

# 天然色素的萃取与纯化

张蓝月, 刘念, 叶向斌

(仲恺农业工程学院 园艺园林院 广东 广州 510225)

**摘要:**天然色素因安全无毒、色泽自然、营养价值高、药理功效好等优点, 而得到广泛应用和快速发展。文章介绍了天然色素的几种提取、纯化方法及原理, 比较了各种方法的优缺点, 并对天然色素的研究与开发做了一定的展望。

**关键词:**天然色素; 萃取; 纯化

中图分类号: Q 946.91<sup>+</sup>9 文章标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)20-0216-04

大量生物学、营养学和医学研究报告指出, 天然色素具有营养功能和生理保健功能, 而合成色素会对人体健康造成不利影响。随着人们生活水平的不断提高、食品工业的不断发展, 安全绿色的天然色素越来越受到人们的喜爱和追求。色素的生产和获得主要有三条途径: 一是直接提取; 二是人工合成; 三是利用生物技术生产<sup>[1]</sup>。天然色素的稳定性差, 为保持其生理活性, 天然色素的提取一般应使用较为温和的工艺条件。随着科学技术日新月异的发展, 天然色素的提取工艺也在快速更新, 呈现以普通提取方法为辅, 以节能高效环保的高新提取技术为主要趋势的发展方向。

## 1 传统提取方法

### 1.1 溶剂浸提法

普通的溶剂浸提法是依据目标色素与杂质性质的不同(主要是溶解性不同、极性不同), 运用相似相溶原理, 来选择不同的溶剂(常用的浸提剂有水, 酸碱溶液, 乙醇、丙酮等有机溶剂), 达到将色素分离出来的目的。主要有浸渍法、渗漉法、回流、连续回流等提取方式, 其主要工艺为: 筛选物料—浸泡—过滤—浓缩干燥—成品。韩国廷等<sup>[2]</sup>用乙酸乙酯提取番茄中的番茄红素, 最佳工艺料液比为 4 : 1(mL/g), 时间 50 min, 温度 45℃, 次数 3 次, 番茄红素提取率在 85% 以上。姚钰蓉等<sup>[3]</sup>以甲酸为提取剂提取紫甘薯花青素, 提取 3 次花青素得率可达 95.6%。陈庭春等<sup>[4]</sup>用质量分数为 1% NaOH 溶液提取天然白棉棉籽壳色素, 并讨论了光照、温度、水质、pH 对色素稳定性的影响; 研究发现该色素在 210 nm

处有强吸收峰, 色素对氧化剂、光照、100℃以下的温度具有稳定性。该提取方法也常和其它方法结合使用, 以提高产物得率和质量, 如孙培冬等<sup>[5]</sup>用高压对番茄进行预处理, 然后以乙酸乙酯为溶剂提取番茄红素, 结果提取率是未经高压处理的 4.8 倍。

### 1.2 直接粉碎法

该方法不常用到, 主要是将物料干燥、粉碎即可得到产物, 其工艺流程为: 原料—筛选—水洗—干燥—粉碎—色素制品<sup>[6]</sup>。该工艺可用于制取可可豆色素、番茄红素等, 但由此获得的产物比较粗放。

### 1.3 酶提取法

植物色素主要存在于细胞内, 被细胞壁包裹着, 而植物细胞壁的主要成分是纤维素、半纤维素和果胶质。细胞壁通透性差, 阻止了色素的溶出, 降低了提取率。利用酶主要是纤维素酶和果胶酶将细胞壁水解, 使细胞壁膨胀、破裂、疏松, 从而有利于色素向胞外扩散、溶剂向胞内扩散渗透, 以此增加色素的溶解, 提高色素提取率。如李梦青等<sup>[7]</sup>用纤维素酶作用于葡萄穗轴粗粉, 使得其中的原花色素的提取率提高了近 4 倍。陈合等<sup>[8]</sup>通过单因素和正交实验分析了温度、作用时间、pH、半纤维素酶用量等因素对黄姜色素提取效果的影响, 得到最佳提取工艺: 酶用量 7.0 mg/g, pH 4.3, 时间 4.0 h, 温度 45℃, 与普通溶剂提取法相比色素提取率有了较大提高。赵玉红等<sup>[9]</sup>用纤维素酶和果胶酶同时水解蓝靛果果渣提取花色苷, 通过单因素和正交实验确定其最佳工艺参数, 结果表明, 采用双酶复合水解较单酶水解能显著提高花色苷提取率。为提高色素提取率, 也可将酶法与其它技术联合使用, 如将纤维素酶—超声波联用提取榛子壳色素, 结果表明, 二者结合使用能较好地提高色素提取率(吸光度约增加 20%), 且能减少酶的用量, 节约成本<sup>[10]</sup>。

