

# 超声波辅助提取刺五加浆果色素工艺优化

孙海涛, 邵信儒\*

(通化师范学院制药与食品科学系, 吉林 通化 134000)

**摘要:** 根据中心组合(Box-Behnken)试验设计原理采用四因素三水平响应面分析法, 对超声波辅助法提取刺五加浆果色素工艺进行优化。结果表明: 超声波辅助提取色素的最佳工艺条件为液料比 9:1、乙醇体积分数 37.5%、超声功率 170W、超声时间 43min, 在此条件下测得色素吸光度为 0.791。

**关键词:** 刺五加; 色素; 超声波; 提取; 响应面法

## Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction of Pigments from *Acanthopanax senticosus* Harms Fresh Fruit

SUN Hai-tao, SHAO Xin-ru\*

(Department of Pharmaceutics and Food Science, Tonghua Normal University, Tonghua 134000, China)

**Abstract:** The ultrasonic-assisted extraction of pigments from *Acanthopanax senticosus* Harms fresh fruit was optimized by employing a four-factor three-level Box-Behnken experimental design and response surface analysis. Results showed that the optimal extraction conditions were 37.5% ethanol as extraction solvent at a liquid/material ratio of 9:1 (mL/g), 170 W ultrasonic power and 43 min ultrasonic treatment time. The extract solution obtained under the optimal conditions revealed an absorbance of 0.791 at 525 nm.

**Key words:** *Acanthopanax senticosus* Harms; pigment; ultrasonic; extraction; response surface methodology

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)22-0109-05

超声波是一种弹性波, 能产生并传递强大的能量, 方向性好, 穿透能力强, 停留时间长<sup>[1-2]</sup>。用于固液提取过程可使细胞周围和细胞内产生环流, 从而提高细胞壁和细胞膜的通透性, 有利于植物中有效成分的转移、扩散及提取<sup>[3-4]</sup>。采用传统的有机溶剂提取法需要耗费大量有机溶剂和时间才能提取完全<sup>[5-6]</sup>, 而超声波在溶剂中产生的强烈振动、空化效应、搅拌作用等提取天然活性成分, 可提高提取率, 有效缩短提取时间<sup>[7-9]</sup>, 具有明显优势。

刺五加(*Acanthopanax senticosus*), 为五加科五加属植物, 别名五加参、刺拐棒, 主要分布于东北地区及河北、山西、河南等地<sup>[10-11]</sup>。刺五加果实每年 10 月完熟, 完全成熟的果实呈褐色, 微黑。刺五加具有免疫调节、抗肿瘤、抗衰老、抗辐射、抗损伤及抗疲劳等多种保健功效, 深受广大消费者的青睐<sup>[12]</sup>。刺五加浆果含有 Fe、Se、Cu、Mn 等多种人体必需微量元素和全部必需氨基酸<sup>[13]</sup>。若将刺五加浆果红色素进行开发, 不仅可为广大消费者提供安全性高、色调柔合并具有一定

营养、保健作用的天然食用色素, 还可大幅度提高长白山野生刺五加的附加值, 解决其果渣浪费的问题。

目前, 有关超声波辅助提取植物中有效成分的报道较多<sup>[14]</sup>, 但利用超声波辅助提取刺五加浆果红色素未见报道。本研究选用长白山区天然野生刺五加浆果, 通过单因素试验和响应曲面法优选最佳工艺参数, 为进一步开发利用这一天然色素资源提供参考与借鉴。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料、试剂与仪器

刺五加浆果: 10 月采摘于通化市; 95% 乙醇、浓盐酸均为分析纯。

KQ-200KDB 型高功率数控超声波清洗器 昆山超声仪器有限公司; TV-1901 紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; 722 型可见分光光度计 天津市普瑞斯仪器有限公司; TDL80-2B 离心机 上海安亭科学仪器厂; PHS-3C 型精密数显酸度计 上海大普仪器有限公司; FA1604A 型电子分析天平 上海精天

收稿日期: 2011-06-19

基金项目: 吉林省教育厅“十二五”科学技术研究项目(2011311)

