菊芋花色苷提取条件的研究

王志国, 曹红翠, 吕海棠, 董浩宇, 周莲* (青海大学新能源光伏产业研究中心, 青海西宁 810016)

摘要 [目的] 探索提取菊芋花色苷的最佳条件。[方法] 针对不同条件下菊芋花色苷的提取进行了单因素和正交试验, 对单因素试验数据进行灰色关联度分析, 并利用神经网络预测正交试验值和试验值比较。[结果] 菊芋花色苷的最佳提取条件为温度 60 ℃, 料液比 1:18 g/mL, 浸提时间 5.0 h, 其中浸提温度对提取花色苷的影响最大, 料液比次之, 浸提时间对浸提效果的影响最小; 同时提出了减少试验工作量的方法。[结论] 该研究可为菊芋花色苷的提取提供科学依据。

关键词 菊芋花色苷; 提取; 灰色关联度; 神经网络; 正交试验

中图分类号 S632.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)32-0077-03

Study on Conditions for Extracting Pigment from *Helianthus tuberosus*

WANG Zhi-guo, CAO Hong-cui, LU Hai-tang, ZHOU Lian* et al (New Energy (Photovoltaic) Industry Research Center, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016)

Abstract [Objective] The aim was to explore the optimal conditions for extracting pigment from *Helianthus tuberosus* flower. [Method] Single factor and orthogonal test was conducted on extraction of *Helianthus tuberosus* flower pigment under different conditions. Grey relational degree analysis was conducted on data of single factor test. Orthogonal test was predicted by neural network and was compared with trial value. [Result] The optimal conditions were obtained as follows: temperature 60 ℃, solid-liquid ratio 1:18 g/mL, extraction time 5.0 h. As for influence degree, temperature was the most influential on pigment extraction, solid-liquid ratio took the second place, followed by extraction time. Method for reducing the amount of work was proposed. [Conclusion] The study can provide scientific basis for extraction of *Helianthus tuberosus* flower pigment.

Key words *Helianthus tuberosus* flower pigment; Extraction; Grey relational degree; Neural network; Orthogonal test

食用色素通常分为合成食用色素和天然食用色素^[1]。许多合成食用色素对动物、植物和人类有害^[2-4], 天然食用色素对人体健康一般无毒无害, 许多还具有一定的营养价值和药理作用^[5-9]。因而开发安全可靠的天然食用色素对保障人类健康和促进食品工业等行业的发展具有十分重要的意义^[10-11]。目前天然食用色素的使用量呈快速增长的趋势, 开发天然食用色素势必成为色素领域的发展方向^[12-13]。

菊芋 (*Helianthus tuberosus* Linn.) 属菊科 (Compositae) 向日葵属, 其花色苷是具有一定生理功能的水溶性天然色素^[1]。前人对于菊芋花色苷提取条件的研究大多仅仅是用试验来验证, 而且工作量都比较大, 笔者利用试验和计算相结合的方法探究菊芋花色苷提取的最佳条件, 不仅能为菊芋花色苷资源的充分利用提供技术支持, 也为该色素在药用、食品添加剂等领域的应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料 原料: 菊芋花, 青海省当地采摘的新鲜花瓣。主要试剂: 0.1 mol/L NaOH, 自制; 95% 乙醇, 分析纯, 烟台市双双化工有限公司; 65% 乙醇, 自制。主要仪器: UV-2550 紫外可见分光光度计, 日本岛津公司。

1.2 方 法

1.2.1 最大吸收波长 (λ_{max}) 的确定。 将菊芋花进行水溶剂浸提法, 制成色素溶液, 用紫外-可见分光光度计在 200~700 nm 波长范围内扫描, 得到最大吸收波长为 267.5 nm。

1.2.2 菊芋花色苷的提取工艺研究。 先进行单因素试验, 考察浸提剂、浸提时间、料液比、浸提温度 4 个因素对菊芋花色苷提取效果的影响。在此基础上, 进行正交试验, 最终得出最佳提取工艺。

1.2.2.1 浸提剂的选择。 以不同的溶剂, 1:20 g/mL 的料液比, 在 40 ℃ 下浸提 2.5 h, 得浸提液。各浸提液先加入 10 mL 蒸馏水后过滤并量取 1 mL 定容至 50 mL 容量瓶后测定吸光度值。

