

黄仁术,董 诚,邓扬扬. 溶剂萃取法提取囊荷红色素的工艺条件研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):287-289.

# 溶剂萃取法提取囊荷红色素的工艺条件研究

黄仁术<sup>1,2</sup>,董 诚<sup>2</sup>,邓扬扬<sup>2</sup>

(1. 皖西学院植物细胞工程安徽省工程技术研究中心,安徽六安 237012; 2. 皖西学院生物与制药工程学院,安徽六安 237012)

**摘要:**为系统全面地探讨溶剂萃取法提取囊荷红色素的工艺条件,通过单因素试验法,确定溶剂种类与料液比、溶剂酸度、提取温度、提取时间的大致范围,再通过正交试验优化工艺。结果表明其最优提取工艺为:以蒸馏水作溶剂,料液比 1 g : 18 mL,溶剂 pH 值 1,提取温度 80 ℃,提取时间 120 min。该工艺设备简单、成本低廉、安全性好,提取的色素色泽纯正。

**关键词:**红色素;囊荷;溶剂萃取法;工艺条件

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0287-03

随着毒理学和分析技术的不断发展,相当一部分合成色素被证明对人体有致癌性及其他有害作用<sup>[1]</sup>;而从药用植物中提取的天然色素不仅具有较高的安全性,还具有一定的营养、保健和药理功能,对某些疾病有预防和治疗作用,深受消费者的欢迎<sup>[2-3]</sup>。囊荷(*Zingiber striatum*),别称囊草、观音花、阳荷、茗荷、野姜等,属姜科多年生草本植物,广泛分布我国南方地区。囊荷具有很高的食用、药用价值,富含蛋白质、氨基酸、维生素、糖类、有机酸及矿物元素等,具有活血调经、镇咳祛痰、消肿解毒等功效<sup>[4]</sup>。囊荷果实鲜红,从中提取的色素除在防腐剂(山梨酸钾、苯甲酸钠)、强氧化剂( $H_2O_2$ )及  $Fe^{3+}$  环境中稳定性较差外,在自然的光照、温度、pH 值、糖类、还原剂和金属离子等条件下均具有良好的稳定性<sup>[2,5-7]</sup>,是一种理想的天然红色色素资源。

但目前,有关囊荷红色素提取条件的研究却不甚全面。如麻明友等用水作溶剂,初步选定了提取温度与时间,却忽略了料液比与溶剂酸度,对有关因子也未作方差分析<sup>[2]</sup>。陈仕学等认为囊荷红色素的最佳提取条件是 40 倍 pH 值 1 的 50% 酸性乙醇,80 ℃ 下提取 90 min<sup>[5]</sup>;朱玉昌等认为是 150 倍 pH 值 1 的 70% 酸性乙醇,60 ℃ 下提取 50 min<sup>[6]</sup>;解成骏等认为是 180 倍 85% 的酸性乙醇,50 ℃ 下提取 1.5 h<sup>[7]</sup>。上述试验建立的工艺条件差距较大,且普遍存在溶剂选定时考虑乙醇酸性但未考虑水的酸性、料液比过高增加了生产耗材与回收成本、单因素试验结果依靠效果曲线直观获得、未做方差分析等不完善之处。为此,本试验在上述研究的基础上进一步优化选定,以期对囊荷天然色素的工业化生产提供有效的试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与材料

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),202-1 型电热恒温干燥箱(上海浦东英丰科学仪器有限公司),TDL-5Z 台式多管架自动平衡离心机(湖南星科科学仪器有限公司),HH-2/HH-4 数显恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司);石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、乙醇、盐酸等,皆为分析纯;囊荷从大别山采集。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 单因素范围确定试验

**1.2.1.1 最佳溶剂及吸收波长确定试验:**取囊荷 40 目筛干燥粉碎物各 0.3 g,放入具塞三角瓶中,分别加入石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、乙醇、蒸馏水各 4.5 mL,静置 2 h,观察提取液颜色,目测萃取效果,并取选定的提取液过滤后定容、稀释,在 200~700 nm 波长范围内进行光谱扫描,从而确定最佳吸收波长。

**1.2.1.2 溶剂酸度筛选试验** 以蒸馏水作溶剂,料液比 1 g : 15 mL 稀释,分别调节每组 pH 值为 3、5、7、9、11,每组 3 个重复。各组份室温静置 2 h 后过滤定容,取 0.1 mL 提取液 60 倍稀释,280 nm 处测定吸光度,以确定适宜溶剂酸度。

