

咎立峰,王更先,叶嘉,等.黄刺玫花色素的提取工艺优化及其稳定性[J].江苏农业科学,2017,45(22):221-224.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.22.060

黄刺玫花色素的提取工艺优化及其稳定性

咎立峰^{1,2},王更先^{1,2},叶嘉^{1,2},陈建中^{1,2},秦柳¹

(1.邯郸学院生命科学与工程学院,河北邯郸 056005; 2.河北省高校冀南太行山区野生资源植物应用研发中心,河北邯郸 056005)

摘要:以冀南太行山区的野生黄刺玫为原料,在单因素试验的基础上,以乙醇浓度、提取时间、提取温度、液料比 4 个单因素为自变量,以色素吸光度为响应值,应用 Design-Expert 8.06 响应面对黄刺玫花色素的提取工艺进行优化。结果表明,提取时间、液料比对色素提取的影响显著,而提取温度、乙醇浓度对色素提取未达到显著水平。响应分析结果发现,提取时间和提取温度的交互作用相对显著,等高线扁平。通过响应面分析得出最佳提取工艺为乙醇浓度 61.73%、提取时间 2.17 h、提取温度 54.62 ℃、液料比 32.74 mL:1 g,理论色素提取液 $D_{505\text{ nm}}$ 为 0.667。稳定性研究结果表明,黄刺玫花色素的光稳定性强、热稳定性差,适宜温度低于 60 ℃ 使用;金属离子(K^+ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mg^{2+})对黄刺玫花色素稳定性影响不大, Al^{3+} 对黄刺玫花色素的稳定性影响明显,且会引起色素变色;氧化剂 H_2O_2 对黄刺玫花色素稳定性影响不明显,而还原剂 NaHSO_3 对黄刺玫花色素的稳定性影响较大;食品添加剂葡萄糖、蔗糖、柠檬酸对黄刺玫花色素的稳定性没有影响,可以与色素混合使用。

关键词:黄刺玫花;响应面;色素;提取工艺;稳定性

中图分类号:R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)22-0221-04

黄刺玫(*Rosa xanthina* Lindl.)别称黄刺梅,是蔷薇科(Rosaceae)蔷薇属(*Rosa*)的落叶灌木,普遍生长在山西、陕西、河北、内蒙古、吉林等地的山丘。黄刺玫花色金黄,花期较长、色泽鲜艳、芳香浓郁,含有槲皮素、苦味质、脂肪油、没食子酸、矢车菊双甙、黄色素、 β -胡萝卜素等有效成分^[1]。黄刺玫花可以用来制作糖果、糕点、蜜饯,也可以被制作成黄刺玫花酒、花露、花酱,干花还可以泡茶喝。黄刺玫花茶性温和、降火气,经常饮用可柔肝醒胃、活血散瘀、理气解郁、排毒养颜、促进人体新陈代谢^[2]。

王育水等发现,黄刺玫花的药学价值应用广阔,特别是对心血管病、人体炎症、糖尿病及肿瘤等有非常好的效果^[3]。黄刺玫花的水提物抗氧化作用非常好,可提高 SOD 的活性,起到延缓衰老的作用;黄刺玫花的乙醇浸提物具有中枢抑制活性。虽然黄刺玫花的医药价值很高,但是国内外对黄刺玫花综合使用的相关研究很少,大多集中在其所含的挥发油上,而关于黄刺玫花色素的详细文献并不多。探究黄刺玫花色素最佳的工艺条件及其稳定性有利于提高黄刺玫的综合利用。

1 材料与方法

1.1 材料

2015 年 4 月在河北省邯郸市西部太行山区采集黄刺玫花,采集后放置于冰箱冷冻,使用前粉碎过 40 目筛,并且用正

己烷脱脂处理,脱脂后自然干燥备用。

1.2 方法

1.2.1 单因素提取 准确称取等量的黄刺玫花脱脂粉 5 份,每份 1 g,乙醇浓度为 60%,液料比为 20 mL:1 g,40 ℃ 水浴浸提,考察浸取时间(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h)对色素提取的影响;同样考察乙醇浓度(50%、60%、70%、80%、90%)、提取温度(30、40、50、60、70℃)和液料比(10 mL:1 g、20 mL:1 g、30 mL:1 g、40 mL:1 g、50 mL:1 g)对色素提取的影响。以上试验均在温度 40 ℃、100 W 功率下,超声辅助提取 20 min。将色素粗提液 4 000 r/min 离心,取上清液,于 505 nm 测其吸光度^[4],重复 3 次。

