

双频超声协同强化提取黑米黑色素的试验研究

贲永光¹, 孔繁晟¹, 钟红茂², 李泳忻¹

(1. 广东药学院 药科学院, 广州 510006; 2. 中国科学院南海海洋研究所, 广州 510301)

摘要: 为进一步提高超声辅助提取黑米黑色素的效果, 研究探讨了双频超声协同强化提取的方法。通过对 pH 值、提取时间、提取温度、液料比、乙醇浓度进行单因素试验, 考察各因素对黑色素提取效果的影响, 利用正交试验, 优化其工艺条件。试验结果表明: 各因素对黑米黑色素提取的影响大小依次为: pH>乙醇浓度>液料比>温度>时间。优化后的提取工艺条件为: pH 值为 2、超声时间为 30 min、提取温度为 50℃、液料比为 30 mL/g、乙醇浓度为 70%。在此条件下, 得出平均提取率为 6.85%。对比浸渍法、加热回流提取法, 超声法提取黑米黑色素具有工艺简单、节省提取时间、溶剂用量少、提取效率高、减少黑色素损失的优点。

关键词: 提取, 优化, 工艺, 双频超声, 黑米, 黑色素, 正交试验,

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2012.z1.057

中图分类号: X705

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2012)-Supp.1-0339-06

贲永光, 孔繁晟, 钟红茂, 等. 双频超声协同强化提取黑米黑色素的试验研究[J]. 农业工程学报, 2012, 28(增刊 1): 339-344.

Bi Yongguang, Kong Fansheng, Zhong Hongmao, et al. Experiment on dual-frequency ultrasound extraction of black rice melanin[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(Supp.1): 339-344. (in Chinese with English abstract)

0 引言

黑米又称乌米、紫米, 是中国重要的稻种资源, 在民间有“药米”、“长寿米”、“补血米”、“黑珍珠”之美称。从世界范围看, 中国是黑米资源最丰富的国家, 主要分布云南、贵州、广东、广西、陕西、福建、湖南、江苏等省^[1-2]。广义的黑色素分为 2 大类, 一大类是酪氨酸、多酚及其相关化合物代谢最终产物黑色素(melanin); 另外一大类属于花色苷类而显黑色的色素, 主要分布在植物中^[3-4], 黑米黑色素属于花色苷类黑色素。天然黑色素是黑米等黑色食品的主要活性成分, 具有清除自由基、延缓衰老、增强免疫力、促进造血功能、调节血脂、保护心血管等功能特性^[5-9]。在黑色保健食品、天然食用色素、化妆品、药品方面均有广泛的开发前景, 因此研究黑色素的提取工艺条件, 对黑色素的开发有现实的指导意义。

传统的黑米黑色素浸提方法有煎煮法、浸渍法、渗漉法、回流提取法、水蒸气蒸馏法等。但常规的浸渍、渗漉、索氏热回流提取等方法, 使用溶剂量大, 操作时间长, 能源消耗高, 有效成分损失严重^[10]。超声提取技术相对传统方法, 可简化样品提取的前处理过程, 提高提取效率, 节约溶剂, 避免高温对提取成分的影响, 缩

短处理时间, 提高分析速度。超声波是指频率在声频以上, 即超过人耳所能接受的频率 20 kHz 的弹性波。超声波是一种在弹性介质中的纵波, 可在固、液、气中产生, 具有频率高、方向性好、穿透力强、能量集中等特性^[11-12]。其已广泛应用到医药、化学、油脂、食品等各个领域, 特别植物有效成分提取方面显示出其强大的生命力^[13-17]。张吉祥等^[18]人用单频超声法提取了黑米黑色素, 为进一步强化其提取效果, 本文研究了双频超声协同强化提取黑米黑色素, 因其可以减小超声波在溶液传递时的衰减, 从而提高其空化效应, 强化其提取效果, 并优化其工艺条件。旨在探讨得出最大限度提取黑米黑色素的最佳工艺参数, 为黑色素资源的开发利用、工业化生产提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