第一作者简介: 张蓝月(1986-), 女, 四川泸州人, 在读硕士, 研究方向为园林规划设计。E-mail: lanlandeyueliang@163.com。

通讯作者: 刘念(1957-), 男, 硕士, 教授, 现主要从事植物分类和植物区系及植物资源和观赏园艺学等学科与科研和教学工作。

收稿日期: 2010-07-16

## 2 新型提取技术

### 2.1 超临界流体萃取法

超临界流体就是指某种气体、液体或气液混合体,但该流体在一定温度和压力下,会出现气液界面消失的现象,处于一种不同于液态、气态和固态的超临界状态,兼有液体和气体的某些特殊物理化学性质(密度和溶解能力接近液体,黏度和扩散性能接近气体)<sup>[1]</sup>。常见的超临界流体有二氧化碳、一氧化氮、乙烷、乙烯、丙烷、甲醇、乙醇、苯、甲苯、氨、水等;最常用的是二氧化碳(临界条件接近室温、无毒无味、化学稳定、价廉易得)。超临界流体萃取技术是一项新兴的萃取分离技术,就是以超临界流体作为萃取剂,进行萃取分离目标物质。如郑鸿雁等<sup>[2]</sup>研究了超临界 CO<sub>2</sub> 萃取玉米黄色素的工艺条件,在 23 MPa、40℃、以 30% 无水乙醇作为萃取剂。萃取时间 3 h 的条件下,提取率比溶剂提取法高 2.2%。用超临界 CO<sub>2</sub> 流体,在 40 MPa 和 60℃ 下,干微藻叶绿素提取率可达 0.2238%<sup>[3]</sup>。用超临界 CO<sub>2</sub> 流体从虾壳中提取虾青素,色素浓度可达 8.331%<sup>[4]</sup>。随着科技的不断发展,超临界流体萃取已发展到与其它高新技术联用,如分子蒸馏、色谱、核磁共振、吸附分离、超滤等技术联用,以实现优势互补、拓宽应用范围。

### 2.2 超声波辅助提取法

超声波提取法的原理是利用超声波产生的强烈的空化效应、界面效应、聚能效应和高加速度等特殊作用,以及由此产生的振荡、击碎、扩散、崩溃等多级效应来破坏细胞,从而加速提取剂向细胞内扩散渗透,同时也加速被提取物质溶解于提取剂中,提高色素提取率和纯度<sup>[5]</sup>。该过程的主要影响因素有:溶剂种类及浓度、料液比、超声波功率及频率、处理时间及温度。王和才<sup>[6]</sup>利用超声波提取紫红薯色素结果表明,在超声波作用下提取紫红薯色素的效果好于同等条件下常规方法的提取,提取效率约为常规提取的 1.3 倍,最佳工艺为: pH 1.0 的蒸馏水为提取剂、超声波 250 W、料液比为 3 : 300、70℃ 下提取 35 min。刘平怀等<sup>[7]</sup>利用循环超声波技术提取废弃菠萝皮中的色素,结果得到了高色价的色素(为菠萝肉色素色价的 4 倍)和最佳提取工艺,提取率有较大增加,也为菠萝皮的深加工提供了参考。

