

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2024.03.001

## 超声波辅助提取红树莓花青素工艺的研究

叶红玲<sup>1</sup>, 卢永梦<sup>1</sup>, 贾欣怡<sup>1</sup>, 王乐萍<sup>1</sup>, 吴泽灵<sup>1</sup>, 杨柳青<sup>2</sup>

(1. 安庆职业技术学院农林与服装学院, 安徽 安庆 246003; 2. 合肥大学生物食品与环境学院, 安徽 合肥 230601)

**摘要:** [目的] 探索超声波辅助法提取红树莓花青素最优工艺。[方法] 以红树莓鲜果为试材, 选择甲醇作为提取溶剂, 通过四因素三水平正交试验来探究红树莓花青素最佳提取工艺。[结果] 液料比 1:10 (g/mL) 的条件下, 以 80% (体积分数) 甲醇为提取溶剂, 在 400 W 超声波下处理 25 min, 花青素提取量最高, 达到 35.25 mg/100 g。[结论] 超声波辅助甲醇溶液提取红树莓花青素方法高效快捷, 优化的工艺参数可以为红树莓花青素的工业化生产提供参考。

**关键词:** 红树莓; 花青素; 提取工艺; 超声波

中图分类号: TS201.1 文献标志码: A 文章编号: 1673-1891(2024)03-0001-06

## Research on the Ultrasonic Assisted Extraction Process of Red Raspberry Anthocyanins

YE Hongling<sup>1</sup>, LU Yongmeng<sup>1</sup>, JIA Xinyi<sup>1</sup>, WANG Leping<sup>1</sup>, WU Zeling<sup>1</sup>, YANG Liuqing<sup>2</sup>

(1. Institution of Agriculture Forestry and Clothing, Anqing Vocational and Technical College, Anqing 246003, Anhui, China; 2. College of Biology, Food & Environment, Hefei University, Hefei 230601, Anhui, China)

**Abstract:** [Objective] Explore the optimal process for extracting anthocyanins from red raspberry using ultrasonic-assisted methods. [Method] fresh red raspberry fruit was used as the test material, and methanol was chosen as the extraction solvent. A four-factor, three-level orthogonal experiment was conducted to explore the optimal process for extraction of anthocyanins from red raspberry. [Result] Under the conditions of a liquid-to-solid ratio of 1:10 (g/mL), an 80% methanol (volume fraction) was used as the extraction solvent, and after the treatment was undergone with 400 W ultrasound for 25 minutes, the anthocyanin extraction rate reached a maximum of 35.25 mg/100g. [Conclusion] The ultrasonic-assisted methanol solution extraction method for red raspberry anthocyanins is efficient and fast, and the optimized process parameters can provide a reference for the industrial production of red raspberry anthocyanins.

**Keywords:** red raspberry; anthocyanins; extraction process; ultrasonic

### 0 引言

树莓 (*Rubus* spp.), 也被称为莓果或覆盆子, 是全球四种知名的小浆果之一<sup>[1-2]</sup>。根据果实成熟时

的颜色差异, 树莓可分为红树莓、黄树莓、紫树莓、黑树莓等不同类型<sup>[3]</sup>。红树莓果实富含多种维生素、矿物质等营养元素, 因其纤维素含量高被称为“黄金水果”。此外, 红树莓果实还含有高浓度的花

收稿日期: 2024-08-04

基金项目: 安徽省教育厅高校优秀青年人才支持计划项目 (gsyqZD2020069); 安徽省教育厅高等学校质量工程项目 (2023hxkc084); 安徽省教育厅高等学校质量工程项目 (2022extd090)。

作者简介: 叶红玲 (1981—), 女, 安徽安庆人, 副教授, 硕士, 研究方向: 农产品深加工及贮藏, e-mail: 2510771909@qq.com。

