

超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素工艺研究

张康逸, 范运乾, 康志敏, 王继红, 侯传伟*

(河南省农业科学院 农副产品加工研究所, 河南 郑州 450002)

摘要: 为了找出紫玉米芯色素的最佳提取工艺, 以紫玉米芯色素提取液吸光度为提取率评价指标, 对超声波提取法、纤维素酶法、超声波辅助纤维素酶法的色素提取效果进行比较, 并通过单因素和正交试验对提取效果最好的超声波辅助纤维素酶法的提取条件即超声波功率、温度、时间进行优化, 确定其最佳工艺条件。结果表明, 超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素的最佳工艺条件为: 10 g/L 纤维素酶溶液, 在 pH 值 5.0、温度 50 °C 条件下酶解 30 min, 然后在超声波功率 250 W、温度 40 °C 下处理 15 min, 紫玉米芯色素提取率达到 16.7%。

关键词: 紫玉米芯; 紫色素; 纤维素酶; 超声波

中图分类号: TS202.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)06-0152-04

Study on Optimum Extraction Technology of Purple Pigment from Purple Corn Cob by Ultrasonic-enzyme Synergistic Method

ZHANG Kang-yi, FAN Yun-qian, KANG Zhi-min, WANG Ji-hong, HOU Chuan-wei*

(Institute of Agricultural Products Processing, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: A process route based on ultrasonic treatment and cellulase hydrolysis was designed for the preparation of purple pigment with purple corn cob as the raw material. Compared with the ultrasonic extraction and cellulase hydrolysis, ultrasonic-enzyme synergistic method had the highest extraction yield among the three extraction methods. The absorbance value of extracting solution was used as an appraisal index, and the optimum parameters of ultrasonic-enzyme synergistic method obtained by orthogonal experiments were: ultrasonic power 250 W, ultrasonic time 15 min, ultrasonic temperature 40 °C under the condition of cellulase enzyme concentration 10 g/L, pH 5.0, enzymolysis time 30 min and enzymolysis temperature 50 °C. Under this condition, the extraction yield of purple pigment could reach about 16.7%.

Key words: purple corn cob; purple pigment; cellulase; ultrasonic treatment

紫玉米(*Zea mays* L.)为禾本科玉米属,原产地秘鲁,后引进中国。紫玉米芯色素属天然花色苷色素,为类黄酮化合物,具有清除体内自由基,防止紫外线辐射,抗肿瘤、抗衰老、美容养颜等功效,是一种同时具有食用价值和药用价值的天然色素资源^[1-3]。

超声波提取技术利用超声波特殊的强纵向振动、空化效应、高速冲击破碎作用、搅拌及加热等物

理性能,破坏提取物细胞结构,使提取液更易进入细胞内部,加速有效成分溶出。超声波提取具有操作简便、效率高、温度低、时间短、有效成分不易被破坏等特点,已被广泛应用于植物天然有效成分的提取^[4]。

目前,紫玉米色素提取方法主要有溶剂提取^[5-6]、微波提取^[7]和超声波辅助提取法^[8],但关于

收稿日期: 2012-12-15

基金项目: 河南省财政厅科技攻关项目

作者简介: 张康逸(1981-),男,河南新乡人,助理研究员,博士,主要从事磷脂改性方面的研究。E-mail: kangyiz@163.com

* 通讯作者: 侯传伟(1964-),男,河南杞县人,研究员,硕士,主要从事农副产品精深加工技术研究。

E-mail: nkyhew@yahoo.com.cn

超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素鲜有报道。本研究将超声波提取技术与酶法提取技术相结合提取紫玉米芯色素,研究超声波功率、温度、时间对提取效果的影响,并对超声波提取条件进行优化。

1 材料和方法

1.1 材料

紫玉米芯取自河南省农业科学院试验基地;纤维素酶(15 U/mg)购自上海展云化工有限公司;柠檬酸、 NaH_2PO_4 、甲醇、 AlCl_3 等均为分析纯。

仪器:KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、WFG2000 型可见分光光度计(上海尤尼科仪器分析有限公司)、FW80 型高速万能粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂)、THZ-82 水浴恒温振荡器(金坛市华峰仪器有限公司)。

