

陕北荞麦壳中生理活性成分的研究

杨芙莲, 任蓓蕾, 夏 银

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西 西安 710021)

摘 要: 研究了陕北荞麦壳中生理活性成分黄酮的最佳提取工艺。采用统计软件 SAS 中响应面分析法 Box-Behnken 中心组合设计, 以类黄酮得率为考察指标, 用分光光度法测定类黄酮含量。研究表明: 超声辅助提取法优于乙醇浸提法、超临界 CO₂ 流体萃取法, 其最佳提取工艺为以原料重 47 倍 47% 的乙醇为溶剂, 超声功率 195W, 在 70℃ 下提取 70min, 得率可达到 4.84%。

关键词: 荞麦壳; 类黄酮; 超声波; 提取工艺

Study on Active Physiological Components in North Shaanxi Buckwheat Hull

YANG Fu-lian, REN Bei-lei, XIA Yin

(College of Life Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: The optimum extraction technique and conditions were studied on the active physiological components (generally flavonoids) in the north shaanxi buckwheat hull. The best extraction method of flavonoids in general was optimized with response surface analysis Box-Behnken experiment of SAS. The yield of flavonoids in general is taken as criterion. Spectrophotometry is applied for the determination of flavonoids in general. The result is: ultrasonic extraction is better than ethanol extraction and supercritical CO₂ extraction. The optimum conditions for the flavonoids in general extraction technique are: ratio of solvent to material 47, ultrasonic power 195W, temperature 70℃, ethanol concentration 47% and extracting time 70 min. The yield of general flavonoids is 4.84%.

Key words buckwheat shell; flavonoids in general; ultrasonic extraction technique

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)12-0156-06

荞麦(Buckwheat)属于蓼科(*Polygonaceae*)荞麦属(*Fagopyrum*), 是起源于我国的古老栽培作物之一^[1]。后魏《齐民要术》、唐《食疗本草》和宋《嘉祐本草》等书中, 对荞麦的栽培技术、食用方法和食疗作用等, 已有较详细的记述。现代医学研究证明, 荞麦具有抗氧化、抗自由基, 降血压、降血脂, 调节内分泌系统, 护肝、抑菌、抗病毒等多种生理功能^[2-3]。经过

深入研究表明, 类黄酮是荞麦中最重要的营养保健功能因子^[4], 其中芦丁含量最多, 它能维持毛细血管的抵抗力, 具有抗炎、抗过敏、利尿、解痉、镇咳、降血脂、强心等方面的作用^[5]。

在我国北部山区(陕北), 荞麦是当地传统粮食作物。尤其在陕北定边、靖边、吴旗、志丹、安塞等县, 荞麦种植面积很大。当地荞麦加工企业主要是利

收稿日期: 2006-11-12

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2005C126)

作者简介: 杨芙莲(1965-), 女, 教授, 主要从事食品加工与食品机械研究。

[1] 张泓. 即食鲜海参的市场潜力和加工工艺[J]. 渔业现代化, 2005(1): 42.
[2] 孙显武. 刺参的加工技术[J]. 中国水产, 2002(6): 71.
[3] 梁锡雄. 海参涨发方法的探求[J]. 中国食品, 2000(16): 28-29.
[4] 李建武, 萧能庚, 余瑞元, 等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 1994: 62-79.
[5] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 3版. 北京: 高等教育出版

社, 1999: 26-69.

[6] SCHUBRING R. Untersuchung von einflussfaktoren auf die instrumentelle TPA von fischerzeugnissen[J]. Deutsche Lebensmittel Rundschau, 1999(9): 373-385.
[7] 李里特. 食品物性学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 55.
[8] LUCEY J A, JOHNSON M E, HORNE D S. Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese[J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(9): 2725-2743.