市售黑米(产地: 黑龙江佳木斯市)。经粉碎过 40 目筛, 得到黑米粉末。

1.2 仪器与设备

H-6 恒温水浴锅(江苏金坛市宏华仪器厂); RE-52CS 旋转蒸发器(巩义市英峪予华仪器厂); 予华牌循环水真空泵(河南省巩义市英峪予华仪器厂); UV1101 紫外/可见分光光度仪(上海天美科学仪器有限公司); AY120 电子分析天平(日本岛津公司); 数码双频超声波处理机(昆山市超声仪器有限公司, 槽式底部和侧面同时发射出超声波, 本文简称双频超声); 摇摆式高速中药粉碎机(大德中药机械有限公司)。

收稿日期: 2011-12-13 修订日期: 2012-03-22

基金项目: 广东省科技计划项目(2009A030100007); 企业科技特派员工作站建设项目(2010B090500033); 中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室、广东省海洋药物重点实验室、广东省应用海洋生物学重点实验室联合开放基金项目 LMB(LMB081003)

作者简介: 贲永光(1976-), 男, 广西宜州人, 博士, 主要从事天然产物超声化学技术的研究, Email: biyongguang2002@163.com

1.3 提取方法

精密称取黑米 2.0 g 置平底试管中, 以酸性乙醇作提取剂, 在一定的液料比、温度下超声提取一定时间, 超声功率为 320 W。提取完毕后, 抽滤, 用 2 mol/L 的盐酸将提取液调至中性, 减压浓缩至干, 然后用 pH 值为 2、浓度为 50% 的酸性乙醇溶解浓缩物, 稀释、定容至 100 mL, 摇匀静置待测。

1.4 分析方法

1.4.1 最大吸收波长的确定

准确称取黑米 2.0 g 置平底试管中, 以 pH 值为 2、浓度为 70% 的酸性乙醇作提取剂, 液料比 20 mL/g, 在 40℃ 下超声提取 20 min, 超声功率为 320 W。提取完毕后, 抽滤, 用 2 mol/L 的盐酸将提取液调至中性, 减压浓缩至干, 然后用 pH 值为 2、浓度为 50% 的酸性乙醇溶解浓缩物, 稀释、定容至 100 mL, 摇匀。精密吸取 1 mL 稀释液, 定容至 10 mL 并摇匀, 作供试品。以 pH 值为 2、浓度为 50% 的酸性乙醇作空白溶液, 在 350~800 nm 波长范围内扫描该溶液的吸收波长, 观察最大吸收波长。结果在波长 531 nm 处的吸收值最大。

1.4.2 黑米黑色素含量的测定

分光光度法: 根据朗伯比耳定律, 即 $A=εbc$, 其中, 在一定温度和介质条件下 $ε$ 为定值, $b=1$ cm。因此, 在一定测试范围内, A 与色素溶液浓度 c 成正比。因此, 本试验以吸光度 A 作为评价黑色素提取效果的指标。精密量取按 1.3 中方法所得提取液 1 mL 置 10 mL 容量瓶, 用 pH 值为 2、浓度 50% 酸性乙醇定容, 摇匀。取待测液以 pH 值为 2、浓度为 50% 的酸性乙醇作空白溶液, 在 531 nm 处测定吸光度。

1.5 超声波提取条件的确定

1.5.1 乙醇浓度对黑米黑色素提取效果的影响

准确称取黑米 2.0 g, 分别加入乙醇浓度为 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 的酸性乙醇 (pH 值为 2) 溶液, 液料比为 20 mL/g, 在 40℃ 超声提取 20 min, 超声功率为 320 W, 以此考察不同浓度乙醇对黑色素提取效果的影响。

1.5.2 pH 值对黑米黑色素提取效果的影响

准确称取黑米 2.0 g, 加入浓度为 70% 的乙醇作提取剂, 液料比为 20 mL/g, 在提取剂 pH 值分别是 1、2、3、4、5 的条件下, 40℃ 超声提取 20 min, 超声功率为 320 W, 以此考察不同 pH 值对黑色素提取效果的影响。

