

响应面法优化刺五加浆果色素提取工艺

邵信儒, 孙海涛, 郑洪彦, 张 超
(通化师范学院制药与食品科学系, 吉林 通化 134000)

摘 要: 以长白山野生刺五加浆果为原料提取红色素, 在单因素试验基础上, 通过响应面法优化提取工艺。结果表明, 最佳提取工艺条件为乙醇体积分数 36.83%、液料比 23.78:1(mL/g)、提取时间 2.05h, 此条件下刺五加浆果红色素吸光度的预测值为 0.756, 验证实验吸光度为 0.751。

关键词: 刺五加浆果; 色素; 响应面法; 提取

Using Response Surface Methodology for Optimizing Pigment Extraction from *Acanthopanax senticosus* Harms Fresh Fruit

SHAO Xin-ru, SUN Hai-tao, ZHENG Hong-yan, ZHANG Chao
(Department of Pharmaceutics and Food Science, Tonghua Normal University, Tonghua 134000, China)

Abstract: Based on one-factor-at-a-time experiments, response surface methodology was used to optimize the extraction of red pigments from the fresh fruits of *Acanthopanax senticosus* Harms wildly grown in Changbai Mountain. The optimal extraction conditions were found as follows: 36.83% ethanol as extraction solvent, 23.78:1 material-to-liquid ratio, and 2.05 h extraction time. Under these conditions, the predicted and experimental absorbance values at 525 nm of extracts was 0.756 and 0.751, respectively.

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

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)22-0037-05

刺五加(*Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms), 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^[1-2], 始载于我国《神农本草经》, 被列为上品^[3-4]。刺五加的作用特点与人参基本相同, 具有补中、益精、强意志、祛风湿、壮筋骨、活血去瘀、健胃利尿等功能, 久服“轻身耐劳”^[5]。近年药理研究表明: 刺五加除具有免疫调节、抗肿瘤、抗衰老、抗辐射、抗损伤及抗疲劳的作用外, 还具有治疗心脑血管疾病、糖尿病等作用^[6]。其嫩茎既是辽东人们喜爱的山野菜之一, 又是新型保健食品的极好原料^[7]。

近年来刺五加资源被广泛开发, 但刺五加果的开发处于起步阶段。刺五加果为浆果状核果, 果肉饱满, 呈球形或卵形, 9~10月成熟。成熟后由绿色变为紫黑色, 有明显五棱, 是提取天然食用色素的重要原料^[8]。研究表明, 刺五加果中含有 Fe、Se、Cu、Mn 等多种必需微量元素和人体全部必需氨基酸^[9]。前苏联将其作为人参代用品、宇航员保健品^[10]。

通化市地处长白山脚下, 野生刺五加资源丰富, 若能将野生刺五加浆果红色素进行开发, 不但可大幅度提高其附加值, 还可为广大消费者提供安全的食用色素, 使人们在享受美味的同时即可达到养生保健之目的。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面对刺五加浆果红色素提取工艺进行优化, 为刺五加浆果红色素的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

刺五加浆果: 2010年10月采自内蒙古通化市。95%乙醇、浓盐酸、氢氧化钠均为分析纯。

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; HWS26型电热恒温水浴锅、DHG-9245A型电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科技有限公司; 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 上海精天电子仪器有限公司

收稿日期: 2011-06-15

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: 邵信儒(1981—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为农产品加工。E-mail: shaixinru@126.com

公司; TDL80-2B 离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 刺五加浆果红色素吸收光谱

将刺五加浆果红色素浸提液稀释后在 450~700nm 波长范围内进行光谱扫描, 确定色素的吸收光谱。

1.2.2 刺五加浆果红色素的提取和测定

工艺流程: 刺五加浆果→洗净→烘干→粉碎→浸提→定容→过滤→离心→测定吸光度^[11-12]。

操作要点: 将原料清洗干净, 50℃烘干, 粉碎过 20 目, 备用。准确称取 1g 刺五加浆果粉末在不同条件下浸提, 浸提后用相应体积分数及 pH 值的乙醇溶液定容至 200mL, 静置过滤, 滤液在 4000r/min 条件下离心 10min, 去除固形物。以相应体积分数及 pH 值的乙醇溶液做对照, 在最大吸收波长处测定吸光度。平行实验 3 次, 取平均值。