作者简介: 孙海涛(1980—), 男, 助教, 硕士, 研究方向为农产品加工。E-mail: sunhaitaoth@126.com

\* 通信作者: 邵信儒(1981—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为食品天然产物提取。E-mail: shaixinru@126.com

电子仪器有限公司; DHG-9245A 型电热恒温鼓风干燥箱上海一恒科技有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 刺五加浆果红色素的超声辅助提取

工艺流程: 刺五加浆果→洗净→烘干→粉碎→超声提取→定容→过滤→离心→测定吸光度。

操作要点: 将原料清洗干净, 50℃烘干, 粉碎过 20 目, 备用。精确称取刺五加浆果粉末若干份, 每份 5g, 分别在不同的影响因素下进行超声波辅助浸提, 稀释定容至一定刻度, 静置过滤, 4000r/min 离心 10min。利用紫外-可见分光光度计进行光谱扫描, 确定其最大吸收波长为 525nm, 故选择 525nm 作为吸光度测定波长。

### 1.2.2 单因素试验

本试验主要考察液料比、乙醇体积分数、超声温度、超声功率、超声时间作为影响刺五加浆果色素提取效果的因素, 在各因素试验中采用如 1.2.1 节所述的方法进行色素的提取, 以色素提取液吸光度的变化作为评价指标。

#### 1.2.2.1 液料比对色素提取效果的影响

在乙醇体积分数为 40%、溶液 pH2、超声温度 70℃、超声功率 140W、超声时间 30min 条件下, 研究液料比分别为 5:1、10:1、15:1、20:1、25:1、30:1 对刺五加浆果色素提取效果的影响。

#### 1.2.2.2 乙醇体积分数对色素提取效果的影响

在液料比 10:1 条件下, 其他条件同 1.2.2.1 节, 研究乙醇体积分数分别为 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、95% 时对刺五加浆果色素提取效果的影响。

#### 1.2.2.3 超声温度对色素提取效果的影响

在乙醇体积分数 40% 条件下, 其他条件同 1.2.2.1 节, 研究超声温度分别为 30、40、50、60、70、80℃ 时对刺五加浆果色素提取效果的影响。

#### 1.2.2.4 超声功率对色素提取效果的影响

在超声温度 70℃ 条件下, 其他条件同 1.2.2.3 节, 研究超声功率分别为 80、100、120、140、160、180、200W 时对刺五加浆果色素提取效果的影响。

#### 1.2.2.5 超声时间对色素提取效果的影响

在超声功率 140W 条件下, 其他条件同 1.2.2.4 节, 研究超声时间分别为 10、30、50、70、90、110min 时对刺五加浆果色素提取效果的影响。

### 1.2.3 响应曲面优化试验

在单因素试验的基础上, 利用 Plackett-Burman design 设计筛选出对超声波辅助提取刺五加浆果色素影

响较显著的 4 个因素为液料比、乙醇体积分数、超声功率、超声时间。根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理<sup>[15]</sup>, 进行四因素三水平的响应面试验设计, 因素与水平见表 1。通过 Design Expert 7.1.3 软件对试验数据进行回归分析, 预测超声辅助提取刺五加浆果红色素的最佳工艺。平行试验 3 次, 取平均值。

表 1 响应面优化试验因素与水平

Table 1 Coded values and corresponding experimental values of the optimization parameters used in Box-Behnken experimental design

| 水平 | 因素                       |                         |                       |                         |
|----|--------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|
|    | X <sub>1</sub> 液料比(mL/g) | X <sub>2</sub> 乙醇体积分数/% | X <sub>3</sub> 超声功率/W | X <sub>4</sub> 超声时间/min |
| -1 | 8:1                      | 30                      | 140                   | 30                      |
| 0  | 10:1                     | 40                      | 160                   | 50                      |
| 1  | 12:1                     | 50                      | 180                   | 70                      |

注:  $x_1 = (X_1 - 10)/2$ ;  $x_2 = (X_2 - 40)/10$ ;  $x_3 = (X_3 - 160)/20$ ;  $x_4 = (X_4 - 50)/20$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 液料比对提取效果的影响

