

超声波提取乌饭树叶色素及其稳定性的研究



顾文秀¹, 谢为明¹, 夏文水², 朱传征³

(1. 江南大学 化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214036; 2. 江南大学 食品学院,
江苏 无锡 214036; 3. 华东师范大学 化学系, 上海 200062)

GU W X

摘要: 在单因素试验的基础上,用正交试验法确定了超声波提取乌饭树叶色素的最佳工艺条件。结果为:室温下,超声波频率 30 kHz,浸提时间 10 min,溶剂为 62% (体积分数)乙醇,液固比为 3.5:1(mL:g),浸提 1 次。超声波提取法与常规提取法相比有明显的优势,在各自的最佳工艺条件下,常规法提取率为 11.43%,而超声波法为 23.84%,且所用溶剂少,提取时间短,所得色素品质更高。此外对色素的稳定性进行了实验。乌饭树叶色素在酸性条件及低于 80℃ 时是稳定的;蔗糖对色素的降解作用不明显,而柠檬酸具有明显的增色和护色作用;当苯甲酸钠和山梨酸钾的质量分数高于 0.01% 时对色素有明显的降解作用。

关键词: 超声波提取;乌饭树;色素

中图分类号: TQ914.0657.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2417(2005)04-0074-05

ULTRASONIC EXTRACTION OF PIGMENT FROM LEAVES OF *VACCINIUM BRACTEATUM* THUNB.

GU Wen-xiu¹, XIE Wei-ming¹, XIA Wen-shui², ZHU Chuan-zheng³

(1. The School of Chemical & Material Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036 China;
2. The School of Food, Southern Yangtze University, Wuxi 214036 China;
3. Department of Chemistry, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract The optimal processing conditions for ultrasonic extraction of pigment from leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb. were obtained by single factor and orthogonal tests. The results are: 30 kHz ultrasonic wave, 62% (volume fraction) ethanol as solvent, the ratio of liquid to material is 3.5:1 (mL:g), extracting once for 10 min at room temperature. Ultrasonic extraction has a prime superiority over traditional one. The yield of ultrasonic extraction under optimal processing conditions is 23.84%, higher than that of traditional extraction 11.43%. Furthermore, ultrasonic extraction has advantages of shorter duration, less solvent and energy consumption, and improved quality of products. Moreover, the pigment is stable at pH value < 7.0 and temperature below 80°C. Sucrose has little effect on the stability of pigment while citric acid has considerable positive effect on increasing the color and luster, and keeping the stability of pigment. Sodium benzoate and potassium sorbate degrade the pigment quite obviously when their mass fraction are more than 0.01%.

Key words ultrasonic extraction; *Vaccinium bracteatum* Thunb.; pigment

21 世纪,随着食品、医药工业的发展,色素的需求量越来越大。与此同时,人们对食品的安全性也日益重视,天然食用色素将逐步取代对人体健康有害的合成食用色素^[1-4]。因此,研究天然色素的开发有着重要的意义。

乌饭树 (*Vaccinium bracteatum* Thunb.), 又名南烛,是越桔属常绿灌木。在我国江浙一带民间,农历四月初八,素有以乌饭树的嫩茎叶浸汁后染米蒸饭食用的习惯,故称乌饭,具有很高的营养价值,有“久服轻身,长年,令人不饥,变白去老”之称^[5]。因此研究乌饭树叶色素的提取有重要的实际意义。乌饭

树叶色素存在于植物组织细胞内,一般的机械破碎法很难将细胞有效地破碎,而化学破碎法则易造成提取物结构和性质的改变。常规色素提取法存在流程复杂、时间长、能耗大等缺点,不利于提高生产效益。而超声波是一种弹性机械波,利用超声振动能量,可以改变物质组织结构、状态、功能和加速这些改变的过程。若将其运用在固液萃取过程中,则可使细胞周围和细胞内产生环流,从而提高细胞壁和细胞膜的通透性^[6-11],起到强化萃取过程、有利于细胞内有效成分浸出的作用。本研究探讨了超声波对乌饭树叶色素提取的促进作用,希望能为改进乌饭树叶色素提取工艺、缩短提取时间、降低提取成本提供一些客观的实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 原料 乌饭树叶采自江苏省宜兴市屺亭镇,洗净,晾干,存于冰箱中备用。

