

正交试验法对黑米黑色素的微波提取工艺研究

张吉祥,白晓杰,周秋香
(廊坊师范学院化材学院,河北廊坊 065000)

摘要:采用正交试验法,利用微波萃取技术,对黑米中黑色素的最佳提取工艺进行了深入研究。以黑米黑色素的提取率作为考查指标,用分光光度法进行测定,利用单因素试验分别考察了提取剂乙醇浓度、料液比、微波功率、微波提取时间在不同水平下对黑色素提取率的影响程度,通过正交试验对影响黑色素提取率的因素进行了优化研究。试验结果表明:乙醇浓度是影响黑米黑色素提取的最关键因子。优化得到黑色素的最佳提取工艺参数为:浸提剂乙醇浓度为80%、料液比1:20、微波作用功率为480W、微波作用时间为120s。在此试验条件下,黑米黑色素的提取率达到3.2%,为先前文献报导的2.2倍。试验所得黑色素色泽纯正,且带有黑米的清香,该工艺有良好的应用前景。

关键词:正交试验;微波;黑米;黑色素;提取

中图分类号:S511

文献标志码:A

论文编号:2009-1847

Study on Melanin Extraction from Black Rice by Microwave and Orthogonal Test

Zhang Jixiang, Bai Xiaojie, Zhou Qiuxiang

(Faculty of Chemistry and Material Science, Langfang Teachers' College, Langfang Hebei 065000)

Abstract: The optimal conditions for microwave-assisted extraction of melanin from black rice were investigated by the orthogonal experimental design. The content of melanin as research index in the extractant was tested by spectrophotometry. Single factor analysis of four factors such as extraction solvent (ethanol) concentration, solid-liquid ratio, microwave extraction power, extraction time in several levels was conducted to investigate their influence on the extraction yield. Then, the influencing factors of melanin extraction were optimized by orthogonal test. The results suggested that the ethanol concentration should be the statistically significant factor. The optimal parameters of the extraction process were as follows: ethanol concentration (80%), solid-liquid ratio (1:20), microwave output power (480W) and microwave irradiation time (120s). Under the optimal experimental condition the extraction yield of melanin from black rice reached 3.2%, which was increased by a factor of 1.2 compared with the former data. The melanin from black rice is coloury with faint scent. The extraction technology of melanin has an extensive application prospect.

Key words: orthogonal test; microwave; black rice; melanin; extraction

0 引言

黑米是名贵珍奇的特殊稻种,具有特殊的药用成分及很高的营养价值,不但含有丰富的蛋白质,VB1、VB2等,而且氨基酸组成也相当齐全,同时富含Fe、Cu、Zn等微量元素,其果皮(米糠)中含有丰富的天然黑色素^[1]。已有研究表明,黑色素是人体内重要活性物质,与人体生长发育、健康、病变都有密切联系。因

此,黑米在食品、医药加工和化妆行业都具有重要意义^[2-3]。黑米中黑色素的提取方法常见的有溶剂提取法、碱提酸析法、超声波法等。微波提取法是近年来发展起来的一种新型方法,具有操作时间短、溶剂耗量少、有效成分提取率高的特点^[4-5]。提取时用的溶剂主要有:乙醇、甲醇、丙酮。其中,甲醇、丙酮有毒性,较少使用,故以乙醇为溶剂的微波提取方法有省时、高效、节能的优

基金项目:河北省教育厅基金资助项目(No.2007317);廊坊师范学院科学基金资助项目(No. LSZB200801)。

第一作者简介:张吉祥,男,1973年出生,河北省献县人,博士,副教授,研究方向为天然产物中有效成分的提取与应用。通信地址:065000 河北省廊坊市爱民西道100号廊坊师范学院化材学院,E-mail: zhangjixiang1973@yahoo.com.cn。

收稿日期:2009-09-10,修回日期:2009-09-24。

点。此试验采用正交试验法,考察乙醇体积分数、提取剂用量、微波作用功率及微波处理时间等因素对提取效果的影响以确定微波辐照下黑米黑色素提取的最佳工艺条件,为这一天然资源的研究开发提供试验科学依据。

