最后变为淡红色。因此可以得出:温度 $< 80^{\circ}\text{C}$ 时,葵花壳红色素的稳定性较好,即在温度 $< 80^{\circ}\text{C}$ 条件下葵花壳红色素的耐热性较好。

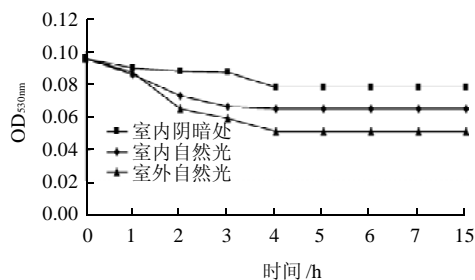


图3 光照对色素稳定性影响

Fig.3 Effect of light on the stability of red pigment from sunflower seed shells

由图3可以得出:在一定试验环境下条件下,光照时间越长,OD值越小,颜色越淡,也就是说葵花壳红色素的耐光性较差。因此,葵花壳红色素应避免光储藏。

2.2.2 pH值对葵花壳红色素的影响

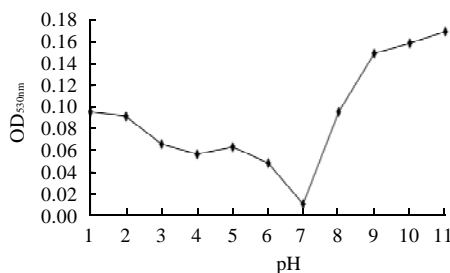


图4 pH值对葵花壳红色素稳定性影响

Fig.4 Effect of pH on the stability of red pigment from sunflower seed shells

由图4可得出:当pH值在1.0~2.0的范围内时,葵花壳红色素的颜色正常, $\text{OD}_{530\text{nm}}$ 值变化不大;当pH3.0~14.0时 $\text{OD}_{530\text{nm}}$ 值变化较大且pH值在3.0~6.0范围内时,颜色变为淡紫色,当pH值在7.0时,变为无色,pH值在8.0~11.0范围内时,变为黄绿色。故pH值在1~2范围内,葵花壳红色素的稳定性最好。

2.2.3 金属离子对葵花壳红色素稳定性的影响

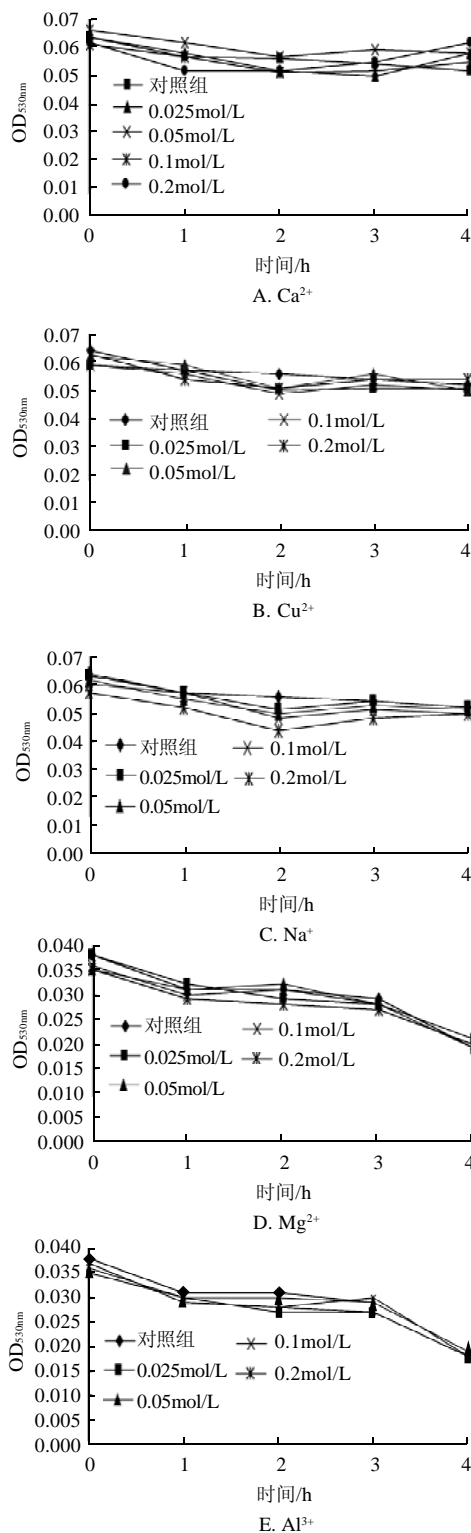


图5 金属离子对红色素稳定性的影响

Fig.5 Effect of metal ions on the stability of red pigment from sunflower seed shells

