

黑米花青素的醇提工艺优化

龙跃腾,向珣朝*,颜李梅,杨博文,许亮,游慧

(西南科技大学植物分子遗传育种实验室,四川绵阳 621010)

摘要:为了提高无水乙醇提取黑米花青素的得率,先通过单因素实验研究乙醇体积分数、提取时间、料液比、温度和提取液 pH 对黑米花青素提取的影响,再通过正交试验确定黑米花青素提取的最佳工艺条件。结果表明:提取液 pH 对黑米花青素的提取影响最大,提取时间次之。最佳提取条件是乙醇体积分数为 80%,提取时间为 60 min,提取温度为 45 ℃,料液比为 1:7 (g: mL),提取液 pH 为 1;采用该优化工艺,黑米首次提取液的花青素含量可达 34.34 μg/mL。最佳提取次数为 3 次,其花青素相对总提取率达到 99.29%,得率为 298.23 μg/g。该优化工艺将为黑稻资源的花青素商业化开发提供技术支撑,为黑米花青素的产业化发展提供有益参考。

关键词:黑米,花青素,提取工艺,优化,乙醇

Optimization of Ethanol Extracting Process of Anthocyanin from Black Rice

LONG Yue-teng, XIANG Xun-chao*, YAN Li-mei, YANG Bo-wen, XU Liang, YOU Hui

(Laboratory of Plant Molecular Genetics and Breeding, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China)

Abstract: In order to improve the yield of anthocyanin of black rice by the method basing on anhydrous ethanol as solvent, its effect was investigated by comparing the yield of anthocyanin of black rice influenced on different extracting factors. Single factor experiment design was used to research the effect of ethanol volume fraction, extracting time, ratio of solid-liquid, temperature and pH of extracting solution on anthocyanin extracting of black rice. The optimum condition of anthocyanin extracting from black rice was determined by orthogonal experiment design. Results showed that extracting rate of anthocyanin of black rice was mainly influenced by extracting pH, the following being extracting time. The optimum extracting condition was as follows: Ethanol volume fraction 80% as the extracting agent, 60 min of extracting time, extracting temperature at 45 ℃, ratio of solid-liquid at 1:7 (g: mL) and extracting pH 1.0. The content of anthocyanin of black rice in extracting solution arrived at 34.34 μg/mL if using the process. The optimum extraction times was three, and having 99.29% of total extraction ratio and 298.23 μg/g of yield. The process would support commercial development of anthocyanin extracting from black rice and in favor of industrialization of anthocyanin of black rice.

Key words: black rice; anthocyanin; extracting process; optimization; ethanol

中图分类号: TS210.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2018)21-0172-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.21.031

引文格式: 龙跃腾, 向珣朝, 颜李梅, 等. 黑米花青素的醇提工艺优化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(21): 172-177.

黑米是稻米中的珍贵品种,不仅含有丰富的蛋白质、人体所必需的氨基酸、不饱和脂肪酸、维生素 C 及钙、铁、锌等矿物营养元素,还含有具药用价值的花青素^[1]。花青素属于植物多酚中的类黄酮类物质,是广泛存在于自然界中的一类水溶性天然色素,具有抗氧化性、预防心脑血管疾病与癌症、保护肝脏与视力等功能^[2],在食品、医药、化妆品等方面都有重要的应用^[3-4]。我国黑米种质资源十分丰富,现收集保存的就有 373 个^[5]。于斌等^[6]研究认为黑米花青素

可能通过抑制移植瘤内血管生成而抑制肿瘤生长,韩彬等^[7]发现黑米花青素能够抑制乳腺癌细胞异种移植瘤向肺转移,该抑制作用可能与黑米花青素抑制肿瘤细胞的增殖和促进肿瘤细胞凋亡有关, Wen 等^[8]研究发现,从紫甘薯提取的花青素与现有的食品防腐剂苯甲酸钠和山梨酸钾相比有增强的抗真菌特性,所以深入研究花青素的提取工艺对黑米的开发与深加工具有重要意义。

因为黑米花青素的重要性,其不同介质的提取

收稿日期: 2018-02-06

作者简介: 龙跃腾(1996-),男,本科,研究方向:植物天然产物提取与分析, E-mail: 1152051671@qq.com。

* 通讯作者: 向珣朝(1965-),男,博士,教授,研究方向:植物分子遗传与育种, E-mail: xiangxunchao@swust.edu.cn。

基金项目: 四川省教育厅重点项目(17ZA0412);西南科技大学大学生创新基金项目(cx17-079);西南科技大学“生命科学拔尖创新人才基地班”创新实践项目(SMJDB018)。

