

# 正交实验优化紫叶甘蓝型油菜花色苷提取工艺

黄慧英<sup>1</sup>, 武国星<sup>2</sup>, 郑立军<sup>1</sup>, 李海渤<sup>1</sup>

(1. 韶关学院 英东农业科学与工程学院, 广东 韶关 512005; 2. 广东金友集团有限公司, 广东 韶关 512005)

**摘 要:**以紫叶甘蓝型油菜为试材,采用正交实验设计方法,研究提取温度、提取剂种类、提取时间、料液比等对紫叶甘蓝型油菜花色苷提取率的影响,同时建立最佳提取工艺。结果表明:影响紫叶甘蓝型油菜花色苷提取率的因素依次为提取时间>料液比>提取温度>提取剂种类,其最佳提取工艺为提取温度 60℃,提取剂 3% 盐酸+90% 乙醇,料液比 1:15 g/mL、提取时间 5 h。

**关键词:**甘蓝型油菜;紫叶;花色苷;正交实验

**中图分类号:**S 565.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)21-0125-04

油菜作为一种重要的油料作物,我国每年种植面积约 667 万  $\text{hm}^2$ 。甘蓝型油菜紫叶性状是一种不完全显性突变,其紫色产生的原因是花色苷在叶片中的积累。花色苷作为一种植物次代谢产物,广泛存在于植物的根、茎、叶、花、果实等器官的细胞质中<sup>[1]</sup>,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、调节血脂和改善胰岛素抵抗等生物活性<sup>[2-3]</sup>,同时具有抗寒、抗冻、抗旱、抗病虫害及光保护作用<sup>[4-7]</sup>。近年来,许多学者对部分高花色苷含量的作物及蔬菜进行了花色苷的提取及生物活性研究<sup>[8-10]</sup>,但对甘蓝型油菜鲜见相关报道。该研究采用单因素轮换试验和正交实验设计相结合的方法,研究提取温度、提取剂种类、提取时间、料液比等不同因素,对油菜叶片中花色苷提取的影响,同时确定其最佳提取工艺,旨在为甘蓝型油菜紫叶性状的利用提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

紫叶甘蓝型油菜纯系材料由华中农业大学提供。无水乙醇、盐酸均为分析纯,由西安化学试剂厂生产。

722 型紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司生产);TGL-16C 型台式离心机(上海安亭科

学仪器长生产);HS-3001 型电热恒温水浴锅(太仓市科教器材厂生产);303-4SA 型数显电热保温箱(上海阳光试验仪器有限公司生产)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 花色苷提取** 精确称取 1 g 紫叶甘蓝大二叶鲜样,按预先设定的料液比加入酸性乙醇提取液,用恒温水浴锅按预先设定的温度提取。将所得提取液以 12 000 r/min 转速离心 10 min,722 型紫外可见分光光度计测定 530 nm 处吸光值,通过计算公式求得花色苷的含量。花色苷提取率( $\text{mg}/100\text{g}$ )<sup>[11]</sup> =  $A_{530} \times V \times n \times 100 / (98.2 \times M)$ ,式中, $A_{530}$ :色素在 530 nm 波长处的吸光度; $V$ :一定质量的油菜叶提取色素时的体积(mL); $n$ :比色时稀释的倍数;98.2:花色苷类色素在 530 nm 波长处的平均消光系数; $M$ :提取物的质量(g)。

**1.2.2 单因素轮换试验** 提取温度对花色苷提取率的影响:在提取剂为 60% 乙醇+0.1% HCl、料液比为 1:15 g/mL、提取时间为 2 h 的条件下,于 30、40、50、60、70℃,提取花色苷。根据计算公式测定花色苷提取率,以花色苷提取率为考察指标,研究提取温度对花色苷提取率的影响,剔除最差的温度。不同提取剂组合对花色苷提取率的影响:在温度 60℃、料液比为 1:15 g/mL、提取时间为 2 h 的条件下,分别用 25% 乙醇+0.5% HCl、50% 乙醇+1% HCl、60% 乙醇+0.1% HCl、75% 乙醇+2% HCl、90% 乙醇+3% HCl,提取花色苷。根据计算公式测定花色苷提取率,以花色苷提取率为考察指标,研究不同种类的提取剂对花色苷提取率的影响,剔除提取效果最差的提取剂类型。提取时间对花色苷提取率的影响:在温度 60℃、提取剂为 60% 乙醇+0.1% HCl、料液比为 1:15 g/mL 的条件下,分别用 1、2、3、4、5 h,提取花色苷。根据计算公式测定花色苷提取率,以花色苷提

