

# 微波辅助提取芒果皮黄色素的研究

姚壮和

(广东省联合食品企业中心, 广东广州 510630)

**摘要:** 研究了微波辅助提取技术中微波功率、微波处理时间及料液比对芒果皮中黄色素提取效果的影响, 通过正交试验对上述条件进行了优化, 采用颜色反应对提取得到的粗色素进行了定性分析, 经过 HPLC 对粗色素进行了初步分离及结构鉴定, 确定了其种类和含量。研究结果表明: 微波功率、微波处理时间及料液比对芒果皮中黄色素的提取有显著影响, 在微波功率 640 W、料液比 1:6 (*m/V*) 条件下, 以 95% (*V/V*) 乙醇为溶剂, 微波辅助提取 30 s, 重复提取三次后色素总提取率可达 89.92% (*m/m*), 得率达到 5.1% (*m/m*)。影响黄色素提取率大小的因素依次为: 料液比>微波功率>微波提取时间。对色素进行初步分离和鉴定, 结果表明芒果皮中的黄色素为类胡萝卜素, 其主要成分为含羟基的含氧类胡萝卜素, 约占成分总量的 99.82% (*m/m*)。

**关键词:** 芒果皮; 类胡萝卜素; 微波辅助提取; 结构

文章编号: 1673-9078(2013)8-1973-1977

## Microwave-assisted Extraction of Yellow Pigments from Mango Peel

YAO Zhuang-he

(Guangdong Joint Center for food enterprises, Guangzhou 510630, China)

**Abstract:** Effects of microwave power, irradiation time and the ratio of pulp to ethanol (95% (*V/V*)) on microwave assistant extraction of yellow pigments in mango peel were investigated, and the optimum conditions of aforementioned factors were optimized by using orthogonal experiment. The qualitative analysis of the crude pigments obtained was carried out by color reaction. The pigments were separated and structurally identified through HPLC. The category and content of the pigments were also determined. The results showed that microwave power, irradiation time and the ratio of pulp to ethanol [95% (*V/V*)] significantly affected the extraction of yellow pigments in mango peel. The extraction rate and yield could be up to 89.92% (*m/m*) and 5.1% (*m/m*) respectively when the mango peel were extracted three times in 6-times ethanol [95% (*V/V*)] at 640 W of microwave power for 30 s. The significance order of above three factors on the extraction was the ratio of mango peel to 95% (*V/V*) ethanol > microwave power > irradiation time. Determination of elementary structure of pigments showed that the pigments were of carotenoid compounds, and the main components were xanthophylls with hydroxy. The total content of those components was about 99.82% (*m/m*).

**Key words:** Mango peel; pigment; microwave; extraction; structure

近年来, 随着我国芒果生产产业的发展, 芒果加工业也得到了迅猛的发展, 主要产品包括芒果酱、芒果果脯、芒果饮料等。芒果在制造罐头、果酱和饮料中产生大量下脚料-芒果皮, 未能得到充分利用, 不仅浪费资源, 而且还造成污染。目前, 已有许多以天然植物为原料提取色素的研究报道<sup>[1]</sup>, 但如何从芒果皮中提取色素却未见报道。芒果中胡萝卜素类物质含量丰富, 类胡萝卜素不仅是重要的天然色素, 而且是一种具有特异功能的新型天然色素, 人体无法自身合成, 只能从食物中摄取, 寻找富含类胡萝卜素的资源一直是近些年研究的热点。以芒果皮作为原料提取此类色素, 不仅可以提高类胡萝卜素的产量, 满足不断增长

