

响应面法优化紫色菊花花瓣中花青素苷的提取工艺

刘海英^a, 邢晨涛^a, 李凤阳^b, 王凤杰^b, 王亚涛^a, 刘宁^a

(河南师范大学 a.生命科学学院; b.新联学院, 河南 新乡 453007)

摘要:采用响应面分析法优化紫色菊花花瓣中花青素苷的提取工艺.本试验以紫色菊花品种“红五九”自然晾干陈放后花瓣为材料,采用 Box-Behnken 中心组合试验设计,获得多元二次回归方程,并预测紫色菊花花瓣花青素苷得率.结果表明,分别以酸性乙醇和酸性甲醇为浸提液时,紫色菊花花瓣花青素苷的最佳提取工艺参数为:乙醇浓度 90%(V/V),盐酸浓度 $0.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、盐酸与乙醇体积比 1:1、温度 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 、料液比 1:70;甲醇浓度 100%(V/V),盐酸浓度 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、盐酸与甲醇体积比 1:1、温度 $42 \text{ }^\circ\text{C}$ 和料液比 1:70,一次浸提的花青素苷得率分别为 $8\ 266.03 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $7\ 916.04 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,与前期研究通过正交试验获得的最优工艺参数下的花青素苷得率均有明显提高,以酸性乙醇为浸提液效果较好,可为紫色菊花花瓣花青素苷的生产提供参考.

关键词:菊花;花青素苷;提取;最优工艺条件;响应面法

中图分类号:R917

文献标志码:A

花青素苷是一种天然色素^[1],具有抗氧化性^[2],抗肿瘤^[3],延缓或防止视网膜锥变性^[4],抗心血管疾病的发生^[5,6]等多种保健功能.有关从植物中提取色素尤其是花青素苷的研究^[7],逐渐受到人们的关注.菊花性微寒,甘苦,归肺、肝经;主治功能为散风清热,平肝明目,清热解毒.有关菊花的研究主要集中在种质资源^[8]和药用价值^[9-11]等方面.紫色菊花花瓣中富含花青素苷,有关紫色菊花花瓣花青素苷提取方面的研究目前报道较少.

响应面分析法(Response Surface Methodology, RSM)通过多元二次回归方程拟合,确定因素与响应值之间的函数关系,进而筛选出最优工艺参数^[12].RSM 在中药有效成分的提取研究中的应用日益广泛^[13],但在紫色菊花花瓣花青素苷提取工艺优化方面的应用尚未见报道.本课题组前期对紫色菊花花瓣花青素苷提取的影响因素进行了单因素试验和正交试验,但在实践中仍然存在提取率有待提高的问题(内部资料,未发表).因此,本试验采用响应面法对其提取工艺进一步优化,以期为紫色菊花花青素苷的工业化生产提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料和试剂

材料:选用紫色菊花(*Chrysanthemum × morifolium* Ramat)品种“红五九”的花瓣为试验材料,新鲜花瓣在室内通风处自然晾干,黑暗干燥处陈放 3 个月后,用于花青素苷提取.

试剂:无水乙醇($\geq 99.7\%$,质量分数,分析纯 AR);无水甲醇($\geq 99.5\%$,质量分数,分析纯 AR);盐酸($36\% \sim 38\%$,质量分数).

1.2 紫色菊花花瓣花青素苷提取工艺流程和花青素苷得率的测定

精确称取紫色菊花花瓣物料 $0.200\ 0 \text{ g}$,在试验设计条件下浸提后过滤得到浸提液,用 $80\%(V/V)$ 乙醇: $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸(1:2)混合溶液按 20 倍稀释花青素苷提取液至 5 mL ,摇匀后在 519 nm 波长处测定吸光度 $A_{519 \text{ nm}}$,并计算花青素苷得率(见公式 1)和花青素苷提取率(见公式 2).

公式(1):花青素苷得率 $/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = (A \times n \times V) / (0.077\ 2 \times W)$.

收稿日期:2017-01-10;修回日期:2017-06-20.

