

刺葡萄皮色素的提取及性能测定

谢 聃¹, 马玉美¹, 王辉宪¹, 欧阳建文², 王仁才², 熊兴耀²

(1. 湖南农业大学理学院, 湖南 长沙 410000; 2. 湖南农业大学园艺园林学院, 湖南 长沙 410128)

摘 要: 对刺葡萄果皮色素的溶剂法提取工艺在单因素水平基础上进行了研究, 并对提取所得色素的理化性质进行了测定。结果表明, 以 80 % 的乙醇水溶液为提取剂, 料液比为 1:5, 在 80 ℃ 条件下提取 1.5 h, 提取效果最好, 提取得率为 2.2 %。对提取所得色素的理化性质进行的测定结果表明, 所得色素色价高, 耐酸性、耐光性好, Mg^{2+} , Cu^{2+} , K^{+} 等金属离子对其稳定性影响不大, 具有很好的开发应用前景。

关键词: 葡萄皮色素; 提取; 纯化; 理化性质

中图分类号: TS202.3, S663.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2007)01-0023-05

Pigment Extracted From Grape (*Vitis davidii* Foëx) Peel and Its Properties

XIE Dan¹, MA Yu-mei¹, WANG Hui-xian¹, OUYANG Jian-wen², WANG Ren-cai² and XIONG Xing-yao²

(1. College of Science, Hu'nan Agriculture University, Changsha, Hu'nan 410000; 2. Horticulture & Landscape College, Hu'nan Agriculture University, Changsha, Hu'nan 410128, China)

Abstract: The extraction techniques of pigment from grape (*Vitis davidii* Foëx) peel by solvent method were studied on the basis of single factor. The results suggested that the optimal technical conditions were as follows: 80 % aqueous ethanol solution as extracting reagent, proportion of materials and extracting reagent was 1:5, temperature at 80 ℃, 1.5 h extraction time, and the yield was 2.2 %. Furthermore, the physiochemical properties of the extracted pigment were determined. The results showed that the color value, anti-acid and lightfastness of the extracted pigment was good and the effects of metal ions such as Mg^{2+} , Cu^{2+} , K^{+} on pigment stability was little. Accordingly, the pigment of grape peel had good development and application perspective.

Key words: grape peel pigment; extraction; purification; physiochemical properties

随着生活水平的不断提高, 人们对食品的安全性越来越关注, 更倾向于食用无毒无害的绿色食品。色素是一种重要的添加剂, 广泛应用于食品、日用化工产品、化妆品、医药卫生以及印染工业等领域, 随着人类对合成色素毒性作用认识的深入, 天然食用色素由于安全性高、种类多、具有一定的营养和药理保健及消炎作用^[1]、可以调色及成本低等原因, 已被不少发达国家用作食品添加剂。开发应用天然色素, 回归大自然是大势所趋^[2]。目前正在研究应用的天然色素主要有桔子黄色素、 β -胡萝卜素、中国红米色素、姜黄色素、食用玉米黄色素、甘薯红色素等^[3]。

天然葡萄皮色素属花色苷类化合物, 易溶于水、甲醇、乙醇、正丁醇和丙二醇, 不溶于油脂。根据条件的不

同, 花色素苷的提取可以加液氮用研钵研磨提取^[4,5]、匀浆提取^[6]或搅拌摇动提取^[7,8]。葡萄皮色素可呈液态、粉末态和糊状态, 色泽鲜艳, 性质稳定, 是一种非常重要的天然食用色素和理想的食物添加剂。我国葡萄资源相当丰富, 葡萄酿酒或进行果汁加工之后的葡萄皮中含有丰富的花色素物质可继续利用^[9], 极具开发价值。本文以湖南省怀化白马铺地区产的高山品种刺葡萄为原料, 乙醇水溶液为提取剂对葡萄皮色素进行提取, 并对得到的色素的理化性质进行了测定。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料

基金项目: 湖南省科技厅资助项目(05SK3083)。

收稿日期: 2006-10-18

作者简介: 谢聃(1981-), 男, 苗族, 硕士研究生。

通讯作者: 熊兴耀, Author for correspondence, Email: xiongyx@hunau.net。

采收于湖南省怀化市的刺葡萄 (*Vitis davidii* Foëx) 果实,洗净后先将果肉、果汁和种籽与果皮分离,将果皮保存在低温冷库中备用。

1.1.2 仪器

UV- 1600 型紫外可见分光光度计; RE- 52AA 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂; DZ- 2BC 型真空干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司; 8904 型酸度计,江苏江环分析仪器有限公司; DLSB- 5/10 型低温冷却液循环泵,郑州长城科工贸有限公司; SHB- 循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司。

