

# 响应面冬青果实色素提取的研究

吴 璘<sup>1,2</sup>, 杜江明<sup>1</sup>, 杨亚梅<sup>1</sup>, 袁守亮<sup>1</sup>

(1. 塔里木大学 生命科学学院, 新疆 阿拉尔 843300;

2. 塔里木盆地生物资源保护利用兵团 省部共建国家重点实验室培育基地, 新疆 阿拉尔 843300)

**摘 要:**以冬青果实皮为原料提取红色素,在单因素试验的基础上进行中心组合设计,利用响应面法对其提取工艺参数进行优化。结果表明:提取温度 70.48℃、提取时间 50.06 min、料液比 1:41.76 时,冬青果实皮红色素提取量预测值为 0.15,实际测定值为 0.153,与实测值相符。

**关键词:**冬青果实;响应面法;提取量

**中图分类号:**S 567.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)05-0021-04

冬青果为木犀科女贞属女贞(*Ligustrum lucidum* Ait)的果实,也叫女贞子,其果实为椭圆形核果,成熟时呈现紫黑色或紫红色,是我国传统医学中一味常用中药材,性味甘、苦、凉,有补益肝肾、强腰膝,治神经衰弱、养肝明目的功效。其含有齐墩果酸、熊果酸、女贞子甙、洋橄榄苦甙、桦木醇等多种活性成分<sup>[1]</sup>,且在果皮中含有天然的水溶性红色素,色素性质稳定<sup>[2]</sup>。冬青在我国各地普遍引种栽培作为景观植物,资源十分丰富。

随着食品工业的发展,食用色素的使用量加大,使得色素的发展很快,由色素引发的疾病也在逐渐被人们所重视。开发天然食用色素对保障人民健康、促进食品工业的发展具有重要意义。使用具有一定的营养和药理保健作用的天然色素,已经成为色素研究的热点。现利用响应面法,研究了冬青果实提取的最佳工艺参数。

**第一作者简介:**吴璘(1968-),女,本科,教授,研究方向为天然产物化学。

**收稿日期:**2011-12-26

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

冬青果实(干果)于 2010 年采自塔里木大学校园及阿拉尔市绿化带。试验仪器:UV-2450 紫外分光光度计(日本岛津),721-100 型可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司),智能数显恒温水浴锅(江苏永光明医疗仪器厂),电子天平(赛多利斯),WS70-1 红外快速干燥箱(河南巩义市予华仪器厂);试剂:柠檬酸(国产分析纯)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 冬青果果皮色素提取** 将采集好的样品冬青果(干果)清洗干净,然后将其放入红外快速干燥箱中干燥;待到样品完全干燥后,将冬青果脱皮去籽,将去籽的冬青果皮用研钵研磨成粉末;最后在研磨好的样品中加入 5%的柠檬酸溶液,用磨口三角烧瓶在不同温度、时间及料液比下浸提,将浸提液过滤,收集滤液,并测定其吸光度。流程如下:冬青果实→清洗→干燥→去籽→粉碎成粉末→称重→浸提→过滤→色素溶液→浓缩→真空干燥→深红色膏状色素。

## Effect of Fruit Setting of *Armeniaca vulgaris* L. with Different Pollenizers

NIU Xiao-fang, YUAN Hua-zhao, TAN Yi, JING Xiao-kang, LI Tian-hong

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193)

**Abstract:** Taking 'Longquanwu' of *Armeniaca vulgaris* L. as test material, a series of surveys and experiments about flower development and fruit setting were performed. The results showed that the percentage of perfect flower and pollen germination in the short fruit branches and the bouquet branches were high, indicating a good result of fruit setting. *Armeniaca vulgaris* L. was self-unfruitfulness with a fruit-setting percentage of 2.5%. With pollens of 'Jintaiyang' and 'Huluxing' pollinated for *Armeniaca vulgaris* L., fruit-setting percentage reached 12.8% and 12.3%, thus they could be used as pollinizers for *Armeniaca vulgaris* L.

