

响应面法优化微波辅助提取 辣椒红色素的工艺研究

邓祥元, 刘约翰, 高 坤, 孙俊龙

(江苏科技大学 生物与化学工程学院 江苏 镇江 212018)

摘要: 以红辣椒为原料, 丙酮为提取剂, 利用微波辅助有机溶剂法提取辣椒红色素, 进而通过单因素试验和响应面法试验分析微波功率、微波温度、微波时间等工艺参数对提取效率的影响, 并优化提取工艺。结果表明, 应用微波辅助有机溶剂法提取辣椒红色素的工艺路线是正确可行的, 所得产品的光谱特性及特征吸收峰均与辣椒红色素标准图谱基本吻合; 微波辅助有机溶剂法提取辣椒红色素的最优工艺条件为: 以丙酮为提取剂, 微波功率为 105 W, 微波温度为 42 °C, 微波时间为 2 min。在此最优工艺条件下, 所得辣椒红色素的吸光度值为 0.631。

关键词: 辣椒红色素; 提取工艺; 响应面法; 微波辅助有机溶剂法

中图分类号: TS202.3 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)02-0382-06

Optimizing Microwave-assisted Extraction Process for Paprika Red Pigments Using Response Surface Methodology

DENG Xiang-yuan, LIU Yue-han, GAO Kun, SUN Jun-long

(College of Biotechnology and Chemical Engineering, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212018, China)

Abstract: Hot red peppers are used as raw the material, paprika red pigments were prepared with acetone using the method of microwave-assisted organic solvent extraction. The influences of process parameters, including microwave output power, microwave temperature and microwave time on extraction efficiency of paprika red pigments were compared and analyzed; moreover, the extraction process was optimized via single-factor tests and response surface experiments. The results showed that the method of microwave-assisted organic solvent extraction was an effective and practicable one for paprika red pigments extraction, and the spectral properties and characteristic absorption peak of paprika red pigments were similar to those of standard compound. In addition, the most suitable conditions for paprika red pigments extraction were as follows: acetone was used as the extraction solvent, microwave output power was 105 W, microwave temperature was 42 °C and microwave time was 2 min. When the optimal conditions were met, the absorbance value of paprika red pigments reached 0.631.

Key words: paprika red pigments; extraction process; response surface methodology; microwave-assisted organic solvent extraction

收稿日期: 2011-10-19 修回日期: 2012-01-10

基金项目: 江苏省自然科学基金(BK2011493)和江苏科技大学引进人才科研启动基金(35290902)

作者简介: 邓祥元(1982—), 男, 讲师, 博士, 主要从事生物资源工程研究, E-mail: dengxy2009@126.com。

食用色素是食品工业中不可缺少的原料之一,分为合成色素和天然色素两大类^[1],但合成色素具有一定的毒性与不良影响,而天然色素则具有天然和健康属性,其种类和市场需求量大幅增加^[2]。辣椒红色素是从辣椒中提取出来的四萜类橙红色天然色素,属类胡萝卜素中的复烯酮类,为脂溶性色素^[3-4],其主要成分为辣椒红素和辣椒玉红素,两者占色素总量的50%~60%^[5],此外还有 β -胡萝卜素和玉米黄质等具有VA活性的物质^[6],所以辣椒红色素不仅色泽鲜艳,着色力强,保色效果好,可有效延长仿真食品的货架期^[7];且安全性高,具有营养保健功效,并被现代科学证明具有抗癌功能^[8],现已被广泛应用于食品、饮料、饲料、保健药品和化妆品等领域^[9],是目前国际上公认最好的销量最大的红色素^[10]。

目前,辣椒红色素的提取方法主要有油溶法、有机溶剂法和超临界萃取法^[11]。其中油溶法因为油与色素分离困难,所以难以获得高浓度的色素^[12];超临界萃取法因操作复杂、设备昂贵、成本较高等因素^[13],使其工业开发难度较大;而有机溶剂法则研究较多,并辅助了微波提取技术^[14]、超声波提取技术^[15]或分子蒸馏提纯技术^[16]等来提高效率和纯度,其中微波辅助提取法,与传统提取方法相比具有穿透力强、选择性高、提取时间短、节约能源等优点,是天然产物提取中一种非常有发展潜力的新型技术^[17-18],因此受到众多研究者的青睐。本研究运用微波辅助有机溶剂法从天然红辣椒中提取辣椒红色素,并通过单因素试验和响应面法获得其提取工艺的最优工艺条件。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

