

酶法提取长枣红色素及其稳定性的研究

吴素萍

(宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750021)

摘要: 研究了从长枣中酶解醇提红色素的工艺条件及色素的稳定性, 通过试验得最佳工艺参数为: 料水比 1:20 (m/V), 粉碎度 60 目, α -淀粉酶 (110000 U/g) 添加量为 1%, 酶解温度 50 °C, 酶解时间 40 min, 酶解 pH 6, 酶解液用 3 倍体积的 80%乙醇浸提, 此条件下长枣色素的得率为 9.85%。同时又对长枣色素的稳定性进行了初步探讨, 结果表明, 该色素除了在强氧化剂 H_2O_2 和碱性条件下中稳定性较差外, 在其他条件下均具有良好的稳定性。

关键词: 长枣色素; 酶解醇提; 稳定性

中图分类号: TS201.2; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)06-0567-05

Study on enzymolysis extraction of long jujube pigment and its stability

WU Su-ping

(College of agriculture, Ningxia university, Yinchuan 750021, China)

Abstract: This paper studied the technological processing and conditions of extraction of long jujube pigment from long jujube with methods of enzymolysis-alcohol extraction, By single-factor experiment and orthogonal experiment the optimal technological parameters is found as follows: material-water ratio 1:20, comminution degree 60 meshes, enzyme dosage 1%, enzymolysis temperature 50 °C, enzymolysis time 40 min, enzymolysis pH 6, ethanol extraction volume ratio 1:3. under these conditions the extraction rate of long jujube pigment is 9.85%. In the meantime, the stability of long jujube pigment is studied. The result shows that except in strong oxidizer H_2O_2 and alkali, it has good stability under other conditions.

Key words: Long jujube pigment, Enzymolysis-alcohol extraction, Stability

红枣为我国特产, 素有活性维生素丸之称, 属药食同源食物。据报道, 我国枣树栽培面积已达 65 万 hm^2 , 仅陕北红枣年产量约为 18 万吨。红枣色素是一种理想的天然色素资源, 其色泽鲜艳、含量丰富、安全无毒, 具有特定的药理药效功能, 可广泛用于食品、医药及化妆品着色, 具有广阔的开发应用前景^[1]。宁夏灵武长枣, 中国独有, 灵武特产^[2], 果个大、色美、品质优良, 果肉细而脆, 汁液丰富, 味甜略带酸, 含可溶性固形物 30.5%、糖 27.1%、酸 0.25%、Vc 3.90 g/kg、相当于苹果的 70~80 倍、柑橘的 7~10 倍, 可食率 95%^[3]。酶工程技术是近几年来用于天然植物有效成分提取的一项生物技术, 选用合适的酶可以较温和地将植物组织分解, 加速有效成分的释放, 从而提高提取率^[4]。本文采用酶法对宁夏灵武长枣红色素的提取条件进行了详细研究, 筛选出最优工艺参数。

1 材料和方法

1.1 实验材料

收稿日期: 2008-02-27

作者简介: 吴素萍 (1963-), 女, 副教授 从事粮油食品的教学和研究工作

宁夏灵武长枣: 市售; 乙醇: 市售; α -淀粉酶 (110000 U/g)、果胶酶 (3500 U/g)、纤维素酶 (10000 U/g): 宁夏夏盛酶制剂厂提供。

1.2 仪器与设备

分光光度计: 型号 7230; 组织捣碎机: 型号 DS-1, 上海标本模型厂制造; 电子天平: 上海精密科学仪器有限公司; 水浴锅: 北京长源实验设备厂; 干燥箱: 型号 Q/BKYY-1996, 上海跃进医疗器械; 酸度计。

1.3 实验方法

1.3.1 酶解-醇提长枣红色素工艺流程

长枣→烘干 (80 °C, 24 h) →去核粉碎 (60 目) →酶解 (50 °C, 40 min, 酶用量 1%, pH 6) →灭酶 (80 °C, 10 min) →醇提 (80%乙醇, 50 °C, 1 h) →过滤 (200 目) →蒸发浓缩 (50 °C, 原体积的 1/2) →成品红色素 (浸膏状)