青素等生物活性物质<sup>[4]</sup>。Qi等<sup>[5]</sup>在研究中指出,红树莓提取物能通过抑制增殖、迁移和自噬等方式阻断癌细胞的生长。有研究报道,红树莓花青素在消除自由基<sup>[6]</sup>、抵抗细菌<sup>[7]</sup>、降低血糖、对抗癌症<sup>[8-9]</sup>等领域具有显著效果。

目前,用于提取红树莓花青素的主要方法包括酶法、浸提法、微波或超声波辅助法等,这些方法各有其特点和优势。孙侨冶等<sup>[10]</sup>的研究发现,用盐酸-甲醇作为浸提液,在料液比 1:30(g/mL)条件下浸泡 3 h 提取红树莓花青素的效果较好。刘莹等<sup>[11]</sup>的研究表明,在料液比 1:60(g/mL)条件下,用微波辅助酸化乙醇溶剂提取红树莓花青素,提取液中花青素质量分数为 5.4 mg/100 g。纪秀凤<sup>[12]</sup>选用超声波-纤维素酶辅助法提取红树莓籽中原花青素,发现在料液比 1:31(g/mL),提取时间为 39 min 时原花青素质量分数为 16.42 mg/g。既往的研究发现,酶法和浸提法虽然成本相对较低,但提取时间较长,导致生产效益不高。微波辅助法虽然能够缩短提取时间,但其工艺参数不易控制,且存在一定的危险性。超声波能够加速被提取成分的溶出,从而缩短提取时间并提高提取效率。同时,超声波辅助法操作简便,易于控制。甲醇能够高效地溶解多种极性和非极性化合物,在植物提取、食品加工、药物研发等多个领域都发挥着重要作用。但是,关于超声波辅助甲醇溶液提取红树莓花青素的研究鲜有报道。鉴于此,本试验研究超声波辅助甲醇溶液提取红树莓花青素的工艺参数,旨在为红树莓花青素的生产提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

红树莓鲜果购自辽宁丹东,品种为费尔杜德,置于-11℃冰箱中冷冻保存。

乙醇、甲醇、氯化钾、浓盐酸、醋酸钠等试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

ZOLLO-650CT 超声波提取机(上海左乐仪器有限公司);SP907R 破壁机(浙江绍兴苏泊尔生活电器有限公司);UV-1800PC-DS2 紫外-可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样品制备

冻藏的红树莓样品在 4℃条件下解冻 6~8 h,解冻后的样品经破壁机破碎,得到红树莓匀浆液,匀浆液于 4℃冰箱中保存备用。

#### 1.3.2 花青素提取率的计算方法

花青素提取液经抽滤处理后取其滤液,采用 pH 示差法<sup>[13]</sup>测定滤液中花青素质量分数,并按式(1)计算提取率。

$$W = \frac{A \times M \times V \times D}{\epsilon \times L \times m} \times 100 \quad (1)$$

式中:W 为花青素提取率,mg/100 g;A=( $A_{510\text{ nm, pH } 1.0} - A_{700\text{ nm, pH } 1.0}$ ) - ( $A_{510\text{ nm, pH } 4.5} - A_{700\text{ nm, pH } 4.5}$ );M=449.21 g/mol(矢车菊 3-O-葡萄糖苷相对分子质量);V 为提取液体积,mL;D 为溶液稀释倍数; $\epsilon=26\ 900\ \text{L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ (矢车菊 3-O-葡萄糖苷的摩尔消光系数);L=1 cm(比色皿光程);m 为样品质量,g。

#### 1.3.3 单因素试验

准确称取 2.00 g 红树莓匀浆液于提取杯中,以花青素提取量为评价指标,室温(20~25℃)条件下分别研究提取溶剂(80% 甲醇、90% 甲醇、100% 甲醇、80% 乙醇、90% 乙醇、100% 乙醇)、甲醇体积分数(60%、70%、80%、90%、100%)、料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 g/mL)、超声功率(200、300、400、500、600 W)、超声时间(15、20、25、30、35 min)对提取量的影响。

