

黑果小檗红色素的提取及其稳定性研究

滕云¹, 张国强¹, 彭子模²

(1. 信阳农业高等专科学校园林系, 河南 信阳 464000)

2. 新疆师范大学生命与环境科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830054)

摘 要: 以黑果小檗果实为实验材料提取色素, 并从光、温度、还原剂、氧化剂、防腐剂和不同金属对色素稳定性的影响进行了初步研究, 结果表明: 该色素属于花色苷类; 适合在酸性条件下使用($\text{pH} < 7$); 耐光性好; 对热有一定的耐受性; 对低浓度氧化剂 H_2O_2 ($< 0.1\%$) 有一定耐受性; 对还原剂 Na_2SO_3 耐性差; 对防腐剂苯甲酸钠耐性差; 蔗糖对色素无不良影响; 大多数金属离子对色素无不良影响, 而 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Sn^{2+} 和高浓度 Pb^{2+} ($> 50.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$) 对色素有较大影响。

关键词: 黑果小檗; 色素; 花色苷; 稳定性

Research on *Berberis heteropoda* Schrenk Red Pigment Extraction and Its Stability

TENG Yun¹, ZHANG Guo-qiang¹, PENG Zi-mo²

(1. Department of Horticulture and Forestry, Xinyang Agricultural College, Xinyang 464000, China)

2. College of Life and Environment Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, China)

Abstract: The fruits of *Berberis heteropoda* Schrenk were used as raw material to extract the red pigment. The experiment studied the effects of light, heat, reductant, oxide, preservative, sucrose and metal ions on the stability of the pigment. The results showed that the pigment of *Berberis heteropoda* Schrenk is a type of anthocyanin. It can be applied according to the condition of $\text{pH} < 7$. It is strong in light endurance to some extent, good also in enduring heat and low consistence H_2O_2 ($< 0.1\%$). But it is poor in corrosion resistance against Na_2SO_3 and sodium benzoate. It is also found that sucrose and most of metal ions do not exert negative effects on the stability of the pigment, except Fe^{3+} , Fe^{2+} and high consistence Pb^{2+} ($> 50.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$), which show effect to some extent.

Key words: *Berberis heteropoda* Schrenk pigment; anthocyanin; stability

中图分类号: Q946.8

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)05-0067-04

黑果小檗(*Berberis heteropoda* Schrenk)为小檗科落叶灌木, 其茎皮及根含小檗碱, 果实含葡萄糖、果糖、苹果酸、胡萝卜素及色素类等物质^[1-2]。在民间, 黑果小檗果实长期以来被哈萨克族和维吾尔族人民晾干泡茶饮用。但从规模化应用上讲, 其目前基本上处于未被开发利用的状态。而对其作为植物色素的开发利用的研究更少, 因此, 研究开发黑果小檗色素及其在食品、医药卫生、日用化工等方面的应用就显示出了其独特的优势。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

本实验所用材料为小檗科小檗属黑果小檗(*Berberis heteropoda* Schrenk)的果实, 采自新疆昌吉回族自治州

奇台县、乌鲁木齐南山。果实置于室温下(25°C)自然阴干。实验所用试剂均为分析纯。

1.2 黑果小檗红色素的制备

1.2.1 色素提取的最佳条件

采用正交法设计试验组合, 按正交表 $L_{16}(4^5)$ 对浸提剂乙醇浓度、浸提温度、浸提时间、物料配比四个因子在四个水平上进行试验^[3-4]。最后确定浸提剂为80%乙醇; 浸提温度为 45°C ; 浸提时间为2h; 物料配比为1:25为最佳提取条件, 获得色素粗提液。

1.2.2 NKA-9大孔树脂纯化黑果小檗色素^[5-6]

色素粗提液经抽滤, 减压浓缩回收乙醇后, 浓缩液流经NKA-9大孔树脂吸附, 然后用60%乙醇洗脱, 收集洗脱液减压浓缩, 然后冷冻干燥得黑红色色素粉末。以下实验均采用此方法制得的色素。