试验/研究的时间和地点:廊坊师范学院化材学院试验楼,时间为2009年4—5月。

1 材料与方法

1.1 试验材料试剂

优质黑米,购于廊坊市元辰超市;无水乙醇,天津市大茂化学试剂厂,分析纯;盐酸,北京北化精细化学产品有限责任公司,分析纯。

1.2 主要试验仪器

UV2550 紫外--可见分光光度计,日本岛津;D8023C6TL-K4C 家用微波炉,广东格兰仕;722N 可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;FA1604N 电子天平,上海精密科学仪器有限公司;SHB-III 循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;RE-52A 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;ZK-82B 型真空干燥箱,上海市实验仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 提取工艺流程 黑米→洗净烘干→加入提取剂→微波提取→过滤黑色澄清透明液体→减压浓缩回收提取剂→真空干燥产品→计算提取率。

1.3.2 浸提条件的选择 研究微波功率、微波辐照浸提时间、浸提剂的浓度及料液比对黑米黑色素提取率的影响,首先做单因素试验考察以上条件对提取率的影响,然后采用正交试验法优化最佳工艺条件。用分光光度计测定吸光度值,作为色素提取率的标准。

1)微波功率的选择 精密称取2.0000 g 样品5份,分别置于250 mL 烧杯中,在微波辐射时间为1 min,乙醇浓度为60%,料液比(g/mL,下同)为1:15的条件下,分别在微波功率为160、320、480、640、800 W 的条件下对样品进行提取。将提取液移入50 mL 的容量瓶中,用60%的乙醇溶液定容,吸取1 mL 溶液于小烧杯中加入10 mL 60%乙醇溶液进行稀释,用60%乙醇溶液做参比,在543 nm 处测定吸光度作为提取指标。

2)微波辐照时间的选择 精密称取2.0000 g 样品5份,分别置于250 mL 烧杯中,在微波辐照功率为320 W,乙醇浓度为60%,料液比为1:15的条件下,分别在微波辐照时间为30、60、90、120、150 s 的条件下对样品进行提取影响试验,在543 nm 处测定吸光度作为提取指标。

3)提取剂浓度的选择 精密称取2.0000 g 样品5

份,分别置于250 mL 烧杯中,在微波辐照功率为320 W,辐照时间为120 s,料液比为1:15的条件下,分别在乙醇浓度为40%、50%、60%、70%、80%的条件下对样品进行提取影响试验,在543 nm 处测定吸光度作为提取指标。

4)料液比的选择 精密称取2.0000 g 样品5份,分别置于250 mL 烧杯中,在微波辐照功率为320 W,辐照时间为120 s,乙醇浓度为60%的条件下,分别在料液比为1:10、1:15、1:20、1:25、1:30的条件下对样品进行提取影响试验,在543 nm 处测定吸光度作为提取指标。

5)最佳工艺条件确定与精密度试验 在单因素试验的基础上,为了获得以乙醇作为提取剂时,微波提取黑米中黑色素的最佳工艺条件,利用正交法,以乙醇体积分数、料液比、微波作用功率及微波处理时间作为4个考察因素,选取3个水平进行试验。采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验设计,来确定微波辐照下的最佳工艺条件。

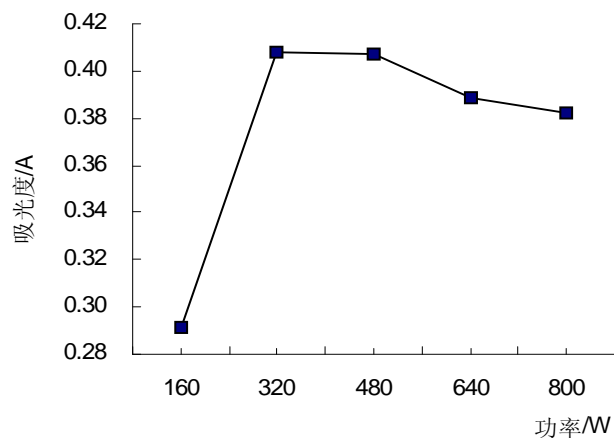


图1 微波功率对提取率的影响

2 结果与讨论

2.1 微波功率的选择

由图1可看出提取率随微波功率的变化而变化,在功率为320 W 时效果较好,当微波功率超过320 W 后,随功率的增大,提取效果反而有下降的趋势。可能是功率太大,温度上升太快,对色素成分有所破坏。因此选定微波功率320、480、640 W 作为正交试验的3个水平。

2.2 微波辐照时间对提取率的影响

由图2可看出提取率随微波辐照时间的变化而变化,在提取时间为120 s 时效果较好,当时间超过120 s 以后,随时间的延长,提取效果反而有下降的趋势。可能是因为时间增长,提取温度会上升很高,对色素成分有所破坏。因此选定微波辐照时间90、120、150 s 作为