工艺受到广泛关注;由于乙醇无毒且易去除,因此黑米花青素的乙醇提取工艺成为研究的焦点。侯召华等^[9]通过单因素实验和正交试验得出黑米花青素最佳提取条件为提取液乙醇-水-盐酸体积比为 50:50:0.5,温度 50℃,固液比为 1:10 (g:mL),提取时间为 1 h,提取次数为 3 次;Bae 等^[10]研究黑米花青素提取的优化工艺后认为,乙醇体积分数 50.78% 和 1 N HCl (0.60 mL) 的提取产物中矢车菊-3-葡萄糖苷含量能达到 624.27 mg。吴素萍^[11]利用单因素实验和正交试验得到最佳提取工艺为乙醇体积分数 50%,粉碎度 50 目,料液比 1:5,浸提时间 30 min,浸提温度 80℃,浸提 pH 为 3;石娟^[12]通过单因素和正交试验得到黑米花青素最佳提取条件为:提取时间 100 min、提取温度 40℃、料液比 1:8、pH3.2;吴娟等^[13]利用萃取法对黑米花青素提取工艺进行研究,得到最佳条件是以无水乙醇为萃取剂,料液比 1:8,萃取时间 60 min,温度 80℃。严红光等^[14]在以免眼蓝莓果渣为原料、乙醇为提取溶剂提取花青素的研究中发现,乙醇体积分数是影响花青素提取率高低的最主要因素。张莉弘等以蓝莓为原料、乙醇为提取溶剂的花青素提取研究中,显示提取温度是影响花青素得率的最主要因素^[15]。从上述结果看,其现有提取工艺条件存在较大差异。

花青素在可见光区域的最大吸收波长在 500~550 nm 范围内。田喜强等^[16]扫描黑米花青素提取液的吸收光谱,发现其最大吸收波长为 530 nm。因此,本研究选用 530 nm 作为最大吸收波长检测在各试验条件下的光密度(optical density, OD)值,在单因素实验和正交试验中暂时以 OD 值代表花青素含量。目前花青素的提取工艺虽有报道,但对黑米花青素的提取还缺少一套完整的体系,并且黑米花青素的提取率都急需提高。所以本试验采用无水乙醇为提取液提取黑米花青素,通过单因素和正交试验确定最佳溶剂浓度、提取温度、料液比、提取时间及提取液 pH 以得到优化的提取工艺,为黑米花青素的工业化生产提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

固城黑糯 西南科技大学植物分子遗传育种实验室;无水乙醇 分析纯,成都市科龙化工试剂厂;盐酸 分析纯,成都市欣海兴化工试剂厂;矢车菊-3-葡萄糖苷 上海金穗生物科技有限公司。

TR-200 电动砬谷机 日本 Kett;Lm3100 高速锤式粉碎机 瑞典 Perten;T6 紫外分光光度计 北京普析通用仪器有限公司;DHP-9082 电热恒温培养箱 上海齐欣科学仪器有限公司;5415R 冷冻离心机 德国 Eppendorf;PH2100 型 pH 计 美国 EUTECH;电子天平 美国 DENVER。

1.2 实验方法

1.2.1 黑米花青素的单因素提取实验 参考石娟^[12]及郭梅等^[17]方法并进行改进,将固城黑糯稻谷用电动砬谷机脱壳为糙米,再用高速锤式粉碎机磨成过 100 目筛的黑米粉;取 1 g 黑米粉放入烧杯中,加入

一定体积的乙醇,调节至一定 pH,杯口用封口膜扎紧防止水分蒸发,在一定温度下浸提一定时间后,4000 r/min 离心 15 min,取上清液稀释定容至 100 mL,在 530 nm 的波长下测定吸光度 OD 值,提取 1 次;重复 3 次。

1.2.1.1 乙醇体积分数对花青素含量的影响 分别取 5 份 1 g 黑米粉放入烧杯中,固定料液比(质量体积比)为 1:10 (g:mL),提取时间为 120 min,提取温度为 30℃,提取液 pH 为 2,分别加入 75%、80%、85%、90%、95% 的无水乙醇,杯口用封口膜扎紧防止水分蒸发,浸泡后,4000 r/min 离心 15 min,取上清液稀释定容至 100 mL,在 530 nm 的波长下测定吸光度,确定最佳乙醇浓度。