**1.2.1.3 提取温度筛选试验** 在溶剂酸度试验的基础上,分别调节每组温度为 20、40、60、80、100 ℃,以确定适宜提取温度。

**1.2.1.4 提取时间筛选试验** 在提取温度试验的基础上,分别调节每组提取时间为 30、60、90、120、150 min,以确定适宜提取时间。

**1.2.1.5 料液比筛选试验** 在提取时间试验的基础上,分别调节每组料液比为 1 g : 5 mL、1 g : 10 mL、1 g : 15 mL、1 g : 20 mL、1 g : 25 mL,以确定适宜料液比。

**1.2.2 正交优化工艺试验** 根据单因素试验确定的范围,合理确定溶剂酸度、提取温度、提取时间与料液比的梯度,采取 4 因素 3 水平正交试验法,优化设计蒸馏水提取囊荷红色素的工艺流条件。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素范围确定试验

**2.1.1 最佳溶剂及吸收波长确定试验** 6 种溶剂提取囊荷色素的结果如表 1 所示。由外观颜色可知,囊荷红色素为水

收稿日期:2013-02-17

基金项目:安徽省高校省级自然科学研究重点项目(编号: KJ2012A280)。

作者简介:黄仁术(1976—),女,新疆阿克苏人,硕士,副教授,主要从事天然活性物质研究。E-mail:ahhrs@126.com。

溶性色素,蒸馏水是提取囊荷红色素的适宜溶剂之一,这和人报道<sup>[2,5-7]</sup>一致。但相关研究报道选用酸性乙醇能更好地提取囊荷紫红色或深红色素<sup>[5-7]</sup>,而本试验中乙醇未能提取红色素,故改变乙醇酸度,在 pH 值 3、5、7、9、11 时进行试验,结果提取液仍显示为淡黄色。鉴于用蒸馏水提取价格低廉、安全性好、色素颜色纯正,故最终确定蒸馏水为最佳溶剂。

表 1 不同溶剂的提取效果

溶剂类别	石油醚	氯仿	乙酸乙酯	正丁醇	乙醇	蒸馏水
外观颜色	淡黄色	棕黄色	黄色	黄色	淡黄色	粉红色

将囊荷红色素蒸馏水提取液在 200~700 nm 波长范围内扫描,结果如图 1 所示,光谱在紫外光区 280、210 nm 左右有强烈的吸收峰,但 210 nm 处的波峰过于尖锐,且试验过程中发现其极不稳定,故以 280 nm 波长为测定波长。

2.1.2 溶剂酸度筛选试验 不同溶剂酸度对囊荷红色素提取效果的影响见表 2。经  $F$  检验, $F=6.34>F_{0.01}(4,10)=5.99$ ,影响差异极显著( $P<0.01$ ),说明各处理间存在差异。为比较各处理间的具体差异情况,进一步用 SSR 法检验,发现 pH 值 3 处理时吸光度与 pH 值 5 的差异极显著( $P<0.01$ ),

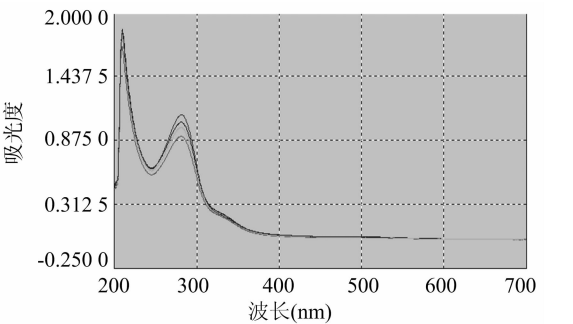


图1 色素蒸馏水提取液紫外-可见光光谱图

与 pH 值 7、9 的差异虽然不显著( $P>0.05$ ),但颜色已发生深红色(pH 值 3)→粉红色(pH 值 5、7)→淡棕色(pH 值 9)→棕色(pH 值 11)变化。这与麻明友等报道的“色素在 pH 值 5.6 以下时,其吸光度随 pH 值升高开始降低,但超过此谷后,其吸光度随 pH 值升高而增大,溶液颜色从 pH 值 2~12 依次为深红色→粉红色→浅紫色→紫色→棕褐色”<sup>[2]</sup>基本一致。故确定适宜溶剂酸度为 pH 值 3,正交优化工艺试验可考虑选择 pH 值 1、2、3 这 3 个酸度梯度。

表 2 不同溶剂 pH 值对囊荷红色素提取效果影响的比较

溶液 pH 值	平均吸光度 $\bar{X}_i(A)$	$\bar{X}_i-0.355\ 0$	$\bar{X}_i-0.379\ 9$	$\bar{X}_i-0.390\ 3$	$\bar{X}_i-0.399\ 4$
3	0.415 9	0.060 9 **	0.036 0 *	0.025 6	0.016 5
9	0.399 4	0.044 4 **	0.019 5	0.009 1	
7	0.390 3	0.035 2 *	0.010 4		
11	0.379 9	0.024 9			
5	0.355 0				

