

茗荷中食用红色素提取及稳定性研究

谭志伟, 刘应煊

(湖北民族学院化学与环境工程学院, 湖北 恩施 445000)

摘要: 采用单因素分析和正交试验 $L_{16}(4^5)$, 确定了提取茗荷红色素的最佳工艺条件, 并分析了茗荷红色素的稳定性。结果表明, 最佳工艺条件为: 料液比为 1:20, 提取温度为 50℃, 提取剂的 pH 值为 1, 提取时间为 120min。茗荷红色素的耐热性好, 耐光性较差, 在酸性条件、氧化剂和蔗糖、VC、淀粉和柠檬酸中稳定性较好; 在还原剂、苯甲酸钠和山梨酸钾中稳定性较差; 色素对金属离子的稳定性较高, Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Ca^{2+} 对色素有增色效果, Cu^{2+} 使色素溶液变色, Mg^{2+} 、 Na^+ 和 K^+ 对色素无不良影响。

关键词: 茗荷; 红色素; 正交试验; 提取; 稳定性

Study on Extraction and Stability of Red Pigment in *Zingiber mioga* Rosc

TAN Zhi-wei, LIU Ying-xuan

(Faculty of Chemical and Environmental Engineering, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, China)

Abstract: The optimum extracting conditions of red pigment in *Zingiber mioga* Rosc were studied by single factor analysis and orthogonal test $L_{16}(4^5)$. And the stability of the red pigment was analyzed. Results showed that: The optimum extracting conditions are: the ratio of material to solution is 1:20, the extracting temperature is 50℃, pH1, the extracting time is 120min; The red pigment resistant to heat, acid, oxidant, and common food additives, such as cane sugar, VC, amylum and citric acid, and in-resistant to light, reductant, and common food additives, such as sodium benzoate, potassium sorbate; Its stability to metal ion is high such as: Fe^{3+} , Al^{3+} , Ca^{2+} can add its color, Cu^{2+} can change its color, and Mg^{2+} , K^+ and Na^+ can not badly affect it at all

Key words *Zingiber mioga* Rosc; red pigment; orthogonal test; extraction; stability

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)03-0211-05

现代医学证实, 许多合成色素对人体有一定的危害性, 有的甚至有致癌作用, 因此, 不少合成色素在各国允许使用的程度被大大限制, 尤其是在食品、医药和化妆品行业中, 越来越多的国家开始禁止使用合成色素^[1-2]。我国食用色素中允许使用的合成色素也仅留下苋菜红、胭脂红等少数几种^[3], 并对其使用范围和最大使用量作了严格的限制^[4]。食用天然色素是来自天然物且大多是可食资源, 利用一定的食品制造方法所获得的有机着色剂。这些色素安全性高, 对人体健康没有不良影响, 许多还具有营养保健和药效作用^[5-6]。随着食品、医药和化妆品等技术的发展和卫生要求, 天然食用色素的需求量日益增大, 具有广阔的前景。茗荷(*Zingiber mioga* Rosc) 又称囊荷、野姜、囊草等, 为姜科姜属的多年生草本植物, 原产我国南部, 栽培历史悠久,

现分布在皖、苏、浙、鄂、赣、粤、黔、贵等省(区)。其嫩芽、花轴和嫩茎味芳香微甘, 可凉拌或炒食, 也可酱藏、盐渍, 是营养价值很高的珍稀蔬菜^[7]。《本草纲目》记载“囊荷, 八九月间腌贮, 以备冬月作蔬果; 治病止用白者”^[8]。茗荷呈鲜艳紫红色, 目前, 多直接作为蔬菜炒食, 加工也局限于酱藏和盐渍, 而对其丰富的色素资源的开发和研究却未见报道。本研究从茗荷色素的提取及其稳定性入手, 为开发利用茗荷这一丰富资源, 增加其经济附加值及寻找天然食用色素提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

茗荷购于湖北恩施农贸市场, 产于恩施地区。

收稿日期: 2007-02-11

基金项目: 湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队计划资助项目(T200707); 湖北民族学院 2006 年青年基金资助项目

作者简介: 谭志伟(1975-), 男, 讲师, 硕士, 主要从事食用香料的合成和天然产物的开发研究。

E-mail: tanzw1112@sohu.com

UV-2550 型紫外-可见分光光度计 日本岛津公司; 721 分光光度计 上海精密科学仪器有限公司; 101-1-S 型电热恒温鼓风干燥箱 上海跃进医疗器械厂; 电光分析天平 上海第三天平仪器厂; PHS-25 型酸度计 上海雷磁仪器厂; 多功能食物粉碎机 上海海菱电器有限公司。