1.2.1.2 提取时间对花青素含量的影响 分别取 5 份 1 g 黑米粉放入烧杯中,固定提取温度为 30℃,提取液 pH 为 2,乙醇体积分数为 90%,料液比(质量体积比)为 1:10 (g:mL),杯口用封口膜扎紧防止水分蒸发,分别浸泡 60、80、100、120、140 min 后,4000 r/min 离心 15 min,取上清液稀释定容至 100 mL,在 530 nm 的波长下测定吸光度,确定最佳提取时间。

1.2.1.3 料液比对花青素含量的影响 分别取 5 份 1 g 黑米粉放入烧杯中,固定提取时间为 120 min,提取温度为 30℃,提取液 pH 为 2,乙醇体积分数为 90%,按料液比 1:7、1:8、1:9、1:10、1:11 分别加入配好的乙醇溶液,杯口用封口膜扎紧防止水分蒸发,浸泡设定时间后,4000 r/min 离心 15 min,取上清液稀释定容至 100 mL,在 530 nm 的波长下测定吸光度,确定最佳料液比。

1.2.1.4 提取温度对花青素含量的影响 分别取 5 份 1 g 黑米粉放入烧杯中,固定提取液 pH 为 2,乙醇体积分数为 90%,料液比(质量体积比)为 1:10 (g:mL),提取时间为 120 min,杯口用封口膜扎紧防止水分蒸发,分别置于 30、40、50、60、70℃ 的恒温培养箱中浸泡设定时间后,4000 r/min 离心 15 min,取上清液稀释定容至 100 mL,在 530 nm 的波长下测定吸光度,确定最佳提取温度。

1.2.1.5 提取液 pH 对花青素含量的影响 分别取 5 份 1 g 黑米粉放入烧杯中,固定乙醇体积分数为 90%,料液比(质量体积比)为 1:10 (g:mL),提取时间为 120 min,提取温度为 30℃,调节溶液 pH 以 0.5 为梯度从 1~3,杯口用封口膜扎紧防止水分蒸发,浸泡设定时间后,4000 r/min 离心 15 min,取上清液稀释定容至 100 mL,在 530 nm 的波长下测定吸光度,确定最佳提取 pH。

1.2.2 正交试验 根据单因素实验的结果,选取提取乙醇体积分数、液料比、提取时间、提取温度和提取 pH 五个因素进行 5 因素 4 水平的正交设计,确定提取黑米花青素的最优工艺。每个试验号测定 OD 值时重复 3 次。具体因素及水平见表 1。

1.2.3 确定最佳提取次数 根据正交试验优化的提取工艺参数,由鲍晓亮^[18]、姚钰蓉^[19]的方法测定最佳提取次数。

相对提取率: $P(\%) = (\sum A_n / \sum AN) \times 100$

式中, $\sum A_n$ - 提取 n 次花青素吸光度总和;

表1 黑米花青素提取工艺的正交因素与水平

Table 1 Orthogonal test factors and levels of extracting process for black rice anthocyanin

水平	因素				
	A 乙醇 体积分数 (%)	B 时间 (min)	C 料液比 (g: mL)	D 温度 (℃)	E pH
1	80	60	1: 7	45	1
2	85	80	1: 8	50	1.5
3	90	100	1: 9	55	2
4	95	120	1: 10	60	2.5

ΣAN —提取 N 次(总次数)花青素吸光度总和。

此相对提取率是指每次提取或者多次提取后在总获得量中其所占比例的高低。

1.2.4 花青素含量和得率的测定 Pedro 等^[20]和 He 等^[21]研究黑米花青素的提取和稳定性时,发现黑米中的主要花青素类型是矢车菊-3-葡萄糖苷,因此,以矢车菊-3-葡萄糖苷标准品绘制标准曲线。称取 10 mg 矢车菊-3-葡萄糖苷标准品溶于 pH 为 2 的乙醇溶液中,定容至 10 mL 为母液,再配成浓度分别为 10、20、30、40、50 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准液,用分光光度计测定吸光度。以矢车菊-3-葡萄糖苷浓度为横坐标,以其吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线,得矢车菊-3-葡萄糖苷浓度为自变量、吸光度为因变量的标准曲线方程,根据该方程可计算不同条件下的花青素含量。

