

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2016.04.007

文章编号:2095-6002(2016)04-0039-05

引用格式:玛尔孜娅·阿不力米提,买买提明·苏来曼,尤努斯江·吐拉洪,等. 苋菜红色素的提取及其生物活性研究[J]. 食品科学技术学报,2016,34(4):39-43.



Marziya Ablimit, Mamtimin Sulayman, Yunusjan Turahun, et al. Extraction and biological activity of red pigment from *Amaranthus spinosus* L. [J]. Journal of Food Science and Technology, 2016,34(4):39-43.

苋菜红色素的提取及其生物活性研究

玛尔孜娅·阿不力米提¹, 买买提明·苏来曼¹, 尤努斯江·吐拉洪^{2,*},
努尔克孜·吐达洪³

(1. 新疆大学 生命科学与技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830046; 2. 新疆大学 化学化工学院,
新疆 乌鲁木齐 830046; 3. 新疆伊犁州中心血站, 新疆 伊宁 835000)

摘要:为优化苋菜中提取红色素的工艺,评价其体外抗氧化活性,以吸光度为指标,采用单因素实验确定提取条件,并测试其还原力及对羟自由基($\cdot\text{OH}$)、DPPH 自由基(DPPH \cdot)的清除能力。苋菜红色素的提取条件为用30倍量体积分数20%乙醇于温度40℃提取2次,每次1h;苋菜红色素对 $\cdot\text{OH}$ 、DPPH \cdot 的半抑制质量浓度(IC_{50})分别为0.44 mg/mL和0.14 mg/mL,还原力约为 V_c 的1/4。结果表明:苋菜红色素具有一定的抗氧化活性,且存在明显的量效关系。

关键词:苋菜; 红色素; 提取; 抗氧化活性

中图分类号: TS202.3; TS225.1

文献标志码: A

苋菜(*Amaranthus spinosus* L.)为苋科苋属一年生草本植物,全国均有分布^[1]。苋菜按其叶片颜色的不同,可以分为红苋、绿苋和彩苋3种类型,其中红苋菜叶呈紫红色,茎内部呈红色,富有红色素,是一种良好的提取天然红色素的原材料。苋菜茎、叶片中苋菜红色素(*Amaranthus* red pigment)的含量很高,颜色鲜艳,稳定性好,常用于食品着色,还具有一定的营养功能和药用价值^[2],能镇痛、退烧、止泻、利尿、促消化^[3]。由于苋菜分布广泛、价格便宜,所以苋菜红色素作为食品绿色添加剂具有广阔的开发和利用前景^[4]。

近年来,人们对苋菜红色素的提取工艺和稳定性进行了很多研究^[5-7],但是对苋菜色素抗氧化活性的研究很少。本研究采用回流法提取苋菜中的红色素,测量其生物活性,以便为苋菜的深加工及开发应用提供相关的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红苋菜采于伊宁县,样品采集地上部分,自然晾干后粉碎成粉末保存于棕色瓶并置于阴凉处。2,2-二苯基-1-苦味酰基自由基(DPPH \cdot)为美国Sigma公司产品。乙醇、邻二氮菲、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、硫酸亚铁、双氧水、抗坏血酸、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁等试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

723型可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;电热恒温水浴锅,北京西城区医疗器械厂;RE-52型旋转式蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;TDL-4型台式离心机,上海安亭科学仪器厂;SHB-III型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司。

收稿日期:2015-11-23

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31460048);深圳市南亚热带植物多样性重点实验室开放课题(SSTLAB-2014-02)。

作者简介:玛尔孜娅·阿不力米提,女,硕士研究生,研究方向为植物资源研究;

