

doi : 10. 16473/j. cnki. xblykx1972. 2019. 01. 012

超声辅助提取文冠果种皮色素工艺及其性能研究*

李世映, 唐志书, 黄文静, 宋忠兴, 张严磊

(陕西中医药大学药学院/陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西省创新药物研究中心, 陕西 咸阳 712083)

摘要: 以陕西富县文冠果种皮为原料, 研究超声辅助提取法对文冠果种皮色素产率的影响, 并对其稳定性进行研究。在单因素试验的基础上, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法, 探讨超声温度 (A)、料液比 (B)、超声功率 (C)、超声时间 (D) 对文冠果种皮色素提取效率的影响, 并在提取工艺研究的基础上, 研究了热、光、酸碱度及氧化剂对文冠果种皮色素稳定性的影响。结果表明, 超声辅助提取文冠果种皮色素的最佳工艺条件为: 提取温度 90℃, 料液比 1 : 30g/mL, 超声功率 80W, 提取时间 50min, 最佳条件下文冠果种皮色素的提取率最高可达 23.17%, 所得最终产品为黑褐色的不定形粉末。文冠果种皮色素对热、光和酸碱性都具有很好的稳定性, 氧化剂对该色素有增色作用。研究结果为文冠果资源的综合开发利用及天然来源色素的研发提供参考。

关键词: 超声辅助; 文冠果; 种皮色素; 提取工艺; 性能研究

中图分类号: S 682 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-8246 (2019) 01-0070-06

Ultrasonic Assisted Extraction Process of Pigment from Husk of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge Seed and its Properties

LI Shi-ying, TANG Zhi-shu, HUANG Wen-jing, SONG Zhong-xing, ZHANG Yan-lei

(College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resource Industrialization, Shaanxi Research Centre on Discovery & Innovation of New Medicine, Xianyang Shaanxi 712083, P. R. China)

Abstract: The extraction conditions of pigment from husk of *Xanthoceras sorbifolia* seed were studied by single factor experiment and optimized by orthogonal design, and the stability of the pigment was analyzed. The results showed that the optimized extraction conditions were: 90℃, ratio of material to liquid of 1 : 30, ultrasonic power of 80W and extracted for 50min. Under this condition, the extraction rate reached to 23.17%, and the final product was amorphous powder with black-brown. It was found that pigment from husk of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge seed has well stability to heat, light and acid-base, and the oxidant can enhance the color of the pigment.

Key words: ultrasonic assisted extraction; *Xanthoceras sorbifolia* Bunge; pigment from seed husk; extraction conditions; properties study

文冠果 (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge) 为无患子科 (Sapindaceae) 文冠果属^[1]植物, 是我国特有的珍稀木本油料作物, 种仁富油脂油, 出油率高达 53.6% - 70%^[2]。文献报道文冠果果仁、果壳及叶子中含有黄酮类、三萜皂苷类、甾类、香豆素类等多种化学成分^[3-5], 并具有抗炎、抗肿瘤等多方

面的药理作用^[6-9]。文冠果种皮生物质重量占到种子的 40% 以上, 大多数种皮被作为文冠果油生产过程中的废弃物而丢弃。本项目组研究人员前期利用文冠果种皮制备了木糖^[10], 实现了文冠果种皮的高值化开发利用。文冠果种皮呈黑褐色, 是提取色素的天然资源^[11-14], 但到目前为止, 未见有文

* 收稿日期: 2018-06-22

基金项目: 陕西省科技统筹创新工程计划项目 (2016KTTSSF01-06-01)。

第一作者简介: 李世映 (1993-), 男, 硕士, 主要从事中药药剂研究。E-mail: 15191071929@163.com

通讯作者简介: 张严磊 (1984-), 男, 博士, 主要从事中药资源综合循环开发利用研究。E-mail: nwuzyl@163.com

冠果种皮色素提取的相关研究报道。与传统的提取方法相比，超声辅助提取方法具有效率高、产率高等优势，因此广泛用于天然产物的提取工艺中^[14]。综合以上原因，本文以陕西富县产文冠果为材料，研究超声辅助提取文冠果种皮色素的最佳工艺，并对其稳定性进行考察，以期为文冠果资源的综合开发利用提供科学依据与理论支持，同时为天然色素提供新的来源途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

