

# 花生壳中黄酮物质提取工艺优化研究

孙兰萍, 马 龙, 张 斌, 赵大庆, 许 晖

(蚌埠学院食品与生物工程系, 安徽 蚌埠 233030)

**摘 要:** 研究了花生壳中黄酮物质的提取工艺。在单因素试验的基础上, 运用二次回归正交旋转组合设计法研究了时间、温度、乙醇体积分数、液料比对花生壳黄酮提取率的影响, 建立了具有提取条件的数学模型, 确定了最优提取条件。结果表明, 对花生壳黄酮提取率影响作用大小的顺序为: 提取时间>液料比>乙醇体积分数>提取温度。最优提取工艺条件为: 时间 2h、提取温度 53℃、乙醇体积分数 73%、液料比 27ml/g, 在该条件下花生壳黄酮提取率达 4.04%。

**关键词:** 花生壳; 黄酮; 提取工艺; 优化

## Optimization of Extraction Technology of Flavonoids from Peanut Hull

SUN Lan-ping, MA Long, ZHANG Bin, ZHAO Da-qing, XU Hui

(Department of Food and Bioengineering, Bengbu College, Bengbu 233030, China)

**Abstract:** This study aimed to optimize the extraction technology of flavonoids from peanut hull with ethanol as extraction solvent. By means of combination design of quadratic regression orthogonal rotation, the effects of time, temperature, ethanol concentration, ratio of liquid to solid on the extraction rate of peanut hull flavonoids were analyzed on the basis of single-factor tests. A quadric regression model on extraction conditions of flavonoids was established, and the optimum conditions were obtained. The results indicated that the extraction rate of peanut hull flavonoids is affected in turn by time, ratio of liquid to solid, ethanol concentration and temperature, and the optimum extraction time, temperature, ethanol concentration, ratio of liquid to solid are 2 h, 53 °C, 73% and 27 ml/g, respectively. Under the above conditions, the extraction rate of flavonoids from peanut hull is up to 4.04%.

**Key words:** peanut hull; flavonoids; extraction technology; optimization

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)06-0097-05

花生(*Arachis hypogaea* L.)属豆科一年生草本科植物, 是我国重要经济作物, 花生壳是其荚果外壳, 在加工过程中每年产生约 4500 万吨, 除了部分用于饲料加工和食用菌栽培外, 绝大部分被当作燃料或废弃物, 利用率非常低。花生壳中除含有碳水化合物和粗纤维外, 还含有黄酮类物质, 以木犀草素含量较高, 此外也含有  $\beta$ -谷甾醇等甾体化合物<sup>[1-2]</sup>。

现代医学研究表明, 花生壳具有较好的抗氧化、降胆固醇、降  $\beta$ -脂蛋白、降血压、增加冠状动脉流量等作用<sup>[3]</sup>, 以花生壳为原料生产的“脉舒胶囊”是治疗高血脂症的纯中药制剂, 已收录入《中华人民共和国卫生部颁标准》<sup>[4]</sup>。以木犀草素为代表的黄酮类化合物不仅具有降血压、降血脂、扩张冠状动脉等作

用, 还具有抗氧化、镇咳、平喘、抗菌抗炎、增强免疫和抗肿瘤等药理活性<sup>[5-7]</sup>。因此, 从花生壳中提取黄酮类化合物作为保健食品或药品的原料具有较好的前景。本实验旨在研究花生壳黄酮提取过程中各因素的作用, 并通过二次回归正交旋转组合设计的方法, 研究提取时间、提取温度、乙醇体积分数和液料比对花生壳黄酮提取率的影响, 确定最佳提取工艺, 为工业化生产花生壳黄酮提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

花生果产于安徽省, 手工剥壳得到花生壳。将花生壳洗净、自然晒干、粉碎后使用。原料的粒径最好

收稿日期: 2008-05-15

基金项目: 安徽省高等学校省级自然科学基金项目(KJ2007B051)

作者简介: 孙兰萍(1968-), 女, 副教授, 硕士, 主要从事食品工程新技术及生物活性物质分离纯化的研究。

E-mail: lanpingsun@yahoo.com.cn

在 0.5~0.8mm, 最大不超过 1mm。

芦丁、甲醇、乙醇、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{NaOH}$ 、 $\text{NaNO}_2$  均为分析纯。

