

# 黑果腺肋花楸花青素提取工艺研究

王一涵, 吴 楠, 张铭津, 张 帆, 王 薇\*

吉林农业大学园艺学院, 吉林 长春

Email: 328997175@qq.com, \*wangwei@jlau.edu.cn

收稿日期: 2020年11月9日; 录用日期: 2021年1月4日; 发布日期: 2021年1月13日

## 摘 要

黑果腺肋花楸果实中富含大量营养物质, 例如膳食纤维、糖类、蛋白质、多酚类化合物等, 其中最重要的物质是酚类物质。多酚类化合物如酚酸、原花青素、花青素、黄酮醇等含量丰富, 且与黑果腺肋花楸的生物活性密切相关。其中花青素占主导地位, 约占总酚的25%, 可保护机体免受自由基损伤, 有防癌、护肝等多种作用。本文为研究黑果腺肋花楸花青素的提取工艺, 进一步提高黑果腺肋花楸花青素的提取效率, 利用正交实验的方式优化超声波辅助提取黑果腺肋花楸花青素。具体的提取方法是以黑果腺肋花楸果实作为原料, 应用乙醇作为提取溶剂, 通过超声辅助提取的方法提取花青素, 在单因素基础上, 考察乙醇体积分数、液料比、提取时间、超声功率对黑果腺肋花楸花青素提取率的影响, 利用 $L_9(3^4)$ 正交试验确定最佳提取工艺条件。研究表明, 黑果腺肋花楸花青素的最佳提取工艺为乙醇体积分数为65%、液料比为6:1 (mL/g)、提取时间为20 min、超声功率为200 W, 在此条件下花青素的提取率为 $(33.5 \pm 1.2 \text{ mg/g})$ 。本文研究发现超声波辅助提取紫黑果腺肋花楸花青素效率比较高、用时少。超声波使样品与溶剂之间产生空化作用, 促进样品分散, 从而增大样品与溶剂间的接触面积, 提高有效物质的溶出, 进而提高提取率。超声波辅助提取法较传统的溶剂提取法操作简单、快速, 具有一定的推广价值和广泛的应用前景。

## 关键词

黑果腺肋花楸, 花青素, 提取工艺, 正交优化

# Study on the Extraction Technology of Anthocyanin from *Sorbus melanocarpa*

Yihan Wang, Di Wu, Mingjin Zhang, Fan Zhang, Wei Wang\*

College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun Jilin

Email: 328997175@qq.com, \*wangwei@jlau.edu.cn

Received: Nov. 9<sup>th</sup>, 2020; accepted: Jan. 4<sup>th</sup>, 2021; published: Jan. 13<sup>th</sup>, 2021

\*通讯作者。

## Abstract

The fruit of *Sorbus melanocarpa* is rich in a large number of nutrients, such as dietary fiber, Carbohydrates, protein, and polyphenolic compounds. The most important substances are phenols. Polyphenolic compounds such as phenolic acids, proanthocyanidins, anthocyanins, flavonols, etc. are rich in content, and are closely related to the biological activity of *Sorbus melanocarpa*. Among them, anthocyanins dominate, accounting for about 25% of the total phenols. They can protect the body from free radical damage, and have many functions such as preventing cancer and protecting the liver. Therefore, the fruit of *Aronia melanocarpa* also has a certain health effect. This article is to study the extraction process of *S. melanocarpa* anthocyanins, further improve the extraction efficiency of *S. melanocarpa* anthocyanins, and optimize the ultrasonic-assisted extraction of anthocyanins from *S. melanocarpa* by orthogonal experiments. The specific extraction method is based on *Sorbus melanocarpa* fruit as raw material, ethanol is used as extraction solvent, and anthocyanins are extracted by ultrasonic-assisted extraction. On the basis of single factor, the ethanol volume fraction, liquid-to-material ratio, and extraction time are investigated. The effect of ultrasonic power on the extraction rate of anthocyanin from *Sorbus melanocarpa*, the L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) orthogonal test was used to determine the optimal extraction process conditions. The results of the study showed that the best extraction process for anthocyanins from *S. melanocarpa* was 65% ethanol volume fraction, 6:1 liquid-to-solid ratio (mL/g), extraction time 20 min, and ultrasonic power 200 W. Under these conditions, the extraction rate of anthocyanins was (33.5 ± 1.2 mg/g). The research in this paper found that the ultrasonic assisted extraction of aronia cyanidin is more efficient and takes less time. Ultrasonic waves cause cavitation between the sample and the solvent, promote the dispersion of the sample, and increase the contact area between the sample and the solvent. The dissolution of effective substances, thereby increasing the extraction rate, is simpler and faster than traditional solvent extraction methods, and has a certain promotion value and broad application prospects.

