

超声波技术提取栀子总甾醇工艺研究

万茵^{1,2}, 付桂明^{1,2,3,*}, 张丹², 罗扬帆^{1,2}, 柴建新^{1,2}, 陈建芳^{1,2}, 李红歌^{1,2}, 王建涛^{1,2}
 (1.南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西南昌 330047;
 2.南昌大学生命科学与食品工程学院食品工程系, 江西南昌 330047;
 3.南昌大学中德食品工程中心, 江西南昌 330047)

摘要: 通过超声波技术提取栀子甾醇工艺研究, 探讨不同提取剂、提取剂用量、提取时间、次数及超声波功率对提取效果影响; 采用正交法确定最佳工艺条件: 超声波功率 100W, 石油醚作为提取剂, 料液比 1:8, 提取 1 次, 超声波处理时间为 25min, 在此最佳工艺条件下, 栀子甾醇提取率为 3.12mg/g。

关键词: 栀子, 总甾醇, 超声波提取

Extraction of sterol from *Gardenia jasminoides* seed by the ultrasound technology

WAN Yin^{1,2}, FU Gui-ming^{1,2,3,*}, ZHANG Dan², LUO Yang-fan^{1,2}, CHAI Jian-xin^{1,2},
 CHEN Jian-fang^{1,2}, LI Hong-ge^{1,2}, WANG Jian-tao^{1,2}

(1.State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China;
 2.Food Engineering Department of Life Science and Food Engineering College, Nanchang University,
 Nanchang 330047, China; 3.Sino-German Food Engineering Center, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: The process for extraction of total sterols from *Gardenia jasminoides* seed by the ultrasound technology was studied. The effects of different solvents, amount of solvents, extraction time, extraction times, extraction time and ultrasonic power were explored. Orthogonal experiment result showed that the optimum conditions were 100W, petroleum ether as extracting agent, the ratio of material to solvent 1:8 (W/V), extracting one time and 25min for ultrasound extraction. Under optimum conditions, the extraction yield of gardenia sterol was 3.12mg/g.

Key words: *Gardenia jasminoides*; total sterols; ultrasound extraction

中图分类号: TS201.2 文献标识码: B 文章编号: 1002-0306(2011)03-0327-04

栀子为茜草科栀子属植物栀子 *Gardenia jasminoides* Elis 的干燥成熟果实, 又名黄栀子、山栀子, 主产湖南、江西、广西、湖北、福建、四川、广东等地; 其中湖南栀子的种植面积最大, 约占全国种植面积的 60%, 产量占全国总产量的 30%~40% 以上, 是全国最大的栀子产区。栀子味苦, 寒, 入肺、胃、肝、胆、三焦、络六经, 清热, 泻火, 凉血; 主治热病虚烦不眠、黄疸、淋病、消渴、目赤、咽痛、吐血、血痢、尿血、热毒疮疡、扭伤肿痛, 是生产多味中成药的重要原料, 又是作为食品色素出口的传统商品, 远销欧美、

日本和东南亚各国^[1]。近年来研究表明, 栀子果含油 20% 以上, 其中含有较丰富的油脂, 通过对其油脂的理化分析, 确定其中含有植物甾醇类化合物。植物甾醇是一类以环戊烷全氢菲(甾核)为骨架的天然醇类化合物, 具有多种生理特性, 在医药化工等方面的应用也越来越广泛^[2-3]。超声波是一种弹性机械振荡波, 频率大于 20000Hz。超声波提取(ultrasonic extraction)的基本原理是利用超声波产生强烈振荡、高速和强烈的空化效应、搅拌作用, 破坏植物的细胞, 使溶剂能渗透到植物细胞中, 加速植物中有效成分的浸出提取^[4]。与热回流提取相比, 超声波提取具有时间短、提取率高、不需加热(不破坏热敏有效成分)等优点。本文对栀子总甾醇的超声波提取工艺进行研究, 不仅栀子总甾醇得率高, 且甾醇成分全面, 可深入