FW100 高速粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司;  
WFZUV-2000 型紫外-可见分光光度计 上海尤尼柯仪器有限公司;  
RE-52AA 型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;  
DZF-6030A 型真空干燥箱 上海一恒科技有限公司;  
Sartorius-BS21S 电子天平 德国赛多利斯集团。

## 1.2 方法

### 1.2.1 黄酮测定

采用芦丁法。将芦丁于 120℃ 烘箱中烘至恒重, 于干燥器中冷却后称取 0.0615g 用 70% 乙醇溶解, 定容至 250ml, 得到浓度为 0.246mg/ml 芦丁标准液。准确吸取芦丁标准液 0、3.0、6.0、9.0、12.0、15.0ml 于 50ml 容量瓶中, 加入 5%  $\text{NaNO}_2$  溶液 1.5ml, 摇匀放置 6min 后加 10%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 1.5ml, 摇匀放置 6min 后加入 4%  $\text{NaOH}$  溶液 20ml, 用 70% 乙醇定容, 摇匀, 10min 后用 1cm 比色皿于 510nm 测定吸光度(A), 得芦丁浓度 Y (mg/ml) 与吸光度(A)的回归方程:  $Y = 0.0918A - 0.0014$  ( $R^2 = 0.9952$ )。

### 1.2.2 花生壳黄酮的提取和测定

准确称取 3.0g 花生壳粉置于磨口三颈烧瓶中, 按照要求加入一定量的提取剂, 在一定温度下回流提取一定时间, 抽滤, 滤液用 70% 乙醇定容至 100ml, 作为待测液。取 1.5ml 待测液于 50ml 容量瓶中, 测黄酮质量。

$$\text{黄酮提取率}(\%) = \frac{m_1 V_2}{m_2 V_1 \times 10^3} \times 100$$

式中:  $m_1$  为依据标准曲线计算出被测液中黄酮含量(mg);  $m_2$  为称取的花生壳粉的质量(g);  $V_1$  为待测液分取的体积(ml);  $V_2$  为待测液的总体积(ml)。

## 1.3 试验设计

### 1.3.1 单因素试验

根据相关资料, 选用提取时间、提取温度、乙醇体积分数和液料比作为考察因素, 以花生壳黄酮提取率作为试验指标进行试验设计。

### 1.3.2 二次回归正交旋转组合试验

在单因素试验的基础上, 选取提取时间、提取温度、乙醇体积分数、液料比为试验因素, 以花生壳黄酮提取率为试验指标, 采用二次回归正交旋转组合设计法安排试验。统计分析软件为 DPS v7.05 专业版。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 提取时间对提取率的影响

在液料比为 25ml/g、乙醇体积分数为 70%、温度 50℃ 下, 提取时间对花生壳黄酮提取率的影响如图 1。由图 1 可以看出, 提取时间 2h 就可以达到比较好的效果, 尽管提取时间超过 2h 后黄酮提取率稍有增加, 但增加幅度较小, 考虑到实际生产应用中的生产周期和生产成本, 确定提取的时间为 2h 较为适宜。

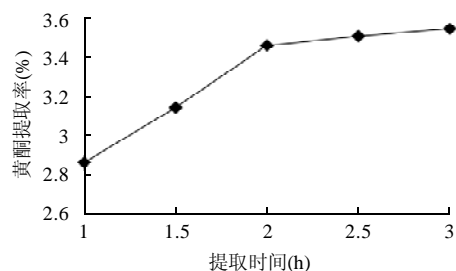


图1 提取时间对黄酮提取率的影响

Fig.1 Effects of time on extraction rate of flavonoids from peanut hull

#### 2.1.2 提取温度对提取率的影响

在乙醇浓度 70%、液料比 25ml/g、提取时间 2h 条件下, 提取温度对花生壳黄酮提取率的影响见图 2。由图 2 可知, 提取温度以 50~60℃ 为宜, 温度太高可能使黄酮发生氧化, 并且增加能耗。