*尤努斯江·吐拉洪,男,副教授,主要从事天然产物活性成分方面的研究。通信作者。

1.3 苋菜红色素提取溶液的制备

1.3.1 苋菜红色素提取的工艺流程

苋菜→晾干→粉碎→称重→体积分数20%乙醇溶液浸提→过滤→浸提液真空浓缩→干燥→红苋菜色素浸膏。

1.3.2 苋菜红色素提取条件的确定

1) 提取剂浓度的选择: 称取多份1.00 g红苋菜粉末, 分别置于50 mL的水中, 用体积分数10%, 20%, 40%, 60%, 80%的乙醇和无水乙醇浸泡1 h, 把各提取液稀释至等体积, 对波长进行扫描, 获得吸收曲线。

2) 提取温度的选择: 称取多份1.00 g苋菜粉末, 分别置于具塞锥形瓶中, 加入蒸馏水30 mL, 在室温以及30, 40, 50, 60, 70, 80, 100 °C的温度下回流1 h, 冷却, 过滤, 把各提取液稀释至等体积, 以蒸馏水为参比液, 在532 nm波长处测定吸光度, 重复测定3次。

3) 提取剂用量的选择: 称取多份1.00 g苋菜粉末, 分别置于具塞锥形瓶中, 加入10, 20, 30, 40, 50, 60 mL体积分数20%乙醇, 在40 °C下回流1 h, 冷却, 过滤, 取滤液稀释至相同体积, 以蒸馏水为参比液, 在532 nm波长处测定吸光度, 重复测定3次, 确定最佳料液比。

4) 提取时间的选择: 称取多份1.00 g苋菜粉末, 分别置于具塞锥形瓶中, 加入20%乙醇30 mL, 在40 °C下分别回流30, 60, 90, 120 min, 冷却, 过滤, 把各提取液稀释至等体积, 以蒸馏水为参比液, 在532 nm波长处测定吸光度, 重复测定3次。

5) 提取次数的选择: 称取1.00 g苋菜粉末置于具塞锥形瓶中, 加20%乙醇30 mL, 在40 °C下回流1 h, 过滤, 滤渣按上法处理2次, 各滤液稀释至相同体积, 在532 nm波长处分别测定3次滤液的吸光度, 重复测定3次。

1.4 苋菜红色素的提取

称取干燥粉碎后的苋菜10 g置于圆底烧瓶中, 按料液比1:30加入体积分数20%乙醇300 mL, 在40 °C下回流1 h, 抽滤; 向残渣中加入300 mL提取剂, 回流1 h, 抽滤。合并2次抽滤的滤液, 置于真空旋转蒸发仪中浓缩, 再将浓缩物倒入蒸发皿中, 置于40 °C烘箱中干燥得红色膏状物即为苋菜红色素。

1.5 抗氧化活性的研究

1.5.1 ·OH清除率的测定

测定·OH清除率^[8]: 向1.0 mL浓度为7.5 mmol/L邻二氮菲无水乙醇溶液中加入pH值7.4的0.2 mol/L磷酸盐缓冲溶液2.0 mL和0.75 mmol/L硫酸亚铁溶液1.0 mL, 立即混匀。再加入1.0 mL去离

子水, 1.0 mL体积分数0.1% H₂O₂, 混匀后在37 °C下保温1 h, 在510 nm处测其吸光度A(损伤)。以上法用不同浓度的苋菜红色素溶液1.0 mL代替去离子水, 加入H₂O₂测其吸光度A(样品)。未损伤管不加苋菜红色素样品溶液和H₂O₂, 而是用去离子水代替, 测定其吸光度A(未损伤)。以V_c(抗坏血酸)作为对照物, 操作同上, 每个样品重复测定3次, 取平均值。按式(1)计算·OH清除率。

·OH清除率 =

$$\frac{A(\text{样品}) - A(\text{损伤})}{A(\text{未损伤}) - A(\text{损伤})} \times 100\% \quad (1)$$

