

响应面法优选蒲公英中绿原酸的提取工艺研究

王 鹏, 郭 丽

(绥化学院 生物与食品工程系 黑龙江 绥化 152061)

摘 要: 运用响应面法研究了提取温度和时间对蒲公英绿原酸提取工艺的影响, 并用紫外分光光度法对蒲公英绿原酸含量进行测定。结果表明: 蒲公英干叶中绿原酸含量最高, 可达 18.4038~25.9445 mg/gDW; 提取温度 97℃, 提取时间 6 min, 为绿原酸的最佳提取条件。

关键词: 蒲公英; 绿原酸; 响应面法; 提取工艺

中图分类号: Q 949.783.5 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)23-0044-03

蒲公英(*Herba taraxaci*)为菊科多年生草本植物^[1], 其具有广泛的生物活性, 在国外 Simándi B 等从蒲公英叶中利用超临界二氧化碳提取β-香树脂醇和β-谷甾醇, Dh Hu C 和 Kitts D 从蒲公英花中提取黄酮和香豆酸衍生物, 研究其抑制活性氧能力^[2-3]。绿原酸作为蒲公英中的主要抗菌成分, 已被国际公认为“植物黄金”, 它在抗菌、抗病毒、抗癌、抗肿瘤, 护肝益肾, 抗氧化、清除自由基、抗紫外、抗辐射, 以及食品保鲜等方面均显示出有效的作用^[4-6]。绿原酸(3-咖啡酰基-D-奎宁酸)是含有羧基和邻二酚羟基的有机酸, 作为天然抗氧化剂具有较高的生物活性, 可在糖异生和肝糖分解过程中竞争性可逆抑制葡萄糖-6-磷酸酶, 从而降低血糖浓度^[7-8]。试验采取回流提取, 通过响应面设计法, 研究了提取物中绿原酸的含量, 以期确定蒲公英中绿原酸的最佳提取工艺。

1 材料与方法

1.1 试验材料

蒲公英鲜、干样, 绿原酸标准品。仪器设备: TU-1901 双光束紫外可见分光光度计、恒温水浴锅、回流

装置。

1.2 试验方法

1.2.1 绿原酸标准曲线的绘制 准确称取绿原酸标准品 5.0 mg, 用蒸馏水溶解定容至 50 mL, 分别准确吸取 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50、4.00 mL 标准液, 用蒸馏水定容至 25 mL, 得到质量浓度为 2.0~16.0 mg/L 的标液, 在波长 328 nm 下测定吸光度, 绘制标准曲线。

1.2.2 提取方法 称取 10 g 蒲公英鲜样(或 2 g 干样)(不同部位: 叶和根), 置于回流烧瓶中, 加入 100 mL 蒸馏水, 在 80~100℃下进行提取, 时间 5~30 min。

1.2.3 绿原酸提取的响应面试验 采用 SAS 8.0 软件, 以提取温度 X_1 和提取时间 X_2 为自变量, 并以 +1、0、-1 分别代表自变量的高、中、低水平, 按方程 $X_i = (X_i - X_0) / \Delta X$ 对自变量进行编码。编码值为 -1.414, -1, 0, 1, 1.414。根据预试验选定提取温度和提取时间范围分别为: 83~97℃, 6~34 min, 以蒲公英中绿原酸含量 Y 为响应值, 确定最优的绿原酸提取温度和时间。拟合二次多项式方程为: $Y_i + b_0 + b_1X_{1i} + b_2X_{2i} + b_{11}X_{22i} + b_{22}X_{22i} + b_{12}X_{1i}X_{2i}$; 其中 Y_i 是预测响应值, X_{1i} 是第 i 次试验的提取温度估测值, X_{2i} 是第 i 次试验的提取时间估