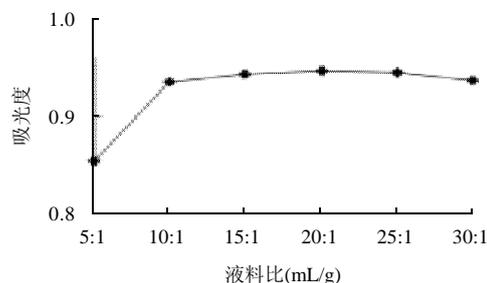


图 1 液料比对吸光度的影响

Fig.1 Effect of liquid/material ratio on absorbance at 525 nm of extract solutions

由图 1 可知, 随着液料比的增大, 浸提液的吸光度逐渐增大, 其原因可能是随溶剂用量的增加, 刺五加浆果粉末与溶剂的接触界面增大, 从而提高了传质的效率; 但当液料比达到 10:1 时, 继续增大液料比对色素提取的影响不明显。所以从节约成本等方面考虑, 本研究把液料比 8:1~12:1 作为响应面法的考察范围。

#### 2.1.2 乙醇体积分数对色素提取效果的影响

由图 2 可知, 随着乙醇体积分数的增大, 浸提液的吸光度呈上升的趋势, 当乙醇体积分数达到 40% 时, 吸光度达到最大值, 之后随着乙醇体积分数的继续增加, 色素的吸光度下降。而当乙醇体积分数大于 80% 时, 浸提液呈现黄绿色, 其原因可能是由于乙醇体积

分数过大,造成刺五加浆果红色素分解。故把乙醇体积分数 30%~50% 作为响应面法的考察范围。

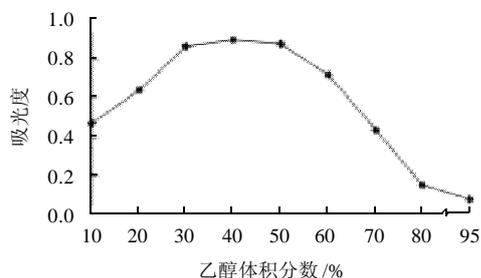


图 2 乙醇体积分数对吸光度的影响

Fig.2 Effect of alcohol concentration on absorbance at 525 nm of extract solutions

2.1.3 超声温度对色素提取效果的影响

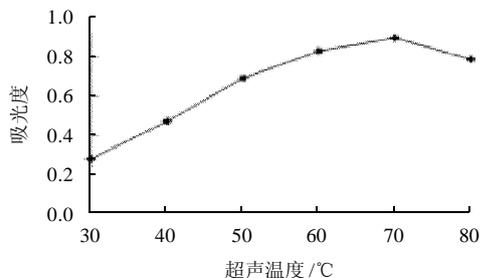


图 3 超声温度对吸光度的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on absorbance at 525 nm of extract solutions

由图 3 可知,超声温度对刺五加浆果红色素提取有一定的影响,随着超声温度的提高,吸光度增大,表明色素提取量随着温度的升高而增大。但当超声温度达到 80℃ 时,吸光度随温度的升高而降低,且在实验中发现,此时浸提液较浑浊,并有絮状物产生,这可能是由于温度过高导致色素不稳定。故本研究确定超声温度为 70℃。

2.1.4 超声功率对色素提取效果的影响

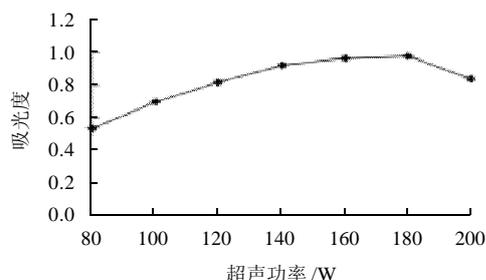


图 4 超声功率对吸光度的影响

Fig.4 Effect of ultrasonic power on absorbance at 525 nm of extract solutions

由图 4 可知,随着超声功率的增大,浸提液的吸光度呈现上升的趋势;当超声功率为 180W 时,吸光度达到最大;如继续提高超声功率,浸提液的吸光度下降,这是由于超声功率过高,超声波对刺五加的组织结构产生了破坏作用,使色素的构象发生改变;同时由于超声功率过高,超声波的热效应导致提取溶液温度升高,造成刺五加色素不稳定,使浸提液的吸光度降低。故本研究把超声功率 140~180W 作为响应面法的考察范围。

