

紫苏粕中类胡萝卜素提取工艺参数的优化

朱建飞^{a,b}, 赖川^{a,b}, 唐春红^{a,b}

(重庆工商大学 a.环境与生物工程学院; b.绿色食品研究所, 重庆 400067)

摘 要:为提高紫苏粕的综合利用率,采用有机溶剂提取法提取紫苏粕中的天然类胡萝卜素,通过单因素试验得出适宜的提取溶剂种类、丙酮与甲醇的体积比、提取温度、提取时间、固液比(紫苏粕质量与混合液体积的比),通过正交试验得出有机溶剂提取紫苏粕中类胡萝卜素的最佳工艺条件:丙酮与甲醇体积比为 2:1,提取温度为 50℃,提取时间为 8 h,固液比为 1:50。该浸提条件下类胡萝卜素提取率为 4.0 mg/(100 g)。

关 键 词:紫苏;粕;类胡萝卜素;提取工艺;有机溶剂提取法

中图分类号:TS201.1 文献标志码:A 文章编号:1007-1032(2011)06-0689-04

Optimization of organic solvent method for extraction of carotenoids from *Perilla frutescens* meal

ZHU Jian-fei^{a,b}, LAI Chuan^{a,b}, TANG Chun-hong^{a,b}

(a. College of Environmental and Biological Engineering; b. Natural Health Food Research Institute, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

Abstract: Organic solvent method was optimized here to extract carotenoids from *Perilla frutescens* meal for the comprehensive utilization of *Perilla frutescens* meal. Through the single factor experiment, the influence of the extraction solvent, the ratio of acetone to methanol, the extraction temperature, the extraction time and the ratio of liquid to perilla meal respectively on the yield of carotenoids were studied. Orthogonal test indicated under the temperature of 50℃ and 8 h of extraction the optimum ratios of acetone to methanol(V/V) and solid to liquid(W/V) were 2:1 and 1:50 respectively. Under these conditions, the yield of carotenoids from *Perilla frutescens* meal reached 4.0 mg/(100 g).

Key words: *Perilla frutescens*; meal; carotenoids; extracting technology; organic solvent method

在自然界中,类胡萝卜素广泛存在于动植物中。由于类胡萝卜素具有抗氧化^[1-3]、预防心血管疾病^[4-6]和癌症^[7-10]、延缓衰老^[11-13]等特殊生物学功能,已成为研究的热点,研究内容涉及类胡萝卜素的分析方法^[14-15]、提取工艺^[16-17]、生理功能^[18-19]以及应用开发^[20]等。紫苏(*Perilla frutescens* (L.) Britton)为唇形科(Labiatae)紫苏属的一年生草本植物,主要分布于中国、印度、日本、朝鲜等国,公元前 300 年中国即有关于紫苏的记载^[21]。紫苏是常

用中草药,又是重要的经济作物,其花、叶、茎及果实都具有较高的开发利用价值^[22]。紫苏籽的含油率高于棉籽、油菜籽和蓖麻籽等。紫苏油富含 α-亚麻酸,是一种很好的保健油^[23-24]。国内外对紫苏籽的利用以提取油脂为主,关于其他方面的研究尚少。紫苏粕是紫苏籽榨油后的固体残留物,从紫苏粕中提取类胡萝卜素可大大提高紫苏利用的附加值。笔者研究紫苏粕中类胡萝卜素的提取工艺,旨在促进紫苏粕资源的综合利用。

收稿日期:2011-06-29

基金项目:重庆工商大学博士科研启动基金(1319-31994603)

作者简介:朱建飞(1979-),男,湖北武汉人,博士,讲师,主要从事农产品深加工及综合利用研究, zhujf@sina.cn

1 材料与方法

1.1 材料

紫苏粕由成都金达林苏麻生物科技有限公司提供;甲醇、丙酮、石油醚购于成都市科龙化工试剂厂;环己烷购于国药集团化学试剂有限公司;乙酸乙酯购于重庆川东化工(集团)有限公司。以上试剂均为分析纯。