试验材料 文冠果采自陕西富县，经处理去仁，种皮粉碎备用，试剂均为国产分析纯。

试验仪器 HH-4 型电热恒温水浴锅（北京科伟永兴仪器有限公司）；KQ-250DA 超声波清洗仪（上海昆山超声仪表厂）；SHB-Ⅲ 循环水式多用真空泵（郑州长城科工贸有限公司）；FW-1000AD 型快速开盖高速万能粉碎机（天津鑫博得仪器有限公司）；TGL-20B 快速离心机（上海安亭科学仪器厂）；UV 2600（日本岛津）。

1.2 试验方法

1.2.1 文冠果种皮色素提取工艺

参照课题组之前的方法^[14]，称取文冠果种皮粉 5.0g，加入 0.1mol/L 氢氧化钠溶液，超声提取，提取完成后真空抽滤，滤液用 1% 的稀盐酸调节 pH 接近中性，石油醚萃取→减压浓缩→真空干燥→粉碎得文冠果种皮色素，最终产物为黑褐色的无定形粉末。

种皮色素产率(%) = 干燥后色素质量(g)/干燥的种皮样品质量(g) × 100%。

1.2.2 单因素试验

精确称取文冠果种皮粉末 5.0g，共计 21 份，进行单因素提取其色素试验，比较不同因素对文冠果种皮色素得率的影响。

(1) 时间对种皮色素提取率的影响 分别称取文冠果种皮粉样品 5.0g 共 6 份，在 100mL 1mol/L 氢氧化钠溶液中于 50℃、超声功率 50W 分别提取 10min、20min、30min、40min、50min、60min。

(2) 料液比对种皮色素提取率的影响 分别称取文冠果种皮粉样品 5.0g 共 6 份，在 1mol/L 氢氧化钠溶液中于 50℃、超声功率 50W 按料液比为 1 : 10g/mL、1 : 15g/mL、1 : 20g/mL、1 : 25g/mL、1 : 30g/mL 提取 30min。

(3) 提取温度对色素提取率的影响 分别称取文冠果种皮粉样品 5.0g 共 5 份，在 100mL 1mol/L 氢氧化钠溶液中于超声功率 50W 分别在 50℃、60℃、70℃、80℃、90℃ 提取 30min。

(4) 超声功率对种皮色素提取率的影响 分别称取文冠果种皮粉样品 5.0g 共 6 份，在 100mL 1mol/L 氢氧化钠溶液中于 50℃ 分别在超声功率 50W、60W、70W、80W、90W、100W 提取 30min。

单因素试验每次试验平行进行 3 次，结果取平均值。

1.2.3 正交试验

根据 1.2.2 中单因素试验的结果，采用 L₉ (3⁴) 正交表对提取工艺进行优化。正交试验因素与水平见表 1。

表 1 正交试验结果

Tab. 1 The results of orthogonal design

水平	A(温度/℃)	B(料液比/g·mL ⁻¹)	C(超声功率/W)	D(超声时间/min)	色素得率/%
1	1(70)	1(1 : 20)	1(80)	1(40)	10.80
2	1(70)	2(1 : 25)	2(90)	2(50)	15.20
3	1(70)	3(1 : 30)	3(100)	3(60)	16.40
4	2(80)	1(1 : 20)	2(90)	3(60)	12.00
5	2(80)	2(1 : 25)	3(100)	1(40)	13.60
6	2(80)	3(1 : 30)	1(80)	2(50)	18.20
7	3(90)	1(1 : 20)	1(80)	2(50)	18.40
8	3(90)	2(1 : 25)	3(100)	3(60)	20.40
9	3(90)	3(1 : 30)	2(90)	1(40)	20.60
K ₁	14.13	13.73	16.47	15.00	
K ₂	14.60	16.40	15.93	17.27	
K ₃	19.80	18.49	16.13	16.27	
R	5.67	4.67	0.34	2.27	

1.2.4 工艺验证

根据前述经正交试验优化后的条件,对文冠果种皮色素进行再提取,考察其提取率。

1.2.5 色谱表征

将所得色素用纯水溶解后在200–800nm用UV2600扫描以获取其紫外可见光图谱,另取1mg色素样品与200mg KBr用玛瑙研钵研磨混合后压片使用FT-IR (Thermo Co, USA)在4000–500 cm^{-1} 波段处分析其吸收波长。