以图5为基础,分别将不同浓度下的同一金属离子的 $\text{OD}_{530\text{nm}}$ 值与之相对应的对照组的 $\text{OD}_{530\text{nm}}$ 值相比,并

参照以上各图可知：随着加入金属离子 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 浓度的增加，加入金属离子前后的 $\text{OD}_{530\text{nm}}$ 值变化不大，且颜色变化不大，说明金属离子对葵花壳红色素稳定性的影响不大。

2.2.4 氧化剂、还原剂对葵花壳红色素稳定性的影响

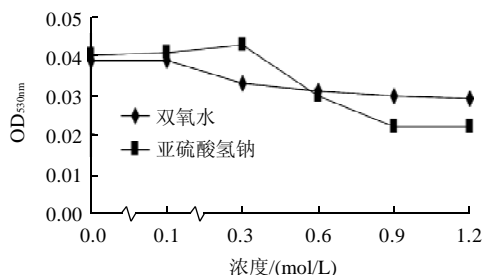


图6 氧化剂、还原剂对葵花壳红色素稳定性的影响

Fig.6 Effects of hydrogen peroxide and sodium sulfite on the stability of red pigment from sunflower seed shells

由图6可知，随着氧化剂和还原剂浓度的增加，葵花壳红色素的OD_{530nm}值变化不大，说明氧化剂和还原剂对葵花壳红色素的稳定性影响较小。

2.2.5 食品添加剂对葵花壳红色素稳定性的影响

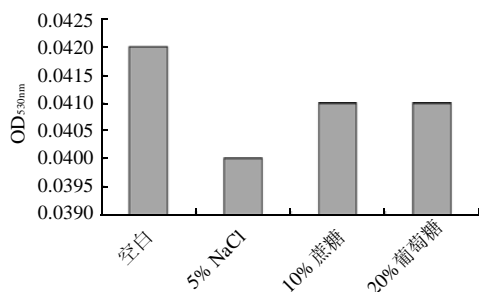


图7 食品添加剂对红色素稳定性的影响

Fig.7 Effects of food additives on the stability of red pigment from sunflower seed shells

由图7可以看出：当向葵花壳红色素中加入食品添加剂，如NaCl、蔗糖、葡萄糖等，颜色均未发生变化，OD值变化不大，即以上食品添加剂对红色素的影响不大。

2.3 葵花壳红色素初步纯化

表2 乙醚倍数对红色素纯化影响

Table 2 Effect of aether addition on purification of red pigment from crude extract

乙醚倍数	1	2	3	4	5	6
纯化后产品质量/g	0.391	0.435	0.606	0.620	0.632	0.633
提纯率/%	3.91	4.35	6.06	6.20	6.32	6.33

2.3.1 加入乙醚倍数的影响

由表2可得，加入乙醚的倍数对红色素的纯化有一定影响，但红色素纯化时加入乙醚5~6倍所得的纯化色素几乎相等，而3~5倍略微相等，这可能是随着加入乙醚的倍数的增加，某些未来得及与红色素发生反应的乙醚与空气中的氧气生成过氧化乙醚造成乙醚的损失，也有可能所加入的盐酸-甲醇混合溶液，未完全溶解红色素粗提物，使得加入乙醚倍数3~5倍略微相等，考虑到成本，本实验在纯化过程中可加入乙醚3~5倍，本实验在纯化过程中可加入乙醚3~5倍。

表3 温度对红色素纯化影响

Table 3 Effect of temperature on purification of red pigment from crude extract

温度/℃	1	2	3	4	5
纯化产品质量/g	0.349	0.384	0.570	0.633	0.589
提纯率/%	3.49	3.84	5.70	6.33	5.89

