

响应面法优化蓝靛果花色苷提取工艺研究

张 敏, 刘 刚, 张雁南, 陈飞雪

(吉林工程技术师范学院 食品工程学院, 吉林 长春 130052)

摘 要:以野生蓝靛果鲜果为试材,以吸光度为评价指标,研究了乙醇浓度、料液比、提取时间、提取温度对蓝靛果花色苷提取量的影响;并通过响应面法优化,研究了蓝靛果花色苷提取的最佳工艺条件。结果表明:蓝靛果花色苷的最佳提取条件为料液比 1:12 g/mL、乙醇体积分数 66%、提取温度 57℃、提取时间 92 min,在此条件下蓝靛果花色苷的提取量为 328.55 mg/100g。

关键词:蓝靛果;花色苷;响应面分析法;提取

中图分类号:S 663.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)23-0113-04

花色苷是存在于果蔬中的一类天然色素,许多研究表明它具有较多生理活性功能,包括抗氧化及消除自由基、降低血清及肝脏中的脂肪含量、抗变异及抗肿瘤,防止体内过氧化作用等^[1]。花色苷作为一种天然食用色素,安全、无毒、资源丰富,而且具有一定营养和药理作用,在食品、化妆品、医药领域有着巨大应用潜力^[2]。

蓝靛果忍冬(*Lonicera edulis* Turcz)属忍冬科忍冬属浆果,是一种新兴的野生浆果资源^[3],又名蓝靛果、黑瞎子果、山茄子、羊奶子等,蓝靛果忍冬的果实是一种蓝黑色或紫色浆果,含有可食用的天然紫红色素,是提取可食用天然植物色素的良好资源^[4]。蓝靛果色素属多酚类衍生物中的花青素类^[5],花青素与糖以糖苷键结合而形成糖苷,称为花色苷(anthocyanin)^[6]。

花色苷的提取的方法主要有溶剂浸提法、微波辅助萃取法、超声波辅助提取法、酶解提取法、超临界萃取法、超高压辅助提取法^[7]。现以速冻蓝靛果为原料,以 1%的柠檬酸乙醇溶液^[2]为提取剂,采用回流提取工艺,应用响应面法对蓝靛果花色苷的提取工艺进行优化,旨在为蓝靛果花色苷的生产开发应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试蓝靛果采自吉林省蛟河长白山地区的野生鲜果,挑选除杂后速冻贮藏;柠檬酸、磷酸氢二钠、无水乙醇(均为分析纯)(北京化工厂)。仪器设备:L2 可见分光

光度计(上海仪电分析仪器有限公司),pHS-3C 型酸度计(上海精密科学仪器有限公司),HH-S 型水浴锅(巩义市予华仪器有限责任公司),SHB-ⅢA 循环水式多用真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司),AL104 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 单因素试验 乙醇浓度对花色苷提取量的影响:提取剂为 35%、45%、55%、65%、75%、85%等不同体积分数的 1%柠檬酸乙醇溶液,料液比为 1:10 g/mL,水浴温度 45℃,提取时间 90 min,过滤,稀释,在 520 nm 处测定吸光度。提取温度对花色苷的提取量的影响:设置提取温度分别为 35、45、55、65、75、85℃等,料液比为 1:10 g/mL,提取剂为体积分数 65%的柠檬酸乙醇溶液,提取时间 90 min,过滤,稀释,在 520 nm 处测定吸光度。回流提取时间对花色苷提取量的影响:设置提取时间分别为 30、50、70、90、110、130、150 min,料液比为 1:10 g/mL,提取剂为体积分数 65%的柠檬酸乙醇溶液,水浴温度 45℃,过滤,稀释,在 520 nm 处测定吸光度。料液比对花色苷提取量的影响:设置料液比分别为 1:6、1:8、1:10、1:12、1:14、1:16、1:18 g/mL 等,提取剂为体积分数 65%的柠檬酸乙醇溶液,水浴温度 45℃,提取时间 90 min,过滤,稀释,在 520 nm 处测定吸光度。