提取的花青素总重量(μg)=(提取液体积 $\times$ 首次提取液的花青素含量 $\times$ 花青素相对总提取率)/首次花青素相对提取率

花青素得率($\mu\text{g/g}$)=(提取的花青素总重量/样品重量)=(提取液体积 $\times$ 首次提取液的花青素含量 $\times$ 花青素相对总提取率)/(首次花青素相对提取率 $\times$ 样品重量)

1.3 数据分析

本研究中利用 R 软件(v3.4.1)的 $\text{lm}()$ 函数进行模型拟合, $\text{anova}()$ 函数进行方差分析;其它数据的分析和处理用 Excel 2010 进行。

2 结果与分析

2.1 花青素单因素提取实验

2.1.1 乙醇体积分数对花青素含量的影响 由图 1 可以看出随着乙醇浓度的升高,黑米提取液中的花青素含量在不断增加;当乙醇浓度为 90% 时,其花青素含量最高,当乙醇浓度大于 90% 后提取液中的花青素含量开始降低,其原因可能在于一些醇溶性杂质以及亲脂性强的成分溶出量增加,这些成分与花青素一起竞争同乙醇-水分子结合的机会,从而导致花青素含量下降^[22]。

2.1.2 提取时间对花青素含量的影响 由图 2 可知随着提取时间的增加提取液中的花青素含量增加;当提取时间为 80 min 时提取液中花青素的含量最多;之后随着时间的继续增加,提取液中花青素的含量却缓慢下降,这可能是因为达到一定的时间后,提

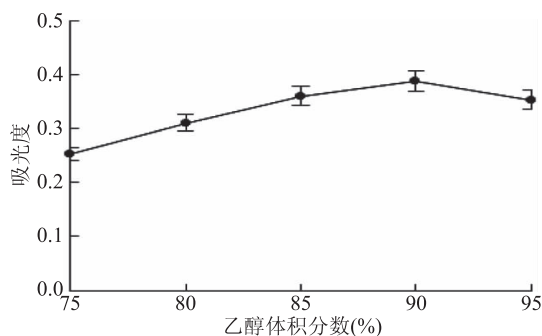


图1 乙醇体积分数对花青素提取的影响

Fig.1 Influence of ethanol volume fraction on the extracting efficiency of black rice anthocyanin

取出来的花青素慢慢的氧化了,同时随着黑米中多糖及蛋白质等大分子溶出增加,与花青素形成分子复合物增多,导致测量提取液中花青素含量时数值降低^[23]。

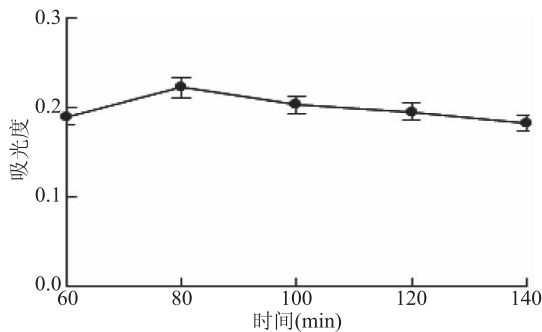


图2 提取时间对花青素提取的影响

Fig.2 Influence of extracting time on the extracting efficiency of black rice anthocyanin

2.1.3 料液比对花青素含量的影响 由图 3 可知从黑米中提取的花青素含量随着液料比的增加而增加;当液料比为 1: 9 时,提取的花青素的含量达到最大;随着料液比的继续增加,提取液中的黑米花青素含量明显下降,这可能是因为随着液料比的增大,其中水体积增加,使水中吸附更多的氧,使更多的黑米花青素氧化,造成提取液中的花青素含量降低^[24]。

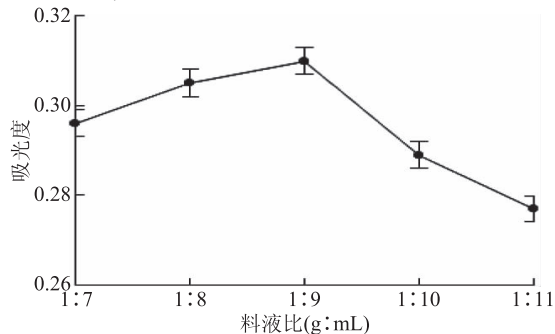


图3 料液比对花青素提取的影响

Fig.3 Influence of ratio of solid-liquid on the extracting efficiency of black rice anthocyanin

