

超声波提取葡萄籽油的工艺优化及其抗氧化性研究

王媛, 王定颖, 岳田利*

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 通过单因素试验选择温度、提取时间、功率为影响超声波提取葡萄籽油效率的3个主要因素, 运用响应曲面法进行超声波提取葡萄籽油的最佳工艺研究, 分析各因素对提取效果的影响, 并采用DPPH自由基实验以对其抗氧化性进行评价。结果表明: 最佳工艺条件为温度54℃、提取时间37min、超声波功率456W, 在此条件下进行验证实验, 每5g葡萄籽的葡萄籽油提取量为0.63314g, 提取率13.31%; 葡萄籽油质量浓度为1~25mg/mL时, 其质量浓度变化与自由基清除率呈正相关, 在25mg/mL时, 清除率达到80.7%, 继续增大葡萄籽油质量浓度, 对自由基清除率影响不大。

关键词: 葡萄籽油; 超声波; 响应曲面; DPPH自由基法; 清除率

Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction and Antioxidant Activity of Grape Seed Oil

WANG Yuan, WANG Ding-ying, YUE Tian-li*

(College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: Grape seed oil (GSO) is a kind of vegetable oil with lots of nutrients, the content of linoleic acid reaches over 75% of total fatty acids. GSO has special medical and nutritional values in prevention of cardiovascular disease and aging. This article was aimed at optimizing extraction process conditions of grape seed oil assisted by ultrasonic wave through response surface methodology (RSM), and to analyze the influence of different factors on extraction effects. Antioxidative capacity of GSO was determined by DPPH method. The result showed that: (1) The order of influence of extraction factors on extraction content of grape seed oil at temperature > time > power > material liquid ratio. (2) Optimum technological conditions were as follows: the extraction temperature at 54.2℃, extraction time for 37.8 min, ultrasonic power at 456.8 W, and the grape seed oil content was 0.13 g/g and extraction rate was 13.3% under the optimized conditions. (3) The concentration of the grape seed oil were controlled as 1—25 mg, and showed a positive relationship with antioxidant activity, the scavenging rate reached 80.7% at 25 mg. The scavenging rate of DPPH free radical did not increase with the increase of concentration of grape seed oil.

Key words: grape seed oil; ultrasonic wave; response surface methodology (RSM); DPPH free radical method; scavenging rate

中图分类号: TS225.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)10-0136-05

葡萄籽是一种众所周知的油料作物, 葡萄籽占鲜果质量4%~7%^[1], 含油量为8%~20%(m/m)^[2-3], 干燥以后主要成分中含有10%~20%多酚类物质^[4-5]。在我国, 80%的葡萄用于酿酒, 酿酒后葡萄的25%(m/m)成为皮渣, 其中20%~26%是葡萄籽^[6-7], 因此酿酒皮渣的利用越来越被广泛认为是增加商品附加值。葡萄籽油是葡萄种子经由物理或化学方式提炼而成, 呈清亮的淡黄色或淡绿色。其主要成分是亚油酸与原花青素^[8-10], 具有

抗衰老、增强免疫力、促进生长发育、消除血清胆固醇、治疗心血管疾病等多种生物学作用和功能^[11-16], 饱和脂肪酸的75%以上为亚油酸, 是目前发现的亚油酸含量最高的植物油之一。此外, 葡萄籽油中含有大量对人体有益的物质。现在对于葡萄籽油的提取大多采用物理压榨法, 但此种方法对于葡萄籽油的提取不够完全; 还有纯粹用溶剂法提取, 这种提取方法耗时较长; 还有一种新兴的超临界提取方法, 但设备较昂贵; 超声

收稿日期: 2011-05-13

作者简介: 王媛(1989—), 女, 本科生, 研究方向为食品安全控制。E-mail: wangyuan7189785@yahoo.cn

*通信作者: 岳田利(1966—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品生物工程与食品安全控制。E-mail: yuetl@nwsuaf.edu.cn

