

文章编号:1673-1689(2008)01-0080-04

苹果果肉中原花青素超声波的辅助浸提

刘春辉, 周亚平, 祝军, 戴洪义*

(莱阳农学院 园艺学院, 山东 青岛 266109)

摘要:以苹果品种“瑞林”为试材,通过正交试验比较研究了超声波辅助法与传统溶剂法提取苹果果肉中原花青素的效果,经筛选优化了苹果原花青素提取的技术参数。结果表明:超声波辅助法提取苹果果实中的原花青素的最佳条件为:乙醇体积分数 50%、pH 值为 4、温度 70℃。在此条件下提取 2 h 后,原花青素的最大提取量为 0.14 mg/g;传统溶剂法提取苹果中原花青素的最佳条件为乙醇体积分数 80%、pH 值为 4、温度 90℃。在此条件下提取 2 h 后,原花青素的最大提取量为 0.126 mg/g。利用超声波辅助增强了苹果果肉中原花青素的乙醇提取效果,即降低了提取温度,减少了溶剂用量,并使提取量增加了 10.9%。

关键词: 苹果;原花青素;超声波辅助提取;溶剂提取

中图分类号:TS 202.3

文献标识码:A

Ultrasound-assisted Extraction of Proanthocyanidin from Apple Flesh

LIU Chun-hui, ZHOU Ya-ping, ZHU Jun, DAI Hong-yi*

(Department of Horticulture, Laiyang Agricultural College, Qingdao 266109, China)

Abstract: The extraction of proanthocyanidin with ultrasound assistance from flesh of ‘Jude Lin’ apple (*Malus domestica* Borkh) was investigated and compared with the traditional solvent extraction method by orthogonal design test. The technical parameters of extraction of proanthocyanidin were optimized. The results showed that the maximal extraction of proanthocyanidin (0.14mg/g) were obtained when the extraction was made in 50 % aqueous ethanol solution at 70 °C (pH=4) for 2 h for ultrasound assisted extraction. Whereas the maximal extraction of proanthocyanidin (0.126 mg/g) was obtained when the extraction was made in the solution of 80 % aqueous ethanol at 90 °C (pH=4) for 2 h for the traditional solvent extraction method. The ultrasound assisted extraction significantly increased the efficiency of proanthocyanidin extraction by 10.9 % at lower temperature with lower consumption of solvent.

Key words: apple; proanthocyanidin; ultrasound- assisted extraction; solvent extraction

原花青素(Proanthocyanidin)是从植物中分离得到的一种无色的,在热、酸处理下能产生花色素的物质。它包括单体原花色素和聚合体原花色素。

单体原花青素包括黄烷-4-醇和黄烷-3,4-二醇,聚合体原花青素包括缩合单宁、红粉和酚酸。聚合体原花青素是苹果中主要的酚类物质,它主要

收稿日期:2007-01-03.

基金项目:山东省农业良种工程项目.

作者简介:刘春辉(1981-),男,山东烟台人,果树育种专业硕士研究生.

* 通讯作者:戴洪义(1956-),男,山东烟台人,教授,主要从事果树育种研究. Email:hydai@lyac.edu.cn

是由不同数量的儿茶素或表儿茶素缩合而成。苹果中的原花青素主要以原花青素二聚体的形式存在^[1]。原花青素具有很强的抗氧化能力,它在人体内的抗氧化能力是维生素C的20倍,维生素E的50倍^[2]。原花青素还具有清除自由基、抑制肿瘤、抗诱变和改善人体微循环等功效^[3]。目前,原花青素已广泛应用于食品、药品和化妆品等领域,具有重要良好的市场前景。

原花青素的提取一般采用有机溶剂提取法,用于提取的有机溶剂主要有甲醇、乙醇、丙酮等。甲醇和丙酮的毒性比较高,提取后若有残留会对人体造成很大的伤害。因此,作者采用乙醇为提取溶剂。超声波辅助提取是一种利用外力强化提取的新技术^[4]。超声波的空化作用能产生瞬间高压,局部高温以及放电现象等,可以明显地加速植物体和种子中有机成分的提取过程。目前超声波辅助提取法已被应用于不同植物、不同酚类物质的提取中,并取得了很好的效果。例如Herrera等利用超声波辅助法提取草莓中的酚类复合物^[5],Pallaroni等利用超声波辅助提取了小麦和玉米中的玉米烯酮^[6],高敏等利用超声波技术提取了水母雪莲中的类黄酮^[7],张海晖等利用超声波辅助提取乐大黄中的蒽醌类物质^[8],贲永光等利用超声提取了海金沙中的黄酮^[9],于金莹等的研究表明超声波提取苹果中的多酚优于传统的溶剂法^[10]。原花青素虽是苹果中的一大类多酚,但其最佳提取条件与多酚的最佳提取条件有很大差异^[10-11]。作者通过正交实验探讨了在乙醇作提取溶剂条件下用超声波辅助提取苹果果肉中的原花青素的最佳工艺,并与传统溶剂法进行了比较。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

