

超临界 CO₂ 萃取物玉米黄色素着色成分和脂肪酸成分的研究

李大婧¹, 刘 荣¹, 方桂珍²

(1. 东北林业大学林学院食品科学与工程教研室, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 东北林业大学材料科学与工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘 要: 对用超临界 CO₂ 萃取方法从玉米蛋白粉中得到的玉米黄色素成品进行分析鉴定, 研究其着色成分和玉米油中脂肪酸成分。结果表明: 经 MgO 柱层析分离出三个主要组分, 并通过高效液相色谱法、化学分析法、紫外可见光谱法, 判定组分 A 为胡萝卜素、组分 B 为隐黄质、组分 D 可能为玉米黄素或叶黄素; 玉米油成分含有棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸等脂肪酸, 它们对色素有保护作用。

关键词: 玉米黄色素; 着色成分; 脂肪酸; MgO 柱层析

Study on Maize-yellow Pigments and Fatty Acids Extracted with SC-CO₂ from Corn Gluten Meal

LI Da-jing¹, LIU Rong¹, FANG Gui-zhen²

(1. Department of Food Science and Engineering, College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China 2. College of Material Science and Engineering, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: The product, Maize-yellow pigment, extracted from corn gluten meal by supercritical CO₂ was analyzed and identified. Both components of pigment and fatty acids in corn oil were studied. The results showed that three major components of pigment were isolated with MgO column chromatogram, the result further identified that component A was carotene, component B cryptoxanthin and component D probably zeaxanthin or lutein assayed by high performance liquid chromatogram, ultraviolet-visible spectrum and chemical analytical method. It also showed that fatty acids in corn oil were composed of palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid etc., which were protective to pigments.

Key words: Maize-yellow; pigment; fatty acids; MgO column chromatogram

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0062-04

玉米黄色素是一种利用价值较高的天然食用色素, 是从湿法制玉米淀粉的副产品—玉米蛋白粉中提取出来的。采用超临界 CO₂ 技术从玉米蛋白粉中萃取出的玉米黄色素, 是一种血红色油状液体, 10℃以下为黄色半凝固油状物、具有玉米油的固有气味、无异味, 经测定色价高达 3.3, 产品质量较高, 但其仍是玉米色素和玉米油的混合物, 现在市场上所见的玉米黄色素产品也是一种混合物。作为一种天然、营养、功能性的食品着色剂, 本试验对其产品中各成分进行分析鉴定, 研究其色素主要着色成分和含有的玉米油的主要成分, 为其更好、更安全地在食品工业中应用提供理

论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉米黄色素 超临界 CO₂ 技术从玉米蛋白粉中提取制得; 玉米蛋白粉 黑龙江龙拱玉米淀粉糖有限公司; 正己烷、石油醚、丙酮、乙酸乙酯、乙醚、氯仿、乙醇、氧化镁、氧化铝、氢氧化钙、碳酸钙、盐酸、硫酸、硝酸、苯酚、氢氧化钾、甲醇、乙腈、四氢呋喃等均为分析纯。

1.2 主要设备

收稿日期: 2004-10-20

作者简介: 李大婧(1976-), 女, 讲师, 博士研究生, 主要从事林产化学加工工程方面的研究。

HA121-50-01型超临界萃取装置 江苏南通华安超临界萃取有限公司; 美国 Beckman DU-7 紫外-可见分光光度计; 日本 Shimadzu LC-3A 高效液相色谱仪; 日本 Shimadzu GC-9A 气相色谱仪; 电子天平 沈阳龙腾电子称量仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 柱层析分离色素

选择氧化铝、氧化镁、氢氧化钙、碳酸钙四种吸附剂, 比较它们的使用效果, 确定出最适合分离玉米黄色素的吸附剂。采用干法装柱。在层析柱(1 cm × 20 cm)中慢慢分别装入约 15 cm 高的吸附剂, 同时敲击管壁四周使其均匀沉降。将玉米黄色素样品用滴管加于柱顶部, 待样品溶液完全浸入柱顶层吸附后分别加石油醚、苯、乙酸乙酯、丙酮、正己烷、乙醇等洗脱液展开, 比较不同的洗脱液对色素的展开效果^[1~3]。选择最理想的洗脱剂, 进行制备试验。制备柱采用 2.5 cm × 40 cm 玻璃柱。将制备好的各组分在高效液相色谱仪上检测其纯度^[4~6]。色谱条件为 250 mm × 4.6 mm YWG-C₁₈ 不锈钢柱; 流动相中溶剂体积比为乙腈:乙酸乙酯:四氢呋喃:甲醇=3:2:2:3; 流速 1 ml/min; 紫外-可见光检测器检测, 波长 450 nm。同时将制备好的各主要组分进行紫外可见光谱扫描分析, 确定各色素组份的最大吸收波长。

