

# 葵花籽油微乳提取玉米黄粉中天然色素的研究

吴红艳<sup>1</sup>, 孙长豹<sup>1</sup>, 于晓丹<sup>1</sup>, 贾秀峰<sup>2</sup>

(1. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

(2. 齐齐哈尔大学教育与传媒学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

**摘要:** 研究食品级的葵花籽油微乳提取玉米黄粉中天然色素的应用。以葵花籽油微乳为提取剂, 在单因素试验基础上, 以固液比、温度和时间为评价指标, 利用三因素三水平的响应面分析法优化出葵花籽油微乳提取玉米黄色素的最佳工艺条件, 建立了回归模型, 并对提取后的葵花籽油微乳进行性能表征。结果表明, 影响色素提取效果的因素主次顺序是固液比>温度>时间; 根据响应面和 SAS 软件优化出的结果, 最佳提取条件取为: 固液比 1:42、温度 71 ℃、时间 1.5 h, 在此条件下的实际提取得率为 0.34 mg/g, 与预测的理论值相近, 表明该模型能够真实的反应筛选条件对色素提取得率的影响。提取后葵花籽油微乳的性状良好, 粒径变化不大, 稳定性较好。

**关键词:** 葵花籽油; 微乳; 玉米黄粉; 提取; 天然色素

文章编号: 1673-9078(2017)10-171-177

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.10.025

## Study on the Extraction of Natural Pigment from Maize Yellow Powder with Sunflower Oil Microemulsions

WU Hong-yan<sup>1</sup>, SUN Chang-bao<sup>1</sup>, YU Xiao-dan<sup>1</sup>, JIA Xiu-feng<sup>2</sup>

(1.College of Food and Biological Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China)

(2.School of Education and Communication, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China)

**Abstract:** The food-grade microemulsions and its application in the extraction of natural edible pigment were investigated in this study. Based on the single factor experiment, solid/liquid ratio, temperature and extraction time were chosen as the factors to optimize technological conditions by design three-level response surface experiment. The optimum process conditions for extracting natural edible pigment from sunflower oil microemulsion were determined, and then the properties of the sunflower oil microemulsion were characterized after extracting. The results showed that the order of factors influencing the extraction rate of pigment was solid/liquid ratio > temperature > time. Using the response surface and SAS software to analyze the data, and the optimal extraction conditions were as follows: the ratio of solid to liquid 1:42, temperature 71 ℃, and time 1.5 h. The actual value of extraction rate of pigment was 0.34 mg/g under the optimal extraction conditions, which had no significant difference with the theoretical value. The sunflower oil microemulsion had good performance after extracting, and its particle size had no significant change and remained good stability.

**Key words:** sunflower oil; microemulsion; maize yellow powder; extraction; natural pigment

玉米黄粉是玉米淀粉工业生产中重要的副产品之一, 玉米黄粉中含有丰富的天然色素, 主要是玉米黄色素。玉米黄色素是由β-胡萝卜素、叶黄素、隐黄素和玉米黄素构成的类胡萝卜素混合物<sup>[1]</sup>。在玉米黄粉中, 玉米黄色素的含量约为 0.2~0.4 mg/g, 即 0.02%~0.04%<sup>[2]</sup>。玉米黄色素不仅是天然着色剂, 而且具有抗氧化、保护视力、抗癌及增强免疫力等保健功

收稿日期: 2017-04-13

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(G201333); 齐齐哈尔市科学技术计划项目(NYGG-201520)

作者简介: 吴红艳(1969-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品化学与食品添加剂的研究

能<sup>[3]</sup>。目前玉米黄粉中天然色素的提取都采用有机溶剂提取法, 但利用有机溶剂提取存在毒性大、污染严重和价格昂贵等问题, 而且提取效果不理想, 因此应该尝试开发新的提取方法。