### 2.3 微波辅助提取法

微波提取法是将能选择性加热的微波与溶剂萃取技术结合起来而形成的新型分离提取技术,有着巨大的应用空间。它是利用微波场中吸收微波能力的差异,使萃取体系中的某些区域或组分被选择性加热,从而使目标组分从原料中溶出,进入到介电常数较小,微波吸收能力相对较弱的萃取剂中,以达到快速短时萃取的目的<sup>[8-19]</sup>。陈合等<sup>[20]</sup>利用微波技术辅助提取黄姜色素,通

过正交实验得到最佳工艺: 60% 的乙醇为浸提剂、微波功率 450 W、提取时间为 180 s、料液比为 1 : 35; 与传统溶剂浸提法相比,色素产率增加 80.3%。贾艳菊等<sup>[21]</sup>研究了微波功率、辐照时间对鱼鳞色素提取效果的影响,通过方差分析得出二者的影响较显著,最佳功率和辐照时间分别为 640 W、150 s; 但与振荡浸提法相比,鱼鳞色素的提取效果较差,可能因为鱼鳞组织结构的影响所致。

### 2.4 树脂吸附法

吸附树脂是一类多孔性、高交联度的高分子吸附剂,其比表面积(主要是孔内的表面积)较大。根据表面化学的原理,表面具有吸附能力,因此它可从气相或液相中吸附某些物质。吸附树脂主要由范德华作用力、偶极-偶极相互作用及氢键作用而吸附物质的,随表面性质、表面力场的不同,吸附具有一定的选择性。该方法主要是根据混合物中各组分性质的不同(主要是极性),选用相应的吸附树脂、洗脱剂,通过吸附解吸来有选择性分离纯化物质。吸附树脂根据其极性大小,可分为非极性吸附树脂、中极性吸附树脂、极性吸附树脂和强极性吸附树脂四大类;非极性树脂常用于从极性物质中吸附非极性物质,极性树脂适用于从非极性物质中吸附极性物质。陈志强等<sup>[22]</sup>研究了 7 种不同大孔树脂对虾青素的吸附,筛选得出 AB-8 大孔树脂吸附性较好,对虾青素的吸附量约为 24.17 mg/g,解吸率为 95.2%,最大上样量(1 g 干树脂)以虾青素计为 23.0 mg,并确定用 8 倍量柱床体积的乙酸乙酯为洗脱剂,纯化所得虾青素的纯度为 14.73%。丁杰<sup>[23]</sup>利用正交实验、吸附量及解吸率指标分析了 AB-8 型大孔树脂吸附分离桑葚红色素过程中的主要影响因子,结果表明以体积分数 80% 的乙醇(pH 2.0)为洗脱剂、用量为 2 BV、洗脱速率 1 BV/h 的洗脱效果最佳,并研究得出色素在酸性条件、60℃ 温度下稳定性较好,碱性条件及光照下易分解。

### 2.5 膜分离法

膜分离技术是 20 世纪 70 年代发展起来的一种不涉及相变、新型节能的技术。它是利用天然或人工合成的高分子膜对混合物中各组分的选择渗透性能的差异,借助化学位差或外界能量的推动,来实现物质分离、纯化和浓缩。其推动力有浓度差、压力差和电位差等,涉及的机理有机械过滤作用、溶解-扩散作用、物质交换作用<sup>[24]</sup>。它主要是依据各组分之间分子量大小、颗粒大小及形状的不同而进行分离。根据被分离物质分子大小的不同,膜分离可分为微滤、透析、超滤、纳滤、反渗透、电渗析、液膜分离等。李媛媛等<sup>[25]</sup>用陶瓷膜微滤提取纯化栀子黄色素,研究了不同膜孔径、操作压力对色素品质的影响,结果表明孔径 200 nm、操作压力 0.125 MPa

