

栀子色素研究进展

汤兴俊, 卢林海

(漳州伊莱福食品有限公司, 福建 漳州 363000)

摘 要: 栀子中含有的栀子黄色素是优良天然黄色素, 具有广泛的应用价值。并且从栀子中的栀子甙可制备出栀子蓝和栀子红色素。本文对栀子黄色素的提取、分离方法和栀子黄色素产生绿变原因等进行了简要综述, 并简要介绍了栀子蓝和栀子红色素的研究进展。

关键词: 栀子黄色素; 提取; 分离

Advance on Gardenia Pigment Study

TANG Xing-jun, LU Lin-hai

(Zhangzhou Easylife Foodstuff Co. Ltd., Zhangzhou 363000, China)

Abstract: Gardenia yellow from Gardenia fruit is natural pigment and can be used widely. Gardenia blue and gardenia red also can be made from gardenia fruit. The paper reviewed the advance on extraction and refining of gardenia yellow and reasons of gardenia yellow easy to become green. Meanwhile, it introduced the research progress of gardenia blue and gardenia red.

Key words: Gardenia yellow pigment; extraction; isolation

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0254-03

栀子(*Gardenia jasminoides* Ellis)又名山栀子、黄栀子、白蟾花、越桃、木丹、卮子, 为茜草科常绿灌木。自古以来, 栀子花和果实被用作染料, 在我国云南少数民族有用栀子染色年糕的习俗, 日本民间用栀子提取液染色寿面等。

栀子果实及花中含有(-藏花甙及(-藏花酸, 栀子甙、去羟栀子甙、栀子酮甙、格尼泊素-I(-D-龙胆二糖甙、(-甘露醇、(-谷甾醇、熊果酸、鞣质、烷烃、果胶等成分。从栀子果起始, 可分离制备出多种色素, 用于食品着色, 其色泽能与相应的合成色素媲美, 且又安全无毒性等。国内外对栀子色素进行了较为系统的开发与研究, 并取得了较大进展。

1 栀子黄色素研究进展

1.1 栀子黄色素的性质

栀子黄色素的主要成分是藏红花素和藏红花酸, 藏红花素溶解性好, 着色力强, 金属离子、酸、碱和糖等对其色调基本无影响, 在pH 1~14范围内呈鲜艳的黄色, 具有较好的着色性能。栀子黄色素易溶于水、乙醇等极性溶剂, 难溶于苯、汽油等非极性溶剂。由于栀子黄色素中的藏花酸为酸性成分, 色素在碱性溶液中溶解度较大。紫外-可见光区内栀子黄色素水溶液有三个吸收峰: 238、325、440nm, 分别是栀子苷、绿原

酸、藏花素和藏花酸特征吸收峰。

栀子黄色素热稳定性强, 在80℃以下稳定性良好; pH对色素最大吸收波长和稳定性影响较大, 在pH5.02以上最大吸收波长明显漂移, 初始吸收峰值在酸性条件下高于碱性条件, 但残存率在碱性条件下远高于酸性条件; 蔗糖、淀粉、氯化钠、常用防腐剂以及低温环境有利于色素稳定性的保持; 色素耐日光性较差, 抗氧化还原能力一般, 对Na₂SO₃耐受性较差; Cu²⁺、Zn²⁺、Sn²⁺、Ca²⁺、Al³⁺对色素影响较小, Fe³⁺对色素有破坏性影响^[1]。常锋等研究了氧化剂和抗氧化剂对栀子黄色素溶液稳定性的影响。结果表明, 当氧化剂碘酸钾, 溴酸钾与栀子黄溶液共存时, 会引起栀子黄色素的氧化褪色。添加抗氧化剂抗坏血酸, 异抗坏血酸钠, 能够明显延缓色素的褪色^[2]。

1.2 栀子黄色素的提取

栀子黄色素是一类着色力强的天然水溶性类胡萝卜素, 同时存在的栀子甙类物质也极溶解于水。此外, 栀子果中还含有大量的果胶等物质。据研究, 醇利于栀子黄的提取, 而水则更利于栀子甙类的浸出。采用醇类物质提取栀子黄色素可获得较高的栀子黄收率, 同时可降低栀子甙和果胶等物质的溶出。研究表明, 用甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇等溶剂可使栀子黄有较大的收率。考虑经济因素及应用到食品行业的要求, 传