微乳是由水相、油相和表面活性剂按照一定比例混合而成的外观呈透明或半透明、热力学稳定且各向同性的分散体系<sup>[4]</sup>。它具有均一稳定、可同时增溶油和水特性, 将这些功能成分很好地分散到水相中, 从而可以提高功能成分的水溶性和稳定性<sup>[5]</sup>。食品级微乳是一种绿色溶剂, 不仅具有传统有机溶剂的优势, 而且能弥补有机溶剂提取色素的缺点。利用微乳进行色素的提取, 一方面可以提取原料中脂溶性色素, 同

时也可以提取出原料中水溶性色素,发挥成分间的协同作用,使提取更完全,效率更高<sup>[6]</sup>。微乳的粒径很小(10~100 nm)具有较大的比表面积,将微乳作为分离介质,会有很大的分离能力,可以克服现有的有机溶剂提取法存在的提取效率低、生物利用率低等缺点<sup>[7]</sup>。因此本文尝试利用制备的葵花籽油微乳提取玉米黄粉中的天然色素,为以后开发提取天然色素新方法提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

多力葵花籽油,上海佳格食品有限公司;吐温 80(化学纯),司班 80(化学纯),天津光复精细化工研究所;玉米黄粉,哈尔滨农垦香坊民生饲料厂;玉米黄色素,上海江莱生物公司。

EMS-8B 恒温磁力搅拌器,天津欧诺仪器有限公司;BS124S 型电子天平,赛多利斯仪器有限公司;VORTEXOL-902 振荡器,海门其林贝尔仪器有限公司;Nano-ZS90 型马尔文粒径分析仪,英国马尔文仪器有限公司;H-7650 透射电子显微镜,日本 HITACHI 公司;C-MAG HS4 磁力搅拌器,德国 IKA 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 葵花籽油微乳的制备

将吐温 80 和司班 80 按质量比 10:1 的比例混合均匀作为表面活性剂,再与葵花籽油按 7:1 质量比在 25 °C 恒温磁力搅拌器上混合均匀,混合均匀后在磁力搅拌下缓慢滴加超纯水,体系先会由澄清透明转变成浑浊粘稠,继续滴加超纯水,体系会由浑浊粘稠转变成澄清透明,此时即形成 O/W 型葵花籽油微乳。

#### 1.2.2 玉米黄粉中天然色素含量的测定

##### 1.2.2.1 标准曲线的绘制

准确称取玉米黄色素标准品 10 mg,用制备出的葵花籽油微乳溶解并定容至 100 mL 配制成 0.1 mg/mL 的玉米黄色素标准溶液,从标准溶液中依次吸取 1.25~10 mL 并用葵花籽油微乳定容在 25 mL 的棕色容量瓶内,然后将其放置冰箱中静置 50 min 后,以葵花籽油微乳为对照参比,在 446 nm 测定其吸光度值,得到标准曲线和标准方程为  $y=40.234x+0.0197$ ,相关系数  $R^2=0.9991$ 。

##### 1.2.2.2 天然色素的提取

将玉米黄粉粉碎过筛(80 目)处理。称取 2 g 玉米黄粉,并加入一定量的葵花籽油微乳,置于恒温水浴振荡器内提取一定的时间,之后抽滤定容,再置于冰

箱中静置 50 min 后测定其吸光度值。根据标准曲线方程计算出玉米黄粉中色素的含量  $C$  (mg/mL),利用公式(1)计算出色素的提取得率。

$$E(\%) = \frac{C \times V \times \text{稀释倍数}}{M} \times 1000$$

式中:  $E$ -总色素的提取得率, mg/g;  $C$ -色素的含量, mg/mL;  $V$ -提取液的体积, mL;  $M$ -玉米黄粉的质量, g。

### 1.2.3 透射电镜形态观察

将待测样品稀释 100 倍,滴加约 2  $\mu$ L 在铜网上,自然晾干,用 2% 的磷钨酸进行负染,15 min 后吸取多余液体上电镜观察其形态。

### 1.2.4 粒径的测定

将待测样品稀释 10 倍后放入 Nano-ZS90 型马尔文粒径分析仪中进行自动测量。参数设定:散射角 90°,吸光度值 0.010,粘度(cP)0.8872,分散相为水。仪器自动扫描 15 次后给出粒径和 PDI (Polydispersity index) 值。