**第一作者简介:**黄慧英(1990-),女,广东江门人,本科,现主要从事油菜杂种优势的利用等研究工作。E-mail:532411164@qq.com。

**责任作者:**李海渤(1973-),男,河北唐山人,硕士,副教授,现主要从事油菜杂种优势的利用等研究工作。E-mail:lihai-bo@163.com。

**基金项目:**韶关市科技计划项目产学研引导资金资助项目(2013CXY/C13);韶关市科技计划项目创新资金资助项目(2014CX/N323)。

**收稿日期:**2015-06-02

取率为考察指标,研究提取时间对花色苷提取率的影响,剔除提取效果最差的时间。料液比对花色苷提取率的影响:在温度 60℃、提取剂为 60%乙醇+0.1% HCl、提取时间为 2 h 的条件下,分别用料液比为 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25 g/mL,提取花色苷。根据计算公式测定花色苷提取率,以花色苷提取率为考察指标,研究料液比对花色苷提取率的影响,剔除提取效果最差的料液比。

1.2.3 正交实验设计 经过单因素试验确定提取温度、提取剂种类、提取时间、料液比等 4 个因素、4 个水平按  $L_{16}(4^4)$  进行正交实验设计,共计 16 个处理,见表 1、2。

表 1 花色苷提取正交实验设计

Table 1 Orthogonal experiment design of anthocyanin extraction

水平 Level	因素 Factor			
	A 浸提剂 Extracting agent	B 温度 Temperature /℃	C 料液比 Solid-liquid rate / (g·mL <sup>-1</sup> )	D 时间 Extracting time/h
1	25%乙醇+0.5% HCl	40	1:10	2
2	50%乙醇+1.0% HCl	50	1:15	3
3	60%乙醇+0.1% HCl	60	1:20	4
4	90%乙醇+3.0% HCl	70	1:25	5

### 1.3 数据分析

每处理设 3 次重复,采用 SPSS 12.0 软件分析试验数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 花色苷提取的单因素试验结果

2.1.1 提取温度对花色苷提取率的影响 由图 1 可知,提取温度在 30℃和 40℃时,花色苷的提取率变化不大,当温度上升到 50℃时,提取率随着温度的升高而升高,当温度达到 60℃时,花色苷的提取率达到最大,70℃时花色苷的提取率不再有明显的提高。因此,花色苷的最佳提取温度为 60℃。

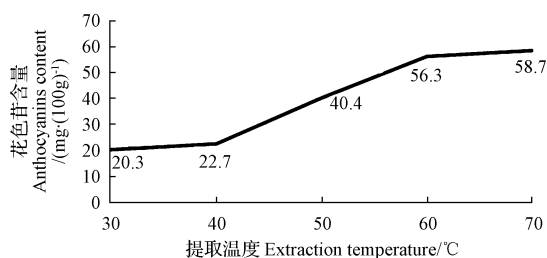
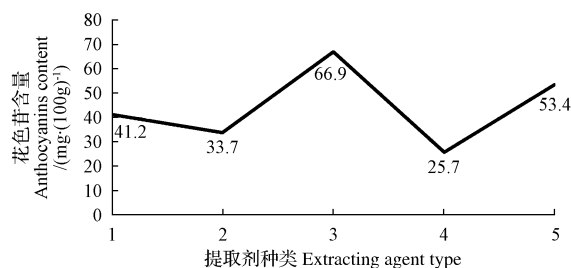


图 1 提取温度对花色苷提取率的影响

Fig. 1 The influence of extraction temperature on the anthocyanins extraction yield

2.1.2 不同提取剂组合对花色苷提取率的影响 由图 2 可知,提取剂 75%乙醇+2% HCl 组合时,花色苷的提取率为 25.7 mg/100g,为最差提取剂组合;提取剂 60%乙醇+0.1% HCl 组合时,花色苷的提取率为 66.9 mg/100g,为提取剂最佳组合。其余 3 种提取剂组



注:1 为 25%乙醇+0.5% HCl;2 为 50%乙醇+1% HCl;3 为 60%乙醇+0.1% HCl;4 为 75%乙醇+2% HCl;5 为 90%乙醇+3% HCl。

Note: 1, 25% ethanol+0.5% HCl; 2, 50% ethanol+1% HCl; 3, 60% ethanol+0.1% HCl; 4, 75% ethanol+2% HCl; 5, 90% ethanol+3% HCl.

