

南瓜中色素的提取及微胶囊色素的制备

张寒冰^{1,2}, 张筠¹, 付红岩¹, 韩广源³

(1. 黑龙江东方学院, 黑龙江哈尔滨 150001) (2. 黑龙江民族职业学院, 黑龙江哈尔滨 150066)

(3. 黑龙江出入境检验检疫局, 黑龙江哈尔滨 150001)

摘要: 本论文在提取了南瓜中天然黄色素之后, 对其进行包埋。确定了最佳的提取条件为, 在紫外可见分光光度计的吸收波长为 446 nm 时, 以 95% 的无水乙醇为浸提剂, 提取温度 70 °C, 料液比 1:1, 提取时间 5 h。之后用辛烯基琥珀酸淀粉酯和乳清分离蛋白做为壁材对南瓜黄色素进行包埋, 确定最佳包埋条件为芯壁比 1:20、壁材比(辛烯基琥珀酸淀粉酯:乳清分离蛋白) 2:1、水浴温度 75 °C、保温时间 40min、溶液 pH 值为 4.75。并得包埋率为 96.24%。

关键词: 南瓜黄色素; 提取; 包埋; 微胶囊

文章编号: 1673-9078(2013)2-319-323

Study on Microcapsule Preparation of Yellow Pigment from Pumpkin

ZHANG Han-bin, ZHANG Jun, FU Hong-yan, HAN Guang-yuan

(1. Heilongjiang East College, Harbin 150001, China) (2. Heilongjiang National Career Academy, Harbin 150066, China)

(3. Hei long-jiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Harbin 150001, China)

Abstract: The pumpkin yellow pigment was extracted and embedded. The best extraction condition were that the absorption wavelength 446nm by using Ultraviolet-visible spectrophotometer, extraction solvent 95% alcohol, the extraction temperature 70 °C, the proportion of pumpkin and alcohol 1:1, and the extraction time 5 h. The best embedding conditions were the proportion of core material and exterior 1:20, the proportion of octenyl succinic starch ester and whey isolated protein 2:1, water bath temperature 75 °C, the holding time 40min, and the pH value 4.75, under which the embedded rate was 96.24%.

Key words: pumpkin yellow pigment; extraction; embedding; microcapsule

食用色素按来源可分为天然色素和人造色素两大类。天然色素作为食品着色剂, 不仅安全性较高而且对人及动植物的生长、发育有着重要的生理意义。近年来, 随着研究的持续深入, 南瓜的一些医疗保健功能被陆续揭示出来, 引起许多专家学者的关注。南瓜高 Ca、高 K、低 Na 的特点, 特别适合中老年人和高血压患者, 有利于预防骨质疏松和高血压。因此, 南瓜黄色素不仅安全可靠而且还有食疗和药用价值。所以南瓜黄色素具有极大的市场潜力。

南瓜黄色素光稳定性较差, 长时间光照会使色素降解; 氧化剂和还原剂都对其有显著影响; 酸碱稳定性较好, 但不宜用于强酸环境; 常用食品添加剂对南瓜黄色素影响不大; Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 使色素溶液颜色加深, Cu^{2+} 使色素溶液变为黄绿色。南瓜黄色素面临的问题是在加工、储存和使用稳定性较差。故本研究采用微胶囊技术来改善天然色素的缺点。

收稿日期: 2012-09-19

基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(11553076)

作者简介: 张寒冰(1980-), 女, 博士在读, 主要研究方向为食品化学;

韩广源(1980-), 男, 本科, 主要从事检测工作

微胶囊技术是一种将成膜材料(常选用热塑性高分子材料)作为壳物质, 用固体、液体或气体为芯物质包覆成核壳形态结构的胶囊, 壳的厚度为 0.2~10 μm 。由于此项技术可以改变物质形态、保护敏感成分、隔离活性物质、降低挥发性、使不相溶成分混合并降低某些化学添加剂的毒性等, 为食品工业高新技术的开发展现了良好的前景。微胶囊化技术已经被广泛应用于食品工业中, 用于维生素、矿物质以及其他敏感组分的包埋, 可以保护其免受外围环境的影响。微胶囊南瓜黄色素可以提高它对 pH 值、光照、热等的稳定性, 且不易被氧化, 可以很好地延长其保质期。因而, 对微胶囊南瓜黄色素的制备具有很重要的研究意义和实际应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