2.1.4 提取温度对花青素含量的影响 由图 4 可知,随着温度的升高,黑米花青素的提取效果越来越好,这可能是因为相对较低的温度下花青素与蛋白质等结合物分离缓慢,使花青素的提取效果不理想;当

温度升至 50 ℃时提取效果最好;温度大于 50 ℃后,黑米花青素的提取效果缓慢下降。根据吕丽爽^[22]分析,由于花青素蓝色的醌式碱与红色的黄吡盐阳离子可逆,温度过高后反应平衡向查尔酮方向移动,其结果是显色物质含量下降。而且,较高温度下,花青素结构容易被破坏,这就导致提取液中花青素含量降低^[25]。

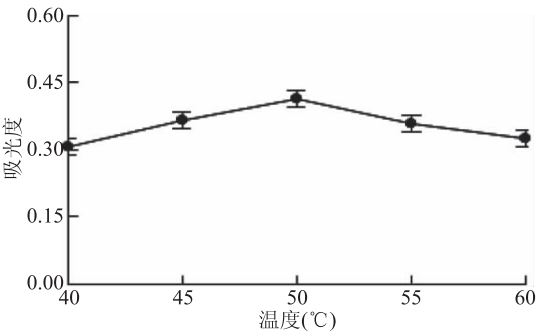


图4 温度对花青素提取的影响

Fig.4 Influence of temperature on the extracting efficiency of black rice anthocyanin

2.1.5 提取 pH 对花青素含量的影响 由图 5 可知在黑米花青素的提取过程中,pH 对提取液中的花青素含量有较大的影响。pH 为 2 时,花青素含量达到最大值;在 pH 较低时花青素含量也相对较大,这是因为花青素在较低的 pH 环境中具有光和热的稳定性;pH 大于 2 后,随着 pH 的升高,花青素含量显著下降,说明较大的 pH 会加速花青素的降解^[26]。

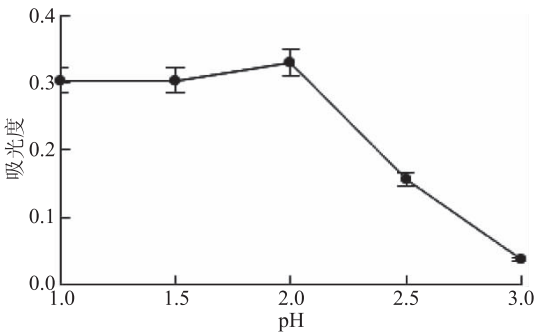


图5 pH 对花青素提取的影响

Fig.5 Influence of pH of extracting solution on the extracting efficiency of black rice anthocyanin

2.2 正交试验优化工艺

正交试验首次提取花青素的 OD 值见表 2。根据表 2 的正交结果及极差分析可知,5 个因素中极差值最大的是因素 E pH,最小值为因素 D 提取温度,说明 5 个因素中 pH 对花青素提取量影响最大,而提取温度影响最小,5 个因素对黑米花青素得率高低的影响顺序为 pH > 提取时间 > 液料比 > 乙醇体积分数 > 温度。直接分析与计算得到的提取最优水平一致,为 A₁B₁C₁D₁E₁,即乙醇体积分数为 80%,提取时间为 60 min,提取温度为 45 ℃,料液比为 1:7 (g: mL),提取液 pH 为 1。采用该优化工艺后,花青素首次提取液的 OD 值达到 0.637,即试验设计中的第一组提取花青素的效果最好。

表 2 黑米花青素提取工艺的正交结果
Table 2 Orthogonal test results of anthocyanin extraction technique from black rice

实验号	A	B	C	D	E	OD
1	1	1	1	1	1	0.637
2	1	2	2	2	2	0.376
3	1	3	3	3	3	0.321
4	1	4	4	4	4	0.189
5	2	1	2	3	4	0.309
6	2	2	1	4	3	0.318
7	2	3	4	1	2	0.335
8	2	4	3	2	1	0.454
9	3	1	3	4	2	0.460
10	3	2	4	3	1	0.436
11	3	3	1	2	4	0.241
12	3	4	2	1	3	0.257
13	4	1	4	2	3	0.284
14	4	2	3	1	4	0.224
15	4	3	2	4	1	0.471
16	4	4	1	3	2	0.361
k ₁	0.381	0.423	0.389	0.363	0.499	
k ₂	0.354	0.339	0.353	0.339	0.383	
k ₃	0.349	0.342	0.365	0.357	0.295	
k ₄	0.335	0.315	0.311	0.360	0.241	
R	0.046	0.108	0.078	0.024	0.258	