统提取工艺多用乙醇浸提。但此法存在耗时、低效、低品质、操作复杂等诸多缺点或不便。陈顺伟等对用水萃取栀子黄色素的浸提条件进行了优化^[3]。姚中铭等^[4]研究了用微波法提取栀子黄色素的工艺条件,采用提取功率210W、500g/L的乙醇水溶液为提取剂,提取时间80s,提取级数2级,料液比1:12,色素提取率达98.4%,色价56.94,优于传统工艺。谢凤霞等比较了浸提法和超声波提取法提取栀子黄色素,发现超声波提取栀子黄色素与传统浸提法相比,具有提取温度低,时间短等优点,且色素产品提取率和色价高^[5]。超临界CO₂流体技术具有工艺简单、操作方便、无溶剂残留、操作条件温和等优点。张德权等^[6]采用了超临界CO₂流体技术对栀子黄色素的精制进行了探讨,以期萃取出栀子黄色素中的栀子甙而不影响藏花素和藏花酸,降低OD值比率。

1.3 栀子黄色素发生褪色和绿变的原因

栀子黄色素应用中存在易褪色及绿变等问题,限制了该色素的广泛应用。引起栀子黄色素绿变及褪色的原因主要有两个方面:一是栀子黄色素中存在易引起绿变的物质-栀子甙及绿原酸。栀子甙在蛋白酶或(-葡萄糖苷酶)的作用下易发生成蓝反应而引起其着色的食品绿变,绿原酸则因易氧化而使其着色的食品发暗。若把栀子黄色素中栀子甙的含量降低到肉眼所不能见到的绿变为止即可有效地防止绿变的发生。实践证明,当栀子黄色素中栀子甙的最大吸光度(吸收峰值在238nm处)与藏花素和藏花酸的最大吸光度(吸收峰值在440nm处)的比值比率小于0.4时即可避免绿变的发生。另外藏花素、藏花酸分子本身含有不饱和的多个共轭双键。共轭双键中的(键)易受亲电试剂,如H⁺、路易斯酸、金属离子等所破坏,最终形成(键,不饱和烃逐渐变为饱和烃,色素溶液的吸收峰紫移,即所谓的“褪色”。通过添加色素稳定剂(如EDTA-Na₂),避免与金属离子接触,调整酸碱pH至8~9等方法可有效地防止褪色的发生;而绿变只有靠降低栀子黄色素中栀子甙的含量才可避免。

1.4 栀子黄色素的精制

为获得不发生绿变的栀子黄色素,其分离纯化方法日益受到重视,目前研究较多的方法有合成树脂层析分离法、膜分离法、凝胶层析法等。

常用的中等极性多孔合成树脂为HP-2MG和XAD-7(或XAD-8)。栀子黄提取液通过树脂柱,黄色素被吸附,栀子甙类不被吸附而除去。吕晓铃等^[7]研究了吸附树脂法精制栀子黄色素的工艺条件。以X-5树脂为吸附剂,色素乙醇水粗提液的吸光度值为45.8,吸附流速1.5ml/min,梯度洗脱法洗脱,洗脱流速2.5ml/min,精制后的色素液A₂₃₈/A₄₄₀从2.12降到0.59,精制色素得率88.8%,色价为218.6。郭克林等^[8]用大孔吸附剂对栀子黄进行柱层析分离,得到了纯度较高的栀子黄,色价172, A₂₃₈/A₄₄₀从3.20降低到0.71。王川丕等对几种树脂分离栀子黄的效果进行了比较,发现非极性的NKA树脂有比较好的效果,可得到色价>420, OD值<0.32的栀子黄^[9]。梁华正等研究了几种大孔吸附树脂对栀子黄

色素的静态吸附特性,发现HPD100树脂对栀子黄色素有较高的静态吸附率。经HPD100树脂分离纯化,得到的栀子黄色素色价>400, OD<0.4^[10]。谢凤霞等用超声波萃取,以吸附树脂AB-8精制栀子黄色素,精制后的色素溶液A₂₃₈/A₄₄₀从2.12降到0.64,精制色素得率89.27%,色素色价221.24^[11]。张德权等比较了10种大孔树脂纯化栀子黄色素的效果,发现A-5大孔树脂选择性吸附藏花素的能力较强,吸附率和解吸率均达85%以上, OD₂₃₈/OD₄₄₀可降至0.4以下^[12]。

赵宜江等^[13]以水为溶剂提取栀子色素,然后用陶瓷膜进行过滤,RO膜进行反渗透浓缩以取代传统的乙醇水溶液浸提。此工艺虽能有效的去除果胶,在常温下进行操作,有利于色素的稳定,但并不能使栀子黄与栀子甙类物质得以有效分离,还需要辅以其它手段,以提高产品稳定性。

凝胶层析法相对于吸附树脂法具有操作上更简单、分离效果更好以及能有效保护被分离物质活性的优点。

2 栀子蓝和栀子红色素研究进展

栀子中的栀子甙可与氨基酸等物质反应生成栀子蓝色素和栀子红色素。栀子蓝和栀子红色素是优良的自然色素,可用提取栀子黄色素的副产物控制不同的反应条件制取栀子蓝和栀子红色素。