721 型分光光度计、无水乙醇、辛烯基琥珀酸淀粉酯、乳清分离蛋白、南瓜。

1.2 方法

1.2.1 南瓜黄色素的提取

1.2.1.1 南瓜黄色素最大吸收波长的确定

新鲜南瓜洗净,去皮,擦丝。称取丝状南瓜 10.00 g (南瓜含水量为 90.31%),放入锥形瓶中,加入 100 mL 95% 的乙醇,调节溶液 pH 值为 6.0,然后将锥形瓶浸泡于 60 °C 恒温水浴锅内,3 h 后取出;过滤、离心、蒸馏浓缩得色素浸膏。50 °C 干燥至恒重后取 0.50 g 南瓜黄色素浸膏溶于 100 mL 95% 的乙醇中配成 0.5% (m/V) 的色素液为待测液,用可见分光光度计测定其在 400~500 nm (每隔 20 nm 测一个值,测三次取平均值)的吸光度,确定其最大吸收波长。用 95% 的无水乙醇作空白。

1.2.1.2 最佳浸提剂的确定

称取 5 份碎状的南瓜,每份 5.00 g,在其它条件相同的情况下,分别加入等量的不同浸提剂:氯仿、丙酮、无水乙醇、石油醚、水。得到的滤液离心稀释到相同倍数后,在最大吸收波长下测其吸光度。

1.2.1.3 最佳提取条件的确定

以提取时间、提取温度、料液比、乙醇浓度作为因素,以南瓜色素的吸光值(浸提液离心稀释到 250 mL 后,在最大吸收波长下测得的吸光度)为指标进行四因素三水平正交试验,以确定最佳提取条件。

1.2.2 微胶囊南瓜黄色素包埋单因素的确定

1.2.2.1 芯壁比对包埋的影响

取辛酸基琥珀酸淀粉酯钠 4.013 g,加入 20 mL 水,加入盐酸(体积比为 1:5) 2~3 滴,促进其溶解,加入 4.019 g 乳清蛋白溶解后,待用。取 0.260 g 南瓜黄色素,加入 1 mL 无水乙醇,加入 9 mL 蒸馏水,溶解待用。配制成芯壁比为 1:10、1:20、1:30 和 1:40 的溶液,水浴 60 °C 保温 30 min,促进包埋。冷却至室温,定容、过滤,在 446 nm 下测定滤液的吸光值。

1.2.2.2 壁材比对包埋的影响

取上述辛酸基琥珀酸淀粉酯钠、乳清分离蛋白溶液配制成体积比为 1:1、1:2、2:1、2:3 和 3:7 的溶液。分别与南瓜黄色素溶液混合,水浴 60 °C 保温 30 min,促进包埋。冷却至室温,定容、过滤,在 446 nm 下测定滤液的吸光值。

1.2.2.3 水浴温度对包埋的影响

将包埋后的南瓜黄色素分别在水浴 50、60、70、80、90 °C 下,保温 30 min,促进包埋。冷却至室温,定容、过滤,在 446 nm 下测定滤液的吸光值。

1.2.2.4 保温时间对包埋的影响

将包埋后的南瓜黄色素 60 °C 水浴,分别保温 10、20、30、40、50 min,促进包埋。冷却至室温,定容、过滤,在 446 nm 下测定滤液的吸光值。

1.2.2.5 pH 值对包埋的影响

将包埋后的南瓜黄色素用氢氧化钠调节 pH 值,分别达到 4.25、4.57、4.91、5.68、7.86。60 °C 下水浴,保温 30 min,促进包埋。冷却至室温,定容、过滤,在 446 nm 下测定滤液的吸光值。

1.2.3 正交试验

以上述温度、时间、pH 值为因素,吸光值(浸提液离心稀释到 250 mL 后,在最大吸收波长下测得的吸光度)为指标进行三因素三水平实验。

1.2.4 微胶囊南瓜黄色素包埋率的测定

1.2.4.1 冷冻干燥

包埋好的微胶囊溶液,定量转移至表面皿中进行冷冻干燥。30 h 后取出,准确称量微胶囊粉末质量,记录结果。

1.2.4.2 标准曲线的绘制

称取黄南瓜黄色素 0.045 g,加 1 mL 无水乙醇溶解,加蒸馏水定容至 50 mL 容量瓶,制成标准储备液;分别取 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL 标准储备液,加蒸馏水定容到 10 mL,混匀备用;取 1 mL 无水乙醇,用蒸馏水定容到 50 mL 容量瓶中做空白,于 446 nm 处测定上述六样品吸光值。绘制标准曲线。