1.2 试验设计与方法

1.2.1 紫玉米芯色素提取工艺流程 紫玉米芯→50℃热风烘干→粉碎(粒度为0.25 mm)→按照不同方法提取色素→过滤提取液→紫玉米芯色素提取液。

1.3.2 紫玉米芯色素不同提取方法的提取效果比较 分别采用超声波提取法、纤维素酶法、超声波辅助纤维素酶法3种不同方式提取紫玉米芯色素(表1),对比不同提取方式对紫玉米芯色素提取效果的影响,以得到最佳提取方法。

表1 紫玉米芯色素的3种提取工艺

提取方法	工艺条件
超声辅助纤维素酶法	10 g/L 纤维素酶溶液, pH 值 5.0、50℃条件下酶解 30 min, 然后在超声波功率 300 W、温度 50℃条件下处理 15 min
超声波法	在料液比 1:25、超声功率 300 W、温度 50℃条件下处理 25 min
纤维素酶法	10 g/L 纤维素酶溶液, pH 值 5.0、50℃条件下酶解 60 min

1.3.3 超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素最佳条件的确定 紫玉米芯经酶解后,在一定的超声波功率(50、100、150、200、250、300 W)、温度(20、30、40、50、60、70℃)、时间(5、10、15、20、25、30 min)条件下提取紫玉米芯色素,然后 4 000 r/min 离心 15 min,得到提取液,测定提取液最大吸收波长处的吸光度,以吸光度为提取率评价指标,找出超声波处理的最佳条件。

1.3.4 紫玉米芯色素光谱特性分析及种类、结构的初步鉴定 在 200~600 nm 波长内对紫玉米芯色素提取液进行扫描,确定其最大吸收波长。采用紫

外-可见光谱法对色素种类、结构进行初步鉴定^[9]。

2 结果与分析

2.1 紫玉米芯色素最大吸收波长

图1显示,紫玉米芯色素的最大吸收波长为 527 nm,符合花色苷类色素的吸收光谱。

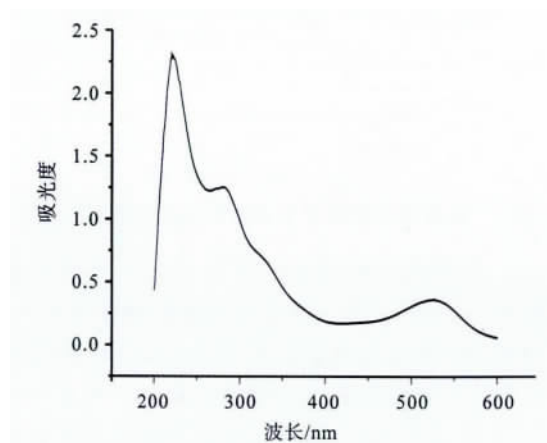


图1 紫玉米芯色素吸收光谱

2.2 紫玉米芯色素最佳提取方法的确定

由表1可知,超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素的提取率为 15.2%,高于超声波法和纤维素酶法。纤维素酶能分解纤维素、破坏细胞结构,超声空化作用和机械振荡作用可以进一步破碎组织结构,使经酶水解未溶出的色素溶出。因此,超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素提取效果要优于其他2种方法。

表1 3种方法提取紫玉米芯色素的提取率

提取方法	提取率/%
超声波辅助纤维素酶法	15.2
超声波法	12.3
纤维素酶法	13.7

2.3 超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素的单因素试验结果

2.3.1 超声波功率对紫玉米芯色素提取率的影响 由图2可知,超声波功率小于 200 W 时,随着超声波功率的增大,紫玉米芯色素提取液吸光度逐渐增大,即提取率增加,当超声波功率为 200 W 时提取液吸光度最大,这是因为超声波功率增加产生更强的机械振动和空化作用,破坏紫玉米芯结构使色素更易被溶剂萃取。但当超声波功率超过 200 W 时,色素提取率明显降低,原因是超声波功率过度增大使提取时瞬间热效应效果增强,在处理过程中促使色素分子分解速度加快。因此,超声波功率以 200 W 为佳。

