

叶绿素锌钠盐的理化性质及应用研究

(西安交通大学生物工程系, 西安 710049) 于洁石 华

摘要 对叶绿素锌钠盐的理化、光谱、与聚乙烯醇染色后薄膜的性能进行了研究。结果表明, 叶绿素锌钠盐能溶于水, 在 412、639nm 处有特征吸收峰, 在中性溶液中稳定, 热稳定性很好, 有一定的抗氧化还原性, 光稳定性较差。一般的食品添加剂, 如食盐、葡萄糖、抗坏血酸对叶绿素锌钠盐的稳定性没有太大的影响。含叶绿素锌钠盐的塑料薄膜具有一定的保鲜性, 但失重率较高, 有待进一步提高。

关键词 叶绿素锌钠盐, 性能, 聚乙烯醇薄膜, 保鲜

中图分类号: TS311 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2004)03-0105-04

叶绿素极不稳定, 如果将其制成叶绿素铜钠盐或叶绿素锌钠盐, 不但溶于水, 而且稳定性也大大提高。因而, 将叶绿素改造成叶绿素锌钠盐后, 可广泛用于食品添加剂等方面, 前景广阔。本实验测定了叶绿素锌钠盐的热、光和酸碱稳定性及食盐、葡萄糖、抗坏血酸对其稳定性的影响。

叶绿素具有光学活性, 绿色食品中含有大量的叶绿素, 在光照下会发生感光氧化反应, 过量的光能使叶绿素成为三线态, 通过电子传递, 产生单线态氧、羟自由基、超氧自由基等活性氧而破坏 DNA、蛋白质、碳水化合物及膜脂等生物分子结构, 引起叶绿素分子降解, 从而导致食品腐败。为延长食品保鲜期, 传统包装材料加以真空处理, 使食品与氧气隔绝, 从而增加了成本。如果用叶绿素将塑料“染色”, 用经这种处理的薄膜来包装绿色食品, 则可以有效地“截获”致使食品腐败的光线, 从而大大地延长了食品的保鲜期, 而且成本低廉。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

双氧水, Na_2SO_3 , 抗坏血酸, 食盐, 葡萄糖, 盐酸, 聚乙烯醇, 新鲜大白菜, 碳酸氢钠, 草酸, 2,6-二氯酚靛酚。

紫外分光光度计 SPECTROPHOTOME, DU640, BECKMAN, USA; 电子天平 GB-303, Mettler-Toledo 酸度计 PHS-25 型, 上海精密科学

仪器有限公司。

1.2 样品制取

先将菠菜低温烘干后研磨成菠菜粉, 将 8g 菠菜粉用体积比为 1:1 的乙醇丙酮混合溶剂 100mL 在黑暗低温下浸提 12h 后抽滤。所得的提取液用 5% 的 NaOH 甲醇溶液 50mL 在 60℃ 时皂化 1h, 并减压蒸馏回收丙酮和乙醇。再以石油醚为萃取剂将皂化后的液体多次萃取。取下层水相, 调 pH 至 2.5, 加入 20% 的硫酸锌溶液 36g, 在 60℃ 下锌代 2h。锌代结束后以 5% 的 NaOH 乙醇溶液调 pH 至 11~12, 成品析出。将悬浊液在 4000r/min 的转速下进行 10min 离心沉淀, 弃去上清液, 烘干沉淀即得样品。