1.2.2 响应面设计 通过单因素试验确定每个因素的最优条件,采用 Box-Behnke 设计 4 因素 3 水平试验(表 1),利用 Design-Expert 8.06 软件对试验数据进行分析。

表 1 黄刺玫花色素提取工艺优化条件响应面试验因素与水平

水平	A:乙醇浓度(%)	B:提取时间(h)	C:提取温度(℃)	D:液料比(mL:g)
-1	50	1.5	40	20:1
0	60	2.0	50	30:1
1	70	2.5	60	40:1

1.2.3 黄刺玫花色素稳定性研究

1.2.3.1 光照对色素稳定性影响 取等体积的黄刺玫花色素提取液 2 份,分别放在黑暗、室外太阳光下,并在 0、2、4、6、8、10 h 时取样,于 505 nm 处测定色素溶液吸光度,并观察色素颜色的变化,记录 $D_{505\text{ nm}}$ 。

1.2.3.2 温度对色素稳定性影响 取等体积的黄刺玫花色素提取液 5 份,分别放在不同温度(30、40、60、80、100 ℃)的恒温水浴锅中加热 1 h,冷却后在 505 nm 处测定色素溶液吸

收稿日期:2016-06-14

基金项目:河北省高等学校科学技术研究项目(编号:QN2016309);

河北省高等学校青年拔尖人才计划(编号:BJ2017103)。

作者简介:咎立峰(1980—),男,内蒙古乌兰察布人,博士研究生,讲师,从事天然产物开发利用研究。E-mail: tengfei007zlf@126.com。

光度,并观察色素的颜色变化,记录 $D_{505\text{nm}}$ 。

1.2.3.3 金属离子对色素稳定性影响 将 KCl 、 CaCl_2 、 NaCl 、 MgCl_2 、 AlCl_3 试剂配制成不同浓度(0、0.001、0.005、0.010、0.050、0.100 mg/mL)的溶液,准确量取 25 份黄刺玫花色素粗提液,每份 10 mL 分别加入上面等体积的离子溶液。1 h 后在 505 nm 处测定色素吸光度,并观察色素颜色变化,记录 $D_{505\text{nm}}$ 。

1.2.3.4 氧化还原剂对色素稳定性影响 以 H_2O_2 为氧化剂,以 NaHSO_3 为还原剂,配制不同浓度(0、0.01、0.02、0.10、0.20 mg/mL)的 H_2O_2 和 NaHSO_3 ,分别加入等体积的色素粗提液中,混匀后放置 1 h,于 505 nm 处测定色素吸光度,并观察色素的颜色变化,记录 $D_{505\text{nm}}$ 。

1.2.3.5 食品添加剂对色素稳定性影响 准确吸取等体积的黄刺玫花色素提取液 9 份,在初始浓度下黄刺玫色素 $D_{505\text{nm}}$ 为 0.564,分别加入定量的 1%、2%、3% 葡萄糖溶液,1%、2%、3% 蔗糖溶液,1%、2%、3% 柠檬酸溶液。1 h 后观察色素的颜色变化,并在 505 nm 处测定色素吸光度 $D_{505\text{nm}}$ 。

