文章编号:1009-038X(2003)06-0099-04

爬山虎红色素的定性定量分析

董爱文, 向 中, 李立君, 袁子坤, 曾秋娟, 何 征
(吉首大学 生物资源系,湖南 张家界 427000)

摘 要: 采用盐酸-乙醇混合溶液提取爬山虎熟果中的红色素,利用乙醚纯化其色素. 根据不同 pH 值条件下红色素溶液的颜色变化,光谱吸收图以及不同金属离子对爬山虎红色素溶液颜色变化的影响情况,对该色素进行初步的定性分析. 同时利用改进的 Fuleki 方法,对爬山虎果中红色素的含量进行初步的分析.

关键词: 爬山虎;红色素;定性分析;定量分析
中图分类号:S 687.3 **文献标识码**: A

Qualitative and Content Analysis of Red Pigment in *Parthenocissus tricuspidata* Plach

DONG Ai-wen, XIANG Zhong, LI Li-jun, YUAN Zi-kuen, ZENG Qiu-juan, HE Zhen
(Department of Biological Resources, Jishou University, Zhangjiajie 427000, China)

Abstract: Red pigment was extracted by means of hydrochloric acid-alchohol solution, and the pigment was purified by use of ether. Based on the changes of red pigment solution under the different pH value and absorption bands, as well as the effect of different metal positive ion on color changes of red pigment in *Parthenocissus tricuspidata* plach, this pigment was tentatively analyzed . Meanwhile the pigment content was analyzed by use of the improved Fuleki method.

Key words: *Parthenocissus tricuspidata* plach; red pigment; qualitative analysis; content analysis

大多数人工合成色素对人体有不同程度的伤害,许多国家已部分或完全禁止使用人工合成色素[1,2],而天然食用色素安全性较高,有的还有一定的营养和药理作用,并且在着色时色调更能接近天然颜色. 因此利用天然色素逐步取代合成色素已成必然[3].

爬山虎(*Parthenocissu stricuspidata* plach)属葡萄科爬山虎属,为多年生落叶藤本植物,其茎、根可入药,具有破淤血,消肿毒的功效[4,5],其成熟果实为球形浆果,紫黑色. 作者首次从爬山虎熟果中提取天然红色素,并对其进行初步定性定量分析,为开发利用爬山虎果实提供参考.

1 材料、仪器与试剂

1.1 材料

爬山虎熟果,于 2001 年 10 月采集于吉首大学张家界校区校园内,洗净置室温下(15 ℃左右)凉干,装于食品袋中,于-25 ℃冰柜中保存待用.

1.2 仪器

低温冰柜 MAF-492A,日本三洋公司产品;

收稿日期:2003-05-19; 修回日期:2003-06-09.
作者简介: 董爱文(1967-),男,湖南桃源人,讲师,理学学士.

万方数据

UV-160A型紫外可见分光光度计，高效液相色谱仪 LC-9A，电子天平 AEG-220，电子天平 EB-340HW，旋转蒸发仪 RE-52，均为日本岛津公司产品；酸度计 HM-60V，日本 TOA 公司产品.

1.3 试剂

试剂均为国产分析纯.

2 色素的提取与纯化

2.1 色素提取与纯化的工艺流程

熟果→去籽→研碎→浸提→抽滤→纯化→真空浓缩→真空干燥→密封保存

2.2 色素的提取

取 200 g 果实，去籽后研碎，用 600 mL 体积分数为 1%的盐酸-乙醇溶液[6]在室温下浸提 4 h，抽滤，将滤液用旋转蒸发仪在 50±1 ℃，40±2 r/min 的条件下蒸馏，得红色浓浆.

2.3 色素的初步纯化

用体积分数为 0.1%的盐酸与甲醇按体积比为 1∶1 配制混合溶液，溶解红色浓浆，抽滤；滤液中加入色素浓浆体积 3～5 倍的乙醚，充分振荡后，静置于冰箱中，色素以沉淀析出；将此沉淀再用盐酸-甲醇溶液溶解，抽滤，滤液中加入 3～5 倍的乙醚，冰箱中静置，色素再以沉淀析出；重复以上操作直到色素以粉末状沉淀析出，得较纯的色素，最后将色素沉淀置于 40℃下真空干燥，得紫红色粉末状固体色素[7～9].