## Keywords

*Sorbus melanocarpa*, Anthocyanin, Extraction Process, Orthogonal Optimization

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

黑果腺肋花楸(*Aronia melanocarpa*)又名不老莓或者野樱莓,属于蔷薇科腺肋花楸(*Aronia*)属多年生落叶灌木,此类树高 1.5~3.2 米,对于环境适应能力比较强,耐寒。黑果腺肋花楸原产于北美的东北部以及加拿大等地区,我国定植的黑果腺肋花楸是在上个世纪九十年代引入的栽植于我国的辽西地区。黑果腺肋花楸的果实呈球形,果皮呈紫黑色,果肉暗红,果实味道酸甜微涩[1] [2]。

黑果腺肋花楸果实富含多种营养成分以及生物活性物质,例如含有丰富的膳食纤维、多酚类化合物、糖水化合物、丰富的矿物质和微量元素等,其中具有丰富药理活性的化学物质为多酚类化合物如花青素、原花青素、酚酸等,这与黑果腺肋花楸的生物活性存在十分密切的关系,其中花青素占有主导地位,大约占多酚类化合物的 30%,它可以消除生物体内产生的自由基,从而可以保护机体免受自由基的损伤。据研究报道黑果腺肋花楸果实提取物具有很强的抗氧化活性,而且还具有抗炎、抗癌、防治糖尿病、心

血管疾病以及尿路感染、治疗肥胖、保护肝脏等多种生物活性[3] [4] [5] [6] [7]。花青素是一种多酚类的水溶性色素，一般来源于植物的梗、叶片和果实。目前对于花青素的提取主要有水提法和乙醇提取法，但是由于水提法比较耗费时间，而且还存在提取率比较低、提取物中杂质含量较多的缺点，因此在实际研究过程中对于应用水提法提取花青素的较少，乙醇提取法应用较多。超声辅助提取是近年来较多应用于植物提取研究中，是一种借助超声波以提高提取效率的新技术，具有快速高效、降低成本等特点，超声辅助提取具有良好的发展前景[8]。

近年来，花青素由于其具有多种生物活性、安全性比较高、资源可更新等优势在保健品、医药以及化妆品等领域均具有十分良好的发展前景。本文以黑果腺肋花楸果实作为原料，应用乙醇作为提取溶剂，通过超声辅助提取的方法提取花青素，对黑果腺肋花楸中花青素的提取工艺进行研究，以为黑果腺肋花楸的研究与开发提供基础与参考。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料

黑果腺肋花楸：济南圣科技术开发有限公司；乙醇、氯化钾、盐酸、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷。

### 2.2. 试剂与仪器

Scientz-IID 组织捣碎机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)；UV-8000A 型紫外可见分光光度计(宁波新芝生物科技股份有限公司)；HC-2518R 超声仪(成都优普电子产品有限公司)；EL204 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

### 2.3. 花青素含量测定

采用双波长 pH 值示差法，以矢车菊素 3-O-葡萄糖苷为参照。取待测液 1 mL，加入 NaAc-HAc 缓冲溶液(pH 4.5, 0.4 mol/L)或 KCl-HCl 缓冲溶液(pH 1.0, 0.25 mol/L) 9 mL，摇匀，转入光路长为 1 cm 的比色皿中，以蒸馏水代替样品溶液做空白对照，分别在 510 nm 和 700 nm 波长处测定吸光度值[9]。

$$\text{花青素提取率}(\text{mg/g}) = A \times Mw \times DF \times 100 / (\varepsilon \times M)$$

式中： $A = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH} 1.0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH} 4.5}$ ； $Mw = 449.2 \text{ g/mol}$ ，矢车菊素 3-O-葡萄糖的摩尔质量； $DF$  为待测液稀释倍数； $\varepsilon = 26900 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ ，矢车菊素 3-O-葡萄糖的摩尔消光系数； $M$  为提取样品的质量。

