

鸭血糯色素提取工艺研究

刘晶晶, 段玲玲, 王雪峰, 韩曜平
(常熟理工学院生物与食品工程系, 江苏 常熟 215500)

摘 要: 采用乙醇浸提法提取鸭血糯色素。选择浸提温度、乙醇体积分数、浸提时间、料液比及 pH 值作为单因素进行梯度试验, 确定其条件范围, 再进一步通过正交试验确定鸭血糯色素提取的最佳工艺条件: 浸提温度 65℃、浸提剂乙醇体积分数 75%、浸提时间 3h、料液比 1:110(g/mL) 和 pH1。

关键词: 鸭血糯; 色素; 提取;

Orthogonal Array Design for Pigment Extraction from Black Sticky Rice

LIU Jing-jing, DUAN Ling-ling, WANG Xue-feng, HAN Yao-ping
(Department of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China)

Abstract: The optimal ethanol extraction of black sticky rice pigment was determined by examining the effects of extraction temperature and time, ethanol concentration, pH and material/liquid ratio on black sticky rice pigment yield (represented by the absorbance at 525 nm wavelength) by single factor and orthogonal array design methods. Results showed that the optimal values of the above parameters were as follows: extracting temperature 65 °C, ethanol concentration 75%, material/liquid ratio 1:110 and pH 1 for an extraction duration of 3 h.

Key words: black sticky rice; pigment; extraction

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)08-0106-04

食品的色泽是食品质量和商品价值的重要指标之一^[1], 食品色、香、味对人们的食欲和购买欲起着决定性的作用, 而色居首位。在食品中, 食用色素用量虽然甚微, 但在食品总的质量评价指标中, 色泽评分约占 45%^[2-3]。食用色素的组成和含量与食品的质量和人类营养及健康都有密切的关系。因而开发安全可靠的天然食用色素对保障人类健康和促进食品工业等行业的发展具有相当重要的意义, 并倍受世界各国的高度关注^[4]。目前国内外天然食用色素的种类和产量还比较少, 远远不能满足食品工业、酒类、化妆品及药物等行业的发展需要, 为此, 世界各国近几年都在积极致力于天然食用色素的研究和开发^[5]。

常熟特产鸭血糯(*semen oryzae glutinosae*), 别名红莲糯、血糯、补血糯, 是清朝康熙年间栽培稻中变异而来的一个粳型糯稻品种。鸭血糯粗蛋白含量为 13.3%, 并含有生物吡咯素, 有强身补血之功能。它米皮紫红, 米色微红而粒长, 气香而味腴, 为滋养补品, 曾列为皇宫内膳“御米”之一。鸭血糯色素色泽美丽自然, 具有独特的营养、滋补、保健和美容功能^[6], 并且稳定性好, 本实验以鸭血糯为原料, 研究

其色素浸提的最佳工艺条件, 旨在为深入研究鸭血糯色素奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

鸭血糯 常熟市购。

乙醚、HCl、NaOH、无水甲醇、丙酮、无水乙醇、乙酸乙酯、石油醚(均为分析纯)。

LP502B 型电子天平 常熟市百灵天平仪器有限公司; HH-4 型数显恒温水浴锅 国华电器有限公司; pH5-2F pH 计 上海雷磁仪器厂; TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计 北京普析通用器材有限公司; RE-52 型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; DFT-200 型高速中药粉碎机 温岭市林大机械有限公司制造; 循环水式多用真空泵 巩义市英峪予华仪器厂; 722s 可见分光光度计 上海棱光技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 鸭血糯色素的提取方法^[7-8]

1.2.1.1 初步确定浸提液

收稿日期: 2009-07-16

作者简介: 刘晶晶(1978—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为食品科学。E-mail: liujingjing971@163.com

称取 11 份经粉碎的鸭血糯 1g 分别放入三角瓶中, 各加入 50mL 的蒸馏水、乙醚、0.1mol/L 的 HCl 溶液、0.1mol/L 的 NaOH 溶液、无水甲醇、体积分数 50% 甲醇溶液、丙酮、无水乙醇、体积分数 75% 乙醇溶液、乙酸乙酯、石油醚, 置于 50℃ 恒温水浴锅中浸提 1h, 过滤, 观察颜色的变化。

