

杜超,马立志,蒋家印. 蓝莓皮渣中花色苷的非酸化甲醇提取和纯化研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):254-257.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.084

蓝莓皮渣中花色苷的非酸化甲醇提取和纯化研究

杜超^{1,2}, 马立志^{1,2}, 蒋家印¹

(1. 贵阳学院, 贵州贵阳 550005; 2. 贵州省果品加工工程技术研究中心, 贵州贵阳 550005)

摘要:以蓝莓果榨汁后剩余的皮渣为提取原料,以甲醇为提取溶剂,进行蓝莓花色苷提取工艺的优化研究。确定提取蓝莓花色苷的最佳工艺条件:以 90% 甲醇为提取溶剂,按料液比 1 g : 15 mL,于 40 ℃ 溶液中浸提 2 次,每次提取 1 h,提取率可达 93%,蓝莓花色苷纯度达 26.4%。

关键词:蓝莓;皮渣;花色苷;提取

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0254-03

蓝莓 (*Vaccinium* spp.) 是杜鹃花科 (Ericaceae) 越橘属 (*Vaccinium*) 植物,其成熟果实为蓝色或蓝黑色,故称其为蓝莓 (blueberry)。蓝莓原产于北美洲,近年来在中国掀起了蓝莓种植热潮,以笔者所在的贵州省为例,现有蓝莓种植面积已超过 5 333.3 hm²,贵州省麻江县从 2000 年开始引种蓝莓,通过 10 余年的发展,已形成 1 333.3 hm² 的规模,成为西南地区最大的蓝莓种植基地,蓝莓产业目前已经成为该县名副其实的支柱产业。蓝莓果实中含有大量花色苷。花色苷是一种重要的水溶性天然色素^[1],属于黄酮类化合物,具有清除自由基、修复受损细胞的功能,特别对修复视网膜有独到的功效^[2-3],因此近年来蓝莓花色苷的提取研究日益受到重视。由于国内现阶段蓝莓加工产品中饮料占很大比重^[4-5],在饮料生产中,榨汁时会产生大量剩余的蓝莓皮渣。笔者所在课题组通过检测发现,蓝莓花色苷在鲜果皮渣中含量约为 2 g/kg,蓝莓鲜果果肉中花色苷含量约为 1 200 mg/kg,由此可见,蓝莓皮渣若直接丢弃将产生很大浪费。为进一步开发利用蓝莓资源,本研究以蓝莓皮渣为原料,对其中花色苷的提取、纯化进行了一定的研究,以期为进一步提高蓝莓果的综合利用率提供一定的试验依据。

1 材料与方法

1.1 设备与材料

主要设备:BUCH 中压色谱仪层析系统;日本 Shimadzu UV-2550 紫外-可见分光光度计;RE52CS-1 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);美国 FreeZone4 真空冷冻干燥机;SHZ-3 循环水式真空泵(郑州英峪予华仪器有限公司);

收稿日期:2014-06-22

基金项目:贵州省果品加工与贮藏研究科技创新人才团队(编号:黔科合人才团队[2013]4028号);贵州省食品科学与工程重点学科建设项目(编号:黔学位合字 ZDX[2014]13号);贵州省果品加工、贮藏与安全控制协同创新中心(编号:黔科合协同中心字[201306])。

作者简介:杜超(1970—),男,辽宁大连人,硕士,高级实验师,主要从事天然产物研究开发工作。E-mail:442475427@qq.com。

通信作者:马立志,硕士,教授,主要从事食品工程研究。E-mail:418829419@qq.com。

pHS-25 数显酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司);DF-2 集热式磁力加热搅拌器(山东省菏泽市祥龙电子科技有限公司)。