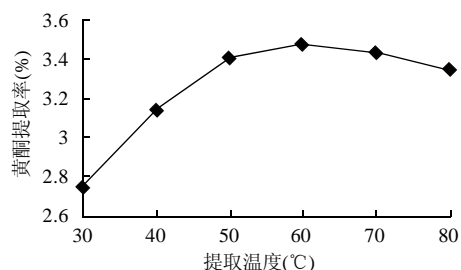


图2 提取温度对黄酮提取率的影响

Fig.2 Effects of temperature on extraction rate of flavonoids from peanut hull

#### 2.1.3 乙醇体积分数对提取率的影响

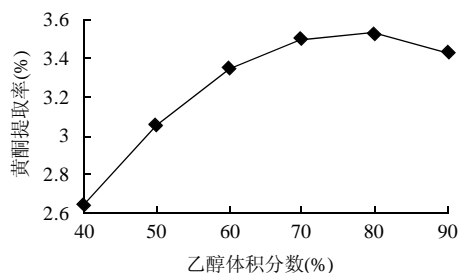


图3 乙醇体积分数对黄酮提取率的影响

Fig.3 Effects of ethanol concentration on extraction rate of flavonoids from peanut hull

在提取温度 50℃、液料比 25ml/g、提取时间 2h 条件下, 乙醇体积分数对花生壳黄酮提取率的影响见图 3。由图 3 可知, 随乙醇体积分数的增加, 花生壳黄酮提取率呈上升趋势, 但当乙醇体积分数超过 70% 后, 花生壳中一些色素物质等脂溶性物质的溶出显著增加, 会给提纯带来麻烦, 因此, 确定乙醇体积分数 70% 较适宜。

#### 2.1.4 液料比对提取率的影响

在乙醇浓度 70%、提取时间 2h、提取温度 50℃ 条件下, 液料比对花生壳黄酮提取率的影响见图 4。由图 4 可知, 在液料比 25ml/g 时, 提取就可以达到比较好的效果, 再增加提取溶剂的量, 提取率增加不大且会给后续的脱溶处理增加难度, 考虑到生产成本, 液料比以 25ml/g 为宜。

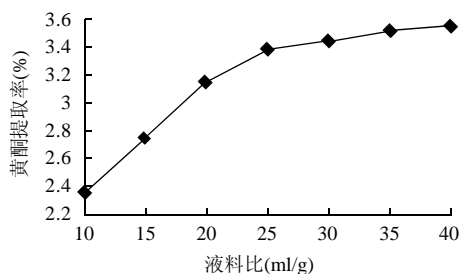


图 4 液料比对黄酮提取率的影响

Fig.4 Effects of ratio of liquid to solid on extraction rate of flavonoids from peanut hull

## 2.2 二次回归正交旋转组合设计试验

表 1 试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of quadratic regression orthogonal rotation combination test

水平	因素			
	X <sub>1</sub> 提取时间(h)	X <sub>2</sub> 提取温度(℃)	X <sub>3</sub> 乙醇体积分数(%)	X <sub>4</sub> 液料比(ml/g)
2	2.5	70	90	30
1	2.0	60	80	25
0	1.5	50	70	25
-1	1.0	40	60	20
-2	0.5	30	50	15

在单因素试验的基础上, 选取提取时间、提取温度、乙醇体积分数、液料比为试验因素, 以花生壳黄酮提取率为试验指标, 采用二次回归正交旋转组合设计安排试验, 因素和水平见表 1。由 DPS v7.05 专业版统计分析软件的试验设计功能可知, 四因素二次回归正交旋转组合设计包括 36 个试验方案, 具体试验方案及试验结果如表 2 所示。

表 2 试验设计及结果

Table 2 Results of quadratic regression orthogonal rotation combination test

试验	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	提取率(%)
1	1	1	1	1	3.88
2	1	1	1	-1	3.67
3	1	1	-1	1	3.68
4	1	1	-1	-1	3.41
5	1	-1	1	1	3.60
6	1	-1	1	-1	3.39
7	1	-1	-1	1	3.63
8	1	-1	-1	-1	3.48
9	-1	1	1	1	3.11
10	-1	1	1	-1	3.08
11	-1	1	-1	1	2.96
12	-1	1	-1	-1	2.73
13	-1	-1	1	1	3.03
14	-1	-1	1	-1	2.87
15	-1	-1	-1	1	3.24
16	-1	-1	-1	-1	2.89
17	-2	0	0	0	2.68
18	2	0	0	0	3.83
19	0	-2	0	0	3.15
20	0	2	0	0	3.38
21	0	0	-2	0	2.75
22	0	0	2	0	3.18
23	0	0	0	-2	3.17
24	0	0	0	2	3.74
25	0	0	0	0	3.43
26	0	0	0	0	3.49
27	0	0	0	0	3.57
28	0	0	0	0	3.49
29	0	0	0	0	3.61
30	0	0	0	0	3.59
31	0	0	0	0	3.51
32	0	0	0	0	3.61
33	0	0	0	0	3.44
34	0	0	0	0	3.42
35	0	0	0	0	3.59
36	0	0	0	0	3.53

