

芥菜籽中异硫氰酸酯提取工艺的优化

郭时印, 彭宇佳, 张家诚

(湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 以芥菜籽为试材, 异硫氰酸酯提取率为考察指标, 采用超声提取法, 分别设超声温度(40、50、60、70、80 °C), 超声时间(20、30、40、50、60 min)和乙醇体积分数(65%、75%、85%、95%、100%)3个单因素试验, 再在单因素试验的基础上进行响应面分析, 优化芥菜籽中异硫氰酸酯的提取工艺。结果表明: 乙醇体积分数为70%, 超声温度为50 °C、超声时间为40 min时, 芥菜籽中异硫氰酸酯提取率较高, 为2.199%。

关键词: 芥菜籽; 异硫氰酸酯; 超声提取; 响应面分析

中图分类号: S637.401

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2017)02-0226-03

Optimization of isothiocyanate extraction from mustard seed

GUO Shiyin, PENG Yujia, ZHANG Jiacheng

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: The mustard seeds were used as material and extraction rate of isothiocyanate was taken as the reference index. Three single factor experiments, ultrasonic temperature(40, 50, 60, 70, 80 °C), ultrasonic time(20, 30, 40, 50, 60 min) and ethanol volume fraction(65%, 75%, 85%, 95%, 100%), were designed to extract the effective components of mustard seed. And then the response surface analysis was carried out on the basis of single factor tests to explore the best extraction process of effective components of mustard seed. The results showed that the extraction rate of isothiocyanate was highest (2.199%) while 70% volume fraction of ethanol was used as extraction solvent in ultrasonic extraction, with 50 °C ultrasonic temperature and 40 min ultrasonic time.

Keywords: mustard seed; isothiocyanate; ultrasonic extraction; response surface analysis

芥菜籽是十字花科芸苔属植物芥菜的种子, 味微苦, 辛辣芳香, 是芥末的主要成分。芥菜籽中的辛辣物质主要是由多种异硫氰酸酯构成^[1]。异硫氰酸酯具有很强的杀菌、防霉和消灭寄生虫的生物活性^[2-4]。目前有效成分的常用提取方法有压榨法、低压蒸气蒸馏法、水蒸气蒸馏法、溶剂提取法、溶剂超声波提取法、溶剂微波提取法、超临界流体提取法、酶法提取法等^[5]。超声提取法具有操作简单方便、提取率高、节约能源、速度快、温度低等特点。本研究中, 以芥菜籽为试材, 采用超声提取法, 在单因素试验的基础上, 运用响应面法优化异硫氰酸酯的提取工艺, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料: 芥菜籽, 食品级, 购于长沙市高桥大市场。

主要试剂: 乙醇, 中国医药集团生产; 丙酮, 深圳市三飞化工有限公司生产; 二乙胺, 青岛雅各化学试剂销售有限公司生产; 盐酸, 中国医药集团生产; 甲基红-溴甲酚绿指示剂, 湖南农业大学食品科学技术学院实验室提供。以上试剂均为分析纯。

主要仪器和设备: LD5-2A 低速离心机, 北京京立离心机有限公司产品; KQ5200DE 超声波清洗机, 昆山市超声仪器有限公司产品; B-260 恒温水浴锅, 上海亚荣生化仪器厂产品。

1.2 方法

1.2.1 样品处理

将芥菜籽粉碎,过孔径为 0.25 mm 的筛,备用。

1.2.2 单因素试验

参考杨雅瑜等^[6]、刘佳等^[7]的方法,固定超声功率为 200 W,料液比(质量比)为 1 10。分别称取 2.0 g 芥菜籽粉末,选择超声温度(40、50、60、70、80 ℃),超声时间(20、30、40、50、60 min)和乙醇体积分数(65%、75%、85%、95%、100%)进行单因素试验。重复 3 次。结果取平均值。

由于芥菜籽中的异硫氰酸酯主要是异硫氰酸丙烯酯,因此,以异硫氰酸丙烯酯的含量为指标计算异硫氰酸酯的提取率。异硫氰酸丙烯酯的含量测定采用二乙胺滴定法^[8]。异硫氰酸酯含量 $y = \frac{0.09915(C_1V_1 - C_2V_2)}{W}$ 。式中: C_1 为二乙胺标准溶液的浓度(mol/L); C_2 为盐酸标准溶液的浓度(mol/L); V_1 为二乙胺标准溶液加入体积(mL); V_2 为滴定时消耗掉的盐酸标准溶液体积(mL); W 为芥菜籽的取样量。