收稿日期: 2006-06-20

作者简介: 滕云(1974-), 女, 硕士, 研究方向为植物资源开发与利用。

1.2.3 制取黑果小檗红色素的实验室流程

选择色泽明亮、黑红色的黑果小檗果实→清洗→干燥→粉碎→以80%乙醇溶液为浸提剂浸提3次(物料配比为1:25, 浸提时间为2h; 浸提温度为45℃)滤渣弃取, 滤液合并→抽滤→减压浓缩→NKA-9大孔树脂吸附→60%乙醇洗脱→洗脱液减压浓缩→冷冻干燥。

1.3 色素类型的识别

1.3.1 溶解性的测定

将少许干燥的色素样品分别加入等量的乙醇、正丁醇、苯、丙酮、石油醚、氯仿、四氯化碳、乙酸乙酯、乙酸、甲醇、无水乙醇、50%乙醇、水, 观察溶解情况。

1.3.2 色素的吸收光谱

1.3.2.1 不同pH值下的吸收光谱

将1.5mg/ml色素水溶液, 调节pH1~9, 测定其可见区吸收光谱。

1.3.2.2 不同溶剂中的吸收光谱

取0.15g固体色素样品分别溶于100ml水、50%乙醇、无水乙醇和甲醇中, 测其可见区吸收光谱。

1.3.2.3 色素的紫外-可见吸收光谱

取0.75mg/ml色素水溶液, 测其紫外-可见吸收光谱。

1.4 色素稳定性的研究^[7-10]

1.4.1 pH值对色素稳定性的影响

用pH1~12的不同缓冲液做稀释液, 配制相同浓度的色素试液, 观察颜色变化。

1.4.2 温度对色素稳定性的影响

取色素水溶液, 分别25、45、65、85℃下恒温4h, 每隔1h取样一次, 冷却至室温后, 测其在最大吸收波长处的吸光度值。

1.4.3 光对色素稳定性的影响

取色素水溶液, 分别置于室外自然光、室内自然光和紫外光(功率15W, 照射距离30cm)照射一定时间, 定时取样, 作光程扫描, 记录最大吸光度值。

1.4.4 氧化剂对色素稳定性的影响

以H₂O₂作为氧化剂, 配制不同浓度的H₂O₂色素水溶液, 定时取样进行光程扫描, 测定其最大吸光度值。

1.4.5 还原剂对色素稳定性的影响

以Na₂SO₃作为还原剂, 配制不同浓度的Na₂SO₃色素水溶液, 定时取样进行光程扫描, 记录最大吸光度值。

1.4.6 防腐剂对色素稳定性的影响

以苯甲酸钠作为防腐剂, 配制不同浓度的苯甲酸钠色素水溶液, 定时取样进行光程扫描, 记录最大吸光度值。

1.4.7 蔗糖对色素稳定性的影响

分别配制不同浓度的蔗糖色素水溶液, 对其进行光程扫描, 记录最大吸光度值。

1.4.8 金属离子对色素稳定性的影响

用三氯化铁(FeCl₃·6H₂O)、硫酸锌(ZnSO₄·7H₂O)、硫酸镁(MgSO₄·7H₂O)、氯化钾(KCl)、氯化钠(NaCl)、硫酸亚铁(FeSO₄·7H₂O)、硫酸铜(CuSO₄·5H₂O)、氯化钙(CaCl₂)、醋酸铅(Pb(CH₃COO)₂·3H₂O)、二氯化锡(SnCl₂·H₂O)、三氯化铝(AlCl₃·6H₂O)分别配制不同浓度的金属离子Fe³⁺、Zn²⁺、Mg²⁺、K⁺、Na⁺、Fe²⁺、Cu²⁺、Al³⁺、Ca²⁺、Pb²⁺、Sn²⁺的色素水溶液, 测定其最大吸光度值, 观察各金属离子对色素的影响情况。