基金项目:河南省科技厅工业类重点攻关(142102210057)

作者简介(通信作者):刘海英(1974—),女,河南鹤壁人,河南师范大学副教授,博士,从事植物生理研究, E-mail: 2217861000@qq.com.

式中:A 为吸光度;n:稀释倍数;V:提取液总体积/mL;W:菊花花瓣质量/g;0.077 2 为吸收系数.

公式(2):花青素苷提取率/%=(q/p)×100

式中:q 为各处理花青素苷的得率 μg·g⁻¹;p 为物料中总花青素苷的含量 μg·g⁻¹.

1.3 响应面法试验

本课题组通过前期单因素试验,分别以酸性乙醇和酸性甲醇为浸提剂,针对获得较高的花青素苷得率筛选出了较为适宜的工艺参数,具体为:乙醇浓度是 90%(V/V)、盐酸浓度是 0.5 mol·L⁻¹、浸提时间 24 h、乙醇盐酸体积比是 1:2、料液比 1:50、浸提温度 50℃;甲醇浓度 100%(V/V)、盐酸浓度 1.0 mol·L⁻¹、浸提时间 24 h、甲醇盐酸体积比 1:1、料液比 1:50、温度 30℃.在此基础上开展了正交试验,筛选出了较好工艺参数组合,具体为:乙醇 90%(V/V)、盐酸 0.1 mol·L⁻¹、浸提时间 24 h、乙醇与盐酸的体积比 1:2、料液比 1:50、浸提温度 50℃;盐酸 0.1 mol·L⁻¹、甲醇 100%(V/V)、浸提时间 24 h、乙醇与盐酸的体积为 1:3、料液比 1:70、浸提温度 50℃.响应面法试验设计^[15-18]采用 Box-Behnken 模型,以盐酸浓度/(mol·L⁻¹)(A)、盐酸乙/甲醇体积比(B)、温度/℃(C)、料液比(D)为主要考察因素,用-1、0、1 表示每个自变量的低、中、高水平,以花青素苷得率为响应值(Y),进行响应面分析实验,因素水平设计见表 1 和表 2.在通过响应面法对花青素苷提取工艺进行优化后,对优化后的提取工艺进行验证试验,并与已有正交试验所选出的参数组合的提取效果进行对比.

表 1 Box-Behnken 试验因素水平表(乙醇)

| 代码 | 因素 | 水平 | | |
|----|-----------------------------|-----|-----|-----|
| | | -1 | 0 | 1 |
| A | 盐酸浓度/(mol·L ⁻¹) | 0.1 | 0.5 | 0.9 |
| B | 盐酸与乙醇体积比 | 1 | 2 | 3 |
| C | t/℃ | 40 | 50 | 60 |
| D | 液料比 | 50 | 60 | 70 |

表 2 Box-Behnken 试验因素水平表(甲醇)

| 代码 | 因素 | 水平 | | |
|----|-----------------------------|-----|-----|-----|
| | | -1 | 0 | 1 |
| A | 盐酸浓度/(mol·L ⁻¹) | 0.1 | 0.5 | 0.9 |
| B | 盐酸与甲醇体积比 | 1 | 2 | 3 |
| C | t/℃ | 30 | 40 | 50 |
| D | 液料比 | 50 | 60 | 70 |

1.4 数据统计分析

用 Design Expert 8.0、SPSS 软件和 Excel 2010 进行处理.

2 结果与分析

2.1 紫色菊花花瓣花青素苷提取工艺响应曲面法试验设计与试验结果

基于前期单因素试验结果,本试验在进行响应面设计时,设浸提时间均为 24 h,浸提次数为 1 次,乙醇浓度为 90%(V/V),甲醇浓度为 100%(V/V).以盐酸浓度/mol·L⁻¹(A)、盐酸乙/甲醇体积比(B)、温度/℃(C)、料液比(D)为自变量,以紫色菊花花瓣花青素苷得率为响应值(Y),其中 29 个试验点,包括 24 个析因点和 5 个中央点.有关响应面法的实验结果和试验设计见表 3 和表 4.