### 1.2.5 单因素实验

以色素的提取得率为评价指标,选取固液比、温度和时间三个因素进行单因素试验,以确定各个因素最佳的提取范围。

### 1.2.6 响应面法实验设计

根据单因素试验的结果,以固液比、温度(°C)和时间(h)三个因素为试验因素,色素的提取得率为响应值,采用三因素三水平的响应面设计,响应面试验因素水平表如表 1 所示。

表 1 响应面试验因素及水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平	A 固液比	B 温度/°C	C 时间/h
-1	1:35	65	1
0	1:40	70	1.5
1	1:45	75	2

### 1.2.7 数据统计分析

采用 Design-Expert 8.0 软件对数据进行处理和分析,每个实验重复三次,结果表示为 Mean $\pm$ SD。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素试验结果与分析

#### 2.1.1 固液比对提取得率的影响

将固液比分别为 1:10、1:20、1:30、1:40 和 1:50 的样品置于 70 °C 的恒温水浴振荡器内,振荡 1.5 h,之后抽滤定容,在 446 nm 处测吸光度值,计算提取得率,考察固液比对玉米黄粉中色素提取得率的影响,结果如图 1 所示。

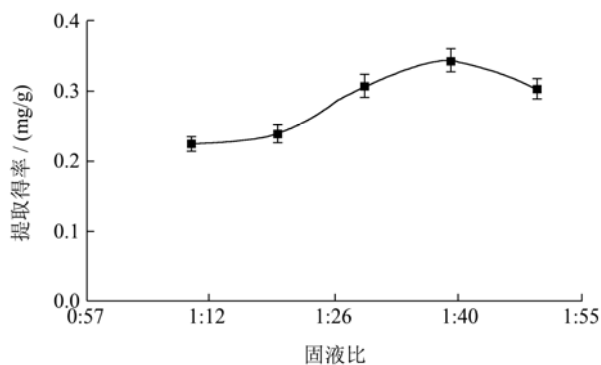


图1 固液比对提取得率的影响

Fig.1 Effect of solid-to-liquid ratio on the extraction rate

由图1可知,固液比为1:40时,玉米黄粉中色素的提取得率最高,达到0.34 mg/g。提取剂的加量越多越有利于原料中的色素溶出,提取剂含量较少时,色素得不到充分溶出,但固液比太大,会使溶剂中的色素浓度降低,增加了后续处理的难度和成本。综合考虑选择1:40为提取玉米黄粉中色素最佳固液比。

### 2.1.2 温度对提取得率的影响

将固液比为1:40的样品,分别置于20℃、30℃、40℃、50℃、60℃、70℃和80℃的恒温水浴振荡器内,振荡1.5h,之后抽滤定容,在446nm处测吸光度值,计算提取得率,结果如图2所示。

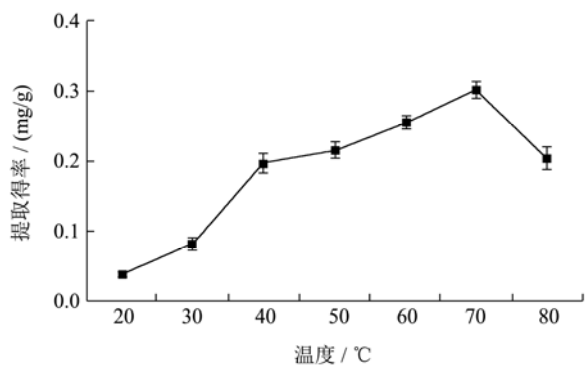


图2 温度对提取得率的影响

Fig.2 Effect of temperature on extraction rate

升高温度可以加快体系中分子的运动速度,使物色素的扩散能力提高,但葵花籽油微乳的稳定性受温度影响较大,当温度过高时,葵花籽油微乳会出现破乳现象,因此对玉米黄粉中色素的提取得率有所影响。由图2可知,温度对色素的提取效果有很大影响,随着温度的升高,色素的提取得率也增大,在70℃时达到最大为0.31 mg/g,80℃时提取得率急剧下降,可能是由于葵花籽油微乳在长时间高温作用下,体系变得不稳定。因此选择70℃为提取玉米黄粉中色素的最佳温度。