“瑞林”苹果:购自山东省泰安市。

KQ-25 B型超声波清洗器:频率40 kHz,功率250 W,昆山超声仪器有限公司产品;HHSY21-Ni电热恒温水浴锅:北京长风仪器仪表有限公司产品;FW1000高速万能粉碎机:天津泰斯特仪器有限公司产品;ALC-210.2电子天平:北京赛多利斯仪器系统有限公司产品;SP-2102UV型紫外可见分光光度计:上海光谱仪器有限公司产品;离心机:Beckman coulterTM,Beckman公司产品;超低温冰箱:Sanyo公司产品。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理

万方数据

实验材料,取其胴部3~4 cm厚的果实圆片,除去果皮和果心,切成小块,用液氮速冻,用高速万能粉碎机打成果粉,放入超低温冰箱备用。

1.2.2 正交实验 在提取苹果果肉中的原花青素时,由于多因素影响提取率,经预实验确定了提取温度(50、70、90℃),pH值(2、4、6)和乙醇的体积分数(20%、50%、80%)3因素3水平的正交试验,采用正交表 $L_{27}(3^3)$

1.2.3 原花青素的提取和测定 取上述果粉1 g左右,用乙醇定容于10 mL,调pH后,转入螺口试管中,然后在一定的温度下浸提2 h(超声波辅助法在保温的同时超声波处理),10 000 r/min离心10 min,取上清液。苹果中原花青素含量的测定采用正丁醇-盐酸法^[11],取1 mL提取样品液放入具塞试管中,依次加入6 mL正丁醇/盐酸溶液(体积比95:5)及质量分数0.2%的硫酸亚铁氨溶液,拧紧,摇匀,沸水浴加热40 min后迅速流水冷却,用体积分数80%乙醇代替提取液做参比在波长546 nm测吸光值。

1.2.4 原花青素质量分数的计算

原花青素质量分数(mg/g) = $(A_{546} \times 0.0462 - 0.00280) \times 10/m$, m 为样品质量(g)。

2 结果与分析

2.1 超声波辅助提取苹果果肉中的原花青素

通过比较表1中每个因素3个水平的K值的大小可知,超声波辅助提取苹果原花青素的最优的水平组合为 $A_2B_2C_2$,即乙醇体积分数50%,温度70℃,pH值为4的水平组合效果最好。F值越大对试验结果的影响越显著,由表2可以看出,各因素对超声波辅助提取效果的影响次序为:乙醇体积分数>浓度与pH值的交互作用>温度与体积分数的交互作用>pH值>温度与pH值的交互作用>温度,并且乙醇体积分数对提取效果的影响达到极显著水平,浓度与pH值的交互作用对提取效果的影响达到显著水平。

2.2 溶剂法提取苹果果肉中的原花青素

由每个因素3个水平的K值的大小可以看出最优的水平组合,由表3可知传统溶剂法提取苹果原花青素的最优水平组合为 $A_3B_3C_2$,即用乙醇体积分数80%,温度90℃,pH值为4的水平组合效果最好。由表4的F值大小可以看出各因素对传统溶剂法提取苹果果肉中的原花青素效果的影响次序为:乙醇体积分、体积分与pH值的交互作用、温度、pH值、温度与体积分数的交互作用>温度与pH值的交互作用,其中乙醇体积分数对提取

效果的影响达到极显著水平,体积分数与 pH 值的交互作用对提取效果的影响达到显著水平。

表 1 超声波辅助提取苹果果肉中原花青素的结果计算表

Tab. 1 Range calculation for the extraction of proanthocyanidin with ultrasound assistance from apple flesh

均值	因 素					
	A	B	A×B	C	A×C	B×C
K ₁	0.078 18	0.374 60	0.082 96	0.076 08	0.085 920	0.088 89
K ₂	0.085 34	0.106 06	0.078 32	0.090 16	0.075 695	0.079 92
K ₃	0.081 96	0.101 96	0.084 21	0.079 24	0.083 870	0.076 67