**Key words:** *Armeniaca vulgaris* L.; perfect flower; pollen germination; fruit setting

1.2.2 冬青果果皮色素吸光度的测定 精密移取浸提液各 1 mL 至 10 mL 容量瓶中,用 5%柠檬酸溶液定容,至刻度线,摇匀,以 5%柠檬酸溶液为空白对照,分光光度计进行扫描,其最大吸收波长为  $\lambda_{\max}=538\text{ nm}$ ,并在此处进行吸光度测定。

1.2.3 冬青果实色素提取剂的选择 分别选用不同质量浓度的柠檬酸溶液,按 1:20(g/mL)的料液比,在 40℃水浴中浸提 30 min 后,经过稀释后测定最大波长处的吸光度。

1.2.4 影响色素得率的单因素试验 提取时间因素:分别称取冬青果皮粉末 0.100 g 于 18 个 50 mL 具塞三角瓶中(同一温度下平行 3 份样),分别加入 5%柠檬酸溶液 10.00 mL,在 40℃恒温水浴中加热 20、40、60、90、120 和 150 min,用砂芯漏斗过滤,定容于 25 mL 容量瓶后,测其吸光度 A,记录结果并分析研究时间对色素提取的影响。料液比的确定:分别称取不同质量的冬青果皮粉末(同一温度下平行 3 份样),加入 20.00 mL 5%柠檬酸溶液,使料液比为 1:20、1:40、1:60、1:80、1:100、1:120 的混合物在 40℃的恒温水浴中提取 40 min,定容于 25 mL 容量瓶后,测定其吸光度 A。提取温度因素:分别称取粉末 0.100 g 冬青果实于 27 个 50 mL 具塞三角瓶中(同一温度下平行 3 份样),分别加入 5%柠檬酸溶液 10.00 mL,在 20、30、40、50、60、70、80、90、100℃的温度中提取 40 min,定容于 25 mL 容量瓶后,测其吸光度 A。

1.2.5 色素提取的响应面试验设计 通过研究浸提时间、浸提温度以及料液比等因素对吸光度的影响,运用影响面法来寻找出最适宜的提取方法和条件。其试验设计见表 1。

表 1 因子水平及编码

Table 1 Factors and levels in CCD

水平 Level	因素 Factor		
	A 浸取时间 Time/min	B 料液比 Material-liquid ratio/g : mL	C 浸取温度 Temperature/℃
-1	30	1:20	50
0	50	1:40	70
+1	70	1:60	90

## 2 结果与分析

### 2.1 提取剂浓度的选择

由图 1 可知,柠檬酸溶液的浓度对色素浸提率影响不大,从 1%~7%的溶液吸光度有增有减,其中 5%的值稍稍大于其它浓度,考虑食品中添加的量以及色素稳定性,选择其为提取溶剂浓度。

### 2.2 单因素对冬青果果皮色素的提取结果

2.2.1 最佳提取温度的选择 不同的提取温度对吸光度有不同的影响,因此在时间和冬青果实粉末质量均相同的情况下进行浸提,所得色素溶液在  $\lambda=538\text{ nm}$  测其吸光度。由图 2 可知,随着温度的增加提取率提高,考虑色素稳定性和实际应用条件,单因素试验中 90℃为最佳提取温度。