注:A:乙醇体积分数;B:提取时间;C:料液比;D:温度;E:pH;K:均值;R:极差。

为进一步确认各试验因素的可信度,对黑米花青素提取的正交设计试验结果进行方差分析(见表 3),以合并误差进行 F 测验。由表 3 可知,5 个试验因子对试验结果的影响均达到极显著水平($p < 0.01$)。

表 3 正交试验结果的方差分析表
Table 3 Analysis of variance for the result of orthogonal experiment design

因素	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	0.0505809	3	0.0168603	3088.91094	**
B	0.1041028	3	0.0347001	6357.41984	**
C	0.0390064	3	0.0130021	2382.07125	**
D	0.0141678	3	0.0047226	865.20611	**
E	0.6174034	3	0.2058011	37704.02545	**
误差	0.0001747	32	0.0000054		

注: $F_{0.05}(3,32) = 2.90$; $F_{0.01}(3,32) = 4.46$; ** 代表 $p < 0.01$ 。

2.3 提取次数的确定

在乙醇体积分数为 80%,提取时间为 60 min,提取温度为 45 ℃,料液比为 1:7 (g: mL),提取液 pH 为 1 的最优工艺条件下进行黑米花青素的提取。由表 4 可知,随着提取次数的增加,黑米花青素的相对提取率也逐渐增加,首次提取时,花青素的相对提取率达到 80.03%,提取第二次时相对提取率增加较大,第三次的时候增加幅度变小,第四次时影响已经明显减小,所以从省时、省料上考虑最佳提取次数为 3

次,其花青素的相对总提取率达到 99.29%。

表 4 提取次数研究结果

Table 4 Results of extracting times

提取次数	I	II	III	IV
相对提取率(%)	80.03	95.75	99.29	100

2.4 花青素含量和得率

以矢车菊-3-葡萄糖苷为标准品绘制花青素含量测定的标准曲线如图 6。其标准曲线方程为 $y = 0.0187x - 0.0054$, $R^2 = 0.9981$, 式中 y 为吸光光度值, x 为矢车菊-3-葡萄糖苷浓度。将正交设计的 16 个实验号代入公式计算发现, 实验 1 号的首次提取液花青素含量最高, 为 $34.34 \mu\text{g/mL}$, 其次为实验 15 号, 为 $25.46 \mu\text{g/mL}$, 第三为实验 9 号, 为 $24.89 \mu\text{g/mL}$, 而实验 14 号的花青素含量最低, 仅为 $3.19 \mu\text{g/mL}$ 。

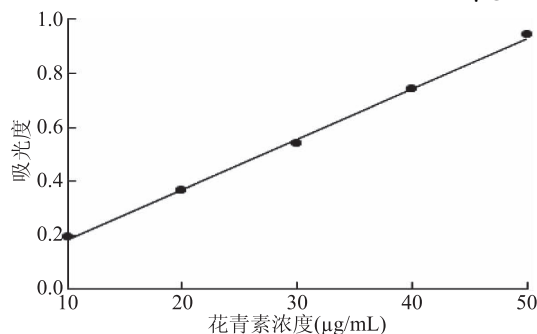


图 6 花青素标准曲线

Fig.6 Standard curve of Anthocyanin

因此, 根据 1.2.4 花青素得率的计算公式, 采用实验 1 号的最佳提取工艺, 1 g 黑米粉经 3 次提取后, 花青素的得率为 $298.23 \mu\text{g/g}$ 。如果分别采用实验 15、9 和 14 号工艺, 1 g 黑米粉经 3 次提取后, 其花青素得率则分别仅为 221.11 , 216.16 和 $27.70 \mu\text{g/g}$, 与实验 1 号工艺相比, 花青素得率大幅下降。