用荞麦仁,把荞麦仁加工成荞麦粉、荞麦挂面、荞麦方便面、荞麦醋等,而把由此产生的大量荞麦壳几乎没有利用,只有极少部分作为枕心充填物或肥料。为了开发利用陕北荞麦壳,使其变废为宝,对其所含的生理活性成分类黄酮进行提取研究。

1 材料与方 法

1.1 材料与设备

荞麦壳 陕北神木;芦丁 生化试剂,国药集团化学试剂有限公司;其它试剂均为分析纯。

722型光栅分光光度计、HS-2型电热恒温水浴锅 上海精科;BS323S型分析天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司;数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 方 法

1.2.1 标准曲线的制作^[6]

准确称取120℃干燥至恒重的芦丁标准品50mg,置于25ml量瓶中,加甲醇适量,置于水浴上微热使之溶解,加甲醇至刻度,摇匀。精密量取10ml置于100ml量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得(每1ml中含无水芦丁0.2mg)。

精密吸取1、2、3、4、5、6ml上述芦丁对照品溶液,置于25ml量瓶中,加水至6.0ml;加5%(W/V)亚硝酸钠液1ml,混匀,放置6min;加10%(W/V)硝酸铝溶液1ml,摇匀,放置6min;加NaOH(1.0mol/L)试液10ml,再加水至刻度,摇匀,放置15min。以相应试剂为空白,用分光光度计在最大特征吸收波长下测定吸光度。

1.2.2 类黄酮得率的测定方法

将提取液抽滤并定容至100ml。按“标准曲线制作”项下进行操作,测定最大特征吸收波长下的吸光度,根据回归方程计算被测样品中类黄酮得率。

$$\text{得率}(\%) = \frac{C \times 25 \times 100}{M \times 1000 \times V} \times 100$$

式中,C为类黄酮提取液的浓度(mg/ml);M为被提取原料质量(g);V为提取液体积(ml)。

1.2.3 提取方法

以乙醇为提取溶剂,分别采用:乙醇浸提法、超声波辅助提取法、超临界CO₂萃取法。

1.2.4 单因素试验

选取原料粉碎目数、温度、乙醇浓度、时间、料液比、功率六个可能影响提取效果的因素做单因素试验,以确定相关因素及各因素的合适范围。

1.2.5 超声辅助提取最佳工艺的优化^[7]

运用统计软件SAS中的响应面分析法Box-Behnken中心组合设计来优化提取工艺。在单因素试验基础上,选取功率、乙醇浓度、料液比三个影响较大的因素进行优化组合,考察指标为类黄酮的得率,因素水平见表1。试验以随机次序进行,重复两次,取平均值。

表1 因素水平表
Table 1 Factors and levels of test

| 因素 | 编码值 | | |
|----------------------|------|------|------|
| | -1 | 0 | 1 |
| X ₁ 功率(W) | 150 | 175 | 200 |
| X ₂ 浓度(%) | 30 | 40 | 50 |
| X ₃ 料液比 | 1:30 | 1:40 | 1:50 |

2 结果与分析

2.1 芦丁最大特征吸收峰

对芦丁标准液显色后用756型可见紫外分光光度计在400~700nm范围内扫描,得到芦丁标准溶液的最大吸收波长为510nm。

2.2 工作曲线及线性回归方程

芦丁标准工作曲线见图1。

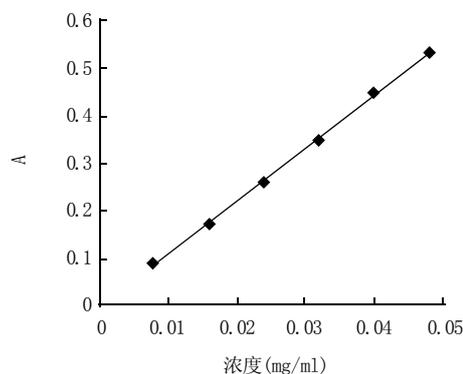


图1 芦丁标准曲线
Fig.1 Standard curve of rutin

用最小二乘法进行线性回归,得回归方程为:y = 11.36x - 0.0097, R²=0.9996。

2.3 不同提取方法比较

对陕北荞麦壳采用不同提取方法所得类黄酮的得率见表2。

表2 类黄酮得率
Table 2 Yield of flavonoids in general

| 提取方法 | 乙醇浸提 | 超声波辅助提取 | 超临界CO ₂ 萃取 |
|-------|------|---------|-----------------------|
| 得率(%) | 4.55 | 4.83 | 0.559 |