1.3 实验方法

称取 0.5g 叶绿素锌钠盐, 分别溶于 30mL 蒸馏水、丙酮、乙醇中, 观察其溶解性。将叶绿素锌钠盐溶于蒸馏水, 配成一定浓度的溶液, 以蒸馏水作空白, 在 400~700nm 波段用紫外可见分光光度计扫描, 得扫描曲线。将叶绿素锌钠盐配成一定浓度、不同 pH 的一系列溶液, 在自然光下分别放置 1、2、5、10、24、48、72h 后, 用分光光度计测量其在 412nm 处的吸光度值。配置一定浓度的叶绿素锌钠盐中性溶液, 测其 412nm 处的吸光度值, 密封, 自然光下分别放置 1d, 3d 后再测吸光度值, 并观察其颜色变化。配置一定浓度的叶绿素锌钠盐溶液, 分别在 40、60、80、90、120、140、160、180、190、200℃ 下加热 10min, 然后冷却至室温, 测 412nm 处吸光度值并观察其颜色变化。将一定浓度的叶绿素锌钠盐溶液配成五份双氧水浓度分别为 0%, 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.6% 的溶液, 在暗处静置 1h 后, 分别测吸光度值。将一定浓度的叶绿素锌钠盐溶液配成五份 Na_2SO_3 浓度分别为 0%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% 的溶液, 在暗处静置 1h 后, 分别测吸光度值。将一定浓度的叶绿素锌钠盐溶液配成五份抗坏血酸浓度分别为 0%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% 的溶液, 在暗处静置 1h 后, 分别测吸光度值。将一定浓度的叶绿素锌钠盐溶液配成五份食盐浓度分别为 0%, 0.5%, 1%, 1.5%, 2.0% 的溶液, 在暗处静置 1h

收稿日期: 2003-07-21

表 1 叶绿素锌钠盐的溶解性

溶剂	蒸馏水	丙酮	乙醇
现象	全溶,溶液呈墨绿色	难溶,有大量叶绿素锌钠盐颗粒,溶液呈淡绿色	难溶,有大量叶绿素锌钠盐颗粒,溶液呈淡绿色

后,分别测吸光度值 将一定浓度的叶绿素锌钠盐溶液配成五份葡萄糖浓度分别为 0%,0.5%,1.0%,1.5%,2.0%的溶液,在暗处静止 1h 后,分别测吸光度值 准确称量叶绿素锌钠盐、聚乙烯醇加入水中,加热溶解,将混合液均匀地倒在自制的模具里,上盖一平板,避光自然干燥,得到含叶绿素锌钠盐的聚乙烯醇的薄膜。称取两份各 50g 新鲜大白菜,分别用聚乙烯醇和含叶绿素的聚乙烯醇薄膜包裹,用透明胶布密封,置于自然光下放置 5d,分别测试含叶绿素的聚乙烯醇薄膜的光谱、耐自然光性能,及被包裹的白菜的 Vc 含量、形态、水分含量等的变化。

2 结果与讨论

2.1 叶绿素锌钠盐的特性

2.1.1 溶解性 由表 1 可知,叶绿素锌钠盐的水溶性很好,但难溶于丙酮和乙醇。

2.1.2 光谱性质 由图 1 可看出,叶绿素锌钠盐在 412、639nm 处有特征吸收峰,412nm 为最大吸收峰。

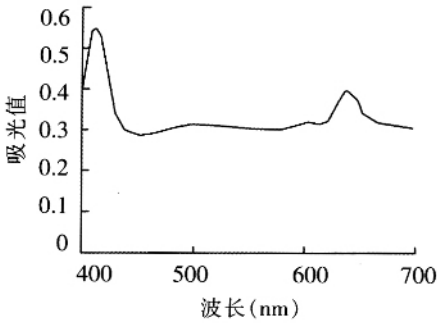


图 1 叶绿素锌钠盐的光谱性质

2.1.3 耐酸碱性 由图 2a 及图 2b 可看出,当溶液的 pH 在 6~9 时,溶液的吸光度值随时间的变化最小,稳定性好 碱性时稳定性稍差,溶液呈亮绿色 酸性时最差,溶液呈浅绿色,有浑浊,放置一段时间后会有絮状沉淀析出。这可能是在酸性条件下叶绿素锌钠盐与酸反应生成不溶于水的叶绿素锌酸的缘故。