1.1.2 仪器 电子天平,超级恒温水浴, KQ-100B 型台式超声波清洗器(100 W,江苏昆山市超声仪器公司), MUS-1002(100 W,深圳现代超声公司), RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.1.3 试剂 乙醇、HC↓NaOH、FeCl₃·6H₂O、柠檬酸、蔗糖、苯甲酸钠、山梨酸钾,均为分析纯。

1.2 色素的提取

1.2.1 乌饭树叶色素定性实验 分别称取两份等量的样品,破碎,加 3~5 倍的 70% (体积分数,下同)乙醇。一份直接研磨提取;一份研磨后,在超声波频率 30 kHz 超声波作用 20 min 提取,然后分别过滤,取适量定容于 50 mL 容量瓶中,取样进行紫外光谱扫描。参数设置为:光度模式, Abs 扫描速度,中速;光谱带宽, 2 nm;采样间隔, 0.50 nm。

1.2.2 标准曲线绘制 将乌饭树叶的浸提液,经过滤,浓缩,真空干燥,研磨后得乌饭树叶色素粉末。称取 0.5120 g 乌饭树叶色素粉末,用 70% 乙醇溶解后定容至 500 mL,得 1.024×10^{-3} g/mL 溶液。分别取上述色素溶液 4、8、12、16、20 mL,用 70% 乙醇定容至 25 mL,于 263 nm 测其吸光度值作标准曲线,得出乌饭树叶色素质量浓度 C (g/mL) 与吸光度 A 的线性回归方程式: $A = 720.67 \times C - 0.0175$, $R^2 = 0.9986$ 。色素的质量浓度在 0.1~1.0 mg/mL 范围内与吸光度呈现良好的线性关系。

1.2.3 乌饭树叶色素的常规提取方法 以浸提时间、乙醇体积分数、浸提温度、浸提次数、液固比等 5 个因素分别进行单因素试验拟定 4 个水平后,采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验表,设计 16 组工艺条件进行提取,每组工艺取样量一致,将提取的色素液用 70% 的乙醇定容到相同体积,在 263 nm 下测定色素溶液的吸光度 A ,代入回归方程式及下列公式,计算出色素的提取率 (Y),公式如下:

$$Y = (C \times V) / W \times 100\%$$

式中: V —定容体积, mL; W —干叶质量, g

1.2.4 乌饭树叶色素超声波提取 以超声波频率、超声波作用时间、乙醇体积分数、液固比 4 个因素拟定 3 个水平后,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验表,设计 9 组工艺条件进行试验,方法同 1.2.3 节。

1.3 色素稳定性实验

1.3.1 pH 值对色素的影响 分别取色素液 10 mL 于具塞刻度试管中,用 1.5 mol/L HCl 和 1.0 mol/L NaOH 溶液调 pH 值分别为 1.0、3.0、5.0、7.0、9.0、11.0 和 13.0 观察色素液颜色的变化,并在 263 nm 下分别测其吸光度。

1.3.2 温度对色素的影响 分别取色素液 10 mL 于具塞刻度试管中,然后再将具塞刻度试管分别置于 20、40、50、60、70 和 80 °C 的恒温水浴中保温 1 h 后取出,冷却,在 263 nm 处测其吸光度。

1.3.3 FeCl₃ 对色素的影响 分别取色素 10 mL,配制使其中 FeCl₃ 浓度分别为: 5.0×10^{-4} 、 1.0×10^{-3} 、 2.0×10^{-3} 、 3.0×10^{-3} 、 4.0×10^{-3} 和 5.0×10^{-3} mol/L,观察现象。