1.3.2 长枣红色素得率的计算

色素得率 = (色素浓缩液质量 / 原料质量) × 100%

一定情况下吸光值越大, 物质浓度越大, 说明色素含量越多。因此本文将以吸光值作为衡量色素含量多少的指标。

2 结果与分析

2.1 最大波长的确定

将粉碎后过 40 目的枣粉称取 5 g, 加入 100 mL 蒸馏水后再加入 1.0% 淀粉酶, 在 40 °C、pH 6 的条件下酶解 60 min, 所得滤液用分光光度计在 320~420 nm 范围之内测定其吸光值 (如图 1 所示), 由图 1 得知, 该色素的最大吸收波长为 400 nm。

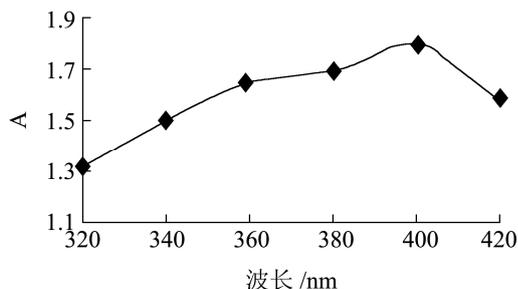


图 1 最大波长的确定

Fig.1 Absorption spectrum of long jujube pigment

2.2 不同酶对长枣红色素得率的影响

称取 40 目原料 5 g, 加入 100 mL 蒸馏水后再加入 1% 的不同的酶, 在 40 °C、pH 6 下酶解 60 min, 在波长为 400 nm 下测定吸光值, 确定最佳酶制剂, 结果如图 2 所示。由图 2 可知, 经过淀粉酶酶解的长枣吸光值最高, 因此确定酶制剂为淀粉酶。

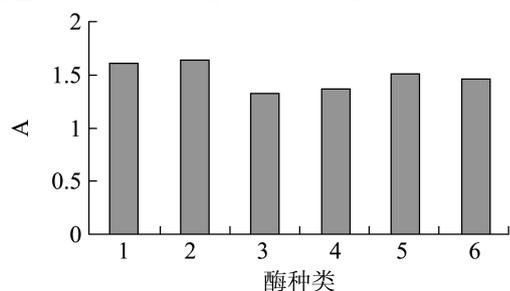


图 2 酶种类对长枣红色素得率的影响

Fig.2 Effect of enzymes on the extraction rate of red pigment of long jujube

注: 1-果胶酶, 2-淀粉酶, 3-纤维素酶, 4-果胶酶和纤维素酶 (m/m=1:1), 5-果胶酶和淀粉酶 (m/m=1:1), 6-纤维素酶和淀粉酶 (m/m=1:1)。

2.3 料水比对长枣红色素得率的影响

称取 40 目原料 5 g 分别以 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 的料水比加 50~250 mL 的蒸馏水, 添加 1.0% 淀粉酶, 在 40 °C、pH 6 的条件下酶解 60 min 后测定吸光值, 结果如图 3 所示。由图 3 可知, 随料水比的增大, 吸光值下降, 当料水比达到 1:20 时, 酶解提取液的吸光值增加至最大, 之后开始下降, 因为随着料水比的增加, 酶的浓度随之降低, 酶解反应速度也降低,

色素溶液的浓度降低^[4,5], 因此适宜的料液比为 1:20。

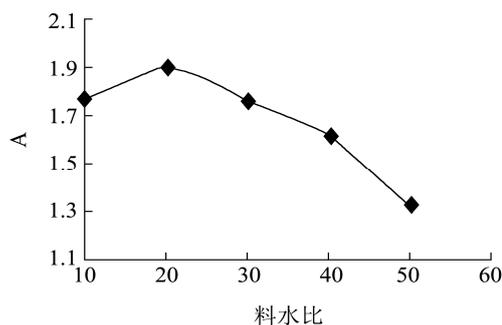


图 3 料水比对长枣红色素得率的影响

Fig.3 Effect of material-water ratio on extraction rate of red pigment of long jujube

2.4 粉碎度对长枣红色素得率的影响

将 20 目、30 目、40 目、50 目、60 目的原料各称取 5 g, 加入 100 mL 蒸馏水混合, 再加入 1.0% 的淀粉酶, 在 40 °C、pH 6 的条件下酶解 60 min 后测定吸光值, 结果如图 4 所示。图 4 表明随着原料粒径的变细, 浸提速度加快, 色素的吸光值逐渐增大, 但变化不大, 但是粒度太细, 影响溶质的传递速度, 易形成糊状, 使过滤变得困难^[1,6], 故选定原料粉碎度为 60 目。