由表2可见,乙醇浸提和超声波辅助提取效果较好,但后者大大缩短了提取所需时间,降低了能耗,所以采用超声辅助提取法,综合效果更好。

2.4 单因素试验研究

2.4.1 原料粉碎目数对得率的影响

表3 原料粉碎目数对得率的影响

Table 3 Extract results of flavonoids with different grinding conditions

| 目数(目) | 20~40 | 40~60 | 60~80 | > 80 |
|-------|--------|--------|--------|--------|
| 得率(%) | 4.0227 | 4.2535 | 4.4267 | 3.9156 |

由表3可知,荞麦壳粉碎目数越大,物料传质作用面积越大,提取效果越好,但是大于80目后,物料由于粉碎过细而漂浮严重,得率反而降低,并且对后续的过滤过程极为不利,因此,选择60~80目的荞麦壳为宜。

2.4.2 温度对得率的影响

由图2可见,在给定的条件下,随着温度的升高类黄酮的得率呈增大趋势。但是过高的温度将破坏类黄酮的母核结构并增加各种杂质的溶出量,同时考虑到乙醇的挥发性对提取的影响,将提取温度定为70℃。

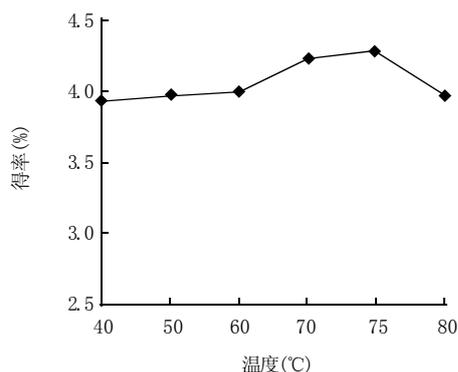


图2 提取温度对得率的影响

Fig.2 Extract results of flavonoids with different temperatures

2.4.3 乙醇浓度对得率的影响

根据相似相溶的原理,当溶剂极性与类黄酮相近时有利于其析出。乙醇浓度对类黄酮得率的影响见图3。

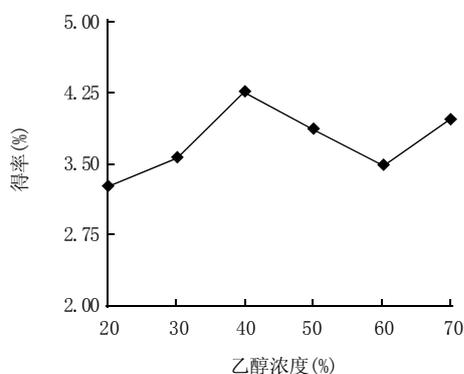


图3 乙醇浓度对得率的影响

Fig.3 Extract results of flavonoids with different ethanol concentrations

由图3可知,40%的乙醇对类黄酮的提取效果最好。

2.4.4 提取时间对得率的影响

由图4可知,时间对荞麦壳中类黄酮的提取影响不显著,这是由于类黄酮有一定的极性,非常容易被乙醇溶液所提取,最佳提取时间应为70min。

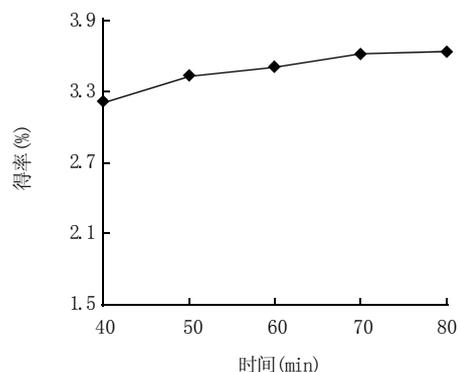


图4 提取时间对得率的影响

Fig.4 Extract results of flavonoids with different time

2.4.5 料液比对得率的影响

由图5可知,料液比对荞麦壳中类黄酮的提取影响较大,随着料液比增大,物料与溶剂的接触面积增大,利于传质。当料液比为1:40时,类黄酮的析出基本达到平衡,继续增大料液比对提取效果影响不大,而过高的料液比会增加溶剂用量并加大后序操作难度。