2 结果与分析

2.1 文冠果种皮色素提取工艺

2.1.1 提取时间对色素得率的影响

相同温度(50 $^{\circ}\text{C}$)、超声功率(50W)不同提取时间条件下,文冠果种皮色素得率见图1。

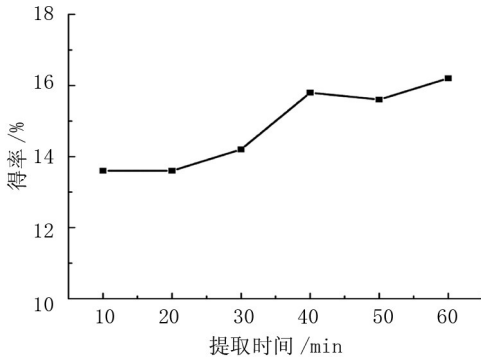


图1 提取时间对种皮色素得率的影响

Fig. 1 Effect of ultrasonic time on the yield

由图1可知,随着提取时间的增加,文冠果种皮色素的得率一直在提高,当提取时间超过50min之后,其得率增速开始放缓并趋于稳定,因此选择提取时间为50min来进行正交试验。

2.1.2 提取温度对色素得率的影响

相同超声功率(50W)、提取时间(30min)不同温度条件下,文冠果种皮色素得率结果见图2。

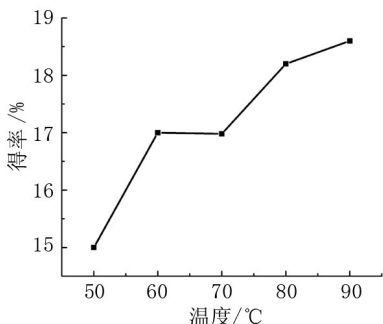


图2 温度对种皮色素得率的影响

Fig. 2 Effect of extraction temperature on the yield

随着提取温度的增加,文冠果种皮色素得率呈上升趋势,且在60–70 $^{\circ}\text{C}$ 与80–90 $^{\circ}\text{C}$ 阶段出现平台期,之后色素得率增加速度变缓,因此从节约能耗的角度,选取提取温度为80 $^{\circ}\text{C}$ 作为正交试验温度。

2.1.3 料液比对色素得率的影响

相同温度(50 $^{\circ}\text{C}$)、超声功率(50W)不同料液比条件下,文冠果种皮色素得率见图3。

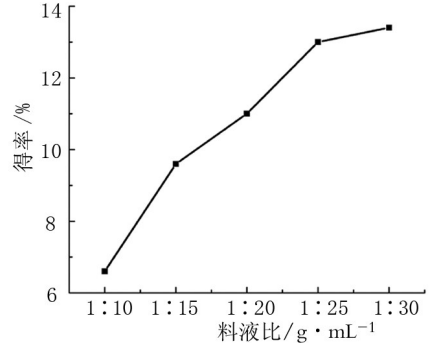


图3 料液比对种皮色素得率的影响

Fig. 3 Effect of the ratio of material to liquid on the yield

随着料液比的增加,文冠果种皮色素得率一直处于稳步上升阶段且在1:25之后增速开始变缓,推测是由于料液比的增加,溶液与物料之间传质速率会有一定的增加,但是当料液比增加到一定程度时,传质速率受料液比的影响较小,此时如若继续增加料液比,提取率并不会会有显著增加,而且还会消耗大量提取溶剂,因此选用料液比为1:25。

2.1.4 超声功率对色素得率的影响

相同温度(50 $^{\circ}\text{C}$)、提取时间(30min)不同超声功率条件下,文冠果种皮色素得率见图4。

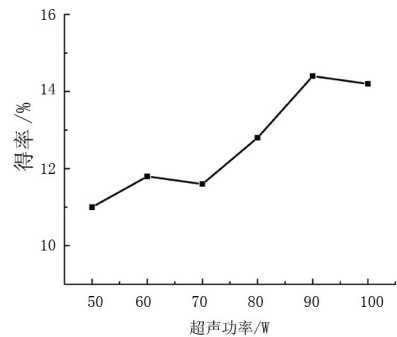


图4 超声功率对种皮色素得率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasonic power on the yield

随着超声功率的增加,色素得率在70W时略有下降,之后一直增加,当功率提高到90W时得率趋于稳定并有下降趋势,因此选用超声功率为90W为正交试验功率。

2.1.5 正交试验

在单因素试验的基础上，以提取温度、料液比、超声功率为因素设计 $L_9(3^4)$ 正交试验，试验结果见表2。每次试验平行进行3次，结果取平均值。

由正交试验结果可知，各因素对文冠果种皮色素提取得率的影响大小顺序为 $A>B>D>C$ ，因此确定最优提取工艺为 $A_3B_3C_1D_2$ ，即提取时间为50min，提取温度为 90°C ，料液比为 $1:30\text{g/mL}$ ，超声功率为80W。

