

黑米色素性质及掺假黑米鉴别方法的研究

钟耕^{1,2}, 邓立青¹, 张运芳¹, 郑红艳¹

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400716; 2.重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400716)

摘 要: 本实验在研究黑米色素的结构、理化性质的基础上, 通过自制掺假黑米。对二者的相关特性进行对比, 用显色反应、紫外可见光谱分析及红外光谱分析三种方法鉴别掺假黑米。结果表明, 用斐林甲、乙试剂对黑米提取液的显色反应能够较好地辨别掺假黑米; 在一定的条件下, 通过光谱特性的差异也可以辨别黑米中是否有掺假黑米。
关键词: 黑米色素; 性质; 掺假; 鉴别方法

Properties of Pigments from Black Rice and Identification of the Adulterated Black Rice

ZHONG Geng^{1,2}, DENG Li-qing¹, ZHANG Yun-fang¹, ZHENG Hong-yan¹

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Engineering Technique Research Center of Chongqing for Special Food Study, Chongqing 400716, China)

Abstract: The structure and physicochemical properties of black rice pigments were described to in this study as well as the preparation of adulterated black rice. Black rice adulteration may be verified through color reaction, UV-visible spectrum and IR spectrum. The results showed that the adulterated black rice could be identified by qualitative analysis of black rice pigment. Difference in the characteristics of spectrum could also be used to identify whether the black rice were adulterated or not under some condition.

Key words: black rice pigment; property; adulterated black rice; identification

中图分类号: TS207.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)12-0150-04

黑米是脱去谷壳的黑色糙米, 颜色是由于色素(花青素)在种皮上沉积而成。黑米的营养价值很高, 其中含有丰富的营养成分, 自古以来就被公认为滋补佳品。据统计^[1], 我国黑米资源占世界黑米资源的 90.8%, 共 373 个品种, 其中黑粳粘 8 个, 黑粳粘 129 个, 黑粳糯 127 个, 黑粳糯 109 个。据有关研究表明^[2-4], 黑米不但含有丰富的蛋白质、VB₁、VB₂ 等, 而且氨基酸组成相当齐全, 同时富含 Fe、Zn、Cu、Mn、P、B、Mb 等微量元素^[5-8]。黑米中含有的黑米色素为花青苷类色素, 属于植物多酚类化合物, 具有降低冠心病发病率, 改善视敏度, 抗氧化和抗癌的活性^[9-13]。

由于黑米有普通大米所不具备的特效营养与功能, 其销售的价格也较一般的大米高, 使得有些不法分子通过弄虚作假, 将普通大米甚至是霉变大米通过染色以冒充黑米销售, 或掺杂到正宗黑米中销售以牟取暴利。根据市场调研和目前有关新闻的报道^[16-18], 市场上有一定量的掺假黑米在销售, 而现今对掺假黑米别只是通过感官进行识别, 还没有标准鉴别方法^[14], 也尚未见相关

的研究报道。通过查阅资料发现, 造假黑米所使用的染色剂是食品添加剂, 以焦糖色素为主。本实验从黑米色素的特性及染色剂(焦糖色素)的性质出发, 探索掺假黑米的鉴别方法。通过研究黑米色素及焦糖色素理化性质的差异, 尝试用一定的方法对掺假黑米进行科学鉴别。本研究通过自制假黑米, 将真假黑米按照不同的比例配比混合, 采用化学显色反应、光谱分析等方法, 拟建立一种简单易行的掺假黑米鉴别的科学方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑米(粳粘型) 重庆市北碚区综合批发市场; 蟠龙香米(宜香优 9303) 重庆市梁平县米业有限公司。

焦糖色素(双倍焦糖食品级), 三氯化铁、斐林试剂(临用时配制)、乙醇、盐酸、氢氧化钠等。以上试剂除氢氧化钠为优级纯外均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SQ211 多功能食品加工机 上海帅佳电子科技有限