1.5.2 DPPH·清除率的测定

测定DPPH·清除率^[9-10]: 移取不同浓度的苋菜红色素样品液各2.0 mL, 分别置于不同的具塞试管中, 加入2.0 mL质量浓度为0.057 mg/mL DPPH·溶液, 混匀, 静放30 min, 转入1 cm的玻璃比色皿中, 在517 nm波长处测定其吸光度值A, 与此同时测定各色素样品空白吸光度A₁以及不加色素样品的空白样品的吸光度A₀。以V_c为对照物, 操作同上, 每个样重复测定3次, 取平均值。按式(2)计算其对DPPH·的清除率。

DPPH·清除率 =

$$\left(1 - \frac{A - A_1}{A_0}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中: A为样品与DPPH·吸光度; A₁为样品与无水乙醇吸光度; A₀为DPPH·与无水乙醇吸光度。

1.5.3 还原力的测定

按照普鲁士蓝法测定苋菜红色素还原力^[11]。移取2.5 mL不同质量浓度的苋菜红色素溶液分别置于不同试管中, 依次加入2.5 mL浓度为0.2 mol/L磷酸盐缓冲溶液(pH值约6.6)和质量分数1%铁氰化钾溶液2.5 mL, 40 °C水浴保温20 min, 快速冷却, 再加入质量分数10%三氯乙酸水溶液2.5 mL, 以2000 r/min的转速离心10 min, 移取上清液5.0 mL, 依次加入4.0 mL蒸馏水, 1.0 mL质量分数0.1%三氯化铁水溶液, 充分混匀, 静置10 min, 在700 nm波长处测定其吸光度A。以抗坏血酸作为对照物, 操作同上, 每个样重复测定3次, 取平均值。

2 结果与讨论

2.1 苋菜红色素提取条件分析

2.1.1 溶剂浓度的影响

采用蒸馏水和不同体积分数乙醇提取的苋菜色

素吸收曲线如图1。从图1可以看到,当用纯水提取苋菜色素时,只有在532 nm处有一个吸收峰,它是红色素的吸收峰^[5]。当提取溶剂中乙醇的比例增加时,532 nm处吸收峰逐渐变小,而380 nm和665 nm处峰逐渐增大;当乙醇体积分数达到100%时,532 nm处峰完全消失,380 nm和665 nm处的峰达到最大值。提取液颜色也由红色逐渐变成绿色。因纯水提取液杂质较多,颜色浑浊,故选用20%乙醇做提取剂。

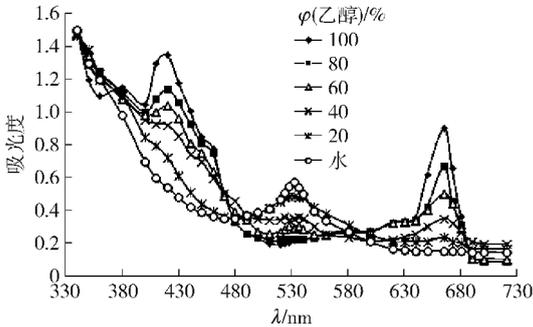


图1 乙醇浓度对苋菜红色素吸收光谱的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentrations on extraction yield of red pigment

2.1.2 提取温度的影响

在20~40℃,随提取温度的升高,吸光度值也增加,当温度超过40℃时,A值缓慢下降;当温度大于60℃时,A值下降很快(见图2)。在70℃时,颜色由玫瑰色变桔红色,继续加热至80℃时,已有大半色素分解,颜色变黄色。说明苋菜天然红色素对热不稳定,易被热降解。故最佳提取温度为40℃。

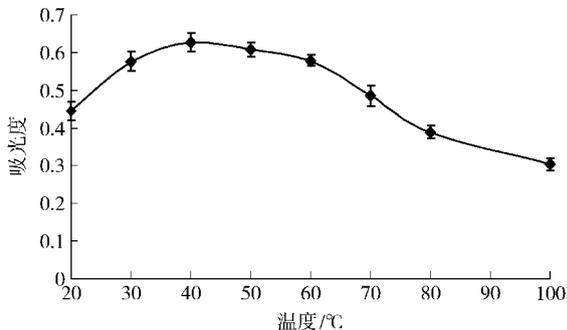


图2 温度对苋菜红色素得率的影响

Fig. 2 Effect of temperature on extraction yield of red pigment

2.1.3 料液比的影响

苋菜红色素含量随料液比的增大而上升,当料液比达到1:30时含量达到最大,后再增大料液比,苋菜红色素含量变化不明显(见图3)。说明当料液比达到1:30时,苋菜红色素基本浸提完毕。