2.2 紫色菊花花瓣花青素苷提取工艺模型的建立与显著性分析

采用 Design Expert8.0 软件对表 3 和表 4 进行响应面分析后,得到回归拟合方程:

$$Y_{\text{乙醇}} = +6\ 231.749\ 90 + 11\ 345.617\ 22A + 4\ 550.958\ 95B + 221.194\ 68C - 320.904\ 31D - 923.341\ 15AB - 120.920\ 19AD - 50.847\ 48BD + 3.614\ 73CD - 2\ 146.375\ 94A^2 -$$

$$257.866\ 01B^2 - 5.919\ 58C^2 + 2.874\ 56D^2 \quad (1)$$

$$Y_{\text{甲醇}} = -10\ 503.968\ 53 + 3\ 633.816\ 77A + 933.155\ 35B + 747.541\ 45C + 34.241\ 15D + 228.733\ 14AB - 95.014\ 7BC - 11.987\ 01BD - 882.495\ 69A^2 - 159.796\ 34B^2 - 8.801\ 83C^2 \quad (2)$$

表3 响应面法试验设计与结果(乙醇)

| Std | Run | (A)盐酸浓度/(mol·L ⁻¹) | (B)盐酸与乙醇体积比 | (C)温度/°C | (D)液料比 | (Y)花青素苷得率/(μg·g ⁻¹) |
|-----|-----|--------------------------------|-------------|----------|--------|---------------------------------|
| 29 | 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 7 289.86 |
| 28 | 2 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 6 520.51 |
| 17 | 3 | -1.000 | 0.000 | -1.000 | 0.000 | 7 177.39 |
| 24 | 4 | 0.000 | 1.000 | 0.000 | 1.000 | 5 906.01 |
| 25 | 5 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 7 089.57 |
| 12 | 6 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | 1.000 | 7 514.93 |
| 6 | 7 | 0.000 | 0.000 | 1.000 | -1.000 | 4 762.63 |
| 16 | 8 | 0.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 | 4 173.02 |
| 2 | 9 | 1.000 | -1.000 | 0.000 | 0.000 | 6 758.34 |
| 1 | 10 | -1.000 | -1.000 | 0.000 | 0.000 | 5 835.86 |
| 21 | 11 | 0.000 | -1.000 | 0.000 | -1.000 | 6 526.19 |
| 18 | 12 | 1.000 | 0.000 | -1.000 | 0.000 | 6 878.67 |
| 14 | 13 | 0.000 | 1.000 | -1.000 | 0.000 | 8 773.59 |
| 22 | 14 | 0.000 | 1.000 | 0.000 | -1.000 | 6 386.19 |
| 4 | 15 | 1.000 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | 6 657.28 |
| 8 | 16 | 0.000 | 0.000 | 1.000 | 1.000 | 5 856.80 |
| 5 | 17 | 0.000 | 0.000 | -1.000 | -1.000 | 8 691.53 |
| 13 | 18 | 0.000 | -1.000 | -1.000 | 0.000 | 7 101.82 |
| 27 | 19 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 7 162.77 |
| 11 | 20 | -1.000 | 0.000 | 0.000 | 1.000 | 8 107.70 |
| 19 | 21 | -1.000 | 0.000 | 1.000 | 0.000 | 4 666.58 |
| 15 | 22 | 0.000 | -1.000 | 1.000 | 0.000 | 4 722.42 |
| 7 | 23 | 0.000 | 0.000 | -1.000 | 1.000 | 8 339.81 |
| 20 | 24 | 1.000 | 0.000 | 1.000 | 0.000 | 4 315.78 |
| 10 | 25 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | -1.000 | 6 832.81 |
| 26 | 26 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 6 861.81 |
| 23 | 27 | 0.000 | -1.000 | 0.000 | 1.000 | 8 079.91 |
| 3 | 28 | -1.000 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | 7 212.15 |
| 9 | 29 | -1.000 | 0.000 | 0.000 | -1.000 | 5 490.86 |