主要仪器和设备:HHS-4S型电子恒温不锈钢水浴锅,金坛市杰瑞尔电器有限公司产品;SHZ-D循环水式真空泵,巩义市英峪仪器厂产品;722型分光光度计,上海舜宇恒平科学仪器有限公司产品;AL204型分析天平,梅特勒-托利多公司产品;TDZ5-WS型多管架平衡离心机,湖南沪康离心机有限公司产品。

1.2 方法

参照文献[20]的方法,取0.5 g紫苏粕放入具塞三角瓶中,注入浸提液,加塞放置于100 r/min恒温水浴振荡器中,在暗处浸提。浸提液用微过滤膜(有机系,直径50 mm,孔径0.4 μm)过滤,过滤后得到类胡萝卜素提取液。参照GB/T12291—1990测定类胡萝卜素的含量。

1.2.1 紫苏粕中类胡萝卜素提取的单因素试验

称取紫苏粕2 g,按固液比1:20加入40 mL有机溶剂于锥形瓶中,加塞后置于20 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中,浸提3 h。试验中注意避光避氧。将抽滤液定容到100 mL,在450 nm处测定吸光度值。按单因素试验方法,分别改变有机溶剂种类、有机溶剂混合比例、提取时间、提取温度、固液比,以确定紫苏粕中类胡萝卜素提取工艺参数的范围。

1.2.2 正交试验设计

根据单因素试验结果进行正交试验,确定提取紫苏粕中天然类胡萝卜素的最佳工艺参数。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 不同有机溶剂的提取效果

考察环己烷、石油醚、乙酸乙酯、丙酮和甲醇等5种不同极性提取剂对类胡萝卜素提取效果的影

响。紫苏粕中类胡萝卜素一般能溶于环己烷、乙酸乙酯、丙酮和甲醇,但极性不同的溶剂提取类胡萝卜素的效果有一定差异。类胡萝卜素的提取率同有机溶剂的极性成正比。从图1可知,在浸提固液比、提取温度和提取时间一定的情况下,极性最强的甲醇溶液对紫苏粕中类胡萝卜素提取的效果最好,其次是丙酮,乙酸乙酯、环己烷和石油醚等非极性有机溶剂提取紫苏粕中类胡萝卜素的效果不佳。

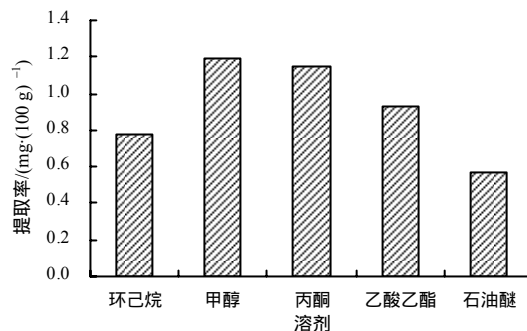


图1 不同溶剂下紫苏粕中类胡萝卜素的提取率

Fig.1 Carotenoids extraction rate of *Perilla meal* under different solvents

2.1.2 丙酮与甲醇不同体积比的提取效果

参考赵峰梅等^[25]的工艺,采用丙酮与甲醇的混合溶液(分别以体积比3:1、2:1、1:1、1:2、1:3混合,混合液体积为40 mL)作为紫苏粕类胡萝卜素的提取溶剂,其他提取条件不变。由图2可知,丙酮与甲醇体积比为2:1时,类胡萝卜素的提取率较高。

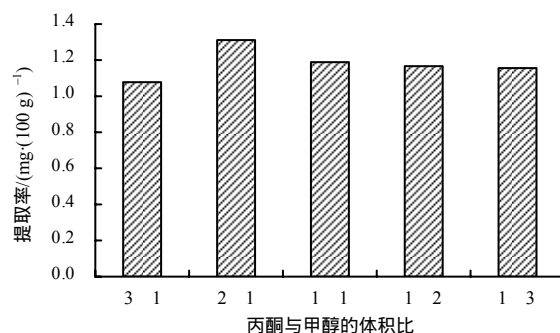


图2 丙酮与甲醇的不同体积比下紫苏粕中类胡萝卜素的提取率

Fig.2 Carotenoids extraction rate of *Perilla meal* under different volume ratios of methanol to acetone