图 2 提取剂种类对花色苷提取率的影响

Fig. 2 The extracting agent type on the influence of the anthocyanins extraction yield

合的花色苷提取率位于上述 2 种组合方式之间。

2.1.3 提取时间对花色苷提取率的影响 由图 3 可知,提取时间在 1 h 时,花色苷的提取率仅为 24.3 mg/100g,提取时间 2~4 h 时,提取率随着提取时间的延长而升高,最高为 68.4 mg/100g,当提取时间达到 5 h 时,花色苷的提取率有所下降,为 53.4 mg/100g,因此,花色苷的最佳提取温度为 4 h。

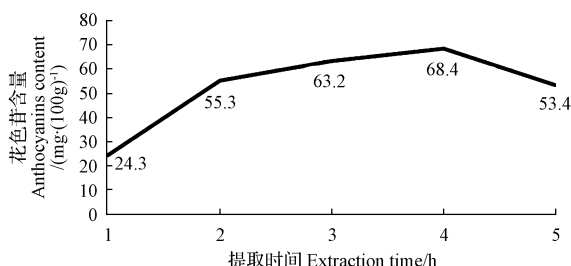


图 3 提取时间对花色苷提取率的影响

Fig. 3 Extraction time on the influence of the anthocyanins extraction yield.

2.1.4 料液比对花色苷提取率的影响 由图 4 可知,在料液比为 1:5 时,花色苷提取率最低,仅为 23.2 mg/100g,当料液比为 1:10 g/mL 时,提取率显著上升,达到

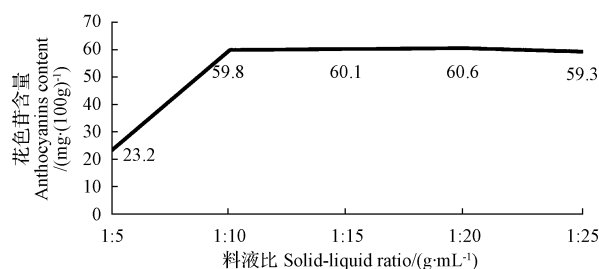


图 4 料液比对花色苷提取率的影响

Fig. 4 Solid-liquid ratio on the influence of the anthocyanins extraction yield

59.8 mg/100g,当处理为 1:15~1:25 g/mL 时,提取率不再上升,因此,花色苷最佳提取料液比为 1:10 g/mL。

## 2.2 正交优化实验结果

从表 2 可以看出,对甘蓝型油菜花色苷提取率影响因素的重要程度分别为 D>C>B>A,即提取时间对于花色苷提取率影响最大,影响程度最小的是提取剂类型。各影响因素最佳组合方式为 A4B3C2D4(处理 15),100 g 紫叶油菜叶片中提取 85.2 mg 花色苷。从而确定浸提剂 90%乙醇+3%HCl,温度 60℃,料液比 1:15 g/mL,浸提时间 5 h 为紫叶油菜花色苷提取最佳方案。

表 2 花色苷提取正交实验方案及结果

Table 2 Orthogonal experiment on anthocyanins extracted methods and results

处理 Treatment	因素 Factor				结果 Result
	A 提取剂 Extracting reagent	B 温度 Extracting temperature/℃	C 料液比 Solid-liquid ratio / (g · mL <sup>-1</sup> )	D 提取时间 Extraction time/h	花色苷含量 Anthocyanins content / (mg · (100g) <sup>-1</sup> )
1	1	1	1	1	24.7
2	1	2	2	2	41.5
3	1	3	3	3	35.5
4	1	4	4	4	36.8
5	2	1	2	3	29.9
6	2	2	1	4	47.5
7	2	3	4	1	44.0
8	2	4	3	2	50.7
9	3	1	3	4	38.5
10	3	2	4	3	35.5
11	3	3	1	2	47.1
12	3	4	2	1	55.9
13	4	1	4	2	68.1
14	4	2	3	1	45.2
15	4	3	2	4	85.2
16	4	4	1	3	61.5
K <sub>j1</sub>	138.5	161.2	119.3	169.8	
K <sub>j2</sub>	172.1	169.7	212.5	207.4	
K <sub>j3</sub>	177.0	211.8	169.9	100.9	
K <sub>j4</sub>	198.5	143.4	184.4	208.0	
$\bar{K}_{j1}$	46.17	53.73	39.77	56.60	
$\bar{K}_{j2}$	57.37	56.57	70.83	69.13	
$\bar{K}_{j3}$	59.00	70.60	56.63	33.63	
$\bar{K}_{j4}$	66.17	47.80	61.47	69.33	
R	20.00	22.80	31.07	35.70	

