

超声波辅助法提取菜籽皮中原花色素工艺优化

潘丽军, 范婷婷, 姜绍通, 操丽丽
(合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽 合肥 230009)

摘要: 以菜籽皮为原料, 在单因素试验的基础上, 通过四因素二次旋转正交组合设计, 对超声波辅助法提取菜籽皮中原花色素的条件进行研究。结果表明: 原料粒度 60 目, 乙醇体积分数 54%, 料液比 1:12(脱脂菜籽皮:乙醇, g/mL), 超声时间 22.5min 的条件下, 原花色素的提取率为 37.12%。

关键词: 菜籽皮; 原花色素; 超声波; 提取; 响应曲面

Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction of Proanthocyanidins from Rapeseed Shell

PAN Li-jun, FAN Ting-ting, JIANG Shao-tong, CAO Li-li
(School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: To optimize proanthocyanidins yield from rapeseed shell extracted by ultrasonic-assisted extraction, single factor experiments followed by response surface analysis combined with a 4-variable quadratic orthogonal rotation combination design were carried out. Results showed that the optimal ultrasonic-assisted extraction, namely using 54% aqueous ethanol to extract the powdered material having particle size of 60 mesh at a material/liquid ratio of 1:12 (g/mL) with the assistance of 22.5 min ultrasonic treatment, resulted in a proanthocyanidins yield of up to 37.12%.

Key words: rapeseed shell; proanthocyanidins; ultrasonic assistance; extraction; response surface methodology

中图分类号: TS229

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)10-0047-06

随着菜籽脱皮冷榨制油技术的应用与推广, 我国每年将产生大量菜籽皮。菜籽皮占菜籽质量的 16% ~ 19%, 含有菜籽中 90% 以上的植酸、色素、单宁及皂素等抗营养因子^[1]。对菜籽皮中的植酸、色素等抗氧化成分进行提取, 既可以除去其中的抗营养因子, 又能有效提升菜籽皮的综合利用价值。

原花色素又称原花青素(proanthocyanidins, 简称 PC), 也称缩合单宁, 是植物中广泛存在的一类的天然多酚化合物^[2]。它是具有很强作用的抗氧化剂和自由基清除剂, 已被广泛应用于医药、保健品、食品及化妆品等诸多领域^[3-10]。国内外关于原花色素的研究多取材于葡萄籽或松树皮, 而鲜见关于菜籽皮原花色素的报道。菜籽皮中含有 2% ~ 3% 的原花色素, 是制取原花色素的又一来源^[11]。目前, 原花色素的制备普遍采用溶剂浸提法从植物中直接提取, 该法耗时长, 在提取过程中温度较高, 易导致原花色素氧化, 提取率降低^[12]。本实验采用超声波辅助法提取菜籽皮原花色素, 旨在控制提取过程中原花色素的氧化, 提高其制品提取率, 为菜籽皮的综合利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菜籽皮 安徽省太平油脂厂。

原花色素标准品(UV 纯度大于 95%) 天津一方科技有限公司; 乙醇、香草醛、甲醇、盐酸均为分析纯 重庆北碚化学试剂厂; 实验用水均为二次蒸馏水。

1.2 仪器与设备

超声波清洗仪 上海杰理科技有限公司提供; SP-721E 型可见分光光度计 上海精科实业有限公司; Ohaus 电子天平 上海富众仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原花色素的检测方法

采用香草醛-盐酸法^[13]。原花色素提取率计算公式如下:

$$\text{原花色素提取率} / \% = \frac{m_1}{m_0} \times 100$$

收稿日期: 2009-08-10

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2006BAD05A12)

作者简介: 潘丽军(1955—), 女, 教授, 研究方向为农产品资源综合利用。E-mail: panlijun1955@163.com

式中： m_1 为提取所得原花色素的质量； m_0 为原料中原花色素质量。

1.3.2 单因素试验设计

精确称取一定质量脱脂菜籽皮放入锥形瓶中，采用超声波辅助法提取原花色素，考察原料粒度、乙醇体积分数、料液比(脱脂菜籽皮:乙醇, g/mL)、超声波处理时间对原花色素提取率的影响。

1.3.3 四因素二次回归旋转正交组合试验设计^[14-16]

根据单因素试验的初步探索，采用四因素二次回归旋转正交组合设计，对超声波辅助法提取原花色素的工艺条件进行优化。试验因素及水平选取见表 1。

表 1 超声波提取菜籽皮原花色素试验的因素与水平
Table 1 Variables and levels in dramatic orthogonal rotation combination design