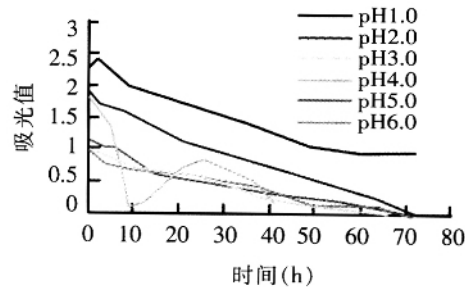


图 2a 叶绿素锌钠盐的耐酸碱性

2.1.4 耐光性 叶绿素锌钠盐溶液在自然光下放置不同时间,412nm 处分光光度值见表 2。由表 2 可知,

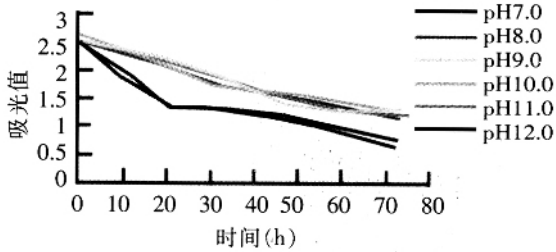


图 2b 叶绿素锌钠盐的耐酸碱性

叶绿素锌钠盐的光稳定性较差,强光照射后,分光光度值降低,颜色变淡。

表 2 叶绿素锌钠盐的耐光性

放置时间(d)	0	1	3
吸光值	0.6038	0.1059	0.0254
颜色	翠绿色	浅绿色	无色

2.1.5 耐热性 叶绿素锌钠盐溶液在不同温度下加热后的吸光值见图 3。由图 3 可知,叶绿素锌钠盐的热稳定性很好,除在 40、80 和 180℃时有稍大变化外,其余几乎没什么大的变动。

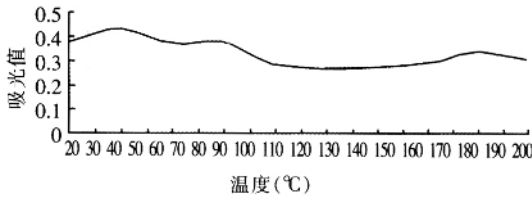


图 3 叶绿素锌钠盐的耐热性

2.1.6 抗氧化性 不同浓度的双氧水的色素溶液吸光度值见表 3。由表 3 可知,氧化剂对叶绿素锌钠盐无太大影响,溶液的吸光值变化不大,颜色变化不大。叶绿素锌钠盐具有一定的抗氧化性。

2.1.7 抗还原性 不同浓度硫代硫酸钠的色素溶液的吸光度值见表 4。由表 4 可知,还原剂对叶绿素锌钠盐无太大的影响,溶液的吸光值变化不大,溶液的颜色没明显变化。说明叶绿素锌钠盐具有一定的抗还原性。

2.1.8 抗坏血酸对叶绿素锌钠盐的影响 含不同浓度抗坏血酸的叶绿素锌钠盐溶液的吸光值见表 5。

2.1.9 葡萄糖对叶绿素锌钠盐的影响 含不同浓度葡萄糖的叶绿素锌钠盐溶液的吸光值见表 6。

2.1.10 食盐对叶绿素锌钠盐的影响 含不同浓度食盐的叶绿素锌钠盐溶液吸光度值见表 7。

由表 5、表 6、表 7 可知,常用食品添加剂对叶绿素锌钠盐没有什么影响,溶液的吸光值改变不大,颜色也没什么变化。叶绿素锌钠盐用于食品添加剂对

表3 叶绿素锌钠盐的抗氧化性

双氧水浓度(%)	0	0.1	0.2	0.4	0.6
吸光值	0.8745	0.8910	0.8842	0.8521	0.8962
颜色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色

表4 叶绿素锌钠盐的抗还原性

硫代硫酸钠浓度(%)	0	0.2	0.4	0.6	0.8
吸光值	0.8745	0.8820	0.8966	0.8642	0.8596
颜色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色

表5 抗坏血酸对叶绿素锌钠盐的影响

抗坏血酸浓度(%)	0	0.2	0.4	0.6	0.8
吸光值	0.6524	0.6620	0.6654	0.6544	0.6684
颜色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色

