

文章编号:1003-8701(2010)06-0058-05

甜菜红色素提取、精制、稳定化研究

周宏璐,王景会*

(吉林省农业科学院,长春 130033)

摘要:对甜菜红色素得率和色价、精制、稳定化的诸多因子做了试验,明确了 pH 值为 3,温度 70℃ 甜菜红色素浸出率、得率最高, A 值最大;在 80~90℃ 条件下持续 3~5 min 有效抑制多酚氧化酶活性;不同提取方法试验表明,多级连续浸提效果较好。

关键词:甜菜红色素;提取;精制;稳定化;多酚氧化酶

中图分类号:TS264.4

文献标识码:A

Studies on Key Technologies for the Extraction of Betalain

ZHOU Hong-lu, WANG Jing-hui*

(Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province, Changchun 130033, China)

Abstract: Yield, color scale, purification, stabilization of betalain were tested in the experiment. The results showed that at the pH 3, temperature 70℃, the leaching rate and yield of betalain were the highest, A value was the maximum. When it was maintained at 80℃ - 90℃ for 3 to 5 minutes, viability of polyphenol oxidase was suppressed effectively. Results of experiments with different extraction method showed that the effect of multi-stage sequential extraction was better.

Keywords: Betalain; Extraction; Purification; Stabilization; Polyphenol oxidase

从红甜菜根中提取甜菜红色素受 pH 值、温度、提取方式、时间等多因素影响;红甜菜中含有的多酚氧化酶(PPO)又能引起色素褐变,导致色素的色价降低,质量下降。因此,选择甜菜红色素提取的适宜工艺条件和抑制多酚氧化酶活性的有效措施,提高甜菜红得率和色价,是甜菜红色素的重要研究内容之一;同样,在前述基础上,如何除去影响色素溶解性和透明度的果胶、蛋白质等大分子,进而解决其对光和热的稳定性,也是研究中不可或缺的关键技术。

1 材料和方法

1.1 供试材料

红甜菜根。

1.2 仪器

751 型分光光度计、PHS-3 型酸度计、超滤装置、纳滤装置、天然抗氧化剂等。

1.3 试剂

柠檬酸、磷酸氢二钠、邻苯二酚、Vc 等。

1.4 处理和方法

1.4.1 甜菜红色素提取

红甜菜根切丝,按 1:1 加 0.3% 柠檬酸水溶液,在搅拌中浸提 45 min,测定吸光度 A(535 nm,1 cm 比色杯)和浸提液干物重及色价。试验温度是 50℃、60℃、70℃、80℃、90℃、100℃,pH 分别是 1、2、3、4、5、6。

1.4.2 多酚氧化酶活力分析

采用 C. Y. Lee 法制备多酚氧化酶溶液。将冷贮(4℃)的新鲜红甜菜切成丝,按 1:1 比例加入缓冲液(pH=3),均质 3 min,用布袋粗滤,再用滤纸过滤后立即使用。

试验组和对照组各设 3 个平行样,试验组加入 20 mL M 氏柠檬酸—磷酸缓冲液,对照组加入 22 mL 缓冲液,均放在冰箱冷存(4℃)。

分别向试验和对照管中加入 1 mL 不同处理红甜菜多酚氧化酶溶液,再放冰箱冷存。当全部试验结束,取出试验和对照组,向试管中加入 2 mL

收稿日期:2010-09-14

作者简介:周宏璐(1955-)男,副研究员,主要从事农产品加工研究。

通讯作者:王景会,女,副研究员,E-mail:wjhjaas@yahoo.com.cn

邻苯二酚底物 ,测定吸光度 ,换算氧化酶活力。

2 结果与讨论

2.1 pH 对甜菜红浸出量的影响

表 1 pH 对甜菜红色素浸出量的影响

柠檬酸提取液 pH	2.59	3.00	3.46	4.04	5.05	5.91	6.82
色素浸出液 pH	4.10	4.80	5.87	6.32	6.54	6.61	7.00
色素浸出液 pH	1.092	1.120	0.943	0.876	0.780	0.733	0.520
换算出甜菜红色素相对含量(%)	97.5	100	84.20	78.21	69.64	65.47	46.42