1.3.4 蔗糖和柠檬酸对色素的影响 将蔗糖加入到 10 mL 的色素溶液中,使其质量分数分别为 0.5%、1.0% 和 5.0%。将柠檬酸配制成质量分数为 0.1%、0.5% 和 1.0% 的溶液,将上述溶液放

置 0 和 1 h 在 263 nm 波长下测其吸光度。

1.3.5 防腐剂对色素的影响 将苯甲酸钠和山梨酸钾分别配制成质量分数为 0.001%、0.01%、0.2% 和 0.5% 的溶液。放置 0、1 和 2 h 后, 在 263 nm 波长下测其吸光度。

2 结果与分析

2.1 乌饭树叶色素提取方法的确定

2.1.1 两种处理方法下乌饭树叶色素的吸收光谱 结果如图 1 所示。从图 1 看出两方法提取的色素成分一致, 超声波法的提取率更高。

2.1.2 常规提取方法最佳条件的确定 根据单因素试验确定正交试验各因素水平如下: A 浸提时间 (min): 15、45、90、150; B 乙醇体积分数: 0、30%、50%、70%; C 温度 (°C): 20、30、50、75; D 浸提次数: 1、2、3、4; E 液固比 (mL : g 下同): 2.0 : 1、2.5 : 1、3.0 : 1、3.5 : 1。试验结果表明, 影响乌饭树叶色素提取的因素主次为 B > A > C > D > E, 用计算机对正交试验结果进行二次多项式回归分析并通过拟合, 最终优化后的工艺条件为: 浸提时间 41 min, 溶剂为 70% 乙醇, 温度 73 °C, 浸提次数为 1 次, 液固比为 3.5 : 1。最佳工艺条件下的提取率为 11.45%, 实验验证值为 11.43%。

2.1.3 超声波提取最佳条件的确定 设计 4 因素 3 水平的正交试验来优化超声波提取法的工艺条件, 试验结果见表 1。由表 1

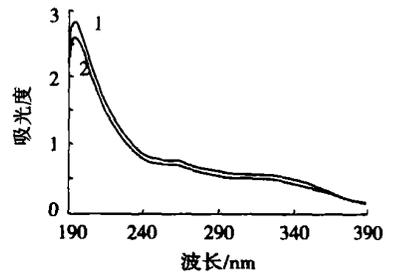
看出, 影响超声波提取的因素主次为 C > A > D > B, 对正交试验结果进行二次多项式回归分析并通过拟合, 最终优化后的工艺条件为: 在室温下, 超声波频率 30 kHz, 浸提时间 10 min, 溶剂为 62% 乙醇, 液固比 3.5 : 1 的条件下, 浸提 1 次, 最大提取率可达 24.01%。实验验证值为 23.84%。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计表及结果

Table 1 Orthogonal test design $L_9(3^4)$ and its results

试验号 test No	A 超声波频率 /kHz ultrasonic frequency	B 时间 /min time	C 乙醇体积分数 % ethanol volume fraction	D 液固比 liquid: material	提取率 % yield
1	25	10	0.0	2.5 : 1	12.49
2	25	20	0.5	3.0 : 1	23.70
3	25	40	0.7	3.5 : 1	16.29
4	40	10	0.5	3.5 : 1	15.23
5	40	20	0.7	2.5 : 1	8.64
6	40	40	0.0	3.0 : 1	11.80
7	80	10	0.7	3.0 : 1	14.23
8	80	20	0.0	3.5 : 1	11.06
9	80	40	0.5	2.5 : 1	14.44
K_1	52.480	41.950	35.350	35.570	
K_2	35.670	43.400	53.370	49.730	
K_3	39.730	42.530	39.160	42.580	
k_1	17.493	13.983	11.783	11.857	
k_2	11.890	14.467	17.790	16.577	
k_3	13.243	14.177	13.053	14.193	
R	5.603	0.483	6.007	4.720	