2.4 色素的薄层色谱法纯化

取初步纯化的色素，点样于硅胶 G 薄层板上，置于 V(乙酸乙脂)∶V(甲酸)∶V(水)=10∶2∶3 的混合液中，于暗处展开，刮取红色素斑点，用盐酸-甲醇溶液洗脱，供液相色谱分析.

3 色素的定量分析

称取 5.0 g 新鲜和充分成熟的爬山虎果实 3 份，洗净晾干后充分研碎，转移到 250 mL 三角瓶中，加入 100 mL 盐酸-乙醇溶液(V(1.5 mol/L HCl)∶V(95%乙醇)=15∶85)，用橡皮塞盖住瓶口，置于暗处浸提 2 h，抽滤，将滤渣浸提至无色，合并滤液，定容到 250 mL 容量瓶，暗处静置 1 h，然后用浸提剂作参比，在岛津 UV-160A 上测 $A_{535\,nm}$ 值，结果见表 1[10～12].

果实中总色素质量分数(mg/g)=$\frac{A_{535}\times V\times N}{98.2\times m}$

式中，A_{535} 为吸光值，V 为定溶体积(ml)，98.2 为花色苷色素在 535 nm 波长的平均消光系数，N 为比色时稀释的倍数，m 为果实质量

表 1 爬山虎色素质量分数

Tab. 1 Pigment content in Parthenocissus tricuspidata plach

样品编号	样品质量/g	A_{535}	定溶体积 V/mL	稀释倍数 N	色素质量分数/(mg/g)	平均质量分数/(mg/g)
1	5.0444	1.173	250	5	2.9600	
2	5.0683	1.116	250	5	280.30	280.95
3	5.1333	1.054	250	5	266.55	

4 色素的定性分析

4.1 光谱分析

取初步纯化的红色素 5.0 mg 共 12 份，分别用(1)0.1%(体积分数)盐酸与甲醇的体积比为 1∶1，(2)1.5 mol/L 盐酸与 95%(体积分数)乙醇的体积比为 15∶85，(3)0.1%(体积分数)盐酸溶液，(4)pH 3.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液，4 种试剂各 10 mL 配制成一定浓度的色素溶液(每种平行 3 份)，在暗处静置 1h，以溶剂作参比，在岛津 UV-160A 上从 800～200 nm 自动扫描，其吸收光谱见图 1，在不同溶剂中的最大吸收波长 λ_{max} 和最大吸光值 A_{max} 值见表 2.

表 2 光谱分析结果

Tab. 2 Result of spectrum analysis

试剂	λ_{max}	A_{max}
V(0.1%盐酸)∶V(甲醇)=1∶1	207	1.078
	275	0.532
	527	0.141
V(1.5 mol/L 盐酸)∶V(95%乙醇)=15∶85	207	2.449
	276	0.612
	537	0.207
0.1%盐酸溶液	204	1.158
	277	0.338
	533	0.155
pH3.0 缓冲液	247	0.401
	276	0.321
	522	0.109

由图 1、表 2 可知，在紫外区有两个强烈的吸收峰，即在 250 nm 以下和在 276 nm 左右，在可见区 510～540 nm 范围内有一个大的吸收峰. 与有关文

万方数据

献和图谱比较[7,13~15],这些都是花色苷类色素的特征性吸收光谱,而在盐酸-乙醇溶液中色素在可见光区域的最大吸收波长比在盐酸-甲醇溶液中红移 10 nm,这与前人研究的结果一致[16~18].从而进一步证明了该色素属于花色苷类化合物.