2.1.5 超声时间对色素提取效果的影响

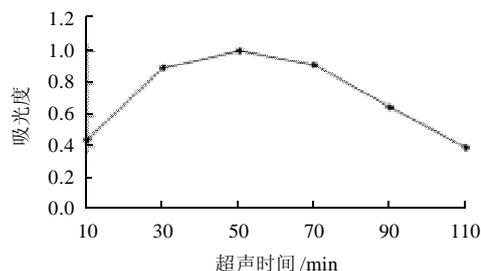


图 5 超声时间对吸光度的影响

Fig.5 Effect of ultrasonic treatment time on absorbance at 525 nm of extract solutions

表 2 响应面优化试验方案与结果

Table 2 Box-Behnken experimental design and results

| 试验号 | 因素                 |                       |                     |                     | 吸光度   |
|-----|--------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|-------|
|     | X <sub>1</sub> 液料比 | X <sub>2</sub> 乙醇体积分数 | X <sub>3</sub> 超声功率 | X <sub>4</sub> 超声时间 |       |
| 1   | 0                  | 0                     | 0                   | 0                   | 0.748 |
| 2   | 0                  | 0                     | 0                   | 0                   | 0.758 |
| 3   | 1                  | 0                     | -1                  | 0                   | 0.459 |
| 4   | 1                  | 0                     | 0                   | -1                  | 0.480 |
| 5   | 0                  | 0                     | 0                   | 0                   | 0.753 |
| 6   | 0                  | 0                     | 1                   | 1                   | 0.651 |
| 7   | -1                 | -1                    | 0                   | 0                   | 0.745 |
| 8   | 0                  | -1                    | 0                   | 1                   | 0.608 |
| 9   | 0                  | 0                     | 0                   | 0                   | 0.751 |
| 10  | 0                  | -1                    | -1                  | 0                   | 0.534 |
| 11  | 1                  | 0                     | 0                   | 1                   | 0.532 |
| 12  | 0                  | 0                     | 1                   | -1                  | 0.716 |
| 13  | 0                  | 0                     | -1                  | 1                   | 0.612 |
| 14  | 0                  | 1                     | 0                   | 1                   | 0.679 |
| 15  | 1                  | 0                     | 1                   | 0                   | 0.640 |
| 16  | 1                  | -1                    | 0                   | 0                   | 0.538 |
| 17  | 0                  | 0                     | 0                   | 0                   | 0.752 |
| 18  | 0                  | 1                     | 0                   | -1                  | 0.513 |
| 19  | 0                  | 1                     | 1                   | 0                   | 0.713 |
| 20  | -1                 | 0                     | 0                   | -1                  | 0.703 |
| 21  | 0                  | 0                     | -1                  | -1                  | 0.422 |
| 22  | -1                 | 0                     | 0                   | 1                   | 0.571 |
| 23  | -1                 | 1                     | 0                   | 0                   | 0.562 |
| 24  | 0                  | -1                    | 1                   | 0                   | 0.641 |
| 25  | -1                 | 0                     | 1                   | 0                   | 0.762 |
| 26  | 0                  | -1                    | 0                   | -1                  | 0.637 |
| 27  | -1                 | 0                     | -1                  | 0                   | 0.743 |
| 28  | 1                  | 1                     | 0                   | 0                   | 0.500 |
| 29  | 0                  | 1                     | -1                  | 0                   | 0.527 |