### 2.4. 提取方法

准确称取经过预处理的黑果腺肋花楸 5.0 g，按一定液料比加入一定浓度的乙醇溶液浸泡，置于具有回流装置的平底烧瓶内。将装好料的烧瓶置于恒定功率的超声仪内，将水浴超声温度设置为 60℃，水浴超声提取一定时间后以 7000 r/min 的转速进行离心，离心时间为 15 min，离心温度 4℃，分离上清液，滤渣以同样条件反复进行两次提取，合并滤液。测定提取液的吸光度值，计算提取液中花青素的含量。

### 2.5. 单因素设计

#### 2.5.1. 乙醇体积分数对花青素提取量的影响

准确称取经过预处理的黑果腺肋花楸 5.0 g，液料比为 4:1 (mL/g)，在超声功率为 50 W，提取时间为 30 min 的条件下，考察乙醇的体积分数分别为 25%、35%、45%、55%、65%、75%对花青素提取率的影响。

### 2.5.2. 液料比对花青素提取量的影响

准确称取经过预处理的黑果腺肋花楸 5.0 g，乙醇体积分数为 65%，在超声功率为 50 W，提取时间为 30 min 的条件下，考察液料比分别为 2:1 (mL/g)、4:1 (mL/g)、6:1 (mL/g)、8:1 (mL/g)、10:1 (mL/g) 对花青素提取率的影响。

### 2.5.3. 提取时间对花青素提取量的影响

准确称取经过预处理的黑果腺肋花楸 5.0 g，乙醇体积分数为 65%，液料比为 4:1 (mL/g)，在超声功率为 50 W 条件下，考察提取时间分别为 10 min、20 min、30 min、40 min、50 min、60 min 对花青素提取率的影响。

### 2.5.4. 超声功率对花青素提取量的影响

准确称取经过预处理的黑果腺肋花楸 5.0 g，乙醇体积分数为 65%，液料比为 4:1 (mL/g)，提取时间为 30 min，考察超声功率分别为 50 W、100 W、150 W、200 W、250 W 对花青素提取率的影响。

## 2.6. 正交工艺优化

在单因素基础上，考察乙醇体积分数、液料比、提取时间、超声功率对黑果腺肋花楸花青素提取率的影响，利用  $L_9(3^4)$  正交试验确定最佳提取工艺条件。正交试验因素水平见表 1。

**Table 1.** Ultrasonic assisted extraction of orthogonal test factor level table

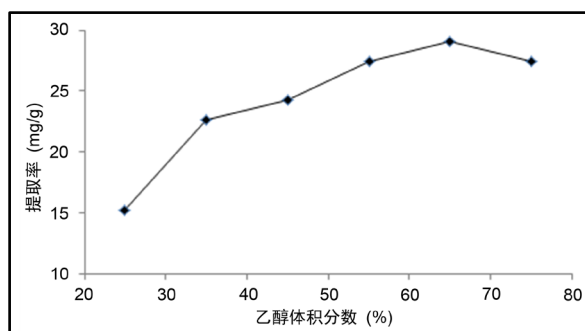
**表 1.** 超声波辅助提取正交试验因素水平表

水平	因素			
	A 乙醇体积分数(%)	B 液料比(mL/g)	C 提取时间(min)	D 超声功率(W)
1	55	4:1	40	150
2	65	6:1	50	200
3	75	8:1	60	250

## 3. 结果

### 3.1 乙醇体积分数对花青素提取率的影响

如图 1 所示，当乙醇的体积分数小于 65% 时，黑果腺肋花楸花青素的提取率随乙醇的体积分数的增大而呈现逐渐增大的趋势，在乙醇体积分数超过 65% 之后，黑果腺肋花楸花青素的提取率逐渐降低，这可能是由于乙醇的体积分数过高可能会对花青素的内部组织结构造成破坏，进而会导致花青素的提取率降低。所以后续试验中选择 65% 的乙醇为最佳提取浓度。



**Figure 1.** The effect of ethanol volume fraction on the extraction rate of anthocyanins

**图 1.** 乙醇体积分数对花青素提取率的影响

### 3.2. 液料比对花青素提取率的影响

如图 2 所示,当液料比小于 6:1 (mL/g)时,黑果腺肋花楸花青素的提取率随液料比的增大而逐渐增加,当液料比超过 6:1 (mL/g)时,黑果腺肋花楸中的花青素的提取量随液料比的增加而呈现逐渐降低的趋势,这可能是因为黑果腺肋花楸果实中花青素已基本溶出,若继续增加液料比可能会增加后续操作的工作量,并且在一定程度上造成有机溶剂的浪费,增加了实验成本。

