

响应面优化柑桔皮黄色素微波辅助提取工艺

温志英, 张朝

(河北经贸大学生物科学与工程学院, 石家庄 050061)

摘要:利用微波萃取技术对柑桔皮黄色素的最佳提取工艺进行了研究,采用单因素试验研究乙醇浓度、微波功率、微波处理时间、料液比、粒度对吸光度的影响,在单因素试验基础上,设计三因素三水平的响应面分析方法对微波提取橘皮黄色素工艺进行优化,建立二次多项式回归方程的预测模型,所得微波提取桔皮黄色素的最佳参数为:桔皮粉粒度为80目(0.198 mm),料液比为1:15(g/mL),乙醇浓度88%,微波时间500 s,微波功率250 W,在此条件下柑桔皮黄色素得率为14.12%。得到的色素产品为黄色,含有类胡萝卜素和黄酮类物质。

关键词:柑桔皮;黄色素;微波提取;吸光度;响应面法

中图分类号:TS209

文献标志码:A

论文编号:2010-2570

Optimization of Microwave Extraction Technology for Yellow Pigment from Orange Peels by Response Surface Methodology

Wen Zhiying, Zhang Zhao

(College of Biology and Engineering, Hebei University of Economic & Business, Shijiazhuang 050061)

Abstract: Yellow pigment was extracted from orange peels with the method of microwave extraction. The single-factor experiments were used to investigate the effects of particle size, the microwave output power, the microwave extraction irradiation time, ratios of solution to solid and alcohol concentration on absorbance. On the basis of single-factor experiments, a quadratic polynomial regression equation of the forecasting model was set up with Box-Behnken design of three factors and three levels. The optimal conditions of microwave extraction were concluded as follows: particle size 0.198 mm, ratios of solvent to material 1:15 (g/mL), alcohol concentration 88%, microwave output power 250 W, microwave extraction irradiation time 500 s. The yield was 14.12%. The pigments were yellow and contained carotenoids and flavonoids.

Key words: orange peels; yellow pigment; microwave extraction; absorbance; Box-Behnken

0 引言

天然色素不仅安全性高还兼具一定的营养价值或药理作用,因此食品、医药和化妆品行业对天然色素的需求量逐年增加,天然色素的提取和应用是现在和未来发展的主要方向^[1-2]。柑桔是世界第一大水果,年总产量已达到1亿多吨。中国是世界柑桔原产中心之一,柑桔产量约为1500万吨^[3],仅次于巴西和美国。柑桔果皮占整果重的20%,中国每年产出柑桔皮约达300万吨,目前除少量用作中药和制取香精油外,大部

分尚未开发利用。柑桔皮黄色素不仅是单纯的着色剂,而且还是食品的营养强化剂,是提高食品营养与保健作用的理想添加剂^[4]。传统桔皮色素提取分离用无水乙醇、石油醚水浴浸提,时间长,操作步骤多,有些溶剂不能回收循环利用,能耗大^[5-8]。此文采用微波协同乙醇浸提,具有选择性强、加热速度快、控制方便、受热体系温度均匀、节约能量等优点,降低操作费用同时合乎环境保护的要求,是具有良好发展前景的新工艺^[9-10]。本文对柑桔皮黄色素的微波辅助提取工艺

基金项目:河北省科技厅技术研究与发展项目“食品加工废料综合利用研究”(07276732)。

第一作者简介:温志英,女,1974年出生,讲师,硕士,研究方向:食品废水与废料的处理。通信地址:050061 河北省石家庄市学府路47号河北经贸大学生物科学与工程学院, Tel: 0311-87655680, E-mail: wzy202zwb@126.com。

收稿日期:2010-09-03, 修回日期:2010-11-11。

进行了详细研究,旨在为柑桔皮黄色素的进一步开发利用提供技术支持,这将对提高柑桔产业的经济效益和保护环境都是十分有利的,具有重要的经济价值和广阔的市场前景^[1]。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