1.2.3 单因素试验

采用醇提法提取刺五加浆果红色素, 考察 pH 值、浸提温度、乙醇体积分数、液料比、提取时间对提取效果的影响。

1.2.4 响应曲面优化试验

在单因素试验的基础上, 选取乙醇体积分数、液料比、提取时间为自变量, 刺五加浆果红色素的吸光度为响应值, 通过 Design Expert 7.1.3 软件设计三因素三水平的二次回归分析, 预测刺五加浆果红色素提取的最佳工艺^[13-14]。响应面分析因素与水平表 1。

表 1 响应面分析因素与水平

Table 1 Code values and corresponding actual values of the optimization parameters used in response surface analysis

水平	因素		
	X ₁ 乙醇体积分数/%	X ₂ 液料比(mL/g)	X ₃ 提取时间/h
-1	30	20:1	1
0	40	30:1	2
1	50	40:1	3

2 结果与分析

2.1 最大吸收波长的确定

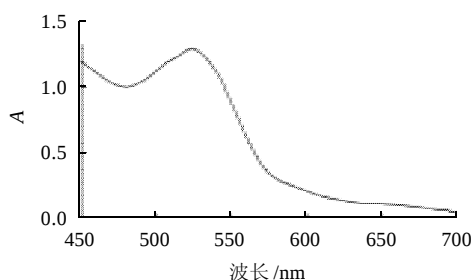


图 1 刺五加色素浸提液的吸收光谱
Fig.1 Absorption spectrum of red pigments extracted from *Acanthopanax senticosus* Harms

由图 1 可看出, 刺五加浆果红色素溶液的吸收光谱在 $\lambda = 525\text{nm}$ 处有明显吸收峰。因此, 可选取 $\lambda_{\text{max}} = 525\text{nm}$ 作为测定刺五加浆果红色素溶液吸光度的特定波长。

2.2 单因素试验

2.2.1 pH 值对提取效果的影响

将精确称取的 1g 刺五加浆果粉末于三角烧瓶中, 分别加入 pH1、2、3、4、6、8、10 的 40% 乙醇溶液 20mL, 在 70℃条件下浸提 2h, 用相应 pH 值的 40% 乙醇溶液定容至 200mL, 离心后测定吸光度。

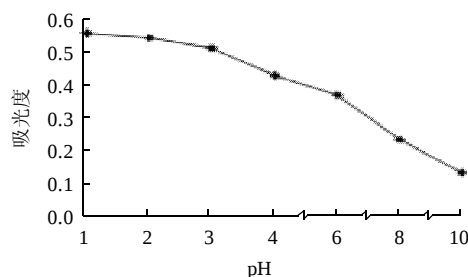


图 2 不同 pH 值对吸光度的影响
Fig.2 Effect of pH on red pigment extraction from *Acanthopanax senticosus* Harms

pH 值对花色素的结构和稳定性影响很大, 最直观的特征就是外观颜色的变化。在酸性条件下, 刺五加浆果色素呈红色, 在碱性条件下呈绿色。由图 2 可知, 随着 pH 值的升高吸光度减小。pH1~3 的酸化乙醇溶液提取效果较好。但在 pH1 时, 有絮状物产生, 考虑到提取效果、稳定性等因素, 本研究选择 pH2 的乙醇溶液为提取剂^[15]。

2.2.2 提取温度对提取效果的影响

将精确称取的 1g 刺五加浆果粉末于三角烧瓶中, 加入 pH2 的 40% 乙醇溶液 20mL, 分别在 40、50、60、70、80、90℃条件下浸提 2h, 用 pH2 的 40% 乙醇溶液定容至 200mL, 离心后测定吸光度。

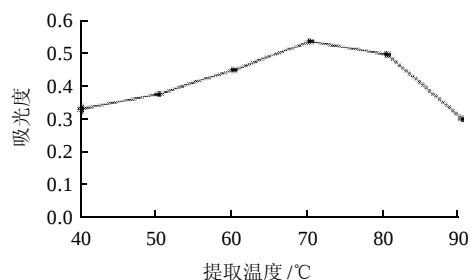


图 3 不同提取温度对吸光度的影响
Fig.3 Effect of temperature on red pigment extraction from *Acanthopanax senticosus* Harms

由图3可知,提取温度对色素提取也有一定的影响,提取温度在40~70℃时,吸光度随温度的升高而增大,提高浸提温度有助于色素的溶出。但当提取温度高于70℃时,吸光度随温度的升高反而降低,颜色也由深红色趋于深褐色,并产生絮状物,这是由于温度过高导致色素不稳定。因此本研究选择70℃为最佳提取温度。