1.2.3 响应面试验设计

在单因素试验的基础上,依据 Box-Behnken 中心试验设计原理,设三因素三水平试验(表 1)。每组试验重复 3 次。结果取平均值。

表 1 响应面试验的因素和水平

Table 1 The regression equation factors level table			
水平	温度(A)/℃	时间(B)/min	乙醇体积分数(C)/%
1	40	30	65
2	50	40	75
3	60	50	85

1.3 数据分析与处理

所有数据采用 Excel 2003 整理,运用 SPSS 17.0 进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

当提取温度为 40、50、60、70、80 ℃时,提取率分别为 1.119 3、1.202 6、1.184 5、1.052 4、1.025 7,温度为 50 ℃时异硫氰酸酯的提取率较高;当超声时间为 20、30、40、50、60 min 时,提取率分别为 0.799 3、0.834 8、1.083 3、0.901 7、0.796 7,超声时间为 40 min 时异硫氰酸酯的提取率较高;当乙醇体积分数为 65%、75%、85%、95%、100%时,提取率分别为 1.215 0、1.268 3、1.190 8、1.186 4、1.148 1,

乙醇体积分数为 75%时异硫氰酸酯的提取率较高。

由方差分析结果(表 2)可知,超声时间、乙醇体积分数、超声温度 3 个因素对芥菜籽中异硫氰酸酯的提取率的影响极显著,因此选择超声温度 40、50、60 ℃,超声时间 30、40、50 min,乙醇体积分数 65%、75%、85%作为响应面试验的因素和水平。

表 2 单因素试验结果的方差分析

Table 2 Single factor analysis of variance table				
因素	平方和	自由度	均方	F 值
超声时间	0.172 0	4	0.042 90	56.863**
乙醇体积分数	0.025 3	4	0.005 88	102.029***
超声温度	0.073 2	4	0.018 30	361.861***

2.2 响应面试验结果

根据表 3 的结果,运用 Design-Expert 9 软件回归拟合,得到芥菜籽中异硫氰酸酯提取率的回归模型 $Y = 2.17 - 0.27A + 0.025B - 0.061C + 0.0088AB + 0.115AC - 0.015BC - 0.72A^2 - 0.070B^2 - 0.096C^2$,对其模型进行方差分析(表 4)。由表 4 可知,模型具有高度显著性 ($P < 0.000 1$),失拟项 $P > 0.05$,说明模型选择合适。

表 3 响应面试验结果

Table 3 Response surface test results				
编号	超声温度/℃	超声时间/min	乙醇体积分数/%	提取率/%
1	50	50	85	1.585 9
2	40	50	75	1.711 0
3	50	40	75	2.224 7
4	60	40	65	1.114 3
5	40	30	75	1.691 3
6	60	50	75	1.101 5
7	50	40	75	2.059 4
8	50	40	75	2.143 7
9	50	30	65	2.092 9
10	50	30	85	1.690 5
11	50	50	65	1.965 6
12	60	40	85	1.158 5
13	40	40	65	1.793 9
14	40	40	85	1.382 5
15	50	40	75	2.115 9
16	50	40	75	2.138 3
17	60	30	75	1.046 7

表 4 方差分析结果

Table 4 Analysis of variance results					
变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
模型	2.67	9	0.30	33.09	<0.000 1
A	0.58	1	0.58	64.86	<0.000 1
B	0.003 097	1	0.003 097	0.35	0.575 3
C	0.17	1	0.17	18.40	0.003 6
AB	0.000 308	1	0.000 308	0.034	0.858 3
AC	0.052	1	0.052	5.78	0.047 1
BC	0.000 129	1	0.000 129	0.014	0.908 0
A ²	1.57	1	1.57	174.66	<0.000 1
B ²	0.081	1	0.081	9.02	0.019 8
C ²	0.11	1	0.11	12.62	0.009 3
残差	0.063	7	0.008 973		
失拟项	0.049	3	0.016	4.56	0.088 3
纯误差	0.014	4	0.003 551		
总和	2.73	16			