1.2.1.2 最大吸收波长的确定

称取 0.25g 血糯米粉末于三角瓶中, 加入 25mL 75% 的乙醇溶液, 用 pH 计调 pH2, 于 50℃ 浸提 1h, 过滤至 50mL 的容量瓶中定容, 用相应的浸提剂做空白对照, 在双光束紫外-可见分光光度计上扫描色素曲线, 确定其最大吸收波长。

1.2.1.3 粒度对鸭血糯色素提取的影响

鸭血糯用粉碎机粉碎, 分别过 20、40、60、80、100、120 目筛, 分别称取 0.5g 整米、过 20、40、60、80、100、120 目筛的鸭血糯粉放入三角瓶中, 分别加 75% 50mL 乙醇溶液, 在 50℃ 水浴锅中浸提 1h, 过滤, 定容至 50mL, 平行 3 个样品, 以相应的浸提液为空白对照, 测其吸光度。

1.2.2 单因素和正交试验

1.2.2.1 pH 值对色素提取的影响

称取 0.25g 过 80 目筛的血糯米粉末 7 份, 分别放入三角瓶中, 分别加 75% 25mL 的乙醇溶液, 用 pH 计分别调 pH 值为 1、2、3、4、5、7、9, 在 50℃ 水浴锅中浸提 1h, 过滤, 定容至 50mL, 平行 3 个样品, 以相应的浸提液为空白对照, 测其吸光度。

1.2.2.2 浸提剂体积分数对色素提取的影响

称取 0.25g 过 80 目筛的血糯米粉末 6 份, 分别放入三角瓶中, 分别加 25mL 体积分数为 15%、30%、45%、60%、75%、90% 的乙醇溶液, 用 pH 计调 pH2, 在 50℃ 水浴锅中浸提 1h, 过滤, 定容至 50mL, 平行 3 个样品, 以相应的浸提液为空白对照, 测其吸光度。

1.2.2.3 浸提温度对色素提取的影响

称取 0.25g 过 80 目筛的血糯米粉末 6 份, 分别放入三角瓶中, 加 75% 乙醇溶液 25mL, 用 pH 计调 pH2, 分别在 20、30、40、50、60、70℃ 水浴锅中浸提 1h, 过滤, 定容至 50mL, 平行 3 个样品, 以相应的浸提液为空白对照, 测其吸光度。

1.2.2.4 料液比对色素提取的影响

称取 0.25g 过 80 目筛的血糯米粉末 6 份, 分别放入

三角瓶中, 依次加 75% 乙醇溶液 6.25、12.5、18.75、25、31.25、37.5mL, 配成料液比(g/mL)分别为 1:25、1:50、1:75、1:100、1:125、1:150, 用 pH 计调 pH2, 在 70℃ 水浴锅中浸提 1h, 过滤, 定容至 50mL, 平行 3 个样品, 以相应的浸提液为空白对照, 测其吸光度。

1.2.2.5 浸提时间对色素提取的影响

称取 0.25g 过 80 目筛的血糯米粉末 6 份, 分别放入三角瓶中, 各加 75% 乙醇溶液 37.5mL, 用 pH 计调 pH2, 在 70℃ 水浴锅中分别浸提 0.5、1、1.5、2、2.5、3h 过滤, 定容至 50mL, 平行做 3 个样品, 以相应的浸提液为空白对照, 测其吸光度。

1.2.3 鸭血糯色素提取正交试验^[9-10]