收稿日期: 2013-04-08

作者简介: 姚壮和 (1959-), 男, 工程师, 主要从事食品相关企业的管理及协调、食品工艺监控

的应用需求, 而且还可以变废为宝, 降低生产成本, 为我国芒果事业的发展开辟一条新的路径, 取得更大的经济效益和社会效益。

对于类胡萝卜素等脂溶性色素, 需使用有机溶剂进行提取, 而有机溶剂不易渗透进入植物组织的细胞壁和细胞膜, 不能很好地将提取物从细胞中溶出, 使提取时间延长。而采用微波辐射作用下, 强极性分子溶剂产生瞬间极化, 并以一定的频率做极性变换运动, 这就对液膜和细胞壁产生一定的“扰动”效应, 使细胞壁破裂, 细胞液流出, 从而使色素能较快地提取出来<sup>[2]</sup>。近年来, 微波辅助提取技术在中药及食品活性成分提取等方面获得广泛应用<sup>[3]</sup>, 在色素提取领域也在逐渐推广<sup>[4]</sup>, 具有提取速度快、时间短、溶剂消耗少及对色素物质破坏少等优点。本课题以芒果皮为原料, 探索采用微波辅助提取法提取黄色素的工艺条件,

并测定色素的结构,对色素进行定性和定量分析,以期为芒果皮中天然色素的开发利用奠定研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

芒果,成熟田阳香芒果,产地广东,市售。其余试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器设备

JJ300 型精密电子天平,常熟双杰测试仪器厂; TU-1810 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司; S22PC 分光光度计,上海棱光技术公司; MCR-3 微波化学反应器,巩义市予华仪器有限责任公司; RE-52C 旋转蒸发仪,巩义市予华仪器有限责任公司; LGJ-10 真空冷冻干燥机,北京松源华兴科技发展有限公司; 80-2 型离心机,上海安亭科学仪器厂; HPLC 检测系统,美国 Waters 公司

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 色素的提取工艺流程

新鲜成熟芒果清洗干净→撕皮→将皮在沸水中漂烫 30 s→打浆→微波提取→过滤→精制→真空浓缩→冷冻干燥→性质测定及结构判定

#### 1.3.2 提取率、得率的计算

称取一定质量  $A_1$  的芒果皮,对其中的色素进行完全提取,然后对色素溶液进行精制、浓缩、干燥等处理,得到质量为  $A_2$  的色素样品,不同提取条件下得到的色素样品质量为  $A_3$ 。

$$\text{色素得率} = \frac{A_3}{A_1} \times 100\%$$

$$\text{色素提取率} = \frac{A_3}{A_2} \times 100\%$$

#### 1.3.3 提取条件的优化-正交实验

在以上单因子实验的基础上,对微波辅助法提取的三个参数,即微波功率、微波处理时间和料液比进行  $L_9(3^3)$  正交实验,正交实验表见表 1,以确定微波辅助法提取芒果皮中类胡萝卜素的最佳条件,实验结果见表 2。

#### 1.3.4 色素的定性颜色反应

取少量样品加入氯仿溶液溶解,做系列颜色反应,观察其颜色变化,与植物色素标准颜色反应比较,可以得出初步的定性结果<sup>[5]</sup>。

#### 1.3.5 高效液相色谱法测定色素结构和含量<sup>[6]</sup>

HPLC 系统: Waters 公司

检测器: Waters 2487Dual  $\lambda$  Absorbance Detector

自动进样器: Waters 717 Plus Autosampler

色谱柱: Dikma Diamonsil 5 $\mu$  C18 250 $\times$ 4.6mm

保护柱: Dikma Cat.no.6101 Easy Guard Kit C18

进样量: 20  $\mu$ L

洗脱液流速: 1 mL/min

流动相 A: 乙腈、水 (9:1, 体积)

流动相 B: 乙酸乙酯

洗脱条件: 二元线性梯度。B 在 20 min 内从 0 上升到 100%。

温度: 25  $^{\circ}$ C

含量计算: 根据各峰面积占总峰面积的百分计算。

### 1.4 数据分析

采用 Excel 计算不同指标的平均值和标准差,结果采取均值 $\pm$ 标准差形式表示;用 SPSS12.0 对测定指标进行方差分析,应用最小显著差异法 (least significant difference, LSD) 进行多重比较,分析不同处理组间的差异显著性,取 95% 置信度 ( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与讨论