从表中可以看出 ,随着提取液中 pH 增加 ,浸出液的 pH 明显增加 ,逐渐由酸性向碱性变化 ,A 值也逐渐降低 ,表明甜菜红色素中甜菜黄素增加 ,甜菜花青素减少。当提取液 pH 为 3 ,浸出液 pH 为 4.8 时 ,A 值最高 ,在此 pH 条件下 ,甜菜红色素浸出量最多。

2.2 温度对甜菜红色素浸出量的影响

甜菜红色素属热敏型物质 ,高温易降解褐变 ,色价降低 ,因此 ,选择适宜的温度即可有效提取红色素 ,又可加快提取速率 ,同时对合理利用能源 ,降低生产成本都有实际意义。

不同温度条件下 ,浸提 45 min 后 ,降至室温测定 A 值 ,换算成甜菜红色素相对含量,浸提温度 70℃ 时 ,A 值最大 ,甜菜红色素含量最高 ;随着温度升高 ,红色素含量降低 ,80℃ 以上高温降解明显 ;60℃ 以上 A 值也下降 ,原因是在 50~60℃ 范围内多酚氧化酶活力最强 ,引起色素褐变 ,使红色素减少。从颜色变化(同一温度、恒温 4 h 后观察)也可以看出 :20℃ 时溶液呈粉红色 ,随着温度升高红色加深 ,60~70℃ 时为深红色 ;而后随着温度升高黄色逐渐增加 ,80℃ 时呈红黄色 ,100℃ 时变成桔黄色 ,红色素基本消失。因此 ,在色素提取过程中 ,控制温度是重要环节。

2.3 钝化多酚氧化酶条件的筛选

多酚氧化酶(PPO)是蔬菜、水果保藏加工中一种有害酶类 ,红甜菜中含有多种氧化酶 ,其中以多酚氧化酶影响最大。因此 ,研究如何钝化(或抑制)多酚氧化酶的活性 ,防止或减少褐变 ,是提高甜菜红色素得率和质量(色价)的重要措施之一。

2.3.1 pH 对多酚氧化酶活性的影响

试验表明 :当 pH=7 时 ,多酚氧化酶的活力最强 ,pH 在 7 以上碱性区 ,红色的甜菜甙向甜菜黄素 I 转化 ,同时多酚氧化酶自身氧化失去活性。以 pH=7 为标准 ,随着酸性增加 ,酶的活力下降 ;pH=5.5 时 ,活力钝化了约 50% ,pH=3 时钝化了 68%左右 ,以后随着酸性增加活力下降不明显 ,钝

化在 70%左右。因此 ,在提取甜菜红色素时 pH=3 左右较适宜 ,可使大部分多酚氧化酶失活 ,减少褐变造成的损失。

2.3.2 温度对多酚氧化酶活力的影响

将新制备的含多酚氧化酶的甜菜红色素溶液在 30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃、90℃ 条件下分别恒温 3、5、10 min ,取样测定 A 值。结果表明 ,室温 20℃ PPO 活力在 50%左右 ,温度升高 ,活力随之增强 ,50℃ 活力最高。之后随温度升高活力急骤下降 ;同时 ,温度持续的时间对活力影响也很大 ,特别是 50℃ 以后 ,随着温度升高 ,恒温时间延长 ,活力下降明显 ;当温度 70℃ ,3 min 失活 16% ,5 min 失活 24% ,10 min 失活 56% ;80℃ 时分别失活 26%、62%和 74% ;90℃ 失活 43%、82%和 96%。从 A 值测定结果看 :70℃ 和 80℃ 持续 10 min A 值变化不大 ,90℃ 持续 3 min、5 min A 值相近 ,10 min A 值开始下降 ,高温持续较长时间红色素开始降低。因此 ,选择温度为 90℃ ,持续 3~5 min ,是钝化 PPO 活性的比较理想条件。

