

鸡血藤红色素的提取与基本性质分析

许润¹, 刘建华², 杨广成¹, 李计龙¹, 杨迺嘉^{2,*}

(1. 贵州大学生命科学学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省生物技术研究开发基地, 贵州 贵阳 550002)

摘要: 探讨鸡血藤红色素的最佳提取溶液, 定性定量光、温度、pH 值、氧化还原介质对红色素稳定性的影响。结果表明, 鸡血藤红色素最佳提取溶剂为 65% 酸性乙醇(pH1.8), 且色素为非花色苷类色素。室内自然光对色素影响不大, 该红色素在 20~60℃ 具有较好的稳定性, 对氧化剂、还原剂反应敏感。

关键词: 鸡血藤; 红色素; 理化性质; 稳定性

Red Pigment Extraction from *Millettia reticulata* Benth and Physical and Chemical Properties of Pigment

XU Run¹, LIU Jian-hua², YANG Guang-cheng¹, LI Ji-long¹, YANG Nai-jia^{2,*}

(1. College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

2. Guizhou Provincial Base of Biotechnology Research and Development, Guiyang 550002, China)

Abstract: The red pigment was extracted from *Millettia reticulata* Benth and the physical and chemical properties of red pigment from *Millettia reticulata* Benth were investigated, the effects of light, temperature, pH value, oxide-reducing medium on pigment stability were studied. The results showed that the procedure of acid-alcohol extraction gave rather satisfactory results. The pigment does not belong to anthocyanins, and is stable below 20—60℃, but its resistance to oxide and reductant is not good.

Key words: *Millettia reticulata* Benth; red pigment; physical and chemical properties; stability

中图分类号: Q949.751.9; TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)10-0107-04

近年来, 研究发现合成色素大多具有慢性毒性和致癌作用, 严重危害人类健康^[1], 而绝大多数天然色素不但无毒无害, 还具有食品本身的色泽、促进食欲、增加消化液的分泌, 对人体有医疗和保健作用^[2]。因此, 寻找和开发更多的天然色素已成为食用色素发展的必然趋势^[3]。植物色素大多为花青素类、番茄红素类、胡萝卜素类、黄酮类化合物, 是一类生物活性物质, 是植物药和保健食品中的功能性有效成分^[4]。这些色素可发挥增强人体免疫机能、抗氧化、降低血脂等辅助作用; 日常食用可发挥营养强化的辅助作用及抗氧化作用^[5]。

鸡血藤红色素是一种安全、无毒副作用以及兼有营养和药用保健功能的天然食用色素。鸡血藤为豆科植物密花豆的干燥藤茎, 苦、甘、温, 归肝、肾经。具有活血、通络功效, 可治疗月经不调、血虚萎黄、麻木瘫痪、风湿痹痛等症。鸡血藤或鸡血藤组方常被现代中医临床上用于治疗由放化疗、血液系统疾病等原因引起的白细胞、血小板及红细胞减少性疾病

病^[6]。目前, 对其的深入研究尚未见报道。本实验对鸡血藤红色素的提取工艺, 稳定性及其基本性质进行了较详细的考察分析, 为后续鸡血藤食用色素的开发应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

鸡血藤采购自广西, 经贵阳中医学院张荣川教授鉴定为豆科植物密花豆(*Spatholobus suberectus* Dunn)的干燥藤茎。

无水乙醇、95% 乙醇 天津化学试剂公司; 硫酸、柠檬酸、碳酸钠、氯化钠、硫酸钡 国药试剂公司。

JJ2000B 型电子天平 常熟双杰测试仪器厂; KW-2A 型电热恒温水浴锅 北京长源实验设备厂; R-210 型旋转蒸发仪 瑞士 Büchi 公司; TU-1810PC 型紫外分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 色素提取工艺

收稿日期: 2011-04-17

基金项目: 贵州省科技成果转化项目(黔科合成字[2008]5025)

作者简介: 许润(1987—), 男, 硕士, 研究方向为中草药制剂及其药理。E-mail: runes617@yahoo.cn

* 通信作者: 杨迺嘉(1965—), 女, 研究员, 学士, 研究方向为中草药开发。E-mail: khyangbiyu@163.com

1.2.1 色素提取溶剂选择

分别采用不同溶剂,以紫外吸光度为指标,对鸡血藤红色素提取工艺进行优化。称取 1.0g 鸡血藤粗粉加 25mL 不同溶剂(0.2% 柠檬酸、蒸馏水、自来水、95% 乙醇、无水乙醇、pH1.8 的 65% 乙醇)浸提 24h 过滤定容至原体积,离心分离,观察记录各色素液颜色、紫外吸光度。