#### 1.3.4 正交试验设计

根据单因素试验结果,选取甲醇体积分数、料液比、超声功率和超声时间作为试验因素,进行正交试验。因素和水平设计如表 1 所示。

表1 正交试验设计

水平	因素			
	甲醇体积分数 (A)/%	料液比(B)/ (g·mL <sup>-1</sup> )	超声功率 (C)/W	超声时间 (D)/min
1	70	1:5	300	20
2	80	1:10	400	25
3	90	1:15	500	30

#### 1.4 数据统计与分析

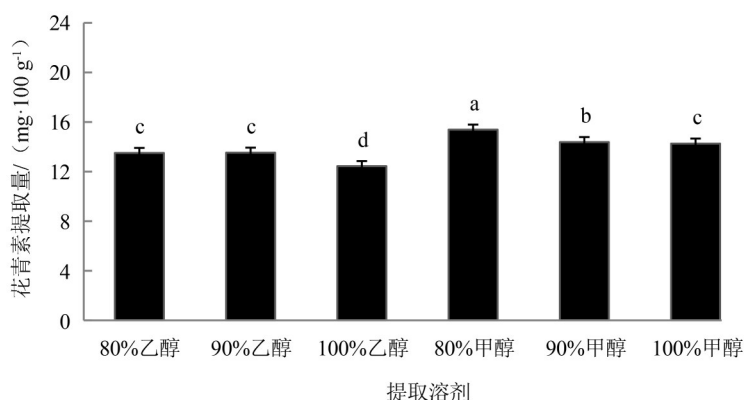
每组试验重复测定3次,结果以平均值±标准差表示,采用 Microsoft Excel 2019 和 Origin 8.5 软件进行数据统计和分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

#### 2.1.1 提取溶剂对红树莓花青素提取量的影响

以不同体积分数的甲醇和乙醇溶液作为提取溶剂,在超声波辅助作用下,甲醇对红树莓花青素的提取效果优于相同体积分数的乙醇(图1)。孙侨冶等<sup>[12]</sup>的研究结果也表明甲醇对红树莓花青素的浸提效果更好。6种提取溶剂中,80%甲醇对花青素的提取效果最佳,提取量达到15.38 mg/100 g。本试验选择甲醇作为提取溶剂,并进一步研究甲醇体积分数对红树莓花青素提取率的影响。



注:不同小写字母表示差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

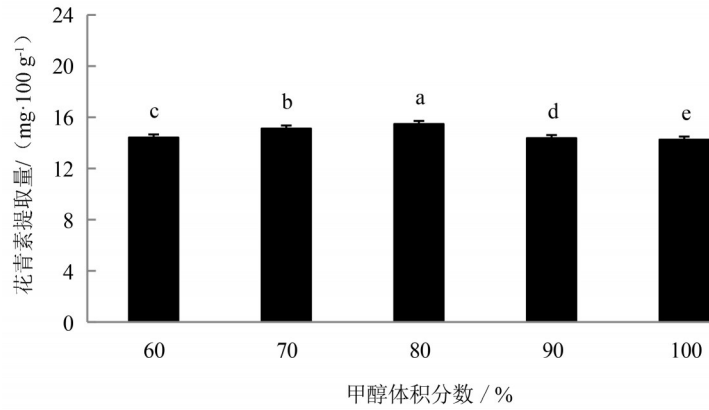
图1 提取溶剂对红树莓花青素提取量的影响

#### 2.1.2 甲醇体积分数对红树莓花青素提取量的影响

由图2可知,甲醇体积分数对红树莓花青素提取量影响显著( $P < 0.05$ )。甲醇体积分数从60%增加到80%时,红树莓花青素的提取量呈现上升趋势。当甲醇体积分数达到80%时,花青素提取量达到最大值(15.55 mg/100 g)。然而,当甲醇体积分数超过80%后,提取量出现了下降的趋势。这可能是由于过高的甲醇体积分数改变了溶剂的极性,使得其与花青素的极性匹配度降低,从而不利于花青素的溶出<sup>[14]</sup>。邓爱华等<sup>[15]</sup>的研究也发现80%甲醇对无花果果皮中花青素的提取效果好。故本研究选用80%甲醇作为提取溶剂。

