

红麻花甲醇可溶性色素 TLC 分离 与成分鉴定

罗玉芳¹ 祁建民^{2*} 叶芳¹

(1. 福建华南女子职业学院, 福建 福州 350007; 2. 福建农林大学 作物科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: 以红麻花为原料, 通过对红麻花甲醇可溶性色素的薄板层析(TLC)分离研究, 得到其 TLC 最佳展层剂是: $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{水}):V(\text{甲酸}):V(\text{乙酸})=70:30:3:2$ 。以最佳展层剂展开花中的色素, 得到 4 条颜色深浅不一的色带, 反映该花色素至少含 4 种色素单体成分。对色素母液及第一单体成分样液进行 290~700 nm 扫描测定表明, 色素母液在 253.9 nm 及 372.6 nm 各有一特征吸收峰; 色素第一单体样液的特征吸收峰在 252.7 nm 及 369.0 nm。初步鉴定结果揭示: 红麻花甲醇可溶性色素成分主要为黄酮醇类。

关键词: 红麻花; 色素; TLC 分离; 鉴定

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)04-0814-04

A Study on the Separation by TLC and Initial Identification of Soluble Pigments from Kenaf Flower

LUO Yu-fang¹, QI Jian-min^{2*}, YE Fang¹

(1. Fujian Huanan Women's Vocational College, Fuzhou 350007, China; 2. College of Crop Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Separating the methanol-soluble pigments from Kenaf flower by silica-G&H thin-layer chromatography(TLC), the optimum volume ratio of the separating layer reagent was obtained: ethyl acetate 70 to water 30 to methane acid 3 to acetic 2. Developing the flower pigment by the optimum layer reagent four colour bands, were observed which indicated that the pigment had four monosomic pigment integrants. Sepemting and scanning results showed that the characteristic wave lengths of the pigment were 253.9 nm and 372.6 nm, the absorption peak of the first band was at 252.7 nm and 369.0 nm. Initial identification showed that the main methnol-soluble pigment component in kenaf flower maybe belong to flavonols.

Key words: Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) flower; pigment; thin-layer chromatography (TLC); separation and identification

随着经济与科技的发展, 人们对食品添加剂的安全性越来越重视, 合成色素的使用种类和数量也越来越受到限制, 而天然色素以其安全性高、色彩自然^[1], 可解决合成色素“使用安全问题”, 是色素应用的必然发展趋势^[2-3]。

红麻为锦葵科(Malvaceae)木槿属(*Hibiscus*)一年生草本纤维作物。由于红麻纤维产量高, 抗逆性

收稿日期: 2012-02-15 修回日期: 2012-05-21

基金项目: 国家麻类产业技术体系建设资助项目(nycytx-49-E05)和福建省麻类种质资源共享创新平台建设(2010N2002)

作者简介: 罗玉芳(1974—), 女, 讲师, 硕士, 主要从事食品检测研究, E-mail: luoyufanghn@163.com; * 通讯作者: 祁建民, 教授, E-mail: Qijm863@163.com。

强,适应性广^[4],花、叶、茎、根副产品生物物质的高效利用受到发达国家众多科技型企业的高度重视和青睐。红麻纤维具自然银白丝光,吸湿散水快,与棉花混纺可作高档的面料、家居床上用品,中低档产品可用作麻布、麻地毯、土工布、环保袋;全杆可用作造纸原料;剥皮后的麻骨用于烧制活性炭和制纤维板;叶可作牲畜饲料;但花的利用方面未见报道,其花大都色彩艳丽,每株有30~50朵花,基本上都是掉落烂在田地上,造成资源的浪费。

本文运用硅胶及薄层层析法(TLC)对红麻花色素的分离方法及组分性质作了研究,旨在充分利用南方红麻花丰富的资源,使其变废为宝,高效利用。

1 材料与方 法

1.1 材 料

红麻花:2010年10月采摘于福建农林大学白沙试验基地,冷冻干燥后碾碎,密封保存备用。试剂有丙酮、甲醇、无水乙醚、乙酸乙酯、乙醇、氢氧化钠、盐酸、维生素C、硝酸钾、氯化钙、氯化镁、氯化钠和氯化铜等,以上试剂均为国产分析纯。