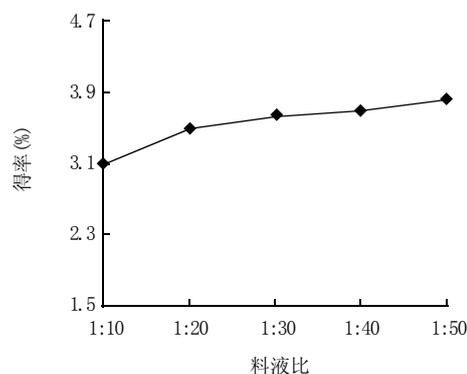


图5 料液比对得率的影响

Fig.5 Extract results of flavonoids with different solid to liquid ratios

2.4.6 超声波功率对得率的影响

由图6可知,超声功率为175W时提取效果较好。超声功率越大,原料越易漂浮,所得提取液过滤越困难,这是由于超声空化作用对物料产生了进一步的粉碎。此外,功率过高时,超声空化的剥蚀作用可能使物料表面产生多孔结构,对类黄酮物质产生一定的吸附,造成得率降低。

2.5 Box-Behnken 试验结果及结果分析

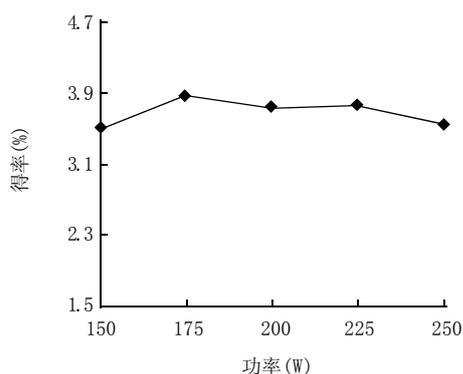


图6 超声波功率对得率的影响

Fig.6 Extract results of flavonoids with different ultrasonic powers

2.5.1 响应值结果

Box-Behnken 的实验设计及结果见表 4。

表4 Box-Behnken 的试验设计及结果
Table 4 Box-Behnken test assignment and data

| 试验点 | X ₁ | X ₂ | X ₃ | Y 吸光度 |
|-----|----------------|----------------|----------------|-------|
| 1 | -1 | -1 | 0 | 0.397 |
| 2 | -1 | 1 | 0 | 0.410 |
| 3 | 1 | -1 | 0 | 0.405 |
| 4 | 1 | 1 | 0 | 0.426 |
| 5 | 1 | -1 | -1 | 0.383 |
| 6 | 0 | -1 | 1 | 0.411 |
| 7 | 0 | 1 | -1 | 0.397 |
| 8 | 0 | 1 | 1 | 0.429 |
| 9 | -1 | 0 | -1 | 0.387 |
| 10 | 1 | 0 | -1 | 0.404 |
| 11 | -1 | 0 | 1 | 0.416 |
| 12 | 1 | 0 | 1 | 0.422 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | 0.419 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 0.420 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0.424 |

2.5.2 回归方程的系数取值结果

类黄酮提取液吸光度(Y)与超声波功率(X₁)、乙醇浓度(X₂)、料液比(X₃)三因素之间的反应曲面拟合方程为: $Y = 0.421 + 0.005875X_1 + 0.00825X_2 + 0.013375X_3 - 0.004625X_1X_1 + 0.002X_1X_2 - 0.00275X_1X_3 - 0.006875X_2X_2 - 0.009125X_2X_3 - 0.00625X_3X_3$ 。

2.5.3 回归方程及各项的方差分析结果

回归方程的方差分析见表 5。

回归方程的一次项和二次项的 F 值均大于 F_{0.95}(3, 2)=19.16, 但都小于 F_{0.99}(3, 2)=99.17, 具有较高的显著性, 响应值的变化较复杂, 不是简单的线性关系。而交互项的 F 值很小, 三因素之间的相互影响不大。失拟项的 F 值也很小, 方程对试验拟合情况好, 试验误差小, 可用该方程对不同反应条件下的吸光度进行预测。