由图 1 和表 4 可以看出, 超声温度和超声时间的交互作用不显著, 超声温度和乙醇体积分数的交互作用显著, 超声时间和乙醇体积分数的交互作用不显著。

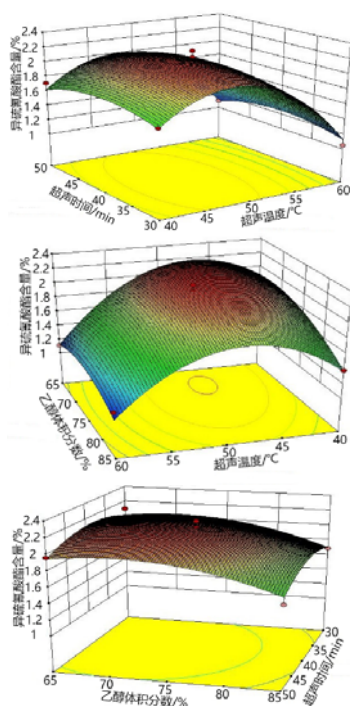


图 1 异硫氰酸酯提取率的响应曲面

Fig.1 Response surface of isothiocyanates extraction rate

2.3 验证试验结果

根据优化的工艺条件, 采用乙醇体积分数为 70%、超声温度为 50 °C、超声时间为 40 min 的工艺条件提取芥菜籽中的异硫氰酸酯。重复 3 次的提取率为 2.199%。这一结果与理论值相近, 因此, 采用本试验的优化工艺提取芥菜籽中异硫氰酸酯是可行的。

3 结论与讨论

异硫氰酸酯的提取过程涉及到的各个因素都会对提取率产生影响。本试验中异硫氰酸酯的提取率随着温度的升高、超声时间延长及乙醇体积分数的增加均呈现先升高后降低的趋势。这可能是将芥菜籽研磨后, 细胞遭到破坏, 芥子苷酶被释放, 芥子苷酶与硫代葡萄糖苷经过一系列反应生成异硫氰酸酯^[9], 随着温度的升高, 酶活性逐渐提高, 当温度升高到一定值后, 酶活性逐渐下降, 使异硫氰酸酯的提取率下降; 当温度接近或超过 80 °C 时, 硫代葡萄糖苷发生分解, 使异硫氰酸酯的提取效率降低; 超声时间过长, 芥子苷酶与提取溶剂乙醇长

时间接触, 致使蛋白质变性, 酶活性降低, 酶解硫代葡萄糖苷的效率降低, 异硫氰酸酯的提取率下降。也可能是因为超声时间过长造成乙醇与另一类异硫氰酸酯的前体物质(酚酸化合物)反应, 降低了异硫氰酸酯的含量^[5], 或者在超声波作用下产生的局部瞬时高温、高压会促使水分子产生大量的羟基自由基、氢自由基, 这些未配对电子的自由基可直接氧化异硫氰酸酯, 使其发生水解, 从而降低异硫氰酸酯的含量^[10-11]。综合整个试验结果: 在超声提取芥菜籽异硫氰酸酯时, 在乙醇体积分数 70%, 超声温度 50 °C、超声时间 40 min 的提取条件下, 提取率较高, 为 2.199%。

参考文献:

- [1] 田娟娟, 豆海港, 陈文学, 等. 香辛料提取物抑菌作用的研究现状及展望[J]. 食品科技, 2007(12): 101-104.
- [2] 彭超. 山葵和芥子中异硫氰酸酯的抑菌活性成分与微胶囊研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2014.
- [3] 胡小松. 食用辛辣风味物质异硫氰酸烯丙酯(AITC)的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- [4] 朱进, 杨松. 山葵生物学特性、关键技术及风味物质研究进展[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2011, 8(1): 223-226.
- [5] 左勇, 潘训海. 芥末有效成分提取工艺的优化[J]. 中国调味品, 2010, 35(3): 90-99.
- [6] 杨雅瑜, 刘玉德, 张媛, 等. 正交实验优化多频超声波辅助法提取绿茶茶多酚工艺[J]. 食品工业科技, 2014, 35(19): 189-193.
- [7] 刘佳, 丁轲, 陈湘宁, 等. 辣根中烯丙基硫代葡萄糖苷提取工艺的优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(6): 204-208.
- [8] 张清峰, 姜子涛, 董峰光, 等. 二乙胺滴定法测定辣根及芥末制品中异硫氰酸酯含量的研究[J]. 中国调味品, 2005(2): 48-51.
- [9] 邓艳美, 王红妹, 万从庆. 青花菜中硫代葡萄糖苷的提取工艺[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 254-256.
- [10] 张清峰, 姜子涛, 张云华, 等. 辣根油中异硫氰酸酯的水解稳定性研究[J]. 食品科学, 2005, 26(11): 125-128.
- [11] 刘艳凤, 喻少帆, 李嘉诚, 等. 烯丙基异硫氰酸酯在水溶液中的稳定性研究[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2011, 28(1): 33-38.

责任编辑: 尹小红

英文编辑: 梁 和