所用试剂均为国产分析纯。

1.2 材料的制备

将新鲜的茗荷洗净切成薄片后, 晾干, 将茗荷薄片放入 60℃ 烘箱内烘至干透为止, 烘干后, 置于干燥洁净的环境冷却至室温, 将干燥的茗荷片粉碎过 40 目筛, 封装, 置于干燥器中, 备用。

1.3 茗荷色素提取剂的选择与最大吸收波长的确定

分别称取 1g 茗荷粉末, 分别用 30ml 水、甲醇、乙醇、乙酸乙酯和丙酮在室温下浸提 24h, 过滤, 观察提取液的颜色, 水提取液为红色, 其他溶剂的提取液均为浅黄色, 说明茗荷色素为水溶性色素, 因此选择水为提取剂。水提取液用 UV-2550 型紫外-可见分光光度计在 800~200nm 自动扫描, 水提取液在 515nm 有最大吸收峰, 因此本实验选择 515nm 为测定波长。

1.4 茗荷红色素的提取条件的单因素试验

以水为提取剂, 在其他条件相同的前提下, 分别研究不同 pH 值 (pH1~13)、料液比 (1:10、1:20、1:30、1:40、1:50)、提取温度 (20、35、50、65、80℃) 和提取时间 (1、2、4、8、16h) 等单因素对茗荷红色素提取效果的影响。茗荷红色素提取效果以将提取液稀释至相同体积后在 515nm 下的吸光度作为衡量指标。

1.5 茗荷红色素提取的正交试验

在上述单因素试验的基础之上, 采用正交表 $L_{16}(4^5)$ 进行正交试验, 以将提取液稀释至相同体积后在 515nm 下的吸光度作为茗荷红色素提取效果衡量指标, 确定茗荷红色素提取的最佳工艺条件。

1.6 茗荷红色素的稳定性实验

1.6.1 pH 值对色素的影响

分别取 2.5ml 色素提取液用 pH1~13 的缓冲溶液定容至 25ml, 以同 pH 值的缓冲溶液作参比, 用 UV-2550 型紫外可见分光光度计在 800~200nm 扫描, 考察在 pH 值对色素在可见光区的最大吸收波长的影响。再将 pH 值为 1~6 的色素溶液在 515nm 下测定其吸光度, 考察 pH 值对色素稳定性的影响。

1.6.2 温度对茗荷红色素的影响

取 2.5ml 色素提取液, 分别用 pH 值为 1、3、5、7 的缓冲溶液定容至 25ml, 分别在 20、40、60、80℃ 和 100℃ 下加热 3h, 取出快速冷却至室温, 测定其

A_{515nm} 。

1.6.3 金属离子对茗荷红色素的影响

取色素提取液 5ml, 用不同浓度的金属离子 (Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^+ 、 K^+) 溶液定容至 50ml, 在室温下放置 0、2、8h 和 24h, 以同浓度的金属离子溶液作参比, 测定其 A_{515nm} 。

1.6.4 常见食品添加剂对色素的影响

取色素提取液 2.5ml, 用不同浓度的食品添加剂 (蔗糖、VC、柠檬酸、淀粉、山梨酸钾、苯甲酸钠) 溶液定容至 25ml, 在室温下静置 30min, 以同浓度的食品添加剂溶液作参比测定其 A_{515nm} 。

1.6.5 色素的耐氧化耐还原性

取 2.5ml 色素提取液, 用不同浓度的 H_2O_2 和 Na_2SO_3 溶液定容至 25ml, 在常温下静置 1h, 测定其 A_{515nm} 。

1.6.6 色素的耐光性

取色素提取液装入无色透明的容量瓶中, 放置在室外朝光处, 定时取 2.5ml 提取液, 用蒸馏水定容至 25ml, 测定其 A_{515nm} 。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 pH 值对提取茗荷红色素的影响

由图 1 可见, pH 值为 1~5 时, 提取液的颜色为红色, 且 pH 为 1 时颜色最深, 吸光度最大, pH 值为 5 时提取液颜色变为浅红色, pH 值为 6~8 时, 提取液变为紫色, pH 值大于 8 时, 提取液为棕黄色, A_{515nm} 下降, 因此, 茗荷红色素在酸性条件下提取效果最好。

