

响应曲面法优化苦荞麸皮总黄酮的提取工艺^{*}

王 军¹, 王 敏¹, 宋旭辉², 于智峰¹, 郑 慧¹, 李小艳¹

(1 西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100;

2 扶风县上宋中学, 陕西 扶风 722205)

[摘 要] 测定了苦荞麸皮总黄酮的含量, 并采用响应曲面法中的Box-Behnken 模式, 对苦荞麸皮总黄酮微波辅助提取工艺进行了优化。结果表明, 苦荞麸皮总黄酮含量为60.1 g/kg; 其提取的最佳工艺条件为微波加热时间120 s, 乙醇体积分数86%, 料液比1:50, 在此条件下总黄酮得率达58.1 g/kg, 提取率达96.67%。

[关键词] 苦荞麸皮; 总黄酮; 微波; 响应曲面法; 提取工艺

[中图分类号] S517.099

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)12-0189-06

荞麦为蓼科双子叶药食兼用植物, 主要栽培品种有鞑靼荞麦(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaerth, 也称为苦荞)和普通荞麦(*Fagopyrum esculentum* Moench, 也称为甜荞)^[1]。现代医学研究表明, 荞麦具有抗氧化、降血糖、降血脂、抗肿瘤等多种药理活性, 其主要活性物质为黄酮类化合物^[2-4], 苦荞中黄酮类化合物含量大大高于甜荞^[5-6]。因此, 从苦荞中提取黄酮类化合物作为保健食品或药品的原料具有较好的前景。目前, 从苦荞中提取黄酮类化合物的研究多以苦荞籽粒和苦荞壳为原料^[7-8], 而关于苦荞麸皮中黄酮提取的研究较少。我国苦荞常年播种面积约30万hm², 总产量约30万t^[9]。研究表明, 在苦荞制粉过程中, 麸皮的产率约为244 g/kg^[4], 苦荞麸皮中总黄酮含量可达60~70 g/kg^[1], 因此苦荞麸皮有望成为一种廉价而丰富的黄酮提取原料。

微波提取是目前国内外正在研究开发的一种新的植物有效成分辅助提取技术^[10], 因其具有处理方式简便快速、试剂用量少、提取效率高、对有效物质破坏小等特点而受到广泛重视, 已成功用于植物多糖、黄酮等成分的提取^[11-12]。为此, 本研究以苦荞麸皮为原料, 采用统计软件Design-Expert 中响应曲面法的Box-Behnken 模式, 对苦荞麸皮总黄酮(total flavonoids in tartary buckwheat bran, TFTBB)的微波辅助提取工艺进行优化, 以期荞麦资源的综合利用提供指导作用。

1 材料与方法

1.1 材 料

苦荞麸皮, 2004-06 购于西昌; 芦丁, 含量≥95.0%, 国药集团化学试剂有限公司生产。

1.2 芦丁标准溶液的配制和标准曲线的制作

将芦丁于120℃烘箱中烘至恒重, 于干燥器中冷却后称取0.050 g, 用体积分数70%乙醇溶解, 定容至250 mL, 得质量浓度为0.200 mg/mL 芦丁标准液。分别准确吸取芦丁标准液0, 3.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0 mL 于50 mL 容量瓶中, 加入50 g/L NaNO₂ 溶液1.5 mL, 摇匀, 放置6 min 后加入100 g/L Al(NO₃)₃ 溶液1.5 mL, 摇匀, 放置6 min 后加入40 g/L NaOH 溶液20 mL, 再用体积分数70%乙醇定容, 摇匀, 10 min 后用1 cm 比色皿于510 nm 波长测定吸光度A。以A 为横轴, 芦丁含量Y (mg/mL) 为纵轴绘制标准曲线, 求得芦丁含量Y 与吸光度A 的回归方程:

$$Y = 0.075A + 0.002 \quad (R^2 = 0.996)$$

1.3 TFTBB 索氏提取

准确称取2.0 g 苦荞麸皮, 用滤纸包住并用棉线捆好, 置于索氏提取器中, 用100 mL 甲醇提取, 80℃水浴加热回流, 当索氏提取器中的溶液由黄色接近无色时, 取出滤纸包, 提取液用甲醇定容至100 mL, 作为待测液, 重复3次。

