

# 玫瑰茄红色素主要呈色物质分离提纯的研究

余 华

(成都大学生物工程系, 四川 成都 610106)

**摘 要:** 本文用纸层析法对玫瑰茄红色素主要呈色物质进行分离提纯, 结果表明: 玫瑰茄红色素是一种花青甙类色素, 纸层析出现紫红、浅红、浅橙三个色斑, 紫红色为玫瑰茄红色素主要呈色物质, 其  $R_f$  为 0.203。玫瑰茄红色素纸层析最佳展开剂为正丁醇:冰醋酸:水=4:1:1, 最佳洗脱剂为 0.1% 稀盐酸, 紫红色色素的粗提取率为 0.704%, 占色素总含量的 46.93%。

**关键词:** 玫瑰茄红色素; 纸层析; 分离提纯

## Study on Extraction and Purification of Roselle Calyx Main Red Pigment

YU Hua

(Bioengineering Department, Chengdu University, Chengdu 610106, China)

**Abstract:** In this paper, the Roselle calyx red pigment was extracted and purified by paper chromatography. The results showed that the Roselle calyx pigment was a kind of anthocyanin. The pigment would appear in purplish red, light red and light orange colour spots when the pigment was analysed by paper chromatography. Purplish red colour spots were the major pigment when the  $R_f$  was 0.203. The optimum developer was  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}:\text{HAC}:\text{H}_2\text{O}=4:1:1$  and the optimum eluent was 0.1% HCl. The extraction rate of the purplish red pigment was 0.704%, accounted for 46.93 per cent of the total pigment content.

**Key words:** roselle calyx red pigment; paper chromatography; separation and purification

中图分类号: TS264.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)02-0079-04

玫瑰茄, 又名山茄。是锦葵科木槿属一年生草本植物, 性喜温暖湿润气候。原产非洲, 现在我国的云南、福建、广西、广东等均有种植。有清热解毒、消炎之功效<sup>[1]</sup>。玫瑰茄花萼可加工成色素, 其色素含量高, 易浸出, 是极好的天然色素之一。作者曾对玫瑰茄红色素的性质做过初步研究, 发现玫瑰茄红色素耐盐性、耐糖性较好, 抗氧化性和还原性较差, 光照和加热会使色素降解, 对  $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  等金属离子敏感<sup>[1]</sup>。

本文拟采用纸层析法对玫瑰茄红色素的主要呈色物质进行分离提纯, 并测定其色素含量。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

玫瑰茄 干制品, 购于成都市五块石中药材市场(无霉变, 优质), 产地: 广西; 新星牌 202 号定量滤纸( $\phi$  18cm)。

1.5% 稀盐酸、pH2.2~8.0 系列的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液、乙醇、甲醇、正丁醇、冰醋酸、柠檬

酸、浓盐酸等所有试剂均为分析纯。

### 1.2 设备及器具

UV-260 紫外可见扫描仪、HH-2 数显恒温水浴锅、7200 型分光光度计、小型家用粉碎机、ER-180A 电子分析天平、DB-210SCB 电热鼓风恒温干燥箱、ZK-82A 真空干燥箱、连续移液器、层析展开缸等。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 玫瑰茄红色素浸膏的制备

将玫瑰茄干花萼用小型家用粉碎机粉碎后经分级筛选得 60 目花萼干粉。用 1.5% 的稀盐酸在固液比 1:15 的条件下,  $50 \pm 2^\circ\text{C}$  恒温水浴 4h, 用滤纸过滤得到色素原液, 在  $50^\circ\text{C}$  下烘干得到色素浸膏(水分含量为 54.27%)(GB5009.3.85 直接干燥法测水分)。

#### 1.3.2 玫瑰茄红色素主要呈色物质的分离提纯

采用环状法(辐射法)纸层析, 以正丁醇:冰醋酸:水=4:1:5 为基础展开剂, 在同样的点样条件下, 不断调整各项比例(主要以减少水相为主), 根据纸层析的色带情况, 筛选玫瑰茄红色素的最佳展开剂。

收稿日期: 2003-10-17

作者简介: 余华(1967-), 女, 副教授, 硕士, 从事功能性食品的研究、开发与教学工作。

将展开色带分别用以下四种洗脱剂洗脱① 0.1% 盐酸; ② 0.1% 盐酸—甲醇; ③ 盐酸(0.5mol/L)—乙醇(95%) (V/V=15:85); ④ 柠檬酸—磷酸氢二钠(pH=3.0), 以筛选最佳洗脱剂。