注:A为温度,B为乙醇体积分数,C为pH,A×B为温度与体积分数的交互作用,A×C为温度与pH值的交互作用,B×C为体积分数与pH值的交互作用,K为各因素每个水平的平均值。

表 2 超声波辅助提取苹果果肉中原花青素的方差分析

Tab. 2 Analysis of variance for the extraction of proanthocyanidin with ultrasound assistance from apple flesh

变异来源	A	B	A×B	C	A×C	B×C	e
自由度	2	2	2	2	2	4	14
F 值	< 1	47.135 64**	3.285 99	1.739 033	1.374 226	4.291 071*	

注:A为温度,B为乙醇体积分数,C为pH,A×B为温度与体积分数的交互作用,A×C为温度与pH值的交互作用,B×C为体积分数与pH值的交互作用,e为误差项, $F_{0.05}(2,14) = 3.74$, $F_{0.01}(2,14) = 6.51$, $F_{0.05}(4,14) = 3.11$, $F_{0.01}(4,14) = 5.04$ 。*表示差异显著,**表示差异极显著。

表 3 溶剂法提取苹果果肉中原花青素的结果计算表

Tab. 3 Range calculation for the extraction of proanthocyanidin with traditional solvent extraction from apple flesh

均值	因 素					
	A	B	A×B	C	A×C	B×C
K ₁	0.071 72	0.046 16	0.075 52	0.086 75	0.085 02	0.092 16
K ₂	0.079 63	0.088 66	0.082 48	0.087 33	0.081 50	0.077 40
K ₃	0.092 46	0.108 98	0.085 80	0.069 72	0.077 29	0.074 25

注:A为温度,B为乙醇体积分数,C为pH,A×B为温度与体积分数的交互作用,A×C为温度与pH值的交互作用,B×C为体积分数与pH值的交互作用,K为各因素每个水平的平均值。

表 4 溶剂法提取苹果果肉中原花青素的方差分析

Tab. 4 Analysis of variance for the extraction of proanthocyanidin with traditional solvent extraction from apple flesh

变异来源	A	B	A×B	C	A×C	B×C	e
自由度	2	2	2	2	2	4	14
F 值	3.664 266	34.355 76**	3.143 671	3.447 88	1.259 747	4.189 815*	

注:A为温度,B为乙醇体积分数,C为pH,A×B为温度与体积分数的交互作用,A×C为温度与pH值的交互作用,B×C为体积分数与pH值的交互作用,e为误差项, $F_{0.05}(2,12) = 3.89$, $F_{0.01}(2,12) = 6.93$, $F_{0.05}(4,12) = 3.26$, $F_{0.01}(4,12) = 5.41$ 。*表示差异显著,**表示差异极显著。

2.3 超声波辅助提取法与传统溶剂提取法的比较

由表 5 可知,超声波提取与传统溶剂提取法相比,节约了提取溶剂,使溶剂的用量减少了一半,提取温度降低了 20℃,并且使提取量提高了 10.9%。

3 讨 论

超声波辅助提取苹果果肉中的原花青素的最适温度(70℃)低于传统溶剂法提取苹果原花青素的最适温度 90℃,这说明了高温虽然有助于加速提取物的溶出,但是过高的温度会引起提取液中有

机成分的大量蒸发,引起原花青素本身的氧化聚合。超声波可使植物内部组织的温度升高,而对提取溶剂的温度影响很少,从而降低了提取温度过高所引起的负面影响,提高了提取效率。

原花青素容易与蛋白质结合发生沉淀,而有机溶剂是蛋白质-多酚结合的有效抑制剂,在水中结合的蛋白质-多酚沉淀在机溶剂-水混合液中能发生脱鞣现象^[12]。对各种有机溶剂脱鞣能力的研究结果表明: $V(\text{水}):V(\text{有机溶剂}) = 50:50$ 的有机溶剂混合液(体积比)对丹宁脱鞣能力最强^[13]。超声波

辅助提取苹果中原花青素的最适乙醇体积分数(50%)低于传统溶剂提取的最适乙醇体积分数(80%),原因可能是无外力作用下体积分数 80%的乙醇对原花青素-蛋白质沉淀的脱鞣能力最强,而在超声波作用下,体积分数 50%的乙醇就能达到很好的脱鞣效果,从而降低了溶剂的消耗。Eskilsson 在研究中指出超声波在提取中的主要作用是降低溶剂的消耗和提高样品的提取率,这与本试验的结论相一致^[14]。