由图 5 可知, 在试验设计水平范围内, 随着超声时间的延长, 吸光度逐渐增大, 在超声时间为 50min 时达到最大; 而后随着超声时间的延长, 吸光度有明显的下降趋势。这可能是由于超声时间过长, 色素由于某些作用而遭到破坏, 故不宜长时间超声浸提。本研究选取超声提取时间 30~70min 作为响应面法的考察范围。

## 2.2 响应面优化试验

### 2.2.1 数学模型的建立与检验

按照响应面设计的因素和水平表, 对液料比、乙醇体积分数、超声功率、超声时间 4 个因素与浸提液的吸光度进行四因素三水平的响应面分析试验, 试验方案与结果见表 2。利用 Design Expert 7.1.3 软件对表 2 数据进行二次多元回归拟合, 得到超声波法提取刺五加浆果红色素浸提液的吸光度预测值( $Y$ )对编码自变量  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  和  $X_4$  的二次多项回归方程:

$$Y = 1.30 - 0.13X_1 - 0.03X_2 + 0.12X_3 + 0.026X_4 + 0.063X_1X_2 + 0.070X_1X_3 + 0.080X_1X_4 + 0.034X_2X_3 + 0.084X_2X_4 - 0.11X_3X_4 - 0.13X_1^2 - 0.14X_2^2 - 0.090X_3^2 - 0.15X_4^2$$

表 3 回归模型方差分析表

Table 3 Analysis of variance for each term of the fitted regression model

| 方差来源     | 平方和                    | 自由度 | 均方                     | F 值   | P 值      | 显著性 |
|----------|------------------------|-----|------------------------|-------|----------|-----|
| 模型       | 0.84                   | 14  | 0.060                  | 8.81  | 0.0001   | **  |
| $X_1$    | 0.22                   | 1   | 0.22                   | 32.09 | < 0.0001 | **  |
| $X_2$    | 0.011                  | 1   | 0.011                  | 1.60  | 0.2263   |     |
| $X_3$    | 0.17                   | 1   | 0.17                   | 24.92 | 0.0002   | **  |
| $X_4$    | $8.060 \times 10^{-3}$ | 1   | $8.060 \times 10^{-3}$ | 1.19  | 0.2940   |     |
| $X_1X_2$ | 0.016                  | 1   | 0.016                  | 2.32  | 0.149    |     |
| $X_1X_3$ | 0.019                  | 1   | 0.019                  | 2.87  | 0.1124   |     |
| $X_1X_4$ | 0.025                  | 1   | 0.025                  | 3.73  | 0.0740   |     |
| $X_2X_3$ | $4.692 \times 10^{-3}$ | 1   | $4.692 \times 10^{-3}$ | 0.69  | 0.4195   |     |
| $X_2X_4$ | 0.028                  | 1   | 0.028                  | 4.19  | 0.0600   |     |
| $X_3X_4$ | 0.048                  | 1   | 0.048                  | 7.14  | 0.0182   | *   |
| $X_1^2$  | 0.11                   | 1   | 0.11                   | 16.19 | 0.0013   | **  |
| $X_2^2$  | 0.12                   | 1   | 0.12                   | 18.27 | 0.0008   | **  |
| $X_3^2$  | 0.053                  | 1   | 0.053                  | 7.81  | 0.0144   | *   |
| $X_4^2$  | 0.15                   | 1   | 0.15                   | 22.60 | 0.0003   | **  |
| 残差       | 0.095                  | 14  | $6.781 \times 10^{-3}$ |       |          |     |
| 失拟项      | 0.095                  | 10  | $9.475 \times 10^{-3}$ | 4.93  | 0.0523   |     |
| 净误差      | $1.780 \times 10^{-4}$ | 4   | $4.450 \times 10^{-5}$ |       |          |     |
| 总离差      | 0.93                   | 28  |                        |       |          |     |