1.2.4.3 包埋率计算

$$\text{包埋率}(\%) = \frac{\text{微胶囊产品中所含的南瓜黄色素量}}{\text{加入的南瓜黄色素总量}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 南瓜黄色素提取条件的确定

2.1.1 南瓜黄色素最大吸收波长的确定

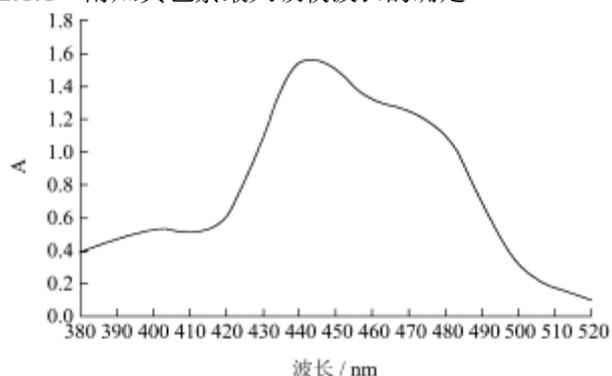


图 1 南瓜黄色素的吸收光谱

Fig.1 Absorption spectrum of pumpkin yellow pigment

由图 1 可知,南瓜黄色素在 440 nm~450 nm 波长下吸光度最大。因此,选定 446 nm 作为测定吸光度的最佳波长。

2.1.2 最佳浸提剂的确定

南瓜在氯仿、丙酮、无水乙醇、石油醚、水五种浸提剂的浸提结果如表 1。

表 1 不同浸提剂下的吸光值

Table 1 Absorbance of the extracts using different extract

regants					
浸提剂	氯仿	丙酮	无水乙醇	石油醚	水
吸光值	0.27	0.695	0.845	0.255	0.02

由表 1 可知, 氯仿与石油醚浸提效果均较差, 不宜作为浸提剂。而丙酮的浸提效果虽然不错, 但其具有一定毒性, 且价格比乙醇贵。因此选择提取效果较好、较经济的无水乙醇作为最佳浸提剂。

2.1.3 最佳提取条件的确定

按照表 2 进行四因素三水平试验, 试验结果如表 3 所示。

表2 提取南瓜黄色素的因素水平表

Table 2 Factor combinations in extracting pumpkin yellow

pigment				
水平	A (浸提温度/°C)	B (浸提时间/h)	C (料液比/g:mL)	D (乙醇浓度/%)
1	60	4	1:08	90
2	65	5	1:10	95
3	70	6	1:12	100

表3 提取南瓜黄色素的正交试验表

Table 3 The orthogonal experiments in extracting pumpkin

yellow pigment					
序号	A	B	C	D	吸光度
1	1	1	1	1	0.693
2	1	2	2	2	0.705
3	1	3	3	3	0.723
4	2	1	2	3	0.595
5	2	2	3	1	0.642
6	2	3	1	2	0.743
7	3	1	3	2	0.748
8	3	2	1	3	0.756
9	3	3	2	1	0.733
K ₁	2.121	2.038	2.192	2.068	
K ₂	1.98	2.103	2.033	2.196	
K ₃	2.237	2.199	2.113	2.074	
k ₁	0.707	0.679	0.731	0.689	
k ₂	0.66	0.701	0.678	0.732	
k ₃	0.746	0.733	0.704	0.691	
R	0.086	0.054	0.053	0.043	

由表 3 中的 R 值可以看出浸提温度对南瓜色素的影响最大, 其次是浸提时间, 再次是料液比, 最后是乙醇浓度。由数据分析可知, 南瓜色素提取的最佳工艺条件为: 以 95% 无水乙醇作为浸提剂, 提取温度为 70 °C, 料液比为 1:10, 提取时间为 5 h。