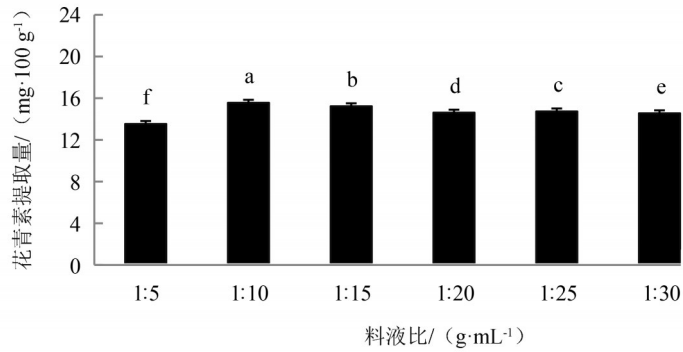
#### 2.1.3 料液比对红树莓花青素提取量的影响

图3显示,当料液比由1:5升至1:10(g/mL)时,花青素的提取量随料液比的上升逐步提升。这可能是由于增加了提取溶剂,使得原料中花青素能更深入地与溶剂接触,进而有助于花青素释放出来。当料液比到达1:10(g/mL)时,花青素的提取量达最高点,为15.92 mg/100 g。继续增加提取溶剂的体积,花青素的提取量并没有持续增加,反而有所降低。这可能由于在料液比达到1:10(g/mL)时,原料中的花青素已经得到了较为充分的提取,且过量的提取剂会导致样品中杂质溶出,干扰了花青素的提取<sup>[16]</sup>。因此,本试验选择料液比为1:10(g/mL)。



注:不同小写字母表示差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

图2 甲醇体积分数对红树莓花青素提取量的影响



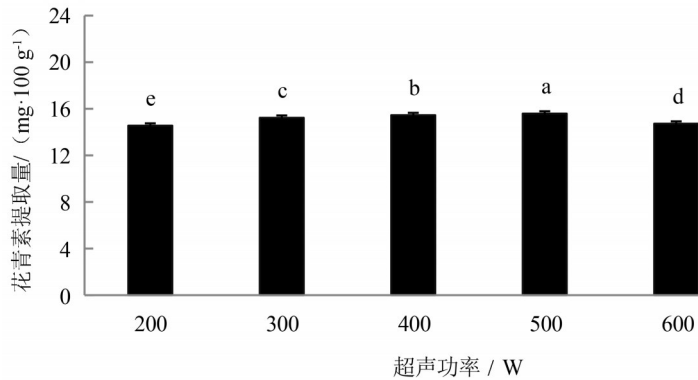
注:不同小写字母表示差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

图3 料液比对红树莓花青素提取量的影响

### 2.1.4 超声功率对红树莓花青素提取量的影响

由图4可以看出,在超声功率从低到高逐渐增加的过程中,花青素的提取量呈先上升后下降的趋势( $P<0.05$ )。在500 W超声处理下,花青素提取量最大,为16.24 mg/100 g;其次,在400 W超声处理下,为16.11 mg/100 g。进一步增加超声功率,花青

素的提取量开始下降,这可能是因为过强的超声波会导致花青素分子结构受到破坏,发生降解反应。此外,过高的超声功率还可能促进其他杂质的溶出,进一步影响提取效果<sup>[17]</sup>。考虑生产成本,将400 W定为超声功率参数,并进行后续的验证和优化。



