

南果梨红果皮中花青素提取工艺研究

陈 华¹, 辛 广^{1,2,*}, 张 博¹, 杨佳颖¹

(1.鞍山师范学院化学系, 辽宁 鞍山 114007; 2.中国科学院沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016)

摘 要: 本实验研究了南果梨红果皮中花青素提取条件对其提取量的影响。以南果梨红果皮中花青素提取量为技术指标, 采用正交试验法, 考察各工艺条件对提取效果的影响, 确定了南果梨红果皮中花青素提取的优选条件。结论表明, 0.1% HCl- 甲醇溶液(pH4.0)以 1:4 的料液比混合后, 在 50℃下浸提两次, 共计 240min, 提取量可达 40mg/g, 其检测数据可靠, 提取方法简单合理。

关键词: 南果梨红果皮; 花青素; 正交试验; 提取

Optimization of Extraction Technique of Anthocyanidin from Red Peel of Nanguo Pear

CHEN Hua¹, XIN Guang^{1,2,*}, ZHANG Bo¹, YANG Jia-ying¹

(1. Department of Chemistry, Anshan Normal University, Anshan 114007, China;

2. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective: To explore the extraction technology of anthocyanidin from red peel of Nanguo pear in Anshan city of Liaoning province. Methods: Effects of several factors, such as extraction solvent composition, extraction times, temperature, extraction time, ratio of material to extraction solvent and pH value of extraction solvent on anthocyanidin yield, and then other four key factors except extraction solvent composition and extraction times were optimized through orthogonal test. Results: The optimum extraction process of anthocyanidin is as following: extracting red peel of Nanguo pear with 0.1% HCl-methanol solution at pH 4.0 at a ratio of material to extraction solvent of 1:4 twice at 50 °C for 240 min, and under the above process the anthocyanidin yield reaches 40 mg/g. Conclusion: This extraction technique is simple and reasonable, and the detected data are credible.

Key words: red peel of Nanguo pear; anthocyanidin; orthogonal test; extraction

中图分类号: Q949. 95

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)08-0097-04

南果梨俗称安果梨, 属于秋子梨(*Pyrus Ussuriensis* Maxim)系统中的优良品种, 是辽宁省鞍山、海城、辽阳东部低山丘陵地区的特产水果。普遍认为: 果皮色泽的显现是果皮叶绿素降解、花青苷和类胡萝卜素发育的结果^[1]。花色素苷是南果梨果实色素的主要成分, 其成分与含量不仅决定南果梨果皮是否呈现红色和商品价值, 同时也影响南果梨的营养价值和风味^[2]。花色素苷不仅使果实色彩鲜艳, 而且具有抗氧化、防治心血管疾病等重要功能^[3]。本实验拟对南果梨红果皮中花青素提取工艺进行初步研究, 并为进一步开发利用天然色素及其功效提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

南果梨由鞍山市千山王果品生产基地提供, 实验选用果皮呈红色部分, 直接剥离待用。

HCl、甲醇、乙醇、柠檬酸(都为分析纯) 北京化工厂。

1.2 仪器与设备

723型分光光度计 上海第三分析仪器厂; HCTP11B5 架盘药物天平 北京医用天平厂; TU-1201 紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器厂; DK-98- II 水浴锅 常州国华电器有限公司。

1.3 方法

本实验选择 65% 乙醇、5% 柠檬酸-水溶液、45% 柠檬酸-水溶液、0.1% HCl- 甲醇溶液、0.05% HCl- 甲醇溶液、0.1% HCl- 乙醇溶液、0.05% HCl- 乙醇溶液、0.5mol/L HCl 溶液 8 种溶液为浸提剂。采用料液比 1:50、

收稿日期: 2008-06-14

基金项目: 鞍山市科技局基金项目(2005DX23); 鞍山师范学院 2005 年院级科研基金项目(2005012)