1.1.3 试剂

乙醇、醋酸铅、HCl、NaOH、蔗糖、抗坏血酸(Vc)、双氧水、 $MgSO_4$ 、 $ZnSO_4$ 、 $CaCl_2$ 、 $CuSO_4$ 、KCl、 $Fe(NO_3)_3$ 、 $FeCl_2$ 、 $MnSO_4$, 均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 色素提取方法

用乙醇水溶液作溶剂,以一定的料液比在一定温度下回流提取一定的时间,冷却后过滤,得葡萄皮色素粗提液。

1.2.2 色素纯化方法

将葡萄皮色素粗提液真空抽滤,滤液用旋转蒸发仪减压蒸馏至无醇味,加适量蒸馏水稀释,抽滤,去除杂质。滤液中加入 5 %醋酸铅溶液,得蓝色沉淀,将沉淀用 2 mol/L HCl 溶解,过滤去除白色氧化铅沉淀,即得红色的葡萄皮色素溶液。将色素溶液减压蒸馏,40 °下真空干燥 3 ~ 4 h,可得纯度较高的半固态浆状色素。

1.3 刺葡萄皮色素提取工艺研究

1.3.1 提取剂浓度对提取效果的影响

由于乙醇无毒、无异味,因此我们选择乙醇水溶液为提取剂。称取 50 g 鲜葡萄皮 3 份,研碎,分别移入 1000 mL 的圆底烧瓶中,各加入 70 %、80 %和 90 %乙醇水溶液 250 mL。在 80 °温度下回流提取 1.5 h,提取液用 UV- 1600 型紫外可见分光光度计在 530 nm^[10]波长下进行测定,以蒸馏水为参比液,根据吸光度值确定色素相对含量。

1.3.2 料液比对提取效果的影响

称取 50 g 样品 3 份,以 80 %乙醇水溶液为提取剂,料液比[葡萄皮质量(g)与提取剂的用量(mL)之比]分别为 1:3、1:5 和 1:8,在 80 °温度下回流提取 1.5 h,测定提取液中色素的相对含量。

1.3.3 提取温度对提取效果的影响

称取 50 g 样品 3 份,以 80 %乙醇水溶液为提取液,料液比为 1:5,分别在 25 °、50 °和 80 °下对葡萄皮提取 1.5 h,测定提取液中色素的相对含量。

1.3.4 提取时间对提取效果的影响

称取 50 g 样品 4 份,以 80 %乙醇水溶液为提取液,料液比为 1:5,在 80 °下对葡萄皮提取不同时间,测定提取液中色素的相对含量。

根据以上各单因素实验,确定刺葡萄色素提取的最佳工艺条件。

1.4 刺葡萄皮色素理化性能测定

1.4.1 最大吸收波长的测定

称取 1.0 g 原料,按最佳工艺条件提取所得的色素产品,溶于 500 mL 蒸馏水中配成 0.2 %的色素水溶液,备用。取少量色素水溶液用 UV- 1600 型紫外可见分光光度计在 400 ~ 600 nm 范围内进行波长扫描,以蒸馏水为参比,比色皿厚度为 1 cm。

1.4.2 葡萄皮色素色价的测定

分别在天平上准确称取 0.1130 g、0.1932 g 和 0.2237 g 所得色素样品,用丙酮定容到 100 mL,在最大吸收波长下,测量样品溶液的吸光度值,根据色价计算公式,计算所得色素的色价。

1.4.3 酸度对葡萄皮色素稳定性的影响

分别取 7 份 20.0 mL 0.2 %的色素水溶液,加入不同体积 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液,定容到 25 mL,用酸度计测定其 pH 值。放置 15 min,观察颜色变化,并测定其吸光度值。

1.4.4 氧化剂对葡萄皮色素稳定性的影响

取浓度为 30 %的 H_2O_2 2.0 mL,以 1:25 的体积比配制得质量分数为 1.2 %的 H_2O_2 水溶液。分别取 2.0 mL 0.2 %的色素水溶液 6 份于 10 mL 容量瓶中,分别加入 0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL 和 5.0 mL 的上述 H_2O_2 水溶液,定容到 10.0 mL,放置 30 min 后,观察颜色变化并测定吸光度。