对回归方程进行显著性检验及方差分析,结果见表5和表6.在酸性乙醇和酸性甲醇两种条件下,模型的P值均小于0.01,达到了极显著水平;失拟项均大于0.05即未达到显著水平,表明回归方程可以很好地说明各因素与得率之间的实际关系,试验结果与数学模型拟合水平较好,可用该模型来分析和预测紫色菊花花瓣花青素苷提取工艺条件.方程1中,温度/°C(C)对花青素苷的提取率有极显著影响($P < 0.01$),料液比(D)和二次项温度/°C(C^2)对花青素苷的提取率有显著影响($P < 0.05$);方程2中,盐酸/甲醇体积比(B)、二次项温度/°C(C^2)对花青素苷的提取率有极显著影响($P < 0.01$),盐酸浓度/mol·L⁻¹(A)和温度/°C的交互项(AC)对花青素苷的提取率有显著影响($P < 0.05$).表明试验因子对响应值的影响并非简单的线性关系.

2.3 紫色菊花花瓣花青素苷提取工艺响应面法最优工艺条件预测、验证及与正交试验法最优工艺条件比较
采用 Design Expert 8.0 软件,在酸性乙醇和酸性甲醇条件下,对回归方程1和方程2分别进行分析,获

得紫色菊花花瓣花青素苷理论最佳提取工艺条件为:盐酸浓度 $0.42 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,盐酸与乙醇体积比 1.17,温度 $40.05 \text{ }^{\circ}\text{C}$,料液比 70,模型预测的紫色菊花花瓣花青素苷得率极大值为 $8\,536.49 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;盐酸浓度 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,盐酸与甲醇体积比 1,温度 $41.91 \text{ }^{\circ}\text{C}$,料液比 70,模型预测的紫色菊花花瓣花青素苷得率极大值为 $7\,675.89 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.考虑到实际操作的便利,将各因素的参数修正为:盐酸浓度 $0.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,盐酸与乙醇体积比 1,温度 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$,料液比 70,模型预测的紫色菊花花瓣花青素苷得率极大值为 $8\,525.63 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;盐酸浓度 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,盐酸与乙醇体积比 1,温度 $42 \text{ }^{\circ}\text{C}$,料液比 70,模型预测的紫色菊花花瓣花青素苷得率极大值为 $7\,675.85 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;按最佳工艺进行验证性实验,测定实际花青素苷得率为 $8\,266.03 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (乙醇)和 $7\,916.04 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (甲醇),与理论预测值接近(见表 7).证明用响应面法优化的提取工艺稳定,重现性好.

表 4 响应面法试验设计与结果(甲醇)