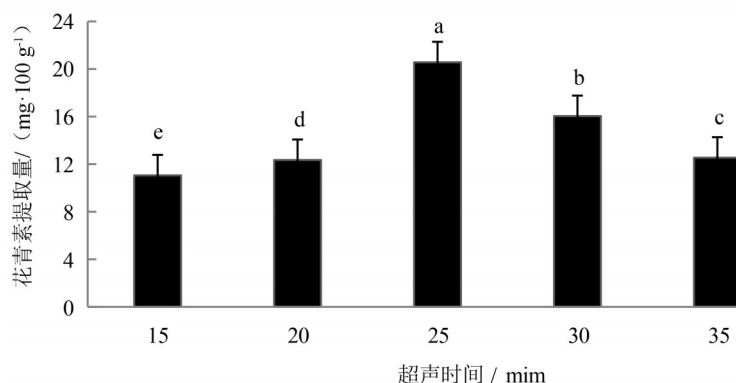
注:不同小写字母表示差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

图4 超声功率对红树莓花青素提取量的影响

### 2.1.5 超声时间对红树莓花青素提取量的影响

从图5可以看出, 超声时间对花青素提取效率具有显著影响( $P < 0.05$ )。15~25 min内, 随着超声时间的延长, 提取液中的花青素质量分数显著增加。这主要归因于超声波的多重效应增加了溶剂对细胞内花青素的渗透性和溶解性, 从而提高了提取

量。超声处理25 min, 花青素提取量为20.56 mg/100 g。当时间超过25 min, 花青素在强烈的超声波作用下可能会变得不稳定, 甚至发生降解<sup>[18]</sup>, 进而导致了提取量的下降。基于上述分析, 本试验选择超声时间25 min。



注: 不同小写字母表示差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

图5 超声时间对红树莓花青素提取量的影响

## 2.2 正交试验结果

参照单因素试验结果, 为进一步确定红树莓花青素最佳提取参数, 以甲醇体积分数(A)、料液比(B)、超声功率(C)和超声时间(D)4个因素进行正交试验分析, 结果如表2所示。

表2显示, 四个因素对红树莓花青素提取效果的影响顺序为: 提取时间>料液比>甲醇体积分数>超声功率。均值的结果显示, 最优提取方案为 $A_3B_3C_1D_3$ 。9组正交试验中, 第8组试验( $A_3B_2C_1D_3$ )花青素提取量最高, 为35.28 mg/100 g。对 $A_3B_3C_1D_3$ 和 $A_3B_2C_1D_3$ 这2种组合方案进行验证试验, 2组试验测得花青素提取量分别为35.36 mg/100 g和35.25 mg/100 g, 2组间提取率的差值非常微小。相比 $A_3B_3C_1D_3$ 方案,  $A_3B_2C_1D_3$ 方案在保持较高提取率的同时, 料液比降低到了1:10(g/mL)。这意味着在保持相近提取效果的前提下,  $A_3B_2C_1D_3$ 方案减少了溶剂的使用量, 从而降低了生产成本, 因此, 推荐红树莓花青素最佳提取工艺方案为: $A_3B_2C_1D_3$ , 即甲醇体积分数为80%、料液比1:10(g/mL)、超声功率为400

表2 正交试验结果

试验号	水平				提取量/(mg · 100 g)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	26.93
2	1	2	2	2	30.8
3	1	3	3	3	35.09
4	2	1	2	3	32.16
5	2	2	3	1	29.69
6	2	3	1	2	33.32
7	3	1	3	2	29.45
8	3	2	1	3	35.28
9	3	3	2	1	31.34
$k_1$	30.940	29.513	31.843	29.320	—
$k_2$	31.723	31.923	31.433	31.190	—
$k_3$	32.023	33.250	31.410	34.177	—
R	1.083	3.737	0.4330	4.857	—

W、超声时间为25 min。

## 3 结论

以红树莓鲜果为原料, 超声波辅助甲醇溶液提

取花青素最佳工艺为:甲醇体积分数为 80%、料液比 1:10 (g/mL)、超声功率为 400 W、超声时间为 25 min,红树莓花青素提取量达到 35.25 mg/100 g。超声波辅助提取能够在较温和的条件下进行,减少花青素在提取过程中因高温或其他因素导致的结构破坏和降解。本工艺使用超声波提取器在室温条

