

响应面法优化超声辅助 提取姜辣素的工艺

杨小敏, 刘建平, 李倩倩, 胡林

(华东交通大学 化学系 江西 南昌 330013)

摘要: 为优化生姜中姜辣素的超声辅助提取工艺, 对乙酸乙酯、提取温度、液料比、提取时间进行单因素试验的基础上, 运用 Box-Behnken 中心组合试验和响应面法考察液料比、提取温度和乙酸乙酯体积分数对姜辣素得率的影响。优化后的最佳提取工艺为: 液料比 19.3 mL/g, 提取温度 41.5 °C, 乙酸乙酯体积分数 91.5%。此条件下, 生姜中姜辣素得率为 22.982 mg/g, 说明用响应面法优化超声辅助提取生姜中姜辣素的工艺可行。

关键词: 姜辣素; 乙酸乙酯; 响应面; 超声辅助

中图分类号: TS209; S38 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2011)05-1012-05

Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction of Gingerol by Response Surface Method

YANG Xiao-min, LIU Jian-ping, LI Qian-qian, HU Lin

(Department of Chemistry, East China Jiaotong University, Nanchang 330013, China)

Abstract: In order to optimize the process of ultrasonic-assisted extraction of gingerol, the single factor test of ethyl acetate volume fraction, extraction temperature, liquid-solid ratio, extraction time were first conducted. Then, the effects of liquid-solid ratio, extraction temperature and ethyl acetate volume fraction on extraction yield were studied by Box-Behnken test design and response surface method. The optimal gingerol extraction process is: liquid to solid ratio 19.3 mL/g, extraction temperature 41.5 °C, ethyl acetate volume fraction 91.5%. The gingerol extraction yield is 22.982 mg/g. Therefore, the process of ultrasonic-assisted extraction of gingerol optimized by response surface method is very reliable.

Key words: gingerol; ethyl acetate; response surface method; ultrasonic-assisted

生姜是姜科植物新鲜根状茎, 其不仅是人们日常生活中不可缺少的调味品, 也是一味常用的中药。现代医学研究表明, 生姜中的有效成份主要包括姜辣素和姜精油^[1-2], 其中姜辣素不仅是生姜特征辛辣风味的主要呈味物质, 也是生姜生物活性作用的主要功能因子。在调味品、保健食品、药品、化妆品等行业有着广泛的应用, 具有巨大的开发应用价值和良好的社会效益。

临床研究证实, 姜辣素具有很强的抗氧化、降血脂、保肝利胆、抗衰老、抗肿瘤等作用^[3-4], 因此从生姜中提取姜辣素的研究非常广泛。目前生姜中姜辣素的提取方法主要有溶剂浸提法^[5]、超声波法^[6-7]、微波法^[8]和超临界 CO₂ 萃取法^[9-11]。其中溶剂浸提法对设备要求低、操作简便、工艺灵活等特点而得

收稿日期: 2011-07-24 修回日期: 2011-09-01

基金项目: 国家自然科学基金(30760137)和华东交通大学校立基金(10JC05)

作者简介: 杨小敏(1973—), 女, 讲师, 主要从事农产品资源开发与利用研究, E-mail: yxm1205@sohu.com。

到了广泛采用。姜辣素具有亲脂性,易溶于极性较低的有机溶剂中,目前多采用甲醇、乙醇为浸提剂^[12-13]。甲醇毒性较大,乙醇无毒,但易于姜辣素中的有效成分形成氢键,后期处理困难。而乙酸乙酯毒性小,且可用于食品添加剂的提取剂,本工作拟用乙酸乙酯为提取剂,以超声波为辅助手段,提高得率,缩短提取时间。在单因素试验结果分析的基础上,通过响应面法对工艺进行优化,确定最佳提取工艺,为姜辣素的深入开发研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

生姜: 购于当地菜市场,洗净后切成 1 mm 左右薄片,60 °C 干燥至恒重,粉碎并过 60 目筛,备用。

试剂: 香兰素(分析纯),国药集团化学试剂有限公司;乙酸乙酯(分析纯),上海第一化学厂;其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