表6 葡萄糖对叶绿素锌钠盐的影响

葡萄糖浓度(%)	0	0.5	1.0	1.5	2.0
吸光值	0.6524	0.6630	0.6580	0.6495	0.6684
颜色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色

表7 食盐对叶绿素锌钠盐的影响

食盐浓度(%)	0	0.5	1.0	1.5	2.0
吸光值	0.6524	0.6743	0.6564	0.6610	0.6566
颜色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色	翠绿色

表8 聚乙烯醇膜的耐光性

放置时间(d)	0	1	2	5	10
吸光值	0.6032	0.4452	0.2956	0.0540	0.0123
颜色	墨绿色	翠绿色	绿色	淡绿色	无色

表9 保鲜膜的保鲜性

	新鲜白菜	用聚乙烯醇薄膜包裹 5d 后的白菜	含叶绿素锌钠盐的薄膜包裹 5d 后的白菜
重量(g)	50	25	26
Vc 含量(mg/100g)	115	20	58
表面状态	水灵灵	变干,有褐色	变干,色不变

其它成分不会有太大影响。

2.2 含叶绿素锌钠盐的聚乙烯醇膜的特性

2.2.1 保鲜膜的光谱性质 由图4可以看出,含有叶绿素锌钠盐的聚乙烯醇膜在412、639nm附近仍有吸收峰。与不含叶绿素锌钠盐的薄膜相比,在220~400nm处又多了吸收峰,而且,随着叶绿素锌钠盐浓度的升高,吸收峰越来越多,吸收值越来越高。这可能是叶绿素锌钠盐与聚乙烯醇之间作用形成了氢键的缘故。因为叶绿素具有形成氢键的倾向,而聚乙烯醇

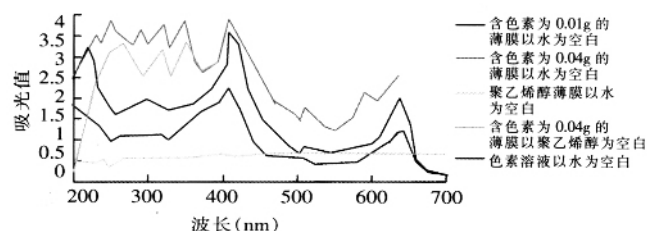


图4 保鲜膜的光谱性质

含有-OH,两者之间很容易作用形成氢键。

2.2.2 耐光性 在自然光下放置不同时间的叶绿素锌钠盐聚乙烯醇膜的吸光值见表8。由表8可以看出,含有叶绿素锌钠盐的保鲜膜的耐光性较差,在强光下易分解。

2.2.3 保鲜性 用含叶绿素锌钠盐的薄膜和只有聚乙烯醇的薄膜包裹新鲜大白菜,经过5d后失重和Vc损失率见表9。由表9可看出,用含有叶绿素锌钠盐的薄膜包裹的白菜的Vc含量远远高于无叶绿素锌钠盐的薄膜,而且表面没有褐斑。这是由于叶绿素锌钠盐吸收了部分光线,对白菜中Vc起了保护作用,使白菜的保鲜期延长。但两种薄膜的包裹失重率都很大,这可能是聚乙烯醇和叶绿素都含有亲水性基团,吸收白菜中的水分,导致失水率的增加。

3 结论

叶绿素锌钠盐在水中溶解性良好,但难溶于丙

酮、乙醇；它具有光学活性，在 412、639nm 处有特征吸收峰；在中性溶液中稳定，碱性溶液中稳定性稍差，酸性溶液中不稳定，并有浑浊。热稳定性很好，抗氧化还原性很好；光稳定性较差；一般的食品添加剂，如食盐、葡萄糖、抗坏血酸对叶绿素锌钠盐的稳定性没有太大的影响。用叶绿素锌钠盐“染色”的薄膜在 412nm 和 639nm 仍具有强吸收峰。用含有叶绿素锌钠盐的薄膜包裹的白菜的 Vc 含量远远大于用不含叶绿素锌钠盐的薄膜包裹的白菜。这证明，叶绿素锌钠盐具有一定的保鲜性，但在聚乙烯醇薄膜中白菜的失重率较高，有待进一步解决。