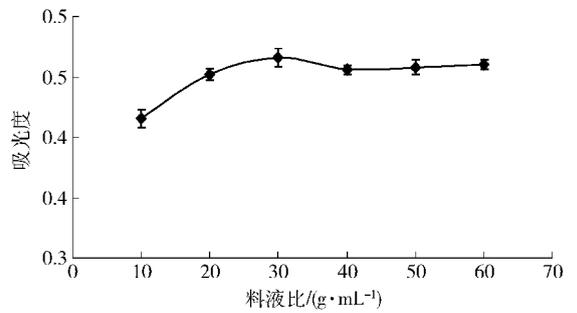


图3 料液比对苋菜红色素得率的影响

Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on extraction yield of red pigment

2.1.4 提取时间的影响

提取时间小于60 min,提取得率随时间的增加而增大;当提取时间大于60 min时,提取得率随时间的增加缓慢增大(见图4)。故提取时间定为60 min。

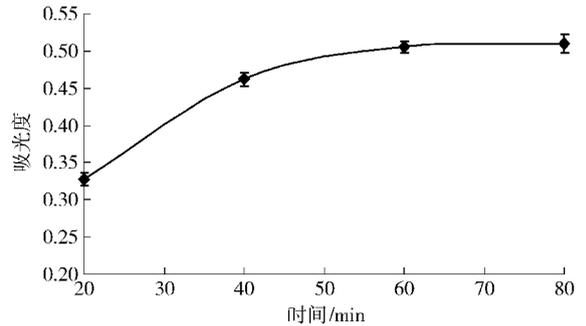


图4 提取时间对红色素得率的影响

Fig. 4 Effect of time on extraction yield of red pigment

2.1.5 提取次数的影响

第3次提取时所得红色素量很少(A值很低),从节省生产成本和经济效益上考虑,选用2次萃取即可(见表1)。

表1 提取次数对苋菜红色素得率的影响

Tab. 1 Effect of extraction times on extraction yield of red pigment

n(浸提)/次	1	2	3
吸光度	0.687	0.227	0.095

2.2 抗氧化活性分析

2.2.1 苋菜红色素对·OH的清除效果

·OH是目前已知的最活泼的活性氧分子,它不仅可以与活细胞中的任何分子发生反应而造成损害,而且反应的速度极快、毒性也很强。苋菜红色素对·OH有比较明显的清除效果(见图5)。随着红色素浓度增大,清除效果也随之增强,但是与抗坏血酸

相比其清除能力小得多。清除率为50% (IC_{50})时苋菜红色素和抗坏血酸的质量浓度分别为0.44 mg/mL和0.1 mg/mL。

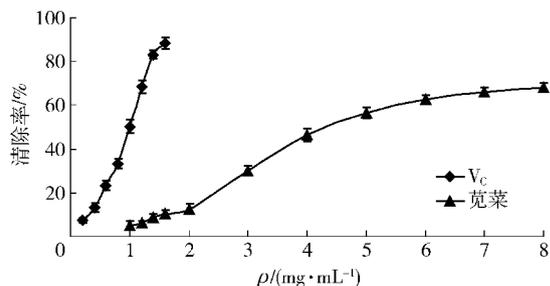


图5 苋菜红色素对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率

Fig. 5 Scavenging effect of red pigment on hydroxyl radicals

2.2.2 苋菜红色素对DPPH \cdot 的清除效果

DPPH \cdot 是稳定性良好的有机物自由基之一,广泛应用于植物提取物或纯抗氧化剂体外抗氧化活性的测定研究。在有机清除剂存在条件下,其孤对电子被配对,吸收减弱或消失,通过测定吸收减弱的程度,可以评价自由基清除剂的活性大小^[12]。