1.5.3 液料比对黑米黑色素提取效果的影响

准确称取黑米 2.0 g, 以 pH 值为 2、浓度为 70% 的酸性乙醇作为提取剂, 分别在液料比为 5、10、20、30、40 mL/g, 温度为 40℃, 超声功率 320 W 下提取 20 min, 考察不同液料比对黑色素提取效果的影响。

1.5.4 提取温度对黑米黑色素提取效果的影响

准确称取黑米 2.0 g, 以 pH 值为 2、浓度为 70% 的酸性乙醇为提取剂, 液料比 20 mL/g, 超声功率 320 W, 分别在 25、35、45、55℃ 超声提取 20 min, 考察不同提取温度对黑色素提取效果的影响。

1.5.5 提取时间对黑米黑色素提取效果的影响

准确称取黑米 2.0 g, 加入 pH 值为 2、浓度为 70% 的酸性乙醇作提取剂, 液料比 20 mL/g, 分别在 40℃ 超声提取 10、20、30、40、50、60 min, 考察不同提取时间对黑色素提取效果的影响。

1.5.6 正交试验设计

准确称取黑米 2.0 g, 按照方法 1.3 在不同条件下对其进行超声波辅助提取试验。分别对乙醇浓度、pH 值、液料比、提取温度和提取时间 5 个因素进行了 4 水平的单因素试验, 根据单因素试验结果, 选用正交表 $L_{16}(4^5)$ 研究超声波提取的最佳条件 (表 1)。

表 1 正交表头设计
Table 1 Factors and levels of experiment

水平	因素				
	A pH 值	B 时间/min	C 温度/℃	D 液料比 (mL·g ⁻¹)	E 乙醇浓度/%
1	2	10	30	10	30
2	3	20	40	20	50
3	4	30	50	30	70
4	5	40	60	40	90

1.6 常规方法提取黑米黑色素

1.6.1 浸渍法

准确称取黑米 2.0 g, 加入 pH 值为 2、浓度为 70% 的酸性乙醇 80 mL (液料比 40 mL/g), 室温下 (32℃) 浸渍 3 h 后, 抽滤, 用 2 mol/L 的盐酸将提取液调至中性, 减压浓缩至干, 然后用 pH 值为 2、浓度为 50% 的酸性乙醇溶解浓缩物, 稀释、定容至 100 mL, 摇匀。按 1.4.2 方法测定吸光度, 并计算提取率。

1.6.2 加热回流法

准确称取黑米 2.0 g, 加入 pH 值为 2、浓度为 70% 的酸性乙醇 120 mL (液料比 60 mL/g), 置索氏回流提取器中加热沸腾回流 3 h 后, 抽滤, 用 2 mol/L 的盐酸将提取液调至中性, 减压浓缩至干, 然后用 pH 值为 2、浓度为 50% 的酸性乙醇溶解浓缩物, 稀释、定容至 100 mL, 摇匀。按 1.4.2 方法测定吸光度, 并计算提取率。

1.7 黑米黑色素的精制及提取率计算

称取 3 份黑米各 B g, 采用相应提取方法及条件进行提取, 得黑色素提取液, 再将其溶液进行浓缩精制, 得到黑色素精制品的质量 W g, 并称量计算提取率。

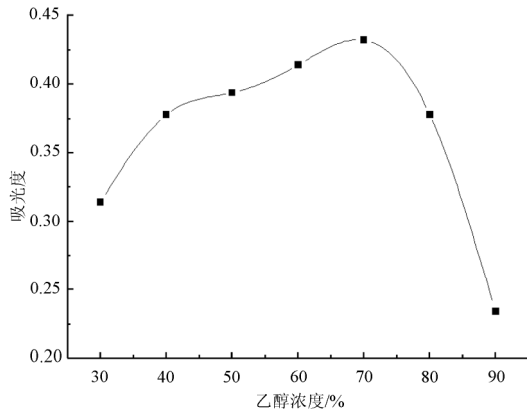
$$\text{提取率}(\%) = \frac{B}{W} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.2.1 乙醇浓度对黑米黑色素提取效果的影响