操作要点: 在每张滤纸上确定 8 个点样点, 用连续移液器(0.5~10 $\mu$ l)每个点样十次, 每次点样 2 $\mu$ l, 用展开剂展开(正丁醇:冰醋酸:水=4:1:1)。展开后用冷风吹干, 剪下相同区域且等面积的每个色带, 每个色带都用上述四种洗脱剂 5ml 分别进行洗脱, 将每种洗脱液在 190~700nm 范围进行扫描, 得出每种洗脱液吸收光谱图, 根据其最大吸光度, 确定最佳洗脱剂。

### 1.3.3 各色带 $R_f$ 值的测定

将玫瑰茄红色素用展开剂展开、干燥后分别在室温(25 $^{\circ}$ C)下测定每个点样点到各色带中心及展开剂边缘的距离, 计算出各色带  $R_f$  值(以平均值计)。

### 1.3.4 玫瑰茄红色素主要呈色物质粗提取率的测定

将最佳洗脱剂所得洗脱液在 0.09MPa 的条件下真空干燥 72h 得到固体的玫瑰茄色素。其粗提取率为( $W_1/W_2$ ) $\times$ 100%(式中  $W_1$  为所得玫瑰茄固体色素重,  $W_2$  为玫瑰茄原重)。

## 2 结果与分析

### 2.1 玫瑰茄红色素主要呈色物质的分离提纯

#### 2.1.1 玫瑰茄红色素纸层析最佳展开剂的筛选

在用纸层析法对玫瑰茄红色素进行分离提纯中, 采用正丁醇、冰醋酸和水作为展开剂, 三者比例分别为 4:1:5、4:1:4、4:1:3、4:1:1、4:1:2、4:1:0.5、5:1:1、4:2:1、5:2:1、6:1:1, 结果发现, 当展开剂为正丁醇:冰醋酸:水=4:1:1 时, 层析效果最好, 从里到外依次出现紫红色、浅红色、浅橙色三条明显色带, 且各色带之间分离得很开, 没有拖尾现象。其他配比展开剂的展开效果都不理想。由此可见玫瑰茄红色素纸层析的最佳展开剂为正丁醇:冰醋酸:水=4:1:1。其结果见图 1 和表 1。

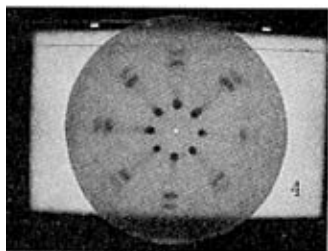


图1 正丁醇:冰醋酸:水=4:1:1 展开层析图

Fig. 1 Developing tomographic map by  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ :  
 $\text{HAc}:\text{H}_2\text{O}(4:1:1)$

表1 正丁醇:冰醋酸:水=4:1:1 展开层析结果

Table 1 Chromatography result by  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}:\text{HAc}:\text{H}_2\text{O}(4:1:1)$

点 样 点 号	点样点 到展开 剂前沿 距离(cm)	点样点 到主色 带中心 距离(cm)	点样点到 $R_f$ 值最大 色带中心 距离(cm)	点样点到 $R_f$ 值最小 色带中心 距离(cm)
1	7.0	1.3	1.6	0.9
2	6.8	1.4	1.7	1.0
3	6.8	1.3	1.6	1.0
4	6.9	1.25	1.7	0.9
5	7.0	1.45	1.73	1.1
6	7.1	1.47	1.8	0.9
7	7.1	1.46	1.9	1.2
8	7.2	1.4	1.8	1.1
$R_f$ 平均值		0.203	0.242	0.145
色带颜色		紫红色	浅红色	浅橙色

紫红色、浅红色、浅橙色三条色带的  $R_f$  分别为 0.203、0.242、0.145。其中, 紫红色为玫瑰茄红色素的主要呈色物质。

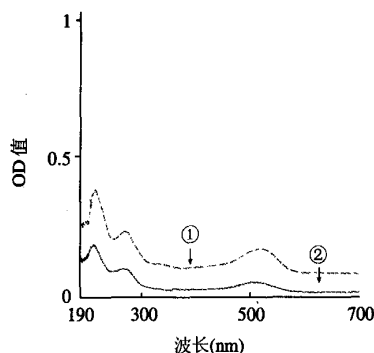
### 2.1.2 玫瑰茄红色素纸层析洗脱液的吸收光谱

按照 1.3.2 中的方式用四种洗脱剂分别对纸层析的紫红色主色斑和浅红色色斑进行洗脱(浅橙色斑洗脱后因浓度过低, 仪器不能响应), 将洗脱液进行扫描, 其吸收光谱图分别见图 2~5。