2.2.3 乙醇体积分数对提取效果的影响

将精确称取的1g刺五加浆果粉末于三角烧瓶中,分别加入pH2的10%、20%、30%、40%、50%、75%、95%乙醇溶液20mL,在70℃条件下浸提2h,用pH2相应体积分数的乙醇溶液定容至200mL,离心后测定吸光度。

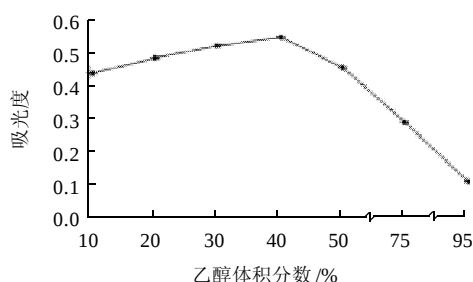


图4 不同乙醇体积分数对吸光度的影响

Fig.4 Effect of alcohol concentration on red pigment extraction from *Acanthopanax senticosus* Harms

由图4可知,随着乙醇体积分数的增加,色素的吸光度有上升的趋势,当乙醇体积分数为40%时达到最大值,之后随着乙醇体积分数的继续增加,色素的吸光度下降,浸提液中水的减少可能降低色素的溶出量。

2.2.4 液料比对提取效果的影响

将精确称取的1g刺五加浆果粉末于三角烧瓶中,分别按照10:1、20:1、30:1、40:1、50:1的液料比加入pH2的40%乙醇溶液,在70℃条件下浸提2h,用pH2的40%乙醇溶液定容至200mL,离心后测定吸光度。

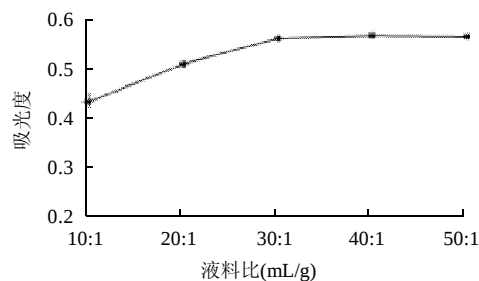


图5 不同液料比对吸光度的影响

Fig.5 Effect of material-to-liquid ratio on red pigment extraction from *Acanthopanax senticosus* Harms

由图5可知,随着液料比的增大,色素的吸光度增大,当液料比达到30:1时,继续增大液料比色素吸光度变化不明显。说明此时色素已提取充分,同时考

虑到乙醇用量及实验成本等因素^[16],选择液料比20:1、30:1、40:1为响应面分析考察水平。

2.2.5 提取时间对提取效果的影响

将精确称取的1g刺五加浆果粉末于三角烧瓶中,加入pH2的40%乙醇溶液20mL,在70℃条件下分别浸提1、2、3、4、5h,用pH2的40%乙醇溶液定容至200mL,离心后测定吸光度。

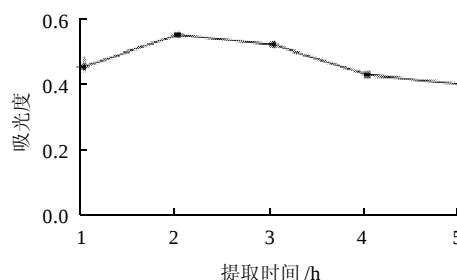


图6 不同提取浸提时间对吸光度的影响

Fig.6 Effect of ethanol soaking time on red pigment extraction from *Acanthopanax senticosus* Harms

由图6可知,起始阶段随着浸提时间的延长,色素的浸出量增加。但由于长时间受热,色素发生热降解^[17],浸提2h后吸光度有下降的趋势,故不宜在加热情况下长时间浸提,提取时间以2h为宜。

2.3 响应面实验

2.3.1 试验结果及模型建立与检验

表2 响应面实验设计结果

Table 2 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	因素			吸光度
	X ₁ 乙醇体积分数/%	X ₂ 液料比(mL/g)	X ₃ 提取时间/h	
1	-1	0	-1	0.596
2	0	-1	1	0.628
3	0	1	-1	0.534
4	0	-1	-1	0.599
5	-1	-1	0	0.698
6	-1	1	0	0.526
7	0	0	0	0.676
8	0	0	0	0.685
9	1	1	0	0.431
10	0	1	1	0.426
11	-1	0	1	0.535
12	1	-1	0	0.568
13	0	0	0	0.678
14	0	0	0	0.689
15	1	0	-1	0.422
16	0	0	0	0.683
17	1	0	1	0.621