鲜辣椒: 小红尖椒(产地为四川省成都市)购自江苏省镇江市大润发超市,摘蒂去籽后,于60℃烘箱中烘干,粉碎,过40目标准筛后,避光保存备用。**辣椒红色素标准品(纯度 $\geq 98\%$):** 购自北京百灵威科技有限公司。所用试剂均为分析纯试剂: 购自上海国药集团化学试剂有限公司。美国培安 Mars 高通量密闭微波消解系统; 上海美谱达 UV-1800PC 紫外-可见分光光度计; 上海青浦旋转蒸发仪; 鼓风干燥箱; 植物粉碎机; 恒温水浴锅; 电子分析天平。

1.2 实验方法

1.2.1 辣椒红色素提取试验流程

本研究采用微波辅助有机溶剂法提取辣椒红色素。称取1g辣椒粉,在微波功率为90W、温度为40℃的条件下用丙酮提取2min后,用旋转蒸发仪浓缩浸提液,并在干燥箱将该浸提液进一步烘干至恒重,得到辣椒红色素产品。

1.2.2 辣椒红色素的光谱特性

本研究所提取的辣椒红色素主要是由辣椒红素和辣椒玉红素组成的混

合物。准确称取0.02g辣椒红色素产品,用丙酮稀释定容至100mL,充分摇匀后,以丙酮为参比液,于紫外-可见分光光度计上扫描,测定其最大吸收峰,结果如图1所示。由图1可知,辣椒红色素在400~560nm间有一最大吸收峰(位于460nm处),这与前人研究结果一致^[19]。这主要是由于辣椒红色素分子中有多个共轭双键结构,使其最大吸收峰在可见光区域内,此外,辣椒红色素分子上的共轭氨基,使其吸收光谱向长波方向移动^[20]。因此,试验的后续工作均以460nm作为辣椒红色素测定时的波长。

1.2.3 单因素试验 辣椒粉碎后呈现出凹凸不平的纤维组织结构,其色素及脂溶性成分即存在于该纤维组织中,因此采用传统的有机溶剂法需要耗费大量的有机溶剂和时间才能提取完全^[21]。而微波辅助法是利用微波穿透力强的特点,可作用至物料内部,加速目标物质的扩散,还可增大其在提取剂中的溶解度,故可大大缩短提取时间,减少溶剂使用量,降低生产成本^[22-23]。本研究以1g辣椒粉为原料,分析不同微波功率、微波温度和微波时间等工艺参数对辣椒红色素提取效率的影响。

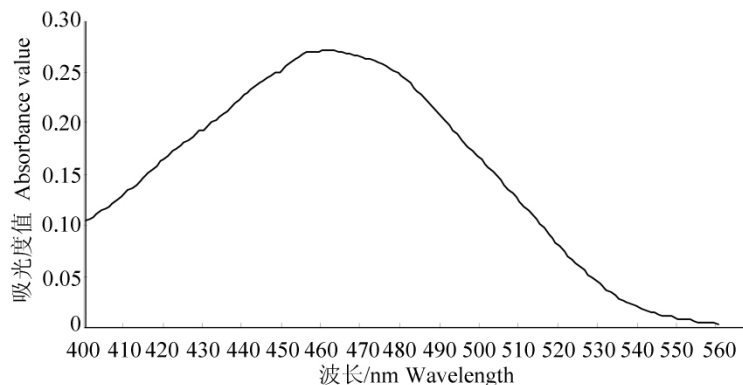


图1 辣椒红色素的光谱特性及最大吸收峰

Fig. 1 The spectral properties and maximum absorption peak of paprika red pigments

1.2.4 响应面试验 本研究在单因素试验的基础上,以 1 g 辣椒粉为原料,以提取物中辣椒红色素的吸光度值(OD_{460})为考核指标,进一步采用 Box - Behnken 中心组合设计原理^[24-25]优化显著影响辣椒红色素提取效率的 3 个因素:微波功率(X_1)、微波温度(X_2)和微波时间(X_3),以 -1、0、+1 代表其水平(表 1)。利用统计软件(Design Expert 7.1.6)对试验数据进行分析,获得影响因素一次效应、二次效应及其交互效应的关联方程,并进一步优化微波辅助提取辣椒红色素的工艺条件。