收稿日期: 2008-09-12

基金项目: 教育部留学回国人员科研启动基金项目(教育部外司留(2005[55]))

作者简介: 钟耕(1964-), 男, 教授, 博士, 主要从事粮油食品加工研究。E-mail: zhongdg@126.com

公司; HH-4 数显恒温水浴锅 金坛市富华仪器有限公司; DZF-6020 型真空干燥箱 上海精宏设备有限公司; DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱 上海齐欣科学仪器有限公司; UV-2450 紫外可见分光光度计 日本岛津有限公司; JT10001 型电子天平 上海精天电子仪器有限公司; SPECTRUMGX 型傅立叶红外光谱仪 美国 Perkin Elmer 公司。

1.3 方法

1.3.1 黑米色素的粗提取

称取黑米适量, 用清水洗净、沥干, 盛入圆底烧瓶中, 按料液比 1:4(m/V) 加入 70% 乙醇溶液进行色素的提取, 用稀盐酸调节溶液的 pH 值为 3, 在 75℃ 的水浴中加热 30min, 取出过滤得到色素提取液, 对所得到的滤液真空浓缩至浆状, 冷冻干燥 24h 后, 得到黑米色素的粗品, 低温避光保存备用。

1.3.2 黑米色素的显色实验^[15]

调节 pH 值, 考查酸碱性对黑米色素色泽的影响; 在色素乙醇提取液中添加少量的锌粉, 振荡后再滴加数滴浓盐酸, 观察发生的现象; 在色素乙醇提取液中添加新配制的饱和中性醋酸铅水溶液, 观察发生的现象; 对色素乙醇提取液进行莫立许(Molisch)反应; 斐林(Fehling)反应、滴加 1% FeCl₃ 溶液一滴的显色反应。

1.3.3 假黑米的制作

准确称取蟠龙香米 20g, 分别往其中加入不同量的焦糖色素, 用玻璃棒搅拌均匀, 在室温下凉 1h, 并且在冷却的同时每隔 20min 搅拌一次。之后在电热恒温鼓风干燥箱中 40℃ 干燥 5h, 在干燥期间, 每隔 1h 轻轻缓慢搅拌, 翻滚米粒, 以免所染的米结块。

1.3.4 真假黑米的鉴别实验

将真假黑米按照不同的比例配比, 并按 1.3.1 节所述黑米提取工艺提取其中的色素, 对各组的提取液做分析实验, 利用黑米色素的显色反应、紫外光谱分析及黑米的红外光谱分析这三种方法进行鉴别。

1.3.4.1 不同掺假组提取液的显色实验

1) 取各组的等量提取液, 调节其 pH 值, 观察各组的提取液在 pH 值下的颜色变化。

2) 往各组的等量提取液中滴加 1% FeCl₃ 溶液, 观察各组颜色有何种变化或变化的程度是否有差异等。

3) 取各组的等量提取液, 往其中滴加现配的斐林试剂甲、乙等量混合液, 观察其中的颜色会发生什么变化及变化的程度上是否有所不同。

1.3.4.2 黑米色素的紫外可见光谱特性

取各组的色素提取液 0.2ml 于容量瓶中, 往其中加入 70% 的乙醇溶液 10ml 进行稀释, 摇匀后在紫外可见分光光度计上扫描, 得到紫外可见吸收光谱图, 并进

行比较。

1.3.4.3 黑米色素的红外光谱特性

分别称取真假黑米比例为 1:9 和 9:1 配比组的黑米适量, 用多功能食品加工机捣碎, 过 200 目筛, 将所得到的黑米粉用 KBr 压片法于红外光谱仪上扫描图谱。