1.2.2 色素的提取与纯化

称取鸡血藤细粉(200 目)4.0g,加入 100mL 65% 酸性乙醇(pH1.8),浸提 24h。过滤浸提液,加多倍量乙醇使醇浓度为 70%,除去多糖,蛋白质等杂质,离心分离,浓缩^[7]。制得原液进行以下理化实验。

1.3 色素的定性分析

1.3.1 光谱分析

以 65% 酸性乙醇 50mL,稀释原液。设定扫描波长范围为 200~700nm 测定并记录最大吸收波长 λ_{\max} 。

1.3.2 色素液颜色反应

将浓缩色素液与浓硫酸、三氧化铁反应,考察此色素的理化性质。

1.3.3 色素的溶解性

常温下取少量色素浓缩液分别加入不同溶剂,观察色素在不同液相中的溶解情况。

1.3.4 色素的稳定性

1.3.4.1 光稳定性

配制相同浓度色素液于室温避光、室温 24h 光照、室温、自然光条件下放置 21d,每 3d 测 1 次最大吸收波长处的吸光度,并目测色素液颜色变化。

1.3.4.2 热稳定性

配制相同浓度色素液各置于室温、40、60、80、100℃水溶液中加热 100min 每 20min 分别取样,冷却后测定最大吸收波长处的吸光度并观察溶液颜色变化。

1.3.4.3 抗氧化还原性

以 3% H_2O_2 溶液为氧化剂,3% Na_2SO_3 溶液为还原剂配制等量色素液,于室温条件下放置 100min,每隔 20min 测定一次吸光度(A),并目测溶液颜色变化。

1.3.4.4 pH 值对其稳定性的影响

分别取 10mL 鸡血藤红色素原液,用 5mol/L HCl 溶液和 2mol/L NaOH 溶液,调 pH 值分别为 1、3、5、7、9、11、13,测定吸光度(A),并目测溶液颜色变化。

1.3.4.5 金属离子对其稳定性的影响

取等量色素液,分别加入等体积的金属离子溶液,空白加入等体积蒸馏水,振荡,静置过夜,观察颜色变化,并测定吸光度。

1.3.5 不同批次鸡血藤红色素吸光度的比较

称取 3 批不同鸡血藤原药材 1.0g;加 65% 酸性乙醇定容至 25mL,浸提 24h;浸提液过滤,各取 1mL 鸡血藤红色素原液,分别稀释至 10mL,测定 λ_{\max} 为 452nm 处的吸光度。

2 结果与分析

2.1 色素提取溶剂优选

表 1 色素提取溶剂的优选
Table 1 Optimization of pigment extraction

序号	提取剂	颜色	λ_{\max}/nm	稀释倍数	A_{\max}
1	0.2% 柠檬酸	黄	421	5	0.081
2	蒸馏水	棕红色	436	10	0.072
3	自来水	棕红色	434	10	0.084
4	95% 乙醇	深桃红色	443	100	0.081
5	无水乙醇	深桃红色	449	100	0.098
6	酸性 65% 乙醇	深玫瑰红色	452	100	0.136

从表 1 可看出,6 号提取液经稀释 100 倍后其吸光度(A)仍可达 0.136,色素含量明显高出其他提取液;从表 2 可知,不同提取剂中红色素的颜色变化。如果运用于产业化,可以考虑使用自来水^[8]。但出于实验室条件下提取效果的考虑,选择 6 号提取剂即酸性 65% 乙醇(pH1.8)。

表 2 不同提取溶剂中鸡血藤红色素的颜色变化

Table 2 Color changes of *Millettia reticulata* red pigment in different extraction solvents

提取溶剂	0.2% 柠檬酸	蒸馏水	自来水	95% 乙醇	无水乙醇	酸性 65% 乙醇
开始	浅黄	棕色	棕色	桃红	桃红	深红
24h 后	黄	棕红色	棕红色	深桃红	深桃红	深玫瑰红