#### 2.2.1 回归方程的建立及检验

根据表 2 结果建立的提取率与四因素的数学回归模型为:

$$Y = 3.52333 + 0.29708X_1 + 0.03542X_2 + 0.06125X_3 + 0.11458X_4 - 0.05781X_1^2 - 0.05531X_2^2 - 0.13031X_3^2 - 0.00781X_4^2 + 0.04313X_1X_2 + 0.00438X_1X_3 + 0.00438X_1X_4 + 0.08188X_2X_3 - 0.00813X_2X_4 - 0.02438X_3X_4$$

试验结果方差分析如表 3, 可以看出回归方程失拟检验  $F_1 = 1.59904 < F_{0.05}(10, 11) = 2.94$ , 检验不显著, 可以认为所选用的二次回归模型是适当的; 回归方程显著性检验  $F_2 = 38.46072 > F_{0.01}(14, 21) = 3.49$ , 检验极显著, 说明该方程与实际情况拟合很好, 模型成立。对回归系数进行显著性检验, 在  $\alpha = 0.05$  显著水平剔除不显著项, 得到优化后的方程为:

$$Y = 3.52333 + 0.29708X_1 + 0.03542X_2 + 0.06125X_3 + 0.11458X_4 - 0.05781X_1^2 - 0.05531X_2^2 - 0.13031X_3^2 + 0.04313X_1X_2 + 0.08188X_2X_3$$

表3 试验结果方差分析表

Table 3 Variance analysis of results of quadratic regression orthogonal totation combination test

变异来源	平方和	自由度	均方	比值 F	p 值
X <sub>1</sub>	2.1182	1	2.1182	330.4162	0.0001
X <sub>2</sub>	0.0301	1	0.0301	4.6959	0.0419
X <sub>3</sub>	0.0900	1	0.0900	14.0448	0.0012
X <sub>4</sub>	0.3151	1	0.3151	49.1527	0.0001
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.1070	1	0.1070	16.6835	0.0005
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.0979	1	0.0979	15.2718	0.0008
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.5434	1	0.5434	84.7648	0.0001
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	0.0020	1	0.0020	0.3047	0.5868
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.0298	1	0.0298	4.6416	0.0430
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0.0003	1	0.0003	0.0478	0.8291
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	0.0003	1	0.0003	0.0478	0.8291
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.1073	1	0.1073	16.7308	0.0005
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	0.0011	1	0.0011	0.1648	0.6889
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	0.0095	1	0.0095	1.4829	0.2368
回归	3.4519	14	0.2466	F <sub>2</sub> =38.46072	0.0001
剩余	0.1346	21	0.0064		
失拟	0.0798	10	0.0080	F <sub>1</sub> =1.59904	0.1750
误差	0.0549	11	0.0050		
总和	3.5865	35			

## 2.2.2 单因素效应分析

为了进一步分析试验中四个因素对试验结果影响的程度,采用了降维分析法,即固定三因素于零水平,求第四个因素与花生壳黄酮提取率的一元降维回归方程,根据这些方程得到四个因素对花生壳黄酮提取率影响的关系曲线如图5所示。