2.5.4 吸光度的响应面图和等高线图及分析结果

表5 回归方程的方差分析表

Table 5 Analysis of variance table for regression equation

| 方差来源 | 自由度 | 均方 | F 值 |
|------|-----|----------|----------|
| 回归项 | 9 | 0.000311 | 43.45377 |
| 一次项 | 3 | 0.000751 | 104.9767 |
| 二次项 | 3 | 0.000165 | 23.04196 |
| 交互项 | 3 | 0.000017 | 2.342657 |
| 残差 | 5 | 7.15E-6 | |
| 失拟项 | 3 | 7.25E-6 | 1.035714 |
| 误差 | 2 | 7E-6 | |

吸光度的响应面图和等高线图分别见图 7~12。

比较三组图可得: 料液比对陕北荞麦壳中类黄酮浸提的影响最为显著, 其次是乙醇浓度, 表现为它们的曲线都较陡, 而超声波功率的改变对类黄酮浸提的影响相对较小, 曲线变化较为平滑。

研究中编码值的响应值见表 6 所示。

稳定点的估计值为 0.430346, 即在此三因素中类黄酮的最佳浸提条件为: 超声波功率 195 W, 乙醇浓度

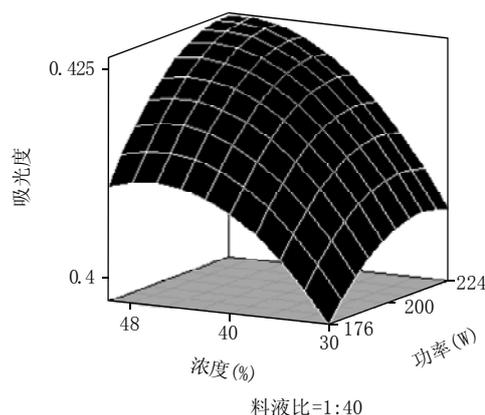


图7 吸光度为 f(X₁, X₂) 的响应面图(X₃=1:40)

Fig.7 Response surface of luminosity absorptivity with f(X₁, X₂), (X₃=1:40)

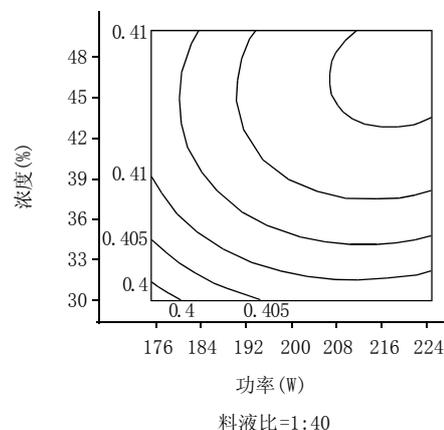


图8 吸光度为 f(X₁, X₂) 的等高线图(X₃=1:40)

Fig.8 Contour of luminosity absorptivity with f(X₁, X₂), (X₃=1:40)

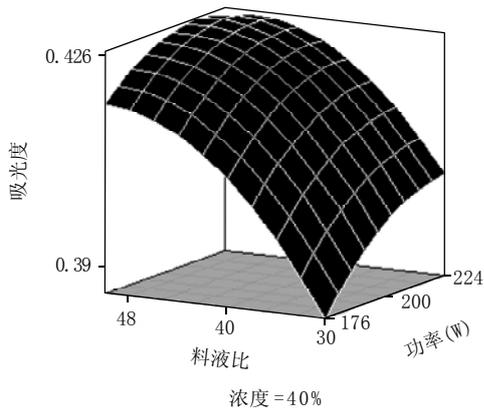


图9 吸光度为 $f(X_1, X_3)$ 的响应面图 ($X_2=40\%$)
Fig.9 Response surface of luminosity absorptivity with $f(X_1, X_3)$, ($X_2=40\%$)