| Std | Run | A:盐酸浓度/($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) | B:盐酸与甲醇体积比 | C:温度/ $^{\circ}\text{C}$ | D:液料比 | Y:花青素苷得率/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) |
|-----|-----|---|------------|--------------------------|--------|--|
| 6 | 1 | 0.000 | 0.000 | 1.000 | -1.000 | 5 712.55 |
| 11 | 2 | -1.000 | 0.000 | 0.000 | 1.000 | 7 961.14 |
| 15 | 3 | 0.000 | -1.000 | 1.000 | 0.000 | 6 446.65 |
| 26 | 4 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 7 146.80 |
| 9 | 5 | -1.000 | 0.000 | 0.000 | -1.000 | 7 436.46 |
| 29 | 6 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 7 317.22 |
| 22 | 7 | 0.000 | 1.000 | 0.000 | -1.000 | 6 881.77 |
| 13 | 8 | 0.000 | -1.000 | -1.000 | 0.000 | 6 434.63 |
| 16 | 9 | 0.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 | 5 965.11 |
| 24 | 10 | 0.000 | 1.000 | 0.000 | 1.000 | 6 221.91 |
| 27 | 11 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 6 655.93 |
| 28 | 12 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 7 015.11 |
| 19 | 13 | -1.000 | 0.000 | 1.000 | 0.000 | 6 436.60 |
| 8 | 14 | 0.000 | 0.000 | 1.000 | 1.000 | 6 236.82 |
| 4 | 15 | 1.000 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | 6 337.70 |
| 18 | 16 | 1.000 | 0.000 | -1.000 | 0.000 | 6 201.04 |
| 23 | 17 | 0.000 | -1.000 | 0.000 | 1.000 | 6 956.77 |
| 21 | 18 | 0.000 | -1.000 | 0.000 | -1.000 | 7 137.16 |
| 20 | 19 | 1.000 | 0.000 | 1.000 | 0.000 | 5 568.18 |
| 5 | 20 | 0.000 | 0.000 | -1.000 | -1.000 | 5 968.00 |
| 7 | 21 | 0.000 | 0.000 | -1.000 | 1.000 | 6 750.27 |
| 12 | 22 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | 1.000 | 6 618.76 |
| 17 | 23 | -1.000 | 0.000 | -1.000 | 0.000 | 5 549.22 |
| 1 | 24 | -1.000 | -1.000 | 0.000 | 0.000 | 7 339.37 |
| 25 | 25 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 7 281.85 |
| 3 | 26 | -1.000 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | 6 266.15 |
| 10 | 27 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | -1.000 | 6 377.67 |
| 14 | 28 | 0.000 | 1.000 | -1.000 | 0.000 | 5 956.29 |
| 2 | 29 | 1.000 | -1.000 | 0.000 | 0.000 | 7 044.95 |

由表 7 可以看出,按照正交试验法优化的提取工艺,在浸提 1 次情况下提取紫色菊花花瓣花青素苷提取率为 85.47%(乙醇)和 86.29%(甲醇),按照响应面法优化的提取工艺,提取 1 次情况下紫色菊花花瓣花青素苷提取率为 92.53%(乙醇)和 88.32%(甲醇),表明响应面法优化的提取工艺效果更好.

表5 回归模型方差分析(乙醇)

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F值 | P值 |
|----------------|------------|-----|------------|------------|------------|
| 模型 | 3.780E+007 | 12 | 3.150E+006 | 7.76 | 0.000 1** |
| A | 18 195.01 | 1 | 18 195.01 | 0.045 | 0.835 0 |
| B | 583.85 | 1 | 583.85 | 1.438E-003 | 0.970 2 |
| C | 2.841E+007 | 1 | 2.841E+007 | 69.97 | <0.000 1** |
| D | 2.180E+006 | 1 | 2.180E+006 | 5.37 | 0.034 1* |
| AB | 5.456E+005 | 1 | 5.456E+005 | 1.34 | 0.263 4 |
| AD | 9.358E+005 | 1 | 9.358E+005 | 2.30 | 0.148 5 |
| BD | 1.034E+006 | 1 | 1.034E+006 | 2.55 | 0.130 1 |
| CD | 5.227E+005 | 1 | 5.227E+005 | 1.29 | 0.273 3 |
| A ² | 7.650E+005 | 1 | 7.650E+005 | 1.88 | 0.188 8 |
| B ² | 4.313E+005 | 1 | 4.313E+005 | 1.06 | 0.318 1 |
| C ² | 2.273E+006 | 1 | 2.273E+006 | 5.60 | 0.030 9* |
| D ² | 5.360E+005 | 1 | 5.360E+005 | 1.32 | 0.267 5 |
| 残差 | 6.497E+006 | 16 | 4.061E+005 | — | — |
| 失拟项 | 6.131E+006 | 12 | 5.109E+005 | 5.58 | 0.055 2 |
| 纯误差 | 3.664E+005 | 4 | 91 602.62 | — | — |
| 总变异 | 4.430E+007 | 28 | — | — | — |

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

表6 回归模型方差分析(甲醇)