Djerassi等人研究了Genipa americana所含的栀子甙元(genipin)的结构,初步证明栀子甙元与氨基酸结合可生成蓝色色素。井上等人阐释了栀子所含的糖甙去羟栀子甙的属于糖甙配基(aglycone)的栀子甙元与一甲胺(monomethyl amine)生成蓝色色素的机理和结构。栀子蓝色色素的生成机理是栀子所含环烯醚萜甙类(iridoid glycosides)的去羟栀子甙经(-葡萄糖苷酶作用而水解,转变成栀子甙元,它与氨基酸结合生成蓝色色素。

藤川根据上述生成蓝色色素的机理进行了应用性研究,研究氨基酸的种类以及生成的蓝色色素的分离方法,解决栀子蓝色色素色调暗的缺点,研制稳定性优良,色调鲜明的蓝色色素^[14]。结果表明,在中性氨基酸范围内,生成蓝色所用的氨基酸分子量与生成的蓝色色素的λ_{max}成直线关系,为得到λ_{max}高的蓝色色素宜用分子量大的氨基酸。Lee等^[15]研究了栀子蓝色素的形成。栀子蓝色素形成的最适pH为7.0,适宜的氨基酸为甘氨酸,赖氨酸和苯丙氨酸。在pH7.0的磷酸缓冲液中,当京尼平(genipin)与氨基酸反应时,京尼平(λ_{max}240nm)快速消失,中间体的峰值(290nm左右)开始出现,最后形成λ_{max}在570~600nm的蓝色素。京尼平与甘氨酸,赖氨酸和苯丙氨酸形成蓝色素的最高吸光值分别为580、583和589nm。

制造栀子蓝色色素时必须水解去羟栀子甙,以往用微生物直接发酵或游离酶进行水解。肖亚中等研究了红曲霉发酵生产栀子蓝色素的工艺条件^[16]。梁华正等采用微生物发酵的方法水解栀子甙,其水解产物与谷氨酸钠反应制备栀子蓝色素^[17]。培养基中的蛋白质和所用的酶也

会与梔子甙元反应生成蓝色色素,影响蓝色色素的纯度。

梔子蓝色素溶解性好,着色力强,常见的金属离子、酸、碱对其色调基本无影响,水溶液在590nm处有最大吸收峰,pH3~12范围内均呈鲜艳的蓝色,热稳定性好,对紫外光不敏感,但可见光及 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 存在时其色调易于变化,耐 H_2O_2 、 Na_2SO_3 、VC等还原剂和苯甲酸钠等防腐剂。Paik等^[18]研究了热,光和pH对梔子蓝色素稳定性的影响。在pH5.0、7.0和9.0条件下研究了温度(60~90℃)对梔子蓝色素的影响,在60~90℃条件下保持10h,蓝色素保持稳定,梔子蓝色素在碱性pH条件下的稳定性优于中性和酸性,同样,梔子蓝色素在5000~20000lux光照条件下稳定。付学军等研究了梔子蓝色素的稳定性,梔子蓝色素在0.02%的浓度下,在pH1~11范围内的稳定性较好;金属离子 Sn^{2+} 、 Fe^{3+} 降低了色素的稳定性,而 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、 Ca^{2+} 对色素的稳定性没有影响;梔子蓝色素具有较好的耐热性,但耐光性较差;抗氧化剂的添加不能提高色素的稳定性;乳化剂中吐温-80具有较好的效果^[19]。

梔子蓝色素对DDY雄性小鼠和SD大鼠的口服半致死剂量分别大于16.7g/kg和10g/kg^[20,21]。急性和亚急性毒性研究中发现,对DDY小鼠饲喂梔子蓝色素20、30和40mg/kg或按饮食剂量的0.5、1.5和4.5%饲喂5个月,没有发现明显的毒性^[21]。对大鼠饲喂喂食剂量0、0.6、1.25、2.5和5%的梔子蓝色素13周,没有发现明显的毒性^[22]。此外,也没有发现梔子蓝色素对Escherichia coli, Salmonella typhimurium和Rec-assay tests有突变活性^[21]。Imazawa等研究发现,梔子蓝色素对F344大鼠没有致癌性^[23]。以上的研究结果表明,梔子蓝色素是安全的。