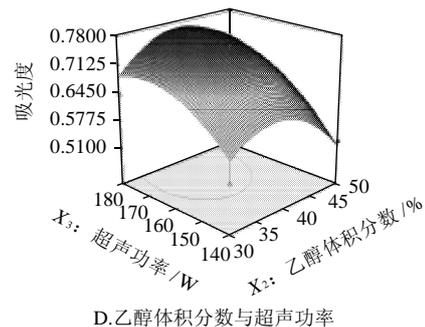
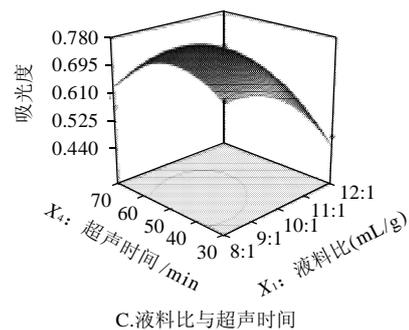
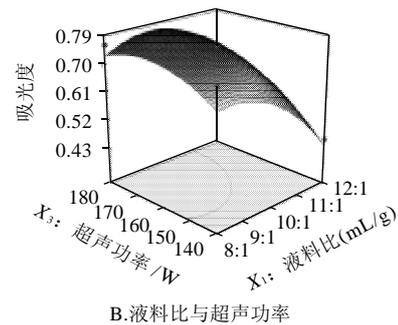
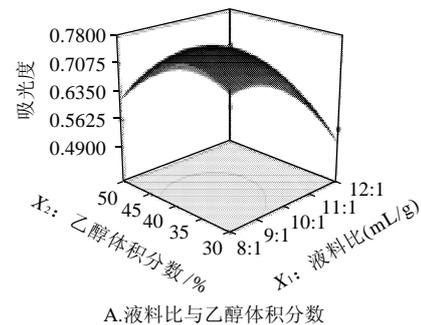
注: \*\*.  $P < 0.01$ , 差异极显著; \*.  $P < 0.05$ , 差异显著。

对二次回归方程各项进行方差分析及显著性检验结果见表 3。结果表明, 该回归模型极显著( $P = 0.0001 < 0.01$ ), 回归模型的决定系数为  $R^2 = 0.9235$ , 失拟项  $P = 0.0523 > 0.05$ , 失拟性检验结果不显著。说明该模型与数据拟合程度较高, 实验误差小, 可以用该模型分析和预测超声法提取刺五加浆果红色素的结果。

此外, 回归方程各项的方差分析结果还表明, 各因素中  $X_1$ 、 $X_3$ 、 $X_1^2$ 、 $X_2^2$ 、 $X_4^2$  对色素提取效果影响极显著, 而  $X_3X_4$  和  $X_3^2$  对色素提取效果影响显著。四个因素中, 对色素提取效果影响最大的为液料比, 其次为超声功率, 再次为乙醇体积分数, 影响最小的为超声时间。

### 2.2.2 响应面分析

为考察各个因素交互作用对吸光度的影响, 在其他因素条件不变的情况下, 分析交互作用对超声波辅助提取刺五加浆果色素效果的影响, 所得响应面图见图 6。



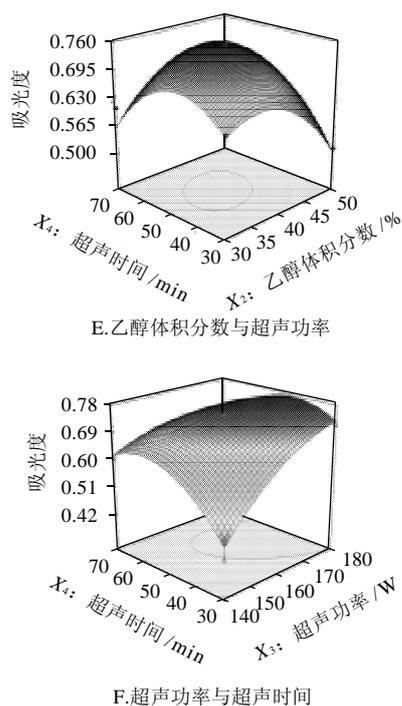


图6 各因素交互作用对吸光度影响的响应面图

Fig.6 Response surface plots showing the interactive effects of extraction parameters on absorbance at 525 nm of extract solutions