收稿日期: 2009-09-17 * 通讯联系人
 作者简介: 万茵 (1976-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养与食品资源开发。

151-157.
 [7] 丁立忠, 杨剑, 黄文. 食用香精微胶囊化研究进展 [J]. 中国调味品, 2009, 24(2): 90-95.
 [8] Wen-Chuan Hsieh, Chih-Pong Chang, Ying-Lin Gao. Controlled release properties of Chitosan encapsulated volatile

Citronella oil microcapsules by thermal treatments [J]. Biointerface 2006, 53: 209-214.
 [9] 李柱来, 王津, 陈莉敏, 等. 头孢曲松壳聚糖-海藻酸钠(钙)微球制备及性能研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2008, 33(6): 355-358.

分析栀子果油中总甾醇的化学成分组成和生理活性,可为合理有效利用栀子资源提供理论基础。

1 材料与设备

1.1 材料与设备

栀子果 购于江西省樟树市药材市场;石油醚、无水乙醇、正己烷、乙酸乙酯、乙酸酐、浓硫酸、胆甾醇等 均为国产分析纯。

数显恒温水浴锅 江苏城西晓阳电子仪器厂; TU1900 双光束紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; JY88-II 超声波细胞粉碎机 宁波新芝生物科技股份有限公司; SHZ-III 型循环水真空泵 上海亚荣生化仪器厂; V-1001 旋转蒸发器 上海爱郎仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 总甾醇提取流程 10g 栀子籽粉 + 石油醚 → 超声波提取 → 抽滤 → 滤液真空浓缩 → 总甾醇提取物

1.2.2 总甾醇提取率的测定方法 总甾醇提取物用乙酸酐定容到 250mL, 移取 10mL, 加 10 滴浓硫酸, 摇匀显色 10~20min, 用分光光度计测定甾醇在最大吸收波长下的吸光度, 根据胆甾醇标准曲线, 计算提取物中总甾醇的浓度, 除以原料用量, 得到总甾醇提取率。

1.2.3 测定波长与反应显色时间的确定

1.2.3.1 胆甾醇标准溶液的配制 准确称取胆甾醇标准品 50mg, 置于 50mL 小烧杯中, 加少量乙酸酐于 60℃ 水浴中溶解, 转移入 50mL 容量瓶中, 加乙酸酐至刻度, 浓度为 1.00mg/mL。

1.2.3.2 最大吸收波长的确定 将胆甾醇标准溶液用乙酸酐稀释 10 倍, 加入 10 滴浓硫酸摇匀显色后于 400~800nm 范围内进行吸光度扫描^[5], 得到混合体系吸收曲线, 以确定最大吸收波长。

1.2.3.3 反应显色时间的确定 准确移取标准溶液 2.0mL, 置 10mL 容量瓶中。加乙酸酐稀释至刻度, 摇匀。加入 10 滴浓硫酸, 颜色由无色经红色最后变成深绿色, 分析不同显色时间下体系吸光度的变化。

1.2.3.4 胆甾醇标准曲线的绘制 用移液管分别准确移取 0.3、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0mL 标准溶液于 10mL 容量瓶中, 用乙酸酐稀释至刻度, 其浓度分别为 0.03、0.05、0.10、0.20、0.30、0.40mg/mL。然后分别加入 10 滴浓硫酸于容量瓶中, 显色 10~20min, 在最大吸收波长下用分光光度计测定吸光度 A, 以胆甾醇含量为横坐标, 吸光度 A 为纵坐标, 绘制标准曲线。

1.2.4 原料预处理 栀子果肉较果壳难粉碎和干燥, 将栀子果壳用剪刀破开, 取出果肉, 分别粉碎, 于 55℃ 烘箱中烘干后重新混合备用。

1.2.5 提取溶剂的选择 用于提取的溶剂各有一定优缺点, 本实验选择了目前提取油脂最常用的四种溶剂, 即无水乙醇、石油醚、乙酸乙酯、正己烷, 以提取液中甾醇的吸光度作为指标, 确定合适的提取溶剂。