### 2.1.3 时间对提取得率的影响

将固液比为1:40的样品,分别置于70℃的恒温

水浴振荡器内,提取时间分别设为0.5h、1h、1.5h、2h和2.5h,之后抽滤定容,在446nm处测吸光度值,计算提取得率,结果如图3所示。

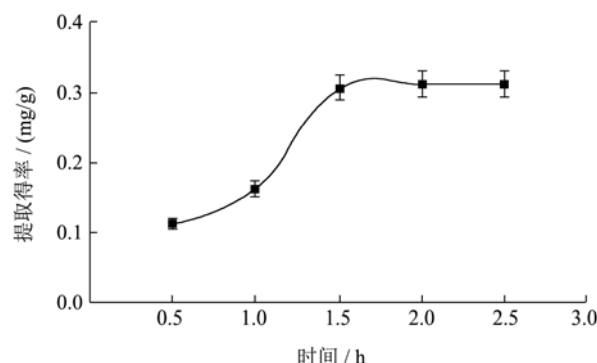


图3 时间对提取得率的影响

Fig.3 Effect of time on extraction rate

由图3可知,随着提取时间的延长色素的提取得率随之增加,当提取时间为1.5h时,提取得率达到0.31 mg/g 提取时间再延长,提取得率增加缓慢,已趋于平稳。色素提取时间在一定范围内,提取时间越长色素提取率越高,到达一定时间后,提取时间的增加对与微乳结构的有破坏作用,从而影响最终提取效果。另外提取时间过长,还会使大量杂质溶出加大后续处理的难度<sup>[8]</sup>。因此选择1.5h为提取玉米黄粉中色素的最佳提取时间。

## 2.2 响应面分析法优化提取条件

### 2.2.1 响应面结果分析

在单因素试验的基础上,选取固液比、温度和时间三个因素,利用Design-Expert软件进行响应面分析试验,优化葵花籽油微乳提取玉米黄粉中色素工艺条件,试验结果如表2所示。

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 Design and results of response surface experiment

试验号	A 固液比	B 温度 /°C	C 时间 /h	提取得率 / (mg/g)
1	-1	0	1	0.20
2	0	-1	-1	0.20
3	1	1	0	0.30
4	0	0	0	0.34
5	0	0	0	0.35
6	1	0	-1	0.29
7	0	0	0	0.34
8	0	-1	1	0.21
9	0	1	1	0.26
10	0	0	0	0.35

转下页

接上页

11	1	0	1	0.29
12	-1	1	0	0.21
13	-1	0	-1	0.19
14	0	1	-1	0.26
15	1	-1	0	0.25
16	0	0	0	0.27
17	-1	-1	0	0.15

利用 Design-Expert 软件对表 2 试验数据进行多元回归拟合, 得到色素提取得率 (Y)、固液比 (A)、温度 (B) 和时间 (C) 的二次多项回归模型为:

$$Y=0.33+0.048A+0.028B+2.500E-003C-2.500E-003AB-2.500E-003AC-2.500E-003BC-0.046A^2-0.056B^2-0.041C^2$$

由表 3 可知, 模型大于 F 值的概率“Pr>F”值为 0.0034, 说明试验所采用的模型对响应值 Y 的影响极显著, 可信度较高。该模型的单因素中, A 对响应值 Y 的影响极显著, B 对响应值 Y 的影响显著, 而 C 对响应值 Y 的影响不显著; 在模型的二次项中, A<sup>2</sup> 和 B<sup>2</sup> 对响应值 Y 的影响极显著, C<sup>2</sup> 对响应值 Y 的影响显著; 在交互作用中, 各个因素的交互作用对响应值 Y 均不显著。模型的失拟项“Pr>F”为 0.9998, 不显著, 说明该模型与实际有很好的拟合性, 线性关系显著,