试验材料:以采购自贵州省麻江县的蓝莓果实榨汁后的蓝莓皮渣为提取原料。

试剂:甲醇、柠檬酸、95%乙醇、乙酸、乙酸钠、浓盐酸、氯化钾、氢氧化钠等,均为国产分析纯试剂。

1.2 试验方法

1.2.1 蓝莓花色苷含量测定 采用 pH 值示差法^[6-7]测定花色苷含量:精确称取 0.01 g(精确至小数点后第 4 位)样品,用 30 mL 60% 盐酸-甲醇溶液进行溶解;将溶解后的花色苷甲醇溶液放在 35 ℃ 恒温振荡器中振荡 90 min,取出后超声处理 15 min,将上述溶液过滤并用酸性甲醇定容至 100 mL;取适量定容后的溶液放入离心机中离心 10 min,转速为 4 000 r/min;取上清液 5 mL 分别用 pH 值为 4.5 的乙酸钠缓冲液和 pH 值为 1.0 的 KCl 缓冲液稀释 5 倍;避光平衡 20 min 后,用 UV-2550 紫外-可见分光光度计测定 510、700 nm 2 个波长处吸光度 $D_{510\text{ nm}}$ 、 $D_{700\text{ nm}}$,并按下列公式计算花色苷含量 C :

$$C = (D \times MW \times DF \times V \times 100) / (\varepsilon \times 1 \times m);$$

$$D = (D_{510\text{ nm}} - D_{700\text{ nm}})_{\text{pH}1.0} - (D_{510\text{ nm}} - D_{700\text{ nm}})_{\text{pH}4.5}$$

式中: C 为 100 g 样品中花色苷含量,g; D 为吸光度; MW 为矢车菊素 3-O-葡萄糖苷的摩尔质量(449.2 g/mol); DF 为稀释倍数(5 倍); V 为样品提取液的定容总体积(100 mL); m 为蓝莓花色苷的质量,g; ε 为矢车菊素 3-O-葡萄糖苷的摩尔消光系数,取值 26 900 mol/(L·cm);1 为比色皿光程(1 cm)。

1.2.2 蓝莓花色苷提取 准确称取 50 g 蓝莓皮渣,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加入 750 mL 不同提取溶剂,混合均匀,于 40 ℃ 提取 2 次,每次 1 h,抽滤;合并 2 次浸提的滤液,将滤液在 -0.08 ~ -0.05 MPa、45 ~ 50 ℃ 条件下浓缩,回收溶剂^[8]。

1.2.3 蓝莓花色苷粗提物制备 按体积比 1 : 10 的比例向上述浓缩提取物加入蒸馏水,静置 30 ~ 40 min 后抽滤,滤液在 -0.08 ~ -0.05 MPa、45 ~ 50 ℃ 条件下浓缩至黏稠状,即得蓝莓花色苷粗提物。

1.2.4 蓝莓花色苷的纯化 将蓝莓花色苷粗提取物用蒸馏

水溶解,配制成浓度为 3.0 mg/mL 的溶液,以 1 mL/min 吸附流速通过装有 AB-8 大孔树脂的层析柱中,待 AB-8 大孔树脂饱和和吸附后,以 3 mL/min 的流速,先用 4.0~6.0 倍柱体积的蒸馏水冲洗,再用 5 倍柱体积的 50% 甲醇溶液作为洗脱液,洗脱流速为 1 mL/min 将花色苷洗脱。收集洗脱液进行浓缩,回收溶剂后,剩余物真空冷冻干燥 24 h,得到高纯度的蓝莓花色苷^[9]。

2 结果与分析

2.1 蓝莓花色苷提取、纯化条件优化

2.1.1 不同提取溶剂对蓝莓皮渣中花色苷提取效果的比较

取 4 个三角瓶,各加入蓝莓皮渣 3 g,分别用水、甲醇、95% 乙醇、乙酸作提取溶剂,混合均匀后,于 40 ℃ 下提取 1 h,抽滤,分别检测花色苷浓度,并计算相对提取率。试验结果表明,甲醇的提取率达到了 97%,效果最好,其次是 95% 乙醇,提取效果最差的是水(图 1)。