1.2.6 超声波提取单因素实验 称取 10.0g 栀子果肉粉, 加入 100mL 溶剂, 混合均匀后, 将体系放在超声波处理室中进行提取。固定超声频率 100Hz, 分别对提取料液比、时间、超声波强度进行单因素提取实验, 比较提取结果。

1.2.6.1 料液比对提取率的影响 固定超声时间为 30min、提取次数为 1 次, 在不同的料液比 1:3、1:5、1:7、1:8、1:9、1:12 (g/mL) 条件下进行实验。

1.2.6.2 超声波处理时间对提取率的影响 在最佳料液比下按不同的超声波处理时间 10、20、25、30min 进行实验。

1.2.6.3 超声波强度对提取率的影响 在最佳料液比和超声波处理时间下按不同的超声波强度 80、90、100、110W 进行实验。

1.2.6.4 最佳提取条件下提取次数对提取率的影响

在最佳料液比、最佳处理时间、最佳超声波提取强度下, 对原料分别提取 1、2、3 次, 研究提取次数对提取率的影响。

1.2.7 正交实验 影响总甾醇提取率的因素较多, 本文根据单因素实验结果, 取料液比、提取时间和超声波提取强度三个对总甾醇提取率影响较大的因素, 进行三因素三水平的正交实验设计, 如表 1。

表 1 正交实验因素水平表

水平	因素		
	A 料液比 (g/mL)	B 时间 (min)	C 超声强度 (W)
1	1:7	20	80
2	1:8	25	90
3	1:9	30	100

2 结果与讨论

2.1 最大吸收波长的确定

吸收曲线如图 1 所示, 可以看出, 在 666nm 处有最大吸收峰, 本实验选择 666nm 作为测定吸收波长, 并且在此波长范围内用溶剂作空白对样品的测定没有影响。

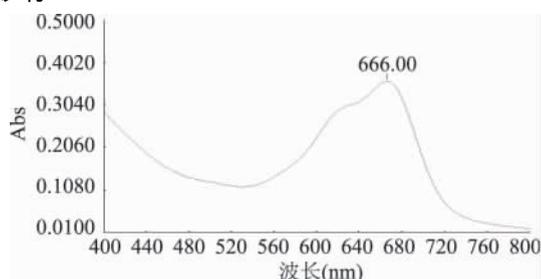


图 1 胆甾醇的吸收曲线

2.2 反应显色时间的确定

由图 2 可知, 显色时间在 10~20min 之间时, 吸光度基本不变, 大于 20min 以上吸光度开始下降。故本实验选择显色 10min 后进行吸光度的测定。

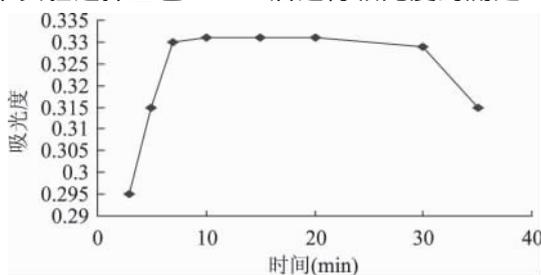


图 2 显色时间对吸光度的影响

2.3 标准曲线的绘制

胆甾醇标准溶液滴加浓硫酸显色 10min, 在最大

吸收波长 666nm 下用分光光度计测定吸光度 A,以胆甾醇含量为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制标准曲线,如图 3 所示,得线性回归方程: $y = 3.5131x - 0.001$, $R^2 = 0.9999$,线性相关性良好。