## 2.3 最佳提取方案验证

为验证最佳提取方案的重复性,分别 3 次准确称取紫叶甘蓝大二叶 1 g,按照最佳提取方案进行花色苷提取,3 次花色苷提取率分别为 85.4、86.3、85.9 mg/100g。该结

果与正交设计中花色苷最佳提取方案中花色苷提取率 85.2 mg/100g 接近,说明该提取方案可重复性强,可以作为紫叶甘蓝型油菜叶片花色苷的提取工艺。

## 3 结论与讨论

甘蓝型油菜属于十字花科芸苔属植物,染色体组成 AACC,是天然的白菜(AA)和芥蓝(CC)杂交产物。高花色苷白菜品种花色苷的提取及组成成分分析已多见相关报道,但甘蓝型油菜高花色苷含量品系的花色苷提取及组分分析尚鲜见相关报道。该研究以高花色苷含量的甘蓝型油菜品系为研究对象,采用单因素试验和正交实验结合对其叶片中花色苷的提取方案进行了优化,得出用料液比为 1:15 g/mL、3%盐酸+90%乙醇作为提取剂,在 60℃下提取 5 h 提取效果最好,为后续甘蓝型油菜花色苷相关研究提供了初步的理论参考。

## 参考文献

- [1] KONG J M, CHIA L S, GOH N K, et al. Analysis and biological activities of anthocyanins[J]. Phytochemistry, 2003, 64(5): 923-933.
- [2] KOWCLCZYK E, KRZESINSKI P, KURA M, et al. Anthocyanins in medicine [J]. Pol J Pharmacol, 2003, 55(5): 699-702.
- [3] 郭红辉, 卫晓怡, 凌文华. 花色苷代谢的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(5): 163-166.
- [4] PARKER J. Relationships among cold hardiness, water soluble protein, anthocyanins and free sugar in *Hedera helix* L [J]. Plant Physiol, 1962, 37: 809-813.
- [5] 孙明霞, 王宝增, 范海等. 叶片中的花色素苷及其对植物适应环境的意义[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39: 675-688.
- [6] BÄHLER B D, STEFFEN K L, ORROLEK M D. Morphological and biochemical comparison of a purple-leafed and a green-leafed pepper cultivar [J]. Hort Sci, 1991(26): 73-76.
- [7] STEYN W J, WAND S J E, HOLCROFT D M et al. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection[J]. New Phytologist, 2002, 155(3): 349-361.
- [8] 陈勇, 赵春芬, 孙清, 等. 紫苏色素稳定性的初步研究[J]. 中国食品添加剂, 1997(3): 4-8.
- [9] 潘小红, 李金林, 刘成梅, 等. 金属离子和食品添加剂对紫甘薯花色苷稳定性的影响[J]. 食品工业科技, 2007, 28(11): 35-38.
- [10] CORTES G A, SALINAS M Y, MARTIN E S. Stability of anthocyanins of blue maize after nixtamalization of separated pericarp-germ tip cap and endosperm fractions[J]. Journal of Cereal Science, 2006, 43(1): 57-62.
- [11] TIBOR FULEKI, FRANCIS F J. Quantitative methods for anthocyanins, 1, extraction and determination of total anthocyanin in cranberries[J]. J of Food Sci, 1968, 33: 72.