试验时间为2009年7至12月,试验地点在河北经贸大学生物科学与工程学院化学分析实验室。

1.2 材料与设备

柑桔皮:市售成熟柑桔,去果肉后鲜桔皮用一定量水冲洗干净,然后置于瓷制托盘中,干燥箱内60℃干燥,粉碎过筛得桔皮粉,避光保存,备用^[2]。

LD4-40低速离心机:北京医用离心机厂;Galanz WP700J17型微波炉:广东顺德格兰仕电器有限公司;721可见分光光度计,上海第三分析仪器厂;BS124S电子天平:北京赛多利斯仪器系统有限公司;FZ102粉碎机:河北黄骅市齐家务科学仪器厂;ZK-072真空干燥箱:北京市朝阳区来广营医疗器械厂;SHZ-3循环水多用真空泵:上海沪西分析仪器厂;PHS-3C酸度计:江苏省金坛市科兴仪器厂。无水乙醇,浓盐酸,浓硫酸,NaOH溶液等分析纯,配制用水为二次蒸馏水。

1.3 实验方法

1.3.1 工艺流程 柑桔皮→粉碎→过筛→桔皮粉→水浴浸提→微波辐射→抽滤→离心分离→浓缩→真空干燥→色素产品。精确称取2.00 g柑桔皮粉,进行微波辅助提取,提取液过滤、离心,取上清液,定容到250 mL容量瓶,稀释20倍,于最大吸收波长处测定吸光度。

1.3.2 分析检测方法

(1)最大吸收波长的测定。按照1.3.1所示工艺流程制得色素成品,用90%的无水乙醇稀释后,测定其在不同波长下的吸光度(用90%乙醇作参照物,比色皿厚度为1 cm),测定结果表明,柑桔皮黄色素在330 nm吸光度最大,因此确定330 nm为测定吸光度的最佳波长。

(2)柑桔皮黄色素含量的测定。称取10 g干燥的柑桔皮,粉碎过80目筛(0.198 mm)。采用1.3.1工艺提取柑桔皮中的黄色素,所得的粗提液经40℃热风干燥得到橘黄色粉末。进行3次平行试验,取3次试验数据的平均值进行统计分析。

$$X = \frac{m}{M} \times 100\%$$

其中, X 为柑桔皮黄色素的含量(%); m 为柑桔皮黄色素粉末质量(g); M 为柑桔皮粉质量(g)。

1.3.3 单因素实验 本实验主要考虑粒度、微波功率、微波时间、料液比和乙醇浓度作为影响柑桔皮黄色素的单因素,采用1.3.1方法进行黄色素提取。每组进行平行试验,以吸光度评价提取效果。

1.3.4 响应面优化 采用软件Design-Expert 7.1.6中的Box-Behnken试验设计原理^[13-14],综合单因素试验结

表1 Box-Behnken试验设计因素与水平

因素	水平		
	-1	0	1
A 乙醇浓度/%	80	90	100
B 微波时间/s	420	480	540
C 微波功率/w	160	240	320

果,设计三因素三水平试验,见表1。

1.3.5 色素特殊显色反应 浓硫酸显色反应,取色素的乙醚溶液,缓缓加入浓硫酸,观察现象;浓盐酸显色反应,取色素的乙醚溶液,加入浓盐酸,振荡片刻,观察现象;盐酸—镁粉反应:取色素提取液5 mL加入少许镁粉,振荡后,再加入几滴盐酸,观察现象。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 乙醇浓度对柑桔皮黄色素提取效果的影响 乙醇可吸收微波辐射能,具有水溶性溶剂和油溶性溶剂双重性能,且价格便宜,回收方便,故选择乙醇作为桔皮色素浸提剂。准确称取适量过60目(0.245 mm)的柑桔皮粉末,调节溶液pH=4,料液比为1:10(g/mL),水浴浸提30 min,微波功率240 W,微波辐照480 s,研究乙醇浓度对提取效果的影响。由图1可知,提取液吸光度随着乙醇溶液浓度而增大。