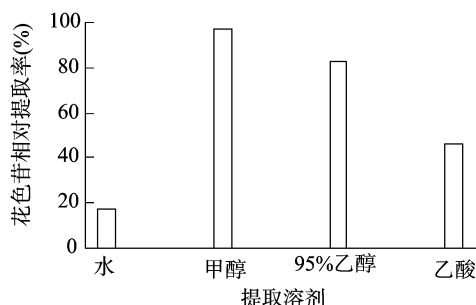


图1 不同提取溶剂对蓝莓皮渣中花色苷的提取效果

由于甲醇的提取效果最好,并且后续操作中可完全除掉,最后获得的高纯度花色苷中不会有残留,因此本研究选择市售分析纯甲醇为提取溶剂进行相关研究。

2.1.2 甲醇浓度对蓝莓花色苷提取效果的影响 取 5 个三角瓶,各加入 5 g 蓝莓皮渣,分别加入 50 mL 的 50%、60%、70%、80%、90% 甲醇溶液及无水甲醇,混合均匀,40 ℃ 下提取 1 h,抽滤,分别检测花色苷浓度,并计算相对提取率。试验结果表明,不同浓度甲醇溶液的提取效果有着显著差异,其规律是从 50% 的甲醇开始,花色苷在溶液中的含量随着甲醇浓度的增加而增大;当甲醇浓度超过 90% 后,随着甲醇浓度的增加,花色苷含量的差异不再明显。因此,在以后试验中,选择 90% 甲醇水溶液作为提取溶剂。甲醇浓度对花色苷提取的影响见图 2。

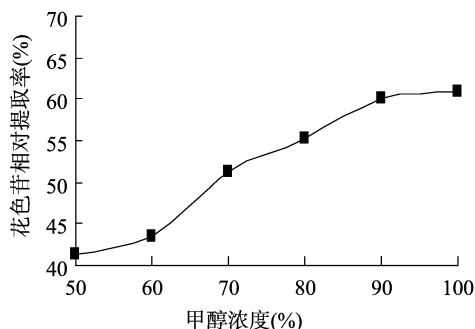


图2 不同甲醇浓度对蓝莓花色苷提取的影响

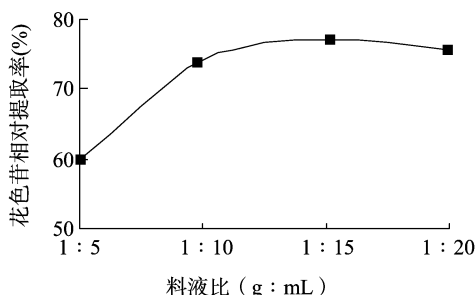


图3 料液比对花色苷提取率的影响

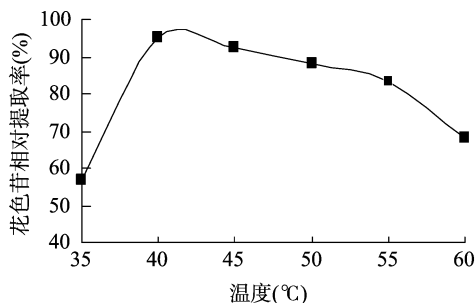


图4 提取温度对蓝莓花色苷提取效果的影响

由图 4 可知,温度对花色苷的提取影响较大,90% 的甲醇提取蓝莓花色苷的最佳提取温度为 40 ℃;在达到最佳温度之前,随着温度的升高,花色苷的提取率逐渐上升,当温度到达最佳温度以后,随温度升高,花色苷的提取率反而下降。主要的原因可能有:(1)在较高温度下多酚氧化酶的作用容易导致花色苷发生氧化降解,因此花色苷的提取率逐渐降低;(2)当温度较高时,甲醇挥发较快,如果进行长时间的提取,由于甲醇挥发而导致浓度降低,改变了蓝莓花色苷的提取条件,花色苷提取率会出现下降。

2.1.5 非酸化和酸化甲醇(pH 值 3.5)提取效果的比较

2.1.5.1 非酸化和酸化甲醇(pH 值 3.5)提取、纯化后产率的比较 目前公开的研究结果中,普遍使用酸化后的甲醇作为提取溶剂,但通过本试验对比可知,酸化的甲醇对花色苷的提取并没有明显优势。在试验中以甲醇为提取溶剂,料液比为 1 g : 15 mL,提取温度 40 ℃,用 90% 的甲醇和柠檬酸酸化的 90% 甲醇(pH 值 3.5)进行对比试验,试验结果见表 1。

从表 1 可看出,在其他试验条件相同的情况下,采用非酸化甲醇提取 100 g 样品中花色苷的平均含量为 143.5 mg,与酸化甲醇(pH 值 3.5)提取 100 g 样品中花色苷的平均含量 135.7 mg 相比,提取效果非常接近,此结果也与本课题组前期