1.2.2.2 料液比的选择。 65% 乙醇加 0.1 mol/L NaOH (10:1, V/V) 做溶剂, 取不同的料液比, 在 40 ℃ 下浸提 2.5 h, 得浸提液。各浸提液先加入 10 mL 蒸馏水后过滤并量取 1 mL 定容至 50 mL 容量瓶后测定吸光度值。

1.2.2.3 浸提温度的选择。 采用 1:16 g/mL 的料液比, 65% 乙醇加 0.1 mol/L NaOH (10:1, V/V), 在不同的温度下浸提 3.0 h, 得浸提液。各浸提液先加入 10 mL 蒸馏水后过滤并量取 1 mL 定容至 50 mL 容量瓶后测定吸光度值。

1.2.2.4 浸提时间的选择。 采用 1:16 g/mL 的料液比, 65% 乙醇加 0.1 mol/L NaOH (10:1, V/V), 在 50 ℃ 的条件下, 浸提不同时间, 得浸提液。各浸提液先加入 10 mL 蒸馏水后过滤并量取 1 mL 定容至 50 mL 容量瓶后测定吸光度值。

1.2.2.5 正交试验。 选择影响菊芋花色苷浸提效果的料液比、浸提温度、浸提时间做正交试验, 以确定最佳提取条件。正交试验因素水平设计见表 1。

2 结果与分析

2.1 最佳浸提剂 由表 2 可知, 提取溶剂为 65% 乙醇加 0.1 mol/L NaOH (10:1, V/V) 的混合溶液时, 提取效果最佳。因此该研究后续试验采用 65% 乙醇加 0.1 mL/L NaOH 的混合溶液作为浸提剂。

基金项目 青海省重点实验室发展专项资金项目 (2014-Z-Y31); 青海省自然科学基金青年项目 (2016-ZJ-932Q)。

作者简介 王志国 (1994-), 男, 山东菏泽人, 本科生, 专业: 有机合成。
* 通讯作者, 副教授, 博士, 从事功能配合物及物质构效学的研究。

收稿日期 2016-07-11

表1 菊芋花色素提取正交试验因素水平设计

Table 1 Factors and levels of orthogonal test for *Helianthus tuberosus* flower pigment extraction

水平 Levels	因素 Factors		
	浸提温度(A) Extraction temperature//℃	料液比(B) Solid-liquid ratio//g/mL	浸提时间(C) Extraction time//h
1	40	1:14	4
2	50	1:16	5
3	60	1:18	6

表2 不同提取溶剂对菊芋花色素提取效果的影响

Table 2 The effect of different extracting agent on extraction of *Helianthus tuberosus* flower pigment

提取剂 Extracting agent	浸提液颜色 Color of leaching liquor	浸提液 pH pH of leaching liquor	吸光度 Absorbance (A)
蒸馏水 Distilled water	暗黄色	5	0.547
95%乙醇 95% ethanol	橙黄色	7	0.510
65%乙醇不加 NaOH 65% ethanol without NaOH	橙黄色	7	0.610
65%乙醇加 NaOH 65% ethanol with NaOH	红褐色	8	0.694

2.2 最佳料液比 由表3可知,料液比为1:18 g/mL时的提取效果最佳,超过或小于该料液比,提取效果都有所降低。

表3 不同料液比对菊芋花色素提取效果的影响

Table 3 The effect of different solid to liquid on extraction of *Helianthus tuberosus* flower pigment

料液比 Solid-liquid ratio//g/mL	吸光度 Absorbance (A)	料液比 Solid-liquid ratio//g/mL	吸光度 Absorbance (A)
1:10	0.356	1:17	0.398
1:11	0.359	1:18	0.400
1:12	0.363	1:19	0.393
1:13	0.371	1:20	0.398
1:14	0.373	1:21	0.394
1:15	0.380	1:22	0.389
1:16	0.396		

表6 菊芋花色素提取正交试验结果

Table 6 Results of orthogonal test for *Helianthus tuberosus* flower pigment extraction

试验号 Test No.	因素 Factors				试验 Experiment		预测 Prediction	
	浸提温度 Extraction temperature//℃	料液比 Solid-liquid ratio//g/mL	浸提时间 Extraction time h	空列 Blank column	吸光度 Absorbency	名次 Ranking	吸光度 Absorbency	名次 Ranking
1	1	1	1	1	0.397	9	0.396	9
2	1	2	2	2	0.420	7	0.414	8
3	1	3	3	3	0.450	4	0.431	5
4	2	1	2	3	0.410	8	0.426	7
5	2	2	3	1	0.439	5	0.444	4
6	2	3	1	2	0.422	6	0.428	6
7	3	1	3	2	0.459	2	0.456	2
8	3	2	1	3	0.447	3	0.441	3
9	3	3	2	1	0.465	1	0.458	1