时微滤所得的栀子黄色素的品质较高,再用聚酰胺膜对栀子黄提取液进行纳滤,可将滤液浓缩到3倍以上,膜面流速、膜过滤通量对色素分离效果影响较大。郭宏等<sup>[26]</sup>分别用超滤、反渗透技术来提纯、浓缩玫瑰茄和紫背天葵色素,并研究了浸提温度、时间、次数、物料比、原料品质对色素提取率的影响,结果得出用超滤、反渗透技术能降低提纯、浓缩过程中色素的损耗。

2.6 凝胶层析分离法

凝胶层析所用的凝胶珠呈多孔、高交联的网状结构,而凝胶珠的交联度或网孔大小又决定了能被该凝胶分离的混合物的相对分子质量范围,其原理是分子筛效应,即利用分子大小的差别来分离纯化物质。常用的凝胶有:葡聚糖凝胶(Sephadex)、聚丙烯酰胺凝胶(Bio-gel P)、琼脂糖凝胶(Sephadex 或 Bio-gel A)。由于混合物中各种物质的分子质量、大小、形状的不同,当混合物流经层析柱洗脱时,大分子物质由于直径大于凝胶网孔不能进入凝胶珠内部,被排阻在凝胶颗粒间的间隙随洗脱剂向下移动,因此流程短,流速快,先流出层析柱;而小分子物质直径小于凝胶网孔,能自由出入凝胶网孔内外流动,因此流程长,移动速度慢,最后流出层析柱,这样由于不同大小的分子所经过路径不同而得到分离,大分子物质先洗脱出来,小分子物质后洗脱出来。吕晓玲等<sup>[27]</sup>通过单因素实验分析了凝胶层析精制栀子黄色素工艺中的影响因子,研究显示在最佳工艺条件:葡聚糖凝胶为支持剂,单柱高30 cm、柱径2 cm、加样量1.8 mL、

蒸馏水为洗脱剂、双柱串联洗脱、流速4 mL/min下,色素得率可达48.9%。

2.7 分子蒸馏分离法

分子蒸馏分离技术是20世纪30年代发展起来的一种特殊、高新的液-液分离技术,是一种非平衡蒸馏,又称短程蒸馏。它是在一定的温度(远小于常压沸点)和压力(0.133~1 MPa)下,待分离组分受热蒸发溢出液面后,因不同物质分子的分子运动平均自由程的不同,而进行分离纯化物质。分子运动自由程是指一个分子在相邻二次分子碰撞之间所运动路程,某一特定分子在某时间段内的分子运动自由程的平均值就称为分子运动平均自由程。待分离体系受热获得足够能量后分子溢出液面,轻分子的平均自由程大,重分子的平均自由程小,在液面上设置一冷凝板(置于轻分子与重分子的运动平均自由程之间),从而轻分子能到达冷凝板而冷凝移出,重分子不能到达冷凝板而回到气液体系中<sup>[28-29]</sup>。钟耕<sup>[30]</sup>等采用分子蒸馏技术,以脱蜡的甜橙油为原料,提取出了色价高且不含有有机溶剂的类胡萝卜素。Batistella<sup>[31]</sup>等用分子蒸馏技术从棕榈油中分离出了类胡萝卜素和 Biodiesel,类胡萝卜素产量高达3 000 mg/kg。运用分子蒸馏技术对溶剂提取法获得的辣椒红色素粗制品进行精制处理的同时,还兼有脱辣、脱臭、脱溶剂等效果,这不仅提高了产品质量,还大大降低了生产成本<sup>[32]</sup>。