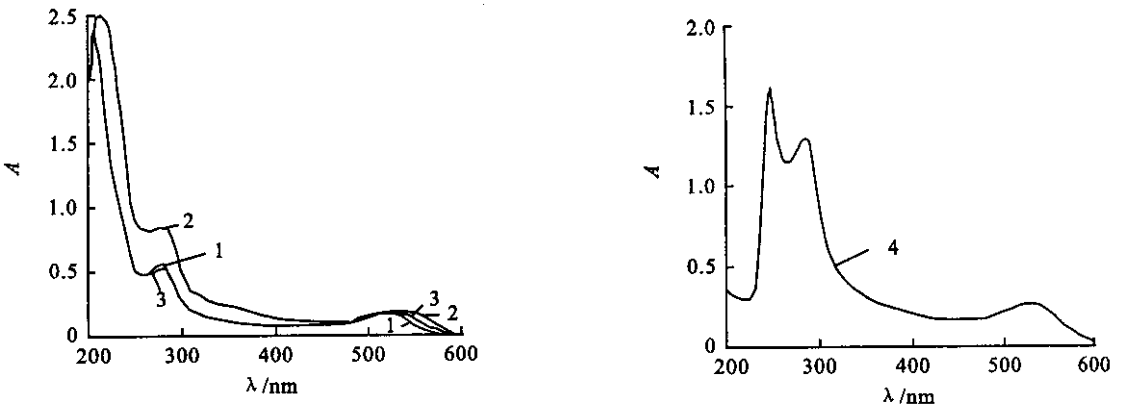


图 1　花色素在不同的溶剂中的吸收光谱

Fig. 1　Absorption bands of anthocyanidin in different solution

4.2　HPLC 分析

将薄层色谱分离的红色素的甲醇溶液进行 HPLC 分析,色谱条件为:色谱柱:Discovery C_{18} (D 5 mm,25 cm×4.6 cm);流动相:V(乙晴):V(二氯甲烷):V(甲醇)=7:3:1;流量:1.0 mL/min;检测波长:368 nm;柱温 30 ℃;进样量 10 μL.红色素与锦葵素标准品出峰及保留时间基本相同,可知红色素为花色苷中的锦葵素类.

4.3　化学分析

4.3.1　不同 pH 值条件下色素溶液颜色的变化　用柠檬酸与磷酸氢二钠精确配制溶液(pH 值为 1.0~14.0)各 30 mL 备用,取锦葵素标准品与纯化色素粉各 16.0 mg 溶于 10 mL 蒸馏水中,振荡,溶解完全后,置于棕色瓶中备用.取 pH 值为 1.0~14.0 的溶液 5.0 mL 于试管中(各平行 3 份),各加入色素溶液 0.5 mL,摇匀观察其颜色变化,结果见表 3.从表中可以看出,在 pH 值发生改变时其颜色也发生改变,特别是在碱性条件下,随着时间的延长,溶液都变成黄褐色,直至黄色,这是由于花色苷配基上的阳离子的高度活性所致[4],而且从表中的红色素在不同 pH 值下所占比例来看,与锦葵素-3-葡萄糖苷的变化趋势是一致的.

4.3.2　三氯化铝反应　取锦葵素标准品与纯化的色素粉各 5.0 mg 溶于乙醇中,加入质量分数为 1% 的 $AlCl_3$-乙醇溶液 5~10 滴,两溶液呈紫红色,反应为阳性,表明两色素为黄酮类化合物.

4.3.3　醋酸铅反应　取锦葵素标准品与纯化的色素粉各 8.0 mg 溶于 10 mL 体积分数为 50% 甲醇中,加入 1%醋酸铅溶液 10 滴,充分振荡,静置后两溶液都生成蓝色沉淀,而母液无色,倾去上清液,再各加入冰醋酸 3~5 mL,两溶液又呈红色,表明两色素为花色苷类化合物[19].

表 3　不同 pH 值条件下色素颜色的变化

Tab. 3　Color changes of pigment under different pH values

pH 值	红色素质量分数/%		色泽		2 d 后色泽	
	标样	样品	标样	样品	标样	样品
1.0	100	100	深红	深红	深红	深红
2.0	100	100	深红	深红	深红	深红
3.0	78.68	78.62	深红	深红	深红	深红
4.0	46.49	46.45	红	红	红	红
5.0	29.75	29.73	浅红	浅红	浅红	浅红
6.0	19.60	19.60	浅红	浅红	浅红	浅红
7.0	—	—	浅紫→紫→浅蓝→蓝→蓝	浅紫→紫→浅蓝→蓝→蓝	黄褐色逐渐加深→黄色	黄褐色逐渐加深→黄色
8.0	—	—				
9.0	—	—				
10.0	—	—				
11.0	—	—				
12.0	—	—				
13.0	—	—				
14.0	—	—				

注:以 A_{535nm} 值代表色素的质量分数

4.3.4　盐酸—镁粉反应　取锦葵素标准品与纯化的色素粉各 8.0 mg 溶于 10 mL 热乙醇中,两溶液呈红色;各加少许镁粉,充分振荡,静置,都生成浅

万方数据

紫色;再加入浓盐酸 2.0 mL,充分振荡,两液体颜色由浅紫色变为深红色,反应强烈,表明两色素为黄酮类化合物.