2.1.3 料液比不同对蓝莓花色苷提取效果的影响 取 4 个三角瓶,各加入 3 g 蓝莓皮渣,再按料液比 1 g : 5 mL、1 g : 10 mL、1 g : 15 mL、1 g : 20 mL 的比例加入 90% 甲醇水溶液,混合均匀后,40 ℃ 下提取 1 h,抽滤,分别检测花色苷浓度并计算相对提取率,结果如图 3。试验结果表明,料液比不同,花色苷的提取率也随之变化,在料液比为 1 g : 15 mL 时达到最高值 77%。

2.1.4 提取温度对蓝莓花色苷提取效果的影响 分别称取 3 g 蓝莓皮渣,分别加入 45 mL 的 90% 甲醇溶液,混合均匀后,分别在 35、40、45、50、55、60、65 ℃ 恒温水浴中浸取 1 h,抽滤,按本研究上述方法测定花色苷的相对提取率,确定最佳提取温度。提取温度对蓝莓花色苷提取效果的影响见图 4。

表 1 采用非酸化、酸化甲醇提取、纯化花色苷的结果

编号	称取蓝莓皮渣的质量(g)	非酸化甲醇提取 100 g 样品中花色苷的含量(mg)	酸化甲醇提取 100 g 样品中花色苷的含量(mg)
1	400	147	149
2	400	155	138
3	400	138	118
4	400	134	141
5	400	131	121
6	400	156	147

用非酸化乙醇与酸化乙醇(pH 值 3.5)对比结果相似。

2.1.5.2 非酸化甲醇和酸化甲醇(pH 值 3.5)提取、纯化后的花色苷纯度 将上述非酸化和酸化甲醇溶剂提取的样品,按本研究上述方法纯化后,分别测定其花色苷的纯度,测定结果见表 2、表 3。

表 2 非酸化甲醇提取、纯化 100 g 样品中的花色苷含量

编号	花色苷的纯度(mg)
1	26 844.32
2	26 281.64
3	27 138.39
4	25 836.27
5	25 925.55
6	26 474.80
均值	26 416.83

表 3 酸化甲醇提取、纯化 100 g 样品中的花色苷含量

编号	花色苷的纯度(mg)
1	25 224.47
2	25 456.37
3	26 564.45
4	26 512.34
5	25 945.48
6	26 314.35
均值	26 002.91

对比表 2、表 3 的试验数据可以看出,在相同的试验条件下,采用非酸化甲醇提取、纯化产品花色苷含量略高。

2.1.5.3 提取时间对蓝莓花色苷提取效果的影响 由于 1 次提取的提取率约为 77% 左右,显然蓝莓皮渣中的花色苷只提取 1 次是不够的。第 1 次提取时提取时间对蓝莓花色苷提取效果的影响见图 5。

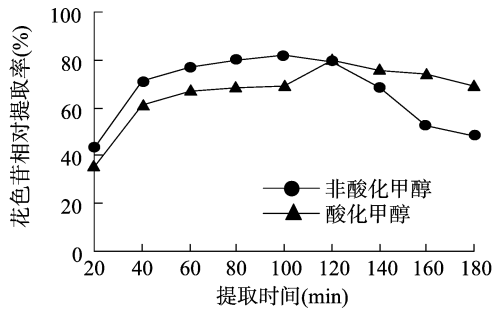


图 5 第 1 次提取时提取时间对蓝莓花色苷提取效果的比较

图 5 试验结果表明,在 40 ℃ 条件下,在提取的初期 2 种提取溶剂对花色苷的相对提取率的变化规律基本一致,即蓝莓花色苷的提取速率都较大,非酸化甲醇相对提取率在 60 min 时就已经达到 76.8% 的较高值,在 100 min 达到最大值 82%,随后开始显著下降,是因为蓝莓皮渣中的多酚氧化酶活性由于加热时间较长而增强导致;酸化甲醇相对提取率在 120 min 达到最大值 80%,随后提取率开始缓慢下降,而非酸化甲醇提取率下降得比酸化甲醇提取率快的原因是酸性条件对多酚氧化酶有一定的抑制作用,因此蓝莓花色苷能够保留相对较长的时间^[10-11]。

