

响应面分析法优化乙醇提取向日葵壳红色素 工艺研究

魏丽, 单春会*

(石河子大学食品学院, 新疆 石河子 832003)

摘要: 以向日葵壳为原料提取红色素。在单因素试验的基础上进行中心组合设计, 利用响应面法对其提取工艺参数进行优化。结果表明: 提取温度 54℃、提取时间 112min、液料比 22:1(mL/g)时, 向日葵壳色素提取量最高为 663.03mg/100g, 预测值为 661.74mg/100g, 与实测值相符。以向日葵壳提取色素可以提高向日葵的附加值。

关键词: 向日葵壳红色素; 响应面法; 提取量

Response Surface Methodology for Optimization of Alcohol Extraction Technique of Red Pigment from Sunflower Hulls

WEI Li, SHAN Chun-hui*

(College of Food Science, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract: Based on single factor experiments, central composite design (CCD) combined with response surface methodology (RSM) was employed to optimize alcohol extraction of red pigment from sunflower hulls. Results showed that the optimal values of crucial process conditions such as extraction temperature and time and material/liquid ratio were 54 °C, 112 min and 1: 22, respectively. Under these conditions, the maximum red pigment yield was predicted to be 661.74 mg/100 g, very close to the observed value.

Key words: sunflower hull red pigment (SHRP); response surface methodology (RSM); extraction yield

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)06-0122-05

向日葵在我国年产量达 125 万吨, 其籽壳资源丰富且用途广泛, 从壳中不但可以提取糠醛、丙酮、木糖醇、绿原酸, 还可以提取色素。国内外学者分别在 1996 年^[1]和 1982^[2]对向日葵壳色素的提取做过研究, 但采用响应面法优化提取工艺的研究还未见报道。基于此, 本研究采用响应面法优化提取工艺, 以提高向日葵壳色素的提取产量。

新葵 8 号不但籽实含油率高, 而且壳富含红色素。本研究以新葵 8 号油用向日葵壳作为研究对象, 选取提取时间、提取温度和液料比 3 个因素进行中心组合设计, 利用响应面法优化向日葵壳红色素的最佳提取工艺参数, 以为向日葵壳色素的工业化生产提供理论依据, 并使向日葵壳资源得到充分利用。

新葵 8 号油用向日葵。

体积分数 95% 乙醇溶液、体积分数 36% 盐酸(均为分析纯)。

UV-1240 紫外 - 可见分光光度计 日本岛津公司; LR-4001 旋转蒸发器 德国海尔道夫公司; XYJ-A 电动离心机 金坛市恒丰仪器厂; HI8424NEW 便携式防水型 PH/MV/℃测定仪 北京哈纳科仪科技有限公司。

1.2 向日葵籽壳花色苷提取量测定

采用消光系数法^[3]: 取 1.00g 预处理的向日葵籽壳, 用 20mL 酸化乙醇(体积分数 30% 乙醇溶液和体积分数 1% 盐酸, 体积比为 40:1) 提取两次, 经过滤、稀释后, 于 1cm 比色皿中, 在波长 527nm 处测定吸光度。总花色苷提取量计算公式如下:

$$\text{总花色苷提取量}/(\text{mg}/100\text{g}) = \frac{A_{527} \times V \times N \times 100}{98.2 \times m}$$

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

收稿日期: 2009-04-28

作者简介: 魏丽(1982—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: weilili19821229@126.com

* 通信作者: 单春会(1977—), 男, 讲师, 博士研究生, 研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: sch_0909@163.com

式中： A_{527} 为色素在 527nm 波长处的吸光度； V 为一定质量的向日葵壳提取色素时的定容体积 /mL； N 为比色时的稀释倍数；98.2 为花青素在 527nm 波长处的平均消光系数； m 为向日葵籽壳的质量 /g。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程

油葵壳 → 65℃ 干燥 60min → 酸性乙醇浸提(两次) → 合并滤液 → 冷却静置 → 抽滤 → 减压浓缩除去乙醇 → 色素浓浆 → 体积分数 95% 乙醇溶液初步除杂 → 离心 → 减压浓缩 → 色素浓浆 → 真空冷冻干燥 → 色素粉末