2.2 色素定性分析

2.2.1 光谱分析

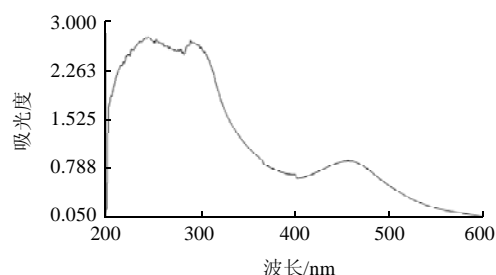


图 1 鸡血藤红色素光谱扫描图

Fig.1 Ultraviolet scanning diagram of *Millettia reticulata* red pigment

由图1可知,鸡血藤红色素在pH1.8、65%乙醇条件下的紫外区有两个强烈的吸收峰,即在280nm左右和245nm左右,在可见光区454nm处也有一个吸收峰。本实验选择454nm为吸收波长进行后续实验。查阅相关文献以及图谱,发现这与常见的花色苷类色素的吸收峰不同,初步判断是一种未知的色素类型。

2.2.2 色素液颜色反应

表3 色素的颜色反应

Table 3 Color reactions of pigment

反应条件	可见光下	氨熏条件下	Na ₂ CO ₃ 介质中	浓H ₂ SO ₄ 介质中	FeCl ₃ 溶液
呈色	深玫瑰红色	深红色	深红色	红色	棕褐色絮状沉淀

植物色素颜色反应比较结果见表3,其与浓H₂SO₄反应显红色,与FeCl₃反应有棕褐色絮状沉淀,在酸性介质中反应显红色,在碱性介质中显深红色,故可初步推断鸡血藤红色素不属于黄酮类花色苷化合物。

2.3 色素的溶解性

溶解试验结果表明鸡血藤色素可溶于水、酸性乙醇、无水乙醇、甲醇、乙酸等溶剂,不溶于乙酸乙酯、丙三醇、石油醚、苯、氯仿、乙醚等溶剂,属于水溶性色素类。

2.4 色素的稳定性分析

2.4.1 色素液的光稳定性

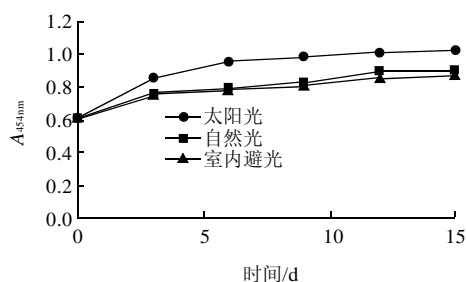


图2 光照对红色素稳定性的影响

Fig.2 Effect of light on stability of red pigment

由图2可知,光照对鸡血藤红色素有一定影响,随着光照时间的延长,颜色变深,吸光度增大。其中,持续太阳光照的影响最大,而在室内自然光下色素降解的幅度不大,15d之后呈现一定的稳定趋势,较好的保存条件是室内避光保存,色素液在实验时间内色泽基本保持不变。

2.4.2 色素液的热稳定性

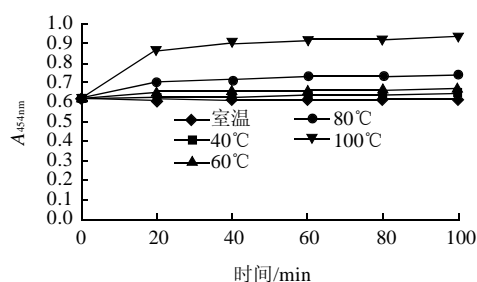


图3 温度对红色素稳定性的影响

Fig.3 Effect of temperature on stability of red pigment

由图3可知,在实验时间内,随着温度的升高,吸光度随之变大,鸡血藤红色素原液的颜色也逐渐变深。但在20~60℃,其吸光度变化不明显,即此色素在20~60℃时对热具有较好的稳定性。在80~100℃条件下吸光度大幅变化,颜色明显加深,这与天然色素在低温时性质一般较稳定,加热或高温可加快变色反应的特点相符合。故此色素液应放置于低温或室温环境中贮放。