作者简介: 陈华(1978-), 女, 讲师, 硕士, 主要从事生物有机化学分析研究。E-mail: chenhu1179@163.com

* 通讯作者: 辛广(1966-), 男, 教授, 博士, 主要从事食品生物技术研究。E-mail: xguang212@163.com

室温下浸提 24h 的条件, 用紫外可见分光光度计对 8 种浸提溶液在 400~700nm 处的吸收情况进行扫描, 确定最佳提取剂。然后研究所选提取剂及配比、浸提次数、浸提温度、浸提时间、料液比及提取剂 pH 值对南果梨红果皮中花青素的影响, 以此为基础, 对料液比、时间、温度、pH 值四个参数进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计, 并针对正交试验的结果进行验证实验。

$$\text{花青素提取量}(\text{mg/g}) = \frac{1000AV}{abW}$$

式中: a 为花青素的吸光系数, $a=0.0775\text{L/g} \cdot \text{cm}$; b 为液层厚度(通常为比色皿的厚度), cm ; A 为最佳提取条件下的吸光度; W 为样品质量, g ; V 为提取液体积, L 。

2 结果与分析

2.1 提取剂的选择

对 8 种提取液进行扫描结果表明花青素在浸提剂 0.1% HCl- 甲醇溶液、0.05% HCl 甲醇溶液、0.1% HCl- 乙醇溶液、0.05% HCl- 乙醇溶液的最大可见光区吸收峰分别在 525、519、528、520nm, 如图 1 所示。可见, 较高的盐酸浓度有助于花青素的提取, 而甲醇比乙醇的提取率也更高, 因本实验是确定最佳工艺条件, 所以所用 0.1% HCl- 甲醇溶液为最佳浸提剂。

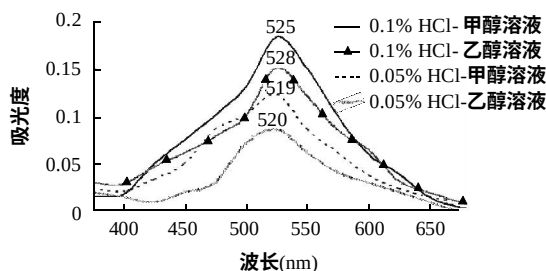


图 1 不同提取液在可见区间的吸收图谱

Fig.1 Visible absorption spectra of anthocyanidin in different extraction solvents

2.2 浸提次数的影响

表 1 不同浸提次数的吸光度

Table 1 Absorbance at 525-nm wavelength of anthocyanidin extracted with 0.1% HCl-methanol once, twice and thrice

次数(次)	1	2	3
A_{525}	0.117	0.127	0.096

在温度 20℃、南果梨果皮 1g、时间 30min 和料液比 1:10 的情况下, 考察原料的花青素提取受浸提次数的影响情况(表 1)。由表 1 可见, 浸提 2 次的提取率较高,

其吸光度可以达到 0.127, 经过 3 次浸提后, 溶液颜色明显下降, 且提取率较低, 因此确定试验过程中浸提次数为 2 次。分析原因可能是果皮中花青素含量较少, 简单增加浸提次数, 并不能提高提取率。

2.3 浸提温度的影响

在南果梨果皮 1g、时间 30min、浸提次数 2 次和料液比 1:10 的情况下, 测定原料的花青素提取受温度的影响情况, 确定了温度与浸提率的关系(图 2)。

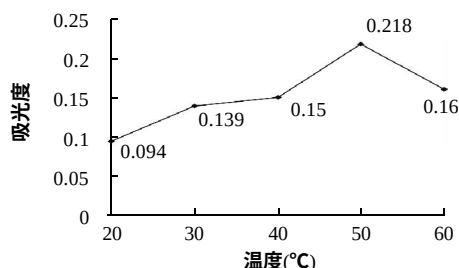


图 2 温度对浸提效果的影响

Fig.2 Effects of temperature on extraction yield of anthocyanidin

由图 2 可知, 随着浸提温度的增加, 提取率有所增加, 但高于 50℃后, 提取率下降。分析其原因可能是花青素稳定性明显的受到温度影响, 过高的温度不能提高其提取率, 而且会破坏花青素的结构, 从而导致花青素提取率的降低。