1.3.2 最大吸收波长的确定

将向日葵壳红色素滤液稀释后的溶液用紫外 - 可见分光光度计在 200~700nm 波长范围内扫描得到向日葵壳红色素的吸收光谱图。

1.3.3 向日葵壳色素提取剂的选择

提取剂乙醇最佳体积分数的确定：分别选用不同体积分数的乙醇溶液，用体积分数 1% 盐酸溶液调节 pH2.0 作为浸提液。按液料比 20:1(mL/g)，在 50℃ 恒温水浴中浸提 60min 后过滤，经稀释测定最大吸收波长处的吸光度。平行实验 3 次，取平均值。

提取剂最佳 pH 值的确定：将向日葵壳用不同酸度的最佳乙醇溶液按液料比 20:1，在 50℃ 水浴浸提 60min 后过滤，经稀释测定最大吸收波长处的吸光度。平行实验 3 次，取平均值。

1.3.4 向日葵壳色素提取的单因素试验

提取温度的确定：将向日葵壳用最佳提取剂，按液料比 20:1，在不同温度的水浴中浸提 60min 后过滤，经稀释测定最大吸收波长处的吸光度。平行实验 3 次，取平均值。

液料比的确定：将向日葵壳按不同液料比，用最佳提取剂和最佳提取温度提取 60min 后过滤，经稀释测定最大吸收波长处的吸光度。平行实验 3 次，取平均值。

提取时间的确定：将向日葵壳用最佳提取剂、液料比和最佳提取温度提取不同时间后，过滤稀释，于最大吸收波长处测其吸光度。平行实验 3 次，取平均值。

1.3.5 向日葵壳色素提取的响应面设计

表 1 响应面分析因素与水平
Table 1 Factors and levels in CCD

水平	因素		
	X_1 提取温度 /℃	X_2 提取时间 /min	X_3 液料比 (mL/g)
-1	50	60	15:1
0	60	120	20:1
1	70	180	25:1

根据单因素试验结果，以向日葵壳色素提取温度

(X_1)、提取时间(X_2)、液料比(X_3) 3 个因素与色素提取量进行响应面设计(表 1)。通过 Design Expert 7.1.3 软件对试验数据进行回归分析，预测向日葵壳色素提取的最优工艺参数。平行实验 3 次，取平均值。

2 结果与分析

2.1 吸收波长的确定

向日葵壳色素在可见光区有最大吸收波长 527nm，在紫外光区的吸收波长为 278nm，这与花色苷的特征吸收峰相符^[4-5]，因此，初步判断向日葵壳红色素为花色苷类色素。

2.2 提取剂的选择

2.2.1 最佳乙醇溶液体积分数的选择

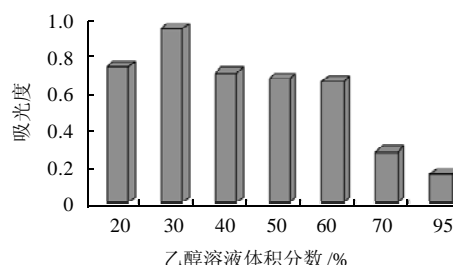


图 1 乙醇溶液体积分数对吸光度的影响

Fig.1 Effect of ethanol concentration on SHRP yield (represented by absorbance at 527 nm wavelength of extraction supernatant)

从图 1 可以看出，乙醇溶液体积分数对提取效果有一定影响。30% 乙醇溶液提取色素吸光度最高。这是因为只有在合适的极性下，色素提取量才会较高。

2.2.2 浸提液最佳 pH 值的选择结果

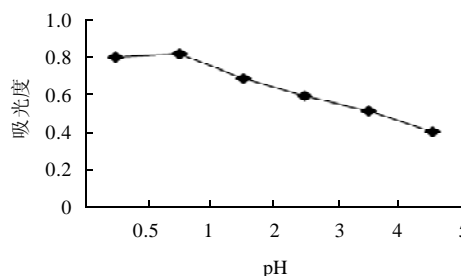


图 2 不同 pH 值对色素提取率的影响

Fig.2 Effect of pH on SHRP yield

pH 值对花色苷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。研究^[6]结果表明，花色苷溶液在酸性条件下较为稳定，过酸或碱性条件下稳定性降低。本研究同样也发现，随 pH 值的升高，提取的花色苷溶液颜色呈深红色到红褐色的变化趋势；另外依据吸收峰的位置及峰形选择最佳 pH 值。图 2 结果表明，