仪器设备:TV-4900紫外可见分光光度计;鼓风干燥机;电子分析天平;PHS-3C酸度计;水浴锅;冷冻干燥机等。

1.2 方 法

1.2.1 工艺流程 新鲜黄麻花→冷冻干燥→碾碎→丙酮浸提→过滤→滤渣甲醇浸提→浓缩→色素母液。

1.2.2 红麻花色素原液的制备 称取5g冻干碾碎红麻花先用丙酮浸提至无色后其残渣再加入200mL的甲醇于75℃下水浴4h,过滤,减压浓缩至20mL,浓缩液经4000r/min离心20min得上清液,即为色素母液。

1.2.3 色素TLC分离 (1)硅胶薄板准备及最佳展开剂。取GF254硅胶板在80℃下活化1h,经点样,再分别用不同展开剂展开,以斑点分离好、不拖尾的展层剂做为最佳展开剂。

(2)色素单体组分收集与制备。经薄层分离后分别刮下各呈色条带,将收集到的色素带硅胶分别放入小试管中,加入甲醇充分混匀后静置,待上清液澄清后,取上层清液于离心管中,再于离心浓缩机中离心并浓缩,吸取上清液得到色素各单体组分。

1.2.4 色素初步鉴定 (1)色素母液特殊显色反应。①盐酸-镁粉反应:取稀释120倍的色素液10mL,加入少许镁粉,再加入几滴盐酸,观察反应现象。另取10mL稀释120倍的色素液,直接加入少许盐酸,观察反应现象;②三氯化铝反应:取稀释120倍的色素液10mL逐滴加入1%的三氯化铝溶液,观察反应现象;③其它显色反应:取色素液5mL,分别逐滴加入1.0%醋酸铅溶液,1.0%三氯化铁溶液,氨水溶液,1.0%碳酸钠溶液,浓硫酸,震荡观察反应现象。

(2)色素的光谱分析。取红麻花母液及第1条带色素单体溶液在TV-4900紫外可见分光光度计上250~600nm波长范围内进行光谱扫描,得到色素及单体的光谱图。

2 结果与分析

2.1 浸提剂的选择

一定量的花经不同的浸提剂浸提后其颜色相差较大(表1)。从表1可以看出,用丙酮、甲醇浸提的红麻花色素颜色比较明亮清澈。本实验选用经丙酮浸泡至无色后再用甲醇浸提作为研究对象。

2.2 色素的TLC分离研究

2.2.1 展开剂的选择 薄层色谱法对多组分的样品能否获得满意的分离,展开剂的选择是非常重要的。本实验取色素原液在GF254硅胶板上进行点样,并尝试在预配的展开剂上展开。由表2可以看出,采用1号展开剂时,点样基本保持不变,没有展开,这可能与石油醚的极性太弱有关;采用2、3、4、6号展开剂时虽能将色班分离,但分离的效果不好;而采用5号展开剂时能将色素完全的分离开,且条带分离清晰,所以本实验采用5号即V(乙酸乙酯):V(水):V(甲酸):V(乙酸)=70:30:3:2作为展开剂。

2.2.2 红麻花色素的TLC分离图 取色素母液在GF254硅胶板上进行点样,并在V(乙酸乙酯):V(水):V(甲酸):V(乙酸)=70:30:3:2展开剂上展开。由图1可以清楚的看出红麻花色素已经一一分

表 1 不同极性溶剂对红麻花色素浸提效果的影响

Tab.1 Extraction effects of different solvent

| 序号 | 溶剂 | 浸提后的颜色 | 结果 |
|----|--------|--------|------------------|
| 1 | 丙酮 | 深黄色 | 浸提后溶剂颜色均匀且较深 |
| 2 | 甲醇 | 橘红色 | 浸提后溶剂颜色均匀且较深 |
| 3 | 正己烷 | 浅黄色 | 浸提后溶剂颜色均匀但较浅 |
| 4 | 无水乙醚 | 浅黄色 | 颜色不够澄清且溶剂易挥发 |
| 5 | 无水乙醇 | 橙色 | 浸提后溶剂颜色不够均匀 |
| 6 | 三氯甲烷 | 黄色 | 浸提后溶剂颜色不均匀且较浅 |
| 7 | 乙酸乙酯 | 黄色 | 浸提后溶剂颜色不够均匀 |
| 8 | 50% 乙醇 | 褐色 | 浸提后溶剂颜色不够均匀有些许褐变 |
| 9 | 75% 乙醇 | 红褐色 | 浸提后溶剂颜色均匀有些许褐变 |
| 10 | 水 | 浅棕黄 | 水溶液中有些许褐变 |