PPO 活力受 pH、温度、酶、提取、分离、底物、缓冲液种类、测量方法等诸多因素影响 ,同一物质的 PPO 活力 ,国内外报道结果也不相一致。本文采用 C. Y. Lee 方法 ,与 Lee 试验结果相符 ,即 pH 值 7.0 ,温度 50℃ ,PPO 活力最强 ;而 pH 值 3.0 ,温度 90℃ 持续 3~5 min PPO 可失活 80%以上。

2.4 不同提取方法对甜菜红色素提取率、得率的影响

提取条件 :红甜菜丝与浸提液重量比为 1 : 1 ;浸提液 pH 为 3(不同柠檬酸调配) ,浸提温度为 70℃ ,时间为 45 min。

提取方法 :①一次浸提 ,浸提后常温常压下过滤、离心、测 A 值 ;浓缩、干燥 ,称甜菜红粉重量 ,测色价。②一次浸提(挤压式) ,浸提后采用挤压式过滤 ,其他步骤同。③多次浸提(挤压式) ,其他方法步骤同 ,每次挤压后向红甜菜丝中加等量新鲜浸提液 ,3 次浸提、3 次挤压 ,分别收集各次提取

液,测 A 值 ;分别浓缩、干燥、称甜菜红粉重量 ,测色价。④多级连续浸提 ,利用不同级(一般为 3 级)提取液浓度差 ,上一级提取液作为下一级的浸提液 ,依次连续浸提 ,直到甜菜丝为淡粉色。分别收集各级的提取液 ,过滤、离心、测 A 值 ;再分别浓缩、干燥 ,称甜菜红粉重量、测色价。

试验结果是不同提取方式的浸提率、得率差异很大 ,一次挤压浸提高于一次浸提 ;多级挤压式浸提略高于连续多级浸提 ,同上述浸提后获得的是甜菜红粗粉 ,尚不能反映试验的真实结果。在小试基础上 ,又进行了多级挤压式浸提和连续多级浸提的小试扩大试验 ,每次投料 100 kg ,浸提条件同小试一样 ,提取液离心分离后 ,又经微滤、超滤、反渗透处理除去蛋白质、果胶和部分糖类 ;再浓缩、干燥 ,获得甜菜红色素精品。多级挤压式浸提得甜菜红 3.55 kg ,色价 6.54 ;多级连续浸提得甜菜红 3.14 kg ,色价 6.45。试验结果说明 :挤压式浸提 ,由于多次挤压 ,红甜菜细胞组织被破坏 ,有利于色素的浸出 ,但糖分、果胶等也同时被浸出 ,因此浸出率和甜菜红粗粉得率较高 ,在除去蛋白质、果胶和部分糖分后 ,同多级连续浸提的得率和色价相近。从工艺和节省能源考虑 ,连续浸提明显优于挤压方式 ,值得生产上采用。

2.5 甜菜红的精制

甜菜红精制的目的是除去影响色素溶解性和透明度的果胶、蛋白质等大分子及为提高色价和色素品质滤去溶液中部分糖类、金属离子、NO₃⁻

等小分子(离子)。我们用超滤、纳滤两次分离法 ,在常温、无相变条件下完成了色素与其他杂质的有效分离 ,取得了理想的精制效果。

2.5.1 超滤

使用 UFOB9 型外压式超滤膜 ,截留分子量为 6 000 道尔顿 ,进口压力为 0.15MPa ,在低于 45℃ 条件下超滤试验结果见表 2。

表 2 超滤截留效果

样品		可溶性固形物含量(%)	果胶 (mg/mL)	蛋白质 (mg/mL)	吸光度 (535 nm)
甜菜红溶液	超滤前	4.5	0.351	0.134	1.854
	超滤后	4.0	0	0	1.721