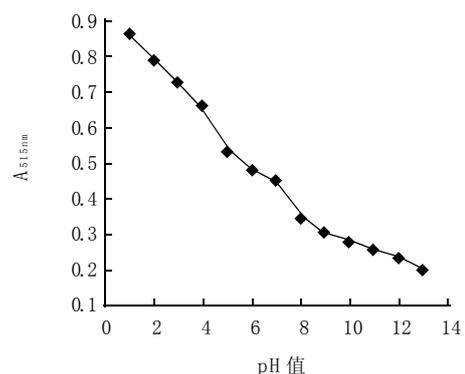


图1 pH 值对茗荷色素提取效果的影响
Fig.1 Effects of pH on extraction of pigment

2.1.2 料液比对提取茗荷红色素的影响

由图 2 可见, 随料液比增加吸光度也逐步增加, 但料液比到 1:20 后, 吸光度增加缓慢, 所以料液比选在 1:20 左右提取效果较好。

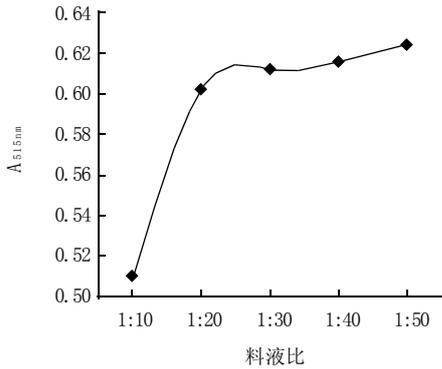


图2 料液比提取茗荷色素效果

Fig.2 Effects of ratio of material to solution on extraction of pigment

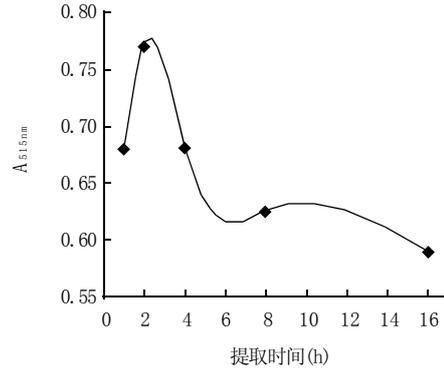


图4 不同时间提取茗荷色素效果

Fig.4 Effects of different time on extraction

2.1.3 温度对茗荷红色素提取的影响

由图3可见,提取温度过低提取液的吸光度较小,提取温度为50℃时吸光度最大,提取温度超过50℃时,吸光度下降,特别是温度达到80℃时,吸光度下降较快,说明温度越高对茗荷细胞的破坏作用越大,有利于色素的浸出。但温度太高,达到80℃时,茗荷色素提取液变稠,使得固液分离变得困难。其原因可能为,在高温下,茗荷细胞开始处于“崩溃”、溶解状态,使得提取液变成糊状,直接影响到水溶性茗荷红色素的提取。所以,茗荷红色素的提取温度选择在50℃左右为适宜温度。

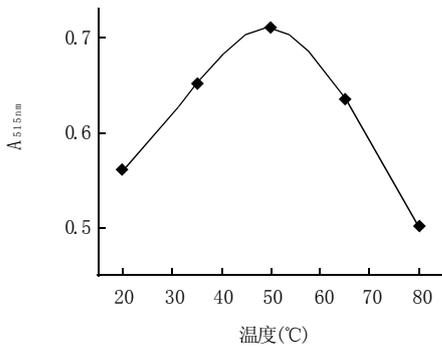


图3 温度提取茗荷色素效果

Fig.3 Effects of temperature on extraction of pigment

2.1.4 时间对提取茗荷色素的影响

由图4可见,茗荷色素提取时间为2h时吸光度最大,再延长提取时间,吸光度不升反降,说明提取时间过长,对色素的浸出不利,因此,茗荷红色素的提取时间选择2h左右时提取效果较好。

2.2 正交试验结果与分析

影响水提法提取水溶性色素的因素很多,如料液比、提取温度、pH值、提取时间等。在单因素试验

结果的基础上,采用正交试验法确定水提法提取茗荷红色素的最适宜提取条件,其因素水平、试验结果计算与分析见表1,方差分析结果见表2。

由表1结果可知,在四个因素中,影响茗荷红色素提取的主次顺序依次为:pH值、料液比、提取温度和提取时间。由表2的进一步方差分析证实了该影响因素次序,其中pH值对色素提取效果的影响最大,差异达极显著水平,其次为料液比(差异也达显著水平),提取温度影响较小,提取时间的影响最小。茗荷红色素提取的最优组合为A₂B₂C₄D₄,即以提取剂pH值为1,料液比为1:20,在50℃条件下,提取时间120min。