两种方法乙醇提取苹果原花青素的最适 pH 值都是 4,最适 pH 值可能是由两方面的原因造成的:一是原花青素在不同的酸度条件下的溶解度是不同的,pH 值为 4 时溶解性比较强。二是蛋白质在等电点附近对酚类物质的结合能力最强,“瑞林”苹

果中的可溶性蛋白等电点可能在 pH 值为 4 附近的较少。

表 5 苹果果肉中原花青素的超声波辅助提取和传统溶剂提取两种不同方法的比较

Tab. 5 The difference between ultrasound- assisted extraction and traditional solvent extraction for the extraction of proanthocyanidin

方法	提取参数			最高提取量/ (mg/g)
	温度/ ℃	乙醇体 积分数/%	pH 值	
超声波辅助 提取法	70	50	4	0.139 862
传统溶剂 提取法	90	80	4	0.126 112

采用正交实验设计,能够在传统的单因子比较方法的基础上容纳更多的因素和水平,大大减少了试验次数,并且考虑了各因素间的交互作用,增加了数据的可靠性。

参考文献(References):

- [1] 戚向阳,陈仲球,陈志远,等. 苹果中原花青素的测定及对果汁质量的影响[J]. 湖北农业科学, 2001, 6: 74-77.
QI Xiang-yang, CHEN Zhong-qiu, CHEN Zhi-yuan, et al. Studies on the determination of proanthocyanidins and its effect on the quality of apple juice [J]. *Hubei Agricultural Science*, 2001, 6: 74-77. (in Chinese)
- [2] 李凤英,崔蕊静,郑立红,等. 植物中原花青素含量的分析测定[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(5): 147-149.
LI Feng-ying, CUI Rui-jing, ZHENG Li-hong et al. Study on determination of contents of proanthocyanidins in plants [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2004, 30(5): 147-149. (in Chinese)
- [3] 张冰若,劳业兴,苏薇薇. 原花青素的研究现状及开发前景[J]. 中药材, 2003, 26(12): 905-908.
ZHANG Bing-ruo, LAO Ye-xing. The studied situation and developing prospect of proanthocyanidins [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2003, 26(12): 905-908. (in Chinese)
- [4] 王静,韩涛,李丽萍. 超声波的生物效应及其在食品工业中的应用[J]. 北京农学院学报, 2006, 21(10): 67-75.
WANG Jing, HAN Tao, LI Li-ping. Study and applications of ultrasound wave in biological and food technology [J]. *Journal of Beijing Agricultural College*, 2006, 21(10): 67-75. (in Chinese)
- [5] Herrera M C, Luque M D. Ultrasound-assisted extraction for the analysis of phenolic compounds in strawberries[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 379: 1106-1112.
- [6] Lea Pallaroni, Christoph von Holst. Microwave-assisted extraction of zeaxanthone from wheat and corn[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2002, 374: 161-166.
- [7] Min Gao, Chun-Zhao Liu. Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2005, 21: 1461-1463.
- [8] 张海晖,裴爱冰,刘军海. 超声波辅助提取大黄蒽醌类成分[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 7, 24(4): 52-56.
ZHANG Hai-hui, QIU Ai-yong, LIU Jun-hai. Extraction of anthraquinones from rhubarb with ultrasonic assistance [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005, 7, 24(4): 52-56. (in Chinese)
- [9] 賈永光,丘泰球. 双频超声对海金沙中黄酮提取率影响的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 7, 25(4): 51-55.
BLYong-guang, QIU Tai-qiu. Effect of dual-frequency ultrasound technique on the extraction rate of flavonoids from *Lygodium japonicum* [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 7, 25(4): 51-55. (in Chinese)
- [10] 金莹,孙爱东,崔莉,等. 苹果多酚超声波提取条件的优化研究[J]. 食品工业科技, 2005, 12: 99-100.
JIN Ying, SUN Ai-dong, CUI Li et al. Study on the optimum conditions in extracting polyphenols with ultrasound from the apples [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2005, 12: 99-100. (in Chinese)
- [11] 戚向阳,黄红霞,巴文广. 苹果中原花青素提取工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 3: 63-65.
QI Xiang-yang, HUANG Hong-xia, BA Wen-guang. Study On the Extraction of Proanthocyanidins from Apple [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2003, 3: 63-65. (in Chinese)
- [12] 石碧,狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [13] 魏庆元. 皮革鞣制化学[M]. 北京: 轻工业出版社, 1979.
- [14] Eskilsson CS, Björklund E. Analytical-scale microwave-assisted extraction [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 902(1): 227-250.

(责任编辑:朱明)