2.1.4 常规提取法和超声波提取法效果对比 在各自的最佳工艺条件下比较其提取率, 结果见表 2。表 2 结果表明, 超声波法提取率是常规法的 2.09 倍, 且所用溶剂少, 提取时间短, 可节约成本, 另外因为



1. 超声波法 ultrasonic method;
2. 常规法 traditional method

图 1 不同处理方法对乌饭色素提取的影响

Fig 1 Effects of different extraction methods of pigment from leaves of *V. bracteatum* Thunb

无需加热, 所得色素品质更高。

表 2 常规提取法和超声波提取法效果对比

Table 2 Comparison of results between traditional extraction and ultrasonic extraction

提取方法 extraction methods	乙醇体积分数 % ethanol volume fraction	提取时间 /min time	温度 /℃ temp	液固比 liquid : material	浸提次数 times	提取率 % yield
常规法 traditional	70	41	73	3.5 : 1	1	11.43
超声波法 ultrasonic	62	10	室温 room temp	3.5 : 1	1	23.84

2.2 乌饭树叶色素的稳定性

2.2.1 pH 值的影响 pH 值为 1.3、5.7、9.11 和 13 时, 色素的吸光度值分别为 0.572、0.498、0.479、0.378、0.578、0.696 和 0.915。可见该色素随着 pH 值的上升, 其吸光度值先是逐渐降低, 但 pH 值至 8~9 时, 吸光度值显著增高。pH 值 < 7 时, 色素为橙红色, 当 pH 值升至 7 时, 色素颜色变浅, 为浅橙色, 但 pH 值 > 7 时, 色素颜色变深, 为暗红色。实验表明, 乌饭树叶色素发色物结构对酸、碱极为敏感^[12-13]。

2.2.2 温度的影响 不同温度下放置 0 h, 乌饭树叶色素的吸光度值均为 0.693, 放置 1 h 后, 吸光度值发生变化, 20℃ 时 0.732, 40℃ 时 0.739, 60℃ 时 0.752, 80℃ 时 0.996。由此表明, 色素在 80℃ 以下吸光度值变化不大, 尤其是 60℃ 以下。温度高于 80℃ 时色素吸光度值明显增大, 颜色明显变深, 但无沉淀、混浊现象。

2.2.3 FeCl₃ 的影响 FeCl₃ 在 $(1.0 \sim 5.0) \times 10^{-3}$ mol/L 浓度范围内, 短时间内即出现明显絮状沉淀, 溶液颜色成褐绿色, 随浓度增大, 沉淀更明显。含 FeCl₃ 浓度达 5.0×10^{-4} mol/L 的色素溶液絮状沉淀虽不明显, 但溶液颜色变为淡褐绿色, 这一现象表明, FeCl₃ 能影响乌饭树叶色素的稳定性。所以在色素应用和保存时应避免使用铁制容器。

2.2.4 蔗糖、柠檬酸的影响 不同质量分数的蔗糖 (0.5%、1.0%、5.0%)、柠檬酸 (0.1%、0.5%、1.0%) 与色素混合, 放置不同的时间 (0.1 h), 测其吸光度值。结果表明, 不同质量分数的蔗糖对乌饭树叶色素无明显不良影响。柠檬酸对色素有一定的增色作用, 并且随着质量分数的增加、时间的延长, 增色作用在增加。

2.2.5 防腐剂的影响 色素与不同质量分数 (0.001%、0.01%、0.2%、0.5%) 的苯甲酸钠和山梨酸钾混合, 放置不同的时间 (0.1 和 2 h), 测其吸光度值。结果表明, 苯甲酸钠和山梨酸钾对色素都有一定的降解作用。质量分数 < 0.01% 时降解作用不明显, 但随着质量分数的增大, 降解作用逐渐显著, 所以防腐剂在含有乌饭树叶色素的食品中应用量越少越好。