DL-5-B 型离心机,上海安亭科学仪器厂;KQ50DB 型超声波发生器,昆山市超声仪器有限公司;Lambda35 型紫外-可见分光光度计,美国 PE 公司;AB204-N 型电子天平,瑞士 Mettler-Toledo 公司;DHG-9101 型电热鼓风干燥箱,上海光都仪器设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 超声辅助提取姜辣素 准确称取 0.5 g 生姜粉于 50 mL 锥形瓶中,依单因素试验条件,加入提取剂乙酸乙酯,改变提取温度、超声功率和提取时间,然后在 3 600 r/min 离心 10 min。取上清液,过滤浓缩,得浓缩姜油。

1.3.2 姜辣素得率的检测方法 以香兰素为标准品,以乙酸乙酯为定容剂,配制浓度分别 4, 8, 12, 16, 20 μg/mL 的香兰素乙酸乙酯溶液,于 274.3 nm 波长处测定吸光度,绘制标准曲线为: $y = -0.02256 + 0.07694x$, 相关性系数 $R^2 = 0.9996$ 。表明香兰素的浓度在 4 ~ 20 μg/mL 的范围内线性关系良好。

将浓缩姜油用乙酸乙酯定容至 50 mL,准确吸取 5.0 mL 于 50 mL 容量瓶中,用乙酸乙酯定容至刻度,摇匀。以乙酸乙酯为参比,在 274.3 nm 波长处测定吸光度,通过回归方程和以下公式计算姜辣素得率 Y :

$$Y/(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{2.001 \times C \times N \times V_0 \times 10^{-3}}{M} \quad (1)$$

其中 2.001 为香兰素换算姜辣素系数^[14], C 为根据标准曲线计算出的香兰素浓度, μg/mL; N 为稀释倍数; V_0 为样品液总体积, mL; M 为生姜粉质量, g。

1.3.3 单因素试验 以乙酸乙酯体积分数、提取温度、液料比、提取时间、超声功率作为影响姜辣素得率的单因素条件。

1.3.4 响应面法优化提取条件 结合单因素试验结果,固定提取时间 15 min,选用液料比、提取温度和乙酸乙酯体积分数为自变量,根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理,以姜辣素得率为响应值,通过响应面法优化提取工艺。因素水平及编码见表 1。

表 1 试验因素与水平

Tab.1 Codes and levels of experimental factors

X_i 水平编码 Level code	因素 Factor		
	液料比 $x_1 / (\text{mL} \cdot \text{g}^{-1})$ liquid - solid ratio	提取温度 $x_2 / ^\circ\text{C}$ Extraction temperature	乙酸乙酯体积分数 $x_3 / \%$ Ethyl acetate volume fraction
-1	12	30	85
0	16	40	90
1	20	50	95

按方程 $X_i = (x_i - x_0) / \Delta x$ 对自变量进行编码(X_i 为自变量的编码值, x_i 为自变量的真实值, x_0 为试验中心点处自变量的真实值, Δx 为自变量的变化步长) $i = 1, 2, 3$ 。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 乙酸乙酯体积分数 在液料比 20 mL/g,提取温度 40 °C,提取时间 20 min 的条件下,研究乙酸乙酯体积分数从 75% ~ 100% 时对姜辣素得率的影响。结果如图 1 所示。从图 1 可以看出,当乙酸乙酯体积分数在 90% 以下时,随提取剂浓度的不断增加,姜辣素与提取剂的接触机会在逐渐增加,姜辣素的溶出率不断提高。当乙酸乙酯体积分数超过 90% 时,得率趋稳定。这是因为生姜中有机杂质种类多,溶解度范围大,随提取剂浓度的增加,细胞中色素、脂溶性成分的溶出不断增加,因此,选择乙酸乙酯体积分数为 90% 为响应面分析的中心值。