从表 2 中可以看出 ,超滤全部截留了果胶、蛋白质等大分子 ,除去了约占色素溶液中固形物 10%的杂质 ;吸光度减少也正表明由于超滤前溶液混浊 ,吸光度偏高 ,而超滤除去了果胶、蛋白质等大分子使溶液变清澈、透明 ,故吸光度下降。

2.5.2 纳滤

甜菜红溶液中的金属离子、小分子有机酸、NO₃⁻ 等通过纳滤很易滤出。但溶液中主要固形物蔗糖分子量(550)相近 ,分子量如此相近的物质通过膜分离是相当困难的。因此 ,根据甜菜红色素溶液的特性(粘滞性、热敏性) ,对纳米膜的选择及纳滤进出口压力、通量、溶液、浓度、温度、pH 等对纳滤的影响及相互关系等进行了研究 ,确定了有效地滤出糖类等小分子(离子)的适宜条件。

2.5.2.1 纳滤分离效果

纳米膜对甜菜红溶液主要杂质分离效果见表 3。

表 3 纳滤分离、浓缩效果

样品	体积(l)	固形物含量(%)	固形物重量(kg)	Ca ²⁺ (mg/kg)	Mg ²⁺ (mg/kg)	NO ₃ ⁻ (mg/kg)	除杂率(%)	浓缩比	色价
超滤液	700	4.0	28.0	1.4832	1.1883	216.0	-	3	3.0
纳滤浓缩液	240	7.5	18.0	0.0522	0.0374	0	35.7	1	8.8

这个结果表明 ,纳滤将溶液浓缩 3 倍左右 ,糖类等杂质滤出率(除杂率)已达 35.7% ,其中 Ca、Mg 滤出率在 95%左右 ,而 NO₃⁻ 全部滤出 ,这时甜

菜红的色价由 3.0 提高到 8.8 ,无异味 ,其他指标测定结果也达到了国家标准(GB8271- 87)和国际标准(FAO/WHO)。

表 4 甜菜红质量指标比较

项目	吉林省农业科学院天然色素研究开发中心	GB8271- 87	FAO/WHO(CXAS/1991)
E535nm	8.8	大于 3.0	含量 0.4%(以甜菜苷计)
Ph	5.6	4.0- 6.0	碱性及其他酸性染料试验阴性
干燥失重%	8.9	不超过 10.0	重金属(以 Pb 计)≤ 40mg/kg
灼烧残留%	10.6	不超过 14.0	-
砷(As)%	0.000 02	不超过 0.0002	砷(As)≤ 3mg/kg
铅(Pb)%	0.000 17	不超过 0.0005	铅(Pb)≤ 10mg/kg

2.5.2.2 浓缩

纳滤在滤出小分子(离子)杂质的同时 ,还滤出色素溶液中大部分水分 ,这种常温无相变分离水分 ,特别适用于甜菜红这类热敏性物质。纳滤浓缩操作方便 ,能耗低成本约为蒸发浓缩和冷冻浓缩

的 1/2~ 1/5 ,这在规模生产上是很有意义的。

但纳滤浓缩也是有限制的。随着纳滤运行时间延长 ,溶液中色素浓度增加 ,膜表面形成浓差极化 ,导致通量减少 ,同时随着浓度增加 ,滤出的色素也逐渐增加。从表 5 中可见浓缩比超过 5 倍 ,继续浓缩已

失去意义。从研究结果和生产实际看：一般情况下浓缩 3~5 倍为好，即除去了 65%~80%的水分，也有效地滤去了杂质，而色素损失不足 1%。

表 5 纳滤运行时间与通量及色素损失率

纳滤运行时间(h)	通量 (mL/m ² ·min)	浓缩比	滤出液吸 度光(535nm)	色素损失率 (%)
0	380	1:1	0.017	0
1	320	2:1	0.035	0.001
2	250	3:1	0.055	0.05
5	75	5:1	0.088	0.33
8	20	7:1	0.232	2.41