2.2.2 最佳提取时间的选择 由图 3 可知,色素的提取效

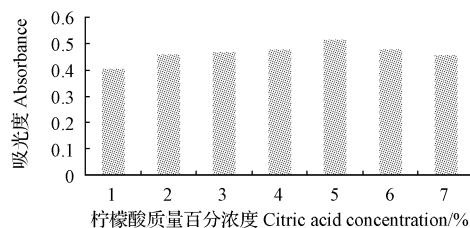


图 1 柠檬酸溶液质量分数对吸光度的影响

Fig. 1 Citric acid solution concentration on the absorbance

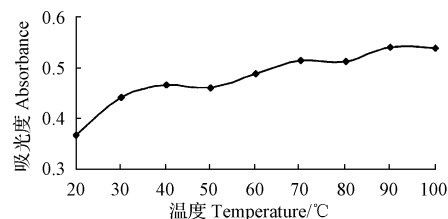


图 2 提取温度对吸光度的影响

Fig. 2 Effect of extraction temperature on red pigment yield

果从 10~50 min 升高较快,随后缓慢下降。从实际和生产效率考虑,认为单因素试验中 50 min 为最佳提取时间。

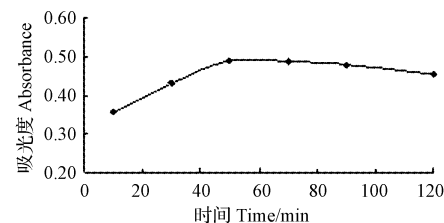


图 3 提取时间对吸光度的影响

Fig. 3 Effect of extraction time on red pigment yield

2.2.3 最佳料液比的选择 提取剂的用量对不同的色素提取产率有很大的影响,而料液比过小会使产率降低,造成原材料的浪费;料液比过大会使残渣的色素含量过多,资源浪费,使得成本上升,造成事倍功半的效果,因此在提取冬青果红色素时要选择一个较佳的料液比,从而节约资源、节省原材料。而冬青果红色素在相同的时间和温度、不同料液比的情况下,在  $\lambda=538\text{ nm}$  测得吸光度。由图 4 可知,随着料液比的增大,色素吸光度逐渐减小,说明色素提取量增大。当料液比为 1:40 时,达到最大色素提取量。然后随着料液比的增加,色素吸光度却越来越小。单因素试验结果表明,最优料液比为 1:40。

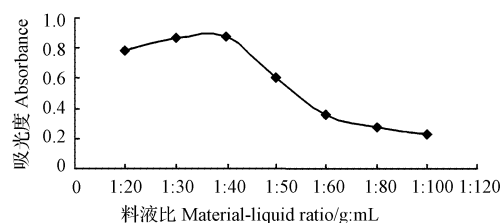


图 4 料液比对吸光度的影响

Fig. 4 Effect of material-liquid ratio on red pigment yield

### 2.3 响应面试验

2.3.1 响应面分析方法与试验结果 综合单因素试验结果,按照响应面设计的因素与水平,对提取时间(A)、

料液比(B)、提取温度(C)3个因素与色素吸光度值进行响应面分析试验,共设立17个处理组。响应面分析方案与试验结果见表2。

表2 响应面分析方案与试验结果

Table 2 CCD matrix and response values of red pigment yield

试验号 NO.	因素 Factor			吸光度 Absorbance
	A 提取时间 Time/min	B 料液比 Material-liquid ratio/g : mL	C 提取温度 Temperature/℃	
1	-1	-1	0	0.286
2	0	0	0	0.152
3	0	0	0	0.152
4	0	-1	1	0.313
5	0	0	0	0.152
6	-1	0	-1	0.118
7	1	0	-1	0.131
8	-1	0	1	0.163
9	0	1	1	0.118
10	0	-1	-1	0.240
11	0	1	-1	0.083
12	1	0	1	0.170
13	0	0	0	0.152
14	1	-1	0	0.294
15	0	0	0	0.152
16	1	1	0	0.112
17	-1	1	0	0.117

注:提取次数均为3次。  
Note:Extraction times are 3.

2.3.2 方差分析和二元回归方程拟合 以提取温度(A)、料液比(B)和提取时间(C)为自变量,色素吸光度为应变变量(y),按照 Design Expert 软件中的 CCD 模型<sup>[3-4]</sup>对试验获得的色素提取吸光度相应值进行回归,建立二次回归模型。初步回归方程为: $Y=+0.15+2.875\times 10^{-3}\times A-0.088\times B+0.024\times C-3.250\times 10^{-3}\times A\times B-1.5\times 10^{-3}\times A\times C-9.5\times 10^{-3}\times B\times C+3.625\times 10^{-3}\times A^2+0.047\times B^2-0.010\times C^2$ 。回归方程检验,相关系数为 $R^2=0.9986$ , $P<0.0001$ ,说明回归模型显著性,拟合程度好,能很好地描述试验结果,具有实际应用意义。从图5中实际与预测的拟合程度上也同样可以证明,图中点集中在直线附近,说明试验实际值结果与试验预测值相符合。表3的模型预测了提取时间A、料液比B和提取温度C在冬青果实色素提取中的作用。从变量与响应值之间关系的方差分析中可知,B、C、B<sup>2</sup>为