按照正交试验表进行正交试验, 确定鸭血糯色素提取的最佳工艺。

2 结果与分析

2.1 鸭血糯色素吸收光谱特征

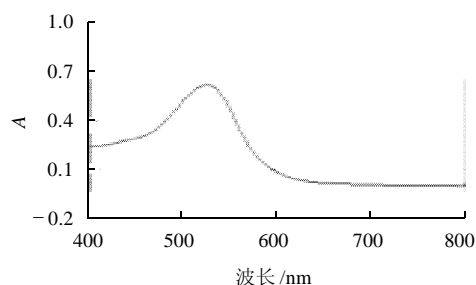


图1 鸭血糯色素光谱吸收光谱特征

Fig.1 Absorption spectrum of black sticky rice pigment

鸭血糯红色素在 400~800nm 可见光区的吸收光谱如图 1 所示。鸭血糯色素在可见光区内有一个非常明显的最大吸收峰, 最大吸收峰波长为 525nm, 鸭血糯色素提取液为紫红色或者鲜红色。在波长 400~525nm 范围内, 波长小于 525nm 时, 随波长的增大, 其吸光度也增大; 在波长 525nm 处时有最大吸收; 当波长大于 525nm 时, 随波长的增大, 其吸光度减少。色素在波长 525~800nm 内, 其峰形一直下降。通过上述的实验, 选定鸭血糯色素最大吸收峰波长为 525nm, 并测定以吸光度 A_{525nm} 表示鸭血糯红色素含量的多少。

2.2 浸提液的确定

从表 1 可以看出, 浸提剂为 0.1mol/L 的 HCl 溶液、50% 甲醇溶液、无水乙醇、75% 乙醇溶液时鸭血糯色

表1 鸭血糯色素在各种提取剂中的颜色

Table 1 Colors of black sticky rice pigment dissolved in various solvents

提取剂	蒸馏水	乙醚	0.1mol/L 的 HCl 溶液	0.1mol/L 的 NaOH 溶液	无水甲醇溶液	50% 甲醇溶液	丙酮	无水乙醇	75% 乙醇溶液	乙酸乙酯	石油醚
颜色	淡褐色	微黄色	砖红色	深褐色	淡褐色	紫红色	微黄色	粉红色	紫红色	淡黄色	无色

素颜色明显, 其中 50% 甲醇溶液、75% 乙醇溶液的颜色最明显, 呈紫红色, 考虑到食用色素的安全性和经济性, 故选择 75% 的乙醇溶液作为提取剂。

2.3 粒度对鸭血糯色素提取的影响

表 2 粒度对鸭血糯色素提取的影响
Table 2 Effect of material particle size on pigment yield

粒度	A_{525nm}				颜色
	1	2	3	$\bar{x} \pm s$	
整米	0.143	0.150	0.139	0.144 ± 0.006^a	紫红
20 目	0.266	0.260	0.268	0.265 ± 0.004^b	紫红
40 目	0.325	0.322	0.327	0.325 ± 0.003^c	紫红
60 目	0.359	0.361	0.357	0.359 ± 0.002^d	紫红
80 目	0.382	0.384	0.380	0.382 ± 0.002^{de}	紫红
100 目	0.379	0.377	0.381	0.379 ± 0.002^{ef}	紫红
120 目	0.365	0.359	0.368	0.364 ± 0.005^{de}	紫红

注: 同一列中数字后不同的肩标字母之间为差异显著($P < 0.05$)。下同。

从表 2 可以看出, 粒度小于 80 目时, 色素提取液的吸光度随着筛目的增大而增大, 到 80 目后逐渐变小, 说明鸭血糯色素的含量过 80 目筛时最大, 故选择过 80 目筛的粒度。

2.4 pH 值对鸭血糯色素提取的影响

表 3 pH 值对鸭血糯色素提取的影响
Table 3 Effect of pH on pigment yield

pH	A_{525nm}				颜色
	1	2	3	$\bar{x} \pm s$	
1	0.750	0.762	0.765	0.759 ± 0.008^a	鲜红
2	0.820	0.814	0.829	0.821 ± 0.008^b	鲜红
3	0.789	0.777	0.764	0.777 ± 0.012^c	红色
4	0.732	0.743	0.739	0.738 ± 0.006^d	粉红
5	0.606	0.597	0.611	0.605 ± 0.007^e	粉红
7	0.445	0.438	0.447	0.443 ± 0.005^f	紫色
9	0.421	0.399	0.417	0.412 ± 0.012^g	淡绿