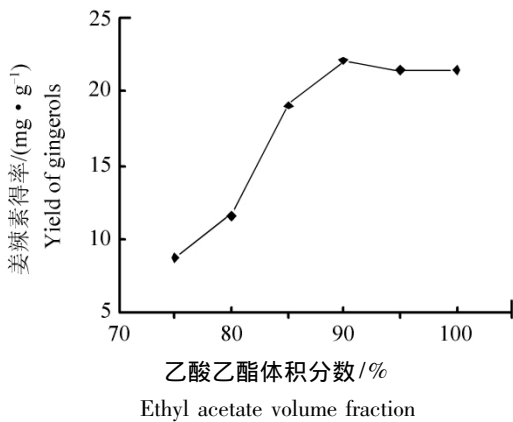


图 1 乙酸乙酯体积分数对姜辣素得率的影响

Fig. 1 Effect of ethyl acetate volume fraction on extraction yield of gingerols

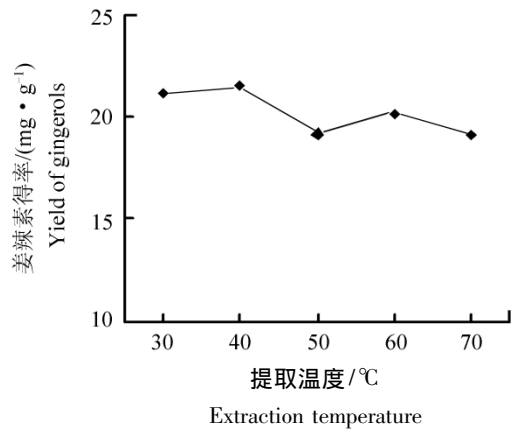


图 2 提取温度对姜辣素得率的影响

Fig. 2 Effect of extraction temperature on extraction yield of gingerols

2.1.2 提取温度 在液料比 20 mL/g,乙酸乙酯体积分数 100% ,提取时间 20 min 的条件下,研究提取温度为 30 ~ 70 °C 时对姜辣素得率的影响。从图 2 可见,当提取温度在 30 ~ 40 °C 时,提取率变化不大,当提取温度超过 50 °C 后,姜辣素中结构为 β - 羟基酮的姜酚不稳定,分解为姜烯酚,加之此时杂质溶出率增加,得率很低。提取温度超过 50 °C 时,细胞中生物碱会促进姜辣素的溶出,但分解氧化也会加快,导致得率没有 40 °C 时的高。因此,选择提取温度为 40 °C 作为响应面分析的中心值。

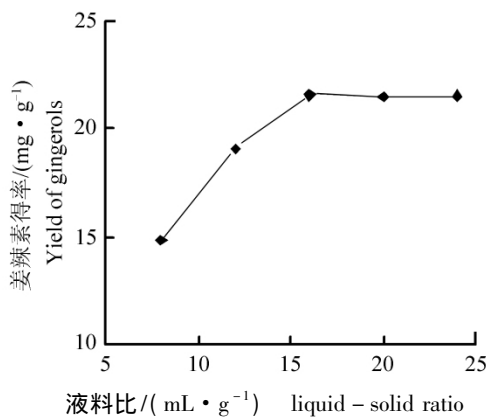


图 3 液料比对姜辣素得率的影响

Fig. 3 Effect of liquid - solid ratio on extraction yield of gingerols

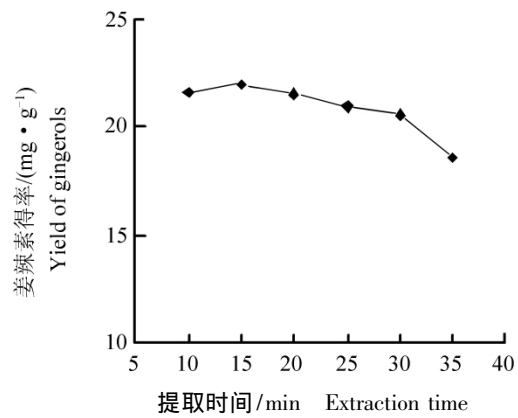


图 4 提取时间对姜辣素得率的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on extraction yield of gingerols