件下提取红树莓果实中花青素,不仅所需的超声波功率较低,而且显著缩短了提取时间,并减少了溶剂的使用量。红树莓花青素因其强抗氧化性、抗炎及促进健康等多种生物活性,在功能性食品、饮料及保健品领域具有广阔的应用前景,本试验优化后的提取工艺能为这些产品的开发提供技术支撑。

#### 参考文献:

- [1] ISPIRYAN A, VISKELIS J, VISKELIS P. Red raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil: a review[J]. Plants-Basel, 2021, 10(5):944.
- [2] 丁文静,杜国福,冷鹏,等.不同树莓品种经济性状比较试验[J].园艺与种苗,2020,40(10):20-22.
- [3] 王晓天,李兴国,李大龙,等.不同树莓品种中非花色苷的鉴定与分析[J].北方园艺,2021(11):36-43.
- [4] ROSIANE R, JOSÉ P, M.V. R A, et al. Extraction of anthocyanins from red raspberry for natural food colorants development: processes optimization and in vitro bioactivity[J].Processes, 2020, 8(11):1447.
- [5] QI Z X, YANG B, GIAMPIERI F, et al. The preventive and inhibitory effects of red raspberries on cancer[J]. Journal of Berry Research, 2024, 14(1):61-71.
- [6] YING L, XU MEI Z, HAN L, et al. Technologies for extracting anthocyanins from the red raspberry and their free radical scavenging ability[J]. Advance Journal of Food Science and Technology, 2018, 14(6):166-180.
- [7] LUÍSA A V, JOSÉ P, INÊS M D, et al. Compositional features of the "Kweli" red raspberry and its antioxidant and antimicrobial activities[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2020, 9(11):1522.
- [8] ISPIRYAN, VISKELIS, VISKELIS P. Red raspberry(*Rubus idaeus* L.)seed oil: a review[J]. Plants-Basel, 2021, 10(5):944.
- [9] PALONEN P, LAINE T, MOUHU K. Floricane yield and berry quality of seven primocane red raspberry (*Rubus idaeus* L.) cultivars[J]. Scientia Horticulturae, 2021, 285:110201.
- [10] 孙侨治,李兴国,马丛菲,等.红树莓花色苷的提取与鉴定[J].北方园艺,2019(10):113-122.
- [11] 刘莹,高涵,王丽霞,等.红树莓花青素的微波辅助提取研究[J].中国农学通报,2018,34(12):125-131.
- [12] 纪秀凤.红树莓籽中低聚原花青素纯化鉴定及其微胶囊化研究[D].锦州:渤海大学,2019.
- [13] GONZÁLEZ-MMONTELONGO R, GLORIA LOBO M, GONZÁLEZ M. Antioxidant activity in banana peel extracts: testing extraction conditions and related bioactive compounds[J]. Food Chemistry, 2010(1):1030-1039.
- [14] 张卉,尤小明,王亚茹,等.响应面分析法优化黑果腺肋花楸花青素提取工艺[J].食品工业,2019,40(8):131-135.
- [15] 邓爱华,易梦媛,刘凤英,等.无花果果皮中花青素的提取工艺的建立[J].基因组学与应用生物学,2020,39(2):699-705.
- [16] 吴哲,刘冠群,张娇,等.响应面分析法优化美国黑莓花青素提取工艺[J].食品工业,2021,42(3):120-124.
- [17] 卢利平,张利,李铀,等.凤冈绿茶中原花青素的提取工艺优化[J].食品工业科技,2020,41(22):204-209,231.
- [18] 毕凯媛,崔珊珊,高阳,等.超声辅助果胶酶法提取红树莓花色苷及其成分测定[J].食品工业科技,2018,39(13):198-205.