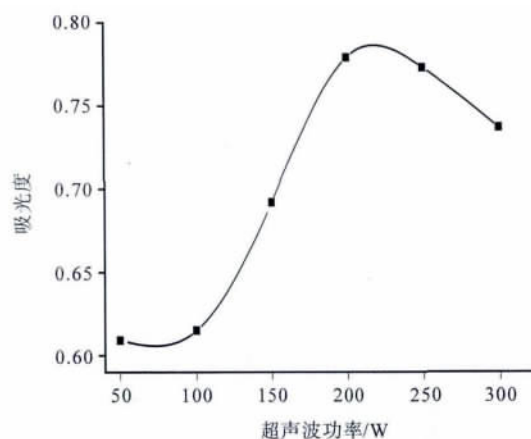


图 2 超声波功率对紫玉米芯色素提取率的影响

2.3.2 超声波处理温度对紫玉米芯色素提取率的影响 由图 3 可知,随着超声波处理温度的升高,紫玉米芯色素提取液吸光度增加,原因可能是温度升高有助于超声波破坏纤维结构使更多色素溶解出来;当温度大于 50 ℃时紫玉米芯色素提取液吸光度下降,这可能是由于高温造成色素分子降解造成的。因此,超声波处理温度以 50 ℃最佳。

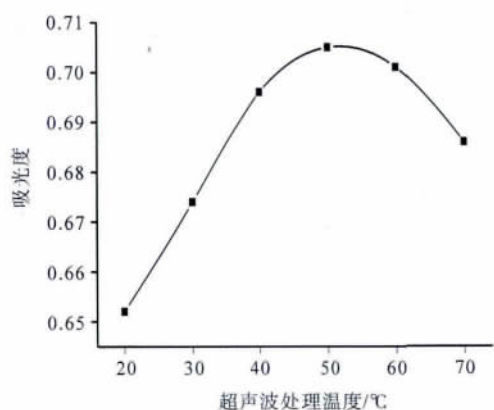


图 3 超声波处理温度对紫玉米芯色素提取率的影响

2.3.3 超声波处理时间对紫玉米芯色素提取率的影响 由图 4 可知,超声波处理时间在 10 min 时紫玉米芯色素提取率最高;当超声波处理时间大于 10 min 时,随超声波处理时间的增加紫玉米芯色素提取液吸光度呈下降趋势,这可能是由于长时间超声波处理破坏色素结构,使提取率降低。因此,超声波处理时间以 10 min 最好。

2.4 超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素的正交试验结果

根据单因素试验结果,对超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素工艺中的超声波功率、时间、温度进行三因素三水平的 $L_9(3^3)$ 正交试验设计(表 2)。从表 3 可以看出,提取紫玉米芯色素时各因素对色素提取率影响的主次顺序为:超声波功

率>超声波处理时间>超声波处理温度;最佳组合为 $A_3C_3B_1$,即超声波功率 250 W、温度 40 ℃、时间 15 min。在此条件下提取率为 16.7%。

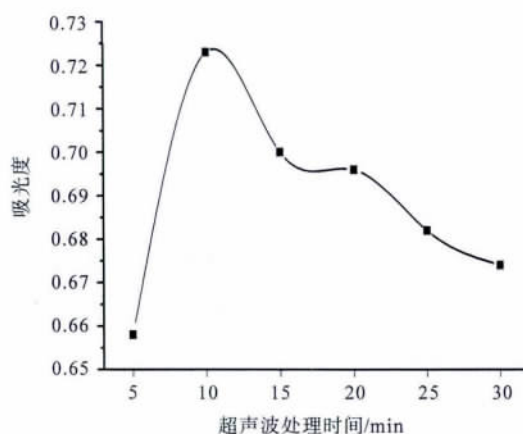


图 4 超声波处理时间对紫玉米芯色素提取率的影响

表 2 提取紫玉米芯色素的超声波处理条件的正交试验设计

水平	因素		
	功率(A)/W	温度(B)/℃	时间(C)/min
1	150	40	5
2	200	50	10
3	250	60	15

表 3 提取紫玉米芯色素的超声波处理条件的正交试验结果

试验号	因素			吸光度	提取率/%
	A	B	C		
1	1	1	1	0.649	15.2
2	1	2	2	0.652	15.3
3	1	3	3	0.658	15.4
4	2	2	1	0.666	15.6
5	2	3	2	0.687	16.1
6	2	1	3	0.689	16.2
7	3	3	1	0.693	16.3
8	3	1	2	0.703	16.5
9	3	2	3	0.699	16.4
k_1	0.653	0.680	0.669		
k_2	0.681	0.672	0.681		
k_3	0.698	0.679	0.682		
R	0.045	0.008	0.013		

2.5 紫玉米芯色素种类、结构

目前,存在于植物组织细胞中的红色素衍生物主要有 6 种,其颜色从桔红色到紫红色依次变化排序为:天竺葵素(Pg)、矢车菊素(Cy)、芍药色素(Pn)、锦葵色素(Mv)、牵牛花素(Pt)和飞燕草素(Dp)^[10]。由表 4 可以看出,紫玉米芯色素在 500~540 nm 内的可见光区和 275 nm 左右的紫外光区均

