

# 紫薯花青素提取工艺的研究

陈 芬

(武汉职业技术学院 生物工程学院,湖北 武汉 430074)

**摘 要:**采用盐酸-乙醇混合液为溶剂,研究了紫薯中花青素的提取工艺。经单因素实验和 L9(3<sup>4</sup>) 正交实验(提取剂的酸醇比、料液比、提取温度、提取时间),得到最佳提取工艺参数为:浓度为 1.0mol/L 的 HCl 和体积分数 95%的乙醇的混合液为溶剂,酸醇比为 7:3,提取料液比为 1:15,提取温度为 60℃,提取时间为 60 min。依此工艺,紫薯花青素的提取最佳得率为 51.38mg/100g 鲜重。

**关键词:**紫薯;花青素;提取工艺

中图分类号: TQ914.1

文献标识码: A

文章编号: 1671-931X (2015) 05-0097-04

花青素是一类天然食用色素,也是目前科学界发现的防治疾病、维护人类健康最直接、最有效、最安全的自由基清除剂。紫薯中花青素的含量较高,是良好的天然色素资源,具有安全、无毒、资源丰富、价格低廉等特点,在食品、化妆、医药等方面有着巨大的应用潜力<sup>[1-4]</sup>。紫薯是一种高花青素新品种,因其块根内部呈深紫色,俗称“黑红薯”,紫薯中所含的花青素与葡萄皮等原料相当,其稳定性又优于葡萄皮和蓝莓等,是获取天然花青素的理想途径。但对于紫薯中花青素的提取工艺的研究相对较少。本研究参考了目前国内外蓝莓中的花青素的提取方法<sup>[2-8]</sup>,对紫薯中花青素的提取工艺进行了研究,探究紫薯花青素提取的最佳工艺,为紫薯中花青素的制备开发潜能提供理论依据。

## 一、材料与方法

### (一)材料

新鲜紫薯(襄阳紫薯有限公司提供)

### (二)试剂与仪器

1.试剂:盐酸、无水乙醇、氯化钠、氯化钾、醋酸、醋酸。以上试剂均为国产分析纯;实验用水为超滤纯水。

2.仪器: Tu-1810 型紫外可见分光光度计、F-W-100 高速万能粉碎机、pHS-2 型酸度计 AL204 电子天平(精确至 0.0001)、EV341 旋转蒸发仪、抽滤装置及实验室常见的玻璃仪器。

### (三)方法

1.样品处理。取新鲜紫薯,用去离子水洗净后,切片,在烘箱内 50℃烘干,粉碎后,过 60 目,得紫薯粉,密封备用。

2.紫薯中花青素的紫外可见吸收光谱谱图。准确称取上述紫薯粉 3.0g 于 50mL 具塞烧瓶中,加入 20mL 酸醇溶剂(8mL 0.3%盐酸、2mL 0.3%柠檬酸与 10mL 90%乙醇混合),60℃,浸提 60min,离心,得紫红色花青素原液。将上述花青素溶液转移至 50mL 容量瓶,用酸醇溶剂定容,再稀释 15 倍。将上述得到的花青素稀释液分成一定数量的等份溶液,分别用一定浓度的盐酸和氢氧化钠调节 pH,测量紫薯花青

收稿日期:2015-10-12

作者简介:陈芬(1966-),女,湖北崇阳人,硕士,武汉职业技术学院副教授,研究方向:生物化学与技术、生物分离与纯化技术。

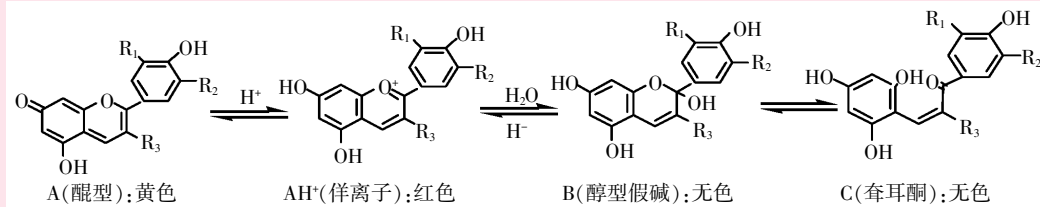


图1 花青素类色素在不同的pH值存在的结构平衡

素 pH 为 1.0 时在 300~750nm 下的吸光度, 绘制紫薯中花青素吸收曲线。

3. 紫薯中花青素含量的计算及提取率的表示方法。行业标准 NY/T 1320-2007, 采用 pH 示差法测定花青素的含量, 其主要原理是在溶液介质中, 花青素会随 pH 的改变而有几种结构的转变, 其结构的转变是 pH 的函数, 而干扰物的特征光谱不随 pH 的改变而发生变化。pH 为 1.0 时, 花青素以红色的 2-苯基苯并吡喃的形式存在, pH 为 4.5 时, 花青素以无色的甲醇假碱的形式存在如图 1 所示。