1.3.2 化学分析法检测类胡萝卜素^[7]

1.3.2.1 浓硫酸试验

用试管分别取柱层析制备的各部分溶液, 用氯仿 2 ml 溶解, 加入浓硫酸 0.5 ml, 使其形成两层, 如有类胡萝卜素存在, 则首先在界面然后在硫酸层呈暗蓝-蓝紫色。

1.3.2.2 发烟硝酸试验

用试管分别取柱层析制备的各部分溶液, 用氯仿 2 ml 溶解, 加发烟硝酸 1 滴, 如有类胡萝卜素存在呈蓝色→绿色→灰黄色, 如有类胡萝卜素醇存在呈绿色稍强。

1.3.2.3 浓盐酸试验

用试管分别取柱层析制备的各部分溶液, 用氯仿 2 ml 溶解, 用含苯酚的浓盐酸处理, 如有类胡萝卜素存在呈暗蓝色。

1.3.3 玉米油成分的测定

由于玉米黄色素为油溶性色素, 通常从玉米蛋白粉中提取出的色素产品含在玉米油中。玉米油中含有棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸等脂肪酸, 可以用测定脂肪酸含量的方法测定, 一般采用气相色谱法。

具体测定方法: 准确称取 0.0500 g 样品, 加入 5 ml 石油醚于 25 ml 具塞刻度试管中。加 5 ml 0.4 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液, 摇匀, 室温保持 10 min, 加蒸馏水, 如上层溶液浑浊, 加几滴乙醇可迅速澄清。取上层清液

液上机测定, 与标准样品对照, 外标法定量。色谱条件为: 1.6 m × 3 mm 玻璃柱内填 16% DEGS/Chromosorb - WAW (60~80) 目; 柱温: 195℃; 汽化室温度: 250℃; 检测器温度: 250℃; 载气(氮气): 35 ml/min; 氢火焰离子化检测器^[8]。

2 结果与讨论

2.1 柱层析分离色素

柱层析法分离色素试验中, 分别选择氧化铝、氧化镁、氢氧化钙、碳酸钙四种吸附剂, 干法装柱后, 用石油醚、苯、乙酸乙酯、丙酮等洗脱剂洗脱, 它们或单独使用或混合使用。一般来说, 极性较低色素选用高活性吸附剂如氧化铝, 而极性大的含羟基类胡萝卜素最好选用中等活性吸附剂如氧化镁、氢氧化钙、碳酸钙等^[7]。试验中发现使用氧化镁作为吸附剂效果较好, 各色素谱带分离较清晰, 洗脱效果较好。由于文献中记载玉米黄色素的主要着色成分为含羟基类胡萝卜素^[9], 根据经验和不同种吸附剂选用试验结果确定采用氧化镁作为吸附剂。

采用氧化镁层析柱, 加入不同的洗脱剂, 单独使用或两种、三种混合使用。在类胡萝卜素的分离试验中一般用增强极性的混合溶剂作为洗脱剂, 试验中多次摸索后发现, 先用石油醚(60~90℃)洗脱, 再加 1% 甲醇洗脱, 效果较好。由于分离出的各色素量有限, 改用制备柱, 共分离出 6 个谱带: A: 粉红, B: 黄, C: 浅粉红, D: 橙黄, E: 淡粉红, F: 淡黄, 收集每个谱带的流出液经高效液相色谱检测, 各组分基本上表现为单一色谱峰, 说明色素在 MgO 制备层析柱上分离较好。另外, 在 6 个谱带中 A、B、D 色素含量较高, 其它微量, 说明 A、B、D 组分是玉米黄色素的主要着色成分。

2.2 化学分析法对色素进行定性

表 1 色素化学定性分析结果
Table 1 Results of chemical qualitative analysis of pigments

反应试剂	A(粉红)	B(黄)	D(橙黄)
浓硫酸 + 氯仿	暗蓝 类胡萝卜素	暗蓝 类胡萝卜素	暗蓝 类胡萝卜素
发烟硝酸 + 氯仿	灰黄 胡萝卜素	绿 胡萝卜素醇	绿 胡萝卜素醇
浓盐酸 + 苯酚	暗蓝 类胡萝卜素	暗蓝 类胡萝卜素	暗蓝 类胡萝卜素