2 结果与分析

2.1 色素类型的识别

2.1.1 溶解性的测定

结果表明黑果小檗红色素易溶于水、乙醇、乙酸和甲醇等极性溶剂, 不溶于乙醚、正丁醇、苯、丙酮、石油醚、氯仿、四氯化碳、乙酸乙酯等非极性溶剂。与花青素类色素溶解性类似。

2.1.2 色素的吸收光谱

2.1.2.1 不同pH值下的吸收光谱

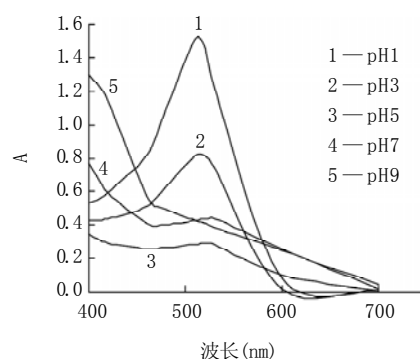


图1 黑果小檗红色素在不同pH值下的吸收光谱

Fig.1 Spectrum of *Berberis heteropoda* Schrenk pigment at different pH values

从图1可见, 黑果小檗红色素在不同pH值水溶液中, 可见光区内吸收光谱各不相同, 在pH1时其吸光度值(A)最大, 其最大吸收峰为516nm, 当pH值大于1时, 其吸光度值趋于减小, 光谱曲线变的平坦。这种变化只有花色苷类色素随pH值改变导致其分子结构也发生变化, 推测黑果小檗红色素属于花色苷类色素。

2.1.2.2 不同溶剂中的吸收光谱

从图2可见, 在可见光区域于水溶液的最大吸收峰为516nm, 在甲醇溶液的最大吸收峰为528nm, 在50%

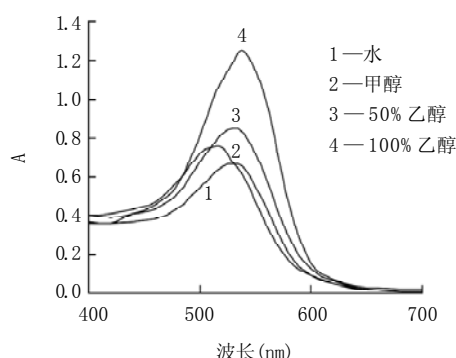


图2 黑果小檗红色素在不同溶剂中的吸收光谱

Fig.2 Spectrum of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment in different solvents

乙醇水溶液最大吸收峰为530nm, 在100%乙醇中的最大吸收峰为538nm, 略向长波方向移动; 在100%乙醇溶液中的吸光度值较大。

2.1.2.3 色素水溶液的紫外-可见区吸收光谱

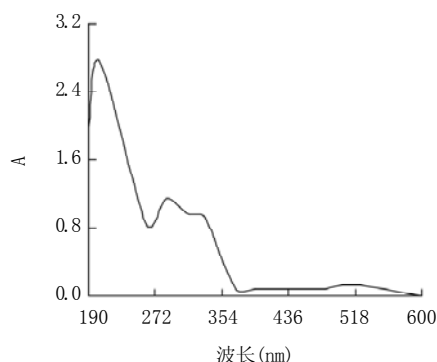


图3 黑果小檗红色素水溶液紫外-可见光区内的吸收光谱

Fig.3 Spectrum of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment in water

从图3可见在整个紫外-可见光区黑果小檗红色素于水溶液中有三个吸收峰, 分别为203.6、284.9、515.9nm, 这与花青素的结构峰位置相似, 即在紫外区的200~220(带)和270~280(带)有两个吸收峰。而且, 该色素在可见光区内有特征吸收峰, 从而区别于黄酮类色素。由此, 进一步推测该色素为花色苷类色素。

2.2 色素稳定性的研究

2.2.1 pH 值对色素稳定性的影响

表1 pH 值对黑果小檗红色素稳定性的影响

Table 1 Effects of pH values on the stability of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment

pH 值	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
颜色	红	红	红	红	红	浅红	棕黄	棕黄	棕黄	棕褐	棕褐	棕褐