由表 3 可知, 鸭血糯色素在一系列不同 pH 值的提取液中, pH2 时, 吸光度有最大值, 此时颜色最亮丽, 呈鲜红色。当 pH 值小于或者大于 2 时, 吸光度下降, 提取率下降。在 pH 大于 7 时, 溶液颜色逐渐变成淡绿色, 不再是原来的特征颜色, 颜色的转变说明此时色素不稳定, 或分子结构已变化, 或被破坏了, 由此可见 pH 值对鸭血糯色素提取有较大的影响。宜选择 pH2 的条件下浸提鸭血糯色素。

2.5 浸提剂(乙醇)体积分数对鸭血糯色素提取的影响

由表 4 可知, 当乙醇的体积分数为 75% 时, 吸光度(A)值最大。当乙醇体积分数小于 75% 时, 随着乙醇体积分数的增大, 吸光度逐渐增大, 显然提取率也逐渐增大, 提取液的颜色也从粉红变成鲜红。当乙醇的

体积分数大于 75% 时, 鸭血糯色素的提取率下降, 故选择 75% 乙醇溶液浸提鸭血糯色素。

表 4 乙醇体积分数对鸭血糯色素提取的影响
Table 4 Effect of ethanol concentration on pigment yield

乙醇体积分数 / %	A_{525nm}				颜色
	1	2	3	$\bar{x} \pm s$	
15	0.123	0.129	0.116	0.123 ± 0.007^a	粉红
30	0.187	0.194	0.182	0.189 ± 0.006^b	红色
45	0.194	0.200	0.206	0.200 ± 0.006^c	红色
60	0.229	0.234	0.239	0.234 ± 0.005^d	鲜红
75	0.285	0.294	0.283	0.287 ± 0.006^e	鲜红
90	0.275	0.271	0.267	0.271 ± 0.004^f	鲜红

2.6 浸提温度对鸭血糯色素提取的影响

表 5 浸提温度对鸭血糯色素提取的影响
Table 5 Effect of extraction temperature on pigment yield

浸提温度 / °C	A_{525nm}				颜色
	1	2	3	$\bar{x} \pm s$	
20	0.171	0.168	0.175	0.171 ± 0.004^a	鲜红
30	0.200	0.207	0.198	0.202 ± 0.005^b	鲜红
40	0.259	0.263	0.268	0.263 ± 0.005^c	鲜红
50	0.323	0.330	0.327	0.327 ± 0.004^d	鲜红
60	0.363	0.359	0.370	0.364 ± 0.006^e	鲜红
70	0.384	0.376	0.381	0.380 ± 0.004^e	鲜红

由表 5 可以看出, 随着浸提温度的升高, 浸提液的吸光度也逐渐增大, 70℃时浸提液的吸光度最大, 但 60℃和 70℃条件下的提取率之间没有显著性的差异, 考虑到温度高可能对色素的结构与活性有一定的影响, 同时降低浸提温度能减少能耗, 选择 60℃的温度来浸提比较经济实用。

2.7 料液比对鸭血糯色素提取的影响

表 6 料液比对鸭血糯色素提取的影响
Table 6 Effect of material/liquid ratio on pigment yield

料液比(g/mL)	A_{525nm}				颜色
	1	2	3	$\bar{x} \pm s$	
1:25	0.024	0.030	0.033	0.029 ± 0.005^a	粉红
1:50	0.114	0.120	0.117	0.117 ± 0.003^b	红色
1:75	0.288	0.305	0.293	0.295 ± 0.009^c	鲜红
1:100	0.355	0.349	0.359	0.354 ± 0.005^{de}	鲜红
1:125	0.439	0.435	0.430	0.435 ± 0.005^e	鲜红
1:150	0.468	0.461	0.465	0.465 ± 0.004^e	鲜红

由表 6 可知, 随着料液比的减小, 吸光度也随之增大, 也就是提取率逐渐增大, 提取液的颜色也由粉红慢慢加深变成鲜红色。但料液比为 1:100、1:125 和 1:150 时, 提取率之间没有显著性差异, 由于浸提液在后续工序中需经浓缩, 若初期加水量过大会使后续工序能耗增加, 效率降低, 因此宜选择料液比为 1:100(g/mL)。