* [收稿日期] 2005-11-28

[基金项目] 科技部攻关计划重大项目(2003BA901A19); 西安市2003年农业科技攻关计划项目(NG200317); 西北农林科技大学人才基金项目; 2005年西北农林科技大学科研基金项目

[作者简介] 王 军(1978-), 男, 湖北荆门人, 在读硕士, 主要从事食品营养与安全研究。

[通讯作者] 王 敏(1967-), 女, 河南鄆城人, 副教授, 博士, 主要从事食品营养与功能食品研究。

1.4 TFTBB 微波辅助提取

准确称取 2.0 g 苦荞麸皮置于烧瓶中,加入一定浓度的乙醇,微波功率为中档(245 W),采用间歇加热方式加热一定时间,过滤,滤液用一定浓度的乙醇定容至 100 mL,作为待测液。

1.4.1 TFTBB 微波辅助提取单因素试验 (1)微波加热时间对 TFTBB 得率的影响。在乙醇体积分数为 80%,料液比 1:50,微波加热时间分别为 30, 60, 90, 120 和 150 s 条件下进行试验。(2)乙醇体积分数对 TFTBB 得率的影响。在微波加热 90 s,料液

比 1:50,乙醇体积分数分别为 60%, 70%, 80%, 90% 和 100% 条件下进行试验。(3)料液比对 TFTBB 得率的影响。在乙醇体积分数为 80%,微波加热 90 s,料液比分别为 1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60 条件下进行试验。

1.4.2 响应曲面法试验设计 采用 Box-Behnken 方法,以微波加热时间(x_1)、乙醇浓度(x_2)、料液比(x_3)为自变量,TFTBB 得率 Y 为响应值设计试验,自变量因素编码及水平见表 1。

表 1 TFTBB 微波辅助提取试验的自变量因素编码及水平

Table 1 Code and level of factors chosen for extraction of TFTBB by microwave

自变量及水平 Code and level	因素 Factors		
	微波加热时间/s Treatment time	乙醇浓度/% Concentration of ethanol	料液比 Ratio of material to solvent
	x_1	x_2	x_3
-1	60	70	1:30
0	90	80	1:40
1	120	90	1:50

1.5 TFTBB 得率与提取率计算

取 1 mL 待测液至 50 mL 容量瓶中,按 1.2 节的方法测定吸光度 A ,计算 TFTBB 的得率和提取率。 $\text{TFTBB 得率}/(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}) = (Y \times 100 \times 50 \times 100 \times 10)/(1 \times W \times 1000)$; $\text{TFTBB 提取率} = \text{TFTBB 得率}/\text{TFTBB 含量} \times 100\%$ 。式中, Y 为根据回归方程计算得到的总黄酮质量浓度(mg/mL); W 为麸皮重(g);TFTBB 含量为索氏提取法的得率。

2 结果与分析

2.1 苦荞麸皮总黄酮含量测定结果

试验测得苦荞麸皮总黄酮含量为 60.1 g/kg 。

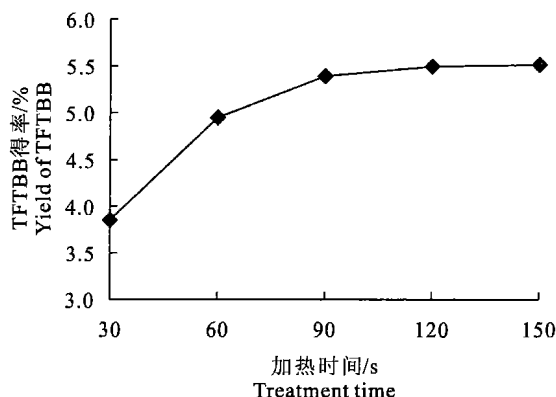


图1 微波加热时间对 TFTBB 得率的影响

Fig. 1 Effect of treatment time on the extraction yield of TFTBB

2.2 TFTBB 微波辅助提取单因素试验

2.2.1 微波加热时间 从图 1 可以看出,延长微波加热时间可以提高 TFTBB 得率,但超过 90 s 后继续延长微波加热时间对得率无明显影响。

2.2.2 乙醇浓度 提高乙醇浓度可以增加提取剂对物料的渗透性,并可提高黄酮类化合物的溶解度,从而提高得率,根据相似相溶原理,乙醇浓度过高也不利于黄酮的溶出。不同乙醇浓度对 TFTBB 得率的影响结果见图 2。从图 2 可以看出,增加乙醇浓度可以提高 TFTBB 得率,但体积分数超过 80% 以后,得率有下降的趋势。