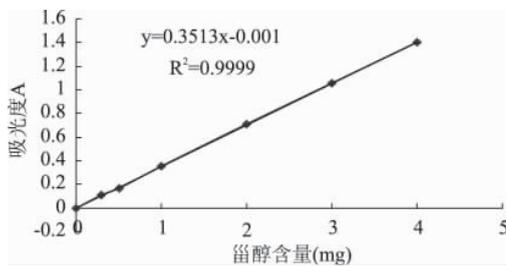


图3 胆甾醇标准曲线

2.4 提取溶剂的选择

实验结果见图 4。由图 4 可看出,用石油醚作为溶剂时,提取液的吸光度最大,其次为正己烷。石油醚沸点较低,回收率不如正己烷高,但正己烷的价格是石油醚的三倍,因此,本文选择石油醚作为提取溶剂。

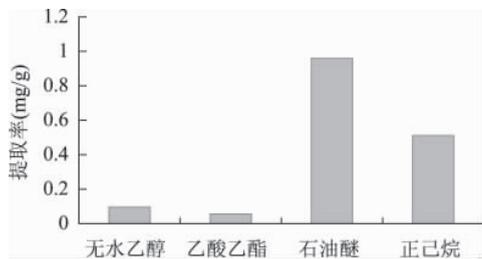


图4 不同溶剂提取液的吸光度比较

2.5 超声波提取的单因素实验结果

2.5.1 料液比的影响 不同料液比对胆甾醇提取率的影响见图 5,可知料液比为 1:8 (g/mL) 的情况下提取出的胆甾醇最多。溶剂用量越大,胆甾醇提取率越高,这是因为溶剂用量越大,渗透压也就越大,胆甾醇就容易渗透出来。当溶剂用量达到一定程度后,许多溶于石油醚的色素和亲脂性强的其他成分被提取出来,同时组织的通透性下降,导致胆甾醇提取率下降。

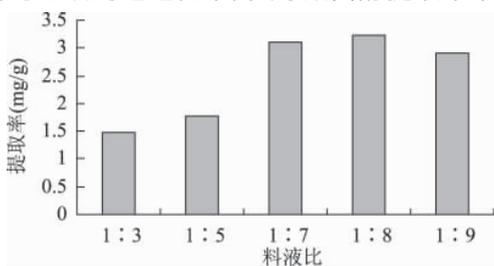


图5 料液比对胆甾醇提取率的影响

2.5.2 提取时间对胆甾醇提取的影响 不同提取时间对胆甾醇提取率的影响见图 6,可知最佳提取时间为 20min。

2.5.3 超声波强度对胆甾醇提取的影响 不同超声波强度对提取率的影响见图 7,由图可知,最佳超声波提取强度为 100W。随着超声波功率的增大,胆甾醇的提取率先增加然后略有下降。这主要是由于超声波功率越大,空化作用和机械作用越剧烈,媒质粒子的速度和加速度亦越大,界面扩散层上的分子扩散就越快,使瓶子中胆甾醇渗出速度就越快。此外,声强增大、声空化增强也使声散射衰减增大,非线性引起的

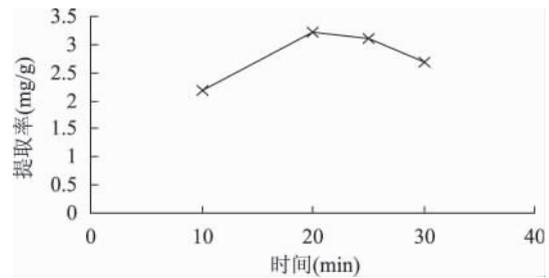


图6 不同提取时间对胆甾醇提取率的影响

附加衰减也随之增大,这不利于声能量的传播^[6-7]。

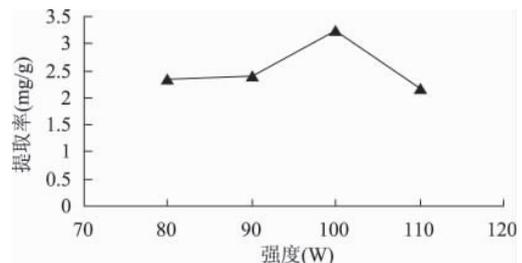


图7 超声波强度对胆甾醇提取率的影响

2.5.4 提取次数对胆甾醇提取的影响 不同提取次数对胆甾醇提取率的影响见图 8。可知,第 1 次提取液的吸光度比第 2 次、第 3 次大很多,提取 1 次基本能把胆甾醇都提取出来,综合考虑溶剂用量、超声波处理时间等因素,固定提取次数为 1 次^[8]。