3 结论

3.1 超声波提取乌饭树叶色素的最佳条件: 室温、超声波频率 30 kHz, 浸提时间 10 min, 溶剂为 62% 乙醇、液固比为 3.5 : 1 (mL : g)、浸提次数为 1 次。在各自的最佳工艺条件下比较其提取率, 常规法为 11.43%, 而超声波法为 23.84%, 且所用溶剂少, 提取时间短, 可节约成本, 另外因为无需加热, 所得色素品质更高。

3.2 研究表明, pH 值对乌饭树叶色素影响明显, 该色素在酸性条件下稳定; 在温度 < 80℃ 时乌饭树叶色素也是稳定的; 蔗糖对色素稍有降解作用, 但不明显, 柠檬酸具有明显的增色和护色作用; 苯甲酸钠和山梨酸钾对色素都有一定的降解作用, 并且质量分数 > 0.01% 时降解作用十分明显。酸、碱、加热对色素稳定性均有影响。

参考文献:

- [1] MEGGROSS H. Food colours: an international perspective[J]. The Manufacturing Confectioner, 1995, 75(3): 59-65.
[2] WALFORD J. Historical Development of Food Colouration[M]. In: Developments in Food Colours, 1980, 1-25.

- [3] BASF HEALTH & NUTRITION. A vitamin and colourant [J]. Food Ingredients and Analysis International 1997, 19(9): 28-30.
- [4] BOYD W O. Ingredients update: what's new with natural colourants? [J]. Cereal Foods World 1998, 43(9): 720-722
- [5] 李时珍. 本草纲目 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989
- [6] 李巧玲, 陈学武, 李琳. 微波条件下提取天然色素的研究 [J]. 食品工业科技, 2002, 23(6): 28-31.
- [7] 徐雅琴, 于泽源, 邵铁华. 草莓红色素稳定性的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2000, 26(4): 13-16
- [8] 高福成, 王海鸥, 郑建仙, 等. 现代食品工程高新技术 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000.
- [9] 郭孝武. 用电导率法研究低频超声提取小檗碱成分的产额 [J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(5): 57-59
- [10] 宋小妹, 崔九成, 强军, 等. 超声法提取绞股蓝总皂甙的工艺研究 [J]. 中成药, 1998, 20(5): 4-5
- [11] 王昌利. 超声提高薯蓣皂甙得率的实验研究 [J]. 中成药, 1994, 16(4): 7-8
- [12] 周兆祥, 郭维华, 王伯钱. 乌饭树色素的研究 [J]. 食品与发酵工业, 1989, (6): 54-56
- [13] 黄小凤, 龚盛昭, 李中林. 乌饭树果红色素的研究——乌饭树果红色素的性能研究 [J]. 广东化工, 1999, (2): 57-58

(上接 42 页)

