

红毛丹果皮色素的提取及其稳定性的研究

孙健¹, 蒋跃明², 彭宏祥¹, 尤艳莉³, 杨绍玉², 徐良雄²

(1.广西农业科学院园艺研究所, 广西南宁 530007; 2.中国科学院华南植物园, 广东广州 510650;

3.烟台大学食品科学与工程研究所, 山东烟台 264005)

摘要: 红毛丹(*Nephelium lappaceum* L.)果皮含有较高的色素。为综合利用植物色素资源, 对红毛丹果皮色素进行提取与纯化, 并从光照、温度、pH值、氧化与还原介质、防腐剂、酸味剂、糖类、VC和金属离子方面对该色素的稳定性进行研究。结果表明: 红毛丹色素属花色苷类; 对自然光、高温、H₂O₂和Na₂SO₃的耐受性较差, 在pH3以下色泽较稳定; 低浓度防腐剂苯甲酸钠对色素稳定性影响较小, 柠檬酸具有一定的增色作用; 乳酸、葡萄糖和蔗糖、VC对色素的稳定性无明显的影响, 但Fe³⁺、Fe²⁺、Pb²⁺、Sn²⁺对该色素稳定性起不利的作用。该研究为开发植物新的天然色素产品提供理论参考。

关键词: 红毛丹; 果皮色素; 花色苷; 稳定性

Extraction and Stabilization of Pigments from Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Fruit Pericarp

SUN Jian¹, JIANG Yue-ming², PENG Hong-xiang¹, YOU Yan-li³, YANG Shao-yu², XU Liang-xiong²

(1. Horticultural Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China;

2. South China Botanic Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

3. Institute of Food Science and Engineering, Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract: The crude pigments were extracted from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) fruit pericarp tissues with 80% of acidified ethanol and purified through silica gel column and Amberlite XAD-7 resin column. Factors affecting the stability of purified pigments were investigated including sunlight, temperature, pH value, oxidant, reducer, preservative, citric acid, lactic acid, glucose, sucrose, VC and metal ions. Rambutan pigments showed high similarity to anthocyanins on the absorption spectrum and exhibited a poor stability to sunlight, heat, hydrogen peroxide and sodium sulfite. Color stability was observed under pH 3 and was enhanced by addition of citric acid. However, no significant effect of sodium benzoate was found at low concentration. Lactic acid, glucose, sucrose and VC exhibited no negative effects on the stability while iron (III), iron (II), lead (II) and stannum (II) ions accelerated the degradation of the pigments.

Key words: rambutan (*Nephelium lappaceum* L.); fruit pericarp pigments; anthocyanins; stability

中图分类号: Q946.81; TS264.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)11-0071-05

红毛丹(*Nephelium lappaceum* L.)为无患子科韶子属热带果树, 原产东南亚地区, 现在主要在我国广东南部、海南和台湾等地栽培^[1]。广西地区也常有鲜果销售。红毛丹果实属于呼吸非跃变型水果^[2], 一般在夏秋季节采收, 成熟时果皮颜色鲜艳, 色素含量丰富。红毛丹在食用时果皮常常作为废物而遗弃, 不仅破坏环境卫生, 而且造成色素资源的浪费。目前, 对红毛丹果实的研究报道多局限在采后生理和贮运方面, 而对果皮色素的提取、稳定性及综合利用的系统研究还很少^[3-5]。成熟红毛丹果皮外观呈紫红色, 是一种具有开发潜力的

天然色素资源。为此, 本工作对红毛丹果皮色素的提取、纯化方法及稳定性进行研究, 以期为开发新的天然色素产品提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜红毛丹(*Nephelium lappaceum* L.)购于广西南宁, 挑选色泽鲜艳、无病虫害的果实。洗净后剥取紫红色果皮, 液氮速冻后于-20℃冰箱保存。

柱层析硅胶(200~300目) 青岛海洋化工厂分厂;

收稿日期: 2008-09-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(30425040; U0631004); 广西农业科学院基本科研业务专项项目

作者简介: 孙健(1978-), 男, 副研究员, 博士, 主要从事植物生理生化及园艺作物采后生物学研究。E-mail: sun7836@yahoo.com.cn

Amberlite XAD-7 树脂 美国 Sigma 公司。其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