因为芒果皮中的色素主要为类胡萝卜素,而溶液中类胡萝卜素对紫外-可见光的吸收遵循布格-朗伯-比尔定律,也就是溶液的吸光值与浓度成正比。因此,在本实验中将吸光度值用于溶液中色素浓度大小的比较。据前人研究,本研究选择 95% 乙醇作为提取溶剂,在波长为 424 nm 处测定色素的吸光度<sup>[7]</sup>,以比较各条件下的提取效果。

### 2.1 微波功率的确定

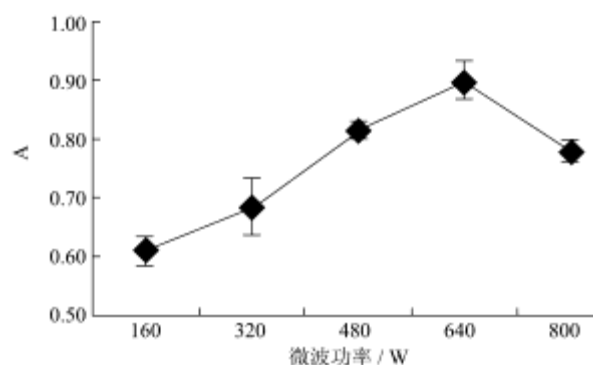


图 1 微波功率对色素提取效果的影响 ( $\lambda = 424\text{nm}$ )

Fig.1 Influence of microwave power on extraction of pigments in Mango

不同微波功率下对芒果皮提取处理 30 s 后,色素溶液的吸光度和温度曲线如图 1。

由图 1 可以看出,当微波功率在 160~640 W 范围

内,随着微波功率的增大,溶液吸光度呈明显上升趋势 ( $P<0.05$ ),当微波功率为 640 W 时达到最高,此时色素提取效果也最佳。而后,微波功率继续提高,提取率有所下降。可能是由于微波功率过高,提取溶液温度过高,破坏了其中的黄色素。

## 2.2 微波处理时间的确定

微波处理时间对所得色素溶液吸光度的影响如图 2 所示。

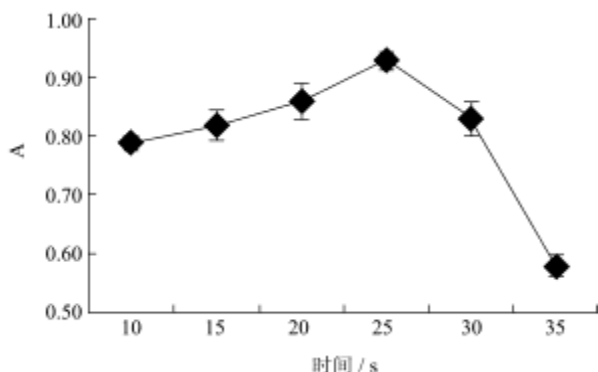


图 2 微波提取时间对色素提取效果的影响 ( $\lambda=424\text{nm}$ )

Fig.2 Influence of microwave irradiation time on extraction of pigments in mango peel

实验结果表明,提取初期,随着提取时间的延长溶液的吸光度不断增大,但是,当时间增加到 25 s 后提取液的吸光度却显著下降 ( $P<0.05$ )。这可能是由于随着提取时间的延长,色素溶液受热的时间也增加,使得色素结构发生改变从而导致溶液吸光度降低。提取时间明显少于单独用溶剂或超声波辅助提取所需要的时间<sup>[11]</sup>。

微波功率和作用时间对溶液温度变化都有很大影响:相同质量的物料在相同功率下,微波作用时间越长,物料吸收的微波能越多,物料温度也会越高;相同作用时间内,微波功率越大,物料接受的微波能也越多,温度也会越高。所以,利用微波辅助法来提取色素,应当把微波功率和作用时间两个因素结合,在单因素实验的基础上进行提取条件的优化,以确定最佳提取条件,考察其对提取共同作用的效果。

## 2.3 料液比的确定

分别采用不同料液比进行色素提取,色素溶液吸光度随料液比的变化见图 3。

由图知,料液比为 1:7 时溶液吸光度最大,提取效果最佳。料液比实际上是溶剂用量的大小,一般来说,溶剂用量越大,提取率越大,但过大的料液比会降低溶剂利用率,造成溶剂和能源的浪费,提高生产成本并给后序的浓缩工序带来困难;但是溶剂用量过