可以用于葵花籽油微乳提取玉米黄粉中色素工艺试验的分析和预测。

从表 3 可知, 预测决定系数(Pred R-Squared)为 0.8835, 校正决定系数(Adj R-Squared)为 0.8296, 固预测决定系数的拟合度较好。决定系数(R-Squared)为 0.9255, 说明该模型与实际的拟合性很好, 可以用于模型分析。当模型的信噪比大于 4 时, 即可认为该模型可用, 本模型的信噪比为 9.155, 说明该模型可以用于实际分析。

### 2.2.2 各因素的响应曲面图谱

基于回归模型的方差分析, 为了进一步研究相关因素的交互作用和确定最优点, 对回归模型进行曲面分析, 如图 4~6 所示。

等高线的形状是圆形或椭圆, 能够反应出各因素之间交互作用强弱程度, 如果等高线为圆形, 则交互作用不显著; 如果是椭圆, 则交互作用显著<sup>[9]</sup>。由图 4~6 可知, 等高线呈现的形状为圆形, 所以各因素的交互作用不显著, 与上文的结论一致。各因素与响应值 Y 不成线性关系, 而是成抛物线关系。随着值的变化, 响应值 Y 也呈现不同程度的变化, 都会先增加后下降并出现一个最大值。说明葵花籽油微乳提取玉米黄粉中色素时, 只有在一定的条件下, 提取得率才会最高。

表 3 回归模型系数的检验结果

Table 3 Results of the coefficient of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Pr>F 值	显著性
模型	0.057	9	6.345E-003	9.66	0.0034	**
A-液固比	0.018	1	0.018	27.47	0.0012	**
B-温度	6.050E-003	1	6.050E-003	9.21	0.0190	*
C-时间	5.000E-005	1	5.000E-005	0.059	0.7906	
AB	2.500E-005	1	2.500E-005	0.049	0.8509	
AC	2.500E-005	1	2.500E-005	6.540E-003	0.8509	
BC	2.500E-005	1	2.500E-005	3.679E-003	0.8509	
A <sup>2</sup>	9.007E-003	1	9.007E-003	14.79	0.0076	**
B <sup>2</sup>	0.013	1	0.013	20.90	0.0028	**
C <sup>2</sup>	7.164E-003	1	7.164E-003	11.21	0.0131	*
残差	4.600E-003	7	6.571E-004			
失拟项	0.000	3	0.000	2.574E-003	0.9998	
纯误差	4.600E-003	4	1.150E-003			
总和	0.062	16				
决定系数	0.9255					
校正系数	0.8296					
预测系数	0.8835					
信噪比	9.155					

注: \*\*表示极显著(“Pr>F”<0.01), \*表示显著(0.01<“Pr>F”<0.05)。

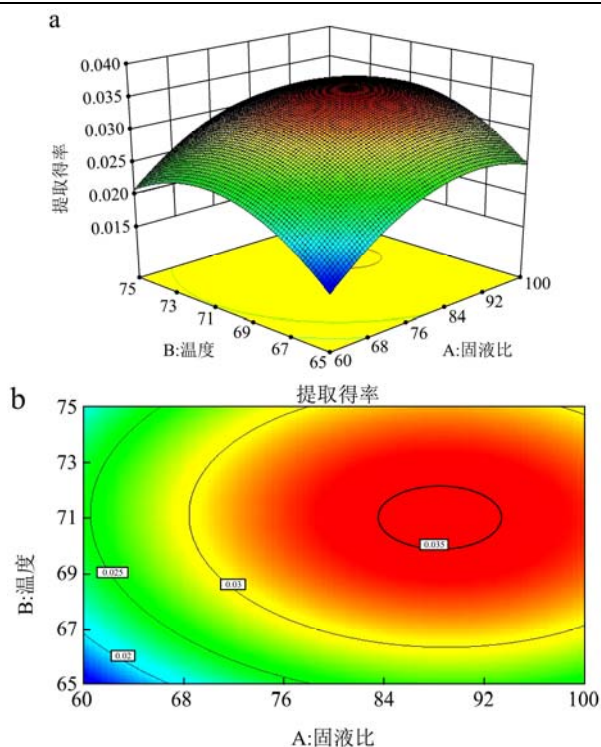


图4 因素A和B交互作用的响应面及等高线图

Fig.4 Response surface chart and contour plots of the effect of A and B on the extraction rate