表1 茗荷色素提取条件的正交试验结果

Table 1 Orthogonal test results of extraction conditions

序号	因素					A _{515nm}
	A 料液比	B 提取温度 (°C)	C pH值	D 提取时间 (min)	E 对照	
1	1:40	65	3	60	1	0.469
2	1:40	50	4	240	2	0.254
3	1:40	20	2	30	3	0.400
4	1:40	35	1	120	4	0.471
5	1:20	65	4	30	4	0.353
6	1:20	50	3	120	3	0.680
7	1:20	20	1	60	2	0.550
8	1:20	35	2	240	1	0.543
9	1:30	65	2	120	2	0.590
10	1:30	50	1	30	1	0.640
11	1:30	20	3	240	4	0.471
12	1:30	35	4	60	3	0.267
13	1:50	65	1	240	3	0.560
14	1:50	50	2	60	4	0.425
15	1:50	20	4	120	1	0.192
16	1:50	35	3	30	2	0.394
K ₁	0.398	0.493	0.504	0.428	0.461	
K ₂	0.532	0.500	0.267	0.457	0.447	
K ₃	0.492	0.403	0.490	0.447	0.477	
K ₄	0.393	0.419	0.555	0.483	0.430	
R	0.139	0.097	0.288	0.055	0.047	
主次顺序	2	3	1	4	5	

表2 方差分析结果

Table 2 Results of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	F 值	F 临界值	显著性
料液比	0.057	3	11.400	9.280	*
温度	0.030	3	6.000	9.280	
pH 值	0.196	3	39.200	9.280	*
时间	0.006	3	1.200	9.280	
对照	0.005	3	1.000	9.280	
误差	0.01	3			

2.3 色素的稳定性

2.3.1 pH 值对色素的影响

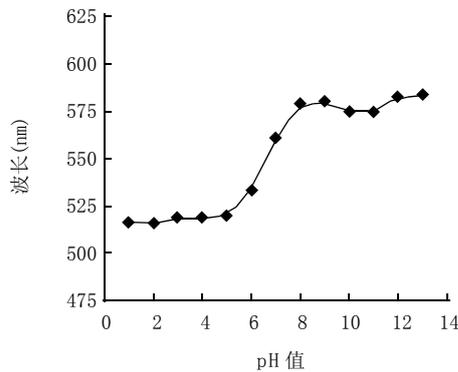


图5 pH 值对色素的最大吸收波长的影响

Fig.5 Effects of pH on maximal absorption wavelength

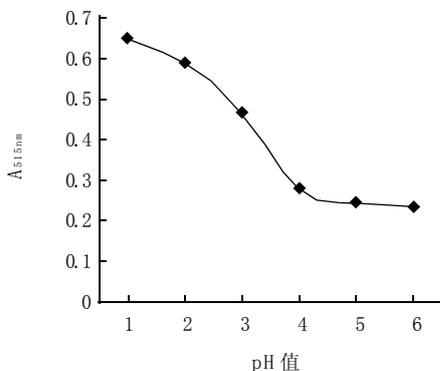


图6 pH 值对色素吸光度的影响

Fig.6 Effects of pH on absorbance

由图5可以看出, pH 值在1~5时, 色素溶液的最大吸收波长变化不大, 说明色素在这一酸性范围内没有发生结构变化; 当pH 值为6~8时增加的幅度较大, 且实验过程中, 色素颜色由红色变为紫色, 说明在这一范围为部分色素分子结构发生变化; 当pH 值大于8时, 最大吸收波长在又579~584nm 范围内有较小的波动, 此时色素变为蓝色, 说明色素在碱性条件下结构发生了变化。将pH 值为1~6的色素溶液在515nm 下测定其吸光度, 结果见图6。由图6可以看出, 相同浓度的色素的呈色力受pH 的影响较大, 当pH 值为1时, 在515nm