第一作者简介: 王鹏(1981-), 男, 牡丹江人, 硕士, 讲师, 研究方向为食品工程。E-mail: ljdrq@sina.com。

收稿日期: 2010-10-11

Introduction of Three Black Walnut Cultivars in Kashi

YANG Bo, GONG Peng, XU Ye-ting

(Institute of Horticulture Xinjiang Academy of Agricultural Sciences Urumqi Xinjiang 830091)

Abstract: The black walnut cions of 3 cultivars were introduced from America and grafted on two-year-old trees in the 3-year. The results indicated that through systematic observation and analysis of the yield, seed content of the nut, the Emma K kernel content of the seed was 38.7%, and the whole kernel was easy to be taken out from the seed. 3 cultivars seed were matured and size more earlier and bigger than the local cultivar, and kernel content of the seed higher than local. They were selected by Kashi.

Key words: black walnut; Xinjiang; Kashi; introduction

测值, $b_0, b_1, b_2, b_{11}, b_{22}, b_{12}$ 是待估计系数。

2 结果与分析

2.1 绿原酸标准曲线

绿原酸标准曲线见图 1。根据标准曲线, 用最小二乘法拟合, 回归方程为: $Y = 0.0475X - 0.0429$, $R^2 = 0.995$ 。

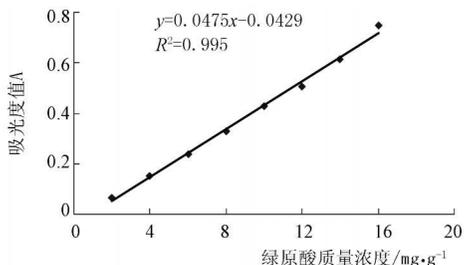


图 1 绿原酸标准曲线

2.2 蒲公英的不同部位绿原酸含量

对蒲公英不同部位提取发现, 蒲公英叶中绿原酸含量明显高于根部 ($P > 0.01$), 刘华等研究也表明, 蒲公英叶较根萃取物多^[9]。该试验不仅对蒲公英的干制品进行测定, 同时也对鲜叶、鲜根进行了研究, 鲜叶、鲜根中绿原酸含量分别为 2.9367 ~ 3.7220、0.7654 ~ 1.0586 mg/gFW。干叶中绿原酸含量最高, 为 18.4038 ~ 25.9445 mg/gDW, 与沈奇等^[10]的研究结果相近似, 它采用乙醇提取法, 使用紫外分光光度计测得蒲公英中绿原酸含量在 3.0 ~ 24.0 mg/g DW; 但与杨斌等采用液相色谱法测定蒲公英中绿原酸含量结果则不同, 其数值在 0.1 ~ 1.0 mg/gDW^[11-13]。

表 1 蒲公英不同部位绿原酸含量部位

提取时间 / min	部位			
	鲜叶 / mg · g ⁻¹ FW	鲜根 / mg · g ⁻¹ FW	干叶 / mg · g ⁻¹ DW	干根 / mg · g ⁻¹ DW
5	2.9367 ± 0.0709	0.7654 ± 0.0066	18.4038 ± 1.7863	5.3665 ± 0.1218
10	3.3577 ± 0.0331	0.9057 ± 0.0198	22.4612 ± 0.4871	7.7110 ± 0.0541
15	3.4981 ± 0.0236	1.0320 ± 0.0265	24.7196 ± 0.2165	9.1274 ± 0.1894
20	3.7220 ± 0.0378	1.0586 ± 0.0595	25.9445 ± 0.4331	10.8115 ± 0.3789

2.3 绿原酸的最佳提取工艺优化

选取因素 X_1 (提取温度, °C) 和 X_2 (提取时间, min) 作为优化因子。经过中心优化组合设计, 根据 2 个因子对 Y_1 (绿原酸吸光度) 影响进行中心组合试验设计, X_1 的中心水平为 90 °C, X_2 的中心水平为 20 min, 设计和结果见表 2。其中 1 ~ 8 为析因试验 9 ~ 13 为中心试验。13 个试验点分为析因点和零点, 其中析因点为自变量取值在 X_1, X_2 所构成的顶点, 零点为区域的中心点, 零点试验重复 5 次, 用以估计试验误差方差。采用 SAS RSREG 程序对数据进行 ANOVA 分析, 结果见表 3、4。