3 讨论

黑米花青素是自然界天然花青素的主要来源之一, 黑米花青素提取涉及到较多的工艺参数。Abdel-Aal 等^[27]证明在其研究的所有有色籽粒中, 黑米有最高的花青素含量 (3.28 mg/g)。Ekici 等^[28]在研究花青素提取的温度、时间和 pH 条件时, 发现样品中的花青素含量在 pH3~7 的范围内随 pH 上升而下降。Kang 等^[29]在研究黑米花青素提取的优化工艺时也发现 70% (v/v) 酸化后的乙醇有最高的花青素提取浓度 461.72 mg/L , 说明提取液的 pH 影响花青素的得率。Loypimai 等^[30]研究来自黑米糠的花青素稳定性时也发现高温和高 pH 将导致花青素的降解。本试验在以无水乙醇为提取溶剂时, 发现影响黑米花青素得率的主要因素是 pH, 然后依次为提取时间, 液料比, 乙醇体积分数和温度, 再次证明控制提取液 pH 对花青素得率的重要性。

提取溶剂对黑米花青素的提取工艺有较大影响。He 等^[31]用水为提取溶剂研究大规模提取黑米花青素工艺时发现, 料液比 1:12, 提取温度为 50°C , 提取时间为 80 min, 提取液 pH 为 3.2 时效果最佳。

郭梅等^[17]以黑米为原料, 利用乙醇为浸提剂, 研究黑米色素的提取工艺, 其最佳工艺为乙醇体积分数 95%, 料液比 1:45 (g:mL), 浸提 pH3.0, 浸提温度 80°C , 浸提时间 90 min; 提取 pH 和温度均较高, 提取时间较长。Pedro 等^[20]用乙醇和 1.0 mol/L 的柠檬酸以 80:20 的比例组成的混合液为溶剂, 研究黑米花青素的最佳提取工艺后认为提取温度为 34.7°C , 提取时间为 80 min, 料液比为 1:30, 花青素得率为 1.17 mg/g , 但该研究没有考查 pH。

本试验确定以乙醇为溶剂提取黑米花青素的最佳工艺条件为: 乙醇体积分数为 80%, 提取时间为 60 min, 提取温度为 45°C , 料液比为 1:7 (g:mL), 提取液 pH 为 1; 其黑米首次提取液花青素含量可达 $34.34 \mu\text{g/mL}$ 。该工艺的提取温度及料液比与侯召华等^[9]、张福娣等^[32]及钟岩等^[1]相近, 但提取温度更低, 液料比更小, 有利于节省药品以及降低花青素的损失; 提取液 pH 与钟岩等^[1]的试验结果相同, 均为 1, 由于 $\text{pH} < 2$ 时, 花青素主要以 2-苯基苯并吡喃阳离子的结构稳定存在, 所以本试验所用 pH 为花青素的稳定提供了一定的保障。因此, 黑米花青素提取的关键控制因素是提取液 pH。针对不同的提取溶剂, 优化黑米花青素的提取工艺, 将有利于黑米花青素的工业化生产, 提高黑米的附加值, 扩大水稻产业发展路径。

4 结论

本研究通过单因素和正交设计综合分析后认为黑米花青素的优化工艺为: 乙醇体积分数为 80%, 提取时间为 60 min, 提取温度为 45°C , 料液比为 1:7 (g:mL), 提取液 pH 为 1; 该工艺的黑米首次提取液的花青素含量可达 $34.34 \mu\text{g/mL}$ 。最佳提取次数为 3 次, 其花青素相对总提取率达到 99.29%, 花青素得率为 $298.23 \mu\text{g/g}$ 。该工艺的提取温度更低, 液料比更小, 从而更节省药品和被破坏的花青素更少。通过文献对比后认为黑米花青素提取的关键控制因素是提取液 pH。

参考文献

- [1] 钟岩, 李泽鸿, 邵明富. 黑米色素的提取方法及稳定性研究[J]. 北方园艺, 2008, 32(10): 71-73.
- [2] 张名位, 张瑞芬, 郭宝江, 等. 黑米花色苷对血管内皮细胞过氧化损伤的保护作用[J]. 营养学报, 2006, 28(3): 217-219.
- [3] 陈健, 孙爱东, 高雪娟, 等. 蓝莓花青素的提取及抗氧化性的研究[J]. 北京林业大学学报, 2011, 33(2): 126-129.
- [4] Toshio K, Masaharu K, Takahish M. Anthocyanin pigment extracting characteristics from black rice[J]. Shokubutsu Kankyo Kogaku, 2005, 17(2): 84-87.
- [5] 张名位, 赖来展, 杨雄, 等. 中国黑米种质资源的评价与利用研究进展[J]. 湖北农学院学报, 1995, 15(4): 310-318.
- [6] 于斌, 余小平, 易龙, 等. 黑米花青素对 HER-2/neu 高表达人乳腺癌细胞株 MDA-MB-453 移植瘤血管生成的影响[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(22): 2206-2209.
- [7] 韩彬, 罗丽萍, 陈祥燕, 等. 黑米花青素对裸小鼠 HER-2 阳性乳腺癌肺转移的影响研究[J]. 营养学报, 2014, 36(3):

258-262.