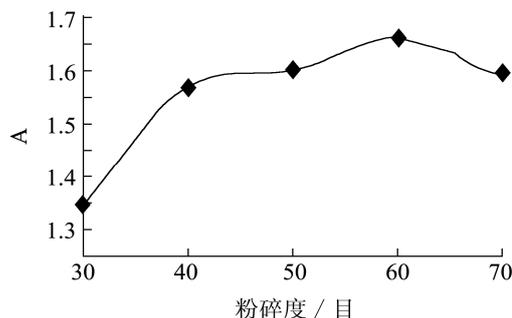


图 4 粉碎度对长枣红色素得率的影响

Fig.4 Effect of comminution degree on extraction rate of red pigment of long jujube

2.5 加酶量对长枣红色素得率的影响

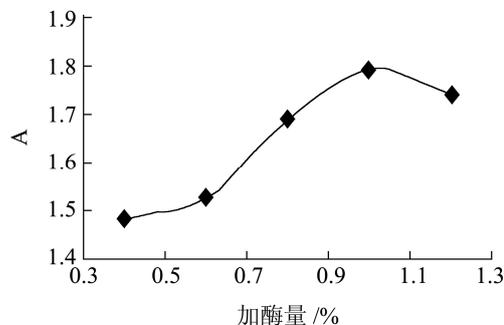


图 5 加酶量对长枣红色素得率的影响

Fig.5 Effect of enzyme dosage on extraction rate of red pigment of long jujube

称取 60 目的原料 5 g, 加入 100 mL 蒸馏水, 再

加入 0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2% 的淀粉酶，在 40 ℃、pH 6 的条件下酶解 60 min 后测定吸光值，结果如图 5 所示。

由图 5 可知，随着加酶量的增加，酶解反应速度也加快^[4]，当酶加量达到 1% 时，吸光值达到了最大，加酶量继续增加，吸光值不但没有增加反而有所降低，故选定 1.0% 的加酶量。

2.6 酶解温度对长枣红色素得率的影响

称取 60 目的原料 5 g，加入 100 mL 蒸馏水，再加入 1.0% 淀粉酶，在 20~60 ℃ 和 pH 6 的条件下酶解 60 min 后测定吸光值，结果如图 6 所示。图 6 可知，在酶解温度 20~50 ℃ 范围内，酶具有较好活性，提高了酶解反应速度，随着温度的升高吸光值明显增大，当温度达 50 ℃ 时酶解提取液的吸光值开始下降，这说明淀粉酶在 50 ℃ 时活性最大^[4]，适宜酶解温度为 50 ℃。

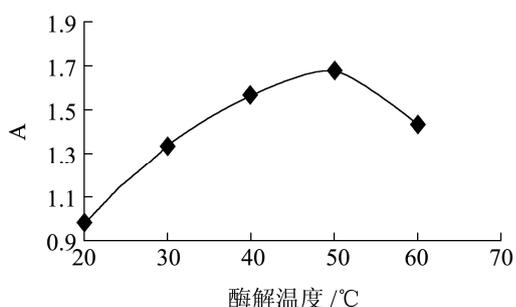


图 6 酶解温度对长枣红色素得率的影响

Fig.6 Effect of enzymolysis temperature on extraction rate of red pigment of long jujube

2.7 酶解时间对长枣红色素得率的影响

称取 60 目的原料 5 g，加入 100 mL 蒸馏水，再加 1.0% 淀粉酶，在 50 ℃、pH 6 的条件下酶解 20~100 min 后测定吸光值，结果如图 7 所示。图 7 表明，60 min 为最佳酶解时间，继续延长时间，吸光值反而下降，因为酶解产物浓度的增加抑制了水解过程^[7]。