1.2.2 提取工艺优化 根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理^[8],以花色苷提取液的吸光度为响应值,通过响应面分析进行蓝靛果花色苷提取条件的优化。在单因素试验基础上,选取对花色苷提取量影响比较大的乙醇浓度、提取温度、提取时间 3 个因素,固定料液比 1:12 g/mL,采用 3 因素 3 水平的响应面分析方法设计试验,分析因素与水平设计见表 1。

第一作者简介:张敏(1971-),女,本科,助理研究员,研究方向为食品有效物质提取及功能性开发。E-mail:271095635@qq.com。

基金项目:吉林省教育厅“十二五”科学技术研究资助项目(2012 第 465 号)。

收稿日期:2014-09-09

表 1 中心组合设计的因素与水平

Table 1 Variables and levels in central composite design

水平	因素		
	X ₁ 乙醇体积分数/%	X ₂ 提取温度/℃	X ₃ 提取时间/min
-1	55	45	70
0	65	55	90
1	75	65	110

1.3 项目测定

准确称取 5.00 g 冷冻蓝靛果,置于研钵中研磨后,在一定条件下回流提取 1 次,过滤,用 pH 4.5 的柠檬酸/Na₂HPO₄ 缓冲溶液定容至 250 mL,再稀释 5 倍,测定吸光度,以吸光度为考察指标研究各因素对蓝靛果花色苷提取量的影响。蓝靛果花色苷含量以矢车菊色素-3-葡萄糖苷^[9]计,按照参考张雁南等^[10]、赵慧芳等^[11]的方法计算。

2 结果与分析

2.1 乙醇浓度对花色苷提取量的影响

由图 1 可知,随着乙醇溶液体积分数的提高,吸光度先增大后下降,花色苷的提取和提取液的极性有关^[6],乙醇水溶液的极性随乙醇体积分数的增加而减小,乙醇体积分数在 65% 时吸光度值最大,说明蓝靛果花色苷的极性与体积分数 65% 的酸性乙醇溶液相似,因此乙醇体积分数适宜选择在 65% 左右。

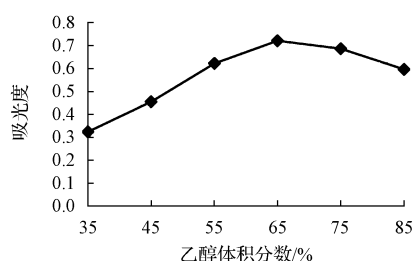


图 1 乙醇浓度对花色苷提取量的影响

Fig. 1 The influence of ethanol concentration on anthocyanin extraction amount

2.2 提取温度对花色苷提取量的影响

花色苷无论是在天然体系还是在模拟体系,其稳定性都会明显受到温度的影响^[2]。由图 2 可知,55℃ 时吸光度值达最大值,曲线呈先上升后下降趋势。提取温度较低时,随提取温度增加,分子运动速度增加,有利于花色苷的溶出;花色苷属于黄酮类化合物^[1-2],高温长时间作用会导致花色苷结构破坏。因此提取温度在 55℃ 左右较为适宜。

2.3 提取时间对花色苷提取量的影响

当提取温度一定时,随提取时间的延长花色苷溶

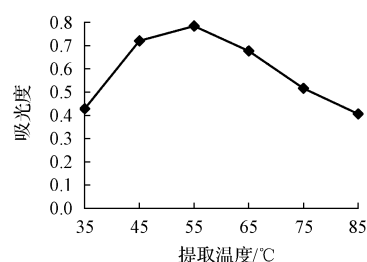


图 2 提取温度对花色苷提取量的影响

Fig. 2 The influence of extracting temperature on anthocyanin extraction amount

出,吸光度呈增大趋势,达到一定程度后再延长提取时间,由于高温长时间的作用会导致花色苷的部分结构被破坏。图 3 表明,提取 90 min 时吸光度最大,因此提取时间控制在 90 min 左右。