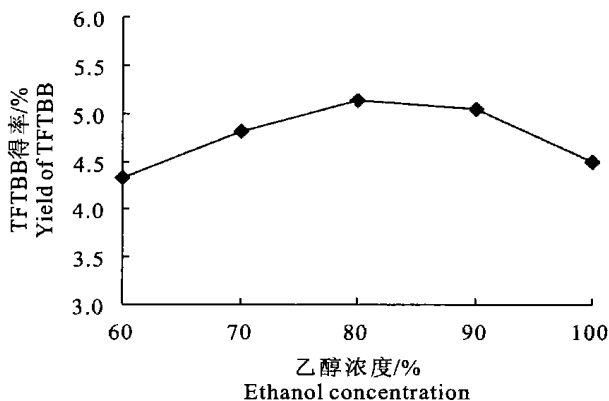


图2 乙醇浓度对 TFTBB 得率的影响

Fig. 2 Effect of ethanol concentration on the extraction yield of TFTBB

2 2 3 料液比 从图 3 可以看出, 增加提取剂比例可以提高 TFTBB 得率, 当料液比达到 1 40 后继续增加提取剂比例, 对 TFTBB 得率无明显影响。

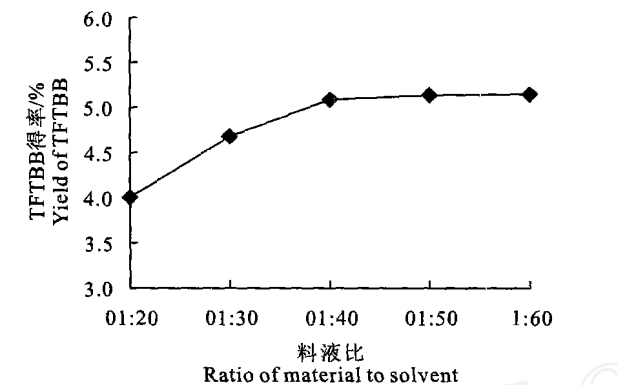


图 3 料液比对 TFTBB 得率的影响
Fig. 3 Effect of the ratio of material weight to solvent volume on the extraction yield of TFTBB

2 3 微波辅助提取试验分析及回归方程的建立
响应曲面法试验结果见表 2。对表 2 的试验数

据进行回归分析, 得二次多元回归方程(模型):
$$Y = 4\,738 + 0\,690x_1 + 0\,315x_2 + 0\,315x_3 - 0\,015x_1^2 - 0\,100x_2^2 + 0\,140x_3^2 - 0\,113x_1x_2 - 0\,003x_1x_3 - 0\,078x_2x_3$$

对该模型进行方差分析, 结果见表 3。模型系数显著性检验结果见表 4。由表 3 可以看出, 模型 P 值 $< 0\,000\,1$, 表明该模型极显著。模型的复相关系数为 $0\,981\,0$, 说明该模型能解释 $98\,10\%$ 响应值的变化, 拟合程度良好, 试验误差小, 可以用此模型对 TFTBB 微波辅助提取进行分析和预测。由表 4 可知, 模型中一次项加热时间 x_1 、乙醇浓度 x_2 、料液比 x_3 对 TFTBB 得率的影响达到极显著水平; 二次项和交互项均不显著。从表 2 中可知, 预测值与实测值之间的最大偏差为 $3\,74\%$, 这也从另一方面说明所得回归方程(模型)是有效的。