2.2 包埋微胶囊南瓜黄色素最佳单因素的确定

2.2.1 确定最佳芯壁比

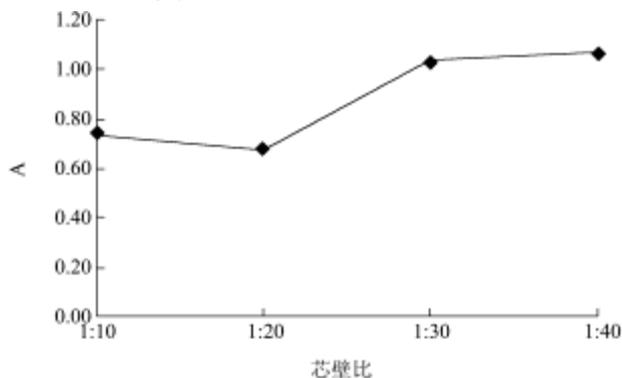


图 2 不同芯壁比下滤液的吸光值

Fig.2 Absorbance of filtrates with different proportions of core and exterior

如图 2 所示, 随着芯壁比值的减小吸光值增大。开始时壁材比例较小, 不能完全包埋色素, 致使包埋率较低, 使得滤液中剩余色素较多, 吸光值较大; 比例增加, 当达到芯壁比为 1:20 时, 剩余色素最少, 包埋率最高; 壁材比继续增加, 当达到 1:30 和 1:40 时, 彼此间争夺色素, 使包埋后色素不稳定, 在过滤后不稳定色素滤出, 使测定的吸光值增大, 包埋率降低, 包埋率达到较低后趋于稳定。故芯壁比为 1:20 时, 吸光值最小, 包埋率最高。

2.2.2 确定最佳壁材比

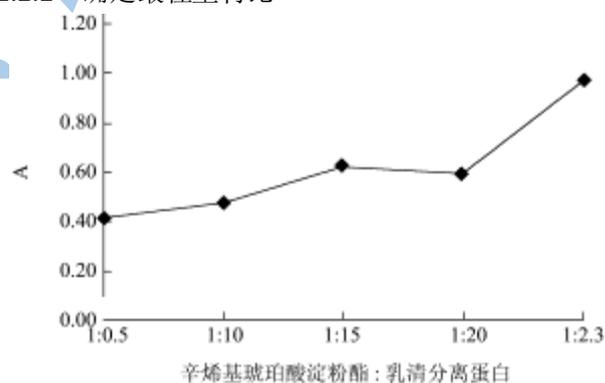


图 3 不同壁材比下滤液的吸光值

Fig.3 Absorbance of filtrates using different proportions of exterior materials

如图 3 所示, 因辛烯基琥珀酸淀粉酯钠在微胶囊成型过程起着决定性作用, 添加少量乳清分离蛋白对微胶囊包埋效果起到促进作用, 而当乳清分离蛋白比例逐渐增大, 乳清分离蛋白在第二次固定微胶囊色素时, 产生竞争, 使色素只被乳清分离蛋白包埋, 因其不稳定, 使部分色素处于未包埋状态, 微胶囊形成效果较差, 故辛烯基琥珀酸淀粉酯钠和乳清分离蛋白比例为 1:0.5 时, 吸光值最小, 被包埋色素最多, 包埋效果最好。

2.2.3 确定最佳水浴温度

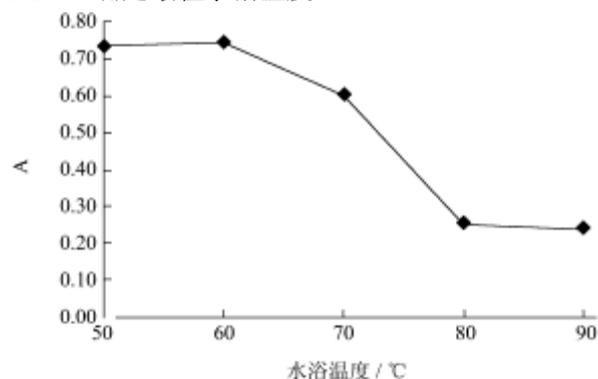


图4 不同水浴温度下滤液的吸光值

Fig.4 Absorbance of filtrates in using different bath temperatures

如图4所示,随着温度的升高,吸光值先增大后减小,最后趋于稳定。当温度在50~60℃时,辛烯基琥珀酸淀粉酯钠和乳清分离蛋白均未被完全活化,大大影响包埋效果,吸光值较大;60~80℃时,包埋效果逐渐变好,乳清蛋白变性温度为77~88℃;80℃效果最好后趋于平稳;选取60~80℃进行进一步研究,确定出最好的水浴锅温度。