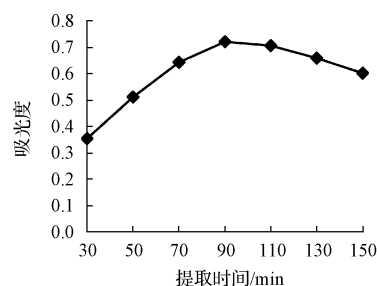


图 3 提取时间对花色苷提取量的影响

Fig. 3 The influence of extraction time on anthocyanin extraction amount

2.4 料液比对花色苷提取量的影响

由图 4 可知,随着溶剂用量的增加,花色苷提取液的吸光度先增大后缓慢下降,料液比降到 1:12 g/mL 时吸光度最大。干扰杂质的溶出量一般会随提取剂用量增加而增加,影响花色苷提取液的吸光度测定,同时,达到最佳提取剂用量后继续增加用量,会造成溶剂的浪费,也给后续浓缩工作带来麻烦,因此料液比选择 1:12 g/mL。

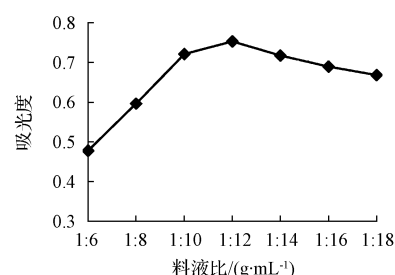


图 4 料液比对花色苷提取量的影响

Fig. 4 The influence of solid-liquid ratio on anthocyanin extraction amount

2.5 提取工艺条件的优化

响应面分析方案及结果见表2,方差分析结果见表3。

表2 中心组合试验方案与结果

Table 2 Central composite design matrix and corresponding results

试验号	X_1	因素 X_2	X_3	Y 吸光度
1	1	0	1	0.705
2	-1	1	0	0.679
3	0	0	0	0.784
4	-1	-1	0	0.622
5	0	0	0	0.786
6	0	-1	1	0.706
7	0	0	0	0.782
8	0	-1	-1	0.643
9	1	-1	0	0.686
10	0	1	1	0.732
11	-1	0	-1	0.626
12	-1	0	1	0.677
13	0	0	0	0.784
14	0	0	0	0.781
15	0	1	-1	0.716
16	1	0	-1	0.678
17	1	1	0	0.707

表3 方差分析结果

Table 3 Result of analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.05034	9	0.00559	442.658	<0.0001**
X_1	0.00370	1	0.00370	292.663	<0.0001**
X_2	0.00392	1	0.00392	309.925	<0.0001**
X_3	0.00308	1	0.00308	243.843	<0.0001**
X_1X_2	0.00032	1	0.00032	25.642	0.0015**
X_1X_3	0.00014	1	0.00014	11.396	0.0118*
X_2X_3	0.00055	1	0.00055	43.705	0.0003**
X_1^2	0.01994	1	0.01994	1578.443	<0.0001**
X_2^2	0.00710	1	0.00710	562.201	<0.0001**
X_3^2	0.00781	1	0.00781	618.283	<0.0001**
残差	0.00009	7	0.00001		
失拟误差	0.00007	3	0.00002	6.425	0.0521
纯误差	0.00002	4	0.000004		
总离差	0.05043	16			

注:**表示极显著水平($P<0.01$),*表示显著水平($P<0.05$)。

采用软件 Design Expert 7.0 对所得数据进行回归分析,得到以下回归方程: $Y = 0.7834 + 0.0215X_1 + 0.0221X_2 + 0.0196X_3 - 0.009X_1X_2 - 0.006X_1X_3 - 0.0118X_2X_3 - 0.0688X_1^2 - 0.0411X_2^2 - 0.0431X_3^2$ 。

由表3可知,模型的相关系数 $R^2 = 0.9982$,模型的显著水平 $P < 0.0001$,方程的失拟误差($P = 0.0521$)不显著,该回归模型对试验结果拟合较好,该试验方法比较可靠。从表3还可以看出, X_1X_3 对试验结果影响显著($P < 0.05$),其它项对试验结果影响极显著($P < 0.01$),