2.1.2 粒度对柑桔皮黄色素提取效果的影响 准确称取适量的柑桔皮粉末,以无水乙醇溶液为提取液,调节溶

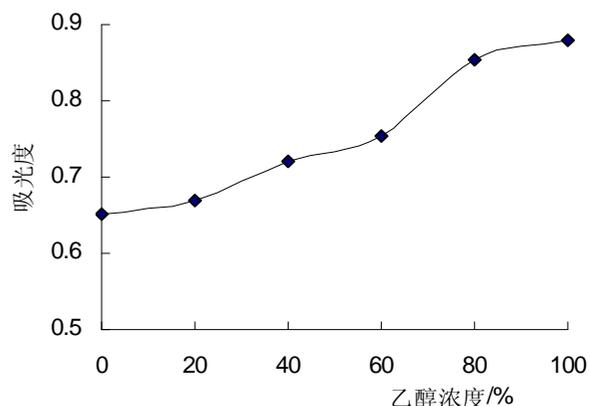


图1 乙醇浓度对柑桔皮黄色素提取效果的影响

液 pH=4, 料液比 1:10, 水浴浸提 30 min, 微波功率 240 W, 微波辐照 480 s, 研究不同粒度对提取效果的影响。由图 2 可以看出, 粒度对桔皮色素提取效果影响较为显著。提取过程是一个溶剂扩散和渗透进入固体细胞壁内部将有效物质溶出的过程, 颗粒减小使比表面积增大, 有利于溶剂的渗透扩散。但颗粒过小, 颗粒之间的吸附力加强导致提取效果下降。因此柑桔皮粒度为 80 目时提取效果最好。

2.1.3 微波功率对柑桔皮黄色素提取效果的影响 准确称取过 80 目的适量柑桔皮粉末, 以无水乙醇溶液为提取液, 料液比 1:10, 调节溶液 pH=4, 水浴浸提 30 min,

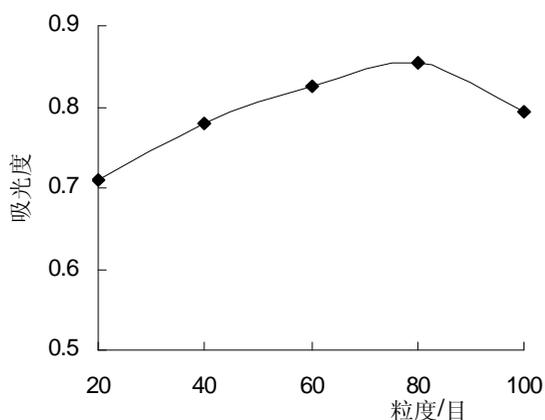


图 2 粒度对柑桔皮黄色素提取效果的影响

30 min, 微波功率 240 W, 研究不同微波时间对提取效果的影响。从图 4 可以看出, 延长微波时间有利于柑桔皮黄色素的浸出, 提取时间 480 s 时吸光度达到最大值, 色素基本溶解完全, 继续延长微波时间吸光度略有下降。因此微波辐射时间在 480 s 时最佳。

2.1.5 料液比对柑桔皮黄色素柑桔皮色素提取的影响 准确称取过 80 目的适量柑桔皮粉末, 以无水乙醇溶液

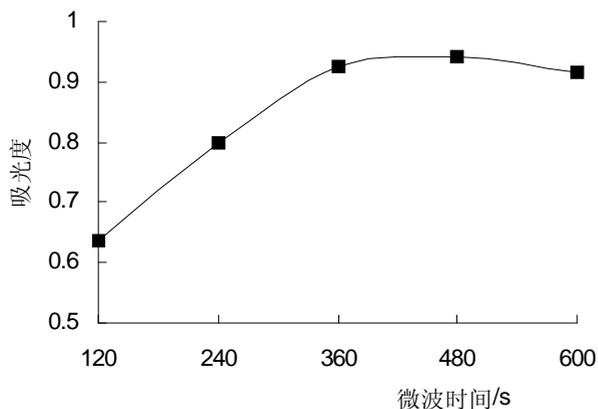


图 4 微波时间对柑桔皮黄色素提取效果的影响

微波辐照 480 s, 研究不同微波功率对提取效果的影响。从图 3 可以看出, 黄色素的吸光度随着辐射功率的提高而增加, 辐射功率在 240 W 时达到最高, 当辐射功率继续提高时, 提取效果反而下降, 微波辐射功率对提取效果有显著影响。这可能是因辐射功率越高物系吸收微波能越多, 有利于有效成分溶出, 但火力过大, 其强热效应可能对有效成分产生破坏作用, 故实验选择微波功率为 240 W。

2.1.4 微波提取时间对柑桔皮黄色素提取效果的影响 准确称取过 80 目的适量柑桔皮粉末, 以无水乙醇溶液为提取液, 料液比 1:10, 调节溶液 pH=4, 水浴浸提