波辅助提取一种简便、快捷的方法,已逐渐应用于生物活性物质提取方面^[17-18]。

DPPH 自由基是一种人工合成的稳定自由基,由于其在可见光区有特征吸收,比色测定简便、快速,同时 DPPH 自由基较长的半衰期使此分析方法保持了良好的重现性。尽管 DPPH 自由基并非人体内实际产生的自由基,对 DPPH 自由基的淬灭能力仍然可以有效地评价抗氧化剂的活性,因此该法广泛用于自由基清除剂的筛选研究^[19]。

本实验运用响应曲面法进行超声波提取葡萄籽油的最佳工艺研究,分析各因素对提取效果的影响,并采用 DPPH 自由基对其抗氧化性进行了评价,以期得到葡萄籽油的最佳提取工艺及其抗氧化性评价方法。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

野生山葡萄籽,经干燥、粉碎,低温冷冻,备用。

石油醚(沸程 60~90℃)、甲醇 天津市天力化学试剂有限公司;无水乙醇 西安市三浦化学试剂有限公司;DPPH 上海华蓝化学试剂有限公司。

KQ-700GVDV 型三频恒温数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;万能粉碎机 浙江力普粉碎设备有限公司;HH-60 型数显恒温搅拌循环水箱 江苏常州国化电器有限公司;电热鼓风干燥箱 常德市武陵区世强铸造仪器厂;紫外分光光度仪。

1.2 方法

1.2.1 葡萄籽油提取单因素试验

每次试验称取 5.000g 葡萄籽粉,以石油醚为提取溶剂,将石油醚与葡萄籽粉混合均匀,做两组平行,然后进行超声波提取,过滤除去剩余葡萄籽粉,再结合恒温水浴,在通风厨内除去滤液中多余的石油醚以得到提取的葡萄籽油,冷却、称量,计算葡萄籽油提取量,考察不同因素对提取效果的影响。本试验选取对葡萄籽油提取量影响显著的温度、提取时间、料液比^[20]、超声波功率 4 个因素为自变量,考察超声波辅助提取葡萄籽油的工艺条件,单因素试验因素及水平见表 1。

表 1 单因素试验因素水平
Table 1 Factors and levels of single factor test

| 因素 | 水平 | | | |
|-----------|-----|------|------|------|
| 提取时间/min | 15 | 30 | 45 | 60 |
| 温度/℃ | 30 | 40 | 50 | 60 |
| 料液比(g/mL) | 1:8 | 1:10 | 1:12 | 1:14 |
| 功率/W | 420 | 490 | 560 | 630 |

1.2.2 葡萄籽油提取工艺响应面试验

在单因素试验基础上,综合考虑各因素对葡萄籽油提取量的影响,采用统计分析软件 Design Expert v7.0 建立 3 因素 3 水平的 Box-Behnken 模型进行试验,确定最优提取工艺。自变量因素编码及水平见表 2。

表 2 响应面法优化葡萄籽油提取工艺因素编码及水平
Table 2 Factors and levels of RSM

| 因素 | 编码 | 水平 | | |
|----------|----------------|-----|-----|-----|
| | | -1 | 0 | 1 |
| 提取时间/min | X ₁ | 40 | 50 | 60 |
| 温度/℃ | X ₂ | 30 | 40 | 50 |
| 功率/W | X ₃ | 420 | 490 | 560 |

1.2.3 DPPH 法测定葡萄籽油抗氧化性

用无水乙醇将提取的葡萄籽油稀释成一定质量浓度梯度,备用;用甲醇溶液将 DPPH 稀释为 120 μmol/L,备用;以无水乙醇与甲醇溶液 1:1(V/V)混合调零。

空白组:2.0mL 无水乙醇+2.0mL 120 μmol/L DPPH 甲醇溶液;实验组:2.0mL 不同质量浓度葡萄籽油+2.0mL 120 μmol/L DPPH 甲醇溶液;对照组:2.0mL 葡萄籽油+2.0mL 甲醇。每个实验组反应 30min 后在 517nm 条件下比色,按照下式计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(C)/\% = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100$$

式中: C 为 DPPH 自由基清除率; A₁ 为各实验组吸光度,样品清除 DPPH 自由基后的吸光度; A₂ 为对照组吸光度,反映样品本身对吸光度的贡献; A₃ 为空白组吸光度, DPPH 自由基自身在特定波长的吸光度。