各因素对花色苷提取量影响的大小顺序为提取温度>乙醇体积分数>提取时间。

3个因素两两交互作用对蓝靛果花色苷提取量的影响见图5。由图5可以看出,响应曲面的坡度陡峭,等高线的形状为椭圆形,表明各两因素交互作用显著,与表3的分析结果一致。

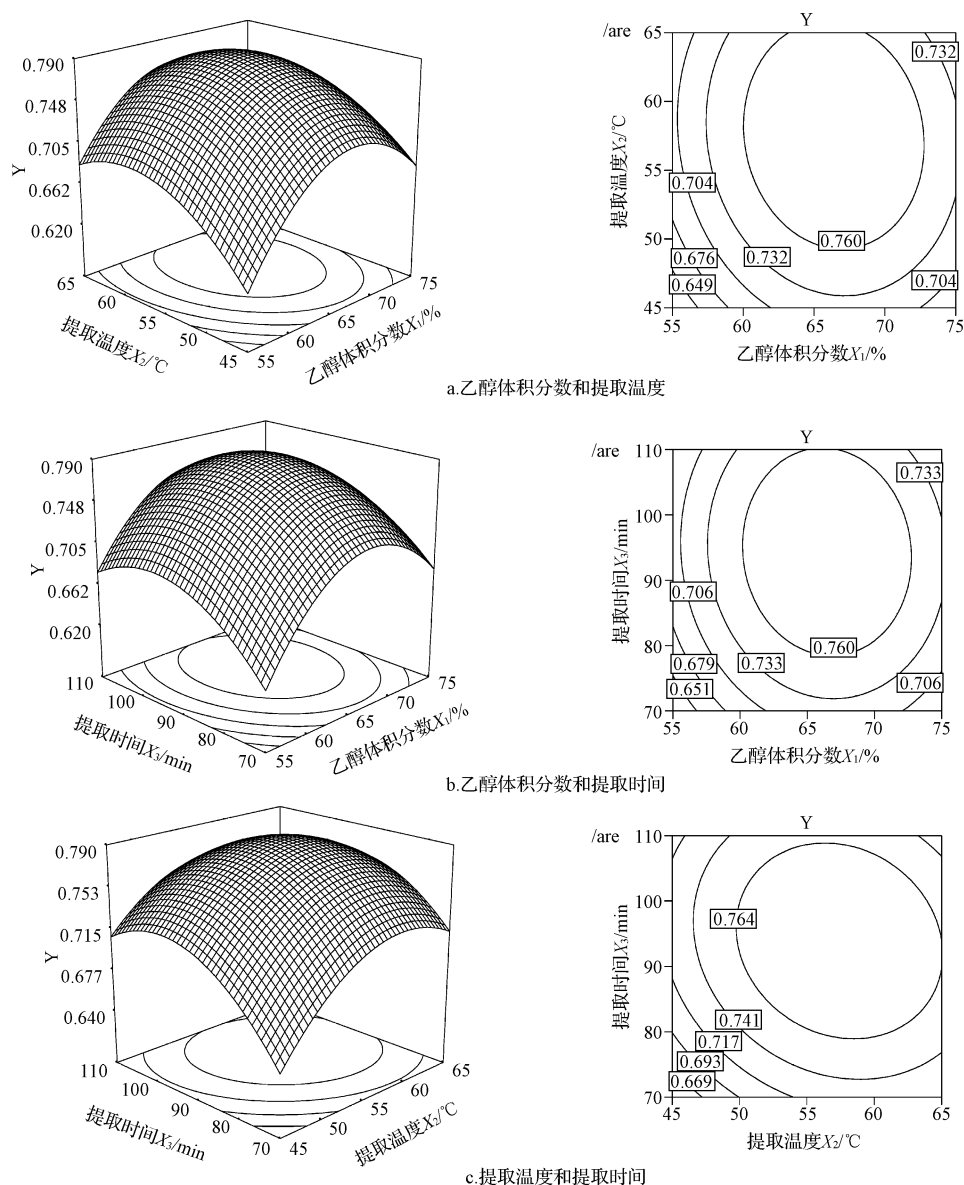
回归模型预测的蓝靛果花色苷最佳提取工艺条件为乙醇体积分数 66.02%、提取温度 57.23℃、提取时间 92.14 min,预测提取液的吸光度理论值 0.789。将各参数调整简化为乙醇体积分数 66%、提取温度 57℃、提取时间 92 min,在该条件下进行 3 次验证试验,测得的结果取平均值为 0.787,说明该提取工艺参数准确可靠。通过计算得出,在最佳工艺条件下蓝靛果花色苷的提取量为 328.55 mg/100g。