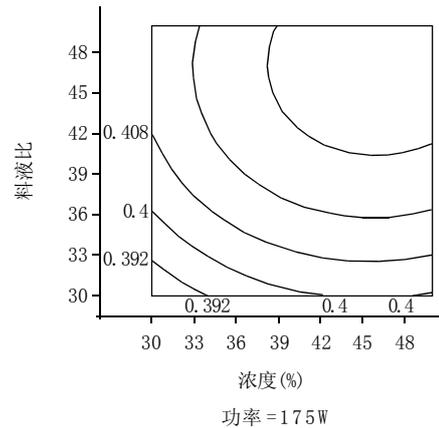


图12 吸光度为 $f(X_2, X_3)$ 的等高线图 ($X_1=175W$)
Fig.12 Contour of luminosity absorptivity with $f(X_2, X_3)$, ($X_1=175W$)

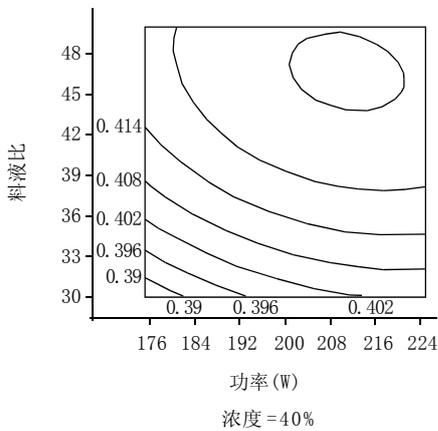


图10 吸光度为 $f(X_1, X_3)$ 的等高线图 ($X_2=40\%$)
Fig.10 Contour of luminosity absorptivity with $f(X_1, X_3)$, ($X_2=40\%$)

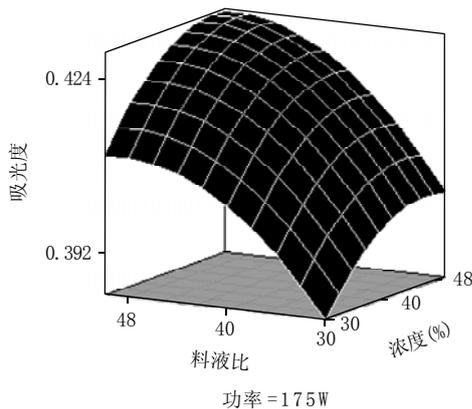


图11 吸光度为 $f(X_2, X_3)$ 的响应面图 ($X_1=175W$)
Fig.11 Response surface of luminosity absorptivity with $f(X_2, X_3)$, ($X_1=175W$)

表6 基于研究编码值的响应值的典型分析表
Table 6 Canonical analysis

| 因素 | 编码值 | 实际值 |
|-------|---------|---------|
| X_1 | 0.59080 | 194.885 |
| X_2 | 0.73569 | 47.357 |
| X_3 | 0.68416 | 46.842 |

表7 是对最佳工艺条件的验证, 可见荞麦壳中类黄酮的实际得率与平均得率极为接近。

3 结论

表7 最佳工艺的验证

Table 7 Validation of optimum extraction techniques

| 实验编号 | 1 | 2 | 3 | 平均得率 (%) |
|--------|------|------|------|----------|
| 得率 (%) | 4.87 | 4.79 | 4.85 | 4.837 |

对陕北荞麦壳中所含的类黄酮, 分别采用了乙醇浸提法、超声波辅助提取法和超临界 CO_2 萃取法, 类黄酮的得率分别为 4.55%、4.84%、0.559%。并对三种提取方法进行了比较, 得出超声辅助提取法效果最好。

在此基础上, 通过单因素实验考察了物料粉碎目数、温度、乙醇浓度、时间、料液比、超声波功率等六个因素对陕北荞麦壳中类黄酮提取的影响, 并得出了进一步研究的范围。

通过 SAS 软件, 运用 Box-Behnken 的中心组合设计优化提取条件, 确定了陕北荞麦壳中类黄酮的最佳提取工艺为超声功率 195W, 以原料重 47 倍 47% 的乙醇为溶剂, 在 70℃ 下提取 70min, 该工艺的得率可达到 4.84%。类黄酮物质具有抗氧化性, 但长时间、高温下提取必将造成部分类黄酮被氧化, 得率降低。研究表明采用超声波辅助提取法能够大大缩短提取所需时间, 有效避免了溶剂提取法中高温、长时的缺点, 提高了得率。