# Optimization Technology of Extracting Anthocyanins From the Purple Leaf *Brassica napus* by Orthogonal Experiment

HUANG Huiying<sup>1</sup>, WU Guoxing<sup>2</sup>, ZHENG Lijun<sup>1</sup>, LI Haibo<sup>1</sup>

(1. College of Yingdong Agricultural Science and Engineering, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005; 2. Guangdong Jinyou Group Co. Ltd., Shaoguan, Guangdong 512005)

DOI:10.11937/bfyy.201521033

# 魔芋葡甘聚糖-壳聚糖复合膜对 马关塘房桔保鲜效果研究

陈红惠<sup>1</sup>, 刘芳<sup>1</sup>, 沈清清<sup>2</sup>

(1. 云南文山学院 化工学院, 云南 文山 663000; 2. 云南文山学院 环境与资源学院, 云南 文山 663000)

**摘 要:**以塘房桔为试材,为筛选能应用于塘房桔的可食性涂膜保鲜剂,采用单一和复配试验方法研究了壳聚糖-魔芋葡甘聚糖复合涂膜剂对塘房桔果实保鲜效果的影响,以塘房桔的失重率、呼吸强度及主要营养成分含量变化为考察指标。结果表明:最佳的复合涂膜浓度为魔芋葡甘聚糖 0.6%,壳聚糖 2.0%,复配比例为 1:1。在此条件下贮藏,复配膜能有效延迟果实呼吸高峰,降低呼吸强度,营养成分损耗降低,保持果实良好风味品质,可有效延长塘房桔的货架期。

**关键词:**塘房桔;魔芋葡甘聚糖;壳聚糖;复配膜;保鲜

**中图分类号:**S 666.209<sup>+</sup>.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)21-0128-04

塘房桔(*Citrus tangfangju*)属芸香科柑桔亚族柑桔属,是马关县特有的柑橘品种,具有皮薄籽少、风味独特、汁多化渣、酸甜可口等特点,深受消费者青睐,成为马关县最具特色的地方特产。经过多年的发展,马关县南捞乡塘房桔种植由最初的房前屋后栽种到现在的种植面积达到 400 hm<sup>2</sup>,种植户达三百余户。塘房桔为晚熟品种,每年 12 月底至 1 月中旬为大量集中上市时期,其采摘前往往要遭受霜冻等自然灾害,另外由于塘房桔表皮特别薄,在采摘中果实极易受伤,加之不耐挤压,不便于长途运输销售,一旦大量上市就必须尽快就近销售。尽管塘房桔挂果率多、品质好、产量高,但每年因烂果率较高造成果农巨大经济损失,严重影响马关县地方经济的发展,因此对塘房桔的保鲜成为马关县塘房桔产业发展迫切需要解决的问题。

目前对于果蔬保鲜的常见方法有冷藏法、辐照保鲜法<sup>[1]</sup>、气调保鲜法、臭氧处理保鲜法<sup>[2]</sup>及涂膜保鲜法等<sup>[3-7]</sup>。对于物理保鲜方法中主要的问题就是需要专门设备投入,操作复杂,成本高,近年来,由于多糖形成的膜具有成膜性好,使用安全,成本低等优点,在果蔬保鲜中得到广泛应用<sup>[8-9]</sup>,在柑橘类水果中也是较常用和使用效果较好的保鲜方法之一。现选取壳聚糖-魔芋葡甘聚糖为复配材料,研究其对马关塘房桔的保鲜效果,筛选出最佳复配浓度及比例,以期为塘房桔的保鲜提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试塘房桔摘自云南马关县南捞乡塘房村果园。

壳聚糖(CTS)、魔芋葡甘聚糖(KGM)、氢氧化钠、草酸、抗坏血酸、氯化钡、2,6-二氯酚靛酚均为国产分析纯。

### 1.2 试验方法

挑选成熟度、大小一致,无机械损伤,无病虫害的塘房桔,洗净待用。试验分为 4 组,每组 80 个塘房桔,第

**第一作者简介:**陈红惠(1979-),女,硕士,副教授,现主要从事食品新资源开发及安全检测研究工作。E-mail:suplgrl@163.com.

**收稿日期:**2015-06-12

**Abstract:** Taking purple leaf *Brassica napus* as the research materials, the ortho-design experiment was carried out to study the influence of extraction time, extraction temperature, extraction agent and solid-liquid ratio on purple leaf *Brassica napus* anthocyanins extraction yield, and to establish the best extraction process. The results showed that factors which affected the anthocyanins extraction yield of purple leaf *Brassica napus* were extraction time > solid-liquid ratio > extracting temperature > extracting agent type, and the optimum technology parameters were follows, the extracting temperature was 60°C; extracting agent was 3% hydrochloric acid + 90% ethanol; solid-liquid ratio was 1:15 g/mL and the extracting time was 5 h.

**Keywords:** *Brassica napus* L.; purple leaf; anthocyanins; orthogonal experiment