苋菜红色素对DPPH \cdot 的清除效果随着浓度的增加而提高,清除率达到50% (IC_{50})所需要的苋菜红色素和抗坏血酸的质量浓度分别为0.14 mg/mL和0.015 mg/mL,后者约为前者的1/10(见图6)。

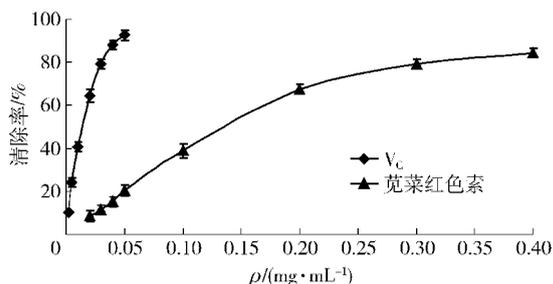


图6 苋菜红色素对DPPH \cdot 的清除率

Fig. 6 Scavenging effect of red pigment on DPPH \cdot

2.2.3 苋菜红色素还原力

一般物质的还原能力与抗氧化活性之间存在着较明显的相关性。体系吸光度的大小可以反映物质还原能力的大小。吸光度越大,表明体系抗氧化能力也越强^[13]。在所测定的浓度范围内,苋菜红色素的还原能力随着浓度的增加而增强,苋菜红色素的还原能力约为抗坏血酸的1/4左右(见图7)。

总之,苋菜红色素具有一定的抗氧化活性,但是比抗坏血酸的低,这可能是由于天然色素提取后没有进行进一步分离纯化的原因,所含有大量杂质导致其清除能力下降,这方面需要进一步的研究。

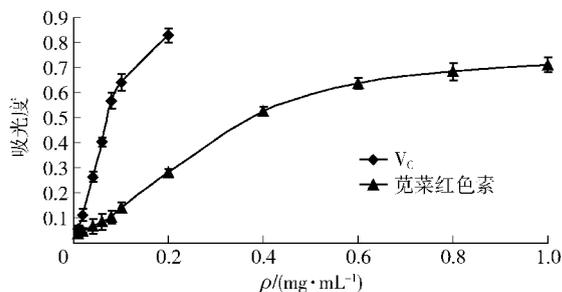


图7 苋菜红色素的还原力

Fig. 7 Reducing capacity of red pigment

3 结论

苋菜红色素的优化提取条件:以20%乙醇为提取剂,在料液比1:30(g/mL)、40℃下提取1h,提取2次。苋菜红色素有一定的还原力,对 $\cdot\text{OH}$ 和DPPH \cdot 均具有一定的清除作用。其还原能力相当于抗坏血酸还原能力的1/4。对羟自由基和DPPH \cdot 半抑制质量浓度(IC_{50})分别为0.44 mg/mL和0.14 mg/mL。苋菜红色素(粗)抗氧化能力随着浓度增加而增强,但是比抗坏血酸的抗氧化能力差。

参考文献:

- [1] 胡喜兰,刘存瑞,曾宪佳,等. 苋菜红色素的提取及稳定性研究[J]. 食品科技,2002(3):49-50.
- [2] 王宁,贾珺璋,孙体健,等. 超声波法提取苋菜中红、绿色素的工艺研究[J]. 山西医科大学学报,2007,38(7):650-653.
WANG N, JIA J Z, SUN T J, et al. Optimization of the preparation process for red pigment and green pigment of amaranth [J]. Journal of Shanxi Medical University, 2007, 38(7):650-653.
- [3] KUMAR B S A, LAKSHMAN K, JAYAVEERA K N, et al. Antioxidant and antipyretic properties of methanolic extract of *Amaranthus spinosus* leaves [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2010, 3(9):702-706.
- [4] 张萃明. 苋菜天然红色素的提取与研究[J]. 食品工业科技,2001,22(5):13-15.
ZHANG C M. Study on extraction natural red pigment from Joseph's coat and its properties [J]. Science and Technology of Food Industry, 2001, 22(5):13-15.
- [5] 谢嘉霖. 苋菜色素提取条件的研究[J]. 食品工业科技,2005,26(4):153-154.
XIE J L. Extraction conditions for red pigment from amaranth [J]. Science and Technology of Food Industry, 2005, 26(4):153-154.
- [6] 王怀宗,金玲玲,王武,等. 微波萃取苋菜红色素及其