少,料液比过小,会造成提取不完全,所以选择适宜的料液比对提取率和生产成本都比较重要。

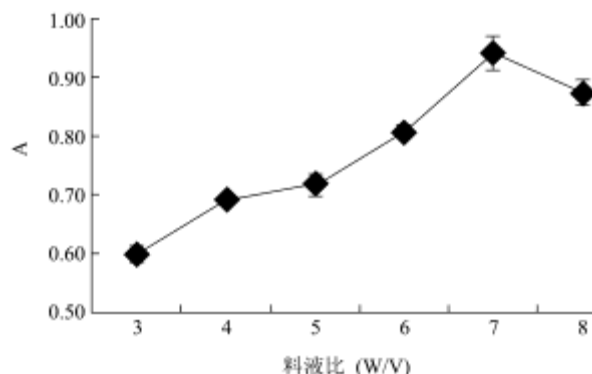


图 3 料液比对色素提取效果的影响 ( $\lambda=424\text{nm}$ )

Fig.3 Influence of ratio of pulp to ethanol (95%) on extraction of pigments in mango peel

## 2.4 提取条件的优化-正交实验

表 1 正交实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素		
	A (功率/W)	B (处理时间/s)	C [料液比/(m/V)]
1	480	20	1:6
2	640	25	1:7
3	800	30	1:8

表 2 正交实验结果

Table 2 Results of orthogonal experiment

实验号	A	B	C	吸光度/A
1	1	1	1	0.80
2	1	2	2	0.77
3	1	3	3	0.77
4	2	1	3	0.83
5	2	2	2	0.76
6	2	3	1	0.90
7	3	1	3	0.75
8	3	2	1	0.85
9	3	3	2	0.86
k <sub>1</sub>	0.781	0.794	0.852	
k <sub>2</sub>	0.833	0.795	0.819	
k <sub>3</sub>	0.820	0.844	0.762	
极差 R	0.052	0.050	0.090	
优选方案	A <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	

在以上单因子实验的基础上,对微波辅助法提取的三个参数,即微波功率、微波处理时间和料液比进行  $L_9(3^3)$  正交实验,以确定微波辅助法提取芒果皮中类胡萝卜素的最佳条件,实验结果见表 2。

实验结果表明:影响因素中以料液比对色素的提

取效果影响最大, 其他因素影响较小。由表可知各因素影响大小顺序为 C>A>B, 优选方案为 C<sub>1</sub>A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>, 即微波功率为 640 W, 萃取时间为 30 s, 料液比为 1:6 (m/V)。

### 2.5 提取次数的确定

为了尽可能多地提取芒果皮中的黄色素, 芒果皮可经过多次提取。不同提取次数所得色素的提取率大小如图 4 所示。

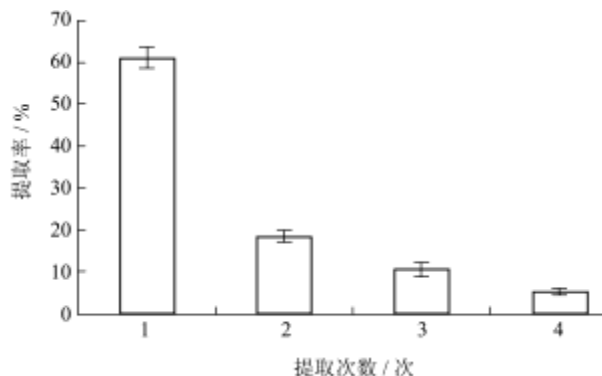


图 4 不同提取次数提取率的比较 (λ=424 nm)