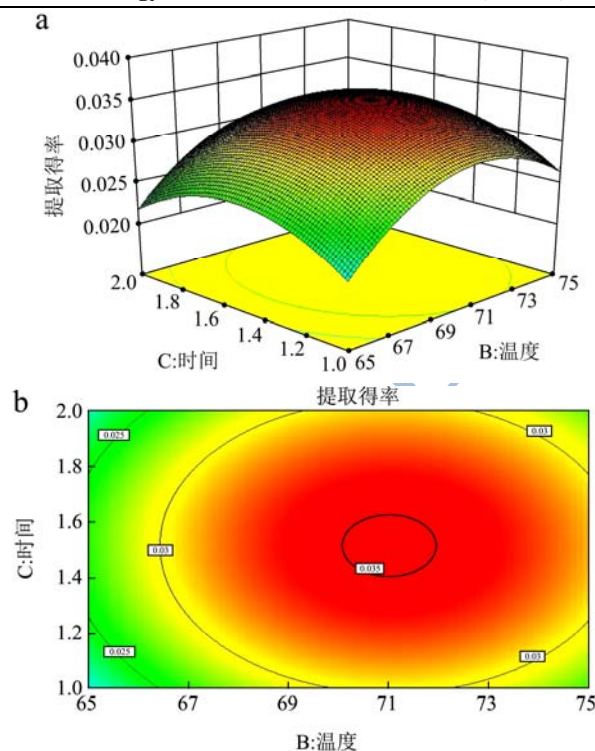


图6 因素B和C交互作用的响应面

Fig.6 Response surface chart and contour plots of the effect of B and C on the extraction rate

### 2.2.3 葵花籽油微乳提取玉米黄粉中色素的工艺优化

根据 Design-Expert 软件优化出的最佳条件为: 固液比 1:42.41、温度 71.11 °C、时间 1.51 h。在此条件下, 色素的提取得率理论值为 0.34 mg/g。为验证响应面试验优化的结果, 通过 SAS 软件对试验数据分析后, 得到的最优条件与响应面分析的结果一致。因此利用葵花籽油微乳提取玉米黄粉中色素的最佳工艺条件可以取为固液比 1:42、温度 71 °C、时间 1.5 h。在优化出的最佳条件下, 进行色素的提取实验。通过验证, 最佳条件下实际提取得率为 0.34 mg/g, 与预测的理论值相近, 表明该模型能够真实的反应筛选条件对色素提取得率的影响。在此条件下, 利用无水乙醇提取玉米黄粉中色素的提取得率为 0.35 mg/g, 利用微乳提取的提取得率接近有机溶剂的提取得率, 因此利用微乳液提取色素是可行的。