3 结论

该试验采用含有 1% 柠檬酸的酸性乙醇作为提取剂,利用响应面法优化蓝靛果花色苷的回流提取工艺,结果表明,影响蓝靛果花色苷提取量的各因素的主次顺序为提取温度>乙醇溶液体积分数>提取时间,最佳提取条件为料液比 1:12 g/mL、乙醇体积分数 66%、提取温度 57℃、提取时间 92 min,在此条件下蓝靛果花色苷的提取量为 328.55 mg/100g。

参考文献

- [1] 唐传核,彭志英.天然花色苷类色素的生理功能及应用前景[J].冷饮与速冻食品工业,2000,6(1):26-28.
- [2] 卢钰,董现义,杜景平,等.花色苷研究进展[J].山东农业大学学报(自然科学版),2004,35(2):315-320.
- [3] 王恩福.蓝靛果中黄酮类化合物的提取、纯化及功能研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2007.
- [4] 兰士波,罗旭,李譔.蓝靛果忍冬研究进展及开发应用前景[J].中国林副特产,2008(1):87-90.
- [5] 岳晓霞,张根生,李志.超声波辅助乙醇法提取蓝靛果色素工艺条件的研究[J].食品科学,2008,29(11):287-289.
- [6] 包怡红,李文星,齐君君,等.提取条件对蓝靛果花色苷抗氧化活性的影响[J].食品科学,2010,31(22):20-24.
- [7] 郭耀东.葡萄皮花色苷提取纯化技术及稳定性研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2008.
- [8] 费荣昌.试验设计与数据处理[M].无锡:江南大学出版社,2001:59-63.
- [9] 吴信子,朴京一,张小勇,等.蓝靛果花青素的分离与鉴定[J].延边大学学报(自然科学版),2001,27(3):191-194.
- [10] 张雁南,刘硕芳,李皓,等.蓝靛果红色素微波提取及抗氧化作用[J].食品科学,2010,31(18):104-107.
- [11] 赵慧芳,王小敏,闫连飞,等.黑莓果实中花色苷的提取和测定方法研究[J].食品工业科技,2008(5):176-179.



注:固定水平:乙醇体积分数 65%;提取时间 90 min;提取温度 45℃。

图 5 各因素之间交互作用影响花色苷提取量的响应面和等高线图

Fig. 5 Response surface and contour plots for the pairwise effects of three extraction conditions on the amount of anthocyanin

Optimization of Extraction of *Lonicera edulis* Anthocyanin by Response Surface Methodology

ZHANG Min, LIU Gang, ZHANG Yan-nan, CHEN Fei-xue

(College of Food Engineering, Jilin Teachers' Institute of Engineering and Technology, Changchun, Jilin 130052)

Abstract: Taking *Lonicera edulis* anthocyanin as material, with absorbance as evaluation indexes, the influence of ethanol concentration, solid-liquid ratio, extraction time, extraction temperature to the extraction amount of *Lonicera edulis* anthocyanin were studied, the optimum extraction conditions were determined by response surface methodology. The results showed that the solid-liquid ratio was 1 : 12 g/mL, ethanol concentration was 66%, extraction temperature was 57℃, extraction time was 92 minutes, under these conditions, the extraction of anthocyanin amount was 328.55 mg/100g.

Keywords: *Lonicera edulis*; anthocyanin; response surface methodology; extraction