编码值	因素			
	X_1 原料 粒度/目	X_2 乙醇体积 分数/%	X_3 料液比 (g/mL)	X_4 超声时 间/min
2	100	70	1:14	30
1	80	60	1:12	25
0	60	50	1:10	20
-1	40	40	1:8	15
-2	20	30	1:6	10

2 结果与分析

2.1 原料粒度对原花色素提取率的影响

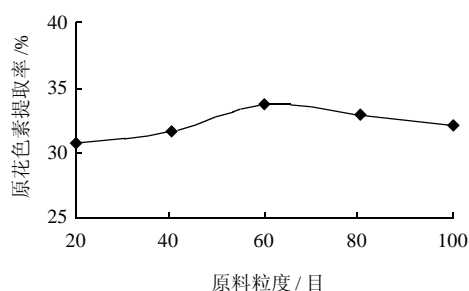


图 1 原料粒度对原花色素提取率的影响

Fig.1 Effect of material particle size on proanthocyanidins yield

在乙醇体积分数 50%，料液比 1:8，超声波提取时间 15min 的条件下，不同原料粒度对原花色素提取率的影响如图 1 所示。原料粉碎粒度为 60 目时，提取率最高，可达 33.68%；粉碎粒度高于 60 目，提取率反而降低。分析其原因为菜籽皮研磨过细时，粉末在溶液中结团，与溶剂接触不充分降低了原花色素提取率。

2.2 乙醇体积分数对原花色素提取率的影响

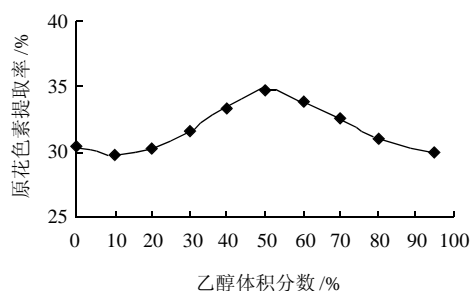


图 2 乙醇体积分数对原花色素提取率的影响

Fig.2 Effect of ethanol concentration on proanthocyanidins yield

在原料粒度 60 目，料液比 1:8，超声波提取时间 15min 的提取条件下，不同体积分数乙醇对原花色素提取率的影响如图 2 所示。随着乙醇体积分数的增加，原花色素提取率有上升的趋势，当乙醇体积分数达到 50% 时，原花色素提取率达到最大值，之后随着体积分数的继续增加，原花色素提取率下降。原因可能是水具有穿透植物细胞的作用，水的添加比例减少导致原花色素从菜籽皮中渗出量降低。

2.3 料液比对原花色素提取率的影响

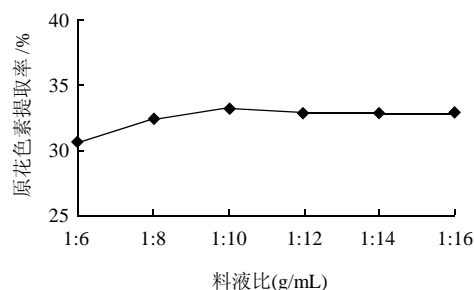


图 3 料液比对原花色素提取率的影响

Fig.3 Effect of material/liquid ratio on proanthocyanidins yield

在原料粒度 60 目，乙醇体积分数 50%，超声波提取时间 15min 的提取条件下，料液比对原花色素提取率的影响如图 3 所示。当料液比为 1:10 时，原花色素提取率为 33.27%，料液比继续增大对提取率影响不明显。所以从节约成本角度考虑，本实验选取料液比为 1:10。

2.4 超声波处理时间对原花色素提取率的影响

在原料粒度 60 目，乙醇体积分数 50%，料液比 1:10 的提取条件下，超声波辅助提取时间对原花色素提取率的影响如图 4 所示。超声波振荡 20min 时，原花色素提取率最高，当继续延长振荡时间，原花色素提取率变化不大，而且超声波时间过长，会导致温度升高，影响原花色素的稳定性。