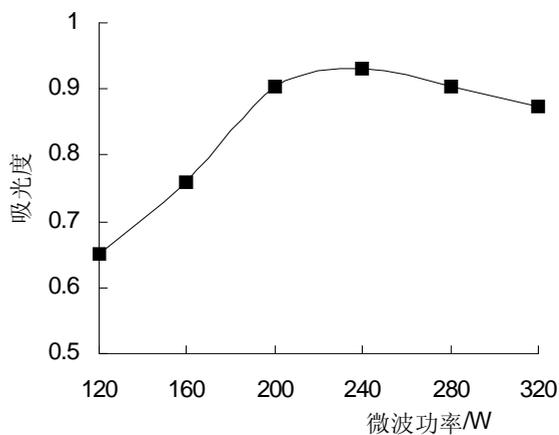


图 3 微波功率对柑桔皮黄色素提取效果的影响

为提取液, 调节溶液 pH=4, 水浴浸提 30 min, 微波辐照 480 s, 微波功率 240 W, 研究不同料液比对提取效果的影响。从传质速率的角度讲, 料液比主要表现在影响传质推动力。料液比的提高必然提高传质推动力, 因此提高提取效果。由图 5 可知, 料液比为 1:15 时, 吸光度几乎达到最大, 继续增加料液比, 吸光度增加不明显。因此为了节约溶剂, 降低成本, 选择 1:15 的料液

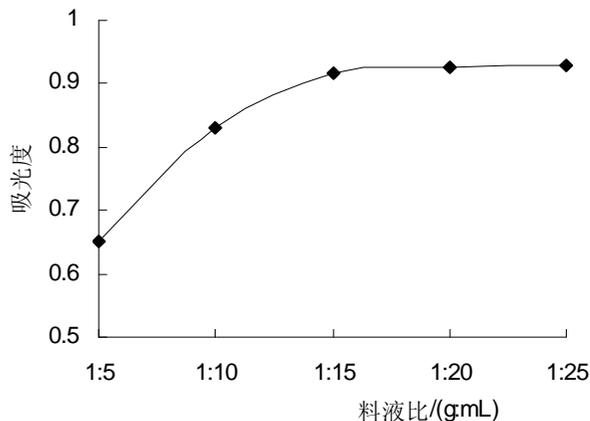


图 5 料液比对柑桔皮黄色素提取效果的影响

比。

2.2 响应面法优化柑桔皮色素提取工艺

2.2.1 响应面优化 采用软件 Design-Expert 7.1.6 中的 Box-Behnken 试验设计原理,以吸光度为响应值,响应面分析方案与结果见表 2。

2.2.2 模型的建立及显著性检验 响应面二次回归方程方差分析见表 3,由表 3 可以看出,乙醇浓度、微波时间、微波功率、乙醇浓度二次、微波功率二次项达到极显著水平,微波时间二次项达显著水平。利用 Design-Expert 软件对表数据进行多元回归拟合,得到柑桔皮吸光度(Y)对乙醇体积分数(A)、微波时间(B)和微波功率(C)的二次多项回归模型:

$$Y=0.95-0.048A+0.024B+0.029C-9.75 \times 10^{-3}AB+$$

$$4.25 \times 10^{-3}AC-0.024BC-0.16A^2-0.028B^2-0.064C^2$$

该方程的相关系数 $R^2=0.9876$ 。由表 3 可知,整体模型达极限显著水平($P<0.01$),表明该二次方程模型比较显著,失拟项不显著($F=0.083$)。该方程对试验拟合较好,可以对试验范围内不同条件下的橘皮黄色素吸光度进行预测。另外,该模型的变异系数(C.V)为 2.14%,变异系数是衡量每个平均值偏离情况的参数,其值越小,重复性越好。

2.2.3 提取工艺的响应面分析与优化 用 Design-Expert 软件,根据回归方程分析作响应面图 6—8。图 6 显示在微波功率 240 W 条件下,微波时间与乙醇体积分数对吸光度的影响。吸光度随着微波时间的增加呈线性增加;乙醇体积分数对色素提取率的影响基本呈二次

