

沙棘籽中原花色素的提取工艺研究

徐晓云, 潘思轶*, 胡建中

(华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

摘 要: 本文以脱脂沙棘籽为原料, 乙醇为提取液, 通过提取温度、提取时间、脱脂时间、料液比、酒精浓度、pH 值 6 个单因素实验, 在中心组合实验基础上, 采用响应面分析法, 确定沙棘籽中原花色素的最优提取条件。研究表明, 在提取温度 21℃、pH5.1、酒精浓度 65% 时, 沙棘籽中原花色素的提取率达 5.84%(以脱脂沙棘干重计), 粗品纯度达 39.18%。

关键词: 沙棘; 原花色素; 提取; 响应面分析

Technology Study on Extracting Proanthocyanidins from Sea Buckthorn Seed

XU Xiao-yun, PAN Si-yi*, HU Jian-zhong

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Technology of extracting proanthocyanidins from sea buckthorn seed were studied. The dried defatted sea buckthorn seed was used as raw material. After investigating the single effect factor on proanthocyanidins extraction, the optimum factors were obtained. The central composite design and corresponding response surface analysis were used to obtain the optimal parameters of processing. The optimum conditions of extraction were as follows: the rate of solution phase to solid phase 10:1, the temperature 21℃, extraction time 90min, pH value 5.1, and the concentration of ethanol 65%. The extraction yield was 5.84% on the dry weight basis of defatted sea buckthorn seed powder with the product purity as 39.18%.

Key words: proanthocyanidins; sea buckthorn seed; extraction; response surface analysis

中图分类号: TS255.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)03-0165-05

原花色素(proanthocyanidins, 简称 PAC)是自然界中广泛存在的聚多酚类化合物, 是由不同数量的儿茶素或表儿茶素结合而成。低聚的原花色素(oligomeric procyanidins, 简称 OPC's)以其高效、低毒、高生物

利用率引起人们的极大兴趣^[1]。原花色素具有很多生理功能, 如清除人体自由基^[2], 抗氧化性、保护心血管和预防高血压、抗肿瘤作用等等^[2,3]。除此之外, 原花色素还具有抗过敏及抗炎作用, 皮肤保健及美容, 改

收稿日期: 2003-11-03

* 通讯作者

基金项目: 加拿大 MRAC(Medical Research Advisory Committee)项目(2002MRAC109)

作者简介: 徐晓云(1970-), 女, 在读硕士, 研究方向为天然产物化学与应用。

每次冻融后必须要进行研磨, 否则会使葛仙米破壁率下降, 原因可能为葛仙米对环境胁迫具有抗性, 可以忍受低温, 而辅助的机械处理如研磨可以打破其对低温抗性。

参考文献:

- [1] 朱浩然. 中国淡水藻志(第二卷)[M]. 科学出版社.
- [2] 谭学儒. 葛仙米简介[J]. 中国食物与营养, 1998, (5): 45.
- [3] 汪兴平, 张家年, 等. 野生葛仙米营养成分分析与评价[J].

食品科学, 2002, 23(8): 288-290.

- [4] 严希康. 生化分离技术[J]. 华东理工大学出版社, 1998.
- [5] 韩雅珊. 食品化学实验指导[J]. 北京农业出版社, 1992.
- [6] 桂林. 蛋白核小球藻培养方式的比较及其叶黄素的提取检测[D]. 华中农业大学研究生论文, 2001.
- [7] 王立志, 彭光跃, 等. 海水小球藻脂脂肪酸组成研究[J]. 海洋科学, 1999, (4): 68-70.
- [8] 胡朝辉, 刘志礼. 极大螺旋藻中 β -胡萝卜素的分离纯化及定量测定[J]. 色谱, 2001, (11): 85-87.

善视觉功能, 调节机体免疫力等作用, 因此开发原花色素有广阔的应用前景。

植物中原花色素大都以聚合物的形式存在, 葡萄汁、红葡萄酒、苹果汁、苹果酒和啤酒中也都含有原花青素, 其中以葡萄籽中含量最为丰富, 研究也最多。沙棘(*Hippophas rhamnoides* L.)为胡颓子科(*Elaeagnaceae*)酸刺属的灌木或小乔木, 我国是沙棘属植物分布区面积最大, 种类最多的国家。刘朵花等人曾对沙棘籽和葡萄籽中原花青素进行对比, 提出沙棘籽可能是更好的OPC's来源^[4]。但从沙棘中提取原花青素在国内鲜有报道。