2 结果与分析

2.1 黑米色素的外观性状

按 1.3.1 节所述提取工艺提取的黑米色素的外观性状如表 1 所示。

表 1 黑米色素的性状
Table 1 Sensory characteristics of black rice pigments

项目	性状
色泽	深黑、略带红色、发亮
气味	有较浓的糙米香味及酒香味
形状	小颗粒或粉末状、无明显的杂质

黑米黑色素属于花青素类水溶性色素, 在极性较强的溶剂中可以溶解, 而在弱极性或非极性溶剂中难溶或不溶^[16]。用高效液相色谱(HPLC)对黑米皮花色苷提取物进行分离, 根据保留时间判断出黑米中的主要花色苷为矢车菊素-3-葡萄糖苷(cyanidin 3-glucoside, Cy-3-G) 和芍药素-3-葡萄糖苷(peonidin 3-glucoside, Pn-3-G)^[17], Hyun^[4]从 Heug-jinjubyeo 黑米品种中还分离出了锦葵色素。研究表明, 在不同的黑米品种中, 其花色苷成分可能会有所不同, 不过其主导类型为矢车菊素, 糖类配基为葡萄糖^[4]。

通过溶解性实验发现: 采用本实验提取的黑米色素可溶于水、甲醇、乙醇、乙酸等溶剂, 而不溶于苯、甲苯、三氯甲烷、石油醚、正己烷、丙酮, 微溶于牛奶。

2.2 黑米色素的化学性质

表 2 pH 值对黑米色素颜色的影响
Table 2 Effects of pH value on color of black rice pigments

pH	2	5	6	7	8	9	10	11	13
颜色变化	深紫红色	紫红色	浅红色	咖啡色	紫蓝色	深蓝色	橙黄色	棕黄色	蓝绿色

酸碱性对黑米色素颜色的影响见表 2。黑米色素属于花青素类, pH 值的变化会对其颜色产生变化, 随着 pH 值的降低, 红色程度趋深。黑米色素的乙醇提取液呈鲜红色, 在 pH 值为 1 时, 黑米提取液会产生沉淀, 在 pH 值为 2~5 时, 提取液的颜色由深红色逐渐变为浅红色。随着 pH 值的增大, 黑米色素的分子结构发生变化^[18], 提取液的颜色由浅红色变为棕黄色, 最后变为蓝绿色。

盐酸-锌粉反应使提取液由鲜红色逐渐褪色。如果只滴加 5 滴浓盐酸, 不加锌粉, 提取液基本不褪色。滴加新配制的饱和醋酸铅溶液, 提取液中立即产生灰白色沉淀, 并随着醋酸铅溶液滴加量的增加, 沉淀增多, 直至黑米色素的暗红色溶液褪色消失。取 0.2ml 的乙醇提取浓缩液于小烧杯中, 添加 0.8ml 蒸馏水, 得到浅红色的样品。滴加 0.5ml 的莫立许试剂混合均匀, 再加入 1ml 浓硫酸(缓慢加入, 不振动)。静置片刻, 发现在乙醇相和浓硫酸相(下层)的交界处有紫色的环出现。乙醇相仍为浅红色, 浓硫酸相为淡绿色。色素提取液中滴加一滴 1% FeCl_3 溶液, 摇匀后提取液由紫红色变为紫蓝色, 之后变为暗(土)黄色。加入一定量的斐林甲、乙两种试剂的等量混合液(临时配制), 紫红色的提取液变为蓝色。

2.3 染色假黑米的制备

预实验结果表明, 当焦糖色素与大米的体积质量比为 3:50 时, 所染的黑米颜色与正宗黑米的颜色相接近, 由此, 选择此工艺参数来制作染色黑米。自制的黑米、纯黑米和二者掺半混合时的图片如图 1 所示。

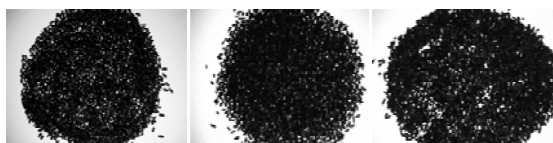


图 1 真黑米、假黑米及真假各半混合黑米图(从左至右)