2.2.4 确定最佳保温时间

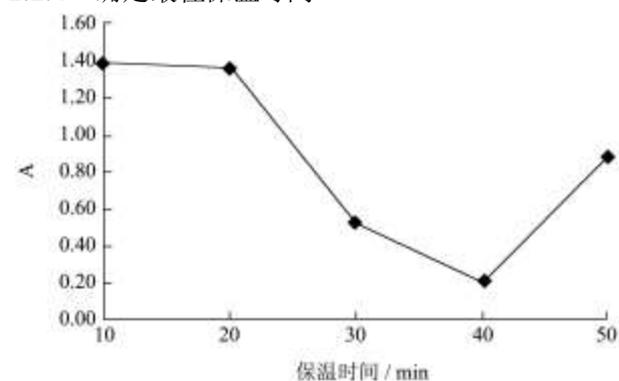


图5 不同保温时间下滤液的吸光值

Fig.5 Absorbance of filtrates in using different holding time

如图5所示,随着保温时间增长,包埋效果先增大后减小。当保温10 min时,时间过短,包埋刚开始,被包埋色素极少;20~40 min时,辛烯基琥珀酸淀粉酯钠起到增稠剂的作用,包埋逐渐加快,包埋率逐渐增大,40 min时吸光值最小,效果最好;随着时间延长乳清蛋白长时间加热变性,包埋效果减小,故本试验对保温时间30~40min进一步研究,确定出最好的保温时间。

2.2.5 确定最佳pH值

如图6所示,吸光值在pH 4.25~4.91时都较小,包埋率高;随着pH值的增高,pH=5之后,吸光值急速上升,包埋率下降;当pH值偏中性时,吸光值趋于稳定。有研究表明:95%蛋白质含量的乳清分离蛋

白的变性在pH 4.8~5.3,本试验乳清分离蛋白的浓度在90%,pH 4.5时吸光值达到最低,包埋效果最好,故本试验考虑pH 4.25~4.75时进一步研究,确定最佳pH值。

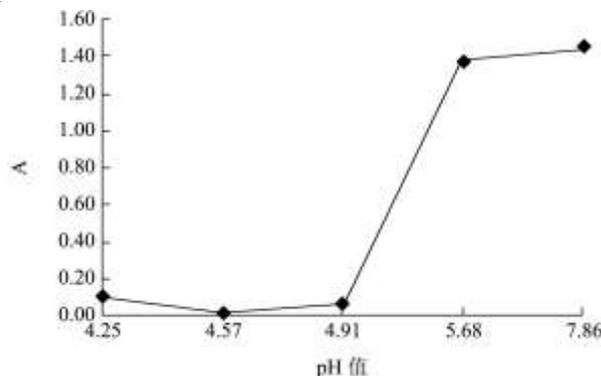


图6 不同pH值下滤液的吸光值

Fig.6 Absorbance of filtrates in using different pH values

2.3 包埋微胶囊南瓜黄色素最佳复合因素的确定
按照表4表进行三因素三水平正交试验,实验结果如表5和6所示。

表4 南瓜黄色素包埋条件的因素水平表

Table 4 Factor combinations in embedding pumpkin yellow pigment

水平	A (温度/°C)	B (时间/min)	C (pH 值)
1	65	30	4.5
2	70	35	4.75
3	75	40	5

表5 包埋南瓜黄色素的正交试验表

Table 5 The orthogonal experiments in embedding pumpkin yellow pigment

编号	yellow pigment			空列	吸光值	包埋率/%
	A	B	C			
1	1	1	1	1	0.025	99.51
2	1	2	2	2	0.034	99.27
3	1	3	3	3	0.124	96.92
4	2	1	2	3	0.044	99.01
5	2	2	3	1	0.53	86.33
6	2	3	1	2	0.141	96.48
7	3	1	3	2	0.113	97.21
8	3	2	1	3	0.024	99.53
9	3	3	2	1	0.037	99.19

由表6可以看出,因素A(温度)对实验指标影响显著,因素B(时间)影响不显著,因素C(pH值)的影响高度显著。

对因素C、A分析,确定最优水平为C₂、A₃;因素B的水平对实验结果几乎无影响,从单因素实验结果考虑,40℃时,吸光值最小,包埋率最大,故选B₃。最优条件组合为A₃B₃C₂,即pH值为4.75,温度