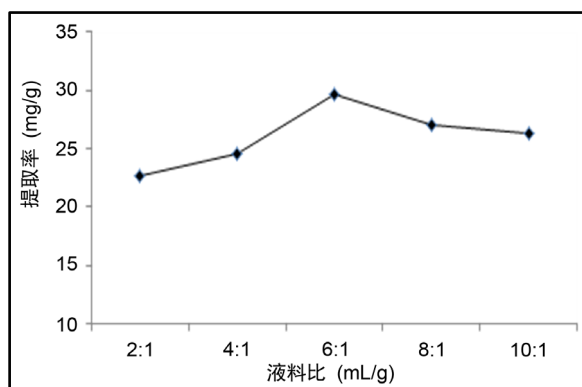


Figure 2. The effect of liquid-to-material ratio on the extraction rate of anthocyanins

图 2. 液料比对花青素提取率的影响

### 3.3. 提取时间对花青素提取率的影响

图 3 反映了提取时间对黑果腺肋花楸花青素的提取率的影响,在 10~40 min 内,花青素的提取率呈现逐渐增大的趋势,当提取时间达到 40 min 时,提取率达到最大值。之后提取时间超过 40 min,黑果腺肋花楸花青素的提取率呈现缓慢降低的趋势,这可能是由于随着提取时间的增加,可能会对花青素造成一些破坏,同时随着提取时间的延长,还可能会溶解出黑果腺肋花楸中其他的杂质,造成提取的花青素杂质较多。

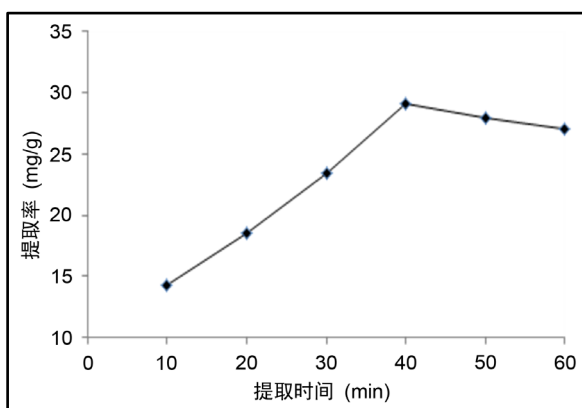


Figure 3. Effect of extraction time on extraction rate of anthocyanins

图 3. 提取时间对花青素提取率的影响

### 3.4. 超声功率对花青素提取率的影响

如图 4 所示,当超声功率低于 200 W 时,黑果腺肋花楸花青素的提取量随着超声功率的升高而升高,当超声功率达到 200 W 时花青素的提取率达到最大,当超声功率超过 200 W 时,花青素提取率逐渐下降。

这是因为随着超声功率的增加, 溶剂中形成无数的气泡并迅速内爆, 加速了黑果腺肋花楸果细胞壁的破裂和溶剂的渗入, 从而提高了提取效率。但当超声功率继续增大时, 花青素提取率逐渐下降, 这是因为随着超声功率的提高, 气泡数量增加而爆破冲击力减弱, 空化效应减弱[10]。所以选用超声功率为 200 W。

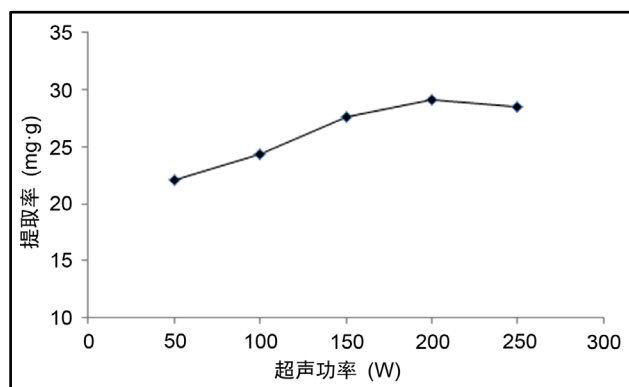


Figure 4. Effect of ultrasonic power on extraction rate of anthocyanins  
图 4. 超声功率对花青素提取率的影响