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F值 | P值 |
|----------------|------------|-----|------------|-------|------------|
| 模型 | 7.862E+006 | 10 | 7.862E+005 | 6.10 | 0.000 5** |
| A | 6.724E+005 | 1 | 6.724E+005 | 5.22 | 0.034 7* |
| B | 1.160E+006 | 1 | 1.160E+006 | 9.00 | 0.007 7** |
| C | 20 297.33 | 1 | 20 297.33 | 0.16 | 0.696 2 |
| D | 1.265E+005 | 1 | 1.265E+005 | 0.98 | 0.335 0 |
| AB | 33 484.06 | 1 | 33 484.06 | 0.26 | 0.616 5 |
| AC | 5.778E+005 | 1 | 5.778E+005 | 4.48 | 0.048 4* |
| BD | 57 475.36 | 1 | 57 475.36 | 0.45 | 0.512 8 |
| A ² | 1.341E+005 | 1 | 1.341E+005 | 1.04 | 0.321 2 |
| B ² | 1.718E+005 | 1 | 1.718E+005 | 1.33 | 0.263 4 |
| C ² | 5.212E+006 | 1 | 5.212E+006 | 40.43 | <0.000 1** |
| 残差 | 2.320E+006 | 18 | 1.289E+005 | — | — |
| 失拟项 | 2.035E+006 | 14 | 1.453E+005 | 2.04 | 0.257 5 |
| 纯误差 | 2.855E+005 | 4 | 71 367.18 | — | — |
| 总变异 | 1.018E+007 | 28 | — | — | — |

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

3 讨论

本研究采用响应面法优化紫色菊花花瓣花青素苷的提取工艺.与正交试验设计法相比,响应面法利用多元二次回归方程进行函数估算,可以近似拟合多因子实验中因素和指标的相互关系^[12].Box-Behnken设计在评价指标和因素间的非线性关系,对条件的预测,对实验影响因素的研究,对提取工艺的最佳点精确确定,缩短研究周期,获得精度高的回归方程方面均具有明显的优势,尤其是在对非线性影响因素的预测方面,指导

性更强^[14-17],日益受到研究人员的重视.

表7 响应面法和正交试验法最佳工艺参数提取紫色菊花花瓣花青素苷效果比较

| | 平行样 | 干花瓣重/g | 提取次数/花青素苷得率/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ | | | | |
|-------|-----|---|--|------------|----------|----------|--------|
| | | | 1 | 2 | 3 | | |
| 响应面法 | 乙醇 | 1 | 0.200 0 | 8 613.99 | 538.60 | 90.67 | |
| | | 2 | 0.200 0 | 8 142.49 | 665.54 | 102.46 | |
| | | 3 | 0.200 5 | 8 049.82 | 557.16 | 99.49 | |
| | | 4 | 0.200 6 | 8 298.94 | 567.73 | 90.40 | |
| | | 5 | 0.200 2 | 8 224.94 | 538.06 | 88.77 | |
| | | 平均得率/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | — | 8 266.03aA | 573.42dD | 94.36dD | |
| | | 累积提取率/% | — | 92.53 | 98.94 | 100 | |
| | | 累积得率/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | — | 8 266.03 | 8 839.45 | 8 933.81 | |
| | | 甲醇 | 1 | 0.200 3 | 7 605.17 | 943.40 | 136.71 |
| | | | 2 | 0.200 0 | 8 215.03 | 912.18 | 134.20 |
| | | 3 | 0.200 6 | 8 443.58 | 907.64 | 127.47 | |
| | | 4 | 0.200 3 | 7 532.74 | 907.19 | 122.23 | |
| | | 5 | 0.199 9 | 7 783.68 | 905.37 | 136.08 | |
| | | 平均得率/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | — | 7 916.04bA | 915.16aA | 131.34bB | |
| | | 累积提取率/% | — | 88.32 | 98.53 | 100 | |
| | | 累积得率/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | — | 7 916.04 | 8 831.20 | 8 962.53 | |
| 正交试验法 | 乙醇 | 1 | 0.200 3 | 5 277.06 | 747.58 | 191.94 | |
| | | 2 | 0.200 3 | 5 432.27 | 703.61 | 191.94 | |
| | | 3 | 0.200 1 | 5 489.48 | 741.86 | 185.79 | |
| | | 4 | 0.200 4 | 5 339.06 | 735.58 | 181.89 | |
| | | 5 | 0.200 5 | 5 375.16 | 708.07 | 188.13 | |
| | | 平均得率/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | — | 5 382.61dC | 727.34cC | 187.94aA | |
| | | 累积提取率/% | — | 85.47 | 97.02 | 100 | |
| | | 累积得率/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | — | 5 382.61 | 6 109.95 | 6 297.88 | |
| | | 甲醇 | 1 | 0.200 2 | 6 177.76 | 815.25 | 113.23 |
| | | | 2 | 0.200 7 | 6 072.01 | 822.25 | 114.88 |
| | | 3 | 0.200 3 | 5 866.85 | 855.58 | 117.05 | |
| | | 4 | 0.200 1 | 5 709.58 | 793.00 | 117.17 | |
| | | 5 | 0.200 2 | 5 869.78 | 860.54 | 109.99 | |
| | | 平均得率/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | — | 5 939.20cB | 829.32bB | 114.47cC | |
| | | 累积提取率/% | — | 86.29 | 98.34 | 100 | |
| | | 累积得率/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | — | 5 939.20 | 6 768.52 | 6 882.98 | |