2.1.3 液料比 在乙酸乙酯体积分数 100% ,提取温度 40 °C,提取时间 20 min 的条件下,研究液料比从 8 ~ 24 mL/g 时对姜辣素得率的影响。从图 3 可以看出,姜辣素得率随液料比增加而增加,但液料比超过 16 mL/g 时,由于姜辣素的溶出率趋于饱和,随液料比增加姜辣素得率未明显增长,而且过高液相浓度会提高生产成本及后续处理的难度。因此,选用 16 mL/g 的液料比作为响应面分析的中心值。

2.1.4 超声提取时间 在乙酸乙酯体积分数 100% ,提取温度 40 °C ,液料比 20 mL/g 的条件下 ,研究超声提取时间为 10 ~ 35 min 时对姜辣素得率的影响。由图 4 可见 ,提取时间在 15 min 以内时 ,因生姜中姜辣素浓度高 ,渗透压大 ,姜辣素得率随提取时间增加而缓慢增加;随着提取时间的增加 ,生姜细胞中姜辣素浓度低 ,溶出速度变慢 ,同时在超声波高能量的作用下 ,姜辣素中不稳定成分也逐渐被破坏 ,导致姜辣素得率下降。综合考虑 ,增加提取时间对姜辣素的得率并不是一直有利 ,因此 ,在优化试验中 ,固定超声提取时间为 15 min。

2.2 响应面优化法提取工艺条件

2.2.1 响应面试验设计及结果 响应面优化的 Box - Behnken 中心组合试验方案及结果见表 2。以姜辣素得率 Y 为响应值 ,通过 Design Expert 8.0.4 软件(Stat - Ease , Inc. Minnesota , USA) 对试验数据进行回归分析 ,得到回归方程:

$$Y = 22.03 + 1.36 X_1 - 0.34 X_2 + 1.86 X_3 + 0.32 X_1 X_2 - 0.38 X_1 X_3 + 0.68 X_2 X_3 - 0.79 X_1^2 - 0.41 X_2^2 - 2.80 X_3^2 \quad (2)$$

表 2 响应面优化试验方案及结果

Tab. 2 Experiment design and results of response surface methodology

试验编号 No.	x_1	x_2	x_3	姜辣素得率/(mg · g ⁻¹) Yield of gingerols
1	16	40	90	22.007 4
2	16	40	90	21.827 3
3	20	40	95	21.431 6
4	16	30	85	18.049 3
5	16	50	85	15.228 1
6	20	50	90	22.076 7
7	12	40	85	14.689 6
8	12	30	90	20.212 3
9	16	50	95	20.948 1
10	12	50	90	19.667 1
11	20	40	85	19.106 5
12	16	40	90	22.047 7
13	16	30	95	21.045 1
14	16	40	90	22.145 1
15	16	40	90	22.121 4
16	20	30	90	21.348 6
17	12	40	95	18.534 2

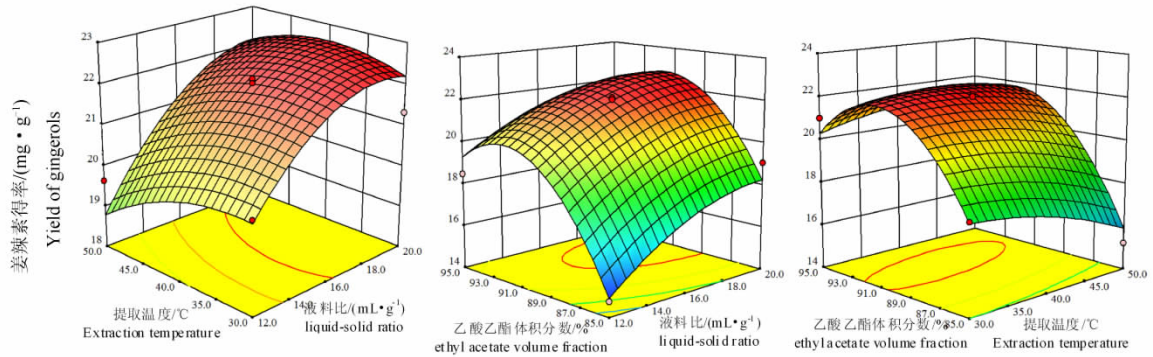
对回归方程进行方差分析和显著性检验 ,得到表 3。可以看出 ,模型回归显著 ($P < 0.001$) ,决定系数 $R^2 = 95.64\%$, $R^2_{(adj)} = 90.04\%$,说明该模型与试验值拟合较好 ,可用于姜辣素得率的理论预测。回归方程各项方差分析结果表明 ,影响姜辣素得率的各因素按影响大小排序依次为: 乙酸乙酯体积分数、液料比、提取温度。其中液料比 x_1 ,乙酸乙酯体积分数 x_3 ,乙酸乙酯体积分数 x_3^2 是极显著变量因子 ,交叉项影响不显著。因此 ,各试验因素对姜辣素得率的影响不是简单的线性关系。