目前原花色素的提取方法有溶剂浸提法、金属离子沉淀法、超临界萃取法、超声波浸提法、微波浸提法等^[5,6], 工业化的提取方法主要是溶剂浸提法, 提取溶剂大多采用丙酮。考虑到溶剂的毒性, 本文采用酒精为提取溶剂, 探索沙棘原花色素的最优提取条件, 为沙棘的综合开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

沙棘籽, 西北农林科技大学植保站。沙棘籽经冷冻干燥后粉碎, 采用真空封装低温避光干燥贮藏。

1.2 实验方法

1.2.1 脱脂时间对沙棘籽中原花色素提取率的影响

以石油醚按5、10、15、20、25h五个脱脂时间梯度对沙棘籽脱脂, 分别称取不同脱脂时间的沙棘粉10.00g于三角瓶中, 以60%酒精为提取液, 按料液比1:15混合, 置于60℃的水浴锅中, 提取三次, 每次45min, 合并提取液, 4000r/min离心20min, 合并上清液, 45℃减压旋转蒸发浓缩至50ml, 冷冻干燥。以正丁醇—盐酸法测定原花色素含量。

1.2.2 料液比对沙棘籽中原花色素提取率的影响

分别称取10.00g脱脂沙棘籽, 以60%酒精、料液比分别为1:5, 1:7, 1:10, 1:15, 置60℃水浴, 提取三次, 每次45min, 合并提取液, 4000r/min离心20min, 合并上清液, 45℃减压旋转蒸发浓缩至50ml, 然后冷冻干燥。测原花色素含量。

1.2.3 提取温度对沙棘籽中原花色素提取率的影响

分别称取10.00g脱脂沙棘籽, 60%酒精, 料液比1:10(M/V), 选取4、20、40、60、80℃五个温度梯度, 提取三次, 每次45min, 合并提取液, 于4000r/min离心20min, 合并上清液, 45℃减压旋转蒸发浓缩至50ml, 然后冷冻干燥。测原花色素含量。

1.2.4 提取时间对沙棘籽中原花色素提取率的影响

分别称取脱脂沙棘籽10.00g, 以60%酒精, 按料

液比1:10(W/V)混合, 置60℃水浴, 选取30、45、60、90、120min五个时间梯度, 提取三次, 合并提取液, 以4000r/min离心20min, 合并上清液, 45℃减压旋转蒸发浓缩至50ml左右, 冷冻干燥。测原花色素的含量。

1.2.5 pH值对沙棘籽中原花色素提取的影响

分别称取10.00g脱脂沙棘籽, 60%酒精, pH值分别为2.88、3.71、4.35、5.1, 按料液比1:10(W/V)混合, 置25℃水浴, 每次提取90min, 提取三次, 合并提取液, 4000r/min离心20min, 合并上清液, 45℃减压旋转蒸发至50ml左右, 然后冷冻干燥。测原花色素含量。

1.2.6 酒精浓度对沙棘籽中原花色素提取率的影响

分别称取脱脂沙棘籽10.00g, 选取40%、50%、60%、70%四个酒精浓度梯度, 料液比1:10(W/V), 25℃水浴, 90min提取一次, 提取三次, 合并提取液, 于4000r/min离心20min, 合并上清液, 45℃减压旋转蒸发浓缩至50ml, 冷冻干燥。测原花色素的含量。

1.2.7 中心组合实验

运用中心组合实验优化提取工艺, 在单因素实验基础上, 选取酒精浓度、提取温度、pH值三个影响较大的因素进行优化组合, 考察指标为提取物中原花色素的含量, 因素水平见表1, 实验以随机次序进行, 重复两次, 取平均值。

表1 沙棘籽中原花色素提取实验的因素水平设计表
Table 1 Experiment assignment of the level and factor

因素	编码	因素取值	水平
温度	X ₁	-1	5
		0	25
		+1	45
pH值	X ₂	-1	3.5
		0	4.8
		+1	6.1
酒精浓度(%)	X ₃	-1	40
		0	60
		+1	80

1.3 原花色素的检测方法

正丁醇—盐酸法: 首先用甲醇溶解样品, 选择一个合适的稀释倍数, 然后取1ml溶液于具塞试管中, 加入6ml盐酸—正丁醇(5/95,V/V), 再加0.2ml硫酸铁铵盐酸溶液(NH₄(SO₄)₂·12H₂O(2g溶解在100ml的2N的盐酸)), 旋紧盖子, 在沸水中水浴40min后置于冷水中冷却15min至室温。在波长546nm检测其吸光值。由标准曲线得原花色素含量。