处的吸光度较大, pH 值从1到4, 其吸光度下降较快, pH 值大于4时, 吸光度缓慢下降。也说明了该色素在酸性条件下呈色力较强, 在碱性条件下色素的结构发生变化。因此, 苜蓿红色素适宜在酸性条件下使用, 不适宜用于碱性氛围里。

2.3.2 温度对苜蓿红色素稳定性的影响

由表4可见, 苜蓿色素对热较稳定, 但pH 值对色素的着色力和稳定性影响较大。pH 值为1和3时, 所有温度下色素均为红色; pH 值为5时, 所有温度下色素为浅红色; pH 值为7时, 在20℃和40℃下, 为紫色, 温度大于40℃时, 颜色变为茶色; pH 1时, A_{515nm}较大, 为pH5和pH7的3~4倍, 为pH3的1.6~2倍; 在100℃下加热3h 保存率为88.7%, 色素热稳定性较好, 且色素在60℃时的保存率为109.0%, 着色力最强, 为最佳着色温度。pH 值为3和5时, 温度升高时, 其A_{515nm}呈下降趋势, 在100℃下加热3h 后, 保存率分别为67.0%和74.4%, 热稳定性变差, pH 值为7时, 温度升高, A_{515nm}先下降后上升。由此可知, 苜蓿色素在酸性条件

表4 温度对色素的影响效果

Table 4 Effects of temperature on pigment

温度(℃)	A _{515nm}			
	pH1	pH3	pH5	pH7
20	0.780	0.512	0.246	0.244
40	0.825	0.500	0.230	0.195
60	0.850	0.488	0.231	0.203
80	0.782	0.440	0.200	0.245
100	0.692	0.343	0.183	0.361

下对热更稳定。

2.3.3 金属离子对色素的影响

由表5可知, Fe³⁺和Al³⁺对色素有增色作用, Al³⁺增色相对较弱, Ca²⁺在浓度大时有一定的增色作用, Cu²⁺对使色素变色, 其他金属离子对色素影响不大。

2.3.4 常见食品添加剂对色素的影响

由表6可知, 蔗糖、VC、柠檬酸和淀粉对色素的影响不大, 而山梨酸钾和苯甲酸钠使色素颜色变浅, 随浓度的增加, 影响效果更明显。

2.3.5 色素的耐氧化耐还原性

用不同浓度的H₂O₂和Na₂S₂O₃溶液作氧化剂和还原剂, 研究色素的耐氧化和耐还原性, 结果见表7。结果表明, H₂O₂对色素影响不大, 而Na₂S₂O₃的加入, 使色素颜色迅速变浅, 说明该色素的抗氧化性能较好, 而耐还原性较差, 即还原剂对色素的稳定性影响较大。

2.3.6 色素的耐光性

表5 金属离子对色素的影响效果
Table 5 Effects of metal ion on pigment

离子浓度 (mol/L)	A _{515nm}				溶液颜色	
	0h	2h	8h	24h		
0	0.590	0.580	0.582	0.581	红色	
Fe ³⁺	0.005	0.741	0.737	0.759	0.757	浅红棕色
	0.01	0.893	0.894	0.904	0.890	红棕色
	0.05	0.790	0.862	0.842	0.845	红棕色
	0.1	0.834	0.794	0.774	0.783	红棕色
Al ³⁺	0.005	0.609	0.620	0.623	0.620	浅暗红
	0.01	0.617	0.630	0.634	0.625	浅暗红
	0.05	0.651	0.655	0.656	0.660	浅暗红
	0.1	0.672	0.673	0.671	0.678	浅暗红
Cu ²⁺	0.005	0.610	0.605	0.593	0.592	浅红褐色
	0.01	0.621	0.603	0.585	0.603	浅红褐色
	0.05	0.637	0.635	0.630	0.630	红褐色
	0.1	0.649	0.649	0.646	0.649	红褐色
Ca ²⁺	0.005	0.600	0.625	0.629	0.617	粉红色
	0.01	0.611	0.611	0.620	0.615	粉红色
	0.05	0.620	0.623	0.630	0.627	粉红色
	0.1	0.622	0.626	0.631	0.628	粉红色
Mg ²⁺	0.005	0.607	0.614	0.601	0.594	红色
	0.01	0.599	0.586	0.590	0.591	红色
	0.05	0.600	0.590	0.589	0.589	红色
	0.1	0.595	0.595	0.591	0.601	红色
Na ⁺	0.005	0.609	0.600	0.595	0.585	红色
	0.01	0.609	0.604	0.599	0.595	红色
	0.05	0.624	0.611	0.601	0.596	红色
	0.1	0.607	0.610	0.600	0.589	红色
K ⁺	0.005	0.591	0.590	0.590	0.590	红色
	0.01	0.601	0.590	0.590	0.590	红色
	0.05	0.610	0.599	0.599	0.589	红色
	0.1	0.612	0.609	0.606	0.596	红色