表 2 TFTBB 微波辅助提取试验设计与结果

Table 2 Designs and results for extraction of TFTBB by microwave

试验序号 No.	自变量 Variable			响应值 Y Response value	
	微波加热时间/s Treatment time	乙醇浓度/% Concentration of ethanol	料液比 Ratio of material to solvent	实测值/ (g · kg ⁻¹) Actual value	预测值/ (g · kg ⁻¹) Predicted value
	x_1	x_2	x_3		
1	1	0	1	57.1	58.7
2	0	-1	1	49.5	48.6
3	-1	0	1	45.0	44.9
4	1	1	0	56.2	55.2
5	0	0	0	47.6	47.4
6	0	1	1	53.8	53.3
7	0	-1	-1	40.2	40.7
8	0	0	0	46.9	47.4
9	1	0	-1	52.3	52.4
10	-1	-1	0	34.0	35.1
11	-1	0	-1	40.1	38.6
12	1	-1	0	51.7	51.1
13	0	0	0	47.1	47.4
14	0	0	0	47.3	47.4
15	-1	1	0	43.0	43.6
16	0	0	0	48.0	47.4
17	0	1	-1	47.6	48.6

表 3 TFTBB 微波辅助提取回归模型的方差分析

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) for regression equation

方差来源 Source	自由度 DF	平方和 Sum of squares	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 Pr > F	复相关系数 R ² -square
模型 Model	9	5.591	0.621 2	40.25	< 0.000 1	0.981 0
残差 Error	7	0.108	0.015 4			
总和 Corrected total	16	5.699				

表4 TFTBB 微波辅助提取回归模型系数显著性检验结果(*t* 检验)

Table 4 Test of significance for regression coefficient (*t*-Test)

系数项 Parameter	自由度 DF	系数估计值 Estimate	标准误差 Standard error	<i>t</i> 值 <i>t</i> value	<i>P</i> 值 Pr> <i>t</i>
截距 Intercept	1	4.738	0.056	85.28	< 0.000
<i>x</i> ₁	1	0.690	0.044	15.71	< 0.000
<i>x</i> ₂	1	0.315	0.044	7.17	0.000
<i>x</i> ₃	1	0.315	0.044	7.17	0.000
<i>x</i> ₁ ²	1	-0.015	0.061	-0.25	0.808
<i>x</i> ₂ ²	1	-0.100	0.061	-1.66	0.142
<i>x</i> ₃ ²	1	0.140	0.061	2.31	0.054
<i>x</i> ₁ <i>x</i> ₂	1	-0.113	0.062	-1.81	0.113
<i>x</i> ₁ <i>x</i> ₃	1	-0.003	0.062	-0.04	0.969
<i>x</i> ₂ <i>x</i> ₃	1	-0.078	0.062	-1.25	0.252

2.4 TFTBB 得率影响因素交互作用分析

试验结果见图4、5、6。从图4可以看出,乙醇浓度不变,随着微波加热时间的延长,TFTBB 得率急剧增加;微波加热时间不变,随着乙醇浓度的增加,TFTBB 得率也随之增加,但增加幅度较小。从图5可以看出,料液比不变,随着微波加热时间的延长,TFTBB 得率急剧增加;微波加热时间不变,随着料液比的增加,TFTBB 得率随之增加,但增加幅度较小。从图6可以看出,料液比不变,随着乙醇浓度的增加,TFTBB 得率随之增加;乙醇浓度不变,随着料液比的增加,TFTBB 得率也随之增加,且两者的增加幅度相近。

综合图4、图5和图6可以看出,在本试验条件下,加热时间是TFTBB 微波辅助提取工艺的主要因素,乙醇浓度和料液比均为次要因素,且两者

对试验结果的影响效果相近。

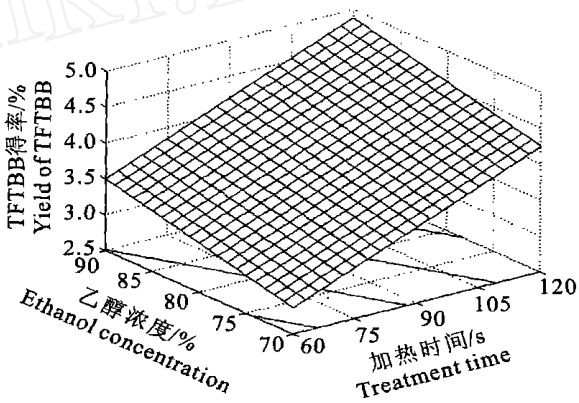


图4 微波加热时间和乙醇浓度对 TFTBB 得率的交互作用响应曲面

Fig. 4 Response surface of the yield of TFTBB versus treatment time and concentration of ethanol