2 结果与讨论

2.1 沙棘籽中原花色素提取的单因素实验

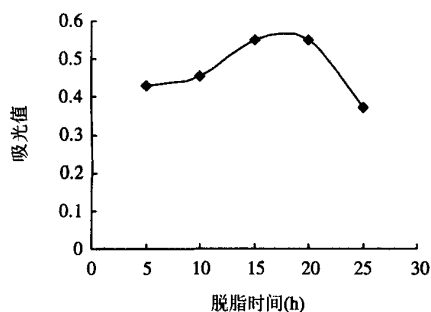


图1 脱脂时间对浸提的影响

Fig.1 Effect of defatted time on extraction

由图1可知,脱脂时间15h时吸光值有最大值。脱脂不彻底,脂类的存在影响原花色素从植物组织中渗透出来,而脱脂时间过长,则有可能使原花色素氧化,导致含量的降低。

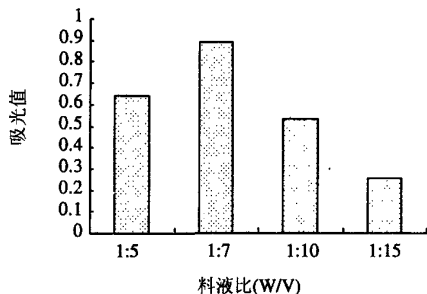


图2 料液比对浸提的影响

Fig.2 Effect of solid-liquid ratio on extraction

由图2可知,料液比对沙棘籽中原花色素提取效果的影响不显著。考虑到过高的料液比会增加后序的能耗,并考虑到降低生产成本的目的,所以选择料液比为1:10。

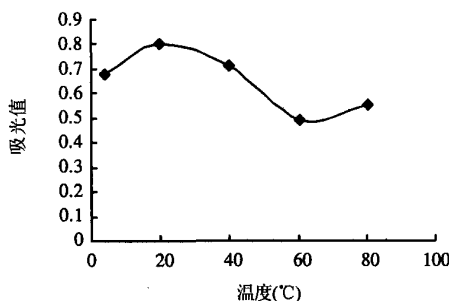


图3 浸提温度对提取的影响

Fig.3 Effect of temperature on extraction

由图3可知,在20℃时,沙棘籽中原花色素有最大的提取率。原花色素是一类不稳定的酚类物质,对光、热很不稳定,所以在较高提取温度条件下提取沙棘原花色素时,提取物中原花色素的含量降低。在80℃时沙棘籽中原花色素提取率略高于60℃,可能是

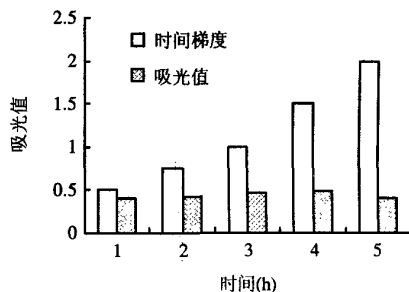


图4 提取时间对浸提的影响

Fig.4 Effect of time on extraction

因为在较高温度下沙棘籽中原花色素提取的效率增大。

由图4可知,提取时间对沙棘籽中原花色素浸提效果的影响不显著。但在1.5h时有最大值0.485。提取时间过短则原花色素来不及溶出,提取的时间过长酚类物质被破坏。因此提取时间取1.5h为宜。

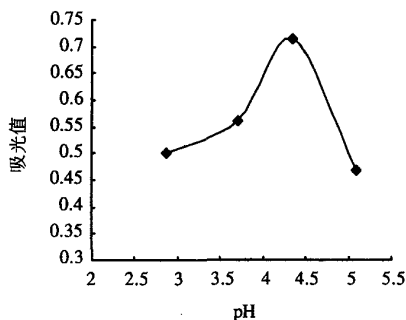


图5 pH对提取的影响

Fig.5 Effect of pH on extraction

由图5可知,pH在4.35时沙棘籽中原花色素有最大吸光值。原花色素是一类在偏酸性条件下稳定的物质^[8],所以调节体系中的酸度,破坏一些组织中的氢键和其他一些非共价键的作用,有利于提高原花色素的提取得率。