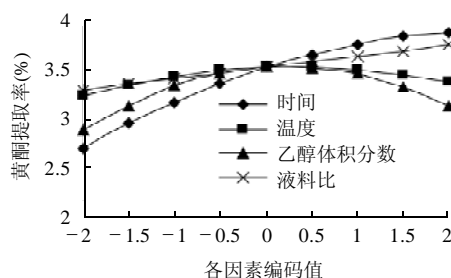


图5 单因素与花生壳黄酮提取率关系曲线

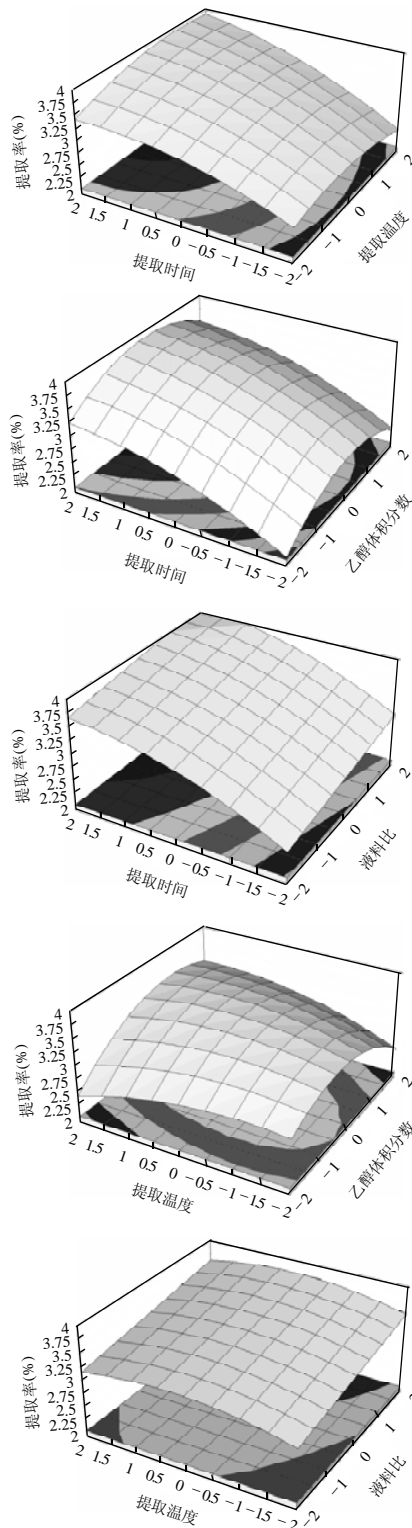
Fig.5 Effects of single factor on extraction rate of flavonoids from peanut hull

由图5可知,提取时间是最显著的影响因素,水平稍有变动就会引起黄酮提取率的较大变化。乙醇体积分数对提取率的影响是先增加后降低,增加和降低幅度最大。提取温度的影响也是先增加后降低,但幅度较小,说明对提取率的影响不如乙醇体积分数明显。液固比对黄酮提取率的影响呈缓慢上升趋势,增加提取剂的用量意义不大,反而增加了成本和工作量。图5中各个因素的变化趋势与前面的单因素试验结果吻合,也说明所建立的数学模型是合适的。

## 2.2.3 主因素效应分析

由于方程中各因素的回归系数均已标准化,所以直接比较其绝对值的大小就可以判断各因素的重要性。因此,各因素对黄酮提取率作用大小顺序依次为:提取时间>液料比>乙醇体积分数>提取温度。

## 2.2.4 因素交互效应分析



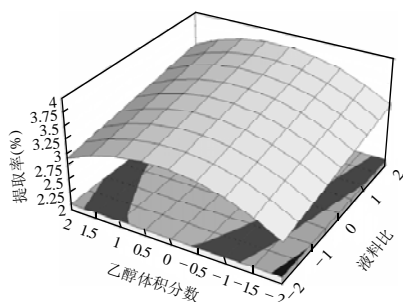


图6 时间、温度、乙醇体积分数、液料比两两交互作用曲面图  
Fig.6 Surface plots for effects of interaction between any two among time, temperature, ethanol concentration and ratio of liquid to solid on extraction rate of flavonoids from peanut hull

固定两个因素于零水平,求其他两个因素的交互效应方程,根据这些方程得到四个因素(时间、温度、乙醇体积分数、液料比)的交互效应曲面图(图6)。

由图6可知,随着各交互因素编码值的升高,花生壳黄酮提取率呈上升趋势,但当编码值达到一定组合后,提取率呈下降的趋势。其中,提取时间和温度、提取时间和液料比的交互作用,在提取率达到最高值后下降不明显,趋于平缓;提取时间和乙醇体积分数的交互作用表明:乙醇体积分数介于-2~0水平之间时,黄酮提取率随时间的增加而明显增加,当乙醇体积分数介于0~2水平时,提取率随时间的增加而缓慢增加;提取温度和乙醇体积分数的交互作用表明:乙醇体积分数较低时,温度的增加对提取率的影响不大,乙醇体积分数较高时,温度会引起提取率的增加;温度和液料比的交互影响对黄酮提取率的影响不大;乙醇体积分数和液料比的交互作用表明:乙醇体积分数介于-1~1水平之间时,随液料比的增加,黄酮提取率能达到较大的值。由图6综合分析可知,只有当时间、温度、乙醇体积分数和液料比之间合理搭配时才能获得更好的提取效果。