花色苷是水溶性物质, 因此一般选用水、乙醇等来源广泛、价格低廉、无毒安全的极性溶剂作为黑色素的提取剂。本实验采用乙醇为提取剂, 由图 1 中可以看出, 随着乙醇浓度的增加, 黑色素提取液的吸光度逐渐增大, 当增加至 70% 时, 其吸光度趋于最大, 再增加乙醇浓度, 吸光度反而呈下降趋势。这可能是随着乙醇浓度的增大,

溶剂的渗透能力随之增大,有利于黑色素的溶出;但花色苷是水溶性物质,当乙醇浓度过大时,极性过低反而不利于黑色素的溶出。



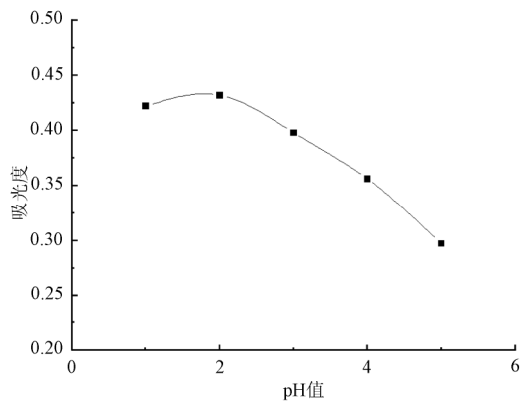
注:提取温度 40℃, pH 值 2, 提取时间 20min, 液料比 20mL/g

图 1 乙醇浓度对黑色素提取效果的影响

Fig.1 Effects of the ethanol concentration on black pigment

2.2.2 pH 值对黑米黑色素的提取效果影响

pH 值对花色苷的结构和稳定性影响很大。花色苷在不同的 pH 值条件下会呈现不同的颜色,但在酸性条件下才较为稳定,过酸或碱性条件下稳定性降低。从图 2 可以看出, pH 值分别为 1、2、3、4、5 时,吸光度分别为 0.422、0.432、0.398、0.356、0.297。随着 pH 值的升高,其提取溶液的吸光度先增大后减小。在 pH 值为 2 时,提取液的吸光度最大,即提取率最高。在 pH 值为 2~5 的范围内,溶液吸光度逐渐减小,这可能是由于 pH 值升高引起花色苷结构的变化。



注:提取温度 40℃, 乙醇浓度 70%, 提取时间 20min, 液料比 20mL/g

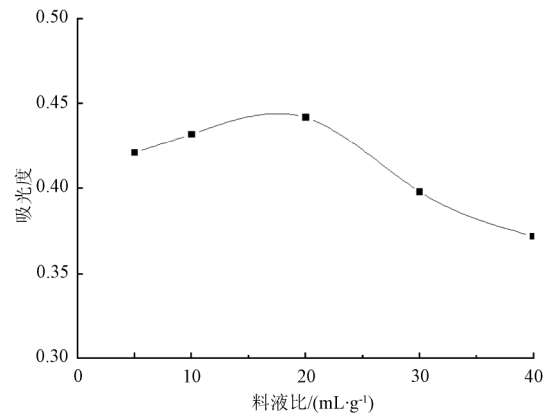
图 2 pH 对黑色素提取效果的影响

Fig.2 Effects of the pH on black pigment

2.2.3 液料比对黑米黑色素提取效果的影响

由图 3 可以看到,液料比分别是、10、20、30、40 mL/g 时,提取液的吸光度分别是 0.421、0.432、0.442、0.398、0.372。从结果中可以看到,液料比在 20 mL/g 以内,提取液的吸光度呈上升趋势。这是由于溶剂量大,溶剂中有效成分浓度低,与物料及溶剂边界层的有效成分浓度差大,扩散推动力大,所以提取率高。但当液料比达到一定程度时,在增加溶剂,提取效果也没有明显的增加