47%、料液比 1:47。在此条件下由每克荞麦壳所得浸提液的吸光值可达 0.430346, 即得率为 4.84%。

2.5.5 最佳工艺条件的验证

菜籽饼粕中分离蛋白的制备

姜绍通, 蒋连平

(合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽 合肥 230009)

摘要: 在传统的碱提酸沉工艺基础上结合超滤制备菜籽分离蛋白。通过正交试验结果分析得到菜籽分离蛋白碱提酸沉条件为: 在 pH13, 温度 40℃, 料液比(g/ml)分别为 1:10、1:8 和 1:6 下提取 3 次, 每次 40min; 调 pH4.5 沉淀。上清液超滤工艺条件: 40℃, 流速 2m/s, 压力 0.1MPa。喷雾干燥后产品的粗蛋白含量为 70.5%, 蛋白得率为 54.7%。

关键词: 菜籽分离蛋白; 碱提酸沉; 超滤

Study on Preparation of Rapeseed Protein Isolate from Rapeseed Meal

JIANG Shao-tong, JIANG Lian-ping

(School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: Rapeseed protein isolate was prepared on the basis of alkali-extraction and acid-precipitation combining with ultra-filtration. Through orthogonal tests, the best conditions of alkali-mullion and acid-isolation were: the pH13, the temperature 40℃, the time of extraction 40 minutes, the times of extraction 3, the proportion of the material to liquid (g/ml) 1:10, 1:8, 1:6 respectively and the rapeseed protein deposited at pH4.5. The conditions of the ultra-filtration to the separated liquid were: the temperature 40℃, the velocity of flow 2m/s and the pressure 0.1MPa. In the product gained through spray drying process, the content and recovery ratio of protein were 70.5%, 54.7% respectively.

Key words rapeseed protein isolate, alkali-extraction and acid-isolation, ultra-filtration

中图分类号: TQ93

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)12-0161-05

菜籽饼粕中粗蛋白含量一般为 35%~45%, 菜籽蛋白为全价优质的植物蛋白, 具有必需氨基酸平衡性强组成模式, 蛋白质生物价(BV)均高于其它植物蛋白, 与各油料蛋白质、禾谷类蛋白质相比具有明显营养互补优势, 一些功能指标优于大豆蛋白。菜籽蛋白可用于蛋白饮料、肉制品添加剂、面食添加剂、天然保鲜剂和

其他食品添加剂, 其酶解产物还可获得功能性多肽^[1-2]。

目前比较适用的菜籽蛋白提取方法主要是有机溶剂法^[3]和水相法^[4-6]。前者因工艺复杂、成本高及溶剂对蛋白质营养价值和食用安全性有一定影响, 工业化生产困难较大。而后者即碱提酸沉法, 其工艺简单、成本低, 易于工业化生产。单独采用等电点沉淀的方法只能将部

收稿日期: 2007-09-05

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2006BAD05A00); 安徽省“十一五”攻关重点项目(06013046A)

作者简介: 姜绍通(1954-), 男, 教授, 主要从事农产品加工及贮藏研究。

参考文献:

- [1] 陈庆富. 五个中国荞麦(*Fagopyrum*)种的核型分析[J]. 广西植物, 2001(2): 107-110.
- [2] 尹礼国, 曾凡坤, 钟耕, 等. 荞麦生物类黄酮研究现状[J]. 粮食与油脂, 2002(12): 22-24.
- [3] QUETTIER-DELEU C, GRESSIER B, VASSEUR J, et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2000, 72(1/2): 35-42.
- [4] 李丹, 丁肖霖. 荞麦生物活性成分的研究进展[J]. 西部粮油科技, 2000, 25(6): 38-41.
- [5] 赵刚, 唐宇, 王安虎, 等. 中国的荞麦资源及其药用价值[J]. 中国野生植物资源, 20(2): 31-32.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 246-247.
- [7] 阮桂海. SAS 统计分析实用大全[M]. 北京: 清华大学出版社, 2005.