第 2 次提取时提取时间对蓝莓花色苷提取效果的影响见图 6。在相同条件下,第 2 次提取时蓝莓皮渣中剩余的花色苷已较少,提取初期提取率仍然随时间的增加而逐渐增大,但增大趋势较缓,非酸化甲醇蓝莓花色苷提取率 60 min 时达 16.9%,80 min 时达最大值 17.1%,而酸化甲醇花色苷提取率基本保持在 14% ~ 15%;若提取时间过长,相对提取率都有不同程度的下降,而非酸化条件下下降得快,也说明酸性条件对花色苷的降解具有一定的抑制作用。

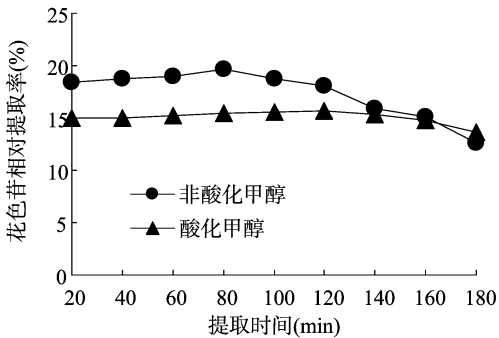


图 6 第 2 次提取时提取时间对蓝莓花色苷提取效果的比较

分析 2 次提取数据可知,酸化甲醇和非酸化甲醇的提取率比较接近,只在长时间提取时酸化溶剂有一定优势,综合看来选择非酸化甲醇是较优选择。另外,每次提取 1 h 是一个较恰当的选择,虽然在 2 次提取过程中,提取 1 h 的相对提取率都不是最大,但都比较大,2 次相加提取率也达到了 93%,由于提取时间较短可减少能耗,因此每次提取 1 h 左右是均衡的选择。

3 结论与讨论

综合国内公开发表的研究结果^[12],普遍采用酸性溶剂提取蓝莓花色苷,通过本研究及笔者所在课题组前期研究的结果表明,相对于普通的甲醇溶液,酸性甲醇溶液并没有显著优势,采用非酸化甲醇溶液提取蓝莓花色苷完全能够保证提取效果,同时可在一定程度上降低提取的成本。

采用非酸化甲醇试剂提取蓝莓花色苷,试验制备的蓝莓花色苷呈红黑色针状,有金属光泽。相对于酸化甲醇来说,用非酸化甲醇提取蓝莓花色苷不会造成酸性试剂的残留问题,降低了操作难度,更加有利于蓝莓花色苷的提取。

以蓝莓皮渣为提取蓝莓花色苷原料,按料液比 1 g : 15 mL,加入浓度为 90% 的甲醇水溶液,于 40 ℃ 溶剂中提取 2 次,每次时间 1 h,提取率可达到 93%;采用醇提水沉法处理后,再用上述柱层析法纯化后可以获得纯度达到 26.4%

李 静,浦宏杰,宋飞虎,等. 排湿压力对微波干燥过程的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):257-259.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.085

排湿压力对微波干燥过程的影响

李 静,浦宏杰,宋飞虎,李臻锋

(江南大学机械工程学院/江苏省食品先进制造装备重点实验室,江苏无锡 214122)

摘要:研究了排湿压力对苹果微波干燥过程中干燥速率和干后制品品质的影响,通过分析微波干燥速率曲线,发现排湿压力决定干燥速率的峰值,对干燥时间与能耗的影响较小,而对干后制品品质的影响较大。其中,在 70 ℃、排湿压力 34.47 kPa 时,苹果干后制品品质最好,这将为提高苹果干制品品质提供重要参考。