Fig.4 Influence of extracting times on extraction rate of pigments in mango peel

由图可以看出, 提取次数对微波提取效果影响显著 (P<0.05), 第一次浸提率达 61.07%, 再经过两次提取, 其浸提率就可达 89.92%, 继续进行第四次及其之后的提取, 提取率变化不大, 这一结果表明: 经过三次的提取已使色素较为完全的溶出, 浸提率可达 89.92%, 由于考虑到提取次数过多会浪费溶剂且延长提取周期, 故微波辅助法提取次数以三次为宜。经计算, 最终色素得率为 5.10%。

### 2.6 色素样品的颜色反应

颜色反应是由于各类成分结构或官能团的不同, 常与某些特定试剂发生反应, 产生不同的颜色或沉淀。芒果皮色素经微波辅助提取、大孔树脂精制后, 测定其颜色反应, 进行定性分析。实验结果见表 3。

表 3 色素样品的颜色反应

Table 3 Color reaction of pigments in mango peel

试剂	浓硫酸+三氯甲烷	25%三氯化锡+三氯甲烷	发烟硝酸+三氯甲烷	浓盐酸+苯酚
颜色	暗蓝	蓝绿	黄绿	暗蓝

由表 3 可以看出, 根据参考文献<sup>[8-9]</sup>可知, 这几种颜色反应是类胡萝卜素的特征反应, 因此, 根据类胡萝卜素的显色反应特征, 可以证明此样品属于类胡萝卜素化合物。

### 2.7 色素结构分析

1976

芒果皮中色素的 HPLC 图谱如图 5 所示。

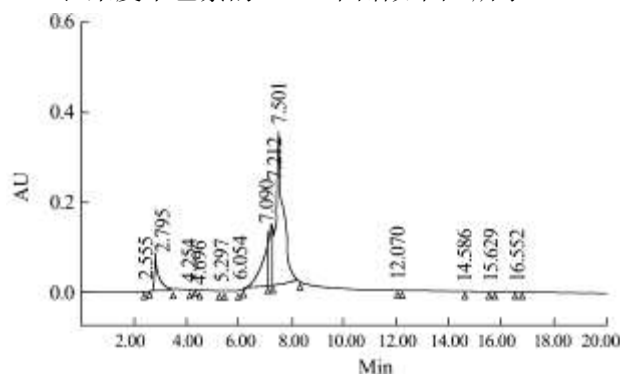


图 5 芒果皮中粗色素的 HPLC 图谱

Fig.5 HPLC spectrum of crude pigments in mango peel

从文献分析、对照标准品图谱可知<sup>[6,10-13]</sup>, 芒果皮中类胡萝卜素的成分含量及分类见表 4。

表 4 色素各峰情况及色素种类

Table 4 Peak situation and its category

序号	RT/min	相对含量/%	名称
1	2.56	0.30	含氧类胡萝卜素
2	2.80	9.48	含氧类胡萝卜素
3	4.25	0.22	含氧类胡萝卜素
4	4.40	0.12	含氧类胡萝卜素
5	5.30	0.04	含氧类胡萝卜素
6	6.05	0.47	含氧类胡萝卜素
7	7.09	20.66	含氧类胡萝卜素
8	7.21	11.49	含氧类胡萝卜素
9	7.50	57.04	含氧类胡萝卜素
10	12.07	0.04	叶绿素
11	14.59	0.03	羟类胡萝卜素
12	15.63	0.03	羟类胡萝卜素
13	16.55	0.05	羟类胡萝卜素
14	19.79	0.03	羟类胡萝卜素

由图 5 和表 4 可知, 在本实验的分离条件下, 可以分离出 14 种不同的物质。它们绝大多数属于类胡萝卜素类, 另外还有微量的叶绿素, 即图谱中的 10 号峰。其中 1 至 9 为含氧类胡萝卜素, 此类种类最多, 比重也最大, 有 9 种, 按峰面积计算约占总量的 99.82%, 且醇类胡萝卜素居多, 经文献分析及标准品图谱对比, 可知含氧量胡萝卜素中含有紫黄质、新黄质、黄体黄质、玉米黄素、叶黄素等; 不含氧的羟类胡萝卜素有 4 种, 其含量只占总量的 0.14%, 为 11 至 14, 其中 11 为番茄红素, 13 为 β-胡萝卜素, 12 和 14 还有待进一步确定。另外还有微量的叶绿素。