2 结果与分析

2.1 温度对葡萄籽油提取量的影响

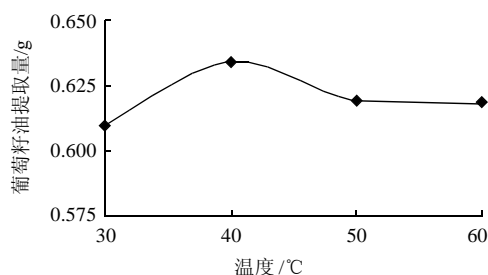


图 1 温度对葡萄籽油提取量的影响

Fig.1 Effect of temperature on extraction yield of grape seed oil

如图1所示,随着提取温度的逐渐升高,5g葡萄籽中葡萄籽油的提取量变化明显,在30~50℃葡萄籽油提取量先升高又逐渐降低,在40℃达到最高,50~60℃之间,提取的葡萄籽油提取量无明显变化,因此在40℃提取较为适宜。

2.2 提取时间对葡萄籽油提取量的影响

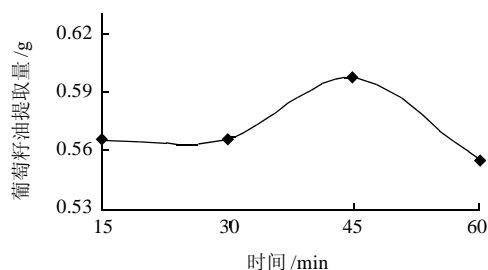


图2 提取时间对葡萄籽油提取量的影响

Fig.2 Effect of extraction time on extraction yield of grape seed oil

如图2所示,随着提取时间的延长,葡萄籽油提取量并不是越来越高,1~30min,提取量并无显著变化,30~45min之间,提取量迅速增高,从45~60min,葡萄籽油提取量开始下降,可得出在提取时间在30~45min之间较为适宜,45min提取量最高。

2.3 料液比对葡萄籽油提取量的影响

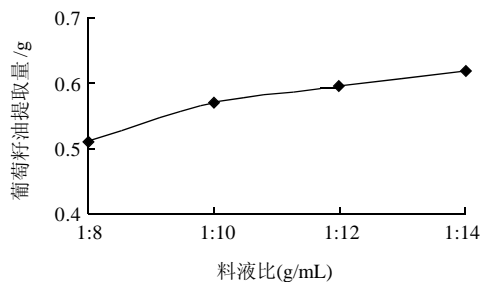


图3 料液比对葡萄籽油提取量的影响

Fig.3 Effect of solid-liquid ratio on extraction yield of grape seed oil

从图3可知,料液比变化对葡萄籽油的提取量有一定影响,虽然随着料液比的增大,提取量有所增加,但是石油醚的增加对葡萄籽粉中的葡萄籽油提取已比较充分了,所以使用更多的石油醚会造成不必要的浪费。因此考虑到溶剂成本与损耗及提取量,确定料液比为1:12。

2.4 超声功率对葡萄籽油提取量的影响

如图4所示,随着超声功率的升高,葡萄籽油的提取量先增大后减小,功率在420~490W之间时,葡

萄籽油的提取量呈升高趋势,当达到最高时,即在490~630W下降趋势,因此提取的超声功率应该在490W时较为合适。

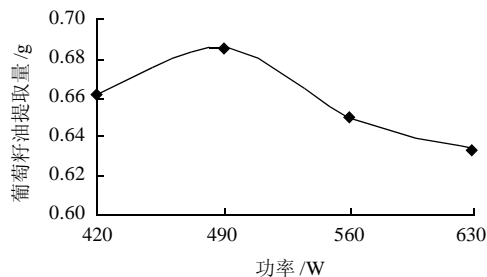


图4 功率对葡萄籽油提取量的影响

Fig.4 Effect of ultrasonic power on extraction yield of grape seed oil

2.5 响应面试验设计及回归方程的建立

利用 Design-Expert v7.0 软件,对表3试验数据进行多元回归拟合,得葡萄籽油提取量(Y_1)对提取时间(X_1)、温度(X_2)、功率(X_3)的二次多项回归模型方程为: $Y_1 = 0.6577 - 0.017968X_1 + 0.011999X_2 - 0.015469X_3 - 0.026789X_1^2 - 0.014226X_2^2 - 0.016286X_3^2 + 0.007065X_1X_2 - 0.00675X_1X_3 - 0.003437X_2X_3$ 。对该模型进行方差分析,结果见表4。