为 75 °C，保温时间为 40 min。

表6 包埋南瓜黄色素的正交试验方差分析表

Table 6 Analysis of variance of orthogonal experiments in embedding pumpkin yellow pigment

方差来源	偏差平方和	自由度	方差	F 值	临界值 Fa	显著性
A	43.53	2	21.76	2.20	F _{0.05(2,4)} =6.94	**
B	19.77	2	9.88	1.00	F _{0.01(2,4)} =18.00	
C	57.77	2	28.88	2.92		***
误差 e	19.77	2	9.88			
总和	140.84	8				

2.4 微胶囊南瓜黄色素包埋率的确定

通过南瓜黄色素的浓度与吸光值的关系汇出如图 7 的标准曲线。

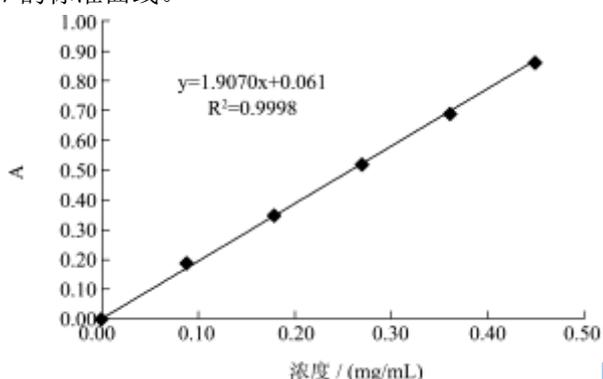


图7 南瓜黄色素标准曲线

Fig.7 Standard curve of pumpkin yellow pigment

称量微胶囊样品 3.022 g，平行四个样品，得到吸光值平均值为 0.134，由图 7 计算出未包埋南瓜黄色素的质量为 0.00671 g，由包埋率公式计算得，微胶囊南瓜黄色素的包埋率为 96.24%。

3 结论

3.1 南瓜中的黄色素最好在 446 nm 下，以无水乙醇作为浸提剂来提取。

3.2 通过三因素四水平正交试验，得到提取南瓜黄

色素的最佳条件为：浸提剂无水乙醇浓度为 95%，提取温度 70 °C，料液比为 1:1，提取时间 5 h。

3.3 经过单因素试验确定了微胶囊的最佳单因素水平。分别为芯壁比为 1:20、壁材比（辛烯基琥珀酸淀粉酯钠：乳清分离蛋白）2:1、最佳水浴锅温度 60~80 °C、最佳保温时间为 30~40 min 和最佳溶液 pH 值为 4.5~5。

3.4 通过三因素三水平正交试验，得到最佳包埋条件为微胶囊溶液 pH 值 4.75、水浴温度 75 °C、保温 40 min。并采用冷冻干燥法将微胶囊南瓜黄色素溶液制成粉状。

3.5 测得微胶囊南瓜黄色素包埋率为 96.24%。

参考文献

- [1] 刘玲玲,何俊,韩锋,刘艳凯.南瓜黄色素提取及稳定性研究[J].广东农业科学,2010(1):92-95
- [2] 刘福斌,张根生,刘广,等.微胶囊化玉米胚芽油粉的研制[J].现代食品科技.2011(2)
- [3] 薛秀梅,张燕萍.不同原料制备的酶解辛烯基琥珀酸淀粉酯作微胶囊壁材的性质比较[J].食品工业科技,2007,1:102-104
- [4] 张丹凤.乳清蛋白的营养价值及其应用[J].新疆畜牧业,2006,31:28-30
- [5] 朱晓丽,刘力娜,张志国,顾相伶,廉洁,孔祥正.乳清蛋白/阿拉伯胶复凝聚法制备载乙酸油酯微胶囊及其表征[J].高分子学报.2009(10):1062-1068
- [6] 王煜,张玉凤,章慧,陆兆新.微胶囊化提高姜黄色素稳定性的研究[J].食品工业科技.2007(11):193-195
- [7] 李志西,杜双奎.试验优化设计与统计分析[M].科学出版社[M].2010
- [8] 蔡涛,王丹,宋志祥,余万能.微胶囊的制备技术及其国内应用进展[J].化学推进剂与高分子材料.2010,2:20-26
- [9] 姚翹,陶宁萍,王锡昌.喷雾干燥法制取油脂微胶囊技术研究进展[J].现代食品科技,2007,23(12):85-89