pH1~3的酸化乙醇溶液提取效果较好,考虑到提取量和稳定性两方面因素,本研究选择pH2的酸化乙醇溶液为提取剂。

2.3 单因素试验

2.3.1 最佳提取温度的选择

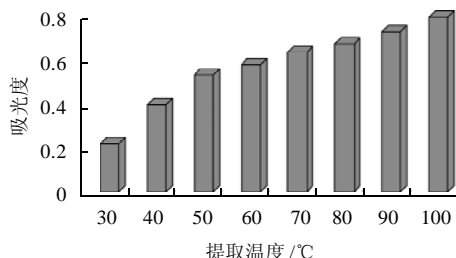


图3 提取温度对吸光度的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on SHRP yield

如图3所示,随着提取温度的升高,色素吸光度不断增加。但是,温度过高,使色素不稳定,70℃时,色泽逐渐加深,趋于紫灰色;80~100℃时为黑褐色。因此单因素试验中选用50℃。

2.3.2 最佳液料比的选择

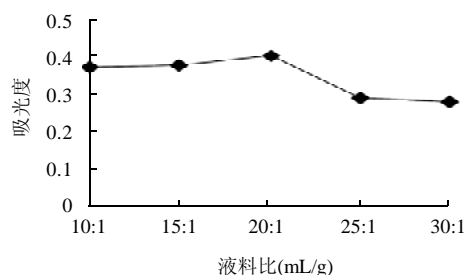


图4 液料比对吸光度的影响

Fig.4 Effect of liquid/material ratio on SHRP yield

从图4可以看出,随着液料比的增加,色素吸光度增大,说明色素提取量增大。当液料比为20:1时,达到最大色素提取量。然后随着料液比的增加,色素吸光度却越来越小,这是因为料液比为20:1时色素基本提取完毕,而提取溶液继续增加,稀释了提取的色素,增加越多,稀释倍数越大,吸光度越小。所以最优液料比选为20:1。

2.3.3 最佳提取时间的选择

从图5可以看出,随着提取时间的延长,色素吸光度增加,但180min后提取速率减慢并且颜色由深红变成红褐色,这是因为色素在固液之间基本达到了平衡,在长时间加热状态下,色素不稳定。为了既节约能源,又能满足提取需要及考虑色素稳定性,本研究确定120min为最优提取时间。

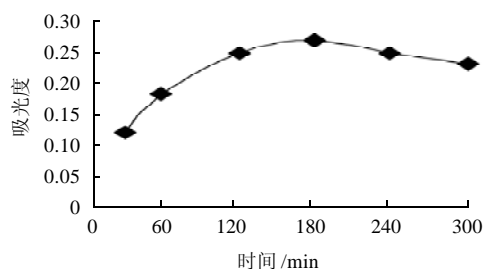


图5 提取时间对吸光度的影响

Fig.5 Effect of extraction time on SHRP yield

2.4 响应面分析

2.4.1 响应面分析方案与试验结果

按照响应面设计的因素与水平表,对提取温度、提取时间、液料比3个因素与色素提取量进行三因素三水平响应面分析试验,响应面分析方案与试验结果见表2。

表2 响应面分析方案与试验结果
Table 2 CCD matrix and response values of SHRP yield

试验号	因素			色素提取量 / (mg /100g)
	X_1	X_2	X_3	
1	-1	-1	0	599.64
2	1	-1	0	505.19
3	-1	1	0	606.67
4	1	1	0	500.97
5	-1	0	-1	572.56
6	1	1	-1	472.61
7	-1	0	1	691.59
8	1	0	1	559.27
9	0	-1	-1	584.73
10	0	1	-1	472.61
11	1	0	-1	451.12
12	0	1	1	575.41
13	0	0	0	655.8
14	0	0	0	675.15
15	0	0	0	657.89
16	0	0	0	673.15
17	0	0	0	653.16

注:提取次数为两次。

2.4.2 方差分析和二元回归方程拟合

利用 Design Expert 软件对表2数据进行二次多元回归拟合,得到向日葵壳色素提取量预测值对编码自变量 X_1 、 X_2 和 X_3 的二次多项回归方程:

$$Y = 663.03 - 54.05X_1 + 1.87X_2 + 21.86X_3 - 28.44X_1^2 - 81.48X_2^2 - 60.59X_3^2 - 2.81X_1X_2 - 8.09X_1X_3 + 59.1X_2X_3$$