1.4.5 光照对葡萄皮色素稳定性的影响

取 0.2 %色素水溶液 20.0 mL 置于室内自然光保存,分别在不同时间观察其颜色变化并测定吸光度值。

1.4.6 蔗糖对葡萄皮色素稳定性的影响

称取蔗糖 0.5 g,加入 49.5 mL 蒸馏水配成质量分数为 1 %蔗糖水溶液。分别取 2.0 mL 0.2 %的色素水溶液 6 份于 10 mL 容量瓶中,各加入 0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL 和 5.0 mL 的上述蔗糖水溶液,定容到 10.0 mL,静置 15 min,观察溶液颜色变化并测定吸光度值。

1.4.7 抗坏血酸(Vc)对葡萄皮色素稳定性的影响

称取抗坏血酸(Vc) 0.5 g,加入 49.5 mL 蒸馏水,配成质量分数为 1 %的 Vc 水溶液。分别取 2.0 mL 0.2 %的色素水溶液 6 份置于 10 mL 的容量瓶中,各加入 0 mL,

1.0 mL, 2.0 mL, 3.0 mL, 4.0 mL, 5.0 mL 的上述 Vc 水溶液, 定容到 10.0 mL, 静置 15 min, 观察溶液颜色变化并测定吸光度值。

1.4.8 金属离子的影响

本实验考察了 Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , K^+ , Fe^{3+} , Fe^{2+} 和 Mn^{2+} 8 种常见金属离子对色素稳定性的影响, 其中只有 Fe^{3+} 对色素具有较大的影响。称取 $Fe(NO_3)_3$ 0.5 g, 加入 49.5 mL 蒸馏水配成质量分数为 1% $Fe(NO_3)_3$ 水溶液。分别取 2.0 mL 0.2% 的色素水溶液 6 份于 10 mL 的容量瓶中, 各加入 0 mL, 1.0 mL, 2.0 mL, 3.0 mL, 4.0 mL 和 5.0 mL 的上述 $Fe(NO_3)_3$ 水溶液, 定容到 10.0 mL, 静置 15 min, 观察溶液颜色变化并测定吸光度值。

2 结果与分析

2.1 葡萄皮色素的提取工艺

2.1.1 提取剂浓度对提取效果的影响

不同浓度提取剂提取所得色素提取液吸光度值见表 1。

表 1 提取剂浓度对提取效果的影响

提取剂 (%)	O. D.
70	0.230
80	0.365
90	0.349

注: O. D. ——吸光度。

根据朗伯-比尔定律, 吸光度与浓度成正比, 所以吸光度越大, 提取液中色素浓度越大, 提取效果越好。表 1 中的数据表明, 用 80% 乙醇水溶液进行提取所得提取液吸光度最大, 故可确定 80% 乙醇水溶液提取效果最好。

2.1.2 料液比对提取效果的影响

不同料液比提取所得色素提取液吸光度值见表 2。

表 2 不同料液比对提取效果的影响

料液比	O. D.
1:3	0.274
1:5	0.305
1:8	0.249

表 2 结果表明, 当料液比为 1:5 时提取液吸光度最大, 效果最好。料液比为 1:8 时, 提取剂体积大, 色素提取液吸光度反而降低, 这可能是由于葡萄皮色素被稀释的原因; 而料液比太小, 色素提取不完全, 因此料液比以 1:5 为宜。

2.1.3 提取温度对提取效果的影响

不同提取温度所提取得的色素提取液的吸光度值见表 3。

由表 3 可知, 在 80 (回流温度) 时所得提取液吸光

表 3 提取温度对提取效果的影响

提取温度 (°C)	O. D.
25	0.156
50	0.263
80 (回流)	0.558

度最大, 提取效果最好。温度太低, 提取速率慢, 时间长且提取不完全; 温度太高, 可能引起葡萄皮色素及其他成分的分解, 影响提取效果, 故提取温度控制在 80 (回流) 为宜。