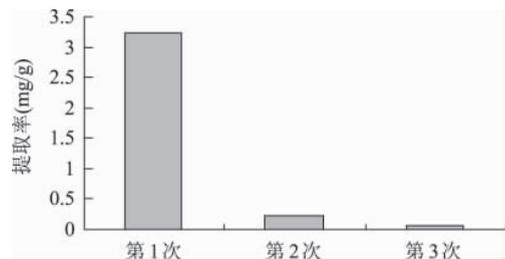


图8 提取次数对胆甾醇提取率的影响

2.6 正交实验结果

基于单因素实验结果,对料液比、提取时间、超声波强度三个主要影响因素设计正交实验,正交实验数据和直观分析见表 2 所示。由极差大小可以看出,对提取率的影响依次为强度 > 料液比 > 时间。最佳提取工艺为 $A_2B_2C_3$,即料液比 1:8、时间 25min、强度 100W,也即正交实验中的实验 5。

表2 正交实验结果

实验号	A	B	C	提取率 (mg/g)
1	1	1	1	2.22
2	1	2	2	2.18
3	1	3	3	2.60
4	2	1	2	2.41
5	2	2	3	3.12
6	2	3	1	2.34
7	3	1	3	2.91
8	3	2	1	2.33
9	3	3	2	2.38
k_1	2.333	2.513	2.297	
k_2	2.623	2.543	2.323	
k_3	2.540	2.440	2.877	
R	0.290	0.103	0.580	

(下转第 333 页)

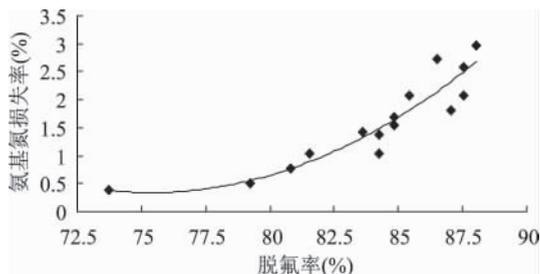


图7 氨基氮损失率与脱氟率的关系

参考文献

- [1]任艳. 南极磷虾蛋白加工利用的初步研究[D]. 中国海洋大学, 2009.
- [2]Meenakshi R C, Maheshwari. Fluoride in drinking water and its removal[J]. Journal of Hazardous Materials, 2006, 137: 456-463.
- [3]国家标准局. GB 4809-1984 食品中氟允许量标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1984.
- [4]陆英, 刘仲华. 茶叶中氟的研究进展[J]. 吉首大学学报: 自然科学版, 2004, 25(4): 84-88.
- [5]陈后兴, 罗仙平, 刘立. 含氟废水处理研究进展[J]. 四川有色金属, 2006(1): 31-35.
- [6]Islam R K, Patel. Evaluation of removal efficiency of fluoride from aqueous solution using quick lime[J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, 143: 303-310.
- [7]中华人民共和国卫生部 中国国家标准化管理委员会. GB 2760-2007 食品添加剂使用卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [8]王歆然, 石健, 严淑, 等. pH对氯化钙除氟效率的影响研究[J]. 消费导刊, 2008(7): 71-72.
- [9]刘庆斌. 无机含氟废水处理的研究进展[J]. 黄石理工学院学报, 2009, 25(4): 7-10.