通过最小二乘法拟合的二次多项方程可表示为: $Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i < j=1}^3 \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2$,式中 Y 为预测响应值,在本研究中以辣椒红色素的吸光度值(OD_{460})来表示, X_i 和 X_j 为自变量编码值, β_0 为常数项, β_i 为线性系数, β_{ij} 为交互项系数, β_{ii} 为二次项系数。

表 1 微波辅助提取辣椒红色素工艺的 Box - Behnken 试验因素水平设计

Tab.1 Factor levels design of Box - Behnken experiments for optimizing microwave - assisted extraction process of paprika red pigments

自变量 Independent variables	代码 Codes	编码水平 Code levels		
		- 1	0	1
微波功率/W Microwave output powers	X_1	60	90	120
微波温度/℃ Microwave temperatures	X_2	35	40	45
微波时间/min Microwave time	X_3	1	2	3

1.2.5 提取效率的测定 根据朗伯 - 比耳定律,溶液的吸光度值与溶液中溶质的量成正比。因此,可通过比色法测定辣椒红色素在 460 nm 处的吸光度值,并以吸光度值的变化来表示辣椒红色素含量的变化情况,进而优化辣椒红色素的提取工艺条件。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果与讨论

2.1.1 微波功率对辣椒红色素提取效率的影响 取 1 g 辣椒粉,按 1:8 (g/mL) 的料液比加入提取剂,设定 30、60、90、120 和 150 W 微波消解处理 2 min 后,测定辣椒红色素的吸光度值(OD_{460}),以此来研究不同微波功率对辣椒红色素提取效率的影响,结果如图 2 所示。由图 2 可知,随着微波功率的增加,辣椒红色素的提取率逐渐升高,当微波功率为 90 ~ 120 W 时提取效率最高,而当微波功率超过 120 W 时,提取率开始下降。推测其可能是由于微波功率的增大,导致了目标分子的震动加快,从而使目标成分快速溶出,但当微波功率进一步增大时,其强烈的震动效应可能造成有效成分结构的破坏,使提取率降低。因而在进行微波功率响应面试验时,选择 60 W、90 W 和 120 W 这 3 个水平是比较合理的。

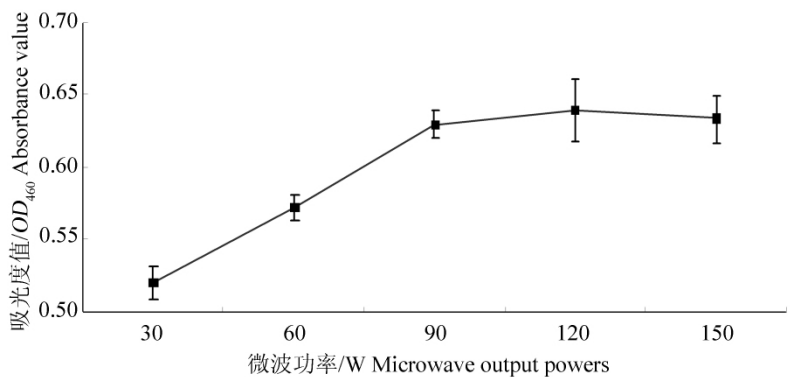


图 2 微波功率对辣椒红色素提取效率的影响

Fig.2 Effect of different microwave output powers on extraction efficiency of paprika red pigments

2.1.2 微波温度对辣椒红色素提

取效率的影响 本研究首先比较了 30、35、40、45 和 50 ℃ 等不同微波温度对辣椒红色素提取效率的影响,结果如图 3 所示。由图 3 可知,提高温度可使提取率升高,当温度在 40 ~ 45 ℃ 时提取率达到最大值,而更高的温度却使提取率下降。这是由于温度越高,分子热运动越剧烈,传质速率越大,提取效率越高;但当微波温度超过某一阈值后,再升高温度,会对辣椒红色素产生较大的破坏作用,而且还会增加能耗。因此在响应面试验中选择了 35 ℃、40 ℃ 和 45 ℃ 为微波温度的 3 个水平。

2.1.3 微波时间对辣椒红色素提取效率的影响 本研究设定 1、2、4、6、8 min 等 5 个微波时间点,分析不同微波时间对辣椒红色素提取效率的影响,结果如图 4 所示。由图 4 可知 随着微波时间的延长 提取率迅速增大,2 min 左右到达最大值,说明微波处理加速了辣椒红色素的浸出。在提取伊始,两相(提取剂与辣椒粉)间的浓度差较大,可使辣椒红色素快速溶解并扩散至提取剂;随着辣椒红色素的不断溶出,扩散速度开始变慢;最后两相间浓度达到平衡,提取过程基本结束,再延长微波时间可能会造成辣椒红色素的损失、杂质的溶出及溶剂的挥发等。故选择 1、2 和 3 min 为微波时间响应面试验的 3 个水平是比较合理的。