利用 Design Expert 7.1.3 软件对表2数据进行二次多元回归拟合,得到刺五加浆果红色素吸光度与自变量

X_1 、 X_2 和 X_3 的二次回归方程： $Y = 0.68 - 0.039X_1 - 0.072X_2 + 7.375 \times 10^{-3}X_3 + 8.750 \times 10^{-3}X_1X_2 + 0.065X_1X_3 - 0.034X_2X_3 - 0.065X_1^2 - 0.062X_2^2 - 0.074X_3^2$ 。

模型的可靠性可依据表3考察,结果表明,模型是显著的($P < 0.05$),回归模型的决定系数为0.9421,说明该模型能够很好地描述试验结果。因此,可用此模型对刺五加浆果红色素提取量进行分析和预测。此模型预测了乙醇体积分数、液料比、提取时间对刺五加浆果红色素浸提效果的影响。由表3可知, X_1 、 X_2 、 X_1X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 为显著影响因素。

表3 回归方程方差分析表

Table 3 Analysis of variance for the developed regression model

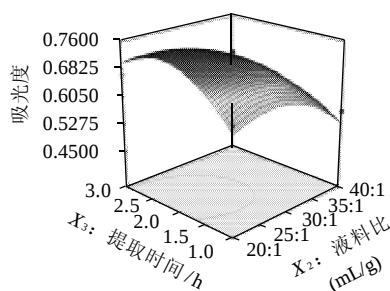
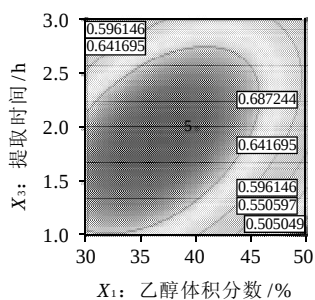
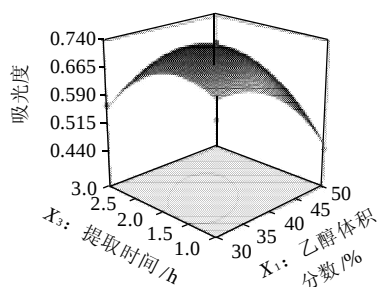
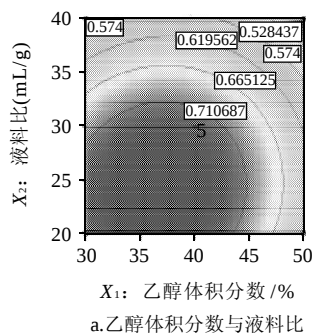
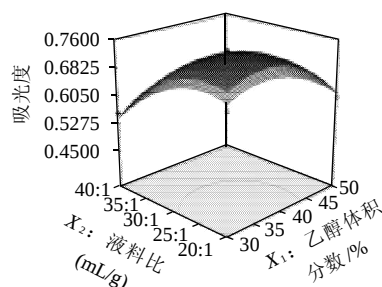
方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	0.14	9	0.015	12.65	0.0015
X_1	0.012	1	0.012	10.01	0.0158
X_2	0.041	1	0.041	33.90	0.0006
X_3	4.351×10^{-4}	1	4.351×10^{-4}	0.36	0.5697
X_1X_2	3.063×10^{-4}	1	3.063×10^{-4}	0.25	0.6322
X_1X_3	0.017	1	0.017	13.81	0.0075
X_2X_3	4.692×10^{-3}	1	4.692×10^{-3}	3.84	0.0910
X_1^2	0.018	1	0.018	14.47	0.0067
X_2^2	0.016	1	0.016	13.06	0.0086
X_3^2	0.023	1	0.023	18.77	0.0034
残差	8.564×10^{-3}	7	1.223×10^{-3}		
失拟项	8.453×10^{-3}	3	2.818×10^{-3}	101.72	0.0635
净误差	1.108×10^{-4}	4	2.770×10^{-5}		
总离差	0.15	16			

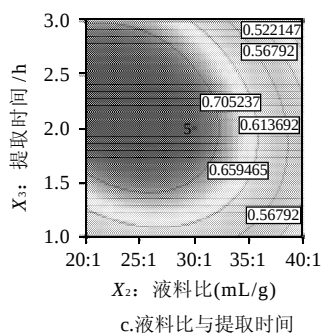
注: 决定系数 $R^2 = 0.9421$; 调整性决定系数 $R^2 = 0.8676$; 预测性决定系数9.327。