2.8 浸提时间对鸭血糯色素提取的影响

表7 浸提时间对鸭血糯色素提取的影响
Table 7 Effect of extraction time on pigment yield

浸提时间/h	A_{525nm}				颜色
	1	2	3	$\bar{x} \pm s$	
0.5	0.278	0.302	0.293	0.291 ± 0.012^a	鲜红
1.0	0.303	0.310	0.308	0.307 ± 0.004^b	鲜红
1.5	0.351	0.359	0.364	0.358 ± 0.006^c	鲜红
2.0	0.444	0.449	0.458	0.450 ± 0.007^d	鲜红
2.5	0.629	0.632	0.625	0.629 ± 0.004^e	鲜红
3.0	0.638	0.644	0.640	0.581 ± 0.003^e	鲜红

由表7可知,鸭血糯色素提取液随着浸提时间的延长,其吸光度逐渐增大,即提取率逐渐增大,浸提时间为2.5h时,鸭血糯色素提取液的吸光度最大,即提取率最大。浸提时间继续延长,吸光度逐渐变小,即提取率也逐渐变小,可能时间长对色素也有一定的破坏作用。宜选择2.5h作为最佳浸提时间。

2.9 鸭血糯色素提取多因素正交试验

表8 $L_{16}(4^5)$ 正交试验因素水平表
Table 8 Factors and levels in orthogonal array design

水平	因素				
	A 浸提温度/℃	B 乙醇体积分数/%	C 浸提时间/h	D 料液比(g/mL)	E pH
1	50	65	1.5	1:80	1.0
2	55	70	2.0	1:90	1.5
3	60	75	2.5	1:100	2.0
4	65	80	3.0	1:110	2.5

表9 正交试验结果

Table 9 Orthogonal array design matrix and experimental results of pigment yield

试验号	因素					A_{525nm}			
	A	B	C	D	E	1	2	3	$\bar{x} \pm s$
1	1	2	3	3	2	0.660	0.653	0.665	0.659 ± 0.006
2	2	4	1	2	2	0.587	0.581	0.578	0.582 ± 0.004
3	3	4	3	4	3	0.333	0.329	0.324	0.329 ± 0.004
4	4	2	1	1	3	0.342	0.340	0.349	0.344 ± 0.005
5	1	3	1	4	4	0.289	0.291	0.282	0.287 ± 0.005
6	2	1	3	1	4	0.082	0.090	0.087	0.086 ± 0.004
7	3	1	1	3	1	0.628	0.621	0.617	0.622 ± 0.006
8	4	3	3	2	1	1.001	0.999	0.994	0.998 ± 0.004
9	1	1	4	2	3	0.306	0.311	0.315	0.311 ± 0.004
10	2	3	2	3	3	0.484	0.488	0.491	0.488 ± 0.003
11	3	3	4	1	2	1.172	1.166	1.169	1.169 ± 0.003
12	4	1	2	4	2	0.956	0.941	0.949	0.949 ± 0.008
13	1	4	2	1	1	0.906	0.897	0.890	0.898 ± 0.008
14	2	2	4	4	1	1.024	1.019	1.021	1.021 ± 0.002
15	3	2	2	2	4	0.127	0.121	0.118	0.122 ± 0.004
16	4	4	4	3	4	0.225	0.222	0.217	0.221 ± 0.004
k_1	$0.538 \pm 0.294^*0.492 \pm 0.376^*0.459 \pm 0.168^*0.624 \pm 0.497^*0.885 \pm 0.183^*$								
k_2	$0.544 \pm 0.384^*0.537 \pm 0.391^*0.614 \pm 0.388^*0.503 \pm 0.380^*0.840 \pm 0.270^*$								
k_3	$0.561 \pm 0.455^*0.736 \pm 0.416^*0.518 \pm 0.397^*0.498 \pm 0.198^*0.368 \pm 0.081^*$								
k_4	$0.628 \pm 0.403^*0.508 \pm 0.301^*0.680 \pm 0.484^*0.647 \pm 0.392^*0.179 \pm 0.092^*$								
R	0.090	0.244	0.221	0.149	0.706				