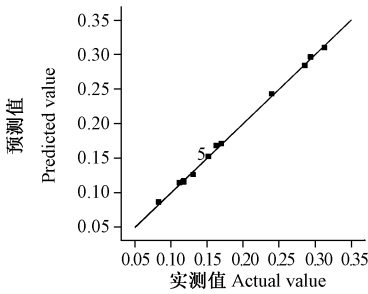


图5 实际测定值与模型预测值的关系

Fig. 5 The relationship of actual value and predicted value

表3 回归方程方差分析

Table 3 Analysis of variance with regression model

变异来源 Source	平方和 Sum squares	自由度 Df	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significant
A	0.00006	1	0.00006	4.28	0.0775	—
B	0.062	1	0.062	3 994.76	< 0.0001	***
C	0.004608	1	0.004608	297.98	< 0.0001	***
AB	0.0000422	1	0.0000422	2.73	0.1423	—
AC	0.000009	1	0.000009	0.58	0.4705	—
BC	0.000361	1	0.000361	23.34	0.0019	**
A <sup>2</sup>	0.0000553	1	0.0000553	3.58	0.1005	—
B <sup>2</sup>	0.00915	1	0.00915	591.89	< 0.0001	***
C <sup>2</sup>	0.000432	1	0.000432	27.91	0.0011	**
模型 Model	0.076	9	0.00849	548.93	< 0.0001	***
残差 Residual	0.000011	7	0.000015	—	—	—
总变异 Cor total	0.077	16	—	—	—	—
R <sup>2</sup>	0.9986	—	—	—	—	—
变异系数 CV	2.30	—	—	—	—	—
平均值 Mean value	0.17	—	—	—	—	—

注:决定系数 $R^2=0.9986$ ;调整性决定系数 $R^2=0.9968$ ;预测性决定系数 $R^2=0.9774$ 。

Note:Determination coefficient $R^2=0.9986$ ;Regulatory determination coefficient $R^2=0.9968$ ;Predictive determination coefficient $R^2=0.9774$ .

极其显著影响因素,B、C、C<sup>2</sup>为显著影响因素。

2.3.3 交互作用分析<sup>[5-6]</sup> 从图6~11响应面的图形可以直观地看到响应值对各因素所构成的三维空间的曲面图及等高线图。比较图6~11的曲面图可知,料液比对冬青果实色素的提取影响较大,在与温度和时间的交互作用中有较为显著的影响,表现出曲线较陡。时间与温度的影响较小,曲线较为平滑。

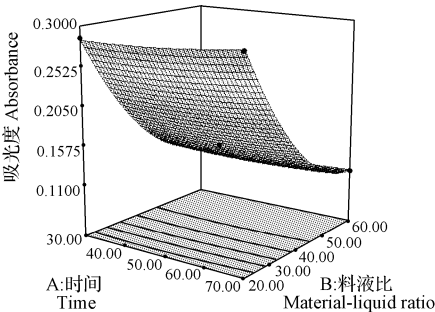


图6 料液比与浸取时间交互作用对色素影响响应面

Fig. 6 Response surface plot of red pigment yield as a function of material-liquid ratio and time

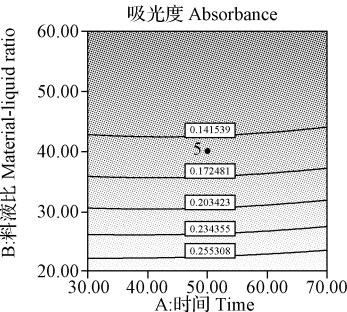


图7 料液比与浸取时间交互作用对色素影响等高线

Fig. 7 Response surface contour plot of red pigment yield as a function of material-liquid ratio and time

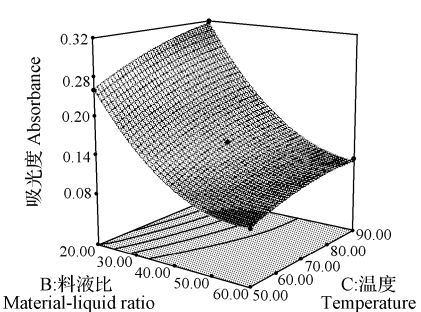


图8 温度与料液比交互作用影响响应面

Fig. 8 Response surface plot of red pigment yield as a function of material-liquid and extraction temperature



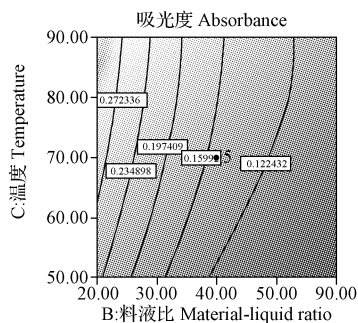


图9 温度与料液比交互作用影响等高线

Fig. 9 Response surface contour plot of red pigment yield as a function of material-liquid ratio and extraction temperature

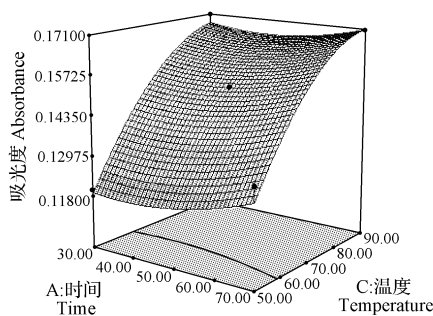


图10 温度与浸取时间交互作用影响响应面

Fig. 10 Response surface plot of red pigment yield as a function of extraction temperature and time