2.3.2 各两因素交互作用分析

在其他因素条件不变的情况下,分析各两因素交互作用对浸提效果的影响,结果见图7。由图7a可以看出,当提取时间为2h时,乙醇体积分数和液料比对吸光度的交互作用不显著。由响应面图可知,在试验设定的料液比范围内,随着液料比的增大,吸光度增大;但当液料比超过一定范围后,吸光度下降明显。随着乙醇体积分数的增大,吸光度先升高再下降,但变化不明显。由图7b可以看出,当液料比为30:1时,乙醇体积分数和提取时间对吸光度的交互作用显著。表明在本试验水平范围内,适当增加提取时间和降低乙醇体积分数可有助于刺五加浆果色素的浸提,增加吸光度。由图7c可以看出,当乙醇体积分数为40%时,在本试验水平范围内,液料比的变化引起的响应面变化比较平坦,对吸光度的影响较小。而随提取时间的变化引起响应面变化比较陡峭,对吸光度的影响较大,即在一定的时间范围内,随提取时间的增加,吸光度增大明显;当超过一定时间后,吸光度略有下降。同时说明,

二者的交互作用中提取时间相对于液料比而言居于主要方面。





固定水平: 乙醇体积分数 40%, 液料比 30:1, 提取时间 2h。

图7 各两因素交互作用对吸光度影响的响应面图和等高线图

Fig.7 Response surface plots showing the interactive effects of various process parameters on red pigment extraction from *Acanthopanax senticosus* Harms

由 Design-Expert 7.1.3 Trial 软件分析出最佳提取条件为乙醇体积分数 36.83%、液料比 23.78:1、提取时间 2.05h, 刺五加浆果红色素吸光度的预测值为 0.756, 验证实验得出色素的平均吸光度为 0.751, 与理论预测值误差仅为 0.6%, 验证结果与预测值偏差较小, 说明采用响应面法得到的工艺参数是可行的。

3 结论

在单因素试验的基础上, 通过响应面法优化刺五加浆果红色素的提取工艺, 建立刺五加浆果红色素吸光度的模型具有显著性, 由 Design-Expert 7.1.3 Trial 软件分析出最佳提取条件为乙醇体积分数 36.83%、液料比 23.78:1、提取时间 2.05h, 刺五加浆果红色素吸光度的预测值为 0.756, 验证实验得出色素的吸光度为 0.751。本研究可为刺五加浆果红色素的研究开发及工业化生产提供理论基础。

参考文献:

- [1] 丛登立, 王浩天, 高笑一. 刺五加果的抗疲劳作用[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2010, 36(5): 891-894.
- [2] 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.
- [3] 顾观光. 神农本草经[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1958: 69.
- [4] 李丽丽, 郑礼胜, 刘向前. 新资源短梗五加及其同属植物根皮中紫丁香苷的 HPLC 测定研究[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 140-143.
- [5] 李庆勇, 付玉杰, 吕欣. 超声法提取刺五加中丁香苷的研究[J]. 植物研究, 2003, 23(2): 182-184.
- [6] 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.
- [7] 张崇禧, 马晓静, 丛登立. GC-MS 分析短梗五加化学成分[J]. 资源开发与市场, 2010, 26(7): 577-579.
- [8] 曹先兰, 李珠莲. 刺五加国外实验研究[J]. 中草药, 1980, 11(6): 277.
- [9] 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.
- [10] 熊筱娟, 姜琼. 五加参主要活性成分的抗应激作用研究[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 748-749.
- [11] 颜廷才, 孟宪军, 葛会齐. 短梗五加果色素提取条件的研究[J]. 食品科技, 2007(7): 125-129.
- [12] HEO S J, PARK E J, LEE K W, et al. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds[J]. Bioresource Technology, 2005, 96(14): 1613-1623.
- [13] 王金华, 秦礼康, 范柳萍. 乌洋芋色素提取工艺优化[J]. 食品科学, 2008, 29(6): 164-169.
- [14] 龚文琼, 刘睿. 响应面法优化微波辅助提取普洱茶中茶色素工艺研究[J]. 食品科学, 2010, 31(8): 137-142.
- [15] SUN B, LEANDRO C, da SILVA J M R, et al. Separation of grape and wine proantho-cyanidins according to their degree of polymerization[J]. J Agric Food Chem, 1998, 46(4):1390-1396.
- [16] DYRBY M. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems[J]. Food Chemistry, 2001, 72(4): 431-437.
- [17] CHIGURUPATI N, SAIKI L, CHARLES G J, et al. Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2002, 241(2): 293-299.