5 结 论

1) 通过光谱、色谱和化学分析,结合文献资料,确定爬山虎熟果中的色素为黄酮类化合物中花色苷类色素,而色素配基的具体种类以及糖基的类型、数量、结合位置等均有待进一步研究.

2) 爬山虎熟果色素溶液的颜色随着 pH 值的改变而变化,而且在低 pH 值时红色鲜艳而且稳定,在已有报道的各种天然植物色素中,只有花色苷类色素随 pH 值的改变其颜色有这样的变化,主要是随 pH 值的改变,导致色素分子结构发生变化而使其颜色也相应发生变化[18]. 这进一步证明爬山虎熟果色素为花色苷类色素.

3) 通过对爬山虎熟果色素的定量分析,可知在鲜果中色素的含量较高,可达 2.81 mg/g,而爬山虎在我国野生分布及园林栽培均较广泛,在武陵山区野生资源极其丰富,结实性好,产量较高,具有实际开发的经济价值.

参考文献:

[1] 柳素娟. 天然色素的开发及应用[J]. 中国野生植物,1987,(2):1-6.
[2] 刘志皋. 食用天然色素的开发和利用[J]. 中国野生植物,1986,(1):1-4.
[3] 邢有权,李万洒. 天然食品色素提取与应用[M]. 吉林:东北林业大学出版社,1993. 38-68.
[4] 李颜. 崂南几种常见野生攀援植物及利用[J]. 特种经济动植物,2001,4(10):18-19.
[5] 尹祖棠,刘永生. 识别园林植物的一把钥匙[M]. 北京:中国林业出版社,1990. 136-137.
[6] 朱新贵,王霜,郭勇. 单色光对玫瑰茄细胞红色素稳定性的影响[J]. 食品工业科技,1998,(3):23-24.
[7] 江泽荣. 植物色素及其化学证明[J]. 中国野生植物,1987,(1):5-14.
[8] 刘贤明. 天然食用色素落葵红的初步研究[J]. 食品科学,1990,(8):8-10.
[9] Markakis P. Anthocyaninsas Food Colors[M]. New York:Academic press ,1982.
[10] Fuleki T. Quantitative methods for anthocyanins . I . Extraction and determination of total anthocyanins in cranberries [J]. **J of Food Science**, 1968,33:72-77.
[11] 张志红,陈清轩. 萝卜色素的提取及其性质[J]. 食品科学,1992,(7):12-16.
[12] Less D H. Standardization of pigment analyses in cranberries[J]. **Hortscience**,1972,7(1):83-84.
[13] 王堂青,陈娟,宋仙芝. 黄刺玫色素及其稳定性研究[J]. 食品工业科技,1996,(6):9-12.
[14] 陈平,阎萍,吴春,等. 葡萄皮色素的稳定性研究[J]. 食品工业科技,1996,(5):11-15.
[15] 金时俊. 食品添加剂—现状、生产、性能、应用[M]. 上海:华东化工学院出版社,1992.
[16] 蔺定运. 用光谱法评价花色苷的稳定性[J]. 食品与发酵工业,1992,(5):83-85.
[17] Harborne J B. Spectral methods of characterizing anthocyanins[J]. **Biochem J**, 1958,(70):22-28.
[18] 王华兴,陈锦屏. 山楂色素基本性质及其热降解动力学[J]. 食品科学,1992,(11):10-15.
[19] 徐怀德,王淑莉,刘兴华. 女贞果皮天然紫(红)色素研究[J]. 食品工业科技,1996,(3):23-26.

(责任编辑:朱 明)

《冷饮与速冻食品工业》杂志征集广告启事

《冷饮与速冻食品工业》杂志 是经国家新闻出版总署批准出版,国家教育部主管的面向国内外公开发行(邮发代号 28-190)的国家级专业性技术指导类刊物,是冷饮与速冻食品行业广大基层决策者、科研人员、生产者、经营者研究开发新品、寻求商业机会、开拓产品市场的良师益友。

《冷饮与速冻食品工业》杂志 通过国家邮政在全国各地发行,影响广泛,及时报道国内外冷饮与速冻食品领域的科研成果、生产技术及市场动态,竭诚为我国冷饮与速冻食品行业的广大企业提供广告服务,内容涉及冷饮与速冻食品行业的新产品、机械设备、食品添加剂等。广告费用低廉,连续刊登优惠 10%-20%,敬请来电商洽。

联系电话:0510-5512561,5517448;图文传真:0510-5512561;E-mail:csbfi@sytu.edu.cn

万方数据