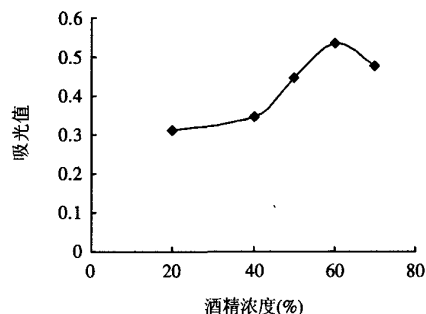


图6 酒精浓度对提取的影响

Fig.6 Effect of alcohol concentration on extraction

由图6可知,酒精浓度为60%时吸光值最大。植物多酚类物质在植物组织中及细胞水平上的分布在质和

量之间有明显的差异,可溶性酚类物质主要分布在细胞的液泡中,胞质中不存在,而类黄酮类和不溶性多酚物质主要在细胞壁上沉积并与蛋白质、多糖以氢键、疏水键相结合。水及低浓度乙醇可以自由的进入细胞,高浓度乙醇可能会引起组织中蛋白质变性,可能阻止多酚类物质的渗出,从而影响提取率。

综合考虑以上各因素,选取酒精浓度、提取温度、提取pH值三个影响较大的因素进行优化组合。

2.2 响应面实验结果及结果分析

表2 响应面实验的设计及结果
Table 2 Experiment assignment and the data

编号	X ₁	X ₂	X ₃	PAC(%)
1	-1	-1	0	29.29
2	-1	0	-1	35.46
3	-1	0	+1	31.35
4	-1	+1	0	35.85
5	0	-1	-1	31.02
6	0	-1	+1	28.56
7	0	+1	-1	32.90
8	0	+1	+1	31.33
9	+1	-1	0	30.15
10	+1	0	-1	31.53
11	+1	0	+1	33.44
12	+1	+1	0	31.87
13	0	0	0	39.07
14	0	0	0	39.26
15	0	0	0	38.70

对实验取得的数据采用回归方程:

$$Y=a_0+a_1X_1+a_2X_2+a_3X_3+a_{11}X_1^2+a_{22}X_2^2+a_{33}X_3^2+a_{12}X_1X_2+a_{13}X_1X_3+a_{23}X_2X_3$$

用SAS RESRSG(Response Surface Regression)程序进行分析,并由此获得响应面分析图和方差分析表。

表3 回归系数取值
Table 3 Parameter estimate of polynomial regression

系数	取值
a ₀	39.01
a ₁	-0.62
a ₂	1.61625
a ₃	-0.77875
a ₁₁	-2.61375
a ₁₂	-1.21
a ₂₃	-0.2225
a ₁₃	1.50500
a ₂₂	-4.60625
a ₃₃	-3.45125

方程的失拟项与一次项、二次项相比均较小,因此可以用回归模型进行预测。同样,方程一次项、二次项、交互项均显著,说明各个因子对响应值的影响是复杂的。从响应面分析图中可以清楚看出,预测值为最大值。条件是温度21℃、pH5.1、酒精浓度65%、

表4 回归方程的方差分析
Table 4 Analysis of variance

方差来源	自由度	平方和	均方	F值	Pr > F
回归	9	173.41405	19.26823	39.20**	0.004
残差	5				
总离差	14				
线性相关系数	0.9862				

**f_{0.01}(9,5)=10.2。

表5 回归方差各项的方差分析
Table 5 Coding coefficients for the independent variable

方差来源	自由度	均方差	F值
一次项	3	9.6083	118.47**
二次项	3	43.1582	539.48**
交互项	3	5.0381	62.12*
失拟项	3	0.7568	9.33
误差	2	0.0811	

注: **f_{0.01}(3,2)=99.2 *f_{0.05}(3,2)=19.2。

表6 回归模型的预测值
Table 6 Predicted value at stationary point

温度(℃)	pH值	酒精浓度(%)	原花色素含量(%)	点的类型
20.83	5.13	64.26	39.29	最大值

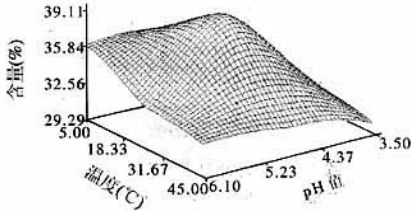


图7 含量与温度及pH值的关系
Fig.7 Interrelation among three factor-content,temperature and pH value