2.1.6 最佳提取工艺条件验证

按单因素试验与正交试验确定的最佳提取工艺条件 $A_3B_3C_1D_2$ ，进行超声辅助提取文冠果种皮色素的最佳工艺条件验证，在最佳条件下文冠果种皮色素的提取率最高可达23.17%，工艺条件稳定；与传统的水热提取法对比，超声辅助提取的工艺效率明显高于传统的水热提取法（表2）。

表2 水热与超声辅助法对比试验

Tab. 2 Comparison of hot water extraction and ultrasonic assisted method

温度/ $^\circ\text{C}$	时间/ min	料液比/ $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	超声频率/ W	色素得率/%
90	50	1:30	80W	23.17
90	50	1:30	~	16.15

注：“~”表示水热法。

2.2 文冠果种皮色素表征

2.2.1 文冠果种皮色素紫外表征

由图5所示，文冠果种皮色素在273nm处有稳定最大吸收峰，所以本试验选取273nm作为文冠果种皮色素测定波长。

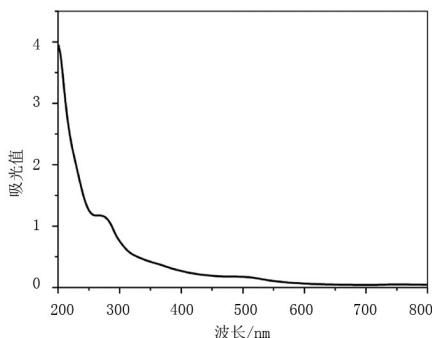


图5 色素紫外全波长扫描结果

Fig. 5 Full wavelength scanning results

2.2.2 文冠果种皮色素红外表征

色素红外扫描结果见图6。分析红外光谱图可知，文冠果种皮色素在 3263cm^{-1} 左右有一强而宽的特征吸收峰，推测是由于其中大量的缩合羟基伸缩振动所引起，当其中的羟基之间形成氢键缔合之后，其偶极矩增大，从而在 3263cm^{-1} 处表现出宽而强的峰，而位于指纹区的 1258cm^{-1} C-O 伸缩振动峰则与之相对应， 2918cm^{-1} 与 2850cm^{-1} 指示应为伯胺的 N-H 伸缩振动， 1565cm^{-1} 为芳环骨架振动， 1258cm^{-1} 为 C-O 伸缩振动峰，处于 826cm^{-1} 和 763cm^{-1} 处的两峰则显示 C-H 面外弯曲振动。

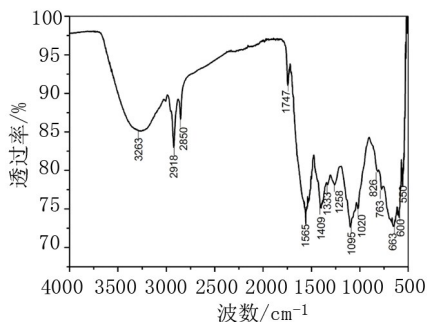


图6 色素红外扫描结果

Fig. 6 FT-IR scanning results

2.3 色素稳定性

2.3.1 光照对色素稳定性的影响

取 1mg/mL 色素水溶液3份，放置于日光灯下50cm处照射，分别于0h、12h、24h、36h、48h、60h、72h取样测定样品在273nm处吸光值。不同光照的文冠果种皮色素的吸光值见图7。

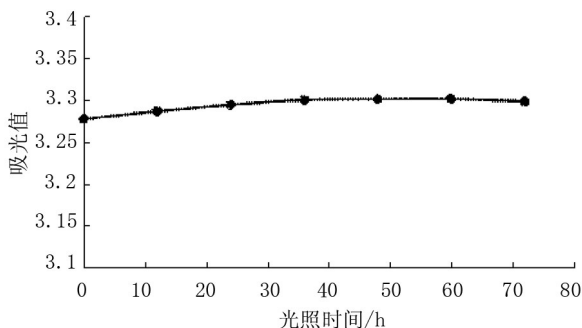


图7 光照对色素稳定性试验结果

Fig. 7 The results of light stability

由图7可知，文冠果种皮色素水溶液在灯光照射3d内吸光度仍然呈平缓曲线，变化微小，对光照的耐受性较好。

2.3.2 pH对色素稳定性的影响

分别取 10mL 1mg/mL 的色素水溶液, 分别用 0.1mol/L 的 HCl 和 0.1mol/L 的 NaOH 将色素溶液 pH 调至 pH=1-12, 共 12 个样品, 待其稳定 0.5h 之后于 273nm 处测定吸光值。不同 pH 的文冠果种皮色素的吸光值见图 8。

