

黑豆种皮中红色素的提取及稳定性研究

杨卫民¹, 刘保琪¹, 李团霞², 赵青红²

(1. 吕梁高等专科学校, 山西 吕梁 033001; 2. 吕梁农业学校, 山西 吕梁 033000)

摘要:以黑豆种皮为原料提取红色素,对红色素的提取工艺和稳定性进行了研究。结果表明:以酸性乙醇为提取剂,在60℃条件下提取2 h,方法简便、提取率高达17.36%;黑豆红色素对热、亚硫酸钠、蔗糖、苯甲酸钠以及部分金属离子较稳定,可用于功能食品添加剂、保健药物和化妆品等。

关键词:黑豆;红色素;提取工艺;稳定性

中图分类号:Q946.8

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2010)04-0688-04

Extraction of Red Pigments from Seedcoat of Black Soybean and Its Stability

YANG Wei-min¹, LIU Bao-qi¹, LI Tuan-xia², ZHAO Qing-hong²

(1. Luliang Higher College, Luliang 033001; 2. Luliang Agricultural School, Luliang 033000, Shanxi, China)

Abstract: The red pigment was extracted from the seedcoat of black soybean, and its extraction technology and stability were studied. Results showed that the red pigment's being extracted by acidic ethanol for two hours at 60℃ is facile and with high extraction rate (17.36%). The red pigment which is extracted from seed capsule of black soybean is steady in heat, sodium sulfite, sucrose, benzoic acid and some metal ions, so it can be used in functional food additives, health medicines, cosmetics and so on.

Key words: Black soybean; Red pigment; Extraction technology; Stability

黑豆系豆科植物,是一类种皮为黑色的特殊类型植物,富含色素苷。近年来天然色素市场价格逐年攀升^[1]。天然红色素色泽鲜艳自然、安全、无毒,具有一定营养和保健功效,在食品、化妆品、医药方面已显示出巨大应用潜力^[2]。一些天然食品的颜色因为受光、热、氧以及加工处理过程的影响,有时会失去天然色泽而降低了商品价值^[3]。为使食品的外观色泽均匀一致,需利用各种食用色素来改善食品的感观性状,提高产品的商品性^[4]。天然色素是食品添加剂的重要组成部分,同时还广泛应用于医药和化妆品行业^[5]。当今市场上的天然红色素主要来自紫葡萄皮、黑米、黑豆、草莓等^[6]。

目前有关黑豆种皮红色素提取方法主要有盐酸-乙醇提取法、微波辅助提取法和超声波辅助提取法^[7]。梅建生等^[8]认为以50%乙醇做浸提剂,在70℃条件下,提取90 min是提取优化条件;崔蕊静等^[9]在乙醇提取剂中加入氯化氢取得了较好的效果;朱宏达等^[10]用柠檬酸做提取剂也取得了良好的效果;李大婧等^[11],高雪琴等^[12]在色素提取时分别采用了超声波与微波辅助提取技术,色素提取率获得显著提高;刘岱琳等^[10]利用大孔吸附树脂对色素粗提取液进行纯化,结果比纯化前提高7~12倍。但是目前对黑豆种皮红色素综合研发方面的报道较少。该文以黑豆种皮为原料,通过设计提取条

件,确立最佳的红色素提取工艺;并研究其对物理、化学、生物分子等的稳定性,为功能食品添加剂、保健药物、化妆品研发与生物材料研制提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料与仪器

黑豆为晋黑3号,试剂均为分析纯。TD18电子天平、HH-2数显恒温水浴锅、7230G型可见分光光度计等。

1.2 黑豆种皮中红色素的提取工艺

将黑豆种子,温水浸泡24 h后,用蒸馏水洗净,在80℃条件下烘干10 h,粉碎、过80目筛,用蒸馏水浸提24 h后第1次过滤,蒸馏水浸提滤渣24 h,进行第2次过滤,再重复1次,最后合并3次滤液,于旋转蒸馏器蒸发浓缩得到药膏,烘干研碎,备用。

称干燥的黑豆色素粉1.2 g共6份,分别放入6个试管中,分别用水、酸性乙醇、盐酸(体积比为1:100)、盐酸(体积比为1:200)、氢氧化钠(0.01 mol·L⁻¹)、氢氧化钠(0.05 mol·L⁻¹)作提取剂,在60℃恒温下浸提2 h。待色素溶液冷却后过滤,取滤液用盐酸(1:20)或氢氧化钠(0.1 mol·L⁻¹)调其pH1.0~2.0,稀释3倍,在510 nm处测定吸光