2.4 浸提时间的影响

在南果梨果皮 1g、温度 20℃、浸提次数 2 次和料液比 1:10 的情况下, 考察原料的花青素提取受浸提时间的影响情况(图 3)。

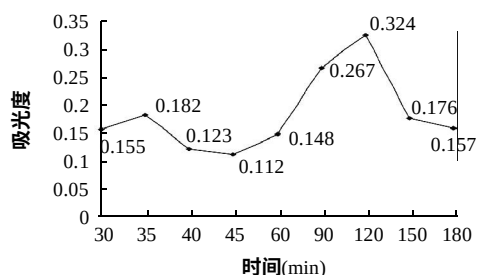


图 3 时间对浸提效果的影响

Fig.3 Effects of extraction time on extraction yield of anthocyanidin

由图 3 可知, 随着浸提时间的增加, 提取率呈现波动性增长, 在 45min 后提取率随浸提时间的增加而增高, 120min 时提取率达到最大值而后逐渐降低。分析原因可能是果皮中花青素提取完全后, 再增加浸提时间, 由于其本身稳定性差发生分解, 而使其提取率降低。

2.5 料液比的影响

在南果梨果皮 1g、温度 20℃、时间 30min、浸提次数 2 次的情况下,考察原料的花青素提取受料液比的影响情况,并确定了不同料液比与浸提率的关系(图 4)。

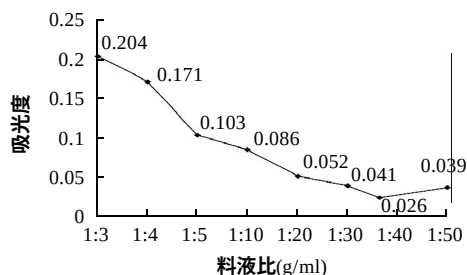


图 4 料液比对浸提效果的影响

Fig.4 Effects of ratio of material to extraction solvent on extraction yield of anthocyanidin

由图 4 可见,随着料液比的增大,花青素的提取率逐渐降低,较低的料液比既利于花青素的提取,也有利于实际生产中节能减耗。

2.6 pH 值的影响

在南果梨果皮 1g、温度 20℃、时间 30min、浸提次数 2 次和料液比 1:10 的情况下,考察原料的花青素提取受 pH 值的影响情况。由于浸提液原液为 pH4.0 酸性溶液,选择 pH 值小于 4.0 的溶液进行试验,并确定了 pH 值与浸提率的关系(图 5)。pH 值对浸提率的影响呈现波动变化,但在 pH2.5 左右提取率逐渐升高, pH4.0 时达到最大。由于花青素在中性和弱碱性溶液中不太稳定,因此,提取过程通常要采用酸性溶剂,确定即原液的 pH4.0 为最优 pH 值。

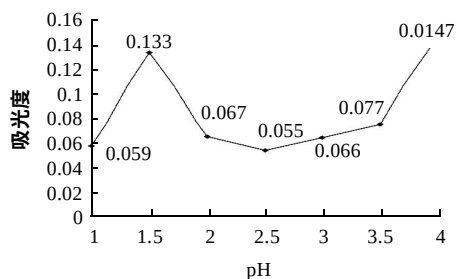


图 5 pH 值对浸提效果的影响

Fig.5 Effects of pH value of extraction solvent on extraction yield of anthocyanidin

2.7 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

对以 0.1% HCl 甲醇溶液为浸提剂时的四个参数,既料液比、时间、温度、pH 值进行了 $L_9(3^4)$ 正交试验及结果见表 2、3。

表 2 正交试验因素水平表

Table 2 Factors and levels of orthogonal test on extraction technique of anthocyanidin

水平	因素			
	时间(min)	温度(℃)	料液比(g/ml)	pH
1	35	30	1:3	1.5
2	90	40	1:4	3.5
3	120	50	1:5	4.0