2.6 试验数据处理及建模分析^[17]

2.6.1 计算各个因素和吸光度的关联度。试验通过灰色识别模型,定量地描述了各因素影响提取效果的程度。根据关联度可知中,各影响因素中浸提温度对提取花色素的影响最

2.3 最佳浸提温度 由表4可知,浸提温度为60℃时的提取效果最佳,高于或低于此温度,其浸提效果均有所下降。

表4 不同浸提温度对菊芋花色素提取效果的影响

Table 4 The effect of different temperature on extraction of *Helianthus tuberosus* flower pigment

浸提温度 Extraction temperature//℃	吸光度 Absorbance (A)	浸提温度 Extraction temperature//℃	吸光度 Absorbance (A)
20	0.265	55	0.455
25	0.304	60	0.458
30	0.353	65	0.451
35	0.364	70	0.448
40	0.387	75	0.435
45	0.403	80	0.432
50	0.423		

2.4 最佳浸提时间 由表5可知,浸提时间为7.0 h时的提取效果最佳,超过或少于此浸提时间,提取效果均有所降低。

表5 不同浸提时间对菊芋花色素提取效果的影响

Table 5 The effect of different time on extraction of *Helianthus tuberosus* flower pigment

浸提时间 Extraction time h	吸光度 Absorbance (A)	浸提时间 Extraction time h	吸光度 Absorbance (A)
1.0	0.403	5.0	0.451
1.5	0.409	5.5	0.451
2.0	0.418	6.0	0.450
2.5	0.433	6.5	0.452
3.0	0.442	7.0	0.454
3.5	0.445	7.5	0.451
4.0	0.450	8.0	0.448
4.5	0.450		

2.5 正交试验 对表6进行分析可知,提取菊芋花色素的最优条件为温度60℃,料液比为1:18 g/mL,浸提时间为5.0 h。

大,料液比次之,浸提时间对提取效果的影响最小。

2.6.1.1 计算关联系数。首先对数据进行标准化处理,采用均值化处理。样本序列 $\{W_{ij}\}$ 和参考序列 $\{W_j\}$ 的关联系数 $s(W_j, W_{ij})$ 按下式计算:

$$s(W_{ij}, W_{ij}) = \frac{\min_i \min_j |Z_{ij} - Z_{ij}| + \alpha \max_i \max_j |Z_{ij} - Z_{ij}|}{|Z_{ij} - Z_{ij}| + \alpha \max_i \max_j |Z_{ij} - Z_{ij}|},$$

(i = 1, 2, \dots; j = 1, 2, \dots)

式中, $\{Z_{ij}\}$ 、 $\{Z_{ij}\}$ 分别为 $\{W_{ij}\}$ 、 $\{W_{ij}\}$ 标准化后的数据; α 为

表 7 灰色识别模型计算结果

Table 7 Grey identification model calculation results

因素 Factor	和吸光度的关联系数 Correlation coefficient of absorbance															关联度 Correlation degree	
	1 组	2 组	3 组	4 组	5 组	6 组	7 组	8 组	9 组	10 组	11 组	12 组	13 组	14 组	15 组		
料液比 Solid-liquid ratio	0.351	0.421	0.515	0.635	0.794	1.000	0.809	0.689	0.618	0.586	0.526	0.509	0.483	—	—	0.610	4
浸提温度 Extraction temperature	0.574	0.576	0.552	0.636	0.699	0.812	0.939	1.000	0.975	0.705	0.563	0.451	0.388	—	—	0.682	2
浸提时间 Extraction time	0.375	0.412	0.454	0.498	0.561	0.656	0.783	1.000	0.860	0.695	0.581	0.503	0.444	0.393	0.352	0.571	1

2.6.2 神经网络预测正交试验^[14]。为了得到提取色素的最优条件,进行了正交试验。通过单因素试验数据训练神经网络模型,对正交试验进行了预测并和试验值进行比较,得到的比较结果较理想。在利用正交试验寻找最优条件的试验中,完全可以用单因素试验数据训练神经网络预测设计的正交试验,根据预测值挑选几个较优的组合,对其进行试验找到最优条件,这将大大减少试验的工作量。