表3 葡萄籽油提取工艺响应面试验设计及结果

Table 3 Experimental trials and experiment results

| 试验号 | X_1 提取时间 | X_2 温度 | X_3 功率 | 葡萄籽油提取量/g |
|-----|------------|----------|----------|-----------|
| 1 | 0 | -1 | 1 | 0.613 |
| 2 | 1 | 0 | -1 | 0.621 |
| 3 | 1 | 1 | 0 | 0.625 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0.654 |
| 5 | 0 | 1 | -1 | 0.648 |
| 6 | 1 | 0 | 1 | 0.567 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0.660 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0.666 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0.651 |
| 10 | -1 | 1 | 0 | 0.642 |
| 11 | -1 | 0 | -1 | 0.649 |
| 12 | 0 | 1 | 1 | 0.621 |
| 13 | 1 | -1 | 0 | 0.578 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 0.658 |
| 15 | -1 | 0 | 1 | 0.622 |
| 16 | -1 | -1 | 0 | 0.622 |
| 17 | 0 | -1 | -1 | 0.627 |

由表4可知,模型 P 值小于0.01,表示模型高度显著,而失拟项不显著($P > 0.05$),说明方程对试验拟合较好。 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1^2 、 X_3^2 对应的 P 值均小于0.01,说明其对结果影响极显著; X_2^2 对应 P 值小于

0.05, 说明其对结果影响显著; 交互项 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 对结果影响不显著。

表4 回归模型方差分析
Table 4 ANOVA for regression model

| 来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F值 | P值 | 显著性 |
|----------|-----------|-----|------------|-------|--------|-----|
| 模型 | 0.012 | 9 | 0.001288 | 15.71 | 0.0007 | ** |
| X_1 | 0.002583 | 1 | 0.002583 | 31.50 | 0.0008 | ** |
| X_2 | 0.001152 | 1 | 0.001152 | 14.05 | 0.0072 | ** |
| X_3 | 0.001914 | 1 | 0.001914 | 23.34 | 0.0019 | ** |
| X_1X_2 | 0.0001997 | 1 | 0.0001997 | 2.43 | 0.1626 | |
| X_1X_3 | 0.0001823 | 1 | 0.0001823 | 2.22 | 0.1796 | |
| X_2X_3 | 0.0004727 | 1 | 0.0004727 | 0.58 | 0.4725 | |
| X_1^2 | 0.0003022 | 1 | 0.0003022 | 36.85 | 0.0005 | ** |
| X_2^2 | 0.0008522 | 1 | 0.0008522 | 10.39 | 0.0148 | * |
| X_3^2 | 0.0001117 | 1 | 0.0001117 | 13.62 | 0.0078 | ** |
| 残差 | 0.0005740 | 7 | 0.0008200 | — | — | |
| 失拟项 | 0.0004442 | 3 | 0.0001481 | 4.56 | 0.0883 | |
| 纯误差 | 0.0001298 | 4 | 0.00003245 | — | — | |
| 总和 | 0.012 | 16 | — | — | — | |