有最大吸收波长,因此可判定紫玉米芯色素为花色苷色素;在 300~330 nm 波长无吸收峰,可判断色素分子没有酰基存在;在 440 nm 处没有肩峰,可以判断该色素 5 号位的羟基被取代;滴加 AlCl_3 出现蓝移,即可见光区最大吸收波长增加,说明该色素 B-环有邻位酚羟基。由光谱鉴定结果可以推测紫玉米芯色素含有矢车菊色素、牵牛花色素、飞燕草色素及其衍生物。

表 4 紫玉米芯色素光谱鉴定

$\lambda_{\text{max-uv}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{max-vi}}/\text{nm}$	300~330 nm 吸收峰	加入 AlCl_3 后 $\lambda_{\text{max-vi}}$ 变化/nm
220	527	无	10

注: $\lambda_{\text{max-uv}}$ 为紫外光区最大吸收波长, $\lambda_{\text{max-vi}}$ 为可见光区最大吸收波长。

3 结论与讨论

超声波提取具有操作简便、效率高、温度低、时间短、有效成分不易被破坏等特点,已被广泛应用于植物天然有效成分的提取^[4]。本研究利用超声波法、纤维素酶法、超声波辅助纤维素酶法 3 种方法提取紫玉米芯色素,并对其效果进行比较,结果表明,超声波辅助纤维素酶法用时最短,提取效果最佳;超声波辅助纤维素酶法提取紫玉米芯色素的最佳条件为:在酶解的基础上进行超声波处理,超声波功率 250 W、温度 40 ℃、时间 15 min,在此条件下提取率为 16.7%。超声波辅助纤维素酶法将超声波提取技术与酶法提取技术有效结合,其提取工艺具有提取效率高、方法简单易行、无毒、无害、安全性高等特点,有良好的市场开发应用前景。

紫玉米芯色素属天然花色苷色素,具有清除体内自由基,防止紫外线辐射,抗肿瘤、抗衰老、美容养颜等功效,是一种同时具有食用价值和药用价值的天然色素资源^[1-3]。本研究对紫玉米芯色素结构和种类进行初步鉴定发现:色素分子没有酰基存在,色素 5 号位上的羟基被取代,B-环有邻位酚羟基。这说明紫玉米芯色素含有矢车菊色素、牵牛花色素、飞燕草色素及其衍生物。对其具体功能有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Hosoda K, Miyaji M, Matsuyama H, *et al.* Effect of supplementation of purple pigment from anthocyanin-rich corn (*Zea mays* L.) on blood antioxidant activity and oxidation resistance in sheep [J]. *Livestock Science*, 2012, 145(1): 266-270.
- [2] Nabae K, Hayashi S, Kawabe M, *et al.* A 90-day oral toxicity study of purple corn color, a natural food colorant, in F344 rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46(2): 774-780.
- [3] Li J, Lim S S, Lee J, *et al.* Purple corn anthocyanins dampened high-glucose-induced mesangial fibrosis and inflammation; possible renoprotective role in diabetic nephropathy[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2012, 23(4): 320-331.
- [4] Chemat F, Zill-e-Huma, Khan M K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2011, 18(4): 813-835.
- [5] 崔丽娜,董树亭,高荣岐,等. 紫玉米与红玉米籽粒花色苷提取方法比较研究[J]. *中国粮油学报*, 2010, 25(10): 28-31.
- [6] Yang Z, Fan G, Gu Z, *et al.* Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob using tristimulus colorimetry [J]. *European Food Research and Technology*, 2008, 227: 409-415.
- [7] Yang Z, Zhai W. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC-MS[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2010, 11(3): 470-476.
- [8] 张钟,陶佩,王丽. 黑糯玉米芯色素超声波辅助提取工艺参数的优化[J]. *包装与食品机械*, 2006, 24(3): 24-28.
- [9] 郭松年. 石榴汁花色苷稳定性、抗氧化性及其组分鉴定[D]. 杨陵:西北农林科技大学, 2008.
- [10] 陈阳,王军华,滕利荣,等. 大孔树脂法纯化红花芸豆色素及初步鉴定[J]. *农业工程学报*, 2007, 23(6): 237-241.