Fig.1 Pictures of genuine black rice, fake black rice and adulterated black rice (from left to right)

用肉眼观察有掺假的黑米, 无法辨别出其与真黑米的差异。取等量的提取液调节 pH 值时, 各组提取液的颜色变化情况也没有多大的差异, 溶解性质也与纯黑米提取液的溶解性质一致。因此, 采用简单的调节 pH 值或通过溶解性来判别黑米的真伪是不准确的, 必须采取更为明显、有效果的手段。

2.4 掺假黑米的显色实验

表 3 各组提取液的显色反应结果

Table 3 Color reaction of pigments from adulterated black rice samples with different proportions between genuine black rice and fake black rice

组号(真黑米:假黑米)	试剂	
	FeCl_3 水溶液	斐林甲、乙试剂
1号(10:0)	1滴变深蓝	5滴变紫蓝色
2号(9:1)	1滴变蓝	7滴变蓝色
3号(7:3)	2滴变蓝	15滴变紫蓝色
4号(5:5)	2滴变浅蓝	20滴变紫蓝色
5号(3:7)	3滴变浅蓝	22滴变蓝色
6号(1:9)	4滴变浅蓝	10滴变灰褐色
7号(0:10)	无颜色变化	无明显颜色变化

注: 各组实验所用的提取液量均为 0.2ml。

利用分组的方法做实验。在总量一定的情况下, 按一定比例配制掺假黑米, 利用黑米色素的提取方法提取各配制组的色素, 对提取液做显色反应分析, 具体显色变化情况见表 3。

用斐林甲、乙试剂滴入到等量的提取液中, 边滴边摇, 各个组别变色所需斐林甲、乙试剂的量不同。

从显色实验的结果来看, 向同等量的提取液中滴加浓度一样的等量的 FeCl_3 溶液时, 各组的颜色变化在程度上有所差异, 但不明显, 用 FeCl_3 溶液对黑米色素的显色反应性质不能够很好地鉴别出掺假的黑米, 而用斐林甲、乙试剂对黑米色素的变色现象明显, 可以较好地鉴别出掺假的黑米, 尤其是在掺假的量越多时鉴别的效果越佳。此方法简单易操作, 并且成本也较低。

2.5 不同掺假配比组黑米提取液的紫外可见光谱分析

在实验的过程中, 尝试过用不同量的乙醇来稀释提取液, 稀释的程度不同, 所出的峰会有一定差异。纯黑米提取液与掺假组提取液的紫外可见光谱图见图 2。

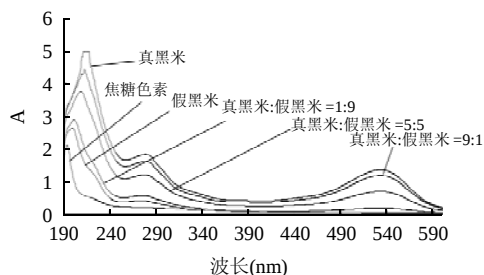


图 2 各组配比色素的紫外可见光谱图

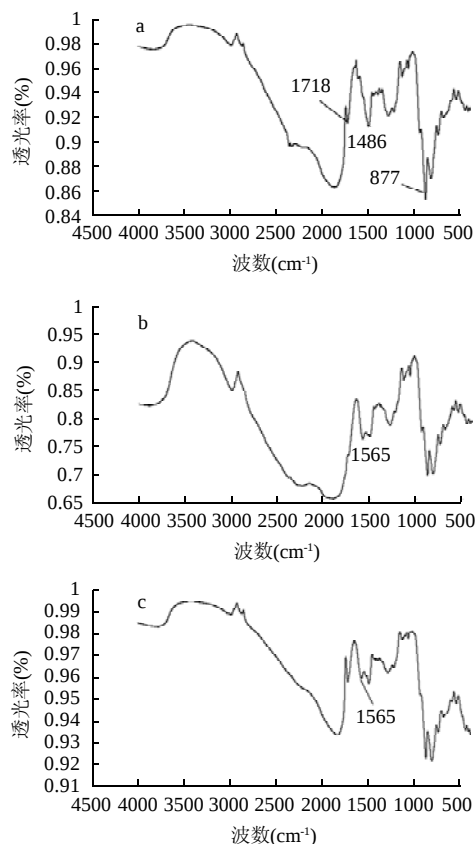
Fig.3 UV-visible spectra of pigments from the 7 adulterated black rice samples (as shown in Table 3)