- 稳定性的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(9): 184-186.
- WANG H Z, JIN L L, WANG W, et al. Microwave extraction of red pigment from *Amaranthus* and the research of its stability [J]. Food Research and Development, 2008, 29(9):184-186.
- [7] 张小曼, 马银海, 鄯胜波, 等. 超滤-树脂法分离提取苋菜红色素的工艺[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(6): 97-100.
- ZHANG X M, MA Y H, YAN S B, et al. Study on extracting process for red pigment from *Amaranthus paniculatus* by ultrafiltration-resin technology [J]. Food Research And Development, 2010, 31(6):97-100.
- [8] 李翠芳, 王芳, 麻浩. 新疆紫草毛状根提取物的抗氧化活性研究[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(2):291-295.
- LI C F, WANG F, MA H, et al. Study on antioxidant activity of *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst hairy roots [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2010, 47(2):291-295.
- [9] 程超. 麦冬果实蓝色素的抗氧化特性研究[J]. 中国酿造, 2009(4):58-60.
- CHENG C. Antioxidation activity of blue pigment from *Ophiopogon japonicus* (Thunb) Ker Gawl [J]. China Brewing, 2009(4):58-60.
- [10] 尤努斯江·吐拉洪, 吐尔洪·买买提. 超声提取香青兰中黄酮及其抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2012, 33(24):72-76.
- Yunusjan Turahun, Turghun Muhammad. Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of flavonoids from *Dracocephalum mololarie* L. [J]. Food Science, 2012, 33(24):72-76.
- [11] 朱洪梅. 玉米黄色素提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(7):15-20.
- ZHU H M. Extraction and antioxidation of yellow pigment from maize [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2010, 25(7):15-20.
- [12] KOSAR M, ALTINTAS A, KIRIMER N. Determination of the free radical scavenging activity of lycium extracts [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2003, 39(6):531-535.
- [13] 徐亚民, 马越, 赵晓燕, 等. 紫苏等4种天然色素抗氧化能力的比较[J]. 华北农学报, 2007, 22(2):187-190.
- XU Y M, MA Y, ZHAO X Y, et al. The comparison of antioxidant activity of four natural pigments from folium perilliae [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2007, 22(2):187-190.

Extraction and Biological Activity of Red Pigment from *Amaranthus Spinosus* L.

Marziya Ablimit¹, Mamtimin Sulayman¹, Yunusjan Turahun^{2,*}, Nurkiz Tudahun³

(1. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China;

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830046, China;

3. Xinjiang Yili State Blood Center, Ghulja 835000, China)

Abstract: The extraction process of the red pigment from *Amaranthus spinosus* L was optimized and its antioxidant activities were investigated in *in vitro* tests. The optimal extraction conditions were obtained by the single factor analysis using the absorbency as an index and its reducing power, and scavenging effect of hydroxyl radical and DPPH radical were studied. The results showed that the optimum conditions were as followed: extraction solvent 20% ethanol, the solid-liquid ratio 1:30, temperature 40 °C, extraction times 2, and extraction time 1 h. Reducing power of red pigment was 1/4 of V_c , the half-inhibitory concentration (IC_{50}) of hydroxyl radicals and DPPH· were 0.44 and 0.14 mg/mL. The red pigment from *Amaranthus spinosus* L. has antioxidant activities, which were dose-dependent.

Key words: *Amaranthus spinosus* L.; red pigment; extraction; antioxidative activities