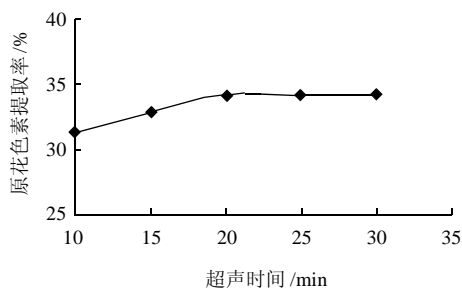


图4 超声时间对原花色色素提取率的影响

Fig.4 Effect of ultrasonic treatment time on proanthocyanidins yield

2.5 四因素二次回归旋转正交组合设计试验结果分析

表2 超声辅助提取菜籽皮原花色色素四因素二次旋转正交设计试验方案与结果

Table 2 Arrangement of dramatic orthogonal rotation combination design and experimental values of proanthocyanidins yield

试验号	X ₁ 原料 粒度/目	X ₂ 乙醇体 积分数/%	X ₃ 料液比	X ₄ 超声 时间/min	Y 提取 率/%
1	-1(40)	-1(40)	-1(1:8)	-1(15)	30.75
2	-1	-1	-1	1(25)	31.59
3	-1	-1	1(1:12)	-1	34.43
4	-1	-1	1	1	33.05
5	-1	1(60)	-1	-1	31.48
6	-1	1	-1	1	32.16
7	-1	1	1	-1	33.42
8	-1	1	1	1	34.56
9	1(80)	-1	-1	-1	32.27
10	1	-1	-1	1	34.04
11	1	-1	1	-1	32.58
12	1	-1	1	1	34.41
13	1	1	-1	-1	33.26
14	1	1	-1	1	34.15
15	1	1	1	-1	35.24
16	1	1	1	1	35.98
17	-2(20)	0(50)	0(1:10)	0(20)	32.53
18	2(100)	0	0	0	29.34
19	0(60)	-2(30)	0	0	31.64
20	0	2(70)	0	0	35.24
21	0	0	-2(1:6)	0	35.14
22	0	0	2(1:14)	0	37.33
23	0	0	0	-2(10)	35.20
24	0	0	0	2(30)	37.18
25	0	0	0	0	36.71
26	0	0	0	0	37.07
27	0	0	0	0	35.92
28	0	0	0	0	36.29
29	0	0	0	0	36.97
30	0	0	0	0	37.8
31	0	0	0	0	37.75
32	0	0	0	0	37.60
33	0	0	0	0	36.60
34	0	0	0	0	37.60
35	0	0	0	0	37.02
36	0	0	0	0	37.18

采用回归旋转正交组合设计, 进行超声波辅助提取原花色色素的试验方案与结果如表2所示。

利用SAS软件对表2数据进行回归拟合, 得到菜籽皮原花色色素提取率 Y 与自变量 X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 的二次回归方程为:

$$Y=37.0425+0.7029171X_1+0.597083X_2+0.764583X_3+0.43625X_4-1.670937X_1^2+0.220625X_1X_2-0.311875X_1X_3+0.246875X_1X_4-1.044687X_2^2+0.145625X_2X_3+0.024375X_2X_4-0.345937X_3^2-0.115625X_3X_4-0.357187X_4^2$$

对该模型进行的方差分析及显著性检验结果见表3。

表3 方差分析及显著性检验

Table 3 Analysis of variance and significant test for fitted quadratic regression equation

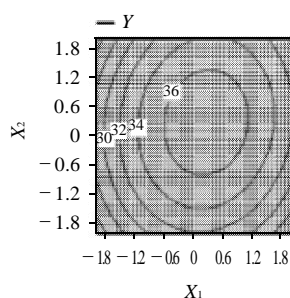
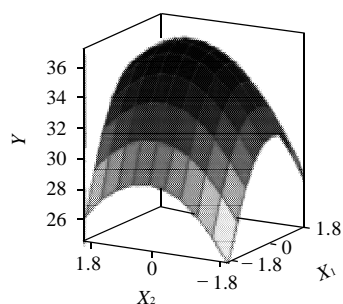
差异源	SS	DF	MS	F	显著性
X ₁	11.8582	1	11.8582	19.3507	**
X ₂	8.556204	1	8.556204	13.96237	**
X ₃	14.0301	1	14.0301	22.8949	**
X ₄	4.567537	1	4.567537	7.483495	*
X ₁ ²	89.34503	1	89.34503	145.7969	**
X ₁ X ₂	0.778806	1	0.778806	1.270888	
X ₁ X ₃	1.556256	1	1.556256	2.539563	
X ₁ X ₄	0.975156	1	0.975156	1.5913	
X ₂ ²	34.9239	1	34.9239	56.99026	**
X ₂ X ₃	0.339306	1	0.339306	0.553694	
X ₂ X ₄	0.009506	1	0.009506	0.015513	
X ₃ ²	3.829528	1	3.829528	6.249181	*
X ₃ X ₄	0.213906	1	0.213906	0.349061	
X ₄ ²	4.082653	1	4.082653	6.662241	*
模型	175.0661	14	12.50472	20.40572	**
残差	12.8689	21	0.612805		
失拟项	9.014875	10	0.901488	2.572989	
总和	187.935	35			