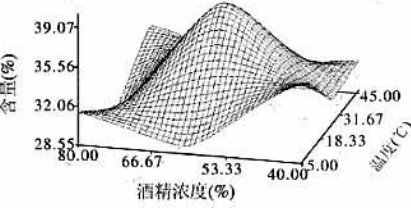


图8 含量与酒精浓度及pH值的关系
Fig.8 Interrelation among three factor - content, concentration and temperature

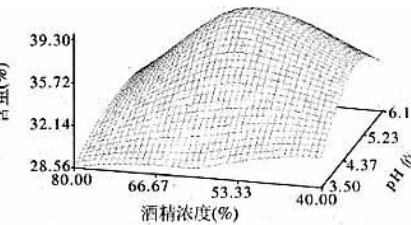


图9 含量与酒精浓度及pH值的关系
Fig.9 Interrelation among three factor - content, concentration and pH value

苹果冷冻干燥工艺优化

白 杰¹, 曹晓虹², 罗瑞明¹, 周玉霞¹

(1.宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750021; 2.宁夏永康技术工程公司, 宁夏 银川 750001)

摘 要: 对苹果进行冷冻干燥实验, 确定了苹果片冻干工艺条件。计算了冻结时间, 干燥时间, 并与实验值进行了比较。探讨了冻结速率, 物料温度, 干燥室及捕水器温度、压强对冷冻干燥过程及制品质量的影响。苹果冷冻干燥优化工艺参数为: 冻结时间 1.0h, 升华干燥、解吸干燥时干燥仓压强分别为 70~90Pa、20~30Pa, 解吸干燥时物料温度 50~60℃, 物料厚度 10mm, 干燥时间为 10h。

关键词: 苹果; 冷冻干燥; 工艺优化

The Optimization of Freeze-drying Technology of Apple

BAI Jie¹, CAO Xiao-hong², LUO Rui-ming¹, ZHOU Yu-xia¹

(1.Agricultural College, Ningxia University, Yinchuan 750021, China;

2.Ningxia Yongkang Technical Engineering Corporation, Yinchuan 750001, China)

Abstract: The freeze-drying experiment of apples was studied in the paper, and obtained the freeze-drying technology for apple slice. The freezing time, drying time were calculated, and contrasted by experimental value. The influence of freezing rate, materiel temperature, the temperature and pressure of drying room and water catching machine on the freeze drying process and the quality of the products was discussed. The optimal parameters of freeze-drying technology for apple slice are that the freeze time is 1.0h, sublimation and desorption pressure of drying room is 70~90Pa and 20~30Pa, materiel temperature in desorption is 50~60℃, material thickness is 10mm, freeze-drying time is 10h.

Key words: apple; freeze-drying; optimization of technology

中图分类号: TS255.3

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2005)03-0169-05

收稿日期: 2005-02-18

基金项目: 国家科技部中小企业创新基金资助项目

作者简介: 白杰(1958-), 男, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为食品生物技术。

提取三次、料液比为 1:10, 测得原花色素含量为 39.18%, 与预测值相比误差为 0.28%, 与模型符合良好。

3 结 论

采用响应面分析法, 确定沙棘籽中原花色素的最优提取条件。研究结果确定最优的提取条件是温度 21℃、pH5.1、酒精浓度 65%、提取三次、料液比为 1:10, 在此条件下, 粗品纯度 39.18%, 产品提取率达 5.84%(以脱脂沙棘干重计)。

参考文献:

[1] 石碧, 狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2000. 5-7.

- [3] 赵超英, 姚小曼. 葡萄籽提取物原花青素的营养保健功能[J]. 中国食品卫生杂志, 2000, 12(6): 38-39.
- [4] 刘朵花, 李伟, 吴仲. 沙棘和葡萄籽中原花青素的对比研究[J]. 沙棘, 2000, (3): 37.
- [5] 葛宜掌. 金红茶多酚提取方法进展[J]. 精细化工, 1994, 11(4): 52-55.
- [6] 陈继美, 石庆琳, 艾长荣. 茶多酚抗氧化自由基的作用及应用及进展[J]. 中国医院药学杂志, 1997, 17(12): 559-560.
- [7] 曾晓波, 吴谋成, 王海英. 丙酮浸提法制取菜籽浓缩蛋白[J]. 中国粮油学报, 2001, 16(4): 10-13.
- [8] Zhu Q Y, Zhang A, Tsang D S C, et al. Stability of green tea catechins[J]. Agric Food Chem, 1997, 45: 4624-4628.