从表1可见, 黑果小檗红色素在pH6 以下为红色, 色泽明亮, pH6 左右时颜色变浅, pH7 以上时, 颜色改变, 变为棕黄、棕褐。该色素适宜在酸性条件下使用。

2.2.2 温度对色素稳定性的影响

由表2 可见, 黑果小檗红色素在中、低温下(25~

表2 温度对黑果小檗红色素稳定性的影响

Table 2 Effects of temperature on the stability of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment

时间(h)	吸光度			
	25℃	45℃	65℃	85℃
0	0.764	0.764	0.764	0.764
1	0.734	0.727	0.721	0.654
2	0.727	0.715	0.714	0.554
3	0.710	0.713	0.709	0.491
4	0.708	0.704	0.689	0.403

65℃) 较稳定, 吸光度值变化不大; 在高温下吸光度值下降较大, 说明该色素具一定的耐热性, 但在高温下不稳定。

2.2.3 光对色素稳定性的影响

由表3、4 可见, 黑果小檗红色素在室外自然光下

表3 自然光对黑果小檗红色素稳定性的影响

Table 3 Effects of natural light on the stability of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment

时间(d)	0	2	4	6	8	10	12
吸光度 室外	0.764	0.733	0.697	0.682	0.668	0.650	0.601
吸光度 室内	0.764	0.745	0.735	0.726	0.697	0.681	0.663

表4 紫外光对黑果小檗红色素稳定性的影响

Table 4 Effects of ultraviolet radiation on the stability of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment

时间(h)	0	2	4	6	8	10
吸光度	0.764	0.744	0.715	0.706	0.696	0.685

吸光度值下降较大, 颜色变浅; 但在室内吸光度值下降很小, 颜色变化不明显; 在紫外光下, 随照射时间的延长, 色素样品的吸光度值下降, 但在短时间内, 吸光度值略微下降, 颜色基本无变化。说明黑果小檗红色素对光具有较高的耐性。

2.2.4 氧化剂H₂O₂对色素稳定性的影响

表5 H₂O₂对黑果小檗红色素稳定性的影响Table 5 Effects of H₂O₂ on the stability of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment

H ₂ O ₂ (%)	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8
1h 吸光度	0.764	0.675	0.646	0.569	0.479	0.410
2h 吸光度	0.764	0.615	0.564	0.458	0.369	0.291

从表5 可看出, 黑果小檗红色素在低浓度H₂O₂ (0.1% 以下) 吸光度值降低不大, 颜色变化不大, 但随着H₂O₂ 浓度的升高, 色素的吸光度值急剧下降, 色泽消退。说明黑果小檗红色素对低浓度H₂O₂ 有一定耐受性, 但在使用时, 要尽量避免与高浓度的氧化剂和氧化物质接触。

2.2.5 还原剂 Na_2SO_3 对色素稳定性的影响

表 6 还原剂 Na_2SO_3 对黑果小檗红色素稳定性的影响
Table 6 Effects of Na_2SO_3 on the stability of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment

Na_2SO_3 (%)	0	0.05	0.1	0.2	0.4
1h 吸光度	0.764	0.553	0.533	0.512	0.414
2h 吸光度	0.764	0.528	0.514	0.497	0.387

从表 6 可以看出, 随 Na_2SO_3 浓度的升高及作用时间的延长, 色素的吸光度值急剧下降, 色泽消退, 说明黑果小檗红色素的耐还原性差。因此, 在使用时要尽量避免与还原物质或还原剂接触。

2.2.6 防腐剂苯甲酸钠对色素稳定性的影响

表 7 防腐剂苯甲酸钠对黑果小檗红色素稳定性的影响
Table 7 Effects of sodium benzoate on the stability of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment

苯甲酸钠 (%)	0	0.1	0.5	1	1.5
1h 吸光度	0.764	0.590	0.630	0.656	0.673
2h 吸光度	0.764	0.578	0.615	0.648	0.659