UV-2802型紫外可见分光光度计 上海尤尼柯仪器有限公司；RE-52A型旋转蒸发器 上海青浦沪西仪器厂；SHZ-CB型循环水式多用真空泵 河南巩义市英峪予华仪器厂；ZF-2型三用紫外仪 上海市安亭电子仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 色素提取工艺

红毛丹紫红色果皮清洗后冻干。称取 100 g 干果皮，经粉碎后用 650 ml 85% 的酸化乙醇水溶液浸提两次，浸提时间分别为 24h 和 3h 抽滤两次后将滤液合并于 50℃ 真空浓缩，用 2 倍体积的石油醚对浓缩液萃取两次，弃有机相，水相合并后浓缩得到色素粗品。

1.3.2 色素的分离与纯化^[6]

将色素粗品上 450mm × 25mm 硅胶柱，依次用 100% 氯仿、乙酸乙酯、丙酮、乙醇梯度洗脱，收集在 510nm 波长处吸光度最大的流分并浓缩至干得初步纯化样品。将初步纯化样品上 200mm × 10mm Amberlite XAD-7 树脂柱，先用蒸馏水洗脱，继而用含 0.1% HCl 的甲醇洗脱，收集在 510nm 波长处吸光度最大的流分，浓缩干燥后得纯化的色素精品。

1.3.3 色素的鉴定

色素的溶解性实验：取蒸馏水、甲醇、氯仿、丙酮、苯、冰乙酸、石油醚、乙酸乙酯和不同浓度的乙醇各 5ml，分别加入 4mg/ml 色素样品，观察其溶解状况。

色素吸收光谱的测定：用蒸馏水将色素样品稀释后，在 200~700nm 波长范围内扫描，观察色素水溶液的吸收光谱特性。

盐酸-锌粉反应：量取 4mg/ml 色素水溶液 5ml，加入少许锌粉，振荡后再加几滴浓盐酸，观察颜色变化。另设对照，即在供试液中仅加浓盐酸进行观察。

中性醋酸铅沉淀反应：量取 4mg/ml 色素水溶液 5ml，逐滴加入新配制的饱和中性醋酸铅溶液，观察颜色变化。

三氯化铁显色反应：量取 4mg/ml 色素水溶液 5ml，逐滴加入 1% 三氯化铁溶液，振荡后观察颜色变化。

1.3.4 色素的稳定性^[7-11]

配制浓度为 8mg/ml 的色素水溶液，分别测定不同光照、温度和 pH 值条件下最大吸收波长($\lambda_{vis-max}$)处的吸光度；另外测定将不同浓度的氧化剂、还原剂、防腐剂、酸味剂、糖类、VC 和金属离子加入色素液中导致的最大吸光度，以此来判断各种因素对色素稳定性的影响。

2 结果与分析

2.1 色素的提取与纯化

利用硅胶柱层析法对红毛丹果皮色素粗品进行初步分离，得到黄、褐、红褐、紫红、淡紫色等 6 个洗脱流分。从提取色素的角度出发，选择 510nm 波长处吸光度最大的紫红色乙醇洗脱液进一步纯化。紫红色乙酸洗脱液样品经 Amberlite XAD-7 树脂柱纯化并浓缩干燥后得到约 0.58g 色素精品，其纯化率约 5.8%，外观为紫红色固体粉末。

2.2 色素的溶解性

溶解实验发现红毛丹色素易溶于蒸馏水、甲醇、冰乙酸、乙醇等极性溶剂，微溶于丙酮、不溶于氯仿、苯、石油醚、乙酸乙酯等非极性溶剂，类似于花青素类色素的溶解性，可以初步推测该色素属于花青素类色素。

2.3 色素水溶液的吸收光谱

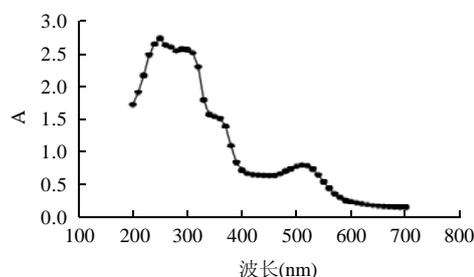


图1 红毛丹果皮色素水溶液的吸收光谱

Fig.1 Absorption spectrum of rambutan pigments in water solution

由图 1 可见，红毛丹果皮色素水溶液在 253nm 波长处有一吸收高峰，在可见光区域内最大吸收峰位于 510 nm 处，表明该色素与花色苷类色素的吸收光谱相似，由此进一步推测该色素很可能是花色苷类色素。

