

向日葵花瓣黄色素提取工艺研究

于 新¹ 杜志坚²

(¹仲恺农业技术学院食品科学系, 广州 510225) (²石河子大学师范学院, 石河子 832000)

摘 要 比较了无水乙醇、异丙醇、氯仿、丙酮、乙醚、乙酸乙酯、甲苯、石油醚提取向日葵花瓣黄色素的效果。结果以丙酮为最佳溶剂, 丙酮提取液 λ_{\max} 为 356 nm。单因素试验和正交试验表明, 液料比和浸提时间对提取向日葵花瓣黄色素的影响较大, 其次为浸提温度, 而浸提 pH 的影响较小。优化提取工艺为: 在索氏提取器样品桶中放入粉碎的向日葵花瓣, 依液料比 8:1 (mL/g) 加入 pH4.0 的丙酮, 59℃ 恒温浸提 4 h。

关键词 向日葵花瓣, 黄色素, 提取工艺

菊科植物向日葵 (*Helianthus annuus* L.) 因耐土地瘠薄和气候干旱, 在我国西北 5 省及内蒙、山西等地大量种植, 成为重要的油料作物。然而, 人们仅收获向日葵种子, 大量干缩的金黄色花瓣资源至今无人采收和利用, 致使易于收集、成本低廉的花瓣随脱去种子后的花盘成为垃圾一同丢弃。随着社会的进步, 人们对化学合成色素在食品、医药、化妆品应用中的安全性产生更多的疑虑, 天然色素的开发利用已成为研究热点。目前, 天然黄色素的研究多限于玉米、红花、橘皮、栀子、南瓜果肉、黄刺玫、野菊花、沙棘等试验材料^[1~8], 尚未见有关向日葵花瓣黄色素的报道。国内外天然色素产品的产量和种类远不能满足食品工业和化妆品工业发展的需要, 研究向日葵花瓣黄色素的提取技术对于加强这一天然色素资源的开发和综合利用, 提高向日葵产业经济效益均具有积极的作用。为此, 本试验采用单因素试验和正交试验方法对向日葵花瓣黄色素的提取工艺进行了系统的研究, 以期为该色素的开发利用提供试验依据。

1 材料、仪器与试剂

1.1 试验材料

干燥的向日葵花瓣, 采自新疆生产建设兵团石河子总场。风选除去杂质, 粉碎过 40 目筛即可作为试验样品。

1.2 试验仪器

Shimadzu UV 930 紫外可见分光光度计, Shimadzu A350 电子分析天平, 粉碎机, 索氏提取器, 恒温水浴锅, 样品筛。

1.3 试验试剂

国产分析纯无水乙醇、异丙醇、丙酮、氯仿、乙醚、乙酸乙酯、甲苯、石油醚、HCl、KOH, 南开大学产 AB-8 型吸附树脂。

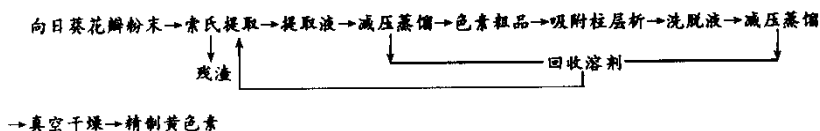
2 试验方法

2.1 溶剂选择

依溶剂极性不同分为蒸馏水、无水乙醇、异丙醇、丙酮、氯仿、乙醚、乙酸乙酯、甲苯、石油醚浸提组。准确称取样品 9 份, 每份 1.000 g。分别放入 100 mL 三角瓶中, 依次加入 30 mL 溶剂, 每 30 min 摇荡 1 次, 浸提 3 h。过滤, 定容至 50 mL。用于目视比色和分光光度计比色分析。

2.2 提取方法

向日葵花瓣黄色素提取工艺流程如下:



2.3 色素分析检测

准确称取精制黄色素 5.0 mg, 用选定的最佳溶剂溶解并定容至 50 mL, 摇匀。吸取 5 mL, 定容 50 mL, 即得到 0.01 mg/mL 的色素溶液。放入 1 cm 比色杯, 测定可见光区的吸收曲线, 确定 λ_{\max} 。在此波长下测定不同溶剂、不同浸提条件下的提取液的 OD 值, 并以 λ_{\max} 下的 OD 值表示待测液中色素的含量, 从而确定向日葵黄色素最佳浸提溶剂和最佳浸提工艺条件。以所用溶剂为参比。

2.4 正交试验设计

依据溶剂选择试验结果确定正交试验的溶剂。利用浸提温度、浸提 pH、浸提时间和液料比的单因素试验结果, 设置这 4 个因素

的 4 个水平, 并进行 $L_{16}(4^4)$ 正交试验。以上所有试验重复 5 次, 表中所列试验数据均为平均值。

3 结果与分析

3.1 溶剂浸提效果

浸提试验结果表明: 在 3 h 内, 向日葵花瓣黄色素不溶于极性较强的水和无水乙醇; 微溶于异丙醇、甲苯和石油醚, 而且甲苯和石油醚浸提液显现出较淡的橙黄或橙红色; 易溶于氯仿、丙酮、乙醚、乙酸乙酯, 尤其在丙酮中的溶解度最大, 其提取液呈深黄色(如表 1 所示)。色素的溶解度直接与浸提效果有关, 因此选择丙酮作为溶剂较合适。

表 1 不同溶剂浸提向日葵黄色素的效果

项 目	提取剂							
	无水乙醇	异丙醇	氯 仿	丙 酮	乙 醚	乙酸乙酯	甲 苯	石油醚
OD_{356}	0.057	0.064	0.373	0.627	0.272	0.138	0.075	0.042
提取液颜色	无色	浅黄	黄色	深黄	黄色	浅黄	橙黄	橙红

3.2 向日葵花瓣黄色素吸收光谱

向日葵花瓣丙酮提取物经吸附柱层析分离, 所得精制黄色素在可见光区的吸收曲线如图 1 所示, 其 λ_{\max} 为 356 nm。由于丙酮分子结构中没有共轭双键体系, 在可见光区不被吸收, 不存在溶剂干扰, 提取液的 OD_{356} 值即表示向日葵黄色素的含量。这符合我国食品添加剂标准技术委员会规定用 OD 值表示色素的质量的要求。吸附柱层析结果显示, 向日葵花瓣浸提液中除含有大量黄色素外, 尚有少量橙红色色素, 其 λ_{\max} 为 432 nm。

各种溶剂提取液的 OD_{356} 值如表 1 所示。溶剂无水乙醇至石油醚的分子极性逐渐减弱, 其对应的 OD_{356} 值也随溶剂极性依次变化, 强极性和弱极性溶剂浸提液的 OD_{356} 值小于中等极性溶剂浸提液的 OD_{356} 值, 与目视比色结果一致。目测颜色变化, 并以

OD_{356} 值的大小判断提取效果, 具有简便准确的特点。

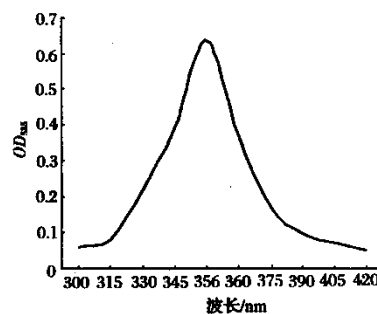


图 1 向日葵黄色素可见光区吸收光谱

3.3 单因素试验结果

3.3.1 液料比对提取效果的影响

取样品 8 份, 每份 5.000 g, 滤纸包封, 放入索氏提取器样品桶中。加入不同体积的丙酮于圆底烧瓶中, 57℃ 恒温浸提 1 h。回收溶

剂,将提取液浓缩至 5 mL,柱层析分离。将丙酮洗脱液定容至 50 mL,摇匀。取 2.5 mL,丙酮定容至 25 mL,摇匀,测定 OD_{356} 值,结果如表 2 所示。液料比对向日葵花瓣黄色素的浸提效果影响较大。随液料比升高,色素提取率增加,但是在液料比 3:1~8:1(mL/g)范围内,提取率显著增加,而液料比大于