参考文献：

[1] 杨建虹.大量分离叶绿素 a 和 b 的方法[J].植物生理学通

讯,2002,38(2):156~158.
[2] 陶兰.绿色植物中色素的提取和色谱分离[J].杭州师范学院学报,1998(4).
[3] 丁林.叶绿素锌钠盐的制备及其理化性质研究[J].沈阳化工学院学报,2001,14(4):251~255.
[4] 陈文峻.植物叶绿素的降解[J].植物生理学通讯,2001(8):336~339.
[5] 吕心泉.果蔬叶绿素降解机理及护绿剂的研制[J].中国食品添加剂,2001(4):12~14.
[6] 陈文韬.鲜食品保鲜膜在鲜切蔬菜包装的应用[J].福建轻纺,2002(9).
[7] 魏宝峰.叶绿素的化学变化机理及其绿色保护途径[J].大连轻工业学报,1994,13(3):49~55.

(上接第 104 页)

表 4 不同工艺所得橙汁的产品质量及营养成分比较

	得率 (%)	粘度 (cp)	浊度 (NTU)	水分 (%)	蛋白质 (g/100mL)	脂肪 (g/100mL)	多糖 (g/100mL)	总酸 (g/100mL)	果胶 (g/100g)	Vc (mg/100g)	总黄酮量 (mg/100g)	感官特征
传统压榨法	38.02*	1.37	580	88.3	0.65	0.15	10.40	1.16	0.065	45	109.26	橙黄、甜、有香味
酶法洗渣法	57.64	1.48	676	87.4	0.82	0.20	9.02	1.02	0.542	30	261.21	淡黄色、甜、香味浓,但有轻微苦味

注：*采用自制旋转手柄式压榨机，而工厂一般采用进口的 FMC 榨汁机、Brown 榨汁机，故此处的得率较之引言中的得率偏低。

3 结论

3.1 通过正交实验，以得率、粘度、浊度为指标，确定酶法洗渣这一步的各项参数，加酶量为 0.01%，酶解时间为 50min，酶解温度为 45℃，渣重:水重为 1:1。
3.2 采用恒流泵使果汁通过浸没于油浴的不锈钢螺旋管，以果汁中残存的果胶酯酶活力为指标，确定了在该设施下橙汁的灭酶条件为油浴温度 130~140℃，螺旋管出口处的橙汁温度大于 90℃，经过油浴的时间为 40~45s。
3.3 最后比较了两种工艺所得产品的感官特性和组成成分，发现酶法工艺制得的产品除略带苦味外，在感官、混浊稳定性和营养价值方面均优于压榨工艺制得的产品。

参考文献：

[1] 李兆龙等编.柑桔综合利用[M].上海科学技术文献出版社,1987.
[2] Braddock R J,et al. Use of enzyme in citrus processing[J]. Food Technol,1979.

[3] Rombouts F M,et al. Enzyme in fruit and vegetable juice technology[J]. Process Biochem,1978,3(8):9~13.
[4] B 施特马赫著,钱嘉渊译.酶的测定方法[M].中国轻工业出版社,1986.
[5] 无锡轻工大学.食品酶学实验讲义[M],1995.
[6] 无锡轻工业大学等合编.食品分析[M].中国轻工业出版社,1994.
[7] 元晓梅,等.比色法测柑桔饮料及桔皮制剂中总黄酮含量[J].食品与发酵工业,1996(3):13~21.
[8] Kintner Paul K, et al. Carbohydrate interference and its correction in pectin analysis using the m-hydroxydiphenyl method[J]. Food Science, 1982, 47:756~759,764.
[9] Dubios Michel, Gilles K A, et al, Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry, 1956,28(3):350~356.
[10] Versteeg C, et al. Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange[J]. Food Sci,1980,45:969~971,998.
[11] 李琳.柑桔汁中的果胶酯酶及其钝化特性[J].饮料工业,1999,2(3):20~22.