2.4 色素的特殊显色反应^[12]

盐酸-锌粉反应：向色素液中加入少许锌粉，振荡后颜色无变化；加入数滴浓盐酸，振荡后试液显淡红色，置沸水浴中加热 2~5min 红色加深，这说明色素为游离黄酮类或黄酮苷(可能属花青素类)，能在盐酸-锌粉作用下被氧化还原。

中性醋酸铅沉淀反应：滴加新配制的饱和中性醋酸铅溶液后，颜色由红色变为浅绿色，并产生少量絮状沉淀。随着饱和中性醋酸铅水溶液加入量的增大，沉淀也逐渐增多，说明色素分子中有酚羟基，能与铅盐生成有色络合物。同时酚羟基也是黄酮类化合物分子结构官能团之一。

三氯化铁反应：加入数滴 1% $FeCl_3$ 水溶液。经振荡后，颜色由红色变为蓝色最终变为黄褐色。 $FeCl_3$ 为常用酚类显色剂，该反应说明色素分子中有酚羟基，能与铁盐生成络合物。

综合上述的研究结果, 通过色素光谱吸收特征及定性研究结果, 初步判断该色素为花色苷类色素。

2.5 色素的稳定性

2.5.1 光照对色素稳定性的影响

在 25℃ 下, 取用蒸馏水配制 8mg/ml 的色素溶液 5ml, 放置在自然光和紫外灯(紫外线波长 254nm、功率 12W、照射距离 15cm)下照射一定时间, 定时取样, 记录其在最大吸收波长($\lambda_{vis-max}$, 510nm)处的吸光度。结果见表 1。

表 1 光照对红毛丹色素的稳定性影响

Table 1 Effects of sunlight and ultraviolet on stability of rambutan pigments

时间	自然光					紫外光				
	0d	1d	2d	3d	4d	0min	20min	40min	60min	80min
吸光度	0.796	0.563	0.541	0.503	0.307	0.792	0.790	0.795	0.796	0.802
颜色	红色	粉红	粉红	粉红	淡红	红色	红色	红色	红色	红色

由表 1 可知, 色素溶液在自然光下放置 4d, 其吸光度呈下降趋势, 颜色逐渐变淡。第 4 天色素的残存率为 38.6% [残存率(%)= $A_{4d}/A_{0d} \times 100$]; 紫外光短时照射对色素的吸光度无明显的影响, 色素颜色未变, 说明红毛丹果皮色素不耐自然光。

2.5.2 温度对色素稳定性的影响

取 5ml 8mg/ml 色素水溶液, 分别置于 25、45、65、85℃ 下恒温 4h, 每隔 1h 取样一次, 冷却至室温后, 测定其吸光度, 计算残存率。结果如图 2 所示。

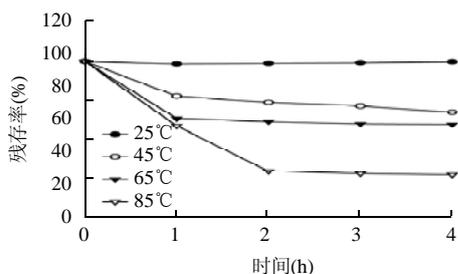


图 2 温度对红毛丹色素的稳定性影响

Fig.2 Effects of various temperatures on stability of rambutan pigments

从图 2 可知, 高温及热处理时间对色素的稳定性均有一定程度的影响。在 25℃ 受热条件下色素稳定, 颜色未变; 45℃ 以上高温使色素逐渐被破坏, 温度越高其残存率下降越快(在 45、65 和 85℃ 下热处理 4h, 色素残存率分别为 73.9%, 67.6% 和 41.9%), 色素颜色逐渐变淡; 在 45℃ 和 65℃ 下热处理 1h 色素降解较快, 而在 85℃ 下更不稳定。以上结果说明红毛丹果皮色素耐热性较差, 使用时应避免高温。