注: $df_A=4$ , $df_e=10$ ;  $SS_A=0.006\ 2$ , $SS_e=0.002\ 4$ ;  $S_x=0.009$ 。

2.1.3 提取温度筛选试验 不同提取温度对囊荷红色素提取效果的影响见表 3。经  $F$  检验, $F=10.92>F_{0.01}(4,10)=5.99$ ,影响差异极显著( $P<0.01$ ),说明各处理间存在差异。为比较各处理间的具体差异情况,进一步用 SSR 法检验,发

现 80 ℃ 处理时吸光度与 20、40 ℃ 的差异极显著( $P<0.01$ ),与 60 ℃ 的差异显著( $P<0.05$ ),与 100 ℃ 的差异不显著( $P>0.05$ )。故考虑节能问题,确定适宜提取温度为 80 ℃;正交优化工艺试验可考虑选择 70、80、90 ℃ 3 个温度梯度。

表 3 不同提取温度对囊荷红色素提取效果影响的比较

提取温度(℃)	平均吸光度 $\bar{X}_i(A)$	$\bar{X}_i-0.377\ 6$	$\bar{X}_i-0.423\ 8$	$\bar{X}_i-0.479\ 1$	$\bar{X}_i-0.511\ 6$
80	0.546 9	0.169 3 **	0.123 1 **	0.067 8 *	0.035 3
100	0.511 6	0.134 0 **	0.087 8 *	0.032 5	
60	0.479 1	0.101 5 **	0.055 3		
40	0.423 8	0.046 2			
20	0.377 6				

注: $df_A=4$ , $df_e=10$ ;  $SS_A=0.055\ 1$ , $SS_e=0.012\ 6$ ;  $S_x=0.020\ 5$ 。

2.1.4 提取时间筛选试验 不同提取时间对囊荷红色素提取效果的影响见表 4。经  $F$  检验, $F=10.27>F_{0.01}(4,10)=5.99$ ,影响差异极显著( $P<0.01$ ),说明各处理间存在差异。为比较各处理间的具体差异情况,进一步用 SSR 法检验,发

现 120 min 处理时吸光度与 30、60、90 min 的差异极显著( $P<0.01$ ),与 150 min 的差异显著( $P<0.05$ )。故确定适宜提取时间为 120 min;正交优化工艺试验可考虑选择 105、120、135 min 3 个时间梯度。

表 4 不同提取时间对囊荷红色素提取效果影响的比较

提取时间(min)	平均吸光度 $\bar{X}_i(A)$	$\bar{X}_i-0.468\ 0$	$\bar{X}_i-0.494\ 0$	$\bar{X}_i-0.496\ 3$	$\bar{X}_i-0.529\ 0$
120	0.582 0	0.114 0 **	0.088 0 **	0.085 7 **	0.053 0 *
150	0.529 0	0.061 0 *	0.035 0	0.032 7	
90	0.496 3	0.028 3	0.002 3		
60	0.494 0	0.026 0			
30	0.468 0				

注: $df_A=4$ , $df_e=10$ ;  $SS_A=0.023\ 0$ , $SS_e=0.005\ 6$ ;  $S_x=0.013\ 7$ 。

2.1.5 料液比筛选试验 试验发现料液比 1 g : 5 mL、1 g : 10 mL 时,囊荷红色素逸出太少,无法过滤测定,其他组分料液比对红色素提取效果的影响见表 5。经  $F$  检验, $F = 11.37 > F_{0.01}(4,10) = 5.99$ ,影响差异极显著( $P < 0.01$ ),说明各处理间存在差异。为比较各处理间的具体差异情况,进一步用 SSR 法检验,发现 1 g : 15 mL 处理时吸光度与 1 g : 20 mL、1 g : 25 mL 的差异极显著( $P < 0.01$ )或显著( $P < 0.05$ )。故确定适宜料液比为 1 g : 15 mL;正交优化工艺试验可考虑选择 1 g : 12 mL、1 g : 15 mL、1 g : 18 mL 3 个料液比梯度。

表 5 不同料液比对囊荷红色素提取效果影响的比较

料液比	平均吸光度 $X_i(A)$	$X_i - 0.388\ 0$	$X_i - 0.419\ 3$
1 g : 15 mL	0.570 7	0.182 7 <sup>**</sup>	0.151 4 <sup>*</sup>
1 g : 25 mL	0.419 3	0.031 3 <sup>N</sup>	
1 g : 20 mL	0.388 0		

注: $df_A = 2, df_e = 6; SS_A = 0.057\ 3, SS_e = 0.015\ 1; S_x = 0.029$ 。

2.2 正交优化工艺试验

综合单因素试验确定的范围,参照正交表  $L_9(3^4)$  设计正交试验因素水平如表 6 所示。

表 6 囊荷红色素提取正交试验因素水平

水平	A:溶剂酸度 pH 值	B:提取时间 (min)	C:提取温度 (℃)	D:料液比 (g : mL)
1	1	105	70	1 : 12
2	2	120	80	1 : 15
3	3	135	90	1 : 18