2.2 响应面试验结果与讨论

2.2.1 响应面分析及试验结果

在单因素试验的基础上,采用三因素三水平的响应面法优化辣椒红色素的提取工艺。选取的试验因素及水平见表 1,响应面试验设计方案和结果见表 2。由表 2 得知 本次

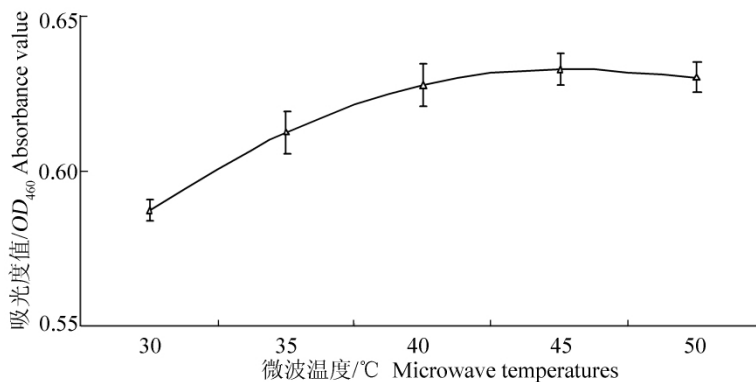


图 3 微波温度对辣椒红色素提取效率的影响

Fig. 3 Effect of different microwave temperatures on extraction efficiency of paprika red pigments

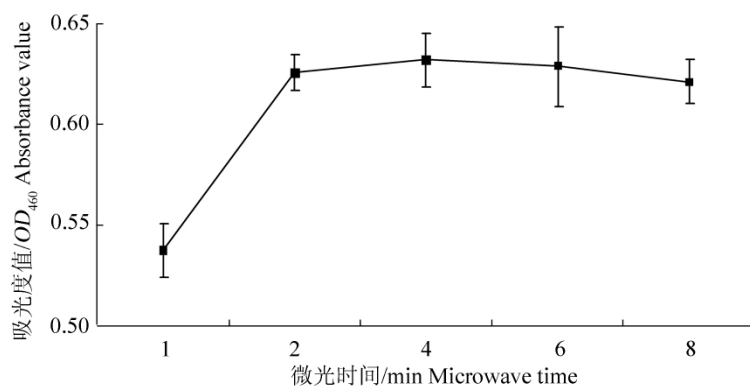


图 4 微波时间对辣椒红色素提取效率的影响

Fig. 4 Effect of different microwave time on extraction efficiency of paprika red pigments

表 2 响应面试验设计方案及结果

Tab. 2 Experimental design and corresponding results for response surface experiments

试验序号 Test code	微波功率/W Microwave output powers	微波温度/°C Microwave temperatures	微波时间/min Microwave time	吸光度值/OD ₄₆₀ Absorbance values
1	60	35	2	0.544
2	90	40	2	0.621
3	90	40	2	0.632
4	120	45	2	0.627
5	60	45	2	0.554
6	90	35	1	0.521
7	120	40	1	0.568
8	90	40	2	0.631
9	60	40	1	0.562
10	90	35	3	0.558
11	60	40	3	0.548
12	90	45	1	0.566
13	120	40	3	0.582
14	120	35	2	0.556
15	90	45	3	0.601
16	90	40	2	0.622
17	90	40	2	0.616

Box – Benhnken 试验设计方案共有 17 个试验点,其中 12 个为析因试验,其余 5 个为中心试验(用于估算实验误差)。

2.2.2 回归方程的建立与方差分析 利用 Design Expert 7.1.6 软件通过逐步回归拟合表 2 中的试验数据,得到辣椒红色素提取率对微波功率、微波温度和微波时间 3 个因素的二次多项回归方程为:

$$\text{辣椒红色素的吸光度值}(OD_{460}) = 0.62 + 0.016 \times \text{微波功率} + 0.021 \times \text{微波温度} + 9 \times 10^{-3} \times \text{微波时间} + 0.015 \times \text{微波功率} \times \text{微波温度} + 7 \times 10^{-3} \times \text{微波功率} \times \text{微波时间} - 5 \times 10^{-4} \times \text{微波温度} \times \text{微波时间} - 0.025 \times \text{微波功率}^2 - 0.029 \times \text{微波温度}^2 - 0.035 \times \text{微波时间}^2。$$