表6 常见食品添加剂对色素的影响效果
Table 6 Effects of food additives on pigment

添加剂	浓度(mg/ml)	A _{515nm}	添加剂	浓度(mg/ml)	A _{515nm}
	0	0.560		0	0.590
蔗糖	1.00	0.542	淀粉	1.00	0.581
	2.00	0.559		2.00	0.591
	3.00	0.535		3.00	0.596
	4.00	0.540		4.00	0.621
		0		0.590	
V C	0.50	0.582	山梨酸钾	1.00	0.253
	1.00	0.590		2.00	0.175
	1.50	0.609		3.00	0.170
	2.00	0.610		4.00	0.169
柠檬酸	0	0.550	苯甲酸钠	0	0.590
	1.00	0.569		0.40	0.508
	2.00	0.580		0.80	0.352
	3.00	0.587		1.20	0.275
	4.00	0.600		1.60	0.236

在室外阳光直射下, 考察色素的耐光性, 实验结果见表8。结果表明, 色素在阳光直射下, 色素颜色变浅, 短时间内有一定的稳定性, 长时间受阳光直射,

表7 氧化还原剂对色素的影响
Table 7 Effects of oxidant-reductant on pigment

H ₂ O ₂ 浓度(mg/ml)	0	0.3	0.6	0.9	1.8	3.0
A _{515nm}	0.595	0.575	0.575	0.581	0.542	0.535
Na ₂ SO ₃ 浓度(mg/ml)	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.0
A _{515nm}	0.595	0.366	0.264	0.147	0.105	0.064

其稳定性变差。因此在生产、保存和运输苜蓿色素以及该色素着色的食品时应避免阳光长时间直射。

表8 阳光对色素的影响效果
Table 8 Effects of sunlight on pigment

光照时间(d)	0	1	3	5
A _{515nm}	0.662	0.590	0.405	0.221

3 结论

研究表明, 水是提取苜蓿红色素的最适宜试剂。水提取苜蓿红色素的工艺条件为: 料液比为1:20, 提取温度为50℃, 提取剂的pH值为1, 提取时间为120min; 苜蓿红色素在酸性条件下呈色力强; 耐热性较好, 且在酸性条件下, 耐热性更好; 色素的耐光性较差, 在生产、运输和使用过程中应避免长时间阳光直射; 苜蓿红色素具有较好的抗氧化性, 但耐还原性较差, 说明该色素具有抗氧化活性, 加入食品中, 可以防止脂质和维生素氧化, 保持食品营养和风味不因氧化而破坏; 常用食品添加剂蔗糖、VC、柠檬酸和淀粉对色素没有明显影响, 但山梨酸钾、苯甲酸钠对色素有一定的影响, 使用时应避免与这两种防腐剂合用; 由于Fe³⁺、Cu²⁺和Al³⁺对色素的稳定性有一定影响, 特别是Fe³⁺影响较大, 所以应避免色素与这些离子接触, 避免用铁质、铝质和铜质器皿贮运, Ca²⁺浓度较大时也对色素的稳定性有影响。

参考文献:

- [1] MEKKAWY H A, ALI M O, EL-ZAWAHRY A M. Toxic effect of synthetic and natural food dyes on renal and hepatic functions in rats[J]. Toxicology Letters, 1998, 95: 155.
- [2] ALEXANDRA PAZMIN`O-DURAN E, MONICA GIUSTIB, WROLSTAD R E, et al. Anthocyanins from Oxalis triangularis as potential food colorants[J]. Food Chemistry, 2001, 75: 211-216.
- [3] 刘成梅, 游海. 天然产物有效成分的分离与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 442.
- [4] 徐富清, 李秀芹. 食用色素与人体健康[J]. 化学世界, 1999(8): 446-447.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 余运岚, 许启新. 三峡地区珍稀蔬菜蕺菜的生物学特征特性[J]. 湖北农业科学, 2002(4): 74.
- [8] (明)李时珍原著. 本草纲目精华本[M]余瀛鳌编选. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 141.