利用上述性质结合朗伯-比尔定律可得出, 在两个不同的 pH 值(根据文献选择 pH1.0 和 pH4.5)下, 花青素溶液的吸光度的差值与花青素的含量成比例。通过两个 pH 值, 同一波长(以花青素最大可见吸收波长)下的吸光值差, 结合 Fuleki 的经验公式就可以计算得到吸光度值, 样品中提取的花青素的含量与计算得到的吸光度值成正比, 从而测得花青素的含量<sup>[5]</sup>。

本试验以计算得到的吸光度表示提取率。计算得到的吸光度越大, 提取率越高。

4. 紫薯中花青素的提取工艺流程。取新鲜的紫薯洗净, 50℃烘干制成粉→称取适量的紫薯粉→加入提取剂→保温提取→离心→取上清液→定容至一定体积→量取一定体积并定容→调节 pH 值测吸光度→减压蒸馏得浓缩液。

## 二、结果与讨论

### (一) 紫薯中花青素的紫外可见吸收光谱谱图

由图 2 可以看出花青素在 pH 为 1.0 时特征吸收峰在 530nm, 在 700nm 也有一个小吸收峰。本试验选择在不同的 pH 值下, 分别在 530nm 和 700nm 下测定吸光度, 利用示差法计算花青素的含量。

### (二) 紫薯花青素提取单因素实验

1. 不同浓度盐酸对花青素浓度的影响。称取 3g 的紫薯粉 5 份, 将浓度分别为 0.1、0.5、1.0、1.2、1.5 mol/L 的盐酸溶液与 95% 的乙醇按 7:3 混合作为提取剂, 料液比按 1:12.5, 总体积为 20ml, 室温提取 60min, 4000r/min 离心 20min, 取上清液, 过 0.45μm 膜, 转移至 50mL 容量瓶, 用酸醇溶剂定容, 再稀释 15 倍, 调节 pH 测定并计算吸光度见图 3。

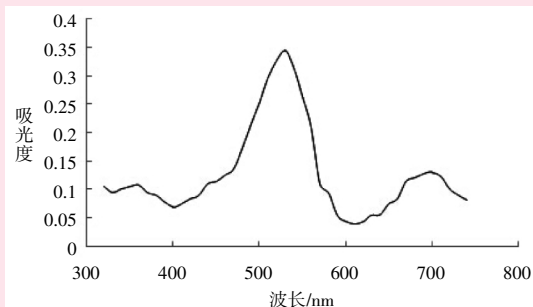


图2 紫薯花青素提取液 pH1.0 时的吸收曲线

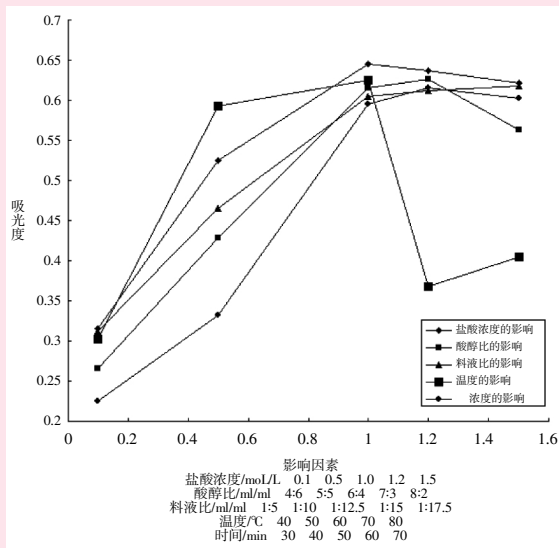


图3 各因素对花青素提取效果的影响

由图 3 的结果可以看出花青素提取液的吸光值随盐酸浓度增大而逐渐增大, 增大到当盐酸的浓度为 1.0mol/L 时, 提取液的吸光值最大, 随后, 继续增大酸液的浓度, 提取液的吸光值反而略减小。因此, 选择 1.0mol/L 的盐酸和 95%乙醇混合溶液为提取剂效果较好。

2. 提取剂中不同酸醇比对花青素浓度的影响。称取 3g 紫薯粉 5 份, 按酸醇比为 4:6、5:5、6:4、7:3、8:2 加入提取剂, 料液比按 1:15, 总体积 20ml, 室温浸提 60min, 4000r/min 离心 20min, 取上清液, 过