2.5.3 pH 值对色素稳定性的影响

分别用 0.1 mol/L NaOH 和 0.1 mol/L HCl 溶液配制 pH 1~13 的色素水溶液, 在 400~700nm 范围内进行光谱扫描, 观察最大吸收峰的变化情况, 结果如图 3 所示。

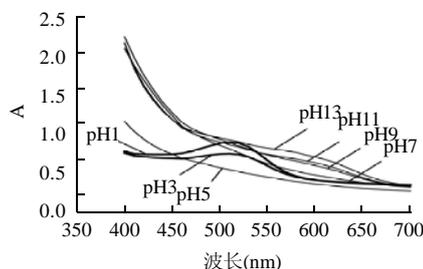


图 3 pH 值对红毛丹色素的稳定性影响

Fig.3 Effects of different pH values on stability of rambutan pigments

从图 3 可知, 不同 pH 值的色素水溶液在可见光区域内吸收光谱各异。当 $pH \leq 3$ 时, 在 510nm 波长处有吸收峰, 色素溶液色泽明亮, 呈红色, 较稳定; 当 $pH > 3$ 时, 色素溶液呈不稳定的变化趋势, 光谱曲线变得平坦, 色素液由红色逐渐变为褐色。此外, 色素溶液色泽随 pH 值的改变而呈可逆性的变化, 这正是花色苷类色素的特性之一。由于花色苷的苯基苯并吡喃环上缺电子, 在不同 pH 值条件下有多种结构形态存在, 介质的氢离子浓度变化使色素结构发生可逆性改变, 因而出现不同的色泽^[13-14]。以上结果说明红毛丹果皮色素对介质酸碱性的改变比较敏感, 适宜在 $pH \leq 3$ 的酸性条件下使用。

2.5.4 氧化剂和还原剂对色素稳定性的影响

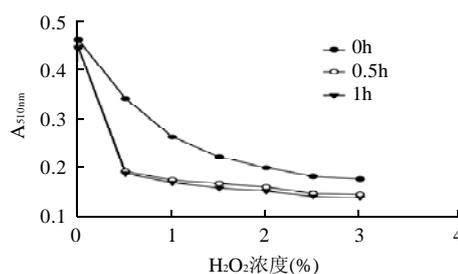


图 4 H₂O₂ 对红毛丹色素的稳定性影响

Fig.4 Effects of various hydrogen peroxide concentration on stability of rambutan pigments

分别配制含不同浓度的氧化剂 H₂O₂ 和还原剂 Na₂SO₃ 的色素水溶液, 在 25℃ 下避光放置 1h, 每隔 0.5h 取样一次, 测定 510nm 波长处吸光度。从图 4、5 可知, 氧化剂 H₂O₂ 和还原剂 Na₂SO₃ 对色素的稳定性影响较大。随着氧化剂 H₂O₂ 浓度的增高, 处理时间的延长, 色素液的吸光度明显下降, 而且较低浓度的 H₂O₂ 就有较强的褪色作用; 与 H₂O₂ 相似, 低浓度的还原剂 Na₂SO₃ 对色

素液也具有很强的褪色作用,但在1h内,Na₂SO₃对色素性质的影响随时间变化不大。以上结果说明该色素耐氧化、耐还原性差,在使用时,应尽量避免与氧化性或还原性物质接触。

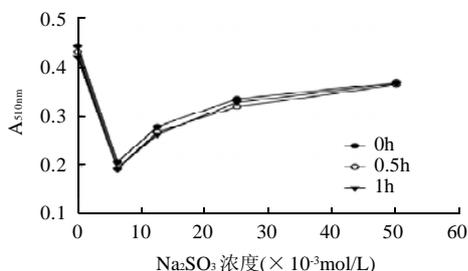


图5 Na₂SO₃对红毛丹色素的稳定性影响

Fig.5 Effects of various sodium sulfite concentrations on stability of rambutan pigments

2.5.5 防腐剂对色素稳定性的影响

以苯甲酸钠作为防腐剂,配制含不同浓度苯甲酸钠的色素水溶液,25℃下避光放置2h,每隔1h取样一次,记录吸光度。

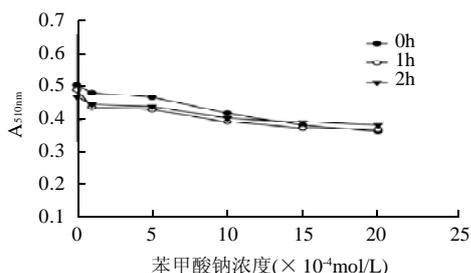


图6 苯甲酸钠对红毛丹色素的稳定性影响

Fig.6 Effects of various sodium benzoate concentrations on stability of rambutan pigments