由图 2 可知①在 276.0nm 和 523.4nm 有吸收峰, ②在 274.0nm 和 509.4nm 有吸收峰。

由图 3 可知①在 274.3nm 和 532.2nm 有吸收峰, ②在 279.6nm 和 537.4nm 有吸收峰。

由图 4 可知①在 278.0nm 和 544.2nm 有吸收峰, ②

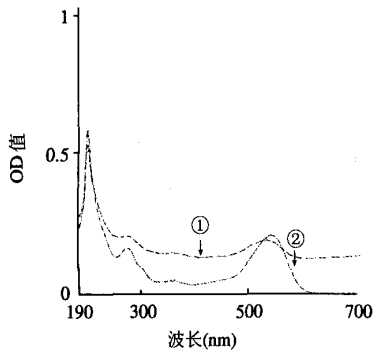


①为紫红色斑吸收曲线; ②为浅红色斑吸收曲线。

① Absorption curve for the purplish red colour spot ; ② Absorption curve for the light red colour spot.

图2 pH3.0 柠檬酸—磷酸氢二钠洗脱液的光谱图

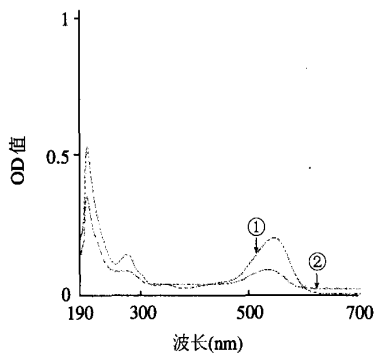
Fig. 2 Spectrogram with pH 3.0  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  as  
eluent



①为浅红色斑吸收曲线；②为紫红色斑吸收曲线。  
① Absorption curve for the light red colour spot ; ② Absorption curve for the purplish red colour.

图3 0.1% 盐酸—甲醇洗脱液的光谱图

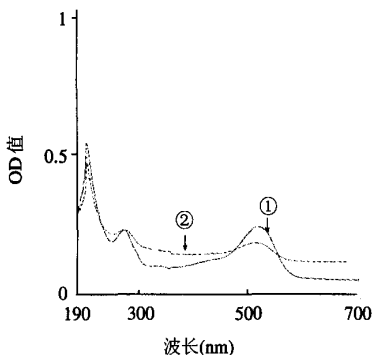
Fig. 3 Spectrogram with 0.1% HCl-CH<sub>3</sub>OH as eluent



①为紫红色斑吸收曲线；②为浅红色斑吸收曲线。  
① Absorption curve for the purplish red colour spot ; ② Absorption curve for the light red colour spot.

图4 盐酸(0.5mol/L)—乙醇(95%)洗脱液的光谱图

Fig. 4 Spectrogram with HCl (0.5mol/L)-CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (95%) as eluent



①为紫红色斑吸收曲线；②为浅红色斑吸收曲线。  
①Absorption curve for purplish red colour spot ; ②Absorption curve for light red colour spot.

图5 0.1% 盐酸洗脱液的光谱图

Fig. 5 Spectrogram with pH -Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> as eluent

在278.0nm和544.2nm有吸收峰；  
由图5可知①在277.2nm和518.8nm有吸收峰，②在275.6nm和510.2nm有吸收峰。

由以上扫描结果可知，最大OD值0.237出现在图5的光谱图中，说明0.1%稀盐酸洗脱液效果最好。通过OD值大小也可以看出紫红色斑为主色斑。

2.2 玫瑰茄红色素原液与提纯液吸收光谱的对比研究  
为了较深入研究提纯效果，本文对玫瑰茄色素原液(稀释10倍后扫描)和提纯液的吸收光谱进行了对比研究。色素原液吸收光谱扫描结果见图6。

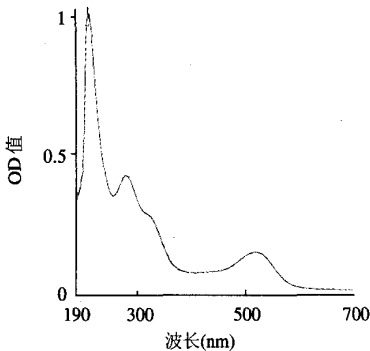


图6 玫瑰茄红色素原液吸收光谱

Fig. 6 Absorption spectrogram for the Roselle calyx red pigment extracting liquid

由图6可知，色素原液分别在282.4nm和519.2nm有吸收峰。综合图2和图5两种色带在可见区和紫外区的出峰情况，以及文献报道<sup>[3]</sup>花青甙类色素的特征吸收光谱带在278nm附近有强吸收，可见光区507~536nm范围内有吸收峰，判断其红色物质主要是花青甙类色素。