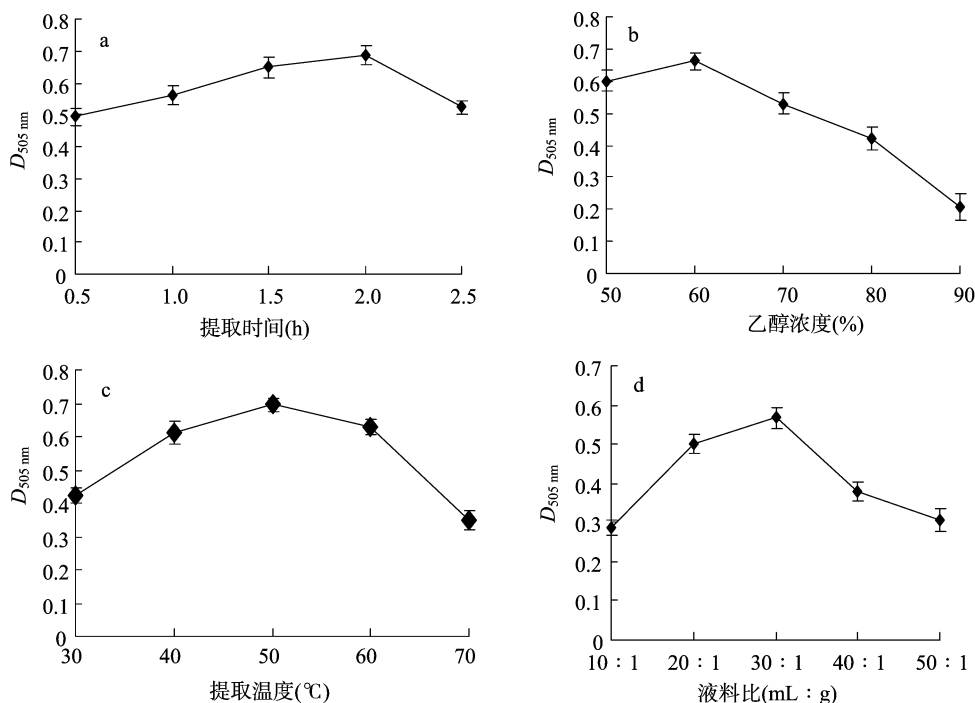


图1 提取时间(a)、乙醇浓度(b)、提取温度(c)及液料比(d)对色素提取的影响

2.2 黄刺玫花色素提取条件优化

2.2.1 响应面中心组合试验设计与结果 通过试验方案得到 4 因素 3 水平,共 29 次试验点(表 2),其中析因部分试验 24 次,区域中心点重复试验 5 次。试验以随机次序排列,利用 Design-Expert 8.06 软件对数据进行多元回归拟合,得出以吸光度 y 为目标函数的二次多项回归方程:

$$y = 0.64 + 0.034A + 0.049B + 0.038C + 0.048D - 2.000AB + 0.028AC - 3.500AD + 0.033BC - 0.018BD + 0.029CD - 0.13A^2 - 0.085B^2 - 0.068C^2 - 0.100D^2。$$

由表 3 可知,模型的显著水平 $P=0.0105 < 0.05$,说明试验所采用的二次多项模型的显著性良好。一次项 B 、 D 及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 的 P 值均小于 0.05,可知这些一次、二次

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

由图 1-a 可知,在 0.5~2.0 h 内随着提取时间的延长,色素吸光度逐渐升高,然后在 2.0~2.5 h 内随着提取时间的延长,色素吸光度降低。可能是因为黄刺玫花色素对热不稳定,随着提取时间的延长,发生氧化。由图 1-b 可看出,当乙醇浓度为 50%~60% 时,黄刺玫花色素提取效果随着乙醇浓度的增加而提高,而乙醇浓度在 60%~90% 时,吸光度急速下降,使用 60% 乙醇溶液时,吸光度达到最高,因此将响应面设计的乙醇浓度设在 50%~70% 区间范围。由图 1-c 可知,在 30~50 °C 范围内,提取温度与色素吸光度呈正相关,50~70 °C 为负相关。可能是温度过高导致色素分解,不利于色素的提取。由图 1-d 可知,液料比对色素的提取具有很大的影响,随着使用溶剂体积的增多,色素提取效果也越来越好,用量为 30 mL 时,吸光度最大。而液料比从 30 mL:1 g 变化到 50 mL:1 g 的过程中吸光度下降并趋于稳定。

项对色素提取有明显影响;但交互项显著性较差,表明色素提取与单因素并非简单的线性相关。由表 3 还可看出,影响黄刺玫花色素提取因素的高低顺序为提取时间 > 液料比 > 提取温度 > 乙醇浓度。 $R^2=0.8853$,模型失拟项 $P=0.4988 > 0.05$,差异不显著,这表明数据拟合效果较好,因此可以用模型进行试验和预测。因此选择合适的模型,得到黄刺玫花色素的最优提取工艺。

2.2.2 各因素交互作用响应曲面 响应面图能直观表现出各因素对响应值的作用,等高线的形状可以表现出相互作用的程度,椭圆形表示两因素相互作用明显,而圆形则相反^[5]。图 2 分别为 6 组试验参数以黄刺玫花色素吸光度为响应值的趋势。其中提取时间(B)与提取温度(C)的相互作用相对明