2.1.3 不同固液比的提取效果

以体积比2:1的丙酮、甲醇混合液为溶剂,其他条件不变,研究不同固液比(紫苏粕质量与混合溶剂体积的比分别为1:10、1:20、1:30、1:40、

1:50)的提取效果。从图 3 可知,随着溶剂量的增加,类胡萝卜素的提取率也逐渐增加。当固液比为 1:40 时,紫苏粕中类胡萝卜素的提取率较高。进一步增加溶剂用量,类胡萝卜素的提取率趋于恒定,所以,适宜固液比为 1:40,即提取 2 g 紫苏粕的适宜混合溶剂(体积比 2:1 的丙酮、甲醇混合液)体积为 80 mL。

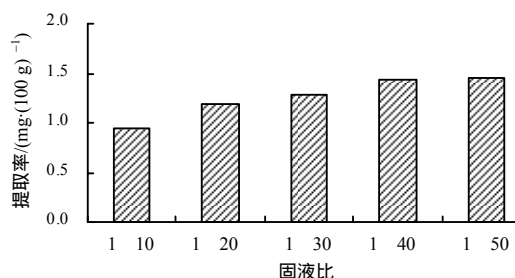


图 3 不同固液比下紫苏粕中类胡萝卜素的提取率

Fig.3 Carotenoids extraction rate of *Perilla* meal under different ratio of solid to liquid

2.1.4 不同提取时间的提取效果

分别将 2 g 紫苏粕加入到 80 mL 体积比 2:1 的丙酮与甲醇混合液中,于 20 ℃ 分别浸提 2、4、6、8、10 h,考察提取时间对类胡萝卜素提取效果的影响。由图 4 可知,浸提时间在 6 h 内,随浸提时间的延长,提取率增大;进一步延长浸提时间,提取率下降。原因是类胡萝卜素的稳定性较差,时间过长不利于色素的提取,所以,浸提时间以 6 h 左右为宜。

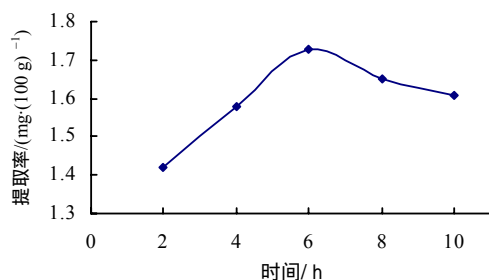


图 4 不同提取时间下紫苏粕中类胡萝卜素的提取率

Fig.4 Carotenoids extraction rate of *Perilla* meal under different time

2.1.5 不同浸提温度的提取效果

分别将 2 g 紫苏粕加入到 80 mL 体积比 2:1 的丙酮与甲醇混合液中,分别于 20、30、40、50、60 ℃ 浸提 6 h,考察浸提温度对类胡萝卜素提取效果的影响。从图 5 可知,50 ℃ 时的提取效果较好,温度过高、过低都不理想。这是因为温度过高导致提取液中易挥发组分挥发,也使提取的类胡萝卜素受热降解;温度过低则提取不完全,故提取温度以

50 ℃ 为宜。

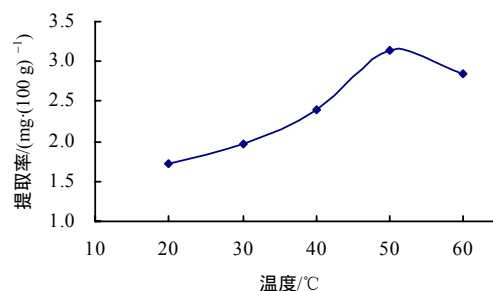


图 5 不同浸提温度下紫苏粕中类胡萝卜素的提取率

Fig.5 Carotenoids extraction rate of *Perilla* meal under different temperature

2.2 正交试验结果

根据单因素试验结果,选择固液比、提取温度、浸提时间进行三因素三水平正交试验(表 1)。

表 1 紫苏粕中类胡萝卜素提取正交试验的因素和水平

Table 1 Factors and levels in orthogonal test for the extraction of carotenoids from *perilla* meal