注:数据后的大小写字母分别表示 0.01 和 0.05 水平上的差异显著性.

本研究采用 4 因素 3 水平响应面法对紫色菊花花瓣花青素苷提取工艺进行优化,在用 90% (V/V) 乙醇和 0.4 mol · L⁻¹ 盐酸为混合溶液作浸提溶剂条件下,获得最优提取参数组合为:盐酸浓度 0.4 mol · L⁻¹、盐酸与乙醇体积比 1:1、温度 40 ℃、料液比 1:70;在用 100% (V/V) 甲醇和 0.1 mol · L⁻¹ 盐酸为混合溶液作浸提溶剂条件下,获得最优提取参数组合为:盐酸浓度 0.1 mol · L⁻¹、盐酸与乙醇体积比 1:1、温度 42 ℃、料液比 1:70.在响应面法最优工艺条件下,紫色菊花花瓣花青素苷得率高于正交试验设计,表明采用响应面法优化的花青素苷提取工艺效果更好,且在此提取工艺下,以酸性乙醇为浸提溶剂时,花青素苷得率[8 266.03

$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (乙醇) $>7\,916.04 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (甲醇)]和提取率[92.53%(乙醇) $>88.32\%$ (甲醇)]均较高,即酸性乙醇更适合作紫色菊花花瓣花青素苷提取的浸提溶剂。