模型的可靠性可从方差分析(表3)及相关系数来考察。结果表明,模型是显著的($P < 0.05$),回归模型的决定系数为0.9247,说明该模型能够很好地描述试验结果。因此,可用此模型对向日葵壳色素提取量进行分析和预测。

表3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for developed regression model describing SHRP yield as a response to different extraction conditions

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	92801.06	9	1032311	9.55	0.0035
X_1	23373.38	1	23373.38	21.65	0.0023
X_2	28.05	1	28.05	0.026	0.8765
X_3	3822.88	1	3822.88	3.54	0.1019
X_1X_2	31.64	1	31.64	0.029	0.8689
X_1X_3	261.95	1	261.95	0.24	0.6374
X_2X_3	13972.42	1	13972.42	12.94	0.0088
X_1^2	3404.72	1	3404.72	3.15	0.119
X_2^2	27951.07	1	27951.07	25.89	0.0014
X_3^2	15455.55	1	15455.55	14.32	0.0069
残差	7556.86	7	1079.55		
总变异	1.004×10^5	16			

注：决定系数 $R^2=0.9247$ ；调整性决定系数 $R^2=0.8278$ ；预测性决定系数 8.776。

此回归模型预测了提取温度(X_1)、提取时间(X_2)和液料比(X_3)在向日葵壳花色苷类色素提取中的作用。从变量和响应值之间关系的方差分析(表3)中可知： X_1 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_2X_3 为显著影响因素。

2.4.3 交互作用分析

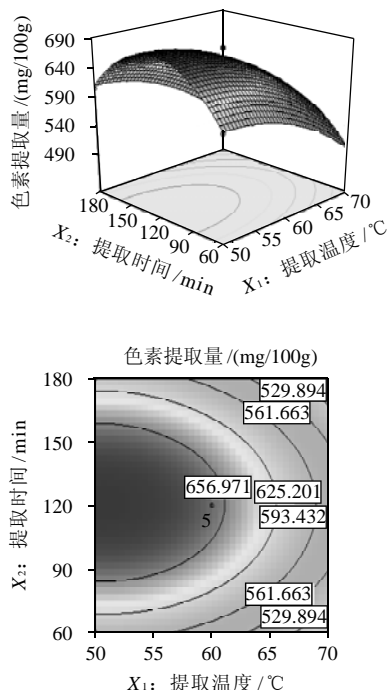


图6 提取温度和提取时间对色素提取量的相应面图和等高线图
Fig.6 Response surface plot and contour plot of SHRP yield as a function of extraction temperature and time

从图6可以直观地看出，提取温度对向日葵壳色素的提取量影响显著，在试验所设定的温度范围内，随

着提取温度的增加，向日葵壳色素的提取量呈上升趋势；提取时间对向日葵壳色素的提取产量影响不显著，在60~180min范围内，较低的温度条件下向日葵壳色素的提取量随时间的增加略有增加。这表明，在本试验水平范围内，增加提取温度有利于向日葵壳色素的溶出，180min后，延长提取时间对向日葵壳色素的溶出无明显变化。

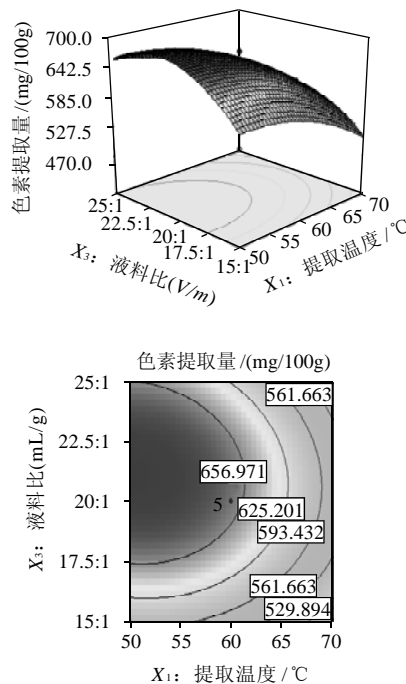


图7 提取温度和液料比对色素提取量的相应面图和等高线图
Fig.7 Response surface plot and contour plot of SHRP yield as a function of liquid/material ratio and extraction temperature