水平	因素		
	A(固液比)	B(提取温度/℃)	C(提取时间/h)
1	1:30	30	4
2	1:40	40	6
3	1:50	50	8

由表 2 极差分析可知,各因素对紫苏粕中类胡萝卜素提取效果的影响从大到小依次为提取温度、提取时间、固液比。各因素的最佳组合为 $A_3B_3C_3$,即固液比为 1:50,浸提温度为 50 ℃,浸提时间为 8 h。方差分析结果(表 3)表明,浸提温度对紫苏粕类胡萝卜素的提取率有极显著影响($P < 0.01$),浸提时间有显著影响($P < 0.05$),固液比的影响不显著($P > 0.05$)。

表 2 紫苏粕中类胡萝卜素提取的正交试验结果

Table 2 Results of the orthogonal test for the extraction of carotenoids from *Perilla* meal

试验号	A	B	C	吸光度值	类胡萝卜素提取率/(mg·(100 g) ⁻¹)
1	1	1	1	0.084	1.680
2	1	2	2	0.111	2.220
3	1	3	3	0.168	3.360
4	2	1	2	0.092	1.840
5	2	2	3	0.135	2.700
6	2	3	1	0.147	2.940
7	3	1	3	0.108	2.160
8	3	2	1	0.107	2.140
9	3	3	2	0.163	3.260
K_1	7.260	5.680	6.760		
K_2	7.480	7.060	7.320		
K_3	7.560	9.560	8.220		
$K_1/3$	2.420	1.893	2.253		
$K_2/3$	2.493	2.353	2.440		
$K_3/3$	2.520	3.187	2.740		
R	0.100	1.293	0.487		

表3 紫苏粕中类胡萝卜素提取正交试验各因素的方差分析结果

Table 3 Variance analysis of factors in the orthogonal test for the extraction of carotenoids from <i>Perilla</i> meal					
方差来源	自由度	离均差平方和	均方和	F 值	P 值
固液比	2	0.018	0.009	0.99	0.503 6
提取温度	2	2.602	1.301	138.74	0.007 2
提取时间	2	0.370	0.185	19.77	0.048 2

3 结论与讨论

本研究结果表明,紫苏粕中类胡萝卜素的最佳提取工艺条件为:丙酮与甲醇的体积比为2:1,固液比为1:50,浸提温度为50℃,浸提时间为8h。经验证,在此条件下类胡萝卜素的提取率为4.0 mg/(100 g)。本试验中紫苏粕中类胡萝卜素的提取率较低,低于紫苏叶类胡萝卜素的提取率^[26]。这可能是高温榨油处理导致了紫苏粕中类胡萝卜素的大量损失。未榨油的紫苏籽中类胡萝卜素的提取有待研究。

参考文献:

- [1] 赵文恩,韩雅珊.类胡萝卜素清除活性氧自由基的机理[J].化学通报,1999(4):25-27.
- [2] Ewen J G, Thorogood R, Karadas F, et al. Influences of carotenoid supplementation on the integrated antioxidant system of a free living endangered passerine, the hihi (*Notiomystis cincta*) [J]. Comp Biochem Phys A, 2006, 143(2): 149-154.
- [3] Zanfini A, Corbini G, Ros C L, et al. Antioxidant activity of tomato lipophilic extracts and interactions between carotenoids and α -tocopherol in synthetic mixtures[J]. LWT-Food Sci Technol, 2010, 43: 67-72.
- [4] Lee D K, Grantham R N, Mannion J D, et al. Carotenoids enhance phosphorylation of Akt and suppress tissue factor activity in human endothelial cells[J]. J Nutr Biochem, 2006, 17(11): 780-786.
- [5] Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids[J]. BBA-Mol Basis Dis, 2005, 1740(30): 101-107.
- [6] Aruna G, Baskaran V. Comparative study on the levels of carotenoids lutein, zeaxanthin and β -carotene in Indian spices of nutritional and medicinal importance[J]. Food Chem, 2010, 123(2): 404-409.
- [7] 刘良忠,张民,王海滨,等.天然红心鸭蛋中的类胡萝卜素及对S180肿瘤抑制作用的初步研究[J].食品科学,2003,24(11):133-136.
- [8] Antunes LM, Pascoal LM, Bianchi ML, et al. Evaluation of the clastogenicity and anticlastogenicity of the carotenoid bixin in human lymphocyte cultures[J]. Mutat Res-Gen Tox En, 2005, 585(1/2): 113-119.
- [9] Wang C J, Chou M Y, Lin J K. Inhibition of growth and development of the transplantable C-6 glioma cells inoculated in rats by retinoids and carotenoids[J]. Cancer Lett, 1989, 48(2): 135-142.
- [10] Okuzumi J, Nishino H, Murakoshi M, et al. Inhibitory effects of fucoxanthin, a natural carotenoid, on N-myc expression and cell cycle progression in human malignant tumor cells[J]. Cancer Lett, 1990, 55(1): 75-81.
- [11] Semba R D, Lauretani F, Ferrucci L. Carotenoids as protection against sarcopenia in older adults[J]. Arch Biochem Biophys, 2007, 458(2): 141-145.
- [12] Tapiero H, Townsend D M, Tew K D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies[J]. Biomed Pharmacother, 2004, 58(2): 100-110.
- [13] Semba R D, Lauretani F, Ferrucci L. Carotenoids as protection against sarcopenia in older adults[J]. Arch Biochem Biophys, 2007, 458(2): 141-145.
- [14] 卢红梅,梁逸曾.高效液相色谱法测定食物中的类胡萝卜素[J].色谱,2005,23(1):57-62.
- [15] 惠伯棣,张西,文镜.反相C30柱在HPLC分析类胡萝卜素中的应用[J].食品科学,2005,26(1):264-270.
- [16] 刘云,王保健,林亲雄,等.油菜籽中天然类胡萝卜素的提取工艺研究[J].食品工业科技,2009,30(2):234-236.
- [17] Gu Z X, Chen D M, Han Y B, et al. Optimization of carotenoids extraction from Rhodobacter sphaeroides[J]. LWT-Food Sci Technol, 2008, 41: 1082-1088.
- [18] 惠伯棣.类胡萝卜素化学及生物化学[M].北京:中国轻工业出版社,2005:267-269.
- [19] 范立梅.类胡萝卜素的生物学功能[J].生物学通报,2001,36(4):10.
- [20] 王业勤,李勤生.天然类胡萝卜素:研究进展,生产,应用[M].北京:中国医药科技出版社,1997:1-66,142-174,220-228,250-309.
- [21] Nitta M, Lee J, Kang C, et al. The distribution of *Perilla* species [J]. Genet Resour Crop Ev, 2005, 52: 797-804.
- [22] 余华.对紫苏资源开发利用的研究[J].四川食品与发酵,2001(3):32-34.
- [23] 余大书,刘志刚,韩杰才.紫苏油抗氧化性研究[J].哈尔滨工业大学学报,2001,33(5):658-660.
- [24] 刘大川,王静,苏望懿,等.紫苏植物的开发研究[J].中国油脂,2001,26(5):7-9.
- [25] 赵峰梅,赵春贵,赵邑,等.光合细菌ZY2159菌株发酵生产类胡萝卜素研究[J].食品科学,2007,28(6):209-212.
- [26] 刘大川,王静.紫(白)苏叶类胡萝卜素提取工艺的研究[J].中国粮油学报,2002,17(1):54-58.

责任编辑:王赛群