表 2 Box - Behnken 试验设计与结果

试验号	因素				吸光度 y
	A:乙醇浓度	B:提取时间	C:提取温度	D:液料比	
1	-1	-1	0	0	0.383
2	-1	1	0	0	0.496
3	-1	0	0	-1	0.352
4	1	0	0	1	0.484
5	0	0	0	0	0.679
6	0	0	0	0	0.695
7	0	0	0	0	0.673
9	0	0	-1	1	0.491
10	0	1	0	1	0.551
11	0	0	-1	-1	0.461
12	0	1	-1	0	0.493
13	1	0	0	-1	0.473
14	0	-1	0	-1	0.318
15	0	-1	-1	0	0.428
16	0	-1	1	0	0.439
17	0	-1	0	1	0.535
18	-1	0	-1	0	0.317
19	0	0	1	1	0.531
20	1	-1	0	0	0.346
21	0	1	0	-1	0.404
22	1	0	1	0	0.617
23	0	0	0	0	0.635
24	-1	0	0	1	0.377
25	1	1	0	0	0.451
26	-1	0	1	0	0.431
27	1	0	-1	0	0.389
28	0	0	0	0	0.523
29	0	0	1	-1	0.385

表 3 回归模型的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.270	14	0.019	3.66	0.010 5 *
A	0.014	1	0.014	2.60	0.129 3
B	0.028	1	0.028	5.39	0.035 8 *
C	0.018	1	0.018	3.37	0.087 8
D	0.028	1	0.028	5.28	0.037 5 *
AB	1.600×10^{-5}	1	1.600×10^{-5}	3.056×10^{-3}	0.956 7
AC	3.249×10^{-3}	1	3.249×10^{-3}	0.62	0.443 9
AD	4.900×10^{-5}	1	4.900×10^{-5}	9.360×10^{-3}	0.924 3
BC	4.356×10^{-3}	1	4.356×10^{-3}	0.092	0.377 1
BD	1.225×10^{-3}	1	1.225×10^{-3}	1.93	0.636 0
CD	3.364×10^{-3}	1	3.364×10^{-3}	0.23	0.436 2
A^2	0.110	1	0.11	21.10	0.000 4 **
B^2	0.047	1	0.047	8.95	0.009 7 **
C^2	0.030	1	0.030	5.69	0.031 8 *
D^2	0.065	1	0.065	12.33	0.003 5 **
残差	0.073	14	5.235×10^{-3}		
失拟项	0.089	10	5.394×10^{-3}	1.12	0.498 8
净误差	0.019	4	4.836×10^{-3}		
总变异	0.340	28			

注:“*”、“**”分别表示在 0.05、0.01 水平上差异显著。

显,表现的等高线扁平,其他项的相互作用相对较弱,与模型方差结果一致。

2.2.3 黄刺玫花色色素提取最佳条件的确定 由 Design - Expert 8.06 软件分析确定黄刺玫花色色素的最优提取条件为:乙醇浓度 61.73%、提取时间 2.17 h、提取温度 54.62 ℃、液料比 32.74 mL : 1 g,理论色素粗取液 $D_{505\text{ nm}}$ 为 0.667。但为了方便试验,将条件改为:乙醇浓度 62%、提取时间 2 h、提取温度 55 ℃、液料比 33 mL : 1 g。在最优条件下色素粗取液的 $D_{505\text{ nm}}$ 为 0.645,与理论值相差 0.022,差值很小,响应值的试验值与回归方程预测值接近,表明优化后结果是准确的,可以应用到实际试验中。

2.3 黄刺玫花色色素稳定性分析结果

由图 3 - a 可知,在日光下,黄刺玫花色色素的 $D_{505\text{ nm}}$ 变化不明显,色素颜色没有变化。由图 3 - b 可知,温度对色素稳定性有明显的影响,当温度为 30 ~ 60 ℃ 时,色素 $D_{505\text{ nm}}$ 变化较小且颜色没有变化。当温度高于 60 ℃ 时,色素溶液的 $D_{505\text{ nm}}$ 迅速下降,色素色调变成暗黄色。由图 3 - c 可知,常见的几种金属离子 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 浓度对色素稳定性无明显影响,色素颜色没有变化,而添加 Al^{3+} 后,色素溶液变浑浊且颜色变为黄褐色,表明 Al^{3+} 对黄刺玫花色色素的稳定性有不利的影响。由图 3 - d 可知,黄刺玫花色色素对还原剂 NaHSO_3 稳定性较差,随着还原剂 NaHSO_3 浓度的增加, $D_{505\text{ nm}}$ 下降,颜色呈现暗黄色,而对氧化剂 H_2O_2 相对稳定。由图 3 - e 可知,不同浓度的食品添加剂葡萄糖、蔗糖、柠檬酸对色素的稳定性没有明显影响,且色素色调没有发生变化。