甚至下降,因此,在提取时应选择合适的液料比,以减少溶剂和能源的浪费,并给后续工作如过滤、浓缩等带来麻烦。



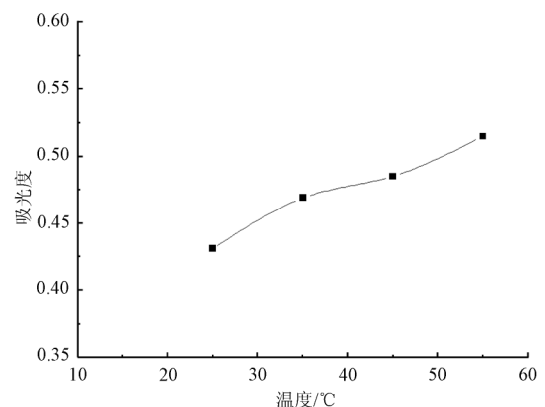
注:提取温度 40℃, pH 值 2, 提取时间 20min, 乙醇浓度 70%

图 3 液料比对黑色素提取效果的影响

Fig.3 Effects of the solid-liquid ratio on black pigment

2.2.4 提取温度对黑米黑色素提取效果的影响

从图 4 中结果可见,在 60℃ 下升高温度有利于提取液中色素含量的增加,在 25、35、45、55℃ 下进行提取的溶液吸光度分别是 0.431、0.469、0.485、0.515。升温可以提高色素在溶剂中的溶解度和扩散系数,同时蒸汽压升高,超声空化阈值下降,有利于空化泡的产生。但另一方面,花色苷类物质在高温的酸性溶液中降解速度会逐渐增大;且若蒸汽压增大也会空化强度或空化效应下降,从而不利于提取过程的强化。因此,从花色苷的稳定性 and 超声空化对提取效果提高的角度来说,提取应在较低的温度条件下进行。



注:pH 值为 2, 乙醇浓度 70%, 提取时间 20min, 液料比 20mL/g

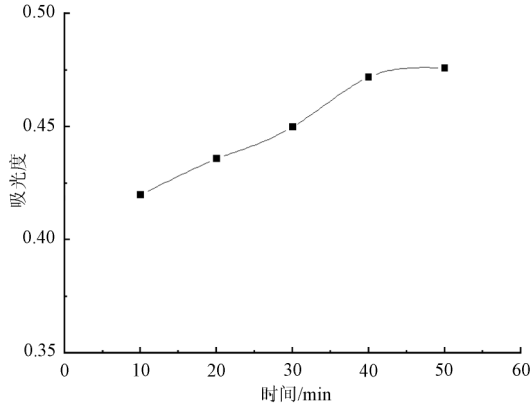
图 4 提取温度对黑色素提取效果的影响

Fig.4 Effects of the extraction temperature on black pigment

2.2.5 提取时间对黑米黑色素提取效果的影响

从图 5 中可以看到,提取液的吸光度随提取时间的增加而增大,在 10、20、30、40、50 min 条件下提取液的吸光度分别是 0.420、0.436、0.451、0.472、0.475。有效成分浓度差是超声提取的主要推动力,在提取初期,有效成分的浓度差大,因此提取速率快,溶液中色素含

量增加明显；随着提取时间不断延长，溶液中有效成分浓度逐渐增大，浓度差减小，传质推动力变小，提取效率降低，色素提取增加不明显，直至推动力为零，有效成分不再溶解。这可能因为超声时间的延长强化了超声波的各种效应，有利于有效成分的溶出^[19-20]，同时，色素长时间在较高温度下浸提，也会加速花色苷物质的降解。



注：提取温度 40℃，乙醇浓度 70%，pH 值 2，液料比 20mL/g

图 5 超声提取时间对黑色素提取效果的影响

Fig.5 Effects of the extraction time on black pigment

2.3 正交试验与结果(表 2, 3)