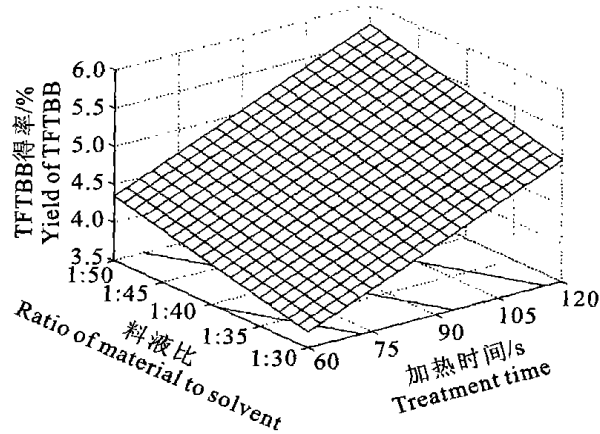


图5 微波加热时间和料液比对 TFTBB 得率的交互作用响应曲面

Fig. 5 Response surface of the yield of TFTBB versus treatment time and ratio of material to solvent

2.5 TFTBB 微波辅助提取工艺条件的优化

以TFTBB 提取率大于95%,即响应值*Y* 大于

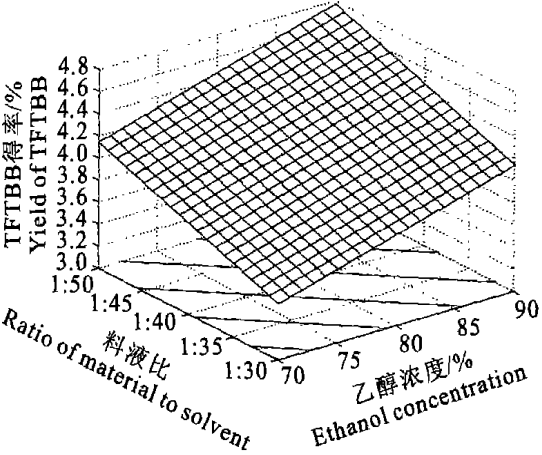


图6 乙醇浓度和料液比对 TFTBB 得率的交互作用响应曲面

Fig. 6 Response surface of the yield of TFTBB versus concentration of ethanol and ratio of material to solvent
57.1 g/kg 为标准,用上述回归模型预测优化出的5组工艺参数,按照此工艺参数进行试验验证,结果见

表5. 由表5 可以看出, TFTBB 微波辅助提取的最佳 液比1 50, 在此条件下 TFTBB 得率为 58 1 g/kg, 工艺参数为: 微波加热 120 s, 乙醇体积分数 86%, 料 提取率达 96 67%。

表5 TFTBB 微波辅助提取回归模型优化的5 组工艺参数(响应预测值> 57. 1 g/kg) 的验证结果

Table 5 Verified results of extraction conditions of optimum five groups from regression equation with the predicted response value more than 57. 1 g/kg

试验序号 No.	自变量 Variable			响应值 Y Response value		偏差/% Variance
	微波加热时间/s Treatment time	乙醇体积分数/% Concentration of ethanol	料液比 Ratio of material to solvent	实测值/ (g · kg ⁻¹) Actual value	预测值/ (g · kg ⁻¹) Predicted value	
1	117	88	1 50	56 9	58 4	- 2 64
2	120	86	1 50	58 1	59 0	- 1 55
3	117	87	1 48	57 8	57 4	0 69
4	120	86	1 48	56 5	58 0	- 2 65
5	117	86	1 48	55 5	57 4	- 3 42

注: 偏差= (实测值- 预测值)/实测值× 100%。
Note: Variance= (Actual- Predicted)/Actual× 100%。

3 结 论

本实验中使用的是家用微波炉, 不能对料液温度进行控制, 当温度过高时, 微波炉会自动关机, 因此只能采用间歇加热方式。本试验发现, 使用高档进行加热时, 料液升温太快, 微波炉频繁关机, 无法操作, 而使用低档时料液升温太慢, 因此试验中将微波功率定为中档。

本研究结果表明, 苦荞麸皮中 TFTBB 含量为 60 1 g/kg; 微波加热时间、乙醇浓度、料液比均是 TFTBB 微波辅助工艺的极显著影响因子; 建立的提取工艺回归模型准确有效, 优化得出的最佳工艺条件为微波加热 120 s, 乙醇体积分数为 86%, 料液比 1 50, 在该工艺条件下 TFTBB 得率为 58 1 g/kg, 提取率达 96 67%。

[参考文献]

[1] 林汝法. 中国荞麦[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994

[2] 王 敏, 魏益民, 高锦明. 荞麦油中脂肪酸和不皂化物的成分分析[J]. 营养学报, 2004, 26(1): 40-43

[3] Sun L in Kim, Sung-Kook Kim, Cheol-Ho Park. Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable[J]. Food Research International, 2004, 37(4): 319-327.