关键词:苹果;微波干燥;排湿压力

中图分类号: TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0257-03

微波用于干燥果蔬显著优于其他干燥方法,因为它是一种高效、洁净、灵敏、无余热的能量^[1],同时微波干燥的制品在色泽、营养成分保持及总体感官等方面都较其他方式更有优势^[2]。近年来,国内外许多研究关注于不同干燥方式的比较,而有关微波干燥方式的研究主要集中在不同功率下取得的干燥效果^[3-9]。很多学者还对蔬果的干燥特性进行了研究,如宋洪波等研究了干燥方法对植物产品密度、孔隙率、颜色、复水性能等的影响^[10];赵思明等研究了高温高湿的热风干燥对藕片干燥特性的影响,确定了高温高湿可以协调藕片内外水分扩散速度,以保留风味,获得较好的干燥品质^[11];Thuwapanichayanan 等^[12]、Bain 等^[13]考察了不同温度下干燥香蕉片的芳香成分、收缩程度、色泽、质地等品质指标。以往研究主要集中在不同干燥方式、功率、物料特性等对物料干燥速度影响,而排湿压力对物料干燥速度及干燥品质方面的影响鲜有报道。为此,本研究针对粒状果蔬物料,以苹果粒为试

验样品,考察在不同排湿压力下粒状果蔬的微波干燥特性和干燥后品质,为生产应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

采用苹果作为材料,最初含水率约为 87%。样品被切割成 10 mm × 10 mm × 10 mm 小块,并在 80 ℃热水中处理 1 min 以抑制酶反应。每个试验采用 40 g 样品并被处理到大约 11% 的含水率。所有的试验重复 3 次。

1.2 仪器与设备

为了研究在微波干燥过程中排湿压力对苹果干制品品质的影响,本试验采用了自主研发的微波干燥系统,试验设备见图 1。系统采用一个最大输出功率 600 W 的微波炉(Beaumarck 02314, Matsushita Electric Ind. Co. Ltd., Yamatokoriyama, Japan)。微波炉底部安装有旋转天线,用于均匀腔内微波功率。同时,改造相关的控制电路,通过相位控制器对功率进行自动连续调节,用以控制物料中心的温度,使得试验可以在定温下完成。

干燥过程中采用电子天平(P-2002, Denver Instrument, Denver, CO, USA)在线质量测量。将光纤传感器(Nortech Fibronic Inc., Quebec, Canada)插入样品中心测量物料中心温

收稿日期:2014-06-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:21206051);江苏省产学研联合创新资金(编号:BY20130155-22)。

作者简介:李 静(1972—),女,江苏无锡人,硕士,讲师,研究方向为食品加工与无损检测。E-mail:lisytu@163.com。

的高纯度蓝莓花色苷。上述方法制备的高纯度蓝莓花色苷呈黑褐色片状,有明显金属光泽,是高价值的提取产品,有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 王日为,张丽霞,高吉刚. 茶叶中花青素类物质研究展望[J]. 茶叶科学技术,2002(4):4-8.
- [2] 孙志健,张 燕,陈 芳,等. 对蓝莓产业化发展的思考[J]. 食品工业科技,2005,26(12):183-184.
- [3] 王姗姗,孙爱东,李淑燕. 蓝莓的保健功能及其开发应用[J]. 中国食物与营养,2010(6):17-20.
- [4] 卜庆雁,周晏起. 浅析蓝莓的营养保健功能及开发应用前景[J]. 北方园艺,2010(8):215-217.
- [5] 冷吉燕,张 婧,邵明柏. 蓝莓花色苷的研究进展[J]. 中国老年学杂志,2011,31(17):3419-3423.

- [6] Markakis P. Anthocyanins as food colors[M]. New York: Academic Press,1982:10-18.
- [7] 孟宪军,李颖畅,宣景宏,等. AB-8 大孔树脂对蓝莓花色苷的动态吸附与解吸特性研究[J]. 食品工业科技,2007,28(12):94-96,99.
- [8] 张 华,李景琳,李传新,等. 越橘红色素提取工艺的研究[J]. 辽宁农业科学,1988(2):8-12.
- [9] 石 光,张春枝,陈 莉,等. 蓝莓花色苷稳定性研究[J]. 食品与发酵工业,2008,34(2):97-99.
- [10] 凌家庭. 可供开发食品添加剂(IX): 蓝莓提取物及其抗氧化作用[J]. 粮食与油脂,2003(6):45-48.
- [11] 杨国放,杨 宏,吕春茂,等. 越橘果实花色苷及其抗氧化活性研究进展[J]. 辽宁农业科学,2011(5):46-50.
- [12] 陆国权,吴小蓉. 黑豆皮色素的提取及其理化性质研究[J]. 中国粮油学报,1997,12(3):55-57.