收稿日期:2010-01-08

基金项目:2008年山西吕梁高等专科学校基础重点应用资助项目(校发2008.06)。

第一作者简介:杨卫民(1960-),男,教授,研究方向为植物化学及植物次生物质代谢。E-mail:yangweimin0318@sina.com。

度值(以蒸馏水为对照,比色皿厚度为 1 cm)。

称干燥的黑豆色素粉 1.2 g 共 4 份,分别放入 4 个试管中,分别用酸性乙醇在 20℃、40℃、60℃、80℃下浸提 2 h。待色素溶液冷却后过滤,取滤液调其 pH1.0~2.0,稀释 3 倍,测定吸光度。

称干燥的黑豆色素粉 1.2 g 共 5 份,分别放入 5 个试管中,分别用酸性乙醇在 60℃下浸提 30、60、90、120、150 min。待色素溶液冷却后过滤,取滤液调其 pH1.0~2.0,稀释 3 倍,测定吸光度。

1.3 黑豆种皮红色素的稳定性研究

1.3.1 金属离子对红色素稳定性的影响 取 7 份色素提取液各 50 mL,分别加入 0.1 mol·L⁻¹氯化钠、氯化镁、氯化钙、氯化锌、氯化铜、氯化铁和氯化亚铁溶液各 4 滴,在室温下,510 nm 波长处测定吸光度,3 次重复。

1.3.2 光、热对红色素稳定性的影响 取 4 份色素提取液各 50 mL,在日光下照射 0、20、50、92 h 后,分别测定不同照射时间下的吸光度。另外取 4 份色素提取液于 0、40、60、80℃放置 2 h,在室温下,510 nm 波长处测定吸光度,3 次重复。

1.3.3 红色素颜色与 pH 值的关系 取一定量的色素提取液,用盐酸(体积比为 1:20)或氢氧化钠溶液(0.1 mol·L⁻¹)调节 pH 值,用精密酸度计进行测定,得不同 pH 值下的溶液颜色与 pH 值的关系,3 次重复。

1.3.4 氧化剂、还原剂对红色素的影响 取 4 份色素提取液各 50 mL,分别加入 30% 的双氧水 0、0.15、0.5、2 mL,在室温下放置 0、12、24、48 h 后,在室温 510 nm 波长处测量其吸光度。

取 4 份色素提取液各 50 mL,分别加入固体亚硫酸钠 0、10、20、50 mg,配成不同还原剂质量浓度的色素溶液。在室温 510 nm 波长处测定其在室温下放置 0、12、24、48 h 后的吸光度,3 次重复。

1.3.5 蔗糖、苯甲酸钠对色素的影响 取 4 份色素提取液各 50 mL,分别加入不同质量的蔗糖,配成蔗糖质量分数分别为 3.0%、6.0%、10.0%、16.0% 的色素溶液。在室温 510 nm 波长处测定在室温下放置 0、12、24、48 h 后的吸光度,3 次重复。

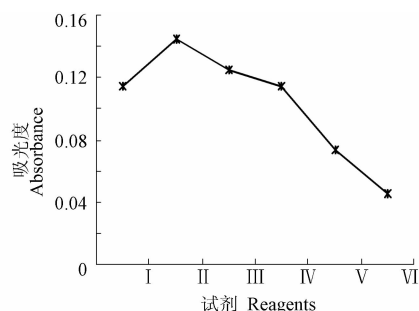
取 4 份色素提取液各 50 mL,分别加入苯甲酸钠,配制成质量分数分别为 0、0.01%、0.1%、1% 的溶液,在室温 510 nm 波长处测定其在室温下放置 0、12、24、48 h 的吸光度,3 次重复。

2 结果与分析

2.1 黑豆红色素提取液对试剂、温度、时间的选择

由图 1 可知,色素提取液在不同介质中吸光值是酸性乙醇>盐酸(1:100)>水>盐酸(1:200)>

氢氧化钠(0.01 mol·L⁻¹)>氢氧化钠(0.05 mol·L⁻¹),由此确定最佳提取剂为酸性乙醇。由图 2 可知,色素提取液的吸光值随温度的升高呈先增加后降低的趋势。由此确定最佳提取温度是 60℃。因此,应该避免高温,在低于 80℃ 的温度下贮存。