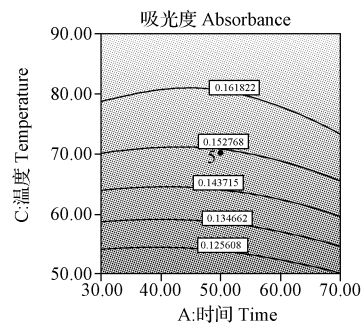


图11 温度与浸取时间交互作用影响等高线

Fig. 11 Response surface contour plot of red pigment yield as a function of extraction temperature and time

根据回归模型求出冬青果实色素提取优化工艺条件为:提取时间 50.06 min,提取温度 70.48℃,料液比 1:41.76,理论色素吸光度为 0.15。按照选择的最佳工艺条件进行试验来验证是否符合模型方程式的最佳响应值,试验测定色素吸光度为 0.153,与理论值相差不大。

### 3 结论

冬青果实红色素是一种比较稳定的天然色素,主要为花青素,提取工艺也比较简单。原花青素本身具有一定的生物活性<sup>[7]</sup>,因而在作为食品添加剂的同时还具有较好的药用性。该研究采用响应面法对其色素提取工艺进行了条件的优化,建立了提取时间 A、提取温度 C、料液比 B 与色素吸光度之间的二次多项式数学模型: $Y=+0.15+2.875\times10^{-3}\times A-0.088\times B+0.024\times C-3.250\times10^{-3}\times A\times B-1.500\times10^{-3}\times A\times C-9.500\times10^{-3}\times B\times C+3.625\times10^{-3}\times A^2+0.047\times B^2-0.010\times C^2$ ,回归分析,决定相关系数  $R^2=0.9986$ , $P<0.0001$ ,表明模型具有显著性,拟合程度好,有实际应用意义;由模

型相互关系的因素进行分析,优化冬青果实色素最佳条件为:提取时间 50.06 min,提取温度 70.48℃,料液比 1:41.76,与试验结果呈现非显著性,证明此模型是合理的、可靠的,可用于实际预测,可为冬青果实色素的生产提供理论指导。

### 参考文献

- [1] 蒋新龙,蒋益花. 铁冬青果红色素的提取及性质研究[J]. 中国酿造, 2006,163(10):26-30.
- [2] 杨晓玲,郭金耀. 女贞果实色素特性研究[J]. 北方园艺, 2007(11): 25-27.
- [3] 雷恒,汪安芳,李永丽. 响应面法优化红曲色素的提取工艺及其稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2010,31(6):283-286.
- [4] 魏丽,单春会. 响应面分析法优化乙醇提取向日葵壳红色素工艺研究[J]. 食品科学, 2010,31(6):122-126.
- [5] 范龚健,韩永斌,顾振新. 用响应面法优化红甘蓝色素提取工艺参数[J]. 南京农业大学学报, 2006,29(1):103-107.
- [6] 张俊杰,王淑霞,周云,等. 响应面分析优化米花团黄色素提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2010,31(6):260-266.
- [7] 宋应华,陶冶,罗小武. 红松树皮中原花青素提取工艺研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010(22):339-342,325.

## Study on Response Surface Methodology for Optimization of Alcohol Extraction Technique of Red Pigment from *Ligustrum lucidum* Ait

WU Ying<sup>1,2</sup>, DU Jiang-ming<sup>1</sup>, YANG Ya-mei<sup>1</sup>, YUAN Shou-liang<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300; 2. Key Laboratory of Biological Resource Protection and Utilization of Tarim Basin, Xinjiang Production and Construction Group, Alar, Xinjiang 843300)

**Abstract:** Based on single factor experiments, central composite design (CCD) combined with response surface methodology (RSM) were employed to optimize alcohol extraction of red pigment from *Ligustrum lucidum* Ait. The results showed that the optimal values of crucial process conditions such as extraction temperature and time and material-liquid ratio were 70.48℃, 50.06 min and 1:41.76, respectively. Under these conditions, the red pigment's absorbance value was predicted to be 0.15, very closed to the observed value (0.153).

**Key words:** *Ligustrum lucidum* Ait; response surface methodology (RSM); extraction yield