由图6可知,随着防腐剂苯甲酸钠浓度的增高,色素液的吸光度呈缓慢下降趋势,颜色逐渐变浅,这可能是苯甲酸钠浓度增大到一定程度时表现出碱性,使色素液吸光度减小而导致色调改变的结果^[14]。因此,在添加防腐剂保存该色素时,应尽量使用低浓度的苯甲酸钠。

2.5.6 酸味剂对色素稳定性的影响

分别配制含不同浓度的柠檬酸和乳酸的色素水溶液,在25℃下避光放置2h,每隔1h取样一次,在510nm波长处测定的吸光度。结果见表2、3。

表2 柠檬酸对红毛丹色素的稳定性影响

Table 2 Effects of various citric acid concentrations on stability of rambutan pigments

时间(h)	柠檬酸的浓度(mg/ml)					
	0	5	10	15	20	25
0	0.522	0.632	0.661	0.669	0.674	0.669
1	0.519	0.627	0.660	0.667	0.672	0.675
2	0.518	0.622	0.668	0.666	0.679	0.678

表3 乳酸对红毛丹色素的稳定性影响

Table 3 Effects of various lactic acid concentrations on stability of rambutan pigments

时间(h)	乳酸的浓度(%)					
	0	5	10	15	20	25
0	0.516	0.539	0.533	0.538	0.527	0.522
1	0.509	0.522	0.513	0.518	0.501	0.492
2	0.495	0.512	0.514	0.503	0.492	0.490

添加一定浓度的酸味剂(柠檬酸)增加了色素的吸光度,说明柠檬酸具有增色作用。在25mg/ml浓度范围内,随着柠檬酸浓度的增高,色素液的吸光度呈上升趋势,颜色逐渐加深;当浓度≤10mg/ml时,色素液吸光度增加相对较快。与柠檬酸相比,乳酸的增色作用不明显。当乳酸浓度≤15mg/ml时,色素液吸光度稍有提高,但颜色不变。建议使用该色素时可通过加入适当浓度的柠檬酸来起增色效果。

2.5.7 糖类物质对色素稳定性的影响

分别配制含不同浓度葡萄糖和蔗糖的色素水溶液,在25℃下避光放置2h,每隔1h取样一次,在510nm波长处测定吸光度,见表4。

表4 葡萄糖和蔗糖对红毛丹色素的稳定性影响

Table 4 Effects of various glucose and sucrose concentrations on stability of rambutan pigments

时间(h)	葡萄糖浓度(mg/ml)					蔗糖浓度(mg/ml)						
	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10
0	0.489	0.489	0.487	0.476	0.477	0.479	0.472	0.453	0.453	0.443	0.477	0.476
1	0.481	0.485	0.480	0.461	0.474	0.478	0.473	0.451	0.446	0.442	0.474	0.473
2	0.467	0.473	0.460	0.444	0.462	0.460	0.458	0.440	0.436	0.426	0.466	0.472

由表4可知,在一定浓度范围内,添加葡萄糖和蔗糖对色素的吸光度影响不大,溶液颜色未变,说明糖类物质对该色素的稳定性无明显的影响。

2.5.8 VC对色素稳定性的影响

配制含不同浓度VC的色素水溶液,在25℃下避光放置2h,每隔1h取样一次,记录吸光度。在一定浓度范围内,添加VC到红毛丹色素溶液中,其吸光度稍有增加(表5);但溶液颜色未有明显的变化,说明VC对该色素的稳定性无不良影响。

表5 VC对红毛丹色素的稳定性影响

Table 5 Effects of various VC concentration on stability of rambutan pigments

时间(h)	VC浓度(mg/ml)					
	0	1 × 10 ⁻⁴	5 × 10 ⁻⁴	1 × 10 ⁻³	1.5 × 10 ⁻³	2 × 10 ⁻³
0	0.488	0.517	0.522	0.504	0.491	0.506
1	0.485	0.508	0.510	0.495	0.496	0.502
2	0.479	0.494	0.494	0.481	0.486	0.489