注: $F_{0.01(1,21)}=8.02$; $F_{0.05(1,21)}=4.32$; $F_{0.05(14,21)}=2.20$; $F_{0.01(14,21)}=3.07$; $F_{0.05(10,11)}=2.85$ 。

由表3可知, 原料粒度、乙醇体积分数、料液比及超声时间4个因素及其二次项对提取率的影响均在显著水平及以上; 而各因素之间的交互作用对提取率的影响不显著; 因变量与自变量之间的多元回归关系是高度显著的(复相关系数 $R^2=0.9315$), 该模型对 Y 值变化的描述程度为93.15%, 且失拟性检验结果为不显著, 表明试验设计结果可靠。删除不显著的回归数据项后, 其最优回归模型为:

$$Y=37.0425+0.7029171X_1+0.597083X_2+0.764583X_3+0.43625X_4-1.670937X_1^2-1.044687X_2^2-0.345937X_3^2-0.357187X_4^2$$

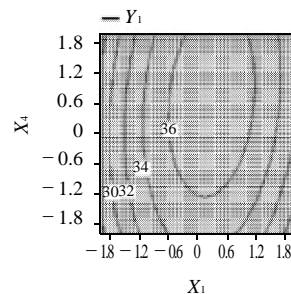
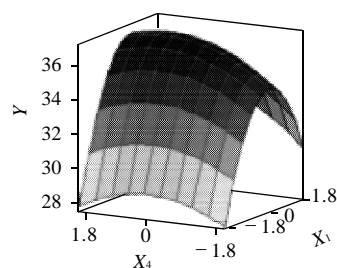
对以上数据用SAS软件绘出的响应面及其等高线图如图5~10, 该图形较好地描述了原料粒度、乙醇体积分数、料液比及超声时间对原花色色素提取率的影响过程。



固定水平: $X_3=0$, $X_4=0$ 。

图5 $Y=F(X_1, X_2)$ 响应曲面图及等高线图

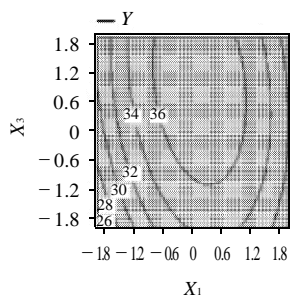
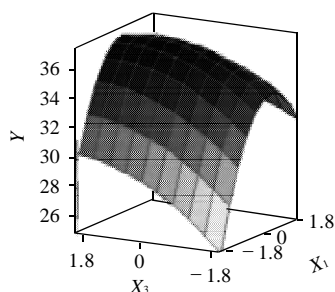
Fig.5 Response surface plot and contour plot showing the interactive effects of material particle size (X_1) and ethanol concentration (X_2) on proanthocyanidins yield (Y)



固定水平: $X_2=0$, $X_3=0$ 。

图7 $Y=F(X_1, X_4)$ 响应曲面图及等高线图

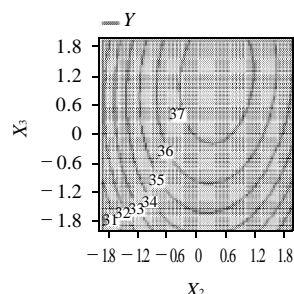
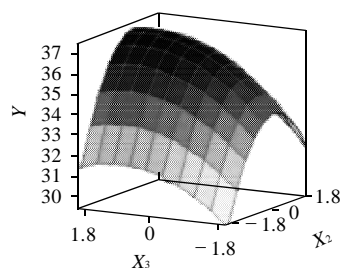
Fig.7 Response surface plot and contour plot showing the interactive effects of material particle size (X_1) and ultrasonic treatment time (X_4) on proanthocyanidins yield (Y)