2.1.4 提取时间对提取效果的影响

不同提取时间提取所得色素提取液的吸光度值见表 4。

表 4 提取时间对提取效果的影响

提取时间 (h)	O. D.
0.5	0.158
1.0	0.212
1.5	0.226
2.0	0.216

表 4 表明, 提取 1.5 h, 提取液的吸光度最大, 效果最好。通常延长提取时间可使提取更彻底, 效果更好, 但时间太长, 可能使色素长时间受热, 发生分解, 故提取以 1.5 h 为宜。

根据上述实验结果, 可确定葡萄皮色素提取最佳工艺为: 80% 乙醇水溶液为提取剂, 料液比为 1:5, 在 80 温度下提取 1.5 h。

2.2 葡萄皮色素的纯化和产率的计算

称取 100 g 葡萄皮样品按最佳工艺条件对色素进行提取, 粗提液经过纯化, 得到纯度较高的半固态浆状色素, 称重得 2.2 g, 计算产率为 2.2%。

2.3 葡萄皮色素理化性能测定

2.3.1 最大吸收波长的测定

对所得色素产品的最大吸收波长进行测定, 结果为 532 nm, 与文献[10]报道的葡萄皮色素的最大吸收波长 530 nm 接近。

2.3.2 葡萄皮色素色价的测定

测量样品溶液的吸光度 A 分别为 0.260, 0.429 和 0.517, 样品色价按下式计算:

$$\text{色价} = (A \times 10) / W(g)$$

式中: W 表示样品重量。

计算得色价分别为 23.01, 22.20 和 23.11, 取平均值刺葡萄皮色素色价为 22.77。

2.3.3 酸度对葡萄皮色素稳定性的影响

不同酸度对葡萄皮色素稳定性的影响结果见图 1。

由图 1 可知, 葡萄皮色素溶液在 pH < 4 时呈紫红-红色, 颜色鲜艳; 在 pH 4 ~ 5 之间颜色逐渐变浅, 但仍为

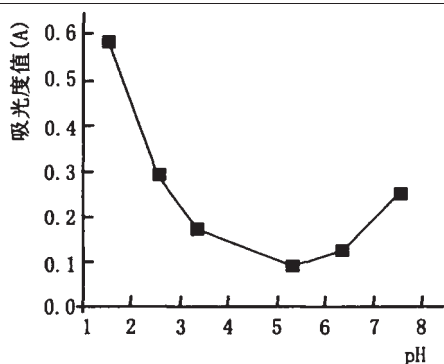


图1 酸度对葡萄皮色素稳定性的影响

较浅的粉红色,当 pH5.33 时,吸光度值最低; pH> 5.33 时,溶液颜色由浅粉变为浅黄,随着 pH 值的继续增加,颜色由浅黄色逐渐变为绿色,且吸光度值逐渐增大。可见,葡萄皮色素在酸性及弱酸性条件下较稳定,所以该色素适用于酸性及弱酸性条件。

2.3.4 氧化剂对葡萄皮色素稳定性的影响

氧化剂对葡萄皮色素稳定性的影响结果见图 2。

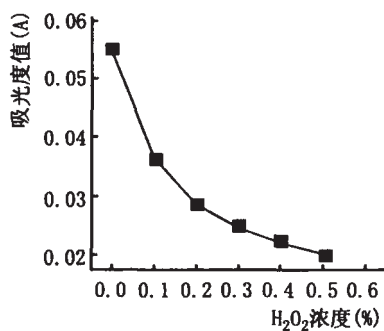


图2 氧化剂浓度对葡萄皮色素稳定性的影响

由图 2 可知,在葡萄皮色素溶液中加入氧化剂 H_2O_2 水溶液,对葡萄皮色素稳定性有较大的影响;随着加入的 H_2O_2 浓度的增加,溶液的吸光度值继续变小,所以葡萄皮色素在做食品添加剂和其他用途时应避免葡萄皮色素与强氧化剂的接触。

2.3.5 光照对葡萄皮色素稳定性的影响

光照对葡萄皮色素稳定性的影响结果见图 3。

由图 3 可知,在光照条件下色素溶液颜色没有明显变化,但吸光度随时间的增加略有减小;同时色素溶液出现了少量沉淀,可能是溶液中其他物质被空气氧化所致。故光照对色素稳定性的影响不大。