正交试验的3个水平。

2.3 提取剂浓度的选择

由图3可看出提取率随提取剂浓度的增大逐渐增大,溶剂在较低浓度时,提取率变化比较大,但随着乙醇浓度的增大,变化逐渐趋缓。尽管加大浓度可以提高提取率,但是不很明显。因此,选定乙醇体积分数

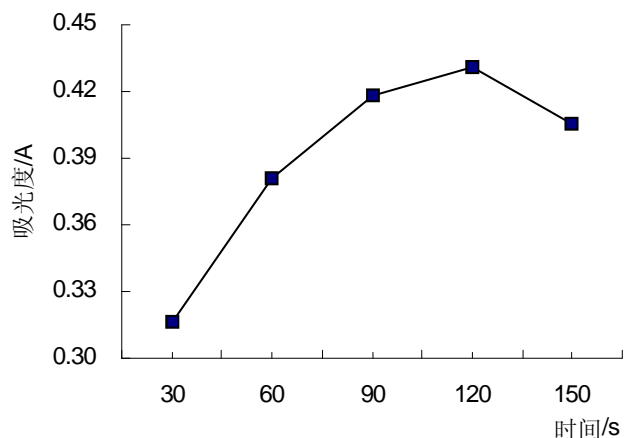


图2 微波辐照时间对提取率的影响

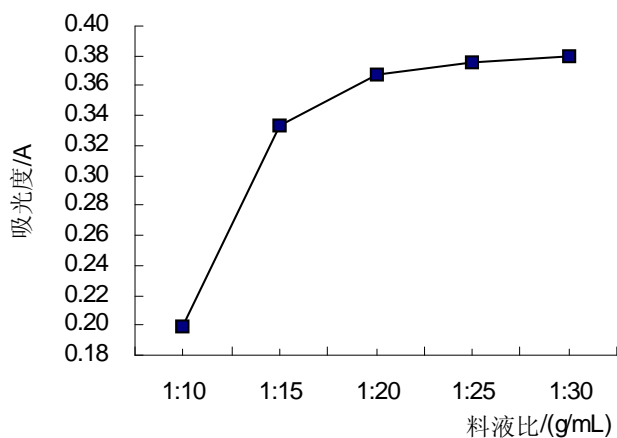


图4 料液比对提取率的影响

2.5 正交试验

根据单因素试验的结果,选取影响黑米中黑色素提取效果各因素中有意义的水平做正交试验,对结果进行极差分析,以确定最佳的提取条件。采用 $L_9(3^4)$ 正交表,以微波作用功率(A)、微波处理时间(B)、料液比(C)、提取剂浓度(D)作为4个考察因素,选取3个水平

60%、70%、80%作为正交试验的3个水平。

2.4 料液比对提取率的影响

由图4可看出提取率随提取剂用量的增加逐渐增大,在提取剂用量较低时,提取率变化比较明显,但随着乙醇用量的增大,变化逐渐趋缓。因此,选定料液比1:15、1:20、1:25作为正交试验的3个水平。

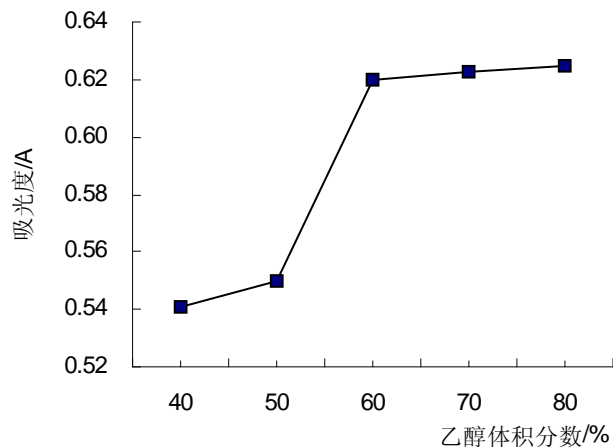


图3 提取剂浓度对提取率的影响

进行试验。

按表1的正交因子水平设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,结果见表2。

由试验结果分析可得,影响黑米黑色素提取效果的因素从强到弱依次是:D>C>A>B,即提取剂浓度>料液比>微波作用功率>微波作用时间。由此可知,提取剂浓度是影响黑米中黑色素提取率最为显著的因素,微波萃取的优化工艺条件是 $A_2B_2C_2D_3$,即:微波作用功率是480W、微波作用时间为120s、料液比1:20、浸提剂乙醇浓度为80%。