从结果可见, 色素对苯甲酸钠的耐受性很差, 并随苯甲酸钠浓度提高, 色泽发生变化, 由红色渐变为棕黄色。

2.2.7 蔗糖对色素稳定性的影响

表 8 蔗糖对黑果小檗红色素稳定性的影响
Table 8 Effects of sucrose on the stability of *Berberis heteropoda* Schrenk red pigment

蔗糖浓度 (%)	0	1.0	3.0	5.0	7.0	9.0
1h 吸光度	0.764	0.797	0.802	0.804	0.810	0.813
2h 吸光度	0.764	0.796	0.802	0.804	0.808	0.811

从表 8 可见: 随着蔗糖浓度增加, 吸光度值有所增加, 颜色基本无变化, 蔗糖对其无不良影响。

2.2.8 金属离子对色素稳定性的影响

实验结果显示, 金属离子 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+} 和 Cu^{2+} 随着离子浓度的增加, 色素液吸光度值有所增加, 但颜色基本无变化, 说明以上金属离子对色素的稳定性无不良影响; Pb^{2+} 在低浓度 ($< 50.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$) 时, 色素液吸光度值有较小增加, 颜色基本无变化, 在高浓度时, 色素液吸光度值有较大增加,

颜色由红色变为紫色; 而 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Sn^{2+} 使色素液吸光度值有很大增加, 颜色变为紫红, 对色素有较大影响, 且随离子浓度的增加影响加大。因此, 在色素使用、保存和运输过程中要避免与 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Sn^{2+} 和高浓度 Pb^{2+} 接触。

3 结 论

3.1 黑果小檗红色素最佳提取条件为: 浸提剂为 80% 乙醇; 浸提温度为 45℃; 浸提时间为 2h; 物料配比为 1:25。

3.2 黑果小檗红色素属于花色苷类色素; 易溶于极性溶剂。

3.3 黑果小檗红色素适合在酸性条件下使用 ($\text{pH} < 7$); 对热有一定的耐受性; 耐光性好; 对低浓度氧化剂 H_2O_2 有一定耐受性; 对还原剂 Na_2SO_3 耐性差; 对防腐剂苯甲酸钠耐性差; 蔗糖对色素无不良影响; 大多数金属离子对色素无不良影响, 而 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Sn^{2+} 和高浓度 Pb^{2+} ($> 50.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$) 对色素有较大影响。

3.4 黑果小檗果实富含色素, 同时又具有一定的医疗保健功能, 用作原料提取色素产品, 是一种较为理想的天然食用色素资源, 具有广阔的生产前景和价值。

参考文献:

- [1] 刘嫫心. 沙漠植物志: 第一卷[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 514.
- [2] 新疆维吾尔自治区卫生厅. 维吾尔药材标准[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1993: 24-26.
- [3] 中国科学院数学研究所统计组. 常用数理统计方法[M]. 北京: 北京科学出版社, 1973: 34-35.
- [4] 王隆华, 沈庆. 正交试验法在植物生理学实验中的应用示例[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(5): 366-367.
- [5] 李作平, 霍长虹. 大孔吸附树脂在水溶性天然药物化学成分提取分离中的应用[J]. 河北医科大学学报, 2002, 23(2): 121-123.
- [6] 权清转, 党蕊叶, 李同生. X-5树脂吸附和分离萝卜红色素[J]. 西北植物学报, 2001, 21(6): 1218-1222.
- [7] 刘存瑞, 曾宪佳, 胡喜兰, 等. 化学因素对黑果小檗色素的稳定性影响[J]. 广州食品工业科技, 2003(1): 56-57.
- [8] 李进, 赵红艳, 曾卫军, 等. 番茄皮渣色素及其稳定性研究[J]. 西北植物学报, 2002, 22(5): 1231-1235.
- [9] 李和生. 桑葚红色素的提取工艺及其稳定性研究[J]. 食品科技, 2002(3): 51-52.
- [10] 孙键, 彭子模, 蒋跃明. 蜀葵花紫红色素的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(10): 66-71.