2.3.6 蔗糖对葡萄皮色素稳定性的影响

蔗糖对葡萄皮色素稳定性的影响结果见图 4。

由图 4 可见,在蔗糖存在下,葡萄皮色素溶液的吸光度变化不大(略有增加),当蔗糖浓度增大 5 倍时,色素吸光度仅增加 17%,故蔗糖对色素稳定性的影响不大。

2.3.7 抗坏血酸(Vc)对葡萄皮色素稳定性的影响

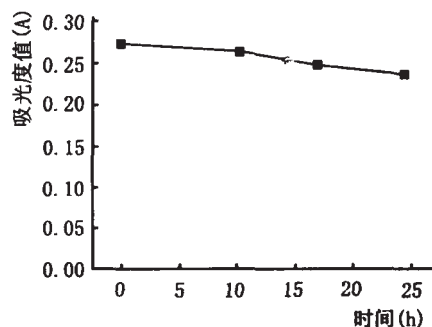


图3 光照对葡萄皮色素稳定性的影响

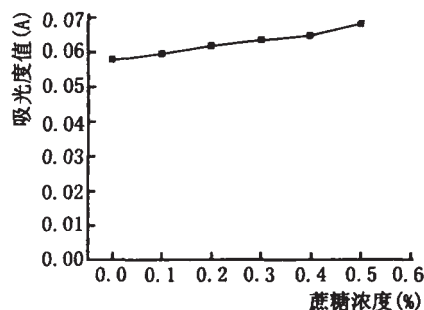


图4 蔗糖对葡萄皮色素稳定性的影响

抗坏血酸(Vc)对葡萄皮色素稳定性的影响结果见图 5。

图 5。

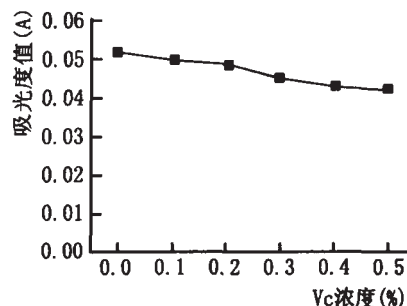


图5 Vc对葡萄皮色素稳定性的影响

由图 5 可知,Vc 的存在对葡萄皮色素溶液的吸光度影响也不大,当 Vc 浓度增大 5 倍时,色素吸光度仅降低 20%,故 Vc 对色素溶液稳定性的影响不大。

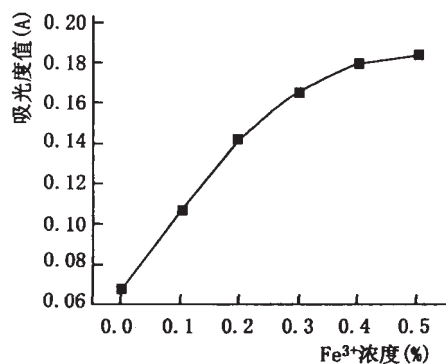
2.3.8 金属离子的影响

Fe^{3+} 对葡萄皮色素稳定性的影响结果见图 6。

由图 6 可知,在葡萄皮色素溶液中加入 Fe^{3+} 后,溶液颜色迅速由红色变为浅黄色;随着 Fe^{3+} 浓度的增大,色素溶液的颜色逐渐加深,且吸光度值也逐渐增大,说明葡萄皮色素对 Fe^{3+} 非常敏感,因此色素应尽量避免与铁制容器接触。

3 结论

3.1 单因子实验表明,用溶剂法从刺葡萄果皮中提取色素的最佳条件为:80%乙醇水溶液为提取剂,料液比为 1:5,在 80℃ 温度下提取 1.5 h,色素得率为 2.2%。

图6 Fe³⁺浓度对葡萄皮色素稳定性的影响

3.2 本方法以乙醇水溶液为提取剂,成本低廉,而且提取过程中没有加入任何毒害物质,所以安全性较高。

3.3 本方法提取所得刺葡萄皮色素,色价高、性质稳定、耐酸性、耐光性好,常温下不易变质;蔗糖及Vc对其稳定性影响较小,故可用于食品及化妆品的添加剂,具有较好的开发前景,是一种非常重要的天然色素。

参考文献:

- [1] 邱冬梅.葡萄酒酿酒副产物的开发应用[J].食品工业,2000,(3): 34-35.
- [2] 崔结.葡萄皮色素的提取及其性能测试[J].湖州师范学院学报,2000,22(3):46-47.
- [3] 郭金耀,杨晓玲.葡萄皮色素的提取及其性能研究[J].山西农业大学学报,1994,14(4):415.