注: **.影响极显著, $P < 0.01$; *.影响显著, $P < 0.05$ 。

2.6 响应曲面图和等高线分析

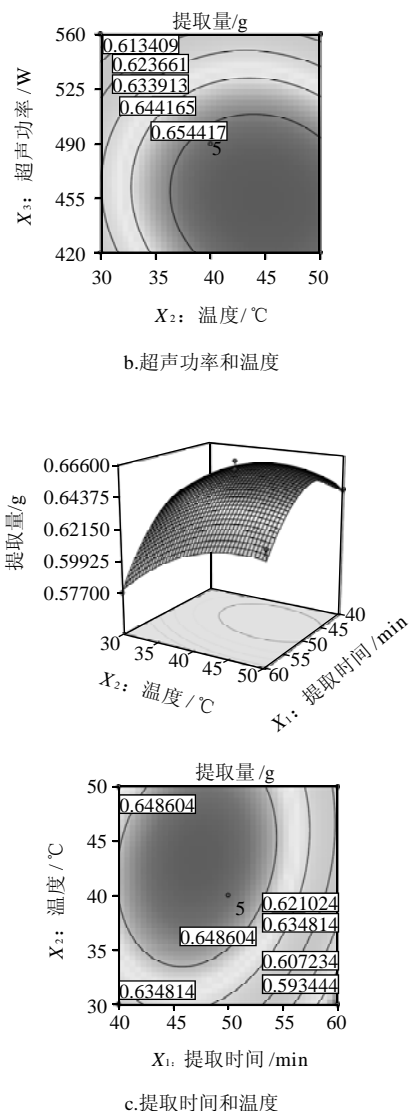
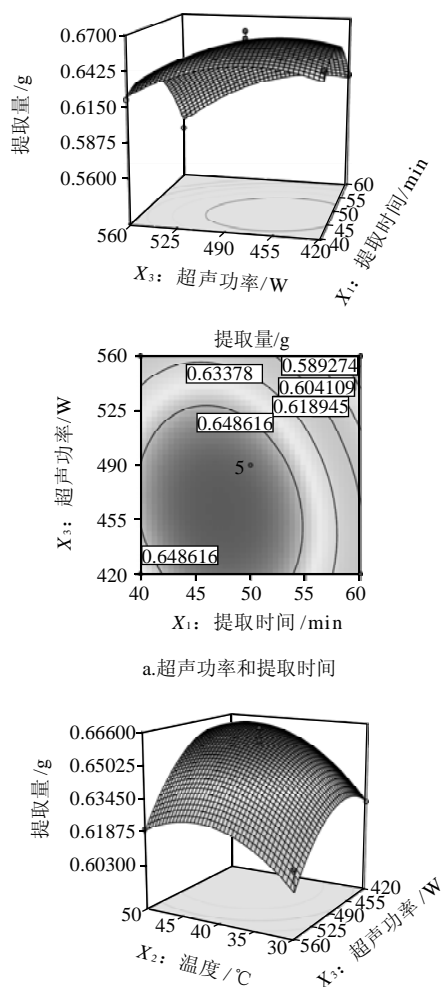


图5 各因素交互作用对提取量影响的响应面图

Fig.5 Effects of time and temperature on extraction yield of grape seed oil

由图5a可知, 固定温度40℃, 提取量随超声功率的增大而逐渐减少, 变化趋势平缓; 同时, 提取量随提取时间的延长而减少, 50min以后含量下降明显。由图5b可知, 固定提取时间50min, 葡萄籽油提取量随功率的增加而减少, 变化趋势平缓; 30~45℃, 提取量随温度升高而升高, 45~50℃, 提取量逐渐减少。由图5c可知, 固定功率490W, 随着温度逐渐升高提取量逐渐增加, 45~50℃时趋于平缓, 后有所减少; 提取时间在40~50min时, 随着提取时间延长, 提取含量增加, 50~60min时, 提取量开始明显下降。

利用SAS软件进行优化后得到超声波提取葡萄籽油的最佳工艺参数为提取时间37.8036min、温度54.2446℃、功率456.8074W, 在此条件下, 每5g葡萄籽的葡萄籽油提取量为0.63314g。

2.7 葡萄籽油清除 DPPH 自由基效果的检测

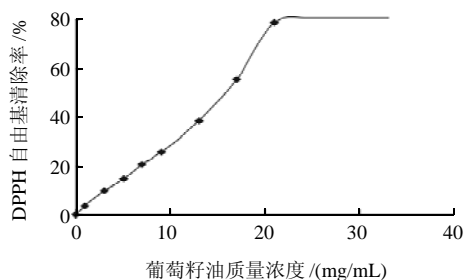


图6 葡萄籽油质量浓度对 DPPH 自由基清除率的影响

Fig.6 Effect of grape seed oil concentration on scavenging rate of DPPH free radical