### 3 结论

3.1 微波辅助法提取芒果皮黄素的最佳条件是: 功率

640 W、时间 30 s、料液比 1:6 ( $m/V$ )，提取次数为三次，色素提取率可达 89.92%，得率约为 5.1%。微波辅助法提取色素所需的处理时间短，仅为溶剂法的 1/60，是一种短时高效的提取方法。

3.2 芒果皮中色素为类胡萝卜素，其主要成分为含氧类胡萝卜素，包括紫黄质、新黄质、黄体黄质、玉米黄素、叶黄素等，约占总量的 99.82%；不含氧的羟类胡萝卜素有 4 种，其含量只占总量的 0.14%，其中包括番茄红素和  $\beta$ -胡萝卜素等。

### 参考文献

- [1] Zhou Da-Yong, Qin Lei, Zhu Bei-Wei, et al. Extraction and antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from spines of purple sea urchin *Strongylocentrotus nudus* [J]. Food Chemistry, 2011, 129(4): 1591-1597
- [2] 王燕燕. 番茄红素的提取纯化工艺及稳定性研究[D]. 石家庄: 河北工业大学, 2003  
Wang Yan-yan. Extraction and purifying technology of lycopene and study on its stability [D]. Shijiazhuang: Hebei University of Technology, 2003
- [3] Farhat A, Fabiano-Tixier A, Maataoui M E, et al. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: Kinetic data, extract's global yield and mechanism [J]. Food Chemistry, 2011, 125(1): 255-261
- [4] Garofulić I E, Dragović-Uzelac V, Jambrak A R, et al. The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from *sour cherry Marasca* (*Prunus cerasus* var. *Marasca*) [J]. Journal of Food Engineering, 2013, 117(4): 437-442
- [5] 李晓银. 柿子皮中类胡萝卜素化合物的分离鉴定及稳定性研究[D]. 西安: 西北工业大学, 2006  
Li Xiao-yin. Separation and determination of carotenoids in persimmon peel and study on its stability [D]. Xian: North West Polytechnical university, 2006
- [6] 惠伯棣. 类胡萝卜素化学及生物化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005  
Hui Bo-li. Carotenoid chemistry and biochemistry [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2005
- [7] 冯璐, 芮汉明. 芒果皮中黄色素不同提取方法的比较[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(12): 154-157  
Feng Lu, Rui Hanming. Studies on pigment extraction from mango skin [J]. Food and Fermentation Industry, 2006, 32(12): 154-157
- [8] 姜建国, 王飞, 陈倩. 类胡萝卜素功效与生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008  
Jiang Jian-guo, Wang Fei, Chen Qian. Function and Biotechnology of Carotenoid [M]. Beijing: Chemistry Industry Press, 2008
- [9] 刘钟栋. 食品添加剂原理及应用技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997  
Liu Zhong-dong. Principle and application of food additives [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1997
- [10] Arun B B, James A O, Bicanic D, et al. Estimating rapidly and precisely the concentration of beta carotene in mango homogenates by measuring the amplitude of optothermal signals, chromaticity indices and the intensities of Raman peaks [J]. Food Chemistry, 2008, 121 (3): 832-838
- [11] Ornelas-Paz J J, Yahia E M, Gardea A A.. Changes in external and internal color during postharvest ripening of 'Manila' and 'Ataulfo' mango fruit and relationship with carotenoid content determined by liquid chromatography-APCI<sup>+</sup>-time-of-flight mass spectrometry [J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 50(2-3): 145-152
- [12] W Schweiggert R M, Mezger D, Schimpf F, et al. Influence of chromoplast morphology on carotenoid bioaccessibility of carrot, mango, papaya, and tomato [J]. Food Chemistry, 2012, 135 (4): 2736-2742
- [13] Pott I, Breithaupt Di E, Carle R. Detection of unusual carotenoid esters in fresh mango [J]. Phyto-chemistry, 2003, 64 (4): 825-829