在制取梔子蓝的过程中,控制不同的反应条件可生产出梔子红色素。梔子中的Geniposide先被水解为色素的前体geniposidic acid。在酸性条件下(过量柠檬酸)及厌氧条件下与精氨酸或谷氨酸反应生成红紫色的色素。梔子红色素水溶液最大吸收波长为530nm,对热和pH有较好的稳定性,但不耐光。用精氨酸制备的红色素进行老鼠实验,测定口服急毒性和5个月的毒性,结果表明色素是低毒性的^[24]。

参考文献:

- [1] 艾志录,张晓宇,乔明武,等.天然食用色素梔子黄的应用特性研究[J].食品工业科技,2003,24(12):69-73.
- [2] 常锋,薛毅.天然梔子黄色素稳定性研究[J].郑州工程学院学报,2004,25(2):81-84.
- [3] 陈顺伟,滕水明,柏明娥,等.梔子黄色素浸提条件的优化选择研究[J].浙江林业科技,2002,22(6):14-17.
- [4] 姚中铭,吕晓玲,褚树成.梔子黄色素提取工艺的研究---微波提取法与传统浸提法的比较[J].天津轻工业学院学报,2001,39(4):20-23.
- [5] 谢凤霞,邱祖民,涂盛辉,等.浸提法与超声波提取法提取梔子黄色素的比较[J].南昌大学学报(理科版),2005,29(3):278-281.
- [6] 张德权,吕飞杰,台建祥,等.超临界 CO_2 流体技术精制梔子黄色素的研究[J].农业工程学报,1999,15(4):226-230.
- [7] 吕晓玲,姜平平,姚中铭,等.吸附树脂法精制梔子黄色素的工艺研究[J].天津轻工业学院学报,2001,38(3):26-29.
- [8] 郭克琳,史作清,何炳林,等.梔子黄色素的分离与提纯[J].中国食品添加剂,1996,(2):4-7.
- [9] 王川杰,计建炳,王良华,等.NKA大孔吸附树脂分离梔子黄[J].化工进展,2003,22(6):622-625.
- [10] 梁华正,廖夫生,乐长高.大孔树脂分离纯化梔子黄色素的研究[J].广州食品工业科技,2004,20(2):9-11.
- [11] 谢凤霞,邱祖民,涂盛辉,等.吸附树脂AB-8精制梔子黄色素的工艺研究[J].南昌大学学报(工科版),2005,27(1):49-51.
- [12] 张德权,吕飞杰,台建祥,等.用大孔树脂纯化梔子黄色素的研究[J].农业工程学报,2004,20(4):165-167.
- [13] 赵宜江,姚建民,徐南平,等.无机膜提取梔子黄色素的工艺研究[J].南京化工大学学报,1997,19(1):77-81.
- [14] 施琴.国外梔子蓝色素的开发现状[J].食品工业,1992,(1):35-36.
- [15] Lee J Y, Hahn T R, Paik Y S. Physicochemical characteristics for the transformation of blue pigments from genipin of Gardenia jasminoides with amino acids[J]. Agric Chem Biotechnol, 1998, 41: 399-404.
- [16] 肖亚中,王怡平,王金木,等.梔子蓝色素生产工艺研究[J].食品与发酵工业,2003,28(7):37-41.
- [17] 梁华正,乐长高,廖晓峰.京尼平甙水解物与谷氨酸钠反应生成梔子蓝色素最佳条件的研究[J].食品添加剂,2004,(7):110-112.
- [18] Young Sook Paik, Chang Min Lee, Man Ho Cho, et al. Physical stability of the blue pigments formed from geniposide of gardenia Fruits: effects of pH, temperature, and light[J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 430-432.
- [19] 付学军,董新伟,金海珠.天然色素梔子蓝的稳定性研究[J].冷饮与速冻食品工业,2005,11(1):22-25.
- [20] Tanimura A, Katayama O, Endou H, et al. Hand Book of Natural Colors (in Japanese), pp. 722±727. Kourin Co. Inc, Tokyo, 1979, 39: 507-517.
- [21] Yoshizumi T, Okuyama H, Touyama R. Studies on the character of physical chemistry and its safety evaluation of natural coloring matter of Gardenia jasminodes fruit by enzyme processing (in Japanese)[J]. Shokuhin Kogyo, 1980, 23: 41-67.
- [22] Imazawa T, Nishikawa A, Furukawa F, et al. A 13-week subchronic toxicity study of gardenia blue in F344 rats[J]. Bulletin of the National Institute of Health Sciences, 1996, 114: 27-32.
- [23] T Imazawa, A Nishikawa, F Furukawa, et al. Lack of carcinogenicity of Gardenia blue color given chronically in the diet to F344 Rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2000, 38: 313-318.
- [24] Nobuharu Moritome, Yuki Kishi, Satoshi Fujii. Properties of red pigments prepared from geniposidic acid and amino acids[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999, 79(6): 810-814.