2.6 最佳工艺条件试验

按 $A_2B_2C_2D_3$ 条件进行3次平行试验,结果见表3所示。

由表3知, $A_2B_2C_2D_3$ 条件下黑色素提取率高于表2中每一项试验结果,故 $A_2B_2C_2D_3$ 为最佳选择。

2.7 精密度试验

精确称取2.0000 g黑米6份,以微波功率480 W,微波处理时间120 s,料液比为1:20,80%的乙醇进行提取,测定6次试验的吸光度如下表4:

表1 $L_9(3^4)$ 正交因子水平表

水平	因素			
	A 功率(W)	B 时间(s)	C 料液比(g/mL)	D 乙醇体积分数(%)
1	320	90	1:15	60
2	480	120	1:20	70
3	640	150	1:25	80

表2 L₉(3⁴)正交试验结果

试验号	A	B	C	D	吸光度
1	1	1	1	1	0.342
2	1	2	2	2	0.532
3	1	3	3	3	0.530
4	2	1	2	3	0.570
5	2	2	3	1	0.470
6	2	3	1	2	0.487
7	3	1	3	2	0.516
8	3	2	1	3	0.473
9	3	3	2	1	0.457
K1	1.404	1.428	1.302	1.269	
K2	1.527	1.475	1.559	1.535	
K3	1.446	1.474	1.516	1.573	
k	0.468	0.476	0.434	0.423	
k	0.509	0.492	0.520	0.512	
k	0.482	0.491	0.505	0.524	
R	0.041	0.016	0.086	0.101	

表3 A₂B₂C₂D₃条件下黑色素吸光度

试验	1	2	3	平均值
吸光度	0.600	0.596	0.611	0.602

表4 黑色素吸光度测定结果

序号	1	2	3	4	5	6
吸光度	0.630	0.633	0.660	0.650	0.632	0.628

经计算试验的变异系数为2.1%,说明该试验方法具有良好的精密性。

2.8 黑米中黑色素含量的测定

准确称取黑米20.00 g,用最佳提取条件进行提取,将提取液浓缩、干燥,得到黑米黑色素的粗品质量为0.64 g,其提取率为:

$$Y = \frac{W}{G} \times 100\% = 3.2\%$$

式中:Y-黑米黑色素的提取率,%;G-黑米的质量,g;W-黑米中提取出来的黑米黑色素的粗品质量,g。

2.9 提取方法比较

为了对比微波辅助提取和传统工艺萃取法两者提取黑米中黑色素的效果,将此试验黑色素提取率与传统工艺乙醇法的结果(1.44%)进行了比较^[6]。结果表明,微波辅助提取法的黑色素含量为3.2%,较传统工艺乙醇法的黑色素提取率(1.44%)提高了1.2倍。

3 结论

以乙醇为溶剂通过单因素试验对影响黑米中黑色素提取率的因素研究表明,提取率受到许多因素的影响。正交试验结果表明,影响黑米中黑色素的因素主

次顺序为:提取剂浓度>料液比>微波作用功率>微波作用时间。提取黑米中黑色素最佳工艺条件为:微波作用功率480 W、乙醇体积分数80%、微波处理时间120 s、料液比1:20,以最佳试验条件测得黑米中黑色素的含量为3.2%。

微波辐射有利于黑米中黑色素的提取,且操作时间短、溶剂耗量较少、安全、污染小,与传统工艺乙醇法比较,黑色素提取率为先前文献报导的2.2倍。

参考文献

- [1] 汪芳安.我国黑米资源的利用概况[J].陕西粮油科技,1993,18(5):22-24.
- [2] 江友兴,刘希贞,龙小黎,等.黑米成分分析与功能利用[J].农牧产品开发,1999,(8):8-9.
- [3] Itani T, Tamaki M, Arai E, et al. Distribution of Amylose, Nitrogen, and Minerals in Rice Kernels with Various Characters[J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(19): 5326-5332.
- [4] 刘川生,王平,王立飞,等.微波萃取技术在天然药物提取中的研究进展[J].中国天然药物,2003,1(3):187-192.
- [5] 郭振库,金钦汉.微波萃取技术[J].分析科学学报,2001,17(6):505-509.
- [6] 曾鑫,黄斌,王洁,等.黑米黑色素的提取与精制[J].食品科学,2006,27(12):304-307.