表1 天然色素的主要提取方法比较

提取方法	优点	缺点	主要应用
溶剂浸提法	设备投资少、工艺简单、操作方便、应用广泛	时间长、提取剂用量大、产品质量差、提取率低	水溶性、醇溶性色素的提取
粉碎法	工艺简单、使用方便	产品质量较差、得率低	水溶性色素的提取
酶提取法	工艺简单、能耗低、提取剂用量小、提取率高	游离酶的回收重复利用率低、成本高	胞内物质的分离提取
超临界流体萃取法	萃取温度较低、速度快、产物得率高、萃取选择性好、无污染环保	需要高压,设备投资及成本高,萃取范围有限,偏重于萃取非极性物质	生物活性物质、热敏性物质、脂溶性色素的分离提取
超声波辅助提取法	工艺简单、溶剂用量少、产品质量好、快速高效	设备投资较高、应用范围有限	提取蛋白质、色素、多糖、油脂等方面
微波辅助提取法	工艺简单、节能高效、选择性强、重复性好、产品质量优良	设备投资大、应用范围相对有限处于试验阶段	蛋白质、色素等不耐热的生物物质的提取
树脂吸附法	能耗低、成本低、操作简便、产品纯度高、色价高	处理时间长、树脂性能差、易受污染	有机物质、药物的分离纯化
膜分离法	操作简单、节能高效、投资低、无二次污染、用途广泛	不耐热、易腐蚀、易受微生物污染、机械性能差	热敏性组分、生物物质组分、同分异构的纯化分离
凝胶层析分离法	设备简单、产物质量好、产品收率高、能保护被分离物质的活性	操作较难、凝胶珠易受污染、分离过程影响因素多	生物活性物质的分离如蛋白质、核酸、活性肽、色素等
分子蒸馏法	能耗低、时间短、产品质量好、产物得率高	机理复杂、设备昂贵、运行成本高	高沸点、热敏性、易氧化物质的分离纯化

3 展望

随着“回归大自然、追求绿色安全”呼声的不断高涨,天然色素的开发利用也得到了快速发展(以每年

4%~10%以上的速度增长)。但天然色素的研究开发还面临着许多问题:天然色素提取率低,成本较高;色素稳定性差,对光、热等外界条件敏感;种类多、研究开发

分散, 缺少统一的管理及毒理学评价等。天然色素今后的研究发展方向是: 利用细胞工程、基因工程、发酵工程、酶工程、微生物工程等生物技术来解决原料供应问题; 运用微胶囊技术、色素分子结构修饰技术、生产复配技术来提高天然色素的稳定性、增强天然的着色力; 采用超临界流体萃取、凝胶层析、亲和层析、分子蒸馏、反胶团萃取、双水相萃取、液膜分离等高新技术来以及各种高新技术的联合, 来提高天然色素的产量、改善产物品质、降低生产成本。以开发新功能性色素、寻求新的原料来源、改善色素稳定性、提高色素提取率为研究目标下, 天然色素的开发应用会具有更加广阔的前景。