由图 2 可知, 各组在可见光区 $\lambda_{\max}$ 为 535nm, 紫外光区一个 $\lambda_{\max}$ 为 280nm、另一个 $\lambda_{\max}$ 为 215nm 左右为花青苷类物质的特征吸收波长, 此结果与文献报道一致^[19]。通过各组的紫外可见光谱图可以看出, 掺假黑米色素的紫外可见光谱图与纯黑米紫外可见光谱图在吸收峰处没有多大差异, 并没有特异的吸收峰出现, 所以不能根据出峰位置来辨别掺假黑米。然而, 在有黑米标样的情况下, 只要样品的品种一样, 在提取色素的条件及参照一致的情况下, 由于掺假黑米中的黑米黑色素的含量比同等重量的纯黑米的色素含量少, 其对应的吸光度也相对小, 由此, 可以根据相同出峰处的出峰高度来鉴定样品是否掺杂有假黑米。但这需要针对不同品种的黑米进行大量的分析。

2.6 不同掺假量黑米的红外光谱分析

分别称取真假黑米比例为 1:9 和 9:1 配比组的黑米适量, 另外称一定质量的纯黑米, 用多功能食品加工机捣碎, 过 200 目筛, 将所得到的黑米粉用 KBr 压片法于

红外光谱仪上扫描。扫描所得到的图谱如图3所示。



a.真黑米; b.真黑米:假黑米=9:1; c.真黑米:假黑米=1:9。

图3 真假黑米不同比例时的红外光谱图

Fig.3 IR spectra of pigments from genuine black rice (a) and adulterated black rice samples with different proportions (b, 9:1; c, 1:9) between genuine black rice and fake black rice

由于黑米中黑色素的分子结构相当复杂,所含官能团甚多,所以其红外图谱是一系列宽而强的吸收峰,每一个宽峰都是由多种官能团振动形成的,情况十分复杂^[20]。此红外光谱图是经米筛捣碎、过200目筛后测定的,与文献^[21]中用黑米提取的黑色素所做的红外光谱图有细微的差别,但大体上是一致的。通过对比纯黑米与掺假黑米的红外光谱图可知:三个图谱在 $3720\sim 2975\text{cm}^{-1}$ 间都有一个较宽的强吸收峰,该区间峰形较宽的原因是由于分子中羟基间形成氢键,氢键的形成使电子云密度平均化,从而使伸缩振动频率降低。当掺假组真假比例为9:1时,其在该处的吸收峰强度及宽度与纯黑米的没有多大差异,而当掺假组真假比例为1:9时,其在此处的吸收强度更大,这可能是羟基在形成氢键时受到影响的结果。通过掺杂黑米与纯黑米红外光谱图的对比还可以发现,掺假组在 1565cm^{-1} 与 1468cm^{-1} 这两处吸收峰,峰形及强度都明显与黑米样品不一致,黑米样品在 1565cm^{-1} 处没有掺假黑米所具有的吸收峰。黑米样品在 877cm^{-1} 处出现的吸收峰与掺假黑米中的峰形和强度都不一致。由此,通过掺假黑米与正宗黑米红外光谱图的差异可以较好地辨别出掺假的黑米。