由表 2 可见, 方程回归显著, 模型的相关系数 $R^2 =$

0.93, 说明回归方程的拟合程度良好, 失拟较小。该模型是稳定的, 能很好地预测实际提取过程中绿原酸含量的变化, 可以用该方程代替真实试验点进行分析。方程中 $X_1, X_1 X_1, X_1 X_2$ 对 Y 值的影响达显著水平, 表明试验因子对响应值不是简单的线性关系, 二次项对响应值也有很大的关系, 这和模型回归中的线性和平方项影响显著相对应。交互项系数显著, 交互作用的影响较大。

根据表 2 的试验结果, 通过 SAS 软件处理将各因素回归拟和后得到回归方程。试验的回归方程分别为: $Y = 0.494 + 0.059278X_1 + 0.001934X_2 + 0.045938X_1^2 - 0.09225X_1 X_2 - 0.013563X_2^2$ 。

根据回归方程可以绘制出相应的响应面图和等高线图来确定最大响应值(绿原酸吸光度最大)时变量的最佳水平。图 2 为提取温度和提取时间对蒲公英绿原酸含量影响的响应面和等高线图。从等高线图中可看出, 提取温度和提取时间的交互作用较大。响应面图表示存在最大的响应值。经过对模型及图形的分析, 得出提取温度 97 °C, 提取时间 6 min 时, 绿原酸含量最大。由此可见, 提取温度较高可使植物细胞壁破坏, 有利于绿原酸的浸出; 绿原酸本身不太稳定, 长时间高温加热会导致其分解, 适当的时间则可使提取达到最大。尹青等研究认为^[14], 在提取温度 40 °C, 提取时间 50 min 时, 采用 60% 的乙醇超声波提取法, 可使提取率达到 70%。

表 2 绿原酸的最佳提取工艺优化

处理	X_1	$x_1 / ^\circ\text{C}$	X_2	x_2 / min	绿原酸/A
1	-1	85	-1	10	0.399
2	-1	85	1	30	0.558
3	1	95	-1	10	0.670
4	1	95	1	30	0.460
5	-1.414	83	0	20	0.484
6	1.414	97	0	20	0.697
7	0	90	-1.414	6	0.448
8	0	90	1.414	34	0.495
9	0	90	0	20	0.481
10	0	90	0	20	0.496
11	0	90	0	20	0.478
12	0	90	0	20	0.529
13	0	90	0	20	0.486

表 3 二次回归模型的方差分析结果

回归	自由度	总平方和	F 值	显著水平
X_1	1	0.028111	34.71001	0.000605
X_2	1	0.00003	0.036929	0.853066
X_1^2	1	0.01468	18.1259	0.003758
X_2^2	1	0.00128	1.57995	0.249084
交互	1	0.03404	42.03059	0.000339
总回归	5	0.079568	19.64896	0.000544