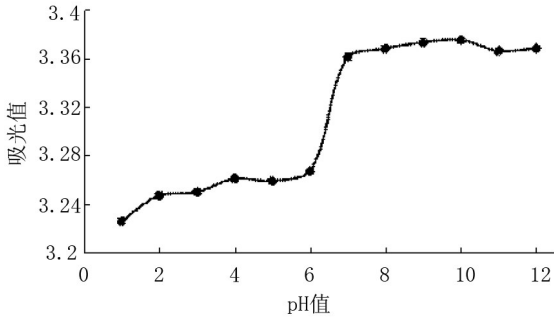


图 8 色素耐酸碱试验结果

Fig. 8 The results of pH stability

由图 8 可知, 随着色素溶液 pH 值的增加, 文冠果种皮色素水溶液的吸光值在溶液 pH 为酸性和碱性时较平稳, 但溶液 pH 由酸性到碱性的变化过程中, 其吸光值有明显的升高, 推测其原因可能是碱性环境使得色素分子的共轭环增大, 由此可见, 本试验提取的文冠果种皮色素无论在酸性环境下还是碱性环境下均有良好的耐受性。

2.3.3 温度对色素稳定性的影响

取 1mg/mL 色素水溶液 7 份, 分别处于 20℃、30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃ 条件下恒温保持 30min, 室温冷却后测定 273nm 处吸光值。不同温度条件下, 文冠果种皮色素的吸光值见图 9。

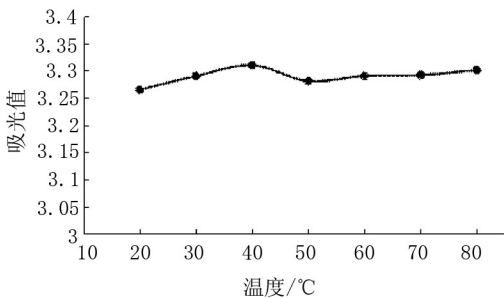


图 9 色素耐热试验结果

Fig. 9 The results of thermal stability

由图 9 可知, 随着温度从 20℃ 升至 80℃, 文冠果种皮色素水溶液吸光值变化不明显, 该色素对温度具有良好的耐受性。

2.3.4 氧化剂对色素稳定性的影响

取 6 支试管, 分别加入 1mg/mL 色素水溶液 5mL, 加入 5%、10%、15%、20%、25% 过氧化氢 100μL, 空白对照加入等体积去离子水, 于 0.5h 后在 273nm 处测定其吸光度。不同浓度的氧化剂条件下, 文冠果种皮色素的吸光值见图 10。

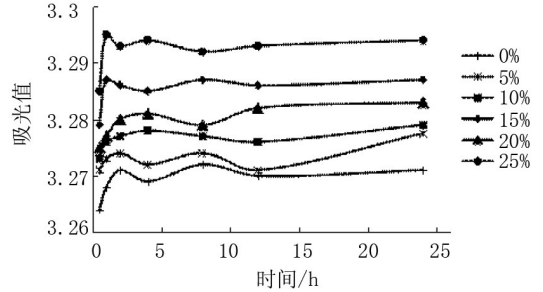


图 10 色素耐氧化剂试验结果

Fig. 10 The results of oxidant stability

由图 10 可知, 随着处理时间的增加, 色素对不同浓度 H_2O_2 反应趋势一致。在 H_2O_2 加入到色素溶液后的 2h 内溶液吸光度有显著上升, 指示氧化剂对色素分子结构氧化导致共轭环增大, 从而导致吸光度的增加, 但是 2h 之后各浓度氧化剂对色素吸光度影响较小, 可以忽略, 因此可以推断文冠果种皮色素在被氧化剂氧化后具有一定的稳定性。

3 结论与讨论

超声辅助提取文冠果种皮色素最佳提取工艺为: 提取温度 90℃、料液比 1 : 30g/mL、超声功率 80W、提取 50min, 该条件下文冠果种皮色素得率最高可达 23.17%, 是文冠果种皮色素提取的一条高效途径; 与传统的水热提取法相比, 超声辅助提取效率更高; 文冠果种皮色素为紫褐色无定形粉末, 对温度、酸碱及光照都非常稳定, 氧化剂对该色素有增色作用。

本研究实现了文冠果产业化过程中废弃物的高值化利用, 为文冠果资源综合利用提供了新的研究思路与方法。后期可对文冠果种皮色素的进一步产业化开发进行研究, 并探讨将其产业化的可行性, 使文冠果种质资源能够实现高附加值化开发, 这对增加当地农民收入, 改善当地生产生活条件具有重要意义。