固定水平: $X_2=0$, $X_4=0$ 。

图6 $Y=F(X_1, X_3)$ 响应曲面图及等高线图

Fig.6 Response surface plot and contour plot showing the interactive effects of material particle size (X_1) and material/liquid ratio (X_3) on proanthocyanidins yield (Y)



固定水平: $X_1=0$, $X_4=0$ 。

图8 $Y=F(X_2, X_3)$ 响应曲面图及等高线图

Fig.8 Response surface plot and contour plot showing the interactive effects of ethanol concentration (X_2) and material/liquid ratio (X_3) on proanthocyanidins yield (Y)

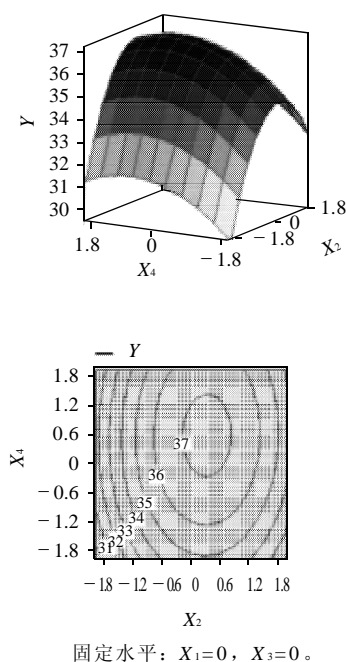
图9 $Y=F(X_2, X_4)$ 响应曲面图及等高线图

Fig.9 Response surface plot and contour plot showing the interactive effects of ethanol concentration (X_2) and ultrasonic treatment time (X_4) on proanthocyanidins yield (Y)

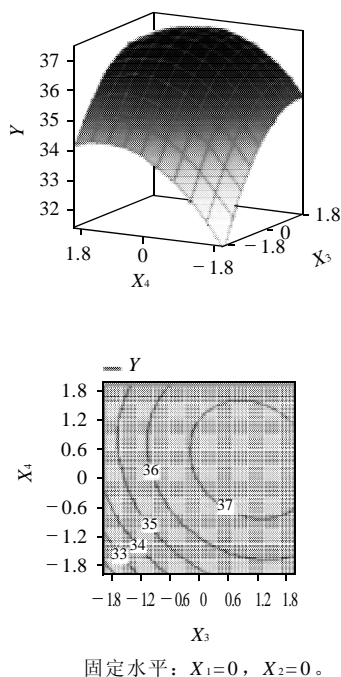
图10 $Y=F(X_3, X_4)$ 响应曲面图及等高线图

Fig.10 Response surface plot and contour plot showing the interactive effects of material/liquid ratio (X_3) and ultrasonic treatment time (X_4) on proanthocyanidins yield (Y)

从图5可以看出, X_1 码值在 $-0.6 \sim 1.0$, X_2 码值在 $-0.6 \sim 1.3$ 时, 原花色素提取率达到最大。图6表示了原料粒度不变时, 料液比的增加会使提取率不断增大, 料液比为 1:8 时提取率达到最大, 之后提取率趋于平衡。同样, 当料液比一定时, 提取率随原料粒度先增大后减小, 当原料粒度为 60 目时, 提取率较高。由图7得知, 原料粒度不变时, 提取率随超声时间的增加先增大后趋于稳定, 而超声时间一定时, 提取率随原料粉碎粒度的增加先增大后减小。由图8可知料液比一定时, 乙醇体积分数增大会使提取率增大, 当乙醇体积分数高于 60% 后提取率趋于稳定。图9显示超声时间一定时, 提取率随着乙醇体积分数的增大呈先增后减趋势。 X_2 码值在 $-0.2 \sim 0.8$, X_4 码值 $-0.3 \sim 1.3$ 时, 原花色素提取率可达到 37%。图10为料液比与超声时间对原花色素提取率的影响。料液比的增大和超声时间的延长都有助于原花色素的提取, 但料液比高于 1:10 和超声时间大于 18min 后, 提取率不再增大。由此可知, 原花色素提取率与上述四个因素均存在对应关系。

由 SAS 软件分析得出各因素最优水平组合为: $X_1=0.17904$, $X_2=0.38168$, $X_3=1.01768$, $X_4=0.52085$, 此时, $Y=37.72$, 即提取率为 37.72%。在实际实验中, 近似取 $X_1=0$, $X_2=0.4$, $X_3=1$, $X_4=0.5$, 即原料粒度 60 目, 乙醇体积分数 54%, 料液比 1:12, 提取时间 22.5min。在该条件下, 实验得原花色素平均提取率为 37.21%, 误差为 1.34%。说明采用四因素二次回归旋转正交组合设计寻求的最佳工艺条件是可行的。