### 2.3 葵花籽油微乳提取色素后性能的考察

为考察葵花籽油微乳提取色素后的性能, 分别进行外观形态观察、透射电子显微镜观察及粒径的测定, 结果如图 7、8 和 9 所示。

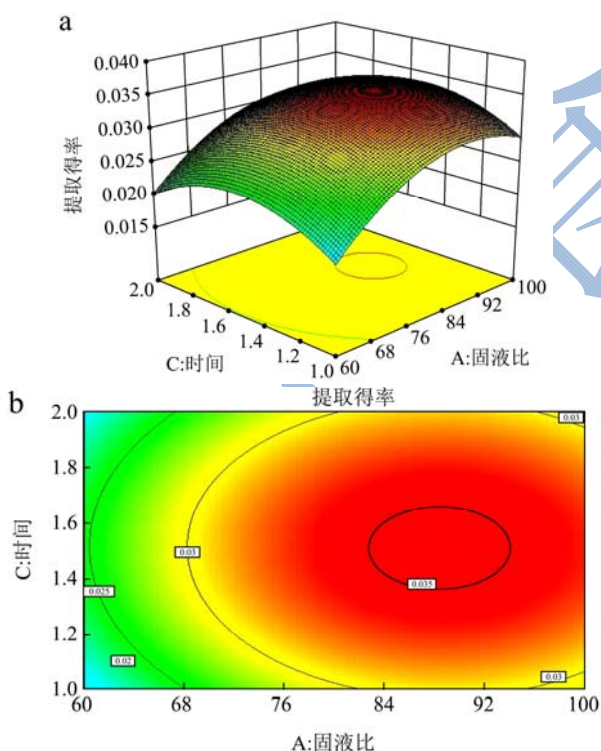


图5 因素A和C交互作用的响应面

Fig.5 Response surface chart and contour plots of the effect of A and C on the extraction rate



图7 提取前后微乳的外观性状

Fig.7 Appearance of microemulsions before and after extracting

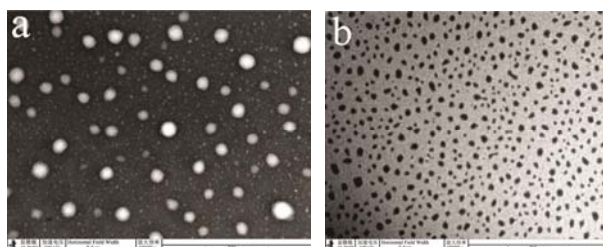


图8 提取前后微乳的电子显微镜图

Fig.8 Electron microscope picture of microemulsions before and after extracting

注: a, 提取前; b, 提取后。

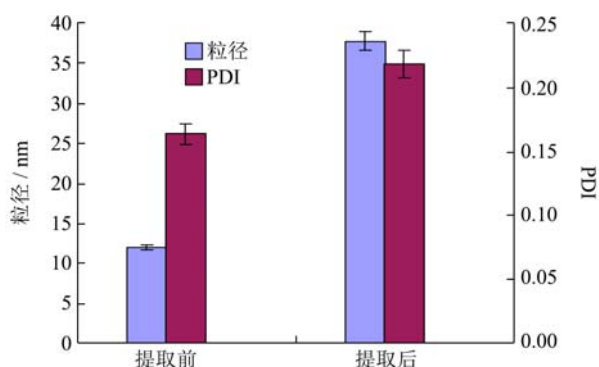


图9 提取前后微乳的粒径

Fig.9 Particle size and PDI of microemulsions before and after extracting

由图7可知, 葵花籽油微乳提取色素后, 外观仍呈金黄色, 颜色加深很多, 没有出现分层破乳现象。由图8可知, 通过透射电子显微镜可以观察提取前的葵花籽油微乳的粒子都比较圆整, 具有较好的形态, 大小均一。提取后微乳粒子的油核由原来的透明变得不透明, 这是由于玉米黄粉中的色素多是脂溶性色素, 所以提取后玉米黄色素溶解在油相中, 导致微乳粒子不透明。微乳粒子的外观形态大致上仍呈球形, 但不够圆整, 粒子分布较均匀, 这也说明微乳液作为载体具有良好的包封率, 这个研究结果也在他文献中报道<sup>[10,11]</sup>。由图9可知, 提取前后, 微乳的粒径及PDI值均增大。粒径由原来的12.05 nm增大到37.76 nm, PDI值由原来的0.16增大到0.22, 虽然都增大, 但PDI值增大相对较小, 说明微乳体系粒径增大, 但粒径分

布均一, 体系较稳定。在提取过程中, 由于振荡的作用, 使粒子之间的碰撞更剧烈, 发生聚集, 同时振荡又起搅拌的作用使聚集较均一, 提取后微乳的性能良好。

### 3 结论

本文通过单因素试验、响应面分析、SAS数据分析对葵花籽油微乳提取色素的工艺条件进行优化; 同时对葵花籽油微乳提取色素后的性能进行考察。通过以上研究得到以下结论:

3.1 由单因素试验可知, 固液比、温度和时间三个因素对提取得率均有影响, 最佳条件为: 固液比1:40、温度70℃、时间1.5 h。

3.2 在单因素试验的基础上, 进行响应面分析, 得到的多元二次项模型, 通过响应面数据分析可知, 固液比和温度两个因素对提取得率的影响极显著, 时间对提取得率的影响不显著; 模型的失拟项“Pr>F”值为0.9998, 不显著, 说明该模型与实际有很好的拟合性, 线性关系显著, 可以用于葵花籽油微乳提取色素工艺试验的分析和预测。优化后的最佳提取条件取为: 固液比1:42、温度71℃、时间1.5 h, 通过验证, 最佳条件下实际提取得率为0.34 mg/g, 与预测的理论值相近, 表明该模型能够真实的反应筛选条件对色素提取得率的影响。

3.3 提取后微乳没有分层破乳现象, 色素被包封在油核内, 微乳粒径变大, 但分布均匀, 稳定性良好。

### 参考文献

- [1] 邱涛涛, 黄明发, 陈颜虹, 等. 玉米黄素提取及应用研究进展[J]. 中国调味品, 2008, 33(11): 18-23  
QIU Tao-tao, HUANG Ming-fa, CHEN Yan-hong, et al. Progress of research on utilization and extracting of zeaxanthin [J]. China Condiment, 2008, 33(11): 18-23
- [2] 朱洪梅. 玉米黄色素提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(7): 15-20  
ZHU Hong-mei. Extraction and antioxidation of yellow pigment from maize [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2010, 25(7): 15-20
- [3] 郎繁繁, 董文宾, 修秀红. 玉米黄色素的提取工艺及应用研究现状[J]. 粮油食品科技, 2014, 22(1): 29-31  
LANG Fan-fan, DONG Wen-bin, XIU Xiu-hong. Research status of extraction technology and application of maize yellow pigment [J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2014, 22(1): 29-31
- [4] Spemath A, Yaghmur A, Aserin A, et al. Food-grade

- microemulsions based on nonionic emulsifiers: media to enhance lycopene solubilization [J]. *J Agric. Food Chem.*, 2002, 50(23): 6917-6922
- [5] Papadimitriou V, Sotiroudis T G. Olive oil microemulsions as a biomimetic medium for enzymatic studies: oxidation of oleuropein [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2005, 82(5): 335-340
- [6] Roohinejad S, Oey I, Everett D W, et al. Evaluating the effectiveness of  $\beta$ -carotene extraction from pulsed electric field-treated carrot pomace using oil-in-water microemulsion [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2014, 7(11): 3336-3348
- [7] Ravanfar R, Tamaddon A M, Niakousari M, et al. Preservation of anthocyanins in solid lipid nanoparticles: Optimization of a microemulsion dilution method using the Plackett-Burman and Box-Behnken designs [J]. *Food Chem.*, 2016, 199: 573-580
- [8] 廖建民,张瑾,沈子龙.超声波法提取海带多糖的研究[J].*药物生物技术*,2002,9(3):157-160
- LIAO Jian-min, ZHANG Jin, SHEN Zi-long. Extraction of laminaran by supersonic method [J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2002, 9(3): 157-160
- [9] 陈燕,王文平,邱树毅,等.响应面法优化超声波强化提取薏苡仁酯[J].*食品科学*,2010,31(8):46-50
- CHEN Yan, WANG Wen-ping, QIU Shu-yi, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of *Coix lacryma-jobi* seed ester using response surface methodology [J]. *Food Science*, 2010, 31(8): 46-50
- [10] Qu D, He J, Liu C, et al. Triterpene-loaded microemulsion using *Coix lacryma-jobi* seed extract as oil phase for enhanced antitumor efficacy: preparation and *in vivo* evaluation [J]. *Int. J. Nanomedicine*, 2014, 9: 109-119
- [11] Yi C, Zhong H, Tong S, et al. Enhanced oral bioavailability of a sterol-loaded microemulsion formulation of *Flammulina velutipes*, a potential antitumor drug [J]. *Int. J. Nanomedicine.*, 2012, 7: 5067-5078