8:1(mg/L)时,提取率略微增加。因此,选定液料比以 8:1(mg/L)为宜。另外,多次试验表明,AB-8 型吸附树脂对向日葵黄色素的吸附力大于对橙红色色素的吸附力,在柱层析中呈现 2 个明显的色环。用丙酮洗脱时,橙红色色素先流出,2 种色素得以有效分离。

表 2 液料比对提取效果的影响

项 目	丙酮用量/mL							
	15	20	25	30	35	40	45	50
液料比(mL:g)	3:1	4:1	5:1	6:1	7:1	8:1	9:1	10:1
OD_{356}	0.104	0.132	0.225	0.285	0.336	0.462	0.465	0.468

3.3.2 浸提时间对提取效果的影响

取样品 6 份,每份 5.000 g。按液料比 8:1(mL/g)加入丙酮,57℃ 恒温浸提 1~6 h。其余操作同 3.3.1,结果如表 3 所示。在 1~4 h 内,提取率随提取时间延长而增加,浸提时间对提取效果有明显的影响,浸提 4 h 已达到浸提 6 h 的提取率的 98.69%。考虑提

表 3 浸提时间对提取效果的影响

项 目	浸提时间/h					
	1	2	3	4	5	6
OD_{535}	0.462	0.503	0.569	0.612	0.617	0.620

表 4 pH 对提取效果的影响

项 目	溶剂 pH								
	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
OD_{356}	0.587	0.637	0.651	0.662	0.659	0.647	0.640	0.631	0.612
提取液颜色	黄色	黄色	黄色	黄色	黄色	黄色	黄色	黄色	黄色

由表 4 可知,pH 5.0 弱酸性条件的提取效果最佳,且 pH 对向日葵黄色素的提取及颜色的影响较小。在 pH 2.0~10.0 范围内,提取液均呈黄色。表明该色素具有酸碱稳定性,而不同一般的花色苷类色素具有酸碱指示剂样作用。介质中的质子不参与该色素的氧化还原作用,或色素分子在不同 pH 介质中没有发生烯醇式和酮式互变异构作用。因此,改变介质 pH,该色素 λ_{\max} 未发生红移或紫移。

3.3.4 温度对提取效果的影响

取样品 7 份,每份 5.000 g,滤纸包封,放

取工作效率,浸提时间以 4 h 为适。

3.3.3 pH 对提取效果的影响

利用丙酮与多种试剂互溶的特性,在一定体积的丙酮中添加的 6 mol/L HCl 或粉末状 KOH。溶解,摇匀,即获得不同 pH 的丙酮溶液。取样品 8 份,每份 5.000 g,滤纸包封,放入索氏提取器样品桶中。按液料比 8:1(mL/g)加入不同 pH 的丙酮溶液于样品桶中,多余溶剂加入烧瓶。浸泡 30 min,然后在 57℃ 恒温提取 4 h,其余操作同 3.3.1,结果如表 4 所示。

入索氏提取器样品桶中。按液料比 8:1(mg/L)加入 pH 5.0 的丙酮溶液于样品桶中,多余溶剂加入烧瓶。浸泡 30 min,然后在 56~62℃ 恒温提取 4 h。其余操作同 3.3.1,结果如表 5 所示。

表 5 温度对提取效果的影响

项 目	温度/℃						
	56	57	58	59	60	61	62
OD_{356}	0.238	0.662	0.686	0.723	0.725	0.727	0.730