3 结论

采用四因素二次回归旋转正交组合设计, 得到超声波辅助法提取菜籽皮原花色素的最佳工艺条件: 原料粒度 60 目, 乙醇体积分数 54%, 料液比 1:12, 浸提时间为 22.5min, 此时原花色素提取率为 37.12%。用传统溶剂法提取菜籽皮原花色素时, 在料液比 1:10, 乙醇体积分数 50%, 温度 55℃, pH5, 摇床振荡 2h 的条件下, 原花色素提取率仅为 20%, 与其相比超声辅助波提取法是较为有效的方法。但总体来看, 提取率仍然较低, 这可能是由于菜籽皮中的原花色素大部分与蛋白质和纤维素结合, 而游离原花色素相对较少。此外菜籽皮中原花色素含量还与菜籽皮的贮存条件有关, 贮存温度过高或放置过久都会影响原花色素的提取效果, 这些都是进一步研究需要解决的问题。

参考文献:

- [1] 刘晓军. 油菜籽加工副产品的开发利用[J]. 农产品加工, 2007(9): 14-15.
- [2] 刘叶玲, 王春波. 原花青素的研究进展[J]. 社区医学杂志, 2004, 2

- (6): 27-29.
- [3] JORGE M, SILVA R C, DARMON N, et al. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds [J]. *J Agric Food Chem*, 1991, 39(9): 1549-1552.
- [4] DURUKAN A, EVEREKLIOGLU C, HURMERIC V, et al. Ingestion of IH636 grape seed proanthocyanidin extract to prevent selenite-induced oxidative stress in experimental cataract[J]. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, 2008, 32(6): 1041-1045.
- [5] YÜCEL O, SARGIN A K, TEKINER A, et al. Influence of proanthocyanidin on blunt traumatized lungs after nitrogen mustard exposure[J]. *Gülhane Tıp Dergisi*, 2009, 51: 39-44.
- [6] BELCARO G, CESARONE M R, ROHDEWALD P, et al. Prevention of venous thrombosis and thrombophlebitis in long-haul flights with pycnogenol[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2004, 10(4): 373-377.
- [7] KIM Y J, PARK H J, YOON S H, et al. Anticancer effects of oligomeric proanthocyanidins on human colorectal cancer cell line, SNU-C4[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2005, 11(30): 4674-4678.
- [8] CHRISTIE S, WALKER A F, HICKS S M, et al. Flavonoid supplement improves leg health and reduces fluid retention in pre-menopausal women in a double-blind, placebo-controlled study[J]. *Phytomedicine*, 2004, 11(1): 11-17.
- [9] LI Xianhua, XIAO Yunling, GAO Haiqing, et al. Grape seed proanthocyanidins ameliorate diabetic nephropathy via modulation of levels of AGE, RAGE and CTGF[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2009, 111(2): 31-41.
- [10] VOGELS N, NIJS I M, WESTERTEP-PLANTENGA M S. The effect of grape-seed extract on 24 h energy intake in humans[J]. *Eur J Clin Nutr*. 2004, 58(4): 667-673.
- [11] 胡健华, 韦一良, 陆艳, 等. 油菜籽皮中提取原花色素的研究[J]. *中国油脂*, 2004(4): 26-28.
- [12] 张连富, 牟德华, 杜彦山. 原花青素提取及微胶囊化研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2007, 19(4): 657-661.
- [13] 李春阳, 许时婴, 王璋. 香草醛-盐酸法测定葡萄籽、梗中原花青素含量的研究[J]. *食品科学*, 2004, 25(2): 157-161.
- [14] 李玉山, 王经安. 锯叶棕果中脂肪酸的提取工艺研究[J]. *食品工业科技*, 2009(3): 202-204.
- [15] 王敏, 陆兆新, 吕凤霞, 等. 响应曲面法优化酶法提取银杏叶总黄酮[J]. *食品科学*, 2007, 28(3): 117-121.
- [16] CARLEY K M, KAMNEVA N Y, REMINGA J. Response surface methodology: CASOS technical report, CMU-ISRI-04-136[R]. Pittsburgh: Carnegie Mellon University, 2004.