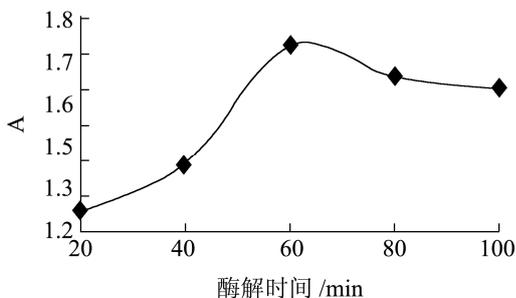


图 7 酶解时间对长枣红色素得率的影响

Fig.7 Effect of enzymolysis time on extraction rate of red pigment of long jujube

2.8 酶解 pH 值对长枣红色素得率的影响

称取 60 目的原料 5 g，加入 100 mL 蒸馏水后再加 1.0% 淀粉酶，在 50 ℃ 和 pH=3~7 的条件下酶解 60 min 后测定吸光值，结果如图 8 所示。

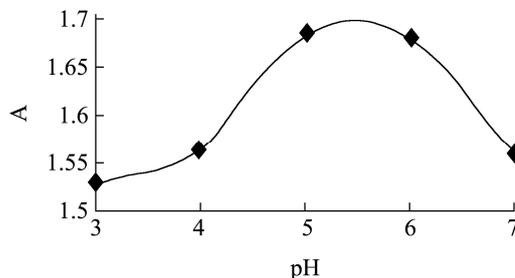


图 8 酶解 pH 对长枣红色素得率的影响

Fig.8 Effect of enzymolysis pH value on extraction rate of red pigment of long jujube

由图 8 表明当 pH 为 6 时，淀粉酶发挥最大活力。符合淀粉酶在 pH 6~7 时较稳定，pH 5~6 下失活严重的特性^[7]，故确定酶解 pH 为 6。

2.9 乙醇体积比对长枣红色素得率的影响

将粉碎后过 60 目的枣粉称取 5 g，加入 100 mL 蒸馏水后再加入 1.0% 淀粉酶，在 50 ℃、pH6 的条件下酶解 60 min 后，取 2 mL 酶解液以 2、3、4、5、6 的体积倍数分别加入 4~12 mL 的 80% 的乙醇溶液，50 ℃ 浸提 60 min 后测定吸光值（结果如图 9 所示）。如图 9 所示，当乙醇体积比为 1:3 时吸光值最大，之后乙醇体积比继续增加吸光值反而下降，这是因为较大的乙醇体积比降低了色素溶液的浓度^[6]。一般来说溶剂用量越大浸提率越高，但过大的体积比会造成溶剂和能源的浪费。长枣色素易溶于水和乙醇等极性有机溶剂，尽管水的成本低廉，以水作为提取剂或溶剂最为经济，但由于用水提取色素的同时还会使果实中的糖类、有机酸、果胶等杂质也同时会溶于色素液中，因此选用 80% 的乙醇较好^[8]。

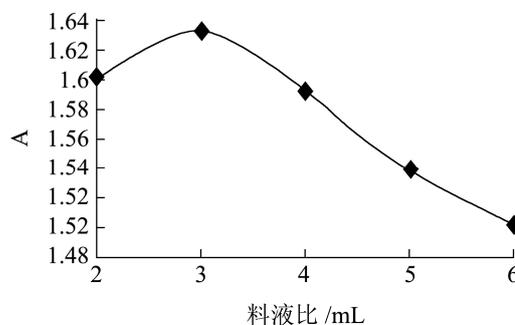


图 9 乙醇体积比对长枣红色素得率的影响

Fig.9 Effect of ethanol volume on extraction rate of red pigment of long jujube

3 淀粉酶酶解工艺参数正交实验

在单因素实验的基础上选取酶解温度、酶解时间、酶解 pH、加酶量四个主要的影响因素,以色素的吸光值为指标进行 $L_9(4^3)$ 正交实验,因素水平见表 1,结果见表 2。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test for enzymatic extraction of red pigment of long jujube

水平	A(酶解温度 /°C)	B(酶解时间/min)	C(酶解 pH)	D(加酶量 /%)
1	40	40	4	0.8%
2	50	60	5	1.0%
3	60	80	6	1.2%