由于试验中 C、E、F 色素量较少, 在玉米黄色素的着色成分中不起主要作用, 对 A、B、D 组分进行化学分析鉴定, 由表 1 可以看出, A、B、D 组分均有类胡萝卜素的特性反应, 组分 A 为胡萝卜素、组分 B、D 为胡萝卜素醇。

2.3 紫外 - 可见光光谱分析

表2 各组分在石油醚中的光谱吸收特征
Table 2 Spectrum absorption character of each group in petroleum aether

色素组分	吸收峰波长 λ (nm)			最大吸收峰波长 λ (nm)
A	422	445	472	445
B	421	443	471	443
D	422	444	471	444

表3 一些类胡萝卜素的光谱吸收特征^[1]
Table 3 Spectrum absorption character of several carotenoids

类胡萝卜素	溶剂	吸收峰波长 λ (nm)			最大吸收峰波长 λ (nm)
α -胡萝卜素	石油醚	422	444	473	444
玉米黄素	正己烷	423	451	483	451
	乙醇		452	479	452
隐黄质	正己烷	422	445	472	445
α -隐黄质	正己烷	421	446	475	446
叶黄素	正己烷	420	447	477	447

玉米黄色素中主要色素组分在石油醚中的紫外 - 可见光光谱均在 400~500nm 之间有一最大吸收峰及 1~2 个肩峰, 具体结果见表 2。几种类胡萝卜素的光谱特征吸收峰见表 3。从表 2 与表 3 的比较可以看出, A、B、D 组分均有类胡萝卜素的典型吸收峰。从各组分与文献中类胡萝卜素光谱特征吸收对比可以看出, 它们的最大吸收波长有微小差距, 这与试验中使用的仪器、样品纯度的误差有关, 也与使用的溶剂不同有关。一般来说, 只要保证所用溶剂是可比较的, 所观察到的最大吸收光谱与已报道的最大吸收光谱相差 1~3nm 是可以接受的。由于 A 组分为粉红色, 在氧化镁柱层析试验中用石油醚作洗脱剂可先被洗脱出(因其为烃类胡萝卜素, 极性低), 在化学方法对其定性试验中证明为胡萝卜素, 经紫外可见光谱扫描其最大吸收波长与文献报道 α -胡萝卜素的最大吸收波长基本一致, 可证明 A 组分为 α -胡萝卜素。B 组分为黄色, 在柱层析分离过程中随后被洗脱出, 在化学定性分析实验中证明为胡萝卜素, 紫外可见光谱中最大吸收波长与文献中隐黄质的最大吸收波长基本一致, 可推断 B 组分为隐黄质。D 组分为橙黄色, 在分离出的色素中含量较高, 在加入 1% 的甲醇后被洗脱出, 说明此种类胡萝卜素极性较强, 羟基含量高。而且, 在化学定性分析实验中证明其为胡萝卜素, 由于在文献中报导玉米黄色素的主要着色成分为含有双羟基的玉米黄素和叶黄素, 但此组分紫外可见光谱中最大吸收波长与文献中玉米黄素和叶黄素的最大吸收波长有差别, 所以只能猜测此组分为玉米黄素或叶黄素或它们的混合物, 它们的进一步确证有待深入研究。

2.4 玉米油成分的鉴定

用气相色谱法对玉米油中的脂肪酸成分进行测定, 在同一色谱系统和操作条件下, 未知的五种脂肪酸的保

留时间与五种标准样品脂肪酸的保留时间基本一致^[10], 由此可知这五种脂肪酸依次分别为棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸。经过计算, 各脂肪酸含量见表 4。

表4 脂肪酸含量
Table 4 The content of fatty acids

种类	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸
含量(%)	4.41	0.80	13.54	23.92	0.67

从表 4 中可以看出, 在玉米黄色素中存在的主要脂肪酸是油酸和亚油酸。这两种脂肪酸属不饱和脂肪酸, 对生长发育、降低血清胆固醇、预防高血压有一定的功效, 是植物油中营养价值较高的。在美国食用玉米油较普遍, 以营养健康为招牌的 Mazola 牌玉米油含亚油酸 59%, 油酸 26.6%, 软脂酸 11.5%, 硬脂酸 2%, 是消费者最喜欢的色拉油和烹调油, 并用作人造奶油原料。

综上所述可知, 玉米黄色素中含有一定量的油脂对人体无害, 反而有益人体健康。而且, 高级脂肪酸, 特别是不饱和脂肪酸因含有不饱和双键比色素更易氧化^[11], 对色素可起到保护作用, 所以可作为色素的抗氧化剂不予除去。