从图6可知,葡萄籽油对DPPH自由基的清除率随着葡萄籽油质量浓度的增加而逐渐增大,清除率在3.7%~80.7%,两者呈正相关;葡萄籽油质量浓度在1~25mg/mL时,DPPH自由基清除率随质量浓度增大呈现明显的增加趋势,两者线性关系良好;当质量浓度大于25mg/mL时,DPPH自由基清除效果变化不明显。

3 结 论

3.1 通过响应曲面法优化试验,利用SAS软件进行优化后得到超声波提取葡萄籽油的最佳工艺参数为提取温度54℃、提取时间37min、超声波功率456W。

3.2 DPPH法测定葡萄籽油抗氧化性的葡萄籽油乙醇溶液质量浓度范围为1~25mg/mL,在此范围内,质量浓度与清除率呈现良好的线性关系,当葡萄籽油质量浓度大于25mg/mL,葡萄籽油对DPPH自由基清除效果变化不明显。

参考文献:

- [1] 杭烨超,李方实.葡萄籽中主要成分提取方法的研究[J].化工时刊,2004,18(4):1-3.
- [2] PASSOS C P, YILMAZ S, SILVA C M, et al. Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail[J]. Food Chemistry, 2009, 115(1): 48-53.
- [3] CREW C, HOUGH P, GODWARD J, et al. Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(17): 6261-6265.
- [4] PASSOS C P, CARDOSO S M, BARROS A S, et al. Application of FT-IR spectroscopy and O-PLS/PLS1 regression for estimation of flavan-3-ols average degree of polymerization[J]. Analytical Chemical Acta, 2010, 661(2): 143-149.
- [5] BAIL S, STUEBIGER G, KRIST S, et al. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity[J]. Food Chemistry, 2008, 108(3): 1122-1132.
- [6] RICE A C. Solid-waste generation and by-product recovery potential from winery residues[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1976, 27(1): 21-26.
- [7] GOMEZ A M, LOPEZ C P. Recovery of grape seed oil by liquid and supercritical carbon dioxide extraction: a comparison with conventional solvent extraction[J]. Chemical Engineering Journal and The Biochemical Engineering Journal, 1996, 3(61): 227-231.
- [8] BAGCHI D, BAGCHI M, STOHS S J, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention[J]. Toxicology, 2000, 148(23): 187-189.
- [9] PEKIC B, ALONSO E. Study of the extraction of proanthocyanidins from grape seeds[J]. Food Chemistry, 1998, 61(12): 201-206.
- [10] 奚洪民,邹宪芝,刘进邦,等.葡萄籽中低聚原花青素研究进展[J].化学世界,2005(12): 759-762.
- [11] 董海洲,万本屹,李宏,等.超临界CO₂流体技术萃取葡萄籽油的研究[J].食品与发酵工业,2002,28(3): 35-39.
- [12] 董海洲,刘传富,侯汉学,等.葡萄籽油的浸提和精炼工艺[J].食品与发酵工业,2004,30(7): 121-124.
- [13] 董海洲,万本屹,刘传富,等.葡萄籽油超临界二氧化碳萃取最佳工艺参数及其理化特性的研究[J].中国粮油学报,2004,19(5): 55-58.
- [14] 王敬勉,廖德胜,张永洪.葡萄籽油生产工艺研究[J].中国油脂,1997,22(2): 10-11.
- [15] 于宝成,郎录贤.葡萄籽油的制取[J].中国油脂,1999,24(2): 55.
- [16] 刘建华,程传格,董福英,等.大泽山葡萄籽油中脂肪酸成分的GC/MS分析[J].化学分析计量,2000,9(1): 16-17.
- [17] 张连福,刘泽龙.超声-微波协同辅助与超声波辅助提取番茄中番茄红素的工艺比较及优化[J].超声波化学,2008,15(5): 731-737.
- [18] 王志高,鄢贵龙,武华宜,等.超声-微波协同萃取枇杷叶多糖的工艺研究[J].食品工业科技,2008,29(8): 207-208; 216.
- [19] 孙艳梅,徐雅琴,杨林.天然物质类黄酮的抗氧化活性的研究[J].中国油脂,2003,28(3): 54-58.
- [20] 周雯雯,颜贤仔,王晶晶.溶剂法提取葡萄籽油的工艺研究[J].安徽农业科学,2008,36(19): 7980-7981.