由表 2 的极差分析可知，在影响超声法提取黑色素的五个因素中，pH 值的影响最大，时间的影响最小，5 个因素影响黑色素提取效果的大小次序为：A>E>D>C>B，即 pH>乙醇浓度>液料比>温度>时间。在本试验的参数基础上，从最大限度提取黑色素和节省溶剂的角度考虑，各因素的优化工艺参数为：pH 值为 2，乙醇浓度为 70%，液料比为 30 mL/g，温度为 50℃，时间为 30 min，在此条件下重复试验 3 次，所得的黑色素提取液平均吸光度为 0.526。根据 1.6 项的提取率计算方法，得出平均提取率为 6.85%。

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal experimental results

试验号	A pH 值	B 时间	C 温度	D 液料比	E 乙醇浓度	吸光度
1	1 (2)	2 (20)	3 (50)	2 (20)	3 (70)	0.465
2	3 (4)	4 (40)	1 (30)	2	2 (50)	0.328
3	2 (3)	4	3	3 (30)	4 (90)	0.447
4	4 (5)	2	1	3	1 (30)	0.312
5	1	3 (30)	1	4 (40)	4	0.447
6	3	1 (10)	3	4	1	0.384
7	2	1	1	1 (10)	3	0.416
8	4	3	3	1	2	0.389
9	1	1	4 (60)	3	2	0.508
10	3	3	2 (40)	3	3	0.434
11	2	3	4	2	1	0.392
12	4	1	2	2	4	0.232
13	1	4	2	1	1	0.415
14	3	2	4	1	4	0.298
15	2	2	2	4	2	0.424
16	4	4	4	4	3	0.404

续表

试验号	A pH 值	B 时间	C 温度	D 液料比	E 乙醇浓度	吸光度
k1	0.459	0.385	0.376	0.380	0.378	
k2	0.420	0.375	0.376	0.354	0.412	
k3	0.361	0.416	0.421	0.425	0.430	
k4	0.334	0.399	0.401	0.415	0.356	
R	0.125	0.041	0.045	0.071	0.074	

由表 3 的方差分析结果表明，pH（因子 A）对黑色素提取的影响达到极显著水平，pH 越低，对黑色素提取越有利。同时乙醇浓度和液料比对黑色素提取的影响也达到显著水平，适当增大乙醇浓度和液料比可有效提取黑色素。

表 3 正交试验方差分析表

Table 3 Orthogonal variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方差	F 值	显著性
A	0.03805	3	0.012685	40.80	**
B	0.00373	3	0.001244	4.00	
C	0.00572	3	0.001909	6.14	
D	0.01278	3	0.004262	13.71	*
E	0.01354	3	0.004516	14.52	*
误差	0.00373	12			

注：F_{0.05}(5, 4) = 6.26, F_{0.01}(5, 4) = 15.52

2.5 不同提取方法的比较

采用传统浸提法、回流提取和单频超声提取黑米黑色素，并与双频超声波提取最优工艺条件下的提取结果对比，结果见表 4。

表 4 双频超声法和常规提取法提取效果比较

Table 4 Dual-frequency ultrasound extraction and conventional extraction method comparison

提取方法	提取时间/min	液料比	提取率/%
双频超声	30	30	6.85
单频超声 ^[18]	50	32	4.50
浸渍法	180	40	4.05
回流法	180	60	0.19

由表 4 可知，当乙醇浓度相同的情况下，浸渍法以液料比 40 mL/g 提取黑米黑色素，耗时 3 h，吸光度为 0.368，回流法以液料比 60 mL/g 提取黑米黑色素，耗时 3 h，吸光度为 0.150，单频超声法以液料比 32 mL/g 提取黑米黑色素，耗时 50 min，平均提取率为 4.50%，而双频超声提取法在液料比 30 mL/g 时，仅用 30 min，平均提取率为 6.85%，这表明超声波提取法与传统溶剂浸提法相比，不仅提取效率高，大大缩短了提取时间，而且还可以减少溶剂的用量，节约成本。