3 结 论

3.1 将色素溶液经氧化镁柱层析, 以石油醚为洗脱剂分离出 6 个不同颜色的谱带组分, 经高效液相色谱法、化学分析法、紫外可见光谱法, 判定为类胡萝卜素, 并且进一步判定组分 A 为胡萝卜素、组分 B 为隐黄质、组分 D 可能为玉米黄素或叶黄素或它们混合物。

3.2 经气相色谱法对色素产品中玉米油的脂肪酸成分进行鉴定并测定, 结果表明其中含有棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸等脂肪酸, 油酸和亚油酸的含量较高, 这些成分对色素无有害影响, 反而具有保护作用。

参考文献:

- [1] Tee ES, et al. The analysis of carotenoids and retinoids: A review[J]. Food Chem, 1991, 41(2): 147-193.
- [2] Harold CFurr. Analysis of retinoids and carotenoids: problems resolved and unsolved[J]. J Nutr, 2004, 134(1): 281-285.
- [3] Cano MP, HPLC separation of chlorophyll and carotenoid pigments of Four Kiwi Fruit cultivars[J]. J Agric Food Chem, 1991, 39(10): 1786-1791.
- [4] Fisher JF, et al. Solid-phase extraction and HPLC determination of β -cryptoxanthin and α - and β -carotene in orange juice[J]. Agric Food Chem, 1986, 34: 985-989.

细菌纤维素生产菌株的动力学研究

齐香君, 张 雯, 韩戌珺, 闫 博
(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西 咸阳 712081)

摘 要: 对细菌纤维素生产菌株 QAX993 的发酵动力学特性进行了研究, 基于 Logistic 方程, 提出了细胞生长动力学、基质消耗动力学、纤维素生成动力学模型, 得到了描述静态分批发酵过程的动力学模型及模型参数, 同时对实验数据与模型进行了验证, 模型计算值与实验数据拟合良好, 模型基本上反映了该菌株分批发酵过程的动力学特征。

关键词: 细菌纤维素; 动力学; 数学模型

Studies on Fermentation Kinetics of Strains Producing Bacterial Cellulose

QI Xiang-jun, ZHANG Wen, HAN Xu-jun, YAN Bo
(College of Life Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology,
Xi'an 712081, China)

Abstract: The fermentation process of bacterial cellulose-producing strain QAX993 was studied. A kinetic model was proposed based on the Logistic equation for microorganism growth, product formation and substrate consumption. With the evaluated model parameters, the model appeared to provide a reasonable description for the fermentation process under various conditions.

Key words: bacterial cellulose; fermentation kinetics; model parameters

中图分类号: Q815

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0065-03

细菌纤维素是由细菌高效合成的纤维素, 与天然纤维素的结构非常接近, 都是由葡萄糖以 β -1, 4-糖苷键连接而成的高分子化合物^[1]。但因为它是纤维束的形式相互聚合的, 所以比起植物纤维素的三维立体结构, 具有纯度高、结晶度高、重合度高、生物适应性强等优越性能, 被广泛地应用于食品、造纸、医药等多个领域, 作为一种新型的生物材料它具有广泛的商业应用

前景^[2~4]。本文在对细菌纤维素生产菌株 QAX993 进行发酵特性考察的基础上, 对该菌株在静态培养条件下的动力学特性进行了研究, 建立了菌株 QAX993 的生长动力学、产物生成动力学、基质消耗动力学模型。该模型的建立, 为发酵过程中菌体浓度、基质浓度、pH 值等最佳工艺参数的确定提供了理论基础。另外, 根据此动力学模型可模拟最合适的工艺流程和工艺条件, 从而使

收稿日期: 2004-12-29

作者简介: 齐香君(1957-), 女, 教授, 研究方向为生物制药。

- [5] Khachik F, et al. Separation, identification and quantification of the major carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe and pink grapefruit by liquid chromatogram[J]. Agric Food Chem, 1989, 37(6): 1465-1473.
- [6] Rousell R L. High performance liquid chromatographic separation and spectral characterization of the pigments in turmeric and annatto[J]. Food Sci, 1988, 53(6): 1823.
- [7] 王业勤, 李勤生. 天然类胡萝卜素——研究进展、生产、应用[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1997. 145-

163.

- [8] 王静. 现代农业仪器分析应用技术[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2000. 61-62.
- [9] Blessin C W. Carotenoids of corn and sorghum I. analytical procedure[J]. Cereal Chem, 1962, 39: 236-242.
- [10] 王世平. 现代仪器分析原理与技术[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 1999. 167.
- [11] Owen R F. Food chemistry. Third edition[M]. New York: Marce Oekker, Inc, 1996. 315.