各处理组所得囊荷红色素提取效果如表 7 所示。

表 7 囊荷红色素提取正交试验各处理组提取效果

组合	平均吸光度 $X_i(A)$	组合	平均吸光度 $X_i(A)$	组合	平均吸光度 $X_i(A)$
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub>	0.971 7	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	0.646 3	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub> D <sub>2</sub>	0.420 0
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	1.399 3	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub>	0.780 0	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub>	0.735 0
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub> D <sub>3</sub>	1.421 3	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub>	0.553 3	A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub>	0.693 7

各提取条件对囊荷红色素提取效果的影响如表 8 所示。可见,在单因素确定的范围内,溶剂酸度、提取时间、提取温度、料液比等因素差异高度显著( $P < 0.01$ ),仍是影响囊荷红色素提取效果的主要因素。

表 8 囊荷红色素提取效果方差分析

变异来源	平方和 (SS)	自由度 (df)	均方 (MS)	$F$
重复(r)	0.003 8	2		
A	2.360 3	2	1.180 1	694.18 <sup>**</sup>
B	0.408 6	2	0.204 3	120.18 <sup>**</sup>
C	0.124 7	2	0.062 4	36.71 <sup>**</sup>
D	0.106 0	2	0.053 0	31.18 <sup>**</sup>
试验误差	0.027 9	16	0.001 7	
总变异	3.031 3	26		

注: $F_{0.05(2,16)} = 3.63; F_{0.01(2,16)} = 6.23$ 。

进一步通过图 2 可见,溶剂酸度因素中以 A<sub>1</sub> 的提取率为最高,提取时间以 B<sub>2</sub> 最高,提取温度以 C<sub>2</sub> 最高,料液比以 D<sub>3</sub> 最高,得到囊荷红色素提取效果最好的处理组合 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,即料液比 1 g : 18 mL、溶剂 pH 值 1、提取温度 80 ℃、提取时间 120 min。

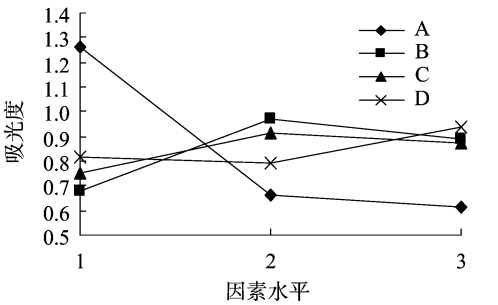


图 2 囊荷红色素提取效果的因素水平与吸光度关系

3 讨论与结论

试验发现以蒸馏水作溶剂,囊荷红色素的最佳提取工艺条件为:料液比 1 g : 18 mL、溶剂 pH 值 1、提取温度 80 ℃、提取时间 120 min。该工艺提取的红色素色泽纯正,且设备简单、成本低廉、安全性好。

适当的料液比可以提高囊荷红色素的提取效果,因为溶剂用量越大,体系渗透压差越大,能保证红色素被充分萃取。但当溶剂用量增大到一定程度时,原料表面与提取剂之间达到了饱和,浓度差不再是影响色素浸出率的主要因素<sup>[6]</sup>,同时还会增大溶剂用量和后续浓缩工艺处理量,也易造成提取物过滤流失等一系列问题。提取工艺要特别注意溶剂的酸度,试验发现碱性条件下色素呈棕色。提高提取温度可加速传质过程,有利于有效成分的溶出,但温度过高易造成能源浪费。适当的处理时间有利于红色素的溶出,时间过长红色素可能因发生某种变性而损失。

参考文献:

[1] 丁利君,陈 珊. 一品红红色素的稳定性研究[J]. 食品工业科技,1999,20(6):24-26.  
[2] 麻明友,吴竹青,许德政. 囊荷中天然色素的提取及其稳定性的研究[J]. 吉首大学学报:自然科学版,1993,14(2):95-98.  
[3] 崔文新,耿 越,王凤芹,等. 几种天然食用色素抗氧化作用研究[J]. 食品科学,2008,29(4):401-404.  
[4] 高学玲. 囊荷的营养成分分析和综合开发利用研究[J]. 食品科学,2001,22(3):58-60.  
[5] 陈仕学,郁建平. 梵净山野生阳荷红色素的提取及理化性质研究[J]. 山地农业生物学报,2010,29(5):432-439.  
[6] 朱玉昌,周大寨,彭 辉. 阳荷红色素的提取及稳定性研究[J]. 食品科学,2008,29(8):293-297.  
[7] 解成骏,刘鄂渭,李洪潮,等. 阳荷红色素的提取工艺及稳定性研究[J]. 食品研究与开发,2010,31(12):284-288.