#### 2.2.5 提取条件的优化及验证

用频率分析方法寻找最优提取条件,其中提取率大于3.36%的方案共有195个,频率分析结果列于表4。

表4 优化提取方案中 $X_i$ 取值频率分布表  
Table 4 Probability distribution of  $X_i$  in optimized extraction scheme

	$X_1$		$X_2$		$X_3$		$X_4$	
	次数	频率	次数	频率	次数	频率	次数	频率
-2	0	0.0000	16	0.0821	5	0.0256	20	0.1026
-1	1	0.0051	37	0.1897	45	0.2308	31	0.1590
0	37	0.1897	48	0.2462	62	0.3179	40	0.2051
1	73	0.3744	50	0.2564	52	0.2667	47	0.2410
2	84	0.4308	44	0.2256	31	0.1590	57	0.2923
加权均数	1.231		0.354		0.303		0.462	
标准误差	0.055		0.089		0.077		0.095	
95%置信区间	1.123~1.338		0.179~0.529		0.152~0.453		0.275~0.648	
提取条件	2.06~2.17h		51.79~55.29℃		71.52%~74.53%		26.38~28.24ml/g	

由表4可知,在95%置信区间内提取率大于3.36%的优化提取方案为:提取时间2.06~2.17h、提取温度51.79~55.29℃、乙醇体积分数71.52%~74.53%、液料比26.38~28.24ml/g。

取优化后提取条件的平均值方案为: $X_1=1.231$ 、 $X_2=0.354$ 、 $X_3=0.303$ 、 $X_4=0.462$ ,即提取时间2.12h、提取温度53.54℃、乙醇体积分数73.03%、液料比27.31ml/g,为便于指导实际生产,将最优组合方案定为:时间2h、提取温度53℃、乙醇体积分数73%、液料比27ml/g。对优化结果进行验证,其实测提取率为4.04%,与理论值4.23%非常接近,同时也进一步验证了数学回归模型的正确性。

### 3 结论

3.1 通过二次回归正交旋转设计建立了花生壳黄酮提取条件的优化数学回归模型为: $Y=3.52333+0.29708X_1+0.03542X_2+0.06125X_3+0.11458X_4-0.05781X_1^2-0.05531X_2^2-0.13031X_3^2+0.04313X_1X_2+0.08188X_2X_3$ ,此模型在试验范围内能较准确地预测花生壳黄酮的提取率。

3.2 在试验范围内对各因素花生壳黄酮提取率作用大小的顺序依次为:提取时间>液料比>乙醇体积分数>提取温度。

3.3 用频率分析方法获得花生壳黄酮较优的提取条件范围为:提取时间2.06~2.17h、提取温度51.79~55.29℃、乙醇体积分数71.52%~74.53%、液料比26.38~28.24ml/g。

3.4 花生壳黄酮的最佳提取工艺参数为:提取时间2.12h、提取温度53.54℃、乙醇体积分数73.03%、液料比27.31ml/g。在实际生产中,最优提取条件可设为:时间2h、提取温度53℃、乙醇体积分数73%、液料比27ml/g。在此条件下,花生壳黄酮的提取率为4.04%。

#### 参考文献:

- [1] 李明妹,姚开,贾冬英,等.花生功能成分及其综合利用[J].中国油脂,2004,29(9):14-15.
- [2] 杨伟强.花生壳在食品工业中的综合开发与利用[J].花生学报,2003,32(1):33-35.
- [3] 杨国峰,周建新,汪海峰,等.花生壳提取物的制备及其抗氧化与抗菌活性的研究进展[J].食品与发酵工业,2007,33(2):97-101.
- [4] 中华人民共和国卫生部.WS3-B-2390脉舒胶囊[S].1997.
- [5] 周建新,嵇美华,汪海峰,等.花生壳乙醇提取物(EEPH)抗菌性的研究[J].中国粮油学报,2004,19(1):64-66.
- [6] 陈春涛,马庆一,高玉美,等.花生壳中木犀草素等抑菌活性成分的提取纯化与研究[J].食品科学,2003,24(5):84-88.
- [7] 孟阳,于丽娟.花生壳中黄酮类抗氧化的提取与在食品中的应用[J].食品科学,1997,18(12):27-29.