表 2 不同展开剂中红麻花色素的 TLC 层析分离效果

Tab.2 Separating result of the pigment from the flower of Kenaf by TLC in different layer reagent

| 序号 | 展开剂 (V/V) | 展开效果 |
|----|--------------------------------|----------|
| 1 | 石油醚: 丙酮 = 1:1 | 不能展开 |
| 2 | 甲醇: 乙醇: 丙酮 = 8: 1: 1 | 色斑分离不明显 |
| 3 | 甲醇: 乙醇: 丙酮 = 7: 2: 1 | 色斑分离不明显 |
| 4 | 甲醇: 乙醇: 丙酮 = 7: 1: 2 | 色斑分离不明显 |
| 5 | 乙酸乙酯: 水: 甲酸: 乙酸 = 70: 30: 3: 2 | 色斑分离较好 |
| 6 | 甲醇: 乙酸乙酯: 甲酸 = 8: 8: 1.5 | 色斑分离不够明显 |

开。由点样点出发,向展层前沿一字排开共 4 条带,各条带(单体)颜色深浅程度不同,以第 1 条带(图 1 中从上往下数第 1 条带)颜色较深,且其颜色为紫红色,为红麻花喉底部及柱头上红色素的成分。

2.3 色素的特征颜色反应定性检识

2.3.1 色素母液的 pH 变色检识 取适量色素母液于试管中,用不同体积分数的 10 g/L HCl 或 10 g/L NaOH 将其 pH 调节在 1~14,并观察其颜色变化,结果表明,该色素在 $2 \leq \text{pH} \leq 6$ 其颜色呈紫红色且稳定; $\text{pH} = 7$ 时,溶液颜色呈浅黄色; $\text{pH} > 7$ 颜色为金黄色,在 $\text{pH} > 12$ 时呈棕黄色。上述结果提示色素母液中含有花青素成分^[5]。

2.3.2 色素的黄酮类特征检识

按 1.4.4. (1) 进行色素母液特殊显色反应,结果(表 3)表明:在红麻花色素母液中加入少许镁粉,振荡,再加入数滴盐酸,色素液产生气泡,颜色由枣红变为淡紫色;如果不加镁粉,而直接加入盐酸,则没有气泡产生,颜色由枣红变为淡紫色,说明该色素在盐酸-镁粉的作用下,被氧化还原,说明该色素可能含黄酮、黄酮醇类^[6];在红麻花色素母液中加入三氯化铝溶液,色素由枣红色变为浅绿色,并有绿色荧光,由此可鉴定色素液中有黄酮类成分;其在氨水测试中不表现橙红色或红色,则反映红麻花色素不含橙酮。滴加饱和中性醋酸铅溶液,产生土黄色沉淀,并随其加入量的增多,沉淀增



图 1 红麻花甲醇提取色素的薄层色谱图

Fig.1 Display of the TLC separating result upon the pigment which extracted from the flower of Kenaf

多,表明该色素成分中含有酚羟基;加入少许 5% 氢氧化钠溶液,溶液呈黄色,说明可能有二氢黄酮、橙酮;浓硫酸反应显示大红色说明可能含有查耳酮类^[7-9]。

表3 色素母液的黄酮类特征显色结果

Tab.3 Display of flavon colour reaction of the pigment component from the flower of Kenaf

| 试剂 | 盐酸-镁粉 | 盐酸 | 三氯化铝 | 醋酸铅 | 三氯化铁 | 氨水 | 浓硫酸 |
|----|----------|-----|------|-----|------|----|--------|
| 现象 | 淡紫色(有气泡) | 淡紫色 | 浅绿 | 土黄 | 墨绿 | 墨绿 | 大红(发热) |