表 2 微波辅助提取柑桔皮黄色素实验方案与结果

试验号	因素			吸光度
	A	B	C	
1	-1	-1	0	0.781
2	1	-1	0	0.676
3	-1	1	0	0.858
4	1	1	0	0.714
5	-1	0	-1	0.732
6	1	0	-1	0.654
7	-1	0	1	0.781
8	1	0	1	0.720
9	0	-1	-1	0.786
10	0	1	-1	0.870
11	0	-1	1	0.892
12	0	1	1	0.882
13	0	0	0	0.938
14	0	0	0	0.948
15	0	0	0	0.954
16	0	0	0	0.942
17	0	0	0	0.966

表 3 响应面二次回归方程方差分析

	自由度	均方和	均方	F值	P值
模型	9	1.8E-002	1.9E-002	61.78	<0.0001**
A	1	1.9 E-002	1.9E-002	59.69	0.0001**
B	1	4.465E-003	4.465E-003	14.16	0.0070**
C	1	6.786E-003	6.786E-003	21.52	0.0024**
A-B	1	3.803E-004	3.803E-004	1.21	0.3084
A-C	1	7.225E-005	7.225E-005	0.23	0.6467
B-C	1	2.209E-003	2.209E-003	7.01	0.0331*
A ²	1	1.1 E-001	1.1E-001	359.41	<0.0001**

续表3

	自由度	均方和	均方	F值	P值
B^2	1	3.372E-003	3.372E-003	10.70	0.0137*
C^2	1	1.7E-002	1.7E-002	54.36	0.0002**
残差	7	2.207E-003	3.153E-004	—	—
失拟检验	3	1.724E-003	5.746E-004	4.76	0.0830
纯误差	4	4.832E-003	1.208E-004	—	—
总误差	16	1.8E-001	—	—	—

注：*表示在5%水平下检验显著，**表示在1%水平下检验显著。

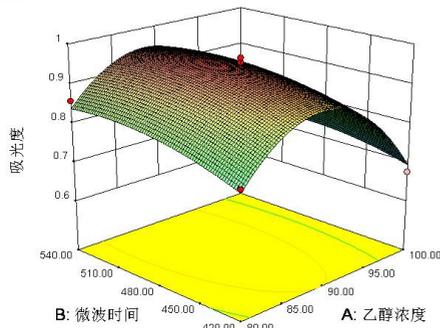


图6 微波时间和乙醇浓度对吸光度影响

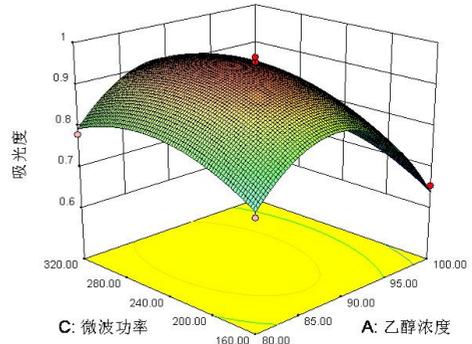


图7 微波功率和乙醇浓度对吸光度影响

关系,当乙醇体积分数在90%时,吸光度达到最大值,之后随着乙醇体积分数的增加而减少。图7在微波处理时间480 s的条件下,微波功率与乙醇体积分数对吸光度的影响。图8显示在乙醇体积分数90%的条件下,微波功率和微波时间对吸光度的影响。由图7、图8可知,微波功率对吸光度的影响呈近似二次关系。这些结果都与回归方程的方差分析相吻合,说明响应面优化设计能够较好地反映出试验所设定的三个因素对提取液中桔皮黄色素含量的影响,对各因素的考察较为全面、系统,试验结果具有一定的应用价值。

2.2.4 最佳工艺条件的确定及验证试验 结合二次回归的数学模型分析分析结果,最优条件为乙醇浓度88.43%,微波时间502.95 s,微波功率252.21 W。将单因素实验所得最佳条件和响应面二次回归所得最佳条件进行实验,每个实验进行三次平行实验,结果见表4。根据实验具体情况,结合实际操作的可操作性,将最佳工艺确定为乙醇浓度88%,微波时间500 s,微波功率250W,此时吸光度为0.978,说明此模型可靠,结果具有