2.3.2 置于冰箱中温度的影响

置于冰箱中的温度对红色素的最终纯化结果有一定影响，由表3分析可得，4℃时纯化率相对较高，5℃提纯率低于4℃，这可能是高于5℃沉淀不完全造成红色素的损失，故选取4℃作为红色素浓浆静止于冰箱中的温度。

2.3.3 扩大试验结果

称取20.0g葵花壳红色素粗品，按照1.4.2节对色素粗品进行纯化，得深紫红色粉末状固体色素1.26g，通过计算得葵花壳红色素提纯率为6.30%。

3 结论

3.1 根据正交试验可以得出：影响葵花壳红色素提取的因素次序为超声温度>料液比>超声时间，葵花壳红色素的最佳提取条件为超声温度55℃、料液比1:16(g/mL)、提取时间10min；根据以上条件提取20.0g葵花壳并将葵花壳粗提后过滤的提取液浓缩至浓浆(呈膏状)，纯化所得色素为深紫红色粉末状固体色素，提纯率为6.30%。

3.2 据稳定性试验分析，温度、光照、pH值、金属离子、氧化剂、还原剂、食品添加剂对红色素的稳定性也会产生不同程度的影响。其影响结果如下：当温度≤80℃时，葵花壳红色素的稳定性较好；在一定光照条件下，光照时间越长，OD值越低，葵花壳红色素就越不稳定；pH值在1.0~2.0范围内，葵花壳红色素稳定性较好；在同一金属离子不同浓度的条件下，OD值变化不大，说明金属离子对葵花壳红色素稳定性的影响较小；不同浓度的氧化剂和还原剂的条件下，

OD 值变化均不大,说明氧化剂和还原剂对葵花壳红色素的稳定性影响较小;不同种类的食品添加剂对红色素的影响也较小。

参考文献:

- [1] 杨志孝,王声明,高德海.花生内表皮色素提取[J].食品科学,1992,23(10):23-24.
- [2] SCALBERT A, MANACH C, MORAND C, et al. Dietary polyphenols and the prevention of discascs[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2005, 45(1): 287-306.
- [3] De A K, AGARWAL K, MUKHERJEE A, et al. Inhibition by capsaicin against cyclophosphamide induced clastogenicity and DNA damage in mice[J]. Mutagenesis, 1995(3): 253-258.
- [4] CACACE J E, MAZZA G. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol[J]. J Food Sci, 2003, 68(1): 240-248.
- [5] ZHOU XiaoHua, KANG Jajie, SHAH Xueming. Extraction and separation of radish red pigment from a waste water of salting radish by D6I resin[J]. Chinese Journal of Reactive polymers, 1996, 5(2): 31-37.
- [6] 王岚岚,朱志玲.月季花红色素的提取及其性质研究[J].江苏食品与发酵,2007(4):1-2.
- [7] 王鹏,陈寅初,李万云,等.葵花籽壳红色素的提取纯化研究[J].农产品加工,2008,11(1):61-63.
- [8] 朱传合,孙琦,汪建民.矮牵牛红色素的提取及性质研究[J].食品工业科技,2002(3):22-23.
- [9] 白立敏,辛秀兰,江波,等.树莓红色素的提取及稳定性研究[J].食品工业科技,2007,28(12):179-181.
- [10] BORNE B, MABRY T J. The falconoid: advances in research[M]. London: Chapman and Hall, 1982.
- [11] 周国海,于华忠,余志勇.朝天椒中辣椒红色素稳定性的研究[J].食品科技,2007(2):171-173.
- [12] 翠英.李子皮红色素的提取和稳定性研究[J].延安大学学报,2004(1):56-58.
- [13] 李进,彭宇,彭子模.鸡冠花红色素理化性质及其稳定性研究[J].生物技术,2004,14(1):21-24.
- [14] 徐雅琴,于泽源,付红.毛樱桃红色素稳定性的研究[J].中国食品学报,2005,5(4):111-114.
- [15] 王振宇,田福.蓝靛果红色素稳定性的研究[J].中国食品添加剂,2007(3):102-105.
- [16] 曹艳萍.李子皮中红色素的提取及稳定性研究[J].西北农林科技大学学报,2004,32(3):97-100.
- [17] 王钦德,杨坚.食品试验设计与统计分析[M].北京:中国农业大学出版社,2007:1-517.