### 3.5. 正交工艺优化结果

如表 2 所示, 表 2 说明正交试验的最优组合为  $A_2B_2C_1D_2$ , 即乙醇体积分数为 65%、液料比为 6:1 (mL/g)、提取时间为 20 min、超声功率为 200 W, 这与正交试验组合中的  $A_2B_3C_1D_2$  是最优结果相矛盾。这是由于正交实验设计没有包括全部实验组合, 为验证结果的正确性, 进行了 2 组验证实验。验证实验结果显示,  $A_2B_2C_1D_2$  的花青素提取率为  $(33.5 \pm 1.2 \text{ mg/g})$ ,  $A_2B_3C_1D_2$  的花青素提取率为  $(32.1 \pm 0.9 \text{ mg/g})$ ,  $A_2B_2C_1D_2$  的试验组合花青素提取率较高, 而且此试验条件下液料比更低, 使用的有机溶剂的体积更少, 节约了试验成本。故黑果腺肋花楸花青素的最佳提取工艺为乙醇体积分数为 65%、液料比为 6:1 (mL/g)、提取时间为 20 min、超声功率为 200 W。

Table 2. Results of orthogonal test  
表 2. 正交实验结果

试验号	因素				提取率(mg/g)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	22.3
2	1	2	2	2	24.6
3	1	3	3	3	23.4
4	2	1	2	3	25.7
5	2	2	3	1	30.6
6	2	3	1	2	32.4
7	3	1	3	2	26.1
8	3	2	1	3	27.1
9	3	3	2	1	25.4
$K_1$	70.30	74.10	81.80	78.30	
$K_2$	88.70	82.30	75.70	83.10	



## Continued

$K_3$	78.60	81.20	80.10	76.20
$R$	6.13	2.73	2.03	2.30
优水平	$A_2$	$B_2$	$C_1$	$D_2$
主次因素	$A > B > D > C$			

## 4. 结论

超声波辅助提取技术是一种安全无害的有效提取技术，可以应用到多种物质的提取。本文以黑果腺肋花楸果实作为原料，应用乙醇作为提取溶剂，通过超声辅助提取的方法提取花青素，对黑果腺肋花楸中花青素的提取工艺进行研究。研究表明，黑果腺肋花楸花青素的最佳提取工艺为乙醇体积分数为 65%、液料比为 6:1 (mL/g)、提取时间为 20 min、超声功率为 200 W，在此条件下花青素的提取率为 $(33.5 \pm 1.2 \text{ mg/g})$ 。

## 基金项目

中央财政林业科技推广示范项目“黑果腺肋花楸优良品种高产栽培技术推广与示范”，吉林省大学生创新创业训练计划项目支持，项目编号：JLT2019-17，201910193149。

## 参考文献

- [1] 陈妍竹, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 黑果腺肋花楸功能作用及食品加工研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(9): 397-400.
- [2] 于明, 李铄, 张丽, 等. 黑果腺肋花楸果实的化学成分[J]. 中草药, 2010, 41(4): 544-546.
- [3] 国石磊, 朱凤妹, 王娜, 等. 黑果腺肋花楸花色苷树脂纯化工艺及其稳定性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(9): 1636-1642.
- [4] 高凝轩, 李斌, 刘辉, 等. 基于 RSM 法优化黑果腺肋花楸多酚提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(19): 249-254.
- [5] 位路路, 林杨, 王月华, 等. 黑果腺肋花楸花色苷提取工艺优化及其抗氧化活性和组成鉴定[J]. 食品科学, 2018, 39(12): 239-246.
- [6] 徐艳阳, 仇洋, 王君吻, 等. 黑果腺肋花楸多酚的抑菌效果及对  $\alpha$ -淀粉酶活性的抑制作用[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 58-64.
- [7] 宋健刚. 黑果腺肋花楸果实活性成分的提取、纯化及体外活性研究[D]: [硕士学位论文]. 吉林: 吉林化工学院, 2019.
- [8] 周雪艳. 响应面优化超声提取黑果腺肋花楸叶多糖工艺及抗氧化研究[J]. 中国食品添加剂, 2018(5): 96-104.
- [9] 郭华, 刁全平, 黄港茵, 等. 超声波辅助提取黑果腺肋花楸黄酮工艺研究[J]. 鞍山师范学院学报, 2019, 21(2): 46-49.
- [10] 李梦莎. 响应面法优化超声提取黑果腺肋花楸花色苷工艺的研究[J]. 中国酿造, 2014, 33(9): 129-133.