2.4.3 氧化还原剂对色素液稳定性的影响

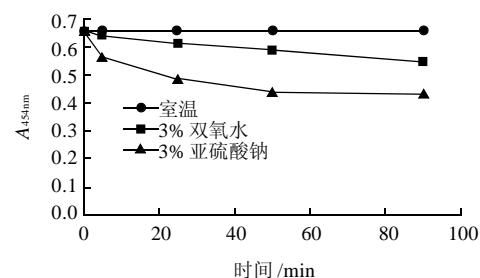


图4 氧化剂和还原剂对色素稳定性的影响

Fig.4 Effect of oxidizing agent on stability of red pigment

由图4可知,氧化剂、还原剂对鸡血藤红色素均有一定的降解作用,随着时间的增长,降解程度越深,颜色逐渐变浅。总的看来,鸡血藤红色素有一定的抗氧化还原性。

2.4.4 pH值对色素液稳定性的影响

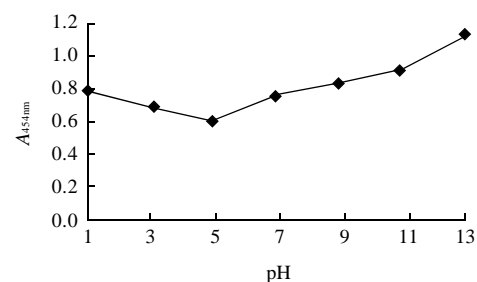


图5 pH值对色素稳定性的影响

Fig.5 Effect of pH value on stability of red pigment

由图5可以看出,随pH值增大吸光度先降低而后升高;由表4可以看出,颜色也由深至浅再变深。鸡血藤红色素在不同pH值条件下的显色性质与花色苷类色素截然不同。

表4 pH值对色素颜色的影响
Table 4 Effect of pH value on color of pigment

pH	1	3	5	7	9	11	13
颜色	红	橙黄	黄	桃红	红	深红	紫红
A_{454nm}	0.783	0.691	0.602	0.761	0.837	0.913	1.121

2.4.5 金属离子对色素液稳定性的影响

表5 金属离子对红色素稳定性的影响
Table 5 Effects of metal ions on stability of red pigment

溶液	空白	K ⁺	Na ⁺	Mg ²⁺	Zn ²⁺	Ca ²⁺	Mn ²⁺	Fe ³⁺
颜色	红色	红色	红色	红色	红色	红色	红色	棕褐色
A_{454nm}	0.632	0.633	0.636	0.632	0.632	0.633	0.634	1.052

由表5可知,从溶液颜色变化来看,加Fe³⁺使其颜色变深并产生絮状沉淀,对色素影响最大。因此,不宜用铁器盛装色素溶液;而K⁺、Mg²⁺、Zn²⁺、Na⁺、Mn²⁺、Ba²⁺等离子对色素的影响不明显。总的看来,大多数金属离子对鸡血藤红色素的稳定性无明显影响。

2.5 不同批次鸡血藤红色素吸光度的比较

表6 不同批次鸡血藤红色素吸光度的比较
Table 6 Comparison on absorbance of different batches of red pigment

批次	1	2	3
颜色	橙黄	橙黄	橙黄
A_{454nm}	0.699	0.599	0.798

由表6可以看出,不同批次的原药材红色素的含量有一定差异,这种差异是无序的。因此,尽量选用同一批次的药材,可以保证红色素提取测定的稳定、准确。

3 结 论

由实验结果可知,鸡血藤红色素含量丰富,最佳提取试剂为pH1.8的65%乙醇溶液,该色素不属于常见的花色苷类化合物;光热对其有一定影响,但只要不是强光持续照射,则该色素仍具有良好的稳定性;在高温80℃及以上温度加热,该色素颜色加深,故应避免阳光直射以及高温;pH值对其有明显的影 响,在酸性条件下呈红色,碱性条件下红色加深;该色素对氧化剂和还原剂较为敏感,在实际应用中应尽量减少与这类物质接触;金属离子除Fe³⁺等个别离子外,都对此色素的稳定性影响不大,应避免使用铁器。鸡血藤红色素作为一种天然色素,有较好的稳定性,可广泛用于各类饮料酒类冷食的着色,有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] 赵桂红,姚凤莲. 蓝靛果天然色素提取研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(3): 106-107.
- [2] 库尔班江·巴拉提. 玫瑰花红色素的提取及稳定性研究[J]. 新疆师范大学学报: 自然科学版, 2006, 25(1): 52-55.
- [3] 曹志荣. 食用色素与人体健康[J]. 化学世界, 1999(8): 446-447.
- [4] 杨西岳. 天然植物色素的开发[J]. 天然产物分离, 2007, 5(1): 11-14.
- [5] 陈栓虎,王翠玲,董发昕,等. 柿子红色素的提取及稳定性研究[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2004, 34(6): 677-679.
- [6] 韩丽平. 鸡血藤化学成分研究[J]. 中国药房, 2006, 17(20): 1596-1598.
- [7] 马自超,庞业珍. 天然食用色素化学及生产工艺学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1994: 32.
- [8] 刘海花,蒋丽芳,裴正铃,等. 鸡血藤红色素稳定性研究[J]. 检验医学教育, 2007, 14(2): 46-47.