从图7可以看出，提取时间为120min时，提取温度和液料比对色素提取量的交互作用不显著。适当加大液料比能提高色素的提取量，缩短色素的提取时间。由曲面图可知，在一定的液料比范围内，随着液料比的增大，向日葵壳色素的提取量增加；液料比超过一定范围后，色素的提取量反而下降。其原因可能是液料比过大时，色素浓度下降，色素分子间作用力变小，其稳定性下降而容易分解，导致色素提取量下降^[7]。当提取温度升高时，向日葵壳色素的提取量呈升高趋势。其原因可能是提高温度破坏了壳表面的果胶物质，有助于色素的溶出。

从图8可以看出，提取温度为60℃时，提取时间和液料比对向日葵壳色素提取量的交互作用显著。因为等高线的形状反映交互效应的强弱大小，椭圆形表示两个因素交互作用显著^[8]。这表明，在本试验水平范围内，适当增加提取液料比有利于色素提取量的增大，并节省提取时间。

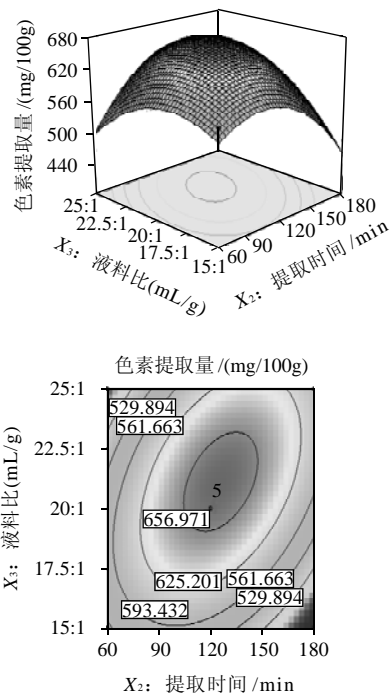


图8 提取时间和液料比对色素提取量的相应面图和等高线图

Fig.8 Response surface plot and contour plot of SHRP yield as a function of liquid/material ratio and extraction time

2.4.4 验证实验

在软件给出的处理方案中本实验选择的工艺条件为提取温度 54.05℃(实际取 54℃)、提取时间 112.2min(取 112min)、液料比为 21.86:1(取 22:1)。按照选择的最佳工艺进行实验来验证是否符合模型方程式预测的最佳响应值, 实验测得色素提取量为 663.03mg/100g, 与理论值

661.74mg/100g 相差并不显著。

3 结论

本研究采用响应面法试验设计对向日葵壳红色素提取工艺参数进行优化, 建立向日葵壳红色素提取产量的二次多项数学模型具有显著性, 决定系数为 0.9247。由模型解逆矩阵得到: 提取温度为 54.05℃、提取时间为 112.2min、液料比为 21.86:1, 向日葵壳红色素最大提取产量预测值为 661.74mg/100g。结合生产实际, 可调整向日葵籽壳色素提取的最佳工艺条件为液料比 22:1、提取温度 54℃、提取时间 112min, 实际提取产量为 663.03mg/100g。本研究为工业化利用丰富的向日葵籽壳资源, 提取天然色素提供了生产数据。

参考文献:

- [1] 陈杰, 乔成玉, 安凤秀, 等. 紫皮向日葵籽皮天然色素的理化性质和萃取特性[J]. 吉林农业大学学报, 1996, 18(4): 7-11.
- [2] FOX G J, DREHERM L. Extraction of anthocyanins from sunflower seed hulls[J]. ND Farm Research, 1982, 40: 3-10.
- [3] 陈斌, 于华忠, 谷伏安. 灰白毛红色素的开发研究[J]. 中国野生植物资源, 1997, 16(4): 1-5.
- [4] MARKAKIS P. Anthocyanins as food colors[M]. New York: Academic Press, 1982.
- [5] 任雁, 张惟广. 花色苷的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2006(4): 116-121.
- [6] 刘邻渭. 食品化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [7] DYRBY M. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems[J]. Food Chemistry, 2001, 72: 431-437.
- [8] 范龚健, 韩永斌, 顾振新. 用响应面法优化红甘蓝色素提取工艺参数[J]. 南京农业大学学报, 2006, 29(1): 105-107.