I: 蒸馏水; II: 酸性乙醇; III: 盐酸(1:100); IV: 盐酸(1:200); V: 氢氧化钠(0.01 mol·L⁻¹); VI: 氢氧化钠(0.05 mol·L⁻¹)
I: distilled water; II: acidic ethanol; III: hydrochloric acid (1:100); IV: hydrochloric acid (1:200); V: sodium hydroxide (0.01 mol·L⁻¹); VI: sodium hydroxide (0.05 mol·L⁻¹)

图 1 不同试剂提取黑豆色素的吸光值

Fig. 1 Absorbance of red pigment extracted with different reagents

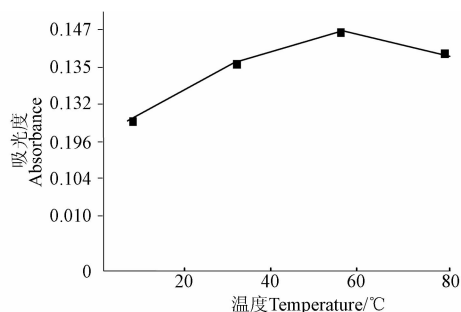


图 2 不同温度提取黑豆色素的吸光值

Fig. 2 Absorbance of the pigment extracted at different temperatures

由图 3 可知,色素提取液在不同时间内其吸光值呈先增加后降低的趋势。由此确定最佳提取时间为 120 min。因此,为保证能取得较高的提取效率,红色素提取时应该在 120 min 左右完成。

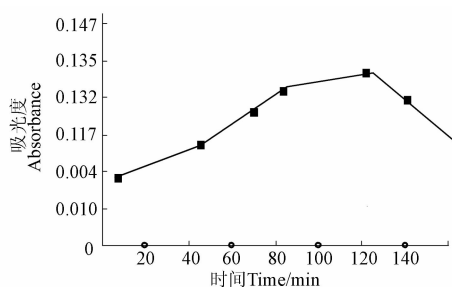


图 3 不同时间提取黑豆色素的吸光值

Fig. 3 Absorbance of the pigment extracted at different times

2.2 提取率

称 1.2 g 干燥的黑豆色素粉 3 份,以酸性乙醇为提取剂;在 60℃ 温度下提取 2 h,提取量分别为 0.210、0.208、0.207 g,平均提取率为 17.360%。

2.3 金属离子对黑豆红色素的影响

由表 1 可知,7 种离子中,Na⁺、Mg²⁺、Fe²⁺ 对黑豆红色素的稳定性影响较小;Ca²⁺、Zn²⁺ 分别在 0、22、46 h 测定 A 值时,其 A 值呈先下降后上升的趋势;Cu²⁺、Fe³⁺ 的 A 值总体呈下降趋势。其中 Fe³⁺

对黑豆皮红色素的影响最大,其颜色从红色变为紫色,而且 A 值也随之降低。

2.4 黑豆色素对光、热的稳定性

由图 4 可知,色素提取液对光不稳定,随着光照时间的延长,其吸光度呈下降的趋势,褪色明显。由图 5 可知,在温度 20~80℃ 范围内,其吸光度无明显变化,表明黑豆色素对热稳定性较好,加热不能使其颜色发生明显变化。

表 1 金属离子对黑豆色素的影响

Table 1 Effect of metal ions on the pigment

金属离子 Metal ions	A 值 A value			现象 Phenomenon
	0 h	22 h	46 h	
Na ⁺	0.781	0.738	0.764	橙红色溶液 Orange-red solution
Mg ²⁺	0.753	0.742	0.733	橙红色溶液 Orange-red solution
Ca ²⁺	0.667	0.153	0.260	棕色溶液 Brown solution
Fe ³⁺	0.747	0.532	0.502	黑色絮状沉淀 Black flocculent precipitate
Fe ²⁺	0.690	0.680	0.717	红褐色溶液 Reddish-brown solution
Cu ²⁺	0.749	0.641	0.592	橙红色溶液/Orange-red solution
Zn ²⁺	0.778	0.708	0.920	桔红色溶液 Orange solution
对照 CK	0.830	0.730	0.790	橙色溶液 Orange solution