2.2.2 响应面分析 根据回归方程做响应面图 ,结果如图 5 所示。从图中可以很直观看出优化区域及各因素对姜辣素得率的显著程度 ,综合方差分析、曲线走势及斜率可知 ,乙酸乙酯体积分数对得率的影响最为显著 ,响应值变化最大; 料液比对得率的影响显著程度次之 ,提取温度对得率的影响最小 ,表现为响应值变化较小 ,曲面比较平滑。

表3 回归模型方差分析
Tab.3 Analysis of variances for the created regression model

方差来源 Variance source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F Value	P 值 > F Prob > F
模型 Model	84.51	9	9.39	17.07	0.000 6
X ₁	14.74	1	14.74	26.79	0.001 3
X ₂	0.94	1	0.94	1.7	0.233 6
X ₃	27.7	1	27.7	50.34	0.000 2
X ₁ X ₂	0.41	1	0.41	0.74	0.419 1
X ₁ X ₃	0.58	1	0.58	1.05	0.339 8
X ₂ X ₃	1.86	1	1.86	3.37	0.108 9
X ₁ ²	2.63	1	2.63	4.78	0.064 9
X ₂ ²	0.72	1	0.72	1.31	0.290 3
X ₃ ²	32.99	1	32.99	59.96	0.000 1

2.2.3 最佳工艺条件的验证 软件分析得到最大的响应值为 22.834 mg/g,即姜辣素的最高得率为 22.834 mg/g,与之对应的工艺条件为:液料比为 19.29 mL/g,提取温度为 41.45 °C,乙酸乙酯体积分数为 91.47%。根据试验可行性,取液料比 19.3 mL/g,提取温度 41.5 °C,乙酸乙酯体积分数 91.5%,为验证试验条件,进行 5 组重复实验,姜辣素的平均得率为 22.982 mg/g,相比文献中以乙醇为提取剂的报道^[15],姜辣素的得率有明显的提高。



(a) 液料比和提取温度的交互作用; (b) 液料比和乙酸乙酯体积分数的交互作用; (c) 提取温度和乙酸乙酯体积分数的交互作用。

(a) liquid - solid ratio and extraction temperature; (b) liquid - solid ratio and ethyl acetate volume fraction; (c) extraction temperature and ethyl acetate volume fraction.

图5 各因素及其相互作用对姜辣素得率影响的响应面图

Fig.5 Response surface plots for extraction yield of gingerols in function of the factors

3 结束语

通过单因素法对乙酸乙酯体积分数、提取温度、液料比、提取时间和超声功率等影响姜辣素得率的因素进行了筛选。用响应面法优化得到了液料比、提取温度、乙酸乙酯体积分数 3 个因素变量的二次方程模型,该模型回归极显著,对试验拟合较好,有一定的应用价值。优化验证后的最佳工艺条件为:提取温度 41.5 °C,液料比 19.3 mL/g,乙酸乙酯体积分数 91.5%,生姜中姜辣素的得率为 22.982 mg/g。

参考文献:

[1]姜子涛,李荣.姜辣素化学及其研究进展[J].食品研究与开发,1998(1):7-10.
[2]蒋苏贞,宓穗卿,王牛生.姜辣素的化学成分研究概述[J].中药新药与临床药理,2006,17(5):386-389.