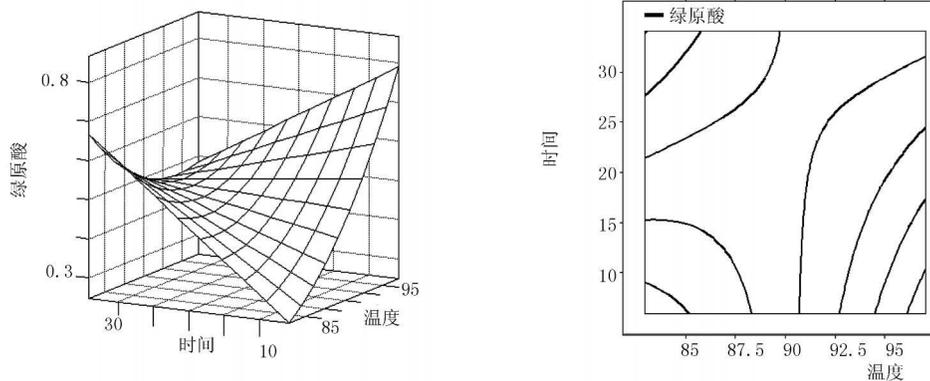


图2 提取温度和时间对蒲公英绿原酸影响的响应面和等高线图

表4 二次回归模型的失拟性方差分析结果

	自由度	平方和	均方	F 值	显著水平
失拟性	5	0.079568	0.015914	19.64896	0.000544
纯误差	7	0.005669	0.00081		
总误差	12	0.085237			

3 结论

对蒲公英不同部位绿原酸提取试验表明, 蒲公英叶中绿原酸含量较根中高, 其中干叶中绿原酸的含量最高, 运用响应曲面法研究了温度和时间对提取工艺的影响, 结果表明, 提取温度 97℃, 提取时间 6 min, 为蒲公英中绿原酸的最佳提取条件。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 244.
 [2] Simándi B, Kristo Sz T, Kéry á, et al. Supercritical fluid extraction of dandelion leaves [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2002, 23(6): 135-142.
 [3] Hu G, Kitts D D. Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro [J]. Phytomedicine, 2005, 12(8): 588-597.
 [4] 凌云, 鲍燕燕, 朱莉莉. 蒲公英化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 1997, 32(10): 584.

[5] 朱燕, 房李艳, 赵亚洲, 等. 绿原酸的应用及其研究热点 [J]. 农产品加工业, 2010(4): 34-37.
 [6] Kono Y, Kashin S E, Yoneyama T, et al. Iron chelation by chlorogenic acid as a natural antioxidant [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1998, 62(1): 22-27.
 [7] Chkhikvishvili I D, Kharebava G I. Chicoric and Chlorogenic Acids in plant species from georgia [J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2004, 37(2): 188-191.
 [8] Pchelkin V P. Natural Phenolic and Lipophilic Complexes of Chlorogenic Acid [J]. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2003, 37(1): 25-27.
 [9] 刘华, 吴国荣, 孙晓明, 等. 不同生境下的蒲公英及其不同器官的分段提取物抑菌作用比较研究 [J]. 中国野生植物资源, 2001(3): 37-38.
 [10] 沈奇, 赵厚民, 张卫明, 等. 蒲公英绿原酸提取分离工艺的研究 [J]. 食品科学, 2006, 27(7): 140-144.
 [11] 梁运霞, 宋德花, 刘广文, 等. 正交实验法优选蒲公英中绿原酸水提工艺研究 [J]. 中兽医医药杂志, 2009(1): 33-35.
 [12] 杨斌. HPLC 法测定蒲公英中绿原酸的含量 [J]. 西北药学杂志, 2009, 24(3): 182-183.
 [13] 宗东升, 沈忱, 李丹, 等. RP-HPLC 法测定蒲公英中绿原酸与咖啡酸的含量 [J]. 实用药物与临床, 2008, 11(4): 259-260.
 [14] 尹青, 张华. 超声波法提取蒲公英中的绿原酸 [J]. 食品研究与开发, 2009, 30(5): 23-27.

Optimization of Chlorogenic Acid Extracting of Dandelion by Response Surface Methodology

WANG Peng, GUO Li

(Department of Biology and Food Science Engineering, Suihua University, Suihua, Heilongjiang 152061)

Abstract: The conditions of extraction time and temperature for dandelion chlorogenic acid were optimized by response surface methodology. The chlorogenic acid contents were accurately measured by ultraviolet spectrophotometric determination. The results showed that dandelion leaves were highest in chlorogenic acid content, reached 18.4038 ~ 25.9445 mg/gDW the optimized extraction conditions were as follows temperature 97℃, 6 mins extraction time.

Key words: dandelion; chlorogenic acid; response surface methodology; extraction