3 结 论

本研究的结果表明,用斐林甲、乙试剂对黑米提取液的显色反应能够方便快捷地辨别出黑米中是否有掺杂假黑米,此方法操作简单,成本廉价。对黑米提取液的紫外可见光谱分析,在有纯黑米标样的情况下,只要提取条件控制在一样的前提下,也能够鉴别出掺假的黑米。通过纯黑米与掺假黑米的红外光谱图,根据官能团吸收峰的强度及其出峰的差异,能够较好地辨别出掺假黑米。黑米掺假严重损害了消费者的利益,扰乱了正常的市场秩序,而现今对掺假黑米的鉴别还没有检测标准,所以对这方面的研究很有必要。本实验根据黑米色素的理化性质对掺假黑米的鉴别进行了探索性的研究,期望能够为今后进一步的深入研究打下一定的基础,为保护消费者的权益,稳定市场秩序有积极而现实的意义。

参考文献:

- [1] 赖名展,张名位,彭仲朋,等.黑米种质资源的评价与利用研究[J].作物品种资源,1994(增刊):58-64.
- [2] 江友兴,刘希贞,龙小黎,等.黑米成分分析与功能利用[J].农牧产品开发,1999(8):8-9.
- [3] IRANI T, TAMAKI M, ARAI E, et al. Distribution of amylase, nitrogen and minerals in rice kernels with various characters[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(19): 5326-5332.
- [4] CHUNG H J, LIM S T. Pasting and nutritional characteristics of black rice harvested in Korea[J]. Journal of Food Science and Nutrition, 1999, 4(4): 231-235.
- [5] 高如嵩.陕西黑米的主要营养成分及其利用价值[J].西北农学院学报,1984(1):97-101.
- [6] 张名位.黑米中几种微量元素的研究[G]//赵则胜.中国特种稻学术研讨会论文集.上海:上海科技教育出版社,1992:413-418.
- [7] 徐飞,王恩美,顾德法.紫黑米提高贫血大鼠血红蛋白作用的研究[J].营养学报,1987,11(7):170-175.
- [8] 闵锁田,李新生,陈义民,等.黑米中皮中脂肪的提取及定量测定[G]//陕西省科学院.秦巴山区生物资源开发利用与保护研究.西安:陕西科学技术出版社,1996:265-276.
- [9] TIMBERLAKE C F. Anthocyanins as natural food colorants[J]. Prog Clin Biol Res, 1988, 280: 107-121.
- [10] WANG H. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(2): 304-309.
- [11] KAMEI H. Suppression of tumor cell growth by anthocyanins *in vitro* [J]. Cancer Invest, 1995, 13(6): 590-594.
- [12] 周云,张守文.“特种稻米”功能特性及其开发利用[J].粮食与油脂,2002(7):36-38.
- [13] 胡艳,郭红辉,王庆,等.黑米花色苷提取物对高脂膳食诱导大鼠肥胖形成的影响[J].食品科学,2008,29(2):276-279.
- [14] 闵捷,朱智伟,孙成效.漫谈黑米的类型和鉴别[J].中国稻米,2004,(1):41
- [15] 王立,王领军,姚惠源,等.黑米及黑米色素的加工与利用[J].粮食与饲料工业,2004,(6):11-13.
- [16] 汪小兰.有机化学[M].北京:高等教育出版社,1996:292.
- [17] 郭红辉,王庆,秦玉,等.液质联用分析黑米皮提取物中花色苷化合物[J].韶关学院学报:自然科学版,2007,28(9):77-80.
- [18] 王银定,王朝晖.黑米红色素的提取条件及其性质研究[J].河北大学学报:自然科学版,1995,15(4):101-104.
- [19] 闵锁田,吴三桥,李新生,等.金属离子对黑米花青色素吸收光谱的影响[J].氨基酸和生物资源,2001,23(4):4-7.
- [20] 曾鑫,黄斌,王洁,等.黑米黑色素的提取与精制[J].食品科学,2006,27(12):304-307.
- [21] 张福娣.自制黑米色素的红外光谱分析[J].光谱实验室,2005,22(3):531-533.