表 3 正交试验结果

Table 3 Results and range analysis of orthogonal test

水平	因素				A_{525}
	时间(min)	温度(℃)	料液比(g/ml)	pH	
1	1	1	1	1	0.096
2	1	2	2	2	0.247
3	1	3	3	3	0.300
4	2	1	2	3	0.336
5	2	2	3	1	0.218
6	2	3	1	2	0.321
7	3	1	3	2	0.242
8	3	2	1	3	0.420
9	3	3	2	1	0.357
K_1	0.642	0.673	0.837	0.670	2.535
K_2	0.875	0.885	0.939	0.809	
K_3	1.018	0.977	0.759	1.056	
k_1	0.214	0.224	0.279	0.223	
k_2	0.292	0.295	0.313	0.270	
k_3	0.339	0.326	0.253	0.352	
极差	0.126	0.101	0.060	0.129	

由正交试验极差分析可知,四个影响因素中,对花青素提取率的影响顺序是 $D > A > B > C$,即 pH 值 > 时间 > 温度 > 料液比。其中 D_3 、 A_3 最好, B 和 C 的影响越小越好,考虑能源及原料等因素,选择 pH4.0, 时间 120min、温度 50℃、料液比 1:4, $A_3B_3C_2D_3$ 组合并不在上述正交试验设计里,需另做一组正交试验加以验证。

2.8 验证实验结果

根据组合 $A_3B_3C_2D_3$ 设计的正交因素表及正交试验结果见表 4、5。通过表 5 可以验证 $A_3B_3C_2D_3$ 组合的吸光度最大为最佳组合。

综合以上分析可知,南果梨皮中花青素的最佳提取工艺为:以 0.1% HCl- 甲醇溶液(pH4)为浸提剂,在温度 50℃的情况下,以 1:4 的料液比浸提两次共计 240min。经计算,花青素的提取量可以达到 40mg/g。

表 4 正交试验因素水平表

Table 4 Factors and levels of orthogonal test for validating optimum condition combination obtained through range analysis in Table 3

水平	因素			
	时间(min)	温度(℃)	料液比(g/ml)	pH
1	35	30	1:3	4.0
2	90	40	1:4	3.5
3	120	50	1:5	1.5

表5 正交试验结果

Table 5 Results of orthogonal test for validating optimum condition combination

水平	因素				A ₃₂₅
	时间(min)	温度(°C)	料液比(g/ml)	pH	
1	1	1	1	1	0.372
2	1	2	2	2	0.299
3	1	3	3	3	0.182
4	2	1	2	3	0.175
5	2	2	3	1	0.316
6	2	3	1	2	0.360
7	3	1	3	2	0.382
8	3	2	1	3	0.194
9	3	3	2	1	0.391

3 结 论

花青素提取过程中的关键因素是溶剂及提取温度的选择。花青素在中性和弱碱性溶液中不太稳定,因此,提取过程通常要采用酸性溶剂,酸性溶剂在破坏植物细胞膜的同时溶解水溶性色素,最常用的提取溶剂是0.1%

盐酸-甲醇溶液^[2]。这与本实验的结果一致。花青素无论是在天然体系还是在模拟体系,其稳定性都会明显的受到温度影响。过高的温度不能提高其提取率,而且会破坏花青素的结构,从而导致花青素提取率的降低。

本实验对提取剂 pH 值、提取温度、提取时间以及料液比等方面进行单因素试验及正交试验。最终确定南果梨红果皮中花青素的最佳提取工艺为:以 0.1% HCl- 甲醇溶液(pH4)为浸提剂,在温度 50°C 的情况下,以 1:4 料液比浸提两次共计 240min。本实验初步研究了南果梨红果皮中花青素的提取工艺,可以用于生产实践中开发和利用,可提高南果梨的附加价值。

参考文献:

- [1] 王敬勉. 火棘色素的化学成分及性能研究[J]. 食品科学, 1992, 13(8): 4-6.
- [2] 初玉侠. 牵牛花色素提取及性质[J]. 食品科学, 1991, 12(5): 27-28.
- [3] BRIDLE P. Anthocyanins as natural food colors-selected aspects[J]. Food Chemistry, 1997, 58(1/2): 103-109.