(下转第 1022 页)

- [9]王云强,张兴昌.黄土区小尺度坡面土壤含水率时空变异性研究[J].水土保持学报,2008,22(2):32-37.
- [10]GANG LU, KAN-ICHI SAKAGAMI, HARUO TANAKA, et al. Role of soil organic matter in stabilization of water stable aggregates in soils under different types of land use[J]. Soil Sci Plant Nutri, 1998, 44(2): 147-155.
- [11]李天杰,宫世国,潘根兴,等.土壤环境学[M].北京:高等教育出版社,1995:3-10.
- [12]宋木兰,丁瑞兴.江苏宜兴丘陵山区茶园土壤肥力特性的研究[J].南京农业大学学报,1985(4):49-57.
- [13]北京林学院.土壤学(上册)[M].北京:中国林业出版社,1982:206.
- [14]李忠佩,王效举.红壤丘陵区土地利用方式变更后土壤有机碳动态变化的模拟[J].应用生态学报,1998,9(4):365-370.
- [15]李凌浩.土地利用变化对草原生态系统土壤碳贮量的影响[J].植物生态学报,1998,22(4):300-302.
- [16]刘克锋,韩劲,刘建斌.土壤肥科学[M].北京:气象出版社,2001.
- [17]Sharpley A N, For B, Withers P. Practical and innovative measures for control of agricultural phosphorus losses to water: An overview[J]. J. Environ Qual 2000, 29: 1-9.
- [18]Tan Z X, Lal R. Carbon sequestration potential estimates with changes in land use and tillage practice in Ohio, USA[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment 2005, 111: 140-152.
- [19]许京,芮雯奕,刘家龙,等.我国农田土壤碳氮耦合特征的区域差异[J].生态与农村环境学报,2006,22(3):57-60.
- [20]李新宇,唐海萍,赵云龙,等.怀来盆地不同土地利用方式对土壤质量的影响分析[J].水土保持学报,2004,19(6):103-107.

(上接第1016页)

- [3]张雪红,李华昌.姜辣素的研究进展[J].北京矿冶研究总院学报,2003,12(4):96-98.
- [4]林茂,阚建全.生姜中天然抗氧化剂的应用研究概况[J].中国食品工业,2006(12):50-51.
- [5]朱媛,张雪松.乙醇溶剂提取姜辣素的实验研究[J].中国调味品,2008(4):83-85.
- [6]孔繁东,王恋峰,祖国仁,等.超声波辅助提取姜渣中姜辣素工艺研究[J].中国酿造,2010(1):102-104.
- [7]唐仕荣,宋慧,苗敬芝,等.超声波技术提取姜辣素的工艺研究[J].中国调味品,2009(1):46-49.
- [8]唐仕荣,宋慧,刘全德,等.超声波—微波协同萃取姜辣素的工艺研究[J].食品与机械,2008(6):76-79.
- [9]曾凡逵,黄雪松,李爱军.超临界二氧化碳萃取姜油树脂与溶剂浸提的比较[J].食品科学,2006,27(6):155-157.
- [10]徐伟,石海英,徐晓艳,等.超临界CO₂萃取生姜油的模型方程和条件优化[J].食品研究与开发,2010,31(4):8-13.
- [11]张敏,韩建春,任运宏.超临界CO₂萃取生姜中抗氧化活性物质的工艺研究[J].农业工程学报,2003,19(6):238-240.
- [12]唐仕荣,宋慧,刘全德,等.姜辣素的超声波提取及其抗氧化研究[J].食品科学,2009,30(20):138-142.
- [13]徐勇,梁丽敏,寇秀颖,等.姜油树脂的抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2010,31(6):32-35.
- [14]张明昶,李健,蒙继昭.紫外分光光度法测定姜中姜辣素类化合物的含量[J].贵州医药,2003,27(3):283-284.
- [15]骆海林,陆宁.响应面法优化生姜中姜辣素的超声波提取工艺[J].食品与包装机械,2009,27(6):54-58.