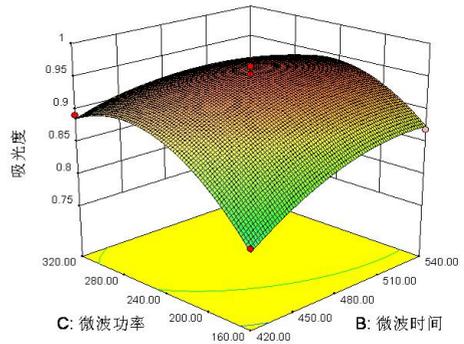


图8 微波功率和时间对吸光度影响

一定的应用价值。

2.3 色素显色反应

浓硫酸显色反应,取色素的乙醚溶液,缓缓加入浓硫酸,渐渐地自上而下,下层呈青蓝色。浓盐酸显色反应,取色素的乙醚溶液,加入浓盐酸,振荡片刻,下层呈浅蓝色。以上两反应与类胡萝卜素的一般反应相符,表明桔皮色素主要由类胡萝卜素组成。向色素液加入

表4 验证试验结果

	乙醇浓度/%	微波时间/s	微波功率/W	吸光度
单因素最优条件	100	480	240	0.938
响应面最优条件	88	500	250	0.978
响应面最优条件	88.43	502.95	252.21	0.981

少许镁粉,振荡后,再加数滴盐酸后,色素液产生气泡,颜色变深;若不加镁粉,而加盐酸,则无气泡产生,呈现出黄酮类特异显色的特征^[9],表明柑桔皮色素中含有黄酮类色素。

3 结论与讨论

响应面法优化橘皮黄色素微波提取工艺最佳提取条件为:桔皮粉粒度为80目,料液比为1:15(g/mL),乙醇浓度88%,微波时间500s,微波功率250W,在此条件下柑桔皮黄色素得率为14.12%。显色反应表明柑桔皮黄色素中含有类胡萝卜素和黄酮类物质。

微波辅助提取柑桔皮黄色素大大缩短了提取时间,且得率较高,实验结果有应用价值;响应面优化微波辅助提取工艺,对各因素的考察较为全面、系统,试验结果具有一定的应用价值;今后应对柑桔皮黄色素的提纯工艺进行更为深入的研究,使实验结果更具有实际应用价值。

参考文献

- [1] 云智勉,杜友珍,余琼虹,等.天然多功能食用色素的研究进展[J].广东微量元素,2006,13(2):12-16.
- [2] Kong J K, Chia L S, Goh N K, et al. Analysis and biological activities of anthocyanins[J]. Phytochemistry,2003,64(5):923-933.
- [3] 叶兴乾,刘东红.柑桔加工与综合利用[M].北京:中国轻工业出版社,2005.
- [4] 周家华,杨辉荣,黎碧娜,等.食品添加剂[M].北京:化学工业出版社,2001.
- [5] 陶宗娅,段晓琼,杜潇,等.橘皮黄色素的提取及其性质研究[J].四川师范大学学报(自然科学版),2005,28(6):727-732.
- [6] 古绍彬,吴影,郑太吉.橘皮黄色素的制备及其性质的研究[J].农产品加工,2007,115(10):16-21.
- [7] 董丽花,朱苗苗.柑橘皮色素的最佳提取工艺和稳定性研究[J].泰山医学院学报,2008,29(2):124-127.
- [8] 简文杰,江滨炜,吴云辉.橘皮油溶性色素提取工艺研究[J].现代食品科技,2009,25(7):776-779.
- [9] 潘学军,刘会洲,徐永源.微波辅助提取MAE研究进展[J].化学通报,1999(5):7-12.
- [10] 邓斌,王存嫦,徐安武.微波辅助提取花生壳黄酮类化合物及其抗氧化性研究[J].中国油脂,2009,34(3):54-57.
- [11] 范正国,章湘云.柑橘果皮综合利用的研究[J].湖南化工,2000,30(4):36-37.
- [12] 李建敏,刘晓红,李安.联合提取柑桔皮中精油、色素、果胶和橙皮苷[J].生物质化学工程,2007,41(1):22-25.
- [13] 张弛.六西格玛试验设计[M].广州:广东经济出版社,2003.
- [14] 李大婧,宋江峰,刘春泉,等.超声波辅助提取黑豆皮色素工艺优化[J].农业工程学报,2009,25(2):273-279.
- [15] 北京医学院,北京中医学院主编.中草药成分化学[M].北京:人民卫生出版社,1980.