2.6 稳定化技术

如何提高甜菜红色素的稳定性，特别是对光和热的稳定性是本研究的重要内容之一，也是开发和生产必须解决的关键问题，我们从可食用植

物中提取天然抗氧化剂，研制出复合天然抗氧化剂明显抑制了光和热对甜菜红的降解，提高了甜菜红的稳定性。

热动力学试验：取 1%甜菜红溶液在 100℃水浴保温条件，由于热降解作用，溶液由红色逐渐变成红黄色，其热降解速度遵从一级动力学规律，即 $T=0.693/K$ ，半衰期为 4 080 s，而在相同条件下加入复合天然抗氧化剂，热降解速度变慢，动力学方程为直线方程，即 $y=a+bx$ ，半衰期为 8 880 s，比对照提高一倍以上。

2.6.1 热稳定性试验

不同温度(100℃、80℃、60℃)条件下加入天然抗氧化剂后测得的色素吸光度(A)和降解率见表 6。

表 6 不同温度加天然抗氧化剂的色素吸光度和降解率

样品处理	25℃		100℃ ,0.5 h		80℃ ,1.0h		60℃ ,1.0h	
	吸光度 (A)	降解率 (%)	吸光度 (A)	降解率 (%)	吸光度 (A)	降解率 (%)	吸光度 (A)	降解率 (%)
CK	2.523	0	1.658	34.28	1.608	33.89	2.461	2.457
加天然抗氧化剂	2.523	0	2.461	2.457	2.523	0	2.523	0

从表 6 中可以看出：100℃、0.5 h 条件下，添加天然抗氧化剂其降解率分别是 33.8%和 2.457%，而加入天然抗氧化剂均无降解。说明甜菜红对热的稳定性较差，而加入天然抗氧化剂，耐热性大幅度提高。

2.6.2 光稳定性试验

室内直射光(25℃)、散射光(20℃)条件下试验，在 1%甜菜红溶液中加入天然抗氧化剂，每隔 4 d 测试一次吸光度，计算降解率，结果见表 7、表 8。

表 7 不同光照条件(室内直射光、25℃)天然抗氧化剂对甜菜红降解率的影响

项目		时间(d)					
		1	4	8	12	16	28
CK	吸光度(A)	2.523	2.523	2.155	1.913	1.679	1.181
	降解率(%)	0	0	14.5	22.9	33.5	53.2
加入天然抗氧化剂	吸光度(A)	2.523	2.523	2.523	2.523	2.398	2.372
	降解率(%)	0	0	0	0	4.9	6.0

表 8 不同光照条件(室内散射光、20℃)天然抗氧化剂对甜菜红降解率的影响

项目		时间(d)					
		1	4	8	12	16	28
CK	吸光度(A)	2.523	2.523	2.398	2.350	2.051	1.746
	降解率(%)	0	0	4.9	6.8	18.7	30.8
加入天然抗氧化剂	吸光度(A)	2.523	2.523	2.523	2.523	2.523	2.462
	降解率(%)	0	0	0	0	0	2.4

试验表明：甜菜红见光易降解。在室内直射光 25℃条件下，从第 8 d 开始降解，以后每天平均以 2%的速度降解，第 12 d 降解率为 22%，此时溶液变成红黄色，失去了应用价值，第 6 d 溶液变成棕褐色。而加入天然抗氧化剂的从第 16 d 开始降解，到第 28 d 降解率只有 6%，目测溶液仍能够保持原有的红色。平均每天降解率只有 0.09%，明显低于对照。

室内散射光 20℃条件下结果与直射光的相似。但对照组降解速度明显减慢，从第 8 d 开始降解，平均每天降解率为 1.13%，而加入抗氧化剂的基本无降解，只是第 28 d 降解率为 2.4%。

3 结 论

3.1 超滤——纳滤两次分离法可以全部除去甜菜红溶液中的果胶、蛋白质等大分子，滤去 95%以上重金属离子、NO₃⁻等小分子，可以有效地控制糖的滤储量，生产不同色价的产品，质量达到国家标准(GB271—87)和国际标准(FAO/WHO)；同时还可以滤去 65%~85%的水分，是精致和浓缩甜菜红的有效方法，在生产上是可行的。