3 结论

黄刺玫花色金黄、花期较长、色泽鲜艳、芳香浓郁,含有槲皮素、苦味质、脂肪油、没食子酸、矢车菊双甙、黄色素、 β -胡萝卜素等有效成分。本研究以野生黄刺玫花原料,通过响应曲面分析对黄刺玫花色色素的最佳提取条件并对其稳定性进行分析。结果表明,黄刺玫花色色素最佳提取工艺为乙醇浓度 61.73%、提取时间 2.17 h、提取温度 54.62 ℃、液料比 32.74 mL : 1 g,且影响条件的高低顺序为提取时间 > 液料比 > 提取温度 > 乙醇浓度。同时由黄刺玫花色色素的稳定性分析结果可知,色素对光照稳定,对热敏感,加工过程中应选择温度低于 60 ℃ 操作;金属离子 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等较稳定,但是对 Al^{3+} 不稳定;色素对氧化剂 H_2O_2 性能较好;色素对常见的食品添加剂葡萄糖、蔗糖、柠檬酸几乎没有变化。本试验结果为综合开发利用黄刺玫花奠定基础。

参考文献:

- [1] 苏俊霞,毕润成,刘文军,等. 黄刺玫群落特征及种群分布格局的研究[J]. 山西师范大学学报(自然科学版),2002,16(1):66 - 71.
- [2] 李 萍. 野生黄刺玫的开发利用[J]. 农产品加工,2010(6):30 - 31.
- [3] 王育水,权玉萍,辛泽华,等. 南太行山区黄刺玫资源调查及开发利用[J]. 焦作师范高等专科学校学报,2014,30(2):77 - 79.
- [4] 王常青,陈 娟,宋仙芝. 黄刺玫色素及其稳定性研究[J]. 食品工业科技,1996(6):9 - 12.
- [5] 张 儒,张变玲,谢 涛,等. 响应面法优化人参不定根中总皂苷的提取工艺[J]. 天然产物研究与开发,2015,27(4):726 - 731.