### 参考文献

- [1] 邓祥元, 王淑军, 李富超, 等. 天然色素的资源和应用[J]. 中国调味品, 2006(10): 49-53.
- [2] 韩国廷. 番茄红素萃取工艺条件研究[J]. 安徽农业科技, 2008, 36(30): 1298-1299.
- [3] 姚钰蓉, 木泰华, 张伟. 紫甘薯花青素的提取纯化及其稳定性研究[J]. 食品科技, 2009, 34(6): 195-199.
- [4] 陈庭春, 赵政, 朱泉, 等. 天然白棉籽壳色素提取及性能研究[J]. 染料与染色, 2010, 47(1): 31-35.
- [5] 孙培冬, 刘云秋, 孙燕鼎. 高压法提取天然色素[J]. 中国食品添加剂, 2005(5): 111-112.
- [6] 陈铭, 李燕. 天然植物食用色素的开发利用[J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(4): 23-26.
- [7] 李梦青, 张洁, 聂媛, 等. 酶法提取葡萄糖轴中原花色素、白藜芦醇的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(20): 291-295.
- [8] 陈合, 李世玉, 舒国伟, 等. 半纤维素辅助提取黄姜色素的研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(2): 106-108.
- [9] 赵玉红, 苗雨, 张立钢. 双酶法提取蓝靛果果渣中花色苷酶解条件的研究[J]. 中国食品学报, 2008, 8(4): 75-79.
- [10] 赵玉红, 王静, 金秀明. 超声波辅助酶法提取榛子壳色素工艺条件的研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(4): 110-114.
- [11] Hawthorne S B, Miller D J. Direct comparison of soxhlet and low-and high-temperature supercritical CO<sub>2</sub> extraction efficiencies of organics from environmental solids[J]. Anal Chem, 1994, 66(22): 4005-4012.
- [12] 郑鸿雁, 昌友权. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取玉米黄色素的研究[J]. 食品与机械, 2004, 20(6): 25-27.
- [13] M-Sanchez M D. Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophylla from *Nannochloropsis gaditana* [J]. Journal of Food Engineering, 2005(66): 245-251.
- [14] Tsuneo, Yoko Koichi, et al. Extraction of dye from krill [P]. JP: 04057853 A2, 1992-02-05.
- [15] Sinisterra J V. Application of ultrasound to biotechnology: an overview [J]. Ultrasonics, 1992, 30(3): 180-185.
- [16] 王和才, 蔡健, 胡秋辉, 等. 超声波辅助提取紫红薯色素的工艺研究[J]. 江苏农业科学, 2009(2): 236-238.
- [17] 刘平怀, 刘洋洋, 时杰, 等. 废弃菠萝皮中色素的循环超声波提取及其抗过敏活性[J]. 精细化工, 2010, 27(2): 165-169.
- [18] Cheez K, Kwong M K, Lee H K. Microwave-assisted solvent elution technique for the extraction of organic pollutants in water [J]. Anal Chem, 1996, 33(2): 217.
- [19] Camel V. Recent extraction techniques for solids matrices: supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: Their potential and pitfalls [J]. Analyst, 2001, 126: 1097-1104.
- [20] 陈合, 李世玉, 舒国伟, 等. 微波辅助提取黄姜色素的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(3): 285-287.
- [21] 贾艳菊, 张灿. 微波法提取鱼鳞色素研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(8): 3900-3901.
- [22] 陈志强, 金杨, 任璐. 非水相介质大孔树脂分离纯化虾青素[J]. 生物加工过程, 2009, 7(3): 39-42.
- [23] 丁杰. AB-8 型大孔树脂对桑葚红色素的分离纯化研究[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(15): 216-218.
- [24] 徐又一. 高分子膜材料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [25] 李媛媛, 高彦祥. 膜分离技术纯化栀子黄色素的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 113-117.
- [26] 郭宏. 应用膜分离技术提纯、浓缩食用天然色素的研究[C]. 北京食品学会青年科技论文集, 1992: 45-65.
- [27] 吕晓玲, 姚中铭, 姜平平. 凝胶层析法精制栀子黄色素的研究[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(4): 39-42.
- [28] Fischer W, Bethge D. Short path distillation [J]. Distillation Absorption, 1992, 128: 403-414.
- [29] Batistella C B, Wolf Maciel M R. Recovery of carotenoids from palm oil by molecular distillation [J]. Computer Chem. Engng, 1998(22): 53-60.
- [30] 钟耕, 吴永娟, 曾儿坤. 天然类胡萝卜素的提取新工艺[J]. 四川日化, 1995(3): 6-9.
- [31] Batistella C B, Morase E B, Maciel F R, et al. Molecular distillation process for recovering and carotenoids from palm oil [J]. Applied Biochemistry Biotechnology, 2002(98): 1149-1159.
- [32] 陕方, 田志芳, 边俊生, 等. 分子蒸馏技术在辣椒红色素精制工艺中的应用[J]. 中国食品学报, 2003(增刊): 144-147.

## Research on Extracting and Purifying Methods of Natural Pigments

ZHANG Lan-yue, LIU Nian, YE Xiang-bin

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, Guangdong 510225)

**Abstract:** Because of innocuity, natural luster, high nutritional value, good pharmacologic efficiency and so on, natural pigment has been extensively used and gotten rapid development, because of its advantages of innocuity, natural luster, nutritional value, pharmacologic efficacy and so on. The extracting and purifying methods and its principle on natural pigments were introduced. The advantages and disadvantages of all the ways were compared. The prospect of the research and development of natural pigments was forecasted.

**Key words:** natural pigment; extraction; purification