表 2 正交实验设计及正交实验极差分析结果

Table 2 Variance analysis of the orthogonal test

实验号	A	B	C	D	吸光值
1	1	1	1	1	1.301
2	1	2	2	2	1.523
3	1	3	3	3	1.199
4	2	1	2	3	1.809
5	2	2	3	1	1.635
6	2	3	1	2	1.744
7	3	1	3	2	1.824
8	3	2	1	3	1.569
9	3	3	2	1	1.438
K_1	4.523	4.934	4.614	4.374	
K_2	5.188	4.727	4.770	5.091	
K_3	4.831	4.381	4.658	4.577	
k_1	1.508	1.645	1.538	1.458	
k_2	1.729	1.576	1.590	1.697	
k_3	1.610	1.460	1.553	1.526	
R	0.221	0.185	0.052	0.239	

表 2 可知对长枣红色素提取率影响因素的主次顺序为加酶量(D) > 酶解温度(A) > 酶解时间(B) > 酶解 pH(C), 最佳参数组合 $A_2B_1C_2D_2$, 即酶解温度 50 °C, 酶解时间 40 min, 酶解 pH 6, 加酶量为 1%。此条件下长枣红色素得率为 9.85%, 色素呈橙红色, 浸膏状。

4 长枣红色素稳定性的研究

4.1 光、还原剂、氧化剂对长枣红色素稳定性的影响

取 15 mL 长枣红色素稀释溶液 1 支, 在自然光下照射 0~120 h 后在波长 400 nm 下测定吸光值并观察溶液颜色的变化。取 15 mL 长枣红色素稀释溶液 2 支,

分别加入 30%的 Na_2SO_3 和 30%的 H_2O_2 在室温下放置 0~120 h 后在波长 400 nm 下测定吸光值, 结果如图 10。由图 10 可知, 在自然光照射下红色素的颜色无明显的变化, 吸光值随光照时间的延长而呈下降趋势, 但下降速度很慢, 说明长枣红色素对光有良好的稳定性^[9]。还原剂对色素溶液具有一定的增色作用, 且色素被还原后吸光值随时间的变化很小, 色素颜色基本保持稳定, 说明长枣红色素的还原稳定性较强。加入氧化剂吸光值随时间显著下降, 而且颜色明显变浅, 说明该色素耐氧化性较差, 应用时要避免加入氧化剂^[9]。

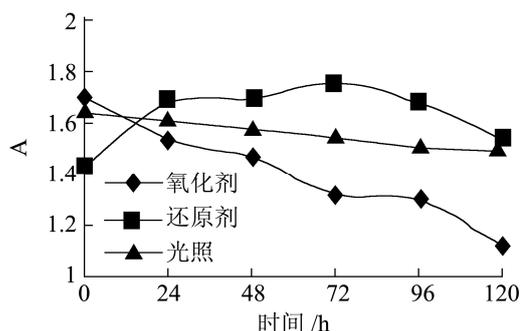


图 10 光照、还原剂、氧化剂对长枣红色素稳定性的影响

Fig.10 Effect of light, oxidizer and reducer on the stability of red pigment of long jujube

4.2 pH 对长枣红色素稳定性的影响

配制 15 mL 的 pH 3、pH 4、pH 5、pH 6、pH 7 的长枣色素稀释液 5 支, 放置 24 h 后在波长为 400 nm 测定其吸光值 (如图 11)。由图 11 可知, 色素溶液的吸光值随 pH 值的增加而下降, 在 $pH \leq 6$ 酸性条件下稳定存在, 在 $pH \geq 7$ 碱性环境下不能稳定存在^[8-9], 说明长枣红枣色素对酸稳定, 对碱不稳定。

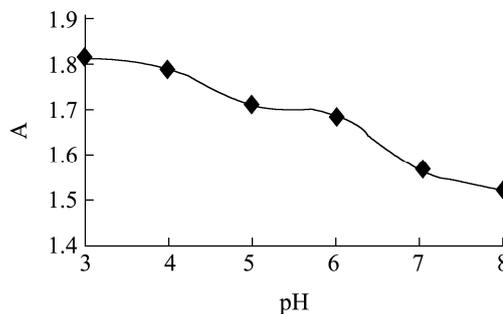


图 11 pH 对长枣红色素稳定性的影响

Fig.11 pH stability of red pigment of long jujube

4.3 温度对长枣红色素稳定性的影响

配制 15 mL 的长枣色素稀释液 5 支, 分别放在 20~100 °C 的条件下放置 24 h 后, 在波长为 400 nm 处测定吸光值, 结果如图 12。

(下转第 566 页)