3.2 研制的复合天然抗氧化剂明显地减少了光、热对甜菜红的降解，拓宽了甜菜红的应用范围和应用效果。

参考文献:

- [1] 茈 敏,陈清西.大孔吸附树脂浓缩火龙果色素的研究[J].厦门大学学报(自然科学版),2004,B(08):44-46.
- [2] 陈 勇,张 晴.AB-8 大孔吸附树脂吸附和分离紫甘薯色素的研究[J].中国食品添加剂,2001(1):6-9.
- [3] 毕红霞,李建伟,陈 玮,等.AB-8 吸附树脂对欧李红色素的吸附和精制[J].郑州工程学院学报,2004(2):40-42.
- [4] 陈炳华,刘剑秋.高粱泡红色素及其稳定性研究[J].海南师范学院学报(自然科学版),2001,14(3):97-101.
- [5] 陈炳华,刘剑秋.食品添加剂和金属离子对高粱泡红色素稳定性的影响[J].亚热带植物科学,2001,30(3):16-21.

(上接第 51 页)情况下,仍表现再生能力强,植株生长旺盛。

2.2 抗病虫特性

2009 年吉草 2 号在吉林省农科院植保所进行高粱丝黑穗病抗性鉴定,在人工接菌条件下,对 3 号生理小种表现免疫。

连续 3 年的田间观察,该品种高抗叶病和抗螟虫,粘虫大发生时需喷洒高效氯氰菊酯。

2.3 植株茎叶的品质性状

2009 年经农业部农产品质量监督检验测试中心(沈阳)检测,茎叶含粗蛋白 8.48%、粗脂肪 11%、粗灰分 5.63%、可溶性总糖 13.7%,叶片氢氰酸 0.22 mg/kg、茎秆氢氰酸含量 0.35 mg/kg。

3 产量表现

3.1 所内品比试验

2007 年参加所内产比试验,吉草 2 号表现抗旱性极强,生物鲜重产量高,平均公顷产量 90 031.1 kg,比对照皖草 2 号增产 17.1% 2008 年参加所内参比试验,平均公顷产量 88 796.5 kg,比对照皖草 2 号增产 21.4%;两年产比试验平均公顷产量 89 413.8 kg,平均比对照增产 19.3%。2009 年在吉林省农科院、吉林省绿源草产业有限公司(长岭)进行区域试验与小面积生产试验,平均公顷产量 59 238.6 kg,比对照国审高产品种晋草 3 号增产 4.6%。

4 栽培技术要点

主要掌握 3 个方面:适时早播,合理密植;化学除草,分段施肥;适期刈割,高产高效。一般年份在 5 月上旬至 5 月中旬播种,播量 15 kg/hm²,保苗 25 万~30 万株,覆土 3~4 cm,播种时施种肥磷酸二铵 150~200 kg/hm²。有灌溉条件的可进行分段施肥。

5 制种技术要点

制种时,先播父本,待父本出苗至 2 叶 1 心时播母本,父母本比例 1:8,母本公顷留苗 15 万~18 万株,父本公顷留苗 10 万株。

6 适宜种植区域

适宜于吉林省东部草场、西部湿地,以及东北农牧交错带的填闲地种植。栽培管理时应及时防治粘虫。

7 推广利用

吉草 2 号饲草高粱以其再生性强,生物体粗蛋白和粗脂肪、可溶性总糖含量高,茎、叶氢氰酸含量低等优点,作为吉林省新兴饲草青饲料,可用于家畜、家禽、养鱼等养殖业,还可晒制干草,用于秋冬季节牛、羊等草食性动物的饲喂。

参考文献:

- [1] 张福耀,平俊爱,杜志宏,等.饲草高粱新品种晋草 3 号[J].作物研究,2007(3):402-403.