- [4] Johanna Bakker and Colin F. Timberlake. The Distribution of Anthocyanins in Grape Skin Extracts of Port Wine Cultivar as Determined by High Performance Liquid Chromatography[J]. J. Sci. Food Agric, 1985, 36: 1315-1324.
- [5] Koki Yokotsuka, Akitoshi Nagao. Changes in Anthocyanins in Berry Skins of Merlot and Cabernet Sauvignon Grapes Grown in Two Soils Modified with Limestone or Oyster Shell Versus A native Soil over Two Yeast [J]. Am. J. Enol. Vitic, 1999, 50 (1): 1-12.
- [6] Emma Cantos, Juan Carlos Espin. Varietal Differences among the Polyphenol Profiles of Seven Table Grape Cultivars Studied by LC-DAD-MS-MS[J]. J. Agric. Food Chem., 2002, 50: 5691-5696.
- [7] Mazza G, Fukumoto, et al. Anthocyanins, Phenolics, and Color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir Wines from British Columbia[J]. J. Agric. Food Chem., 1999, 47: 4009-4017.
- [8] James A, Kenneddy, Andrew L. Waterhouse, et al. Effect of Maturity and Vine Water Status on Grape Skin and Wine Flavonoids[J]. Am. J. Enol. Vitic, 2002, 53(4): 268-274.
- [9] 吉宏武.葡萄酒厂下脚料的综合开发利用途径[J].食品研究与开发,2000,21(1):29-31.
- [10] 吉欣,毛立群,李霞,等.葡萄色素的提取及稳定性研究[J].化学研究,2004,15(1):48-52.
- [11] 王辉宪,姜晖霞,熊兴耀,等.葡萄籽油及原花青素研究与开发利用[J].果树学报,2005,22(5):542-547.

(上接第22页)

表4 选育酵母耐酒精能力的测定结果

项目	酒精(%Vol)					
	12	14	16	18	20	22
OD值	+	+	+	-	-	-

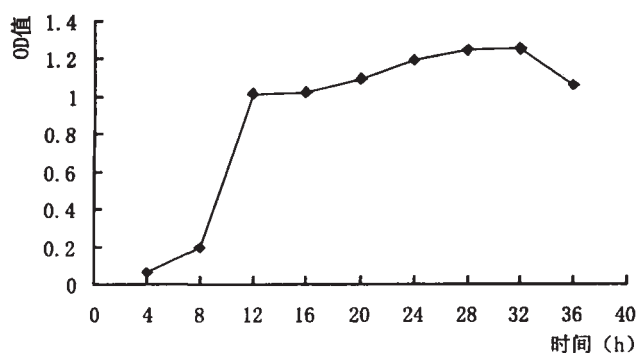


图5 选育酵母的生长曲线

前制作种子液,需要培养20h后才能接入发酵培养基。

3 结论

从柑橘自然发酵液中分离得到的酵母GJ-17,在柑

橘汁发酵中发酵能力强、产生酒度较高、残糖较低、产香较好,完全可以作为独立的发酵菌株使用。在柑橘汁中起酵较快,有利于避免染菌。该酵母的最适生长温度为28℃,最适pH生长范围为3.2~4.2。该菌耐酒精能力较高,可达到16%Vol。

参考文献:

- [1] 傅力,章运,郑灿龙.哈密瓜酒酵母的筛选及哈密瓜酒酿造工艺初探[J].食品工业科技,2004,25(12):40-41.
- [2] 李剑芳,张灏.发酵猕猴桃汁中产香酵母的分离、鉴定、及生长特性的研究[J].食品科学,2001,(9):19-22.
- [3] 胡亚平,李宗军,王燕,欧亦群.枸杞酒酵母菌的筛选及特性研究[J].湖南农业大学学报,2000,26(4):310-313.
- [4] 王强.沙棘酒优良酵母菌种的分离筛选及应用[J].莱阳农学院学报,1991,8(2):123-127.
- [5] 覃宇阳,黄宏慧.野生山葡萄酒酵母筛选及应用[J].广州轻工业,1999,(1):45-47.
- [6] 王丽威,岳田利,袁亚宏,彭帮柱,高振鹏.优良猕猴桃干酒酵母的筛选[J].食品与发酵工业,2004,30(4):86-87.
- [7] 沈萍,范秀容,李广武.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,2001.