2.4 红麻花色素的光谱扫描结果及分析

对色素母液、色素第一单体样液进行波长 290~700 nm 范围内扫描,结果是:色素母液在 253.9 nm 及 372.6 nm 各有一特征吸收峰(图2);色素第一单体样液的特征吸收峰在 252.7 nm 及 369.0 nm(图3)。

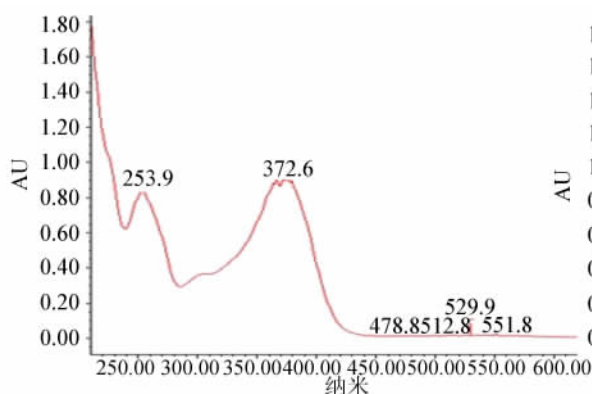


图2 色素母液紫外-可见光光谱图

Fig.2 UV-Vis spectrum of pigment in methanol

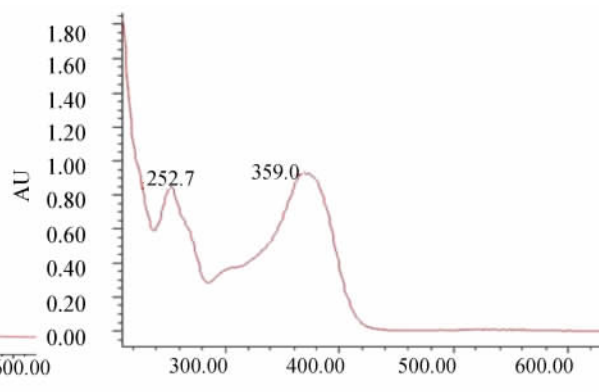


图3 色素第一条带提取液紫外-可见光光谱图

Fig.3 UV-Vis spectrum of the first band pigment

由图2、3中可以看出,红麻花色素有2个特征吸收峰,一个在 250~270 nm,另一个在 320~370 nm。根据文献[7-8,10]的相关描述,大多数黄酮类化合物的甲醇图谱特征也呈现2个峰带,即 340~400 nm 的峰带 I 与 240~280 nm 的峰带 II,其中黄酮、黄酮醇、异黄酮、二氢黄酮和二氢黄酮醇类的峰带 II 强而峰带 I 弱,查耳酮、橙酮的峰带 I 强而峰带 II 弱。初步说明色素母液及第一单体成分不同于花青素类及蒽醌类,可能为黄酮、黄酮醇、异黄酮和二氢黄酮及二氢黄酮醇、查耳酮和橙酮类。又根据文献[6]的相关描述,黄酮和黄酮醇在波长 250、350~370 nm 处有2个主要的吸收峰,因此可进一步判断色素母液及第一单体成分中黄酮类化合物主要为黄酮、黄酮醇类。又因在 NaOH 显色反应中,其溶液呈黄色,由此可知色素母液及第一单体成分中黄酮类化合物主要成分为黄酮醇类。

3 结论

(1) 红麻花甲醇可溶性色素的薄板层析分享的最佳展层剂是 V(乙酸乙酯):V(水):V(甲酸):V(乙酸)=70:30:3:2,以该展层剂展开花中的色素,得到4条颜色深浅不一的色带,反映该花色素至少含4种色素单体成分。对色素母液及第一单体成分样液进行 290~700 nm 扫描测定表明,红麻花色素母液及第一单体均有2个特征吸收峰,一个在 260~270 nm,另一个在 320~370 nm。