美国《EI》收录本刊 2005 年第 1~2 期发表的文章题录

文章题目	作者姓名	年(期): 页	EI 登录号
热处理方式对苯甲基化木材制备的聚氨酯树脂微相分离的影响	李厚萍, 等	2005. 25(1): 105-108	EIP05199093015
GC-MS 法测定余杭栝楼根块的挥发油成分	胡合姣, 等	2005. 25(1): 109-111	EIP05199093016
微波预处理稻草糖化工艺研究	朱圣东, 等	2005. 25(1): 112-114	EIP05199093017
真菌漆酶分子生物学研究进展	赵敏, 等	2005. 25(1): 115-120	EIP05199093018
金合欢基溴合成角鲨烯反应及异构体形成机理的研究	孙震, 等	2005. 25(2): 1-5	EIP05289209326
多酚羧酸合成功能高分子材料研究(I)——没食子酸与纤维素的酯化合成及产物功能特性试验	陈笏鸿, 等	2005. 25(2): 6-10	EIP05289209327
竹材热解动力学研究	陈纪忠, 等	2005. 25(2): 11-15	EIP05289209328
木材炭化机理的 FT-IR 光谱分析研究	江茂生, 等	2005. 25(2): 16-20	EIP05289209329
儿茶素与 C_6^{6+} 氧化还原反应的影响因素及动力学特征	王应红, 等	2005. 25(2): 21-24	EIP05289209330
金属离子催化生物质热裂解规律及其对产物的影响	廖艳芬, 等	2005. 25(2): 25-30	EIP05289209331
纤维素硫酸钠的相对分子质量与其抗凝血活性的构效关系研究	王兆梅, 等	2005. 25(2): 31-34	EIP05289209332
雷公藤二萜成分研究	陈玉, 等	2005. 25(2): 35-38	EIP05289209333
脱色用木质颗粒活性炭的制备研究	王志高, 等	2005. 25(2): 39-42	EIP05289209334
纳米级固体超强酸 SO_4^{2-}/ZrO_2 催化合成乙酸苄酯的研究	张加研, 等	2005. 25(2): 43-46	EIP05289209335
竹材列管移动床连续干馏炭化的工业试验	胡福昌, 等	2005. 25(2): 47-51	EIP05289209336
竹屑制备木糖的工艺研究	常雅宁, 等	2005. 25(2): 52-54	EIP05289209337
阳离子聚合物施胶增效剂的制备与应用	褚夫强, 等	2005. 25(2): 55-58	EIP05289209338
木聚糖相对分子质量分布对里氏木霉合成木聚糖酶的影响	毛连山, 等	2005. 25(2): 59-62	EIP05289209339
同步荧光检测虎杖提取物中白藜芦醇含量的新方法	张敏, 等	2005. 25(2): 63-66	EIP05289209340
纤维素分解菌的筛选及鉴定	蔡燕飞, 等	2005. 25(2): 67-70	EIP05289209341
木糖醇发酵液脱色条件的研究	方祥年, 等	2005. 25(2): 71-74	EIP05289209342
萘烯邻苯二酚树脂-生漆共聚涂料研究(I)——萘烯邻苯二酚树脂-生漆共聚涂料的合成及性能研究	雷福厚, 等	2005. 25(2): 75-79	EIP05289209343
滇黄精多糖 I 的分离纯化及结构研究	吴群绒, 等	2005. 25(2): 80-82	EIP05289209344
超临界 CO_2 萃取大红袍花椒挥发油的研究	龚祝南, 等	2005. 25(2): 83-86	EIP05289209345
内切纤维素酶 I 在混合办公废纸酶法脱墨中的作用	吴淑芳, 等	2005. 25(2): 87-90	EIP05289209346
漆酚铁聚合物-醇酸树脂互穿聚合物网络涂料的研究	刘建桂, 等	2005. 25(2): 91-94	EIP05289209347
纤维板防水剂用石蜡-松香乳液的组成及其性能研究	吴宗华, 等	2005. 25(2): 95-98	EIP05289209348
泡桐花精油化学成分分析(英文)	王晓, 等	2005. 25(2): 99-102	EIP05289209349
电位滴定法测定单宁胺甲基化产物中的甲醛含量	方桂珍, 等	2005. 25(2): 103-106	EIP05289209350
三种蕨类植物挥发油的化学成分研究	程存归, 等	2005. 25(2): 107-110	EIP05289209351
正交试验法优选辣椒中辣椒素提取工艺的研究	高艺, 等	2005. 25(2): 111-114	EIP05289209352
气相硼法木材防腐处理的研究	姜萍, 等	2005. 25(2): 115-118	EIP05289209353
长叶竹柏挥发油的化学成分研究	何道航, 等	2005. 25(2): 119-121	EIP05289209354
酸角综合利用的现状与发展趋势	赵一鹤, 等	2005. 25(2): 122-126	EIP05289209355