[4] Bonafaccia G, Marocchini M, Kreft I. Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat [J]. Food Chemistry, 2003, 80(1): 9-15

[5] Tomom i Mukoda, Buxiang Sun, Aya Ishiguro. Antioxidant activities of buckwheat hull extract toward various oxidative stress *in vitro* and *in vivo* [J]. Biol Pharm Bull, 2001, 24(3): 209-213

[6] 王 敏. 苦荞调脂功能物质及作用机理研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2005

[7] 贾冬英, 耿 磊, 姚 开. 苦荞麦茎及籽壳中黄酮类化合物(芦丁)的提取及其鉴定[J]. 食品科学, 1998, 19(9): 46-47.

[8] 欧阳平, 张高勇, 康保安. 苦荞麦黄酮类化合物提取的工艺参数优化及数学模型研究[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 107-111.

[9] 林汝法, 周小理, 任贵兴, 等. 中国荞麦的生产与贸易. 营养与食品[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 259-263

[10] V ioria L. Microwave-assisted extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments[J]. Anal Chem, 1994, 66(7): 1097-1106

[11] 杨文杰, 黄惠华. 螺旋藻多糖的水提与微波辅助提取的比较[J]. 食品工业科技, 2003(8): 40-42

[12] 刘 依, 韩鲁佳. 微波技术在板蓝根多糖提取中的应用[J]. 中国农业大学学报, 2002, 7(2): 27-30

Study on extraction technology of total flavonoids in tartary buckwheat bran using response surface methodology

WANG Jun¹, WANG M in¹, SONG Xu-hui², YU Zhi-feng¹, ZHENG Hui¹, LI Xiao-yan¹

(1 College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;
2 Shangsong Middle School of Fufeng County, Fufeng, Shaanxi 722205, China)

Abstract: In this paper, the content of total flavonoids in tartary buckwheat bran was determined, the
© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

extraction technology of total flavonoids in the bran by microwave was studied, and all experiments were designed and optimized with Box-Behnken concept of response surface methodology (RSM). The results showed that the content of total flavonoids was 60.1 g/kg; The regression equation (model) for the extraction technology was established, and also verified with the check experiments. The optimum conditions of the extraction technology were obtained as follows: treatment time 120 s, the concentration of ethanol 86%, the ratio of material to solvent 1:50. Using the technological conditions, the extraction yield of total flavonoids was 58.1 g/kg, and the extraction rate was 96.67%.

Key words: tartary buckwheat bran; total flavonoids; microwave; response surface methodology (RSM); extraction technology

(上接第188页)

Abstract ID: 1671-9387(2006)12-0185-EA

Clarificant selection of navel orange juice and brewing technology of dry wine

LUO An-wei, LIU Xing-hua, SHI Hui, REN Ya-mei

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

Abstract: Fermented with clarified juice, the clarificant selection of juice and parameter of fermentation were studied. Results showed that pectinase, chitosan, diatomite had remarkable clarification effects, the optimum quantities of pectinase, chitosan and diatomite were 0.075, 0.5 and 0.25 g/L per liter juice at this condition respectively, and the corresponding transmittance were 88.3 percent, 93.6 percent and 93.8 percent, but polyvinylpyrrolidone (PVP) was unfit for the clarificant of navel orange juice. The optimum fermentation parameters of dry wine were: adding 60 mg/kg SO_2 and 0.1% wine yeast into the orange juice, and fermentation at low temperature of 10 to 12 centigrade degree. At this condition, the best dry wine was obtained. The alcohol content of dry wine was 12.4 percent, the content of vitamin C 101.64 mg/L, the absorbance 1.321. The dry wine is of superb flavor, good color, high content of vitamin C and stability.

Key words: navel orange juice; clarificant; navel orange dry wine; brewing technology