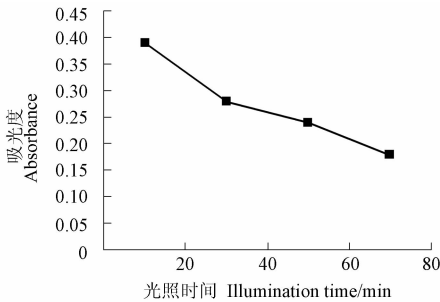


图 4 不同光照时间下黑豆色素的吸光值

Fig.4 Absorbance of the pigment under different illumination time

2.5 黑豆色素颜色与 pH 的关系

由表 2 可知,酸碱对黑豆红色素的影响很大,不同 pH 值下呈现不同的颜色。当 pH=5 时呈无色,pH<4 时对其影响较小。因此,黑豆红色素在保存和使用的过程中应保持较低的 pH 环境。

2.6 过氧化氢(氧化剂)、亚硫酸钠(还原剂)对黑豆红色素的影响

由表 3 可知,红色素在双氧水溶液中有明显褪色现象,且随着氧化剂浓度的增大及放置时间的延

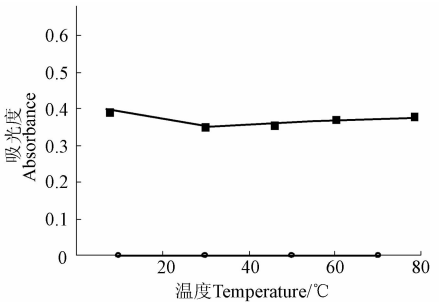


图 5 不同温度处理下黑豆色素的吸光值

Fig.5 Absorbance of the pigment under different temperatures

长,褪色现象越明显。表明黑豆红色素的耐氧化性差。而该色素溶液随还原剂浓度的增加和放置时间的延长,其吸光度值无明显变化,表明黑豆红色素的耐还原性较好。

2.7 蔗糖、苯甲酸钠对黑豆红色素的影响

由表 4 看出,蔗糖和苯甲酸钠浓度的大小和放置时间的长短对色素溶液的颜色、稳定性无较大影响,表明色素对蔗糖和苯甲酸钠稳定性较好。

表 2 不同 pH 值下色素溶液的颜色

Table 2 Color of the pigment under different pH value

pH	1~2	3~4	5	6~7	8~9	10~11	12	13~14
颜色 Color	酒红色 Red wine	浅红色 Light red	无色 Colorless	浅灰色 Light gray	深灰色 Dark gray	浅红棕色 Light redbrown	深红棕色 Dark redbrown	黄棕色 Yellow brown

表 3 不同浓度氧化剂、还原剂对黑豆色素的影响

Table 3 Effect of different oxidants and reductants on the pigment of black soybean

时间 Time/h	过氧化氢(氧化剂) Hydrogen peroxide (oxidant)				亚硫酸钠(还原剂) Sodium sulfite(reducing agent)			
	0	0.15 mL	0.5 mL	2 mL	0	10 mg	25 mg	50mg
0	0.155	0.147	0.151	0.150	0.153	0.146	0.150	0.149
12	0.154	0.124	0.117	0.086	0.152	0.145	0.149	0.147
24	0.146	0.114	0.044	0.033	0.153	0.148	0.151	0.148
48	0.156	0.033	0.030	0.026	0.150	0.148	0.150	0.147

表 4 不同浓度蔗糖、苯甲酸钠对黑豆色素的影响

Table 4 Effect of sucrose and sodium benzoate in different concentrations on the pigment of black soybean

时间 Time/h	蔗糖 Sucrose				苯甲酸钠 Sodium benzoate			
	3.0%	6.0%	10.0%	16.0%	0%	0.01%	0.1%	1%
0	0.154	0.155	0.152	0.155	0.142	0.141	0.143	0.147
12	0.154	0.153	0.154	0.154	0.145	0.145	0.147	0.147
24	0.155	0.156	0.155	0.154	0.141	0.143	0.144	0.143
48	0.157	0.155	0.154	0.152	0.140	0.142	0.148	0.144