2.5.9 金属离子对色素稳定性的影响

用三氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、硫酸亚铁($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)、醋酸铅($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)、二氯化锡($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、氯化镁($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、氯化钙(CaCl_2)、氯化钾(KCl)、氯化钠(NaCl)分别配制含 0.5 mmol/L 金属离子的色素溶液,测定其在 510nm 波长处的吸光度,结果见表 6。

表 6 不同金属离子对红毛丹色素的稳定性的影响

Table 6 Effects of various metal ions at 0.5 mmol/L on stability of rambutan pigments

金属离子	对照	Fe^{3+}	Fe^{2+}	Zn^{2+}	Cu^{2+}	Pb^{2+}	Sn^{2+}	Mg^{2+}	Ca^{2+}	K^+	Na^+
$A_{510\text{nm}}$	0.443	0.879	0.931	0.444	0.470	0.118	0.224	0.437	0.440	0.437	0.449
颜色	红	蓝褐	蓝紫	红	红	蓝绿	浅紫	红	红	红	红

由表 6 可知, Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Sn^{2+} 对红毛丹色素吸光度有较大影响,且发生了色泽变化, Pb^{2+} 和 Sn^{2+} 使色素溶液产生沉淀;因而,在该色素生产、保存、运输和使用过程中应尽量避免和这些离子接触。其他金属离子对色素影响微弱,颜色变化较小。

3 结论

3.1 红毛丹果皮色泽鲜艳,色素含量较高,可作为新的天然色素资源。

3.2 红毛丹果皮的紫红色素属于花色苷类,易溶于极性溶剂。

3.3 该色素耐光性、耐高温性、抗氧化性和耐还原性较差;在 pH3 以下色泽较好。低浓度苯甲酸钠对红毛丹果皮色素的稳定性影响较小;而柠檬酸具有一定的增

色作用。乳酸、葡萄糖、蔗糖、VC 及金属离子 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 K^+ 和 Na^+ 对该色素的稳定性无不良影响,而 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Sn^{2+} 对该色素稳定性起不利的作用。

参考文献:

- [1] 刘玉壶,罗献瑞.中国植物志:第1分册[M].北京:科学出版社,1985:38.
- [2] O'HARE T J. Postharvest physiology and storage of rambutan[J]. Postharvest Biology and Technology, 1995(6): 189-199.
- [3] LANDRIGAN M, MORRIS S C, EAMUS D, et al. Postharvest water relationships and tissue browning of rambutan fruit[J]. Scientia Horticulturae, 1996, 66: 201-208.
- [4] KONDO S, POSUYA P, KANLAYANARAT S. Changes in physical characteristics and polyamines during maturation and storage of rambutants [J]. Scientia Horticulturae, 2001, 91: 101-109.
- [5] SIVAKUMAR D, WILSON WIJERATNAM R S, WIJESUNDERA R L C, et al. Control of postharvest diseases of rambutan using cinnamaldehyde[J]. Crop Protection, 2002, 21: 847-852.
- [6] 孙健,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.
- [7] 詹福建,巫光宏,黄卓烈,等.红龙草红色素稳定性的研究[J].植物资源与环境学报,2006,15(2): 60-62; 67.
- [8] 徐雅琴,于泽源,付红.毛樱桃红色素稳定性的研究[J].中国食品学报,2005,5(4): 111-114.
- [9] 李小平,陈锦屏,易晓卫.山茱萸果皮红色素稳定性的研究[J].食品研究与开发,2002,23(4): 25-28.
- [10] 吴定,温吉华,赵婧,等.紫椰色素的提取工艺及性质研究[J].食品工业科技,2004,25(11): 134-136.
- [11] 蔡定建,何英,杨建红.紫背天竺葵紫红色素的提取及稳定性的研究[J].食品科技,2005(2): 48-51.
- [12] 姚新生.天然药物化学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2001: 175-177.
- [13] 王璋,许时婴,汤坚.食品化学[M].北京:中国轻工业出版社,1999: 288-291.
- [14] 余杰,郭慧敏,陈美珍.河东乌麦色素的提取及其理化性质研究[J].食品与发酵工业,2002,28(11): 12-16.