0.45 $\mu$ 膜,转移至50mL容量瓶,用酸醇溶剂定容,再稀释15倍,调节pH测定并计算吸光度见图3。

由图3表可知道吸光值先随酸醇比的增大而增大,到一定值后下降,在7:3时,吸光值最大。可能是因为花青素在pH值为1.0左右时呈现红色,且比较稳定,pH值再升高时,花青素的颜色将转向黄色。所以选择6:4,7:3,8:2三个水平作为正交实验的水平。

3.不同料液比对花青素浓度的影响。称取3g紫薯粉6份,按料液比为1:5、1:10、1:12.5、1:15、1:17.5中要求加入提取剂,总体积20ml,室温浸提60min,4000r/min离心20min,取上清液,过0.45 $\mu$ 膜,转移至50mL容量瓶,用酸醇溶剂定容,再稀释15倍,调节pH测定并计算吸光度见图3。

由图3可以看出,开始阶段吸光度上升较快,到1:12.5以后增加的较平缓,说明浸出比较接近于扩散平衡,在开始阶段由于提取溶剂相对较少,可能会出现被提取物质不能充分参与浸提,所以选择1:10、1:12.5、1:15这三个水平作为正交实验的水平。

4.不同温度对花青素浓度的影响。称取3g紫薯粉5份,按酸醇比为7:3,料液比为1:15加入提取剂,总体积20ml,分别放入到40℃、50℃、60℃、70℃、80℃的水浴锅中,浸提60min,4000r/min离心20min,取上清液,过0.45 $\mu$ 膜,转移至50mL容量瓶,用酸醇溶剂定容,再稀释15倍,调节pH测定并计算吸光度见图3。

由图3可知,随着温度的升高,吸光度有所上升,但当温度达到60℃时出现最大值,之后吸光度反而下降,这可能就是温度过高,导致花青素有效成分的分解变质及挥发性成分的挥发。但温度低时,花青素与蛋白质、纤维等分离较慢,也会导致提取率下降。所以选择40℃、50℃、60℃这三个水平作为正交实验的水平。

5.不同提取时间对花青素浓度的影响。称取3g紫薯粉5份,按酸醇比为7:3,料液比为1:15加入提取剂,总体积20ml,水浴60℃浸提,浸提时间分别为30min、40min、50min、60min、70min,4000r/min离心20min,取上清液,过0.45 $\mu$ 膜,转移至50mL容量瓶,用酸醇溶剂定容,再稀释15倍,调节pH测定并计算吸光度见图3。

由图3可知,提取时间达到50min以后,吸光度增加比较平缓,可以认为被提取物质已达到了扩散平衡,所以我们选择40min、50min、60min这三个水平作为正交实验的水平。

(三)紫薯花青素提取正交试验结果与分析

为了优化提取工艺,根据上述单因素实验结果,提取液酸醇比、料液比、提取温度、提取时间为实验因素设计正交试验,确定最佳提取工艺条件,提取得到的花青素原液的稀释方法同前。正交实验的各因素和相应的水平见表1。

正交实验设计见表2。

通过提取条件的正交试验结果的极差分析可知,各因素对紫薯花青素提取率的影响程度强弱顺序为:C>A>B>D,即提取温度对紫薯花青素影响最大,其次是提取剂中盐酸和乙醇,影响较小的是浸提时间。得出的最佳提取工艺为A2B3C3D3,即提取剂中酸醇体积比为7:3,料液比为1:15,提取温度为60℃,提取时间为60min。

由以上正交实验的结果可以发现,最佳条件有三个在端点上,为此我们进行补点实验。

(四)紫薯花青素提取补点试验结果与分析

补点实验选取的各因素的水平为:A3——酸醇

表1 正交试验水平因素表

因素/水平	酸醇比 (ml/ml)A	料液比 (g/ml)B	提取温度 (℃)C	提取时间 (min)D
1	6:4	1:10	40	40
2	7:3	1:12.5	50	50
3	8:2	1:15	60	60

表2 正交实验表

实验号	A	B	C	D	吸光度
	酸醇比 (mL/mL)	料液比 (g/ml)	提取温 度(℃)	提取时 间(min)	
1	1	1	1	1	0.413
2	1	2	2	2	0.456
3	1	3	3	3	0.571
4	2	1	2	3	0.524
5	2	2	3	1	0.611
6	2	3	1	2	0.485
7	3	1	3	2	0.524
8	3	2	1	3	0.487
9	3	3	2	1	0.508
K1	1.44	1.422	1.385	1.532	
K2	1.62	1.554	1.488	1.465	
K3	1.519	1.564	1.669	1.582	
k1	0.48	0.474	0.462	0.511	
k2	0.54	0.518	0.496	0.488	
k3	0.506	0.521	0.566	0.527	
R	0.06	0.047	0.104	0.039	