3 讨论

本文与文献[18]的差别在于，本文的超声设备用的是双频超声，文献[18]用的是单频超声。单频超声在溶液中传播时衰减快，不均匀，双频超声同时传播时，克服了

这一缺点, 从而增强超声的空化效应, 使得它协同强化提取的效果极其显著, 进而提高提取效率, 节省提取时间和溶剂用量。从试验结果比较, 本研究的提取效果比文献[18]有了进一步的提高, 即 pH 值为 2, 乙醇 70%, 液料比 30 mL/g, 温度 50℃, 作用时间 30 min, 平均提取得率为 6.85%。

4 结 论

1) 根据正交试验, 双频超声提取黑米黑色素的最佳工艺条件为: pH 值为 2, 乙醇浓度为 70%, 液料比为 30 mL/g, 温度为 50℃, 时间为 30 min。在此条件下重复试验 3 次, 所得的黑色素提取液平均吸光度为 0.526, 相应的平均提取率为 6.85%。

2) 双频超声提取黑米黑色素, 不但可提高提取效率, 节省提取时间、溶剂, 还能减少黑色素的降解损失, 采用双频超声波使黑米黑色素能进一步被高效地提取出来, 试验结果可为黑米黑色素的工业化提取和开发利用提供技术参考。

[参 考 文 献]

- [1] 任顺成, 王国良, 王鹏, 等. 10 种天然黑色素提取液抗氧化研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2009, 30(1): 7—10.
Ren Shuncheng, Wang Guoliang, Wang Peng, et al. Study on Antioxidant Activities of ten Natural Melanins Extracts[J]. Journal of Henan University of Technology(Natural Science Edition), 2009, 30(1): 7—10. (in Chinese with English abstract)
- [2] 王红育, 李颖. 黑色食品的研究现状与发展前景[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(8): 2397—2398.
Wang Hongyu, Li Ying. Research Status and Development Prospect of Black Food[J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2007, 35(8): 2397—2398. (in Chinese with English abstract)
- [3] Brouillard R. Flavonoids and Flower Color. In: Harborne J B ed. The flavonoids: Advances in Research Since 1980. London: Chapman&Hall, 1988: 525—538.
- [4] Mazza G, Brouillard R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products[J]. Food Chemistry, 1987, 25: 207—225.
- [5] Hung Y C, Sava V, Hongm Y, et al. Inhibitory effects on phospholipase and antivenin activity of melanin extracted from *Thea sinensis* Linn[J]. Life Sci, 2004, 74(16): 2037—2047.
- [6] Sava V M, Gallkin B N, Hong M Y, et al. A novel melanin-like pigment derived from black tea leaves with Immuno-stimulating activity[J]. Food Res Int, 2001, 34(4): 337—343.
- [7] Liu Y, Simon J D. Isolation and biophysical studies of natural eumelanins: applications of imaging technologies and ultrafast spectroscopy[J]. Pigment Cell Res, 2003, 16(6): 606—618.
- [8] Liu Y, Kempf V R, Simon J D, et al. Comparison of the structural and physical properties of human hair eumelanin following enzymatic or acid/base extraction[J]. Pigment Cell Res, 2003, 16(4): 355—65.
- [9] Xu J, Chen S B, Hu Q H. Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum* L.)[J]. Food chemistry, 2005, 91(1): 79—83.
- [10] 赵权, 王军. 黑米花色苷提取工艺的研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(2): 920—921.
Zhao Quan, Wang Qun. Research Oil the Extraction of the Anmo, zranin from Black Kenaed Rice[J]. Journal of Anhui Agri. Sci. 2009, 37(2): 920—921. (in Chinese with English abstract)
- [11] 徐扬, 杨保伟, 柴博华, 等. 超声波—酶法提取海带多糖及其抑菌活性[J]. 农业工程学报, 2010, 26(13): 356—362.
Xu Yang, Yang Baowei, Chai Bohua, et al. Extraction of polysaccharides from *Laminaria Japonica* by ultrasonic-associated enzyme method and its antimicrobial activity[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(13): 356—362. (in Chinese with English abstract)
- [12] 袁丽, 高瑞昌, 薛长湖, 等. 超声波对鱿鱼墨黑色素成分和物理结构的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(14): 376—380.
Yuan Li, Gao Ruichang, Xue Changhu, et al. Effect of ultrasonic on physical structure and composition of squid (*Ommastrephes bartrami*) melanin[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2011, 27(14): 376—380. (in Chinese with English abstract)
- [13] 邓红, 仇农学, 孙俊, 等. 超声波辅助提取文冠果籽油的工艺条件优化[J]. 农业工程学报, 2007, 23(11): 249—253.
Deng Hong, Qiu Nongxue, Sun Jun, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction technology of oil from *Xanthoceras sorborifolia* burgeseeds[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2007, 23(11): 249—254. (in Chinese with English abstract)
- [14] 徐怀德, 闫宁环, 陈伟, 等. 黑莓原花青素超声波辅助提取优化及抗氧化性研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(2): 264—268.
Xu Huaide, Yan Ninghuan, Chen Wei, et al. Ultrasonic assisted extraction technology and its antioxidative activity of blackberry anthocyanin[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2008, 24(2): 264—268. (in Chinese with English abstract)
- [15] 盛桂华, 周泉城. 超声波辅助提取山豆根氧化苦参碱研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(3): 291—294.
Sheng Guihua, Zhou Quancheng. Ultrasonic-assisted extraction of oxymatrine from *Sophorae tonkinesis*[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2008, 24(3): 291—294. (in Chinese with English abstract)
- [16] 张丽萍, 宋大巍, 马中苏. 超声波辅助盐析提取猪小肠中肝素的工艺[J]. 农业工程学报, 2010, 26(5): 379—383.
Zhang Liping, Song Dawei, Ma Zhongsu. Process of heparin extraction using ultrasonic assisted salting out[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural

- Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(5): 379—383. (in Chinese with English abstract)
- [17] 周泉城, 申德超, 区颖刚. 超声波辅助提取经膨化大豆粕中低聚糖工艺[J]. 农业工程学报, 2008, 24(5): 245—249. Zhou Quancheng, Shen Dechao, Ou Yinggang. Ultrasonic assisted extraction of oligosaccharide from defatted soybean meal after extrusion[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2008, 24(5): 245—249. (in Chinese with English abstract)
- [18] 张吉祥, 赵文静, 白晓杰, 等. 正交试验法优化黑米黑色素的超声辅助提取工艺[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 39—41. Zhang Jixiang, Zhao Wenjing, Bai Xiajie, et al. Orthogonal Array Design Tests for Optimizing Ultrasound-assisted Extraction of Black Rice Pigment[J]. Food Science, 2010, 31(4): 39—41. (in Chinese with English abstract)
- [19] Wei X L, Chen M A, Xiao J B. Composition and bioactivity of tea flower polysaccharides obtained by different methods[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 79(2): 418—422.
- [20] Chen X P, Wang W X, Li S B, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of Lingzhi polysaccharides using response surface methodology and its inhibitory effect on cervical cancer cells[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(10): 944—948.

Experiment on dual-frequency ultrasound extraction of black rice melanin

Bi Yongguang¹, Kong Fansheng¹, Zhong Hongmao², Li Yongxin¹

(1. College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. South China Sea Institute of Oceanology Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China)

Abstract: To improve extraction rate of black rice melanin, dual-frequency ultrasound assisted extraction method of black rice melanin was used. Orthogonal array design was employed for investigating the effects of pH, extraction time, extraction temperature, liquid ratio, concentration of ethanol. The results showed that the impact of various factors on the black rice melanin extraction was followed by pH, concentration of ethanol, liquid ratio, extraction temperature, extraction time. The optimal conditions were as follow: pH value of 2, ultrasound time of 30 min, extraction temperature of 50°C, the liquid-solid ratio of 30mL/g, ethanol concentration of 70%. Under these conditions, average extraction rate was 6.85%. Compared to impregnation and ultrasound extraction methods, dual-frequency ultrasound assisted extraction method exhibited simple, saving time, less solvent, high extraction efficiency and less melanin.

Key words: extraction, optimization, technology, dual-frequency ultrasound, black rice, melanin, Orthogonal experiment