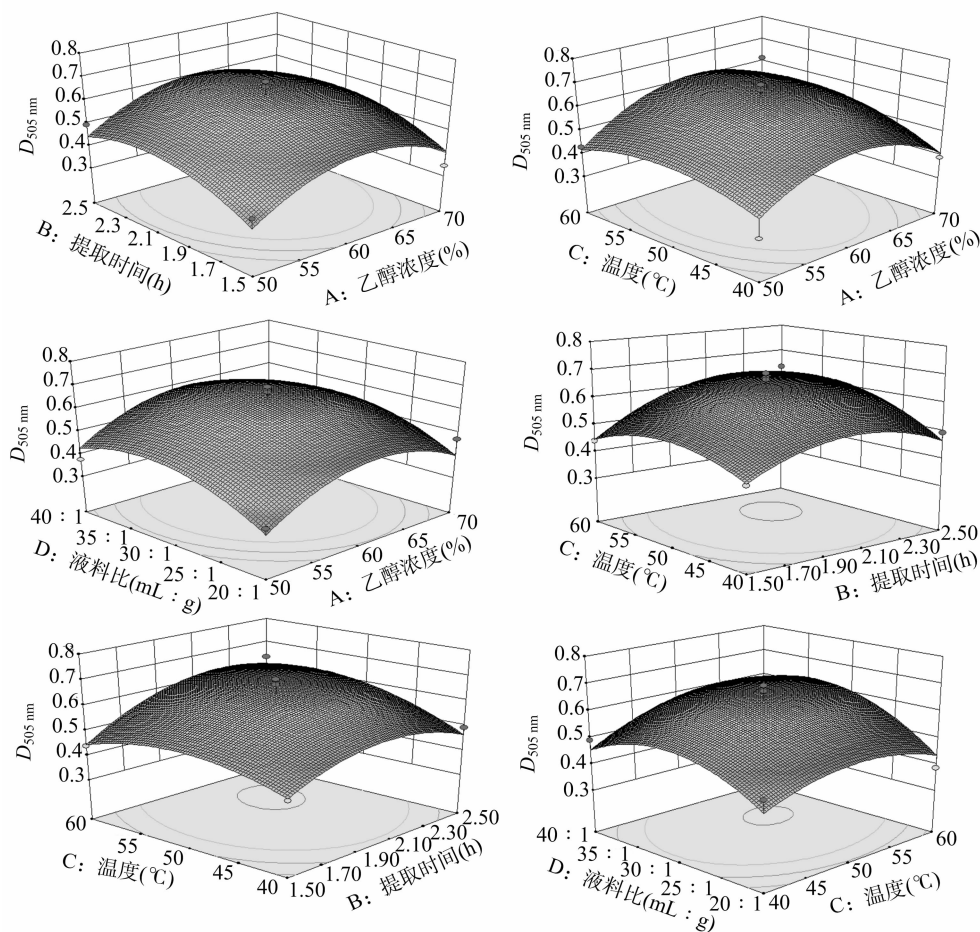


图2 影响色素提取的响应面曲面分析

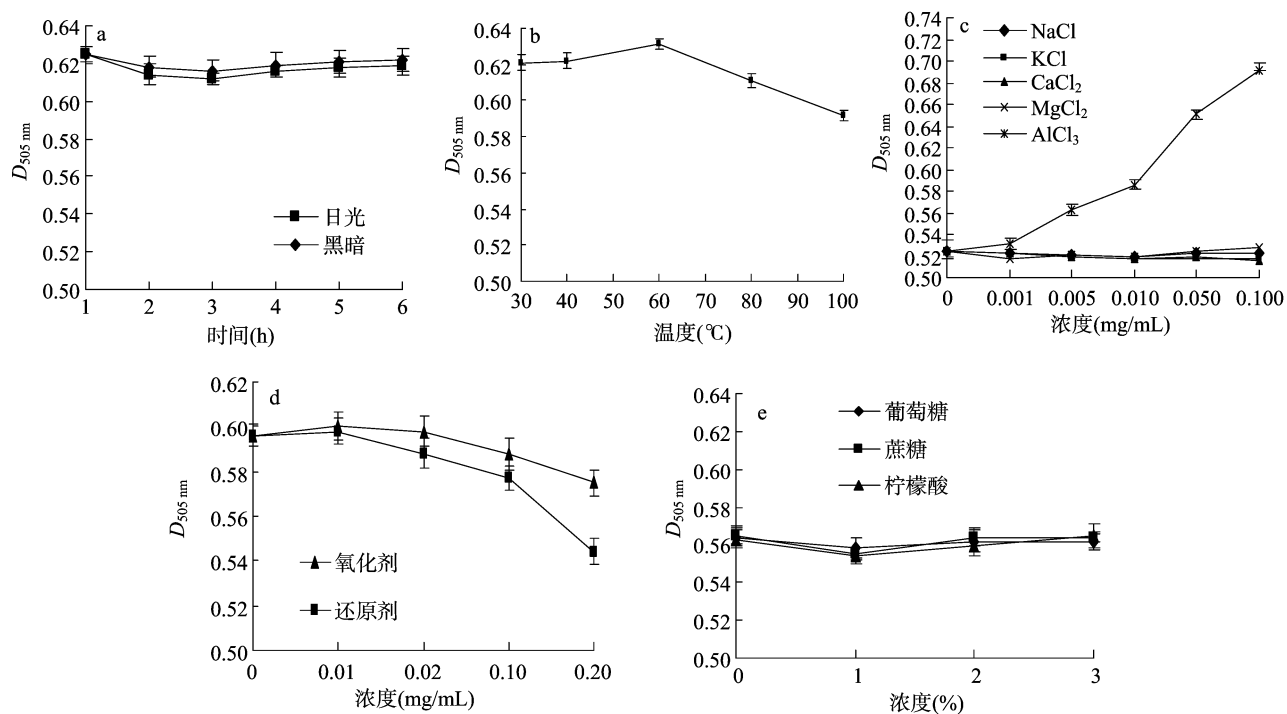


图3 光照(a)、温度(b)、金属离子(c)、氧化还原剂(d)和食品添加剂(e)对色素稳定性的影响