3 结论

通过响应面法优化得到对南极磷虾酶解液氯化钙法脱氟的最佳工艺为: 氯化钙添加量 1.38%, 初始 pH9.0, 反应温度 20℃。经验证, 脱氟后酶解液氟含量为 8.3mg/L, 实际脱氟率达到理论预测值的 97.89%。氯化钙法脱氟过程对酶解液氨基氮、总氮的影响都比较小, 是一种较为理想的脱氟方法, 对南极磷虾酶解液的进一步开发利用和安全食用有重要意义。

研究中发现, 酶解液在氯化钙法脱氟处理后略有苦味涩味, 在进一步开发时需要将残存的钙离子除去或通过调味、添加掩蔽剂等掩蔽苦味, 这将是今后研究中着重解决的问题。

(上接第 329 页)

根据方差分析结果可知, 在本正交实验选取的水平范围内, 超声波强度对提取率的影响显著。

表3 方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	F比	F _{0.05} 临界值	显著性
A 料液比	0.134	2	7.882	19.000	
B 时间	0.017	2	1.000	19.000	
C 强度	0.643	2	37.824	19.000	*
误差	0.02	2			

3 结论

本文利用超声波技术提取栀子总甙醇, 以石油醚为提取溶剂, 通过单因素实验得出当超声波处理功率 100W, 超声波处理时间 20min, 栀子籽粉与溶剂的比例为 1:8, 栀子果油得率较高。在此基础上, 通过正交实验对栀子总甙醇的超声波提取工艺进行优化, 得出较优工艺条件为: 料液比 1:8, 超声波功率为 100W, 超声波处理时间为 25min。在该条件下, 超声波提取法提取的栀子总甙醇得率为 3.12mg/g。利用超声波技术提取的栀子总甙醇得率高, 且甙醇成分全面, 适合对栀子果油中总甙醇的化学成分组成和生理活性进行系统研究, 可为合理有效利用栀子资源提供理论基础。

植物甙醇具有显著的降胆固醇功能, 天然食物中较低剂量的植物甙醇即具有降低血浆胆固醇的作用, 在特定人群的膳食中每日补充 2g 植物甙醇酯或甙烷醇酯可使血浆低密度脂蛋白胆固醇降低 10%^[9]。其机理已通过基因工程得以证实。此外最新研究发现有几种植物甙醇还具有抗氧化效应, 在

植物抗衰老中起重要作用。植物甙醇产品开发在国外已得到迅速发展, 各种甙醇类功能性制品不断问世, 而我国在该领域的研究开发仍较滞后。栀子是我国特有植物, 栀子果是卫生部颁布的第一批药食两用资源, 除提取栀子黄色素外, 系统研究栀子果油中的甙醇类物质, 并进一步开发栀子总甙醇类功能性产品, 对栀子果的综合利用具有重要意义。

参考文献

- [1]槐华安. 栀子历史行情[J]. 农村实用技术, 2008(2): 34-34.
- [2]管伟举, 谷克仁. 植物甙醇研究进展[J]. 粮食与油脂, 2007, 32(3): 5-9.
- [3]李月, 陈景萍, 段玉峰. 植物甙醇功能及开发前景展望[J]. 粮食与油脂, 2004(5): 11-13.
- [4]韩建钧. 超声波技术和静电技术在现代农业中的应用研究[J]. 科技情报开发与经济, 2008, 18(24): 209.
- [5]叶爱英, 张培培, 姚成. 植物油中总甙醇的分析[J]. 南京师范大学学报: 工程技术版, 2007, 7(2): 45-48.
- [6]郑敏燕. 超声波法提取紫丁香中丁香油的研究[J]. 青海师范大学学报: 自然科学版, 2003(3): 32-33.
- [7]殷涌光, 崔彦如, 丁宏伟. 超声波辅助提取桦褐孔菌中白桦脂醇的研究[J]. 农业机械学报, 2008, 39(4): 204-206.
- [8]成纪予, 叶兴乾, 江萍, 等. 超声波辅助提取杨梅核仁油[J]. 油脂加工, 2008(2): 50-53.
- [9]周晓星, 苏宜香. 植物甙醇降胆固醇作用的研究现状[J]. 国外医学·卫生学分册, 2007, 34(2): 101-105.