(2) 显色反应及光谱扫描结果表明:红麻花甲醇可溶性色素成分主要为黄酮醇类,不属于花青素或至少不是以花青素单体成分为主。

上述红麻花色素的提取及花色素中黄酮类物质的鉴定,其天然色素及黄酮类物质做为重要的食品添加剂和营养强化剂,具有抗氧化、抗衰老、抗骨质疏松和抗肿瘤等多种生物活性^[11]。在食用上对人体具有重要的生理功能和药用价值。本研究可为红麻花的新产品研发加工利用提供科学依据。

参考文献:

- [1] 孙会兵. 紫竹梅红色素的提取与纯化技术[J]. 中国食品添加剂, 2011(3): 99-102.
- [2] 彭子模, 李进, 孟冬丽. 植物源天然色素的开发与应用研究现状与展望[J]. 新疆师范大学学报: 自然科学版, 2000, 19(4): 43-50.

(下转第 827 页)

参考文献:

- [1]徐明生,黄占旺,上官新晨,等.凝固型双歧杆菌酸奶研制[J].江西农业大学学报,1999,21(1):120-123.
- [2]徐致远,吴艳,蔡文白.一种低脂低糖酸奶的研制[J].乳业科学与技术,2008,133(6):121-125.
- [3]王英,周剑忠,陈晓红,等.新疆酸马奶中优良乳酸菌的分离鉴定及发酵特性分析[J].江西农业大学学报,2009,31(5):807-811.
- [4]曲祥春,何中国.我国燕麦生产现状及发展对策[J].杂粮作物,2008,26(3):233-235.
- [5]杜亚军.燕麦膳食纤维咀嚼片的工艺研究[J].粮油食品科技,2008,14(5):37-38.
- [6]Franz, Ulberth, Mauela Buchgraber. Analytical platforms to assess the authenticity of cocoa butter[J]. Eur J Lipid Sci 2003, 105: 32-42.
- [7]魏决,郭玉蓉.燕麦油脂的理化性质研究及脂肪酸组成分析[J].食品科技,2007,32(7):204-206.
- [8]章海燕,张晖,王立,等.燕麦研究进展[J].粮食与油脂,2009(8):7-9.
- [9]Zimonja O, Svihus B. Effects of processing of wheat or oats starch on physical pellet quality and nutritional value for broilers [J]. Animal Feed Science and Technology, 2009, 149(3): 287-297.
- [10]孙晓洋,毕艳兰,杨国龙.代可可脂、类可可脂、天然可可脂的组成及性质分析[J].中国油脂,2007,32(10):38-42.
- [11]王红,巢强国,葛宇,等.可可脂及其代用品的特性[J].食品研究与开发,2009,30(4):178-181.
- [12]Aleksandra Torbica, Loga Jovanovic, Biljana Pajin, et al. The advantage of solid fat content determination in cocoa butter and cocoa butter equivalents by the Karlishamns method[J]. Eur Food Res Technol, 2006, 222: 385-391.
- [13]汤群,南宾朋,张美丽,等.麦香巧克力脆粒的研制[J].食品科技,2008,33(2):108-110.
- [14]汤浩源,张永勤.冷冻干燥草莓巧克力的研制[J].食品科学,2007,28(9):672-675.

(上接第817页)

- [3]杨桂馥.美国免检定的食品、医药品、化妆品用色素添加剂的安全性及法规的状况[J].中国食品添加剂,1997(3):57-68.
- [4]阮奇城.红麻秸秆高效预处理方法的选择[J].中国农学通报,2011,27(15):112-116.
- [5]唐克华,陈璇,陈功锡.红橙木花色素TLC分离与定性研究[J].食品科学,2010,26(9):52-57.
- [6]张彩霞.白花蛇舌草中黄酮提取工艺的优化及其结构鉴定[J].安徽农业科学,2011,39(1):131-133.
- [7]肖宗厚.中药化学[M].1版.上海:上海科学技术出版社,1997:276-290.
- [8]姚新生,吴立军.天然药物化学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2003:182-195.
- [9]时海香,仲山民.常山胡柚天然色素的初步鉴定及其稳定性研究[J].林业科学研究,2008,21(6):852-856.
- [10]徐东翔.植物资源化学[M].1版.长沙:湖南科技出版社,2004:192-193.
- [11]王纯荣.表面活性剂协同微波提取大豆黄酮的研究[J].江西农业大学学报,2011,33(1):151-156.