参 考 文 献

- [1] 赵雅宁,刘文倩,曹书华,等.葡萄籽原花青素对睡眠呼吸暂停低氧大鼠海马区超微结构及认功能的影响[J].中国康复理论与实践,2014,20(3):236-239.
- [2] 林晓玲,刘晨楠,张昕,等.蛋白吸附蓝莓花青素颗粒对其单体的稳定性和抗氧化活性研究[J].安徽农业科学,2015,43(33):151-155.
- [3] 陈文超,刘回民,刘景圣.花青素抗肿瘤活性的研究进展[J].食品研究与开发,2016,37(1):211-215.
- [4] Tao Y, Chen T, Yang G Q, et al. Anthocyanin can arrest the cone photoreceptor degeneration and act as a novel treatment for retinitis Pigments [J]. International Journal of Ophthalmology, 2016, 9(1): 153-158.
- [5] Ribnicky D M, Roopchand D E, Oren A, et al. Effects of a high fat meal matrix and protein complexation on the bio accessibility of blueberry anthocyanins using the TNO gastrointestinal model (TIM-1) [J]. Food Chemistry, 2014, 142(1): 349-357.
- [6] 白红进,汪河滨,罗锋.黑果枸杞色素的提取及其清除 DPPH· 自由基作用的研究[J].西北农业学报,2007,16(2):190-192.
- [7] Sun Y Z, Liao X J, Wang Z F, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanin of extracts using high-performance liquid chromatography - Mass spectrometry [J]. European Food Research and Technology, 2007, 225(3): 511 - 523.
- [8] 张莉俊,戴思兰.菊花种质资源研究进展[J].植物学报,2009,44(5):526-535.
- [9] 范灵婧,倪鑫炎,吴纯洁,丁侃.菊花多糖的结构特征及其对 NF- κ B 和肿瘤细胞的活性研究[J].中草药,2013,44(17):2364-2371.
- [10] 马力,唐凤敏,曾天舒,张玉良,陈东生,张玉.菊花多糖和绿原酸免疫调节作用的研究[J].医药导报,2008,27(10):1168-1170.
- [11] Rahman A A, Moon S S. Antimicrobial phenolic derivatives from *Dendranthema zawadskii* var. *Latilobum kitamura* (Asteraceae) [J]. Arch Pharmacol Res, 2007, 30(11): 1374-1379.
- [12] Bezerr M A, Santelli R E, Oliveira E P, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry [J]. Talanta, 2008, 76(5): 965-77.
- [13] 王敏,陆兆新,吕凤霞,等.响应曲面法优化酶法提取银杏叶总黄酮[J].食品科学,2007,28(3):117-112.
- [14] 鞠广龙,洪新,金志新.废弃葡萄籽中原花青素提取及测定研究[J].辽宁化工,2014,43(2):117-123.
- [15] Voltaire S A, Ligia D F M, Isabel C T. Kinetic modeling of anthocyanin extraction from grape marc [J]. Food Bioprocess Technol, 2013, 6(12): 3473-3480.
- [16] Ismet O, Safa K, Mehmet B, et al. Aroma, sugar and anthocyanin profile of Fruit and seed of mahlab (*Prunus manhole* L.): Optimization of bioactive compounds extraction by simplex lattice mixture design [J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(4): 761-773.
- [17] Buckow R, Kastell A, Terefe N S, et al. Pressure and temperature effects on degradation kinetics and storage stability of total anthocyanins in blueberry juice [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2010, 58(18): 10076-10084.

Optimizing Extraction Technology of Anthocyanin from Purple Chrysanthemum Petals Based on Response Surface Methodology

Liu Haiying^a, Xing Chentao^a, Li Fengyang^b, Wang Fengjie^b, Wang Yatao^a, Liu Ning^a

(a. Life Science College; b. Xinlian College, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Based on response surface methodology. In this study, the optimum extraction technological conditions of anthocyanin from purple petals of chrysanthemum was selected. The dry purple petals of chrysanthemum cultivars "Hongwujiu" which had been laid for a period of time were used as materials. By Box-Behnken design, a quadric regression equation for predicting the yield of anthocyanin were established. The results showed that the ethanol concentration was 90%, the optimal parameters were 0.4 mol · L⁻¹ for the hydrochloric acid concentration, 1 : 1 for the volume ratio of ethanol to hydrochloric acid, 40 °C for the extraction temperature, liquid to material ratio of 1 : 70. And the methanol concentration was 100%, the optimal parameters were 0.1 mol · L⁻¹ for the hydrochloric acid concentration, 1 : 1 for the volume ratio of methanol to hydrochloric acid, 42 °C for the extraction temperature, liquid to material ratio of 1 : 70. Under the extracting system with acid ethanol and acid methanol, the yield of anthocyanin were 8 266.03 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ and 7 916.04 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively, so the former was higher than the latter, and they were higher than the yield of anthocyanin obtained under the extraction conditions selected by orthogonal experimental design, which could be useful for the mass production of anthocyanin from the purple chrysanthemum.

Keywords: Chrysanthemum; anthocyanin; extraction; optimum technological condition; response surface method

[责任编辑 王凤产]