温度与索氏提取器中溶剂在单位时间内的虹吸次数有关。温度过高,虹吸周期短,溶剂浸泡样品时间太短,不能有效溶解和提取

色素,而且溶剂冷凝回流率低、挥发损失多,热能消耗多,成本高,工作环境易受溶剂污染,安全性降低。温度太低,虹吸次数少,不能有效提取色素。由表5可知,在56~59℃范围内,温度对浸提效果有比较明显的影响。虽然56℃加热可使丙酮缓慢蒸馏,但由于烧瓶壁和瓶颈的空气冷凝作用,大部分已蒸馏的丙酮回流到烧瓶内,仅少部分回流到样品桶内。所以,56℃的浸提效果不佳。59~62℃范围内, OD_{356} 由0.723增加至0.730,只增加了0.97%。故选定59℃较为合适。该温度下,每6 min虹吸1次,具有较高的提取率和较少的溶剂挥发。

3.4 正交试验结果

为了确定在多因素条件下的最佳浸提温度、浸提pH、浸提时间及液料比与单因素条件下的试验结果是否吻合,正交试验的浸提温度选择57、58、59、60℃;浸提pH选择3.0、4.0、5.0、6.0;液料比选择6:1、7:1、8:1、9:1(mL/g);浸提时间选择2、3、4、5 h(如表6所示)。以丙酮为溶剂, OD_{356} 为考核指标的正交试验结果如表7所示。由极差分析可知,影响向日葵黄色素提取的主要因素是液料比和浸提时间,而浸提pH和浸提温度的影响相对较小。各因素的主次顺序是D>C>A>B,最优浸提方案为 $A_3B_2C_3D_3$ 。除浸提pH外,均与单因素试验结果是吻合的。

表6 $L_{16}(4^4)$ 正交试验因素水平表

水平	因 素			
	浸提温度/℃	浸提 pH	浸提时间/h	液料比(mL/g)
	(A)	(B)	(C)	(D)
1	57	3.0	2	6:1
2	58	4.0	3	7:1
3	59	5.0	4	8:1
4	60	6.0	5	9:1

表7 正交试验结果

试验序号	浸提温度	浸提 pH	浸提时间	液料比	OD_{356}
1	1	1	1	1	0.463
2	1	2	2	2	0.496
3	1	3	3	3	0.705
4	1	4	4	4	0.612

续表7

试验序号	浸提温度	浸提 pH	浸提时间	液料比	OD_{356}
5	2	1	2	3	0.618
6	2	2	1	4	0.565
7	2	3	4	1	0.441
8	2	4	3	2	0.625
9	3	1	3	4	0.761
10	3	2	4	3	0.765
11	3	3	1	2	0.453
12	3	4	2	1	0.456
13	4	1	4	2	0.462
14	4	2	3	1	0.573
15	4	3	2	4	0.640
16	4	4	1	3	0.576
K_1	0.569	0.576	0.514	0.484	
K_2	0.562	0.597	0.552	0.509	
K_3	0.609	0.559	0.666	0.666	
K_4	0.563	0.567	0.569	0.645	
R	0.047	0.038	0.152	0.182	

* K_1 、 K_2 、 K_3 、 K_4 为同一水平 OD_{356} 的平均值; R 为极差。

4 结 论

(1)向日葵花瓣黄色素不溶于水、无水乙醇,微溶于异丙醇、甲苯和石油醚;易溶于氯仿、丙酮、乙醚、乙酸乙酯,且以丙酮提取效果最佳。该色素丙酮溶液的 λ_{max} 为356 nm。

(2)液料比和浸提时间对提取向日葵花瓣黄色素的影响较大,其次为浸提温度,而浸提液pH的影响较小。单因素试验和正交试验表明,在索氏提取器样品桶中放入粉碎的向日葵花瓣,依液料比8:1(mL/g)加入pH 5.0的丙酮,59℃恒温浸提4 h,即可获得较好的浸提效果。

(3)按照本试验研究的工艺路线,采用索氏提取法的优点在于4 h之内可以完成40次溶剂浸提,而且可以多组试验同时进行,具有自动化连续提取、操作简便、效率高的特点,也有利于完成工业化生产的中试试验。