为了确定在多因素条件下的最佳浸提 pH 值、料液比、浸提温度、乙醇体积分数和浸提时间,设置了鸭血糯色素提取的正交试验。由表9可见,比较各 R 值大小, $R_E > R_B > R_C > R_D > R_A$, 即浸提 pH 值对色素提取率最大,其次为乙醇体积分数、浸提时间和料液比,而浸提温度的影响最小。通过 k 值分析,本试验的最优水平组合为 $A_4B_3C_4D_4E_1$, 即鸭血糯色素提取的最佳工艺条件为浸提温度 65°C 、浸提剂乙醇体积分数 75%、浸提时间 3h、料液比 1:110(g/mL)和 pH1。

3 结 论

3.1 鸭血糯色素在可见光区 400~800nm 内,有一个最大吸收峰,最大吸引峰波长是 525nm。鸭血糯色素物质提取的溶液颜色为鲜红色或紫红色。

3.2 提取鸭血糯色素使用不同的提取剂对鸭血糯色素有较大的影响。鸭血糯色素能溶于 0.1mol/L 的 HCl 溶液、50% 甲醇溶液、无水乙醇和 75% 乙醇溶液中,溶液的颜色均为鲜红色或紫红色。微溶或不溶于蒸馏水、乙醚、无水甲醇、丙酮、乙酸乙酯、0.1mol/L NaOH 溶液、石油醚等溶剂中。从实验结果来看,采用 75% 乙醇溶液作为鸭血糯色素提取剂,效果最佳,色素的稳定性也最好。

3.3 不同的 pH 值条件下,对鸭血糯色素的提取影响显著。鸭血糯色素在 pH1 时,有最大的吸光度,最大的提取率,此时溶液红色素的颜色最亮丽。酸性条件下有利于鸭血糯红色素的稳定,有利于鸭血糯色素的提取,有利于保护鸭血糯色素的颜色,碱性条件下,会破坏鸭血糯色素的稳定性,影响色素颜色。因此在实验、生产、运输和贮存中就此为依据,严格控制 pH 值,提供最适的 pH 值,促使鸭血糯红色素保持稳定性和天然性。

3.4 通过正交试验,得到鸭血糯色素提取的最佳工艺条件为浸提温度 65°C 、浸提剂乙醇体积分数 75%、浸提时间 3h、料液比 1:110 和 pH1。在试验范围内,对试验指标影响的因素主到次顺序是浸提 pH 值的影响最大,其次为乙醇体积分数、浸提时间和料液比,而浸提温度的影响最小。

参考文献:

- [1] 张继民, 胡林华. 辣椒色素提取及稳定性[J]. 安徽机电学院学报, 1999, 14(1): 21-25.
- [2] 吕晓玲. 食用天然色素: 萝卜红的初步研究[J]. 食品与发酵工业, 1985 (5): 25-31.
- [3] 孙清, 隋晓, 李浩明, 等. 固体辣椒红色素稳定性研究[J]. 中国食品添加剂, 1995(1): 5-7.
- [4] 林维宣, 邱新国, 杨红. 山植色素稳定性研究[J]. 食品科学, 1992, 13 (11): 5-10.
- [5] 李传欣, 张华, 李景琳. 食用天然色素的应用及发展趋势[J]. 辽宁农业科学, 2001(1): 29-32.
- [6] 俞良. 特种稻品种“鸭血糯”的应用价值及其标准化栽培技术[J]. 上海农业科技, 2007(6): 35-36.
- [7] 叶辉, 郁建平. 老鹰茶(豹皮樟)天然食用色素的初步研究[J]. 食品科学, 2002, 23(2): 40-43.
- [8] 杨志孝, 王声明, 高德海. 花生内衣色素提取[J]. 食品科学, 1992, 13 (10): 23-24.
- [9] 刘咏, 罗建平. 枸杞子中食用红色素的提取及稳定性研究[J]. 食品科学, 2005, 26(5): 168-170.
- [10] 谢珍珍, 李建英. 红曲色素稳定性的研究[J]. 食品科学, 1994, 15(7): 15-17.