2.3 玫瑰茄红色素主要呈色物质粗提取率的测定  
将分离提纯的玫瑰茄主要呈色物质，即紫红色洗脱液进行真空干燥得到固体的玫瑰茄紫红色素，测得其粗提取率为0.704%。据资料报道<sup>[9]</sup>玫瑰茄花萼中总花青甙含量为1.5%，由此可见玫瑰茄红色素中紫红色色素大约占了46.93%。

3 讨论

本文采用纸层析对玫瑰茄红色素的主要呈色物质进行了分离提纯，并测定了提取液的吸收光谱，欲对其结构进行初步鉴定。结果发现提取液在278nm附近有强苯环吸收，507~536nm范围内有吸收峰，参考有关文献及图谱可知，这些谱带是花青甙类色素的特征吸收光谱带<sup>[3]</sup>。作者还对玫瑰茄红色素进行了一系列结构定性实验(将另文发表)。

4 结论

# 非晶颗粒态马铃薯淀粉的结构特征 及酶降解活性研究

梁 勇<sup>1</sup>, 张本山<sup>2</sup>, 杨连生<sup>2</sup>, 高大维<sup>2</sup>

(1.华南师范大学化学系, 广东 广州 510641; 2.华南理工大学轻化所, 广东 广州 510641)

**摘 要:** 本文采用扫描电子显微镜、光学显微镜等分析测试方法, 以原淀粉为参照, 对非晶颗粒态马铃薯淀粉的颗粒形貌以及酶降解过程进行了观察和研究, 结果发现, 在非晶化处理过程中发生了从内向外爆裂式膨胀而形成一条大而深的长条形的爆裂孔, 以此爆裂孔为突破口, 在酶作用下非晶颗粒态淀粉逐渐降解, 直至淀粉颗粒的完全消失, 而原淀粉具有致密的结晶结构, 在相同条件下酶降解活性远远低于非晶颗粒态淀粉。

**关键词:** 马铃薯淀粉; 非晶颗粒态; 结构特征 酶降解活性

## Study on Structure Characteristics and $\alpha$ -amylase Degraded Activity of Potato Starch in Non-crystallized Granule State

LIANG Yong<sup>1</sup>, ZHANG Ben-shan<sup>2</sup>, YANG Lian-sheng<sup>2</sup>, GAO Da-wei<sup>2</sup>

(1.Department of Chemistry, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; 2.Light and Chemical Industry Institute, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

**Abstract:** Using the SEM and polarized light microscope analytical method, the structure characteristics and degrade process of potato starch in non-crystallized granule state were investigated. It was found that in non-crystalline process, blowing out opening with big and deep slot were formed because of the "blowing out" way of swelling from inside to out. Starting from the blowing out opening starch granules, the starch granules were degraded deeply by  $\alpha$ -amylase along the blowing out opening

收稿日期: 2004-02-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29976016)

作者简介: 梁勇(1965-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为淀粉化学。

4.1 玫瑰茄红色素是一种花青甙类色素, 纸层析出现紫红、浅红、浅橙三个色斑, 紫红色为玫瑰茄红色素主要呈色物质, 其  $R_f$  为 0.203。

4.2 玫瑰茄红色素分离提纯的最佳展开剂为正丁醇:冰醋酸:水=4:1:1, 最佳洗脱剂为 0.1% 稀盐酸。

4.3 紫红色色素的粗提取率为 0.704%, 占色素总含量的 46.93%。

### 参考文献:

- [1] 余华, 颜军, 王小军. 微波法提取玫瑰茄红色素及其稳定性研究[J]. 食品科学, 2003, (4) 专: 31-35.
- [2] 王华兴, 陈锦屏. 山楂色素基本性质及其热降解动力学[J].

食品科学, 1992, (11): 10-15.

- [3] 刘贤明. 天然食用色素落葵红的初步研究[J]. 食品科学, 1990, (8): 9-13.
- [4] 林棋. 微波法萃取花生壳天然草色素及其稳定性研究[J]. 食品科学, 2002, (12): 32-36.
- [5] 王景辰, 王学增, 王亚莉. 黑米天然黑(紫)色素的研究[J]. 食品科学, 1993, (6): 13-16.
- [6] 刘淑玲, 全建波, 李美萍, 等. EDTA对红花黄色素的稳定效应[J]. 食品工业科技, 2003, (3): 31-35.
- [7] 何丽一. 平面色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社.
- [8] 寺田喜文雄, 等. 纸色谱及其应用[M]. 北京: 科学出版社.
- [9] C T Du, F J Francis. Food Sci, 1974, 38(5): 810-12.