(4)有关向日葵花瓣黄色素的性质,以及无机酸碱、金属离子、食品添加剂、氧化还原剂、有机酸、加热、光照等因素对其稳定性的影响,将另文叙述。

参 考 文 献

- 1 姚艾东. 食品工业科技 2001 22(4):32~34

- 2 杨志福,文爱东,蒋永培等. 西北药学杂志, 2000, 15(6): 255~256
- 3 孟宪昌,黄孟歌,康永胜. 化学世界, 2001(3): 138~141
- 4 姚中铭,吕晓玲,褚树成. 天津轻工业学院学报, 2000, 18(3): 18~21
- 5 郑桂萍,李国兰,赵 萍等. 生物技术, 1995, 5(1): 44~45
- 6 王常青,陈 娟,宋仙芝. 食品工业科技, 1996, 17(6): 9~11
- 7 邱业先,王桃云,龙月桂等. 食品与发酵工业, 2002, 28(3): 31~34
- 8 王懿萍. 青海大学学报, 2000, 18(3): 18~21

Study on Extraction Technology of Yellow Pigment from the Petal of *Helianthus annuus* L.

Yu Xin¹ Du Zhijian²

1(Department of Food Science, Zhongkai Agrotechnical College, Guangzhou, 510225)

2(Normal College, Shihezi University, Shihezi, 832000)

ABSTRACT Compared the extraction effects of yellow pigment from the petal of *Helianthus annuus* by pure ethanol, isopropanol, chloroform, acetone, ether, acetylacetate, phenyl methane, petroleum benzene, and the result indicated that acetone was the optimum solvent. The maximum absorption wavelength(λ_{\max}) of the acetone solution was 356 nm. Mono-factor experiments and orthogonal experiments showed that the ratio of the solvent to the petal and extraction time could have a greater impact on extraction of the pigment than the extraction temperature and the pH of the solvent. The optimum technology was that the petal and acetone(pH=4.0) were put in solvent extraction tower with the ratio of 1:8(g/mL), then heated at 59℃ for 4 h.

Key words petal of *Helianthus annuus* L., yellow pigment, extraction technology

膜科学与技术(双月刊)

- 入选“ 中文科技期刊数据库 ”期刊
- 入选“ 中国期刊方阵 ”期刊
- 全国中文核心期刊
- 中国科技论文统计源期刊
- 中国学术期刊综合评价数据库来源期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 1 286 种科技论文统计源期刊中影响因子排序第 96 名期刊
- 同类 47 种化工期刊中, 影响排序第 4 名期刊
- 被引频次前 500 名期刊
- 美国《化学文摘》(CA) 美国 DIALOG 系统检索和收录期刊
- 中国化学文摘数据、中国化学化工文摘、中国化学化工期刊文献总录、中国石油化工文摘等收录期刊
- 曾获化工系统信息成果二等奖期刊

• 国内专门报道膜技术、膜材料、膜装置、膜过程和水处理技术等内容的专业性学术刊物

主要内容: 介绍有关膜和膜技术及水处理技术的基础理论研究, 报道国内外膜科学和技术及水处理技术等的新研究成果及在石油、化工、冶金、医药、食品、环保、生物制品提纯等领域的应用成果和产业化情况, 反映该学科的发展动态和趋势及新信息等。

读者对象: 从事膜分离技术研究、教学及应用等的科研人员、大专院校师生和工程技术人员等。

国内刊号: CN62—1049/TB 国际刊号: ISSN1007—8924

邮发代号: 54—40(全国各地邮局均可订阅)

国内定价: 10.00 元/期 全年 60.00 元 漏订者可到编辑部补订(另加 15% 邮费)

国外总发行: 中国国际图书贸易总公司 国外发行代号: J40BM

地址: 北京市朝阳区北土城西路 9 号 邮编: 100029

电话: (010) 62376642 传真: (010) 62376589

E-mail: mkxx@china-bluestar.com