表3 补点实验设计与结果

实验号	A	B	C	D	吸光度
	酸醇比 (ml/ml)	料液比 (g/ml)	提取温 度(℃)	提取时 间(min)	
I	2	3	3	3	0.625
II	2	4	3	3	0.634
III	2	3	4	3	0.581
IV	2	3	3	4	0.602

比 7:3;B4——料液比为 1:17.5;C4——提取温度为 70℃;D4——提取时间为 70min。

补点实验设计与结果见表 3。

由表 3 可知,对料液比来说,单就花青素提取的过程而言,料液比越大越有利于提取率的提高,但是料液比过大,提取液中花青素的浓度会降低,将增加后浓缩过程的负荷,从而增加生产的成本。并且从补点实验中可以发现,料液比 1:17.5 时的提取率只比 1:15 时高 1.5%,权衡各因素,料液比选 1:15 较好。

对提取温度来说,提取温度对花青素的提取率影响最大,在 60℃以下时,随着温度的升高,提取率增大,但当温度为 70℃时,提取率下降较大,主要是花青素在高温时的分解和挥发。因此提取温度选 60℃为宜。

对提取时间来说,在一定时间内,提取时间越长越有利于花青素的浸出。但是温度较高时,由于花青素对热的不稳定性,如果提取时间过长,提取率反而会降低。由补点实验可知,提取 70min 反而比提取 60min 的提取率稍要低一些,因此提取时间选 60min 较好。

#### (五)最佳工艺条件的验证

在最佳合成条件下,重复上述实验,数据如表 4 所示。

根据吸光度,通过 Fuleki 的经验公式<sup>[9]</sup>得到最佳

表 4 最佳条件稳定性实验

实验号	酸醇比 (ml/ml)	料液比 (g/ml)	提取温度 (℃)	提取时间 (min)	吸光度
1	7:3	1:15	60	60	0.622
2	7:3	1:15	60	60	0.618
3	7:3	1:15	60	60	0.620

工艺提取花青素的含量为 51.38mg/100g 鲜重。

### 三、结论

紫薯花青素最佳提取的工艺条件为:采用 1.0mol/L 的盐酸与 95%的乙醇混合为溶剂,酸醇比为 7:3,料液比为 1:15,提取温度为 60℃,提取时间为 60min。在此条件下,紫薯花青素提取率达 51.38mg/100g 鲜重,工艺条件重复性好,稳定性高。

#### 参考文献:

- [1] 李治华,谢江,黄驰,等.紫甘薯花青素提取纯化技术研究进展[J].中国农学通报,2013,29(27):192-194.
- [2] 孙建霞,张燕,胡小松,等.花青素的提取、分离以及纯化方法研究进展[J].食品与发酵工业,2008,38(8):111-115.
- [3] 仇晓文,孙向东,向丽,等.心里美萝卜花青素的提取及其抗氧化性[J].贵州农业科学,2013,41(1):61-64.
- [4] 孙阳昭,孙志健,廖小军,等.红莓果中花青素的提取工艺研究[J].食品与发酵工业,2006,32(1):129-133.
- [5] Tibor Fuleki, Francis F J. Quantitative methods for anthocyanins,1,extranaction and determination of total anthocyanin in cranberries [J].Journal of Food Science, 1968,(33):72-77.
- [6] 杨朝霞,王亦军,高磊.紫甘薯花色苷色素研究进展[J].青岛大学学报,2004,19(2):32-36.
- [7] 陈杰.紫甘薯色素提取、纯化及稳定性研究[D].无锡:江南大学,2011.
- [8] 廉玉姬,夏霖,林光哲.紫色马铃薯 Bora valley 花青素的提取与含量的测定[J].临沂师范学院学报,2009,31(6):85-88.

[责任编辑:郭 群]

## Research on the Extraction Condition of the Anthocyanin of the Purple Potato

CHEN Fen

(Biology Engineering Department, Wuhan Polytechnic, Wuhan 430074, China)

**Abstract:** With mixing hydrochloric acid and ethanol as solvent, the experiment study the extraction condition of the anthocyanins of the purple potato. By single factor selecting experiment and L9(34) orthogonal design (extracting agent ratio of acid to alcohol, solid-liquid ratio, and extraction temperature, extraction time), the optimal experiment parameters of the anthocyanins of the purple potato is established. It consists of: solvent is the mixing of the concentration of 1.0mol/L HCl and the volume fraction of 95% ethanol, extracting agent hydrochloric acid to ethanol ratio is 7:3, material to liquid ratio is 1:15 (g/ml), extracting temperature is 60℃, extraction time is 60 min. Under the process, the extraction yield of the anthocyanins of the purple potato is 51.38mg/100g fresh weight.

**Key words:** purple potato; anthocyanin; extraction condition