2.6.2.1 神经网络原理。①初始化。给每一个连接赋一个较小的随机值。②计算连接权值的调整量: $\frac{\partial e^2(k)}{\partial w_{ij}} = 2e(k) \frac{\partial e(k)}{\partial w_{ij}}, \frac{\partial e^2(k)}{\partial b} = 2e(k) \frac{\partial e(k)}{\partial b}, \frac{\partial e(k)}{\partial w_{ij}} = \frac{\partial e}{\partial w_{ij}} [d(k) - (\sum_{i=1}^R w_{ij} p_i(k) + b)]$, $j = 1, 2, \dots, S$ 。其中 $p_i(k)$ 表示第 k 次循环中的输入向量,则有: $\frac{\partial e(k)}{\partial w_{ij}} = -p_i(k), \frac{\partial e(k)}{\partial b} = -1$ 。③调整连接权值。根据负梯度下降的原则,网络权值和阈值修正公式如下: $w(k+1) = w(k) + 2\eta e(k) p^T(k), b(k+1) = b(k) + 2\eta e(k)$, 其中 η 为学习率。④计算均方误差。 $mse = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m e^2(k) = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m (d(k) - y(k))^2$ 。⑤判断误差是否为零或是否达到预先设定的要求。

2.6.2.2 正交试验结果和预测结果。通过正交试验可知(表6),浸提温度 60 ℃,料液比为 1:18 g/mL,浸提时间 5.0 h 时,提取菊芋花色素的效果最好,试验值和预测值吻合。

3 结论与讨论

通过该试验可以得到提取菊芋花色素的最优条件为温度 60 ℃,料液比为 1:18 g/mL,浸提时间 5.0 h 时。浸提温度对提取菊芋花色素的影响最大,料液比次之,浸提时间对提

取效果的影响最小。

2.6.1.2 计算关联度。样本序列 $\{W_{ij}\}$ 和参考序列 $\{W_{ij}\}$ 的关联度计算式为 $\varphi_j = \frac{1}{i} \sum_{i=1}^i S$,灰色识别模型计算结果如表7所示。

取效果的影响最小。

该试验不仅得到了提取菊芋花色素的最优条件,还提出判断各个单因素对结果影响程度大小的模型和通过人工神经网络利用单因素试验预测正交试验的模型。在以后的正交试验寻找最优条件的试验中,可以用到单因素试验预测正交试验,并对其几个较优的条件进行试验验证即可,这将大大减少工作量。

参考文献

- [1] 谢珍珍,李建英. 红曲色素稳定性的研究[J]. 食品科学,1994(7): 15-17.
- [2] 杨志孝,王声明,高德海. 花生内衣色素提取[J]. 食品科学,1992(10): 23-24.
- [3] 霍光华,郭成志. 苋红色素的开发研究[J]. 食品工业科技,1996(1): 47-50.
- [4] 周作渝. 对食用合成色素标准品的探讨[J]. 食品科学,1992(3): 57-58.
- [5] 王宇萍. 影响天然色素利用的因素[J]. 四川畜牧兽医,2002,29(10): 28-29.
- [6] 谢光盛,农雄民,邓小莲,等. 食用红素的研制[J]. 食品科学,1989(1): 22-23.
- [7] 陈小全,刘静静,邵辉莹,等. 红枣色素提取方法的改进及稳定性试验[J]. 中国酿造,2009(1): 128-130.
- [8] 高丽,邓青云,姜益泉,等. 栀子黄色素提取及其稳定性的研究[J]. 中国酿造,2012,31(5): 176-179.
- [9] 高昌勇. 酿酒葡萄皮渣色素提取及其稳定性测定[J]. 中国酿造,2010(4): 127-130.
- [10] 林维宣,邱新国. 山楂色素稳定性的研究[J]. 食品科学,1992(11): 5-10.
- [11] 蔺定运. 食用色素的识别与运用[M]. 北京:中国食品出版社,1987: 172,25,38.
- [12] 王桃云,万永永,王飞. 我国天然植物色素的研究与开发探索[J]. 食品工业,2001(3): 32-33.
- [13] 霍光华,郭成志,顾之中. 苋红色素的开发研究: 稳定性能的研究[J]. 江西农业大学学报,1994,16(1): 106-111.
- [14] 黄奕雯,戴玉杰,钟成,等. 基于人工神经网络模拟啤酒酿造过程中糖度及乙醇浓度的变化[J]. 中国酿造,2013,32(1): 25-28.