图6直观地反映了各因素对响应值的影响,在试验设定的水平范围内,随着每个因素取值的增大,响应对应值也增大;当响应值增大到极值后,随着因素取值的增大,响应值逐渐减小。比较图6可知:液料比和超声功率对刺五加色素提取效果的影响显著,表现为曲线陡峭,随其取值的变化,响应值变化较大;其次是乙醇体积分数,而超声时间对提取效果的影响表现为曲线较平滑,随着取值的变化,响应值变化较小。在交互项对吸光度的影响中,超声功率和超声时间的交互作用对色素的提取效果影响显著。

由Design Expert 7.1.3软件得到超声波辅助提取刺五加浆果色素的最佳提取条件为液料比8.97:1、乙醇体积分数37.47%、超声功率172.30W、超声时间43.23min,在此条件下,刺五加色素提取液的理论吸光度为0.793。

### 2.3 验证实验

为验证模型的有效性,按照选择的最佳工艺进行验证实验,比较实验值与预测值的吻合度。考虑到实际操作的情况,将最佳工艺条件修正为液料比9:1、乙醇

体积分数37.5%、超声功率170W、超声时间43min,在此条件下,进行3次平行实验,得到刺五加色素提取液的平均吸光度为0.791,与理论预测值的误差仅为0.3%,说明采用响应面法得到的优化结果可靠。

### 3 结论

本研究采用响应面法试验设计对超声波辅助提取刺五加浆果色素的工艺参数进行优化,建立的二次多项数学模型具有显著性,拟合度良好。得到超声波辅助提取刺五加浆果色素的最佳工艺条件为液料比9:1、乙醇体积分数37.5%、超声功率170W、超声时间为43min,在此条件下测得色素吸光度为0.791,与理论预测值的误差为0.3%,用该数学模型预测超声波辅助提取刺五加浆果色素可行。

### 参考文献:

- [1] 马远鸣. 超声波技术[M]. 西安: 陕西师范学院出版社, 1980: 30.
- [2] 陈丛瑾, 黄克瀛, 张东峰. 超声波提取白果果红色素的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(8): 80-83.
- [3] SINISTERRA J V. Application of ultrasound to biotechnology: an interview[J]. Ultrasonics, 1992, 30(3): 180-185
- [4] 杨永利, 郭守军, 彭成圆, 等. 超声波辅助提取潮州柑果皮色素的工艺优化[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 487-489.
- [5] 王博, 王建中, 赵良成, 等. 超声波提取辣椒红色素工艺的响应面法优化[J]. 食品科学, 2008, 24(6): 96-101.
- [6] 潘丽军, 范婷婷, 姜绍通, 等. 超声波辅助提取菜籽皮中原花色色素工艺优化[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 47-52.
- [7] HROMADKOVA Z, EBRINGEROVA A. Ultrasonic extraction of plant materials-investigation of hemi cellulose release from buckwheat hulls [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2003, 10(3): 127-133.
- [8] 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(2): 291-294.
- [9] 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): 264-269.
- [10] 丛登立, 王浩天, 高笑一. 刺五加的抗疲劳作用[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2010, 36(5): 891-894.
- [11] 张兰杰, 辛广, 陈华. 三波长-分光光度法测定千山刺五加叶和果总黄酮的含量[J]. 食品科学, 2008, 29(3): 393-395.
- [12] GAFFNEY B T, HÜGEL H M, RICH P A. The effects of *Eleutherococcus senticosus* and *Panax ginseng* on steroidal hormone indices of stress and lymphocyte subset numbers in endurance athletes[J]. Life Science, 2001, 70(4): 432-442.
- [13] 张丽萍, 陈丽颖. 刺五加果化学成分的分析[J]. 东北师大学报: 自然科学版, 1992, 1(1): 123-127.
- [14] 王丽娟. 超声波辅助提取紫丁香叶叶绿素的工艺[J]. 农业工程学报, 2009, 25(增刊 1): 171-174.
- [15] BOX G P, HUNTER W G. Statistics for experiments: An introduction to design, data analysis and model building[M]. New York: John Wiley & Sons Inc., 1978.