- [8] Wen H, Kang J, Li D, et al. Antifungal activities of anthocyanins from purple sweet potato in the presence of food preservatives[J]. Food Science and Biotechnology, 2016, 25(1): 165-171.
- [9] 侯召华, 翟虎渠, 万建民, 等. 黑米花色苷的提取及纯化[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 54-59.
- [10] Bae I Y, An J S, Oh I K, et al. Optimized preparation of anthocyanin-rich extract from black rice and its effects on *in vitro* digestibility[J]. Food Science and Biotechnology, 2017, 26(5): 1415-1422.
- [11] 吴素萍. 黑米色素的提取及稳定性研究[J]. 中国调味品, 2011, 12(36): 107-110.
- [12] 石娟. 黑米中花青素的提取、纯化及其体内抗氧化活性研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2012.
- [13] 吴娟, 陈建民. 黑米色素提取工艺的优化[J]. 生物学杂志, 2014, 31(3): 101-103.
- [14] 严红光, 张文华, 丁之恩. 兔眼蓝莓果渣花青素提取工艺的优化研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(7): 276-280.
- [15] 张莉弘, 吴琼, 牟莉, 等. 蓝莓花青素的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(15): 49-51.
- [16] 田喜强, 董艳萍, 赵东江. 黑米花青素的浸提工艺优化及稳定性研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(6): 161-164.
- [17] 郭梅, 史云侠. 醇溶法提取黑米色素的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(8): 59-60.
- [18] 鲍晓亮. 黑米中花青素的提取及特性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014.
- [19] 姚钰蓉. 紫甘薯花青素的提取纯化、稳定性及抗氧化活性研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2009.
- [20] Pedro A C, Granato D, Rosso N D. Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa* L.) by modeling and assessing their reversibility and stability[J]. Food Chemistry, 2016, 191: 12-20.
- [21] Pitija K, Nakornriab M, Sriseadka T, et al. Anthocyanin content and antioxidant capacity in bran extracts of some Thai black rice varieties[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2013, 48(2): 300-308.
- [22] 吕丽爽. 葡萄籽中低聚原花青素提取工艺初探[J]. 食品

工业科技, 2002, (1): 17-19.

- [23] Coutinho IB, Freitas A, Macanita AL, Lima J. Effect of water content on the acid-base equilibrium of cyanidin-3-glucoside[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 476-480.
- [24] Wang H, Cao G, Prior RL. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45: 304-309.
- [25] Figueiredo P, Elhabiri M, Saito N, Brouillard R. Anthocyanin intramolecular interactions. A new mathematical approach to account for the remarkable colorant properties of the pigments extracted from *Matthiola incana* [J]. Journal of the American Chemical Society, 1996, 118: 4788-4793.
- [26] Mcghe TK, Walton MC. The bioavailability and absorption of anthocyanins: Towards a better understanding [J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2007, 51: 702-713.
- [27] Abdel-Aal, E.-S., Young, J. C., Rabalski, I. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(13): 4696-4704.
- [28] Ekici L, Simsek Z, Ozturk I, et al. Effects of temperature, time, and pH on the stability of anthocyanin extracts: Prediction of total anthocyanin content using nonlinear models [J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(6): 1328-1336.
- [29] Kang Y J, Jung S W, Lee S J. An optimal extraction solvent and purification adsorbent to produce anthocyanins from black rice (*Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo) [J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(1): 97-106.
- [30] Loypimai P, Moongnarm A, Chottanom P. Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran [J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53(1): 461-470.
- [31] He S, Lou Q, Shi J, et al. Water Extraction of anthocyanins from black rice and purification using membrane separation and resin adsorption[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41, e13091.
- [32] 张福娣, 苏金为, 蔡碧琼. 黑米色素提取工艺及其性质表征[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2006, 35(1): 94-96.

因本刊已被《中国知网》
(包括“中国知网”优先数字出版库)
独家全文收录, 所以所付稿酬中
已包含该网站及光盘应付的稿酬。