3 结论与讨论

结果表明,黑豆红色素较为理想的提取条件是,提取试剂为酸性乙醇,提取温度在 60℃左右,提取时间为 2 h,此时提取率为 17.3 g · 100 g⁻¹。黑豆红色素对 Na⁺、Mg²⁺、Fe²⁺较稳定,对 Fe³⁺、Ca²⁺、Al³⁺、Zn²⁺、Cu²⁺等均不稳定;黑豆红色素对酸碱的稳定性很差,不同 pH 值下呈现不同的颜色;对过氧化氢的稳定性较差,随着过氧化氢浓度的增加和作用时间的延长,其褪色现象越明显;对光照的稳定性也较差,随着光照时间的延长,其褪色越明显。但是黑豆红色素热稳定性较好,加热时其颜色无明显变化;对亚硫酸钠的稳定性较好,一定量的亚硫酸钠不能使色素颜色发生明显变化;对蔗糖和苯甲酸钠稳定性也较好。因此该色素可用于含糖制品,也可与一些食品添加剂共用,不影响其效果。

参考文献

[1] 龙盛京, 马文力, 农冠荣. 黑豆色素及多糖对全血化学发光和活性氧的抑制作用[J]. 食品科学, 1999, 20(9): 9-12. (Long S J, Ma W L, Nong G R. Black soybeans pigment and polysaccharide on whole blood chemiluminescence and inhibition of reactive oxygen species [J]. Food Science, 1999, 20(9): 9-12.)

[2] 曾定达. 黑色食品的魅力[J]. 重庆工人, 2003(12): 64. (Shang D D. The charm of black food [J]. Chongqing Workers, 2003(12): 64.)

[3] 李崇善, 蒲有赖, 崔新东. 论富含营养的“黑色食品”[J]. 甘肃科技纵横, 2003, 32(4): 56-57. (Li C S, Po Y L, Cui X D. On the nutrient-rich "black food" [J]. Gansu Science and Technology Horizon, 2003, 32(4): 56-57.)

[4] 陆恒. 黑豆蛋白质的营养价值优势及利用对策[J]. 中国商业, 2003, 15(2): 40-42. (Lu H. Black soybeans advantage of the nutritional value of protein and the use of countermeasures [J].

China Business, 2003, 15(2): 40-42.)

[5] 王海堂. 黑豆色素的提取工艺、理化性质研究和应用[J]. 洛阳工学院报, 1998, 19(2): 81-85. (Wang T. Black soybeans pigment extraction, physical and chemical nature of the research and application [J]. Luoyang Institute of Technology report, 1998, 19(2): 81-85.)

[6] 高彦祥, 许正虹. 食用天然色素安全性研究进展[J]. 食品科学, 2005, 26(5): 158-159. (Gao Y X, Xu Z H. Food security, natural pigment research [J]. Food Science, 2005, 26(5): 158-159.)

[7] 李秋凤, 王金亭. 天然黑豆红色素的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(10): 168-171. (Li Q F, Wang J T. Advances on research of natural red pigment from black soybean [J]. Food Research and Development, 2009, 30(10): 168-171.)

[8] 梅建生, 李理, 胡建涛, 等. 黑豆皮色素提取方法的研究[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2004, 34(3): 320-324. (Mei J S, Li L, Hu J S, et al. The research of a method in distilling the pigment of black soybean [J]. Journal of Northwest University (Natural Science Edition), 2004, 34(3): 320-324.)

[9] 崔蕊静, 李凤英, 李春华. 黑豆皮红色素提取及影响其稳定性因素分析[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(1): 48-51. (Cui C J, Li F Y, Li C H. Study on extraction of pnaseolus red pigment and the pigment stability [J]. Chinese Cereals and Oils Association, 2004, 19(1): 48-51.)

[10] 朱宏达, 张慧, 张美荣, 等. 黑豆红色素的提取工艺及其理化性质的研究[J]. 中国食品添加剂, 2009(1): 86-90. (Zhu H D, Zhang H, Zhang M R, et al. The study of black bean red extracting from black soybean and its physical and chemical properties [J]. Chinese Food Additives, 2009(1): 86-90.)

[11] 李大婧, 宋江峰, 刘春泉, 等. 超声波辅助提取黑豆皮色素工艺优化[J]. 农业工程学报, 2009, 25(2): 273-279. (Li D J, Shun J F, Liu C Q, et al. Optimization of technology for ultrasonic-assisted extraction of pigments from black soybean hull [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2009, 25(2): 273-279.)

[12] 高雪琴, 王若兰, 杨建平. 黑豆皮红色素微波辅助提取与乙醇浸提的工艺比较研究[J]. 食品与药品, 2006, 8(5): 39-41. (Gao X Q, Wang R L, Yang J P. A comparison study on extraction technology of black bean peel red pigment between microwave-assisted extraction and traditional extraction method [J]. Food and Drugs, 2006, 8(5): 39-41.)