表 3 回归方程的方差分析及其系数的显著性检验

Tab.3 Analysis of variance for the fitted quadratic equation and significance test of the regression coefficients in it

方差来源 Variance sources	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 Value of F	P 值($F > F_{\alpha}$) Value of P	显著性 Significance
模型 Model	0.020	9	2.185×10^{-3}	13.95	0.001 1	**
微波功率 Microwave output powers	1.953×10^{-3}	1	1.953×10^{-3}	12.47	0.009 6	**
微波温度 Microwave temperatures	3.570×10^{-3}	1	3.570×10^{-3}	22.79	0.002 0	**
微波时间 Microwave time	6.480×10^{-4}	1	6.480×10^{-4}	4.14	0.081 4	
微波功率 × 微波温度 Microwave output powers × Microwave temperatures	9.302×10^{-4}	1	9.302×10^{-4}	5.94	0.045 0	*
微波功率 × 微波时间 Microwave output powers × Microwave time	1.960×10^{-4}	1	1.960×10^{-4}	1.25	0.300 2	
微波温度 × 微波时间 Microwave temperatures × Microwave time	1.000×10^{-6}	1	1.000×10^{-6}	6.384×10^{-3}	0.938 6	
微波功率 ² Microwave output powers ²	2.700×10^{-3}	1	2.700×10^{-3}	17.24	0.004 3	**
微波温度 ² Microwave temperatures ²	3.498×10^{-3}	1	3.498×10^{-3}	22.33	0.002 1	**
微波时间 ² Microwave time ²	4.889×10^{-3}	1	4.889×10^{-3}	31.21	0.000 8	**
残差 Residual	1.096×10^{-3}	7	1.566×10^{-4}			
失拟项 Lack of fit	9.073×10^{-4}	3	3.024×10^{-4}	6.39	0.052 5	
误差项 Pure error	1.892×10^{-4}	4	4.730×10^{-5}			
总和 Cor total	0.021	16				

$R^2 = 0.947 2$; Adjusted $R^2 = 0.879 3$; Adeq Precision = 9.743

** 表示 0.01 水平显著; * 表示 0.05 水平显著。

** significant at 0.01 level; * significant at 0.05.

二次多项回归方程的方差分析见表 3。由表 3 可知,回归方程高度显著($P = 0.001 1 < 0.01$),失拟项不显著($P = 0.052 5 > 0.05$)以及 Adjusted $R^2 = 0.879 3$ 和 Adeq Precision = 9.743 远大于 4,可知回归方程拟合度和可信度均较高,可对辣椒红色素的提取率进行较好地预测。由回归方程系数显著性检验结果可知,方程的一次项微波功率和微波温度对辣椒红色素提取率的线性效应显著,而微波时间对其提取率没有显著影响(P 值大于 0.05);二次项微波功率²、微波温度²、微波时间² 对辣椒红色素提取率的曲面效应极显著;而交互项除微波功率 × 微波温度外均不显著;这些结果表明各因素对辣椒红色素提取

率的影响并不是简单的线性关系。

2.2.3 最优提取工艺条件 通过软件分析,得到微波提取辣椒红色素的最优工艺条件是微波功率为104.45 W,微波温度为42.46 ℃,微波时间为2.18 min。在此条件下,所得辣椒红色素的吸光度值为0.634(理论值)。根据上述最优工艺条件,并结合实际操作情况,将微波提取辣椒红色素的工艺条件修改为微波功率为105 W,微波温度为42 ℃,微波时间为2 min,在此条件下,实际测得的辣椒红色素吸光度值为0.631,与理论预测值间的误差在1%内,说明通过响应面法获得的二次多项方程可较好地预测微波辅助提取辣椒红色素的工艺。

3 结 论

本研究以红辣椒为原料,丙酮为提取剂,运用微波辅助有机溶剂法提取辣椒红色素,并利用单因素试验和响应面法优化了微波辅助提取辣椒红色素的工艺条件,得出以下结论:

(1) 以我国资源丰富的农产品红辣椒为原料,应用微波辅助有机溶剂法提取辣椒红色素的工艺路线是正确可行的,且提取时间短。此外,所提取产品的光谱特性及特征吸收峰均与辣椒红色素标准图谱基本吻合。

(2) 运用微波辅助法提取辣椒红色素的最优工艺条件为:微波功率为105 W,微波温度为42 ℃,微波时间为2 min。在此最优工艺条件下,所得辣椒红色素的吸光度值为0.631。

与传统有机溶剂提取法相比,微波辅助法具有提取时间短,提取温度低,工艺简单,成本低廉,产品质量高等优点,可供工业生产辣椒红色素参考。

参考文献:

- [1]张玲,高飞虎,尹旭敏,等.辣椒红色素的提取及纯化技术研究进展[J].南方农业,2009,3(6):88-90.
- [2]邓祥元,王淑军,李富超,等.天然色素的资源和应用[J].中国调味品,2006,31(10):49-53.
- [3]武占省,江英,赵晓梅.天然辣椒红色素的研究进展[J].中国食品添加剂,2004,15(6):22-25.
- [4]张继民,胡林华.辣椒色素提取工艺及稳定性[J].安徽机电学院学报,1999,14(1):21-25.
- [5]张甫生,庞杰,徐秋兰,等.辣椒红色素的研究进展[J].辣椒杂志,2003,26(2):37-41.
- [6]章银良,张中义,王德亮.影响辣椒红色素稳定性因素的分析[J].广州食品工业科技,1997,13(1):5-6.
- [7]张甫生,庞杰,李文东.辣椒红色素在仿真食品中的应用[J].食品与机械,2002,18(5):34-35.
- [8]李巧玲.辣椒中有效成分的提取及利用[J].山西食品工业,2003(3):30-32.
- [9]刘思杨,贺稚非,贾洪峰.辣椒红色素的研究进展[J].四川食品与发酵,2005,41(3):17-22.
- [10]周雯雯,李湘洲,李炎强.辣椒红色素的国内研究进展[J].云南化工,2005,32(5):52-54.
- [11]张慧敏.辣椒红色素和辣椒碱的研究进展[J].云南化工,2009,36(1):66-69.
- [12]刘蓉,刘志敏.辣椒红色素提取方法研究进展[J].中国食品添加剂,2006,17(3):50-53.
- [13]尚雪波.辣椒红色素提取工艺的改进[J].湖南农业科学,2011,40(5):92-94.
- [14]陈小全,周秀艳,李保庆,等.微波辅助提取辣椒红色素[J].食品研究与开发,2006,27(10):92-93.
- [15]王博,王建中,赵良成,等.超声波提取辣椒红色素工艺的响应面法优化[J].中国农学通报,2008,24(6):96-101.
- [16]畅功民,陕方,刘森,等.天然辣椒红色素提取精制工艺研究[J].山西农业科学,2001,29(2):70-73.
- [17]刘青梅,杨性民,邓红霞,等.采用微波技术提取紫菜多糖的工艺研究[J].农业工程学报,2005,21(2):153-156.
- [18]Song J Z, Mo S F, Yip Y K, et al. Development of microwave assisted extraction for the simultaneous determination of isoflavonoids and saponins in radix astragali by high performance liquid chromatography[J]. J Sep Sci, 2007, 30(6):819-824.
- [19]赵宁,王艳辉,马润宇.从干红辣椒中提取辣椒红色素的研究[J].北京化工大学学报,2004,31(1):15-17.
- [20]Hornero - Méndez D, Mínguez-Mosquera M I. Rapid spectrophotometric determination of red and yellow isochromic carotenoid fractions in paprika and red pepper oleoresins[J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(8):3584-3588.
- [21]陶莎,杨建华,薛文通,等.辣椒红色素的研究进展[J].食品工业科技,2008,29(8):307-309.
- [22]石国荣,饶力群.微波萃取技术在天然产物活性成分提取中的研究进展[J].化学与生物工程,2003,20(6):4-6.
- [23]范翠丽,李向东,王存连,等.辣椒红色素微波辅助萃取工艺及稳定性研究[J].安徽农业科学,2009,37(34):17085-17087.
- [24]李亚娜.响应面分析法优化羊栖菜多糖的提取工艺[J].华南理工大学学报,2004,32(11):29-31.
- [25]刘洋,赵谋明,杨宁.响应面分析法优化仙人掌多糖提取工艺的研究[J].食品与机械,2006,22(6):42-45.