

# 响应面优化芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的提取工艺

高锦鸿<sup>1,2</sup>, 芦鑫<sup>1,2</sup>, 贾聪<sup>1,2</sup>, 王瑞丹<sup>1,2</sup>,  
孙强<sup>1,2</sup>, 黄纪念<sup>1,2,3</sup>

(1. 河南省农科院 农副产品加工研究所, 郑州 450002; 2. 河南省农产品生物活性物质工程技术研究中心, 郑州 450002; 3. 农业部油料加工重点实验室, 武汉 430062)

**摘要:**以芝麻粕为原料, 利用超声波辅助提取芝麻素酚三糖苷。在单因素试验的基础上, 以芝麻素酚三糖苷得率为响应值, 通过响应面法对芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的提取条件进行优化。结果表明: 芝麻素酚三糖苷最优提取条件为超声功率 1 220 W、提取液 pH 7.7、磁力搅拌转速 430 r/min、超声波作用方式为连续, 此条件下芝麻素酚三糖苷得率为  $(4.31 \pm 0.03)$  mg/g。

**关键词:**超声波提取; 芝麻粕; 芝麻素酚三糖苷; 响应面

中图分类号: TS229; TS218

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2020)07-0082-05

## Optimization of extraction process of sesaminol triglucosides from sesame meal by response surface methodology

GAO Jinhong<sup>1,2</sup>, LU Xin<sup>1,2</sup>, JIA Cong<sup>1,2</sup>, WANG Ruidan<sup>1,2</sup>,  
SUN Qiang<sup>1,2</sup>, HUANG Jinian<sup>1,2,3</sup>

(1. Research Center of Agricultural and Sideline Products Processing of Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2. Henan Engineering Research Centre of Bioactive Substances in Agricultural Products, Zhengzhou 450002, China; 3. Key Laboratory of Oilseeds Processing, Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, China)

**Abstract:** With sesame meal as raw material, ultrasound was used to extract sesaminol triglucosides. Based on single factor experiment, the extraction conditions of sesaminol triglucosides in sesame meal were optimized by response surface methodology using the yield of sesaminol triglucosides as response value. The results showed that the optimal extraction conditions of sesaminol triglucosides were obtained as follows: ultrasonic power 1 220 W, continuous ultrasound wave, extraction solution pH 7.7, magnetic stirring speed 430 r/min. Under these conditions, the yield of sesaminol triglucosides was  $(4.31 \pm 0.03)$  mg/g.

**Key words:** ultrasound extraction; sesame meal; sesaminol triglucosides; response surface methodology

目前, 国内芝麻加工以芝麻油生产为主, 75% 的芝麻用于制油<sup>[1]</sup>。制油过程中会产生大量芝麻饼粕, 据测算, 我国每年产生 50 万 t 以上芝麻饼粕<sup>[2]</sup>。受加工水平所限, 国内芝麻饼粕主要用作饲料与肥料, 芝麻饼粕资源未得到充分合理利用。研究表明,

芝麻饼粕除含有丰富的蛋白质外, 还含有一定的芝麻素酚糖苷。芝麻素酚糖苷是一种水溶性芝麻木酚素, 主要以芝麻素酚三糖苷形式存在, 其分子式为  $C_{38}H_{48}O_{22}$ <sup>[3-4]</sup>。尽管芝麻素酚三糖苷在体外抗氧化活性较弱<sup>[5-6]</sup>, 但其在体内肠道菌群及  $\beta$ -葡萄糖苷酶作用下可以转化为具有较强抗氧化活性的芝麻素酚及其他酚类化合物, 从而降低机体氧化应激水平<sup>[7-9]</sup>, 对健康发挥有益作用, 具有研究与应用价值。

目前, 从芝麻中提取芝麻素酚三糖苷的方法主要包括磁力搅拌法<sup>[10]</sup>、超声波辅助法<sup>[11]</sup>、回流提取

收稿日期: 2019-10-25; 修回日期: 2019-11-18

基金项目: 河南省科技攻关项目 (192102110109); 国家特色油料产业技术体系 (CARS-14)

作者简介: 高锦鸿 (1988), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向为油料加工及副产物综合利用 (E-mail) 401335452@qq.com。

通信作者: 黄纪念, 研究员 (E-mail) hjinian@sina.com。

法<sup>[12]</sup>和亚临界提取法<sup>[13]</sup>。磁力搅拌法及回流提取法具有操作简单,设备成本低的优点,但存在耗时较长,提取率低的问题;亚临界提取法虽耗时较短,效率高,但其设备能耗较高,且不易操作;与前3种方法相比,超声波辅助法对于物质提取具有强化作用,且操作简便,效率高。高锦鸿等<sup>[11]</sup>以芝麻为原料,乙醇为提取溶剂,研究了乙醇体积分数、料液比、超声提取温度和超声提取时间对芝麻中芝麻素酚三糖苷提取率的影响规律,但未对超声波辅助提取芝麻素酚三糖苷的其他重要影响因素如超声功率、超声波作用方式、pH、转速进行分析。因此,本研究在前期试验的研究基础上,以芝麻粕为原料,利用单因素试验和响应面法优化提取芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的工艺参数,并考察超声功率、超声波作用方式、pH、转速对芝麻粕中芝麻素酚三糖苷得率的影响规律,以期对芝麻粕的高值化利用奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

亚临界芝麻粕:芝麻经轧坯后,以液化气为萃取剂,在亚临界状态下,萃取3次,萃取条件为压力1.0 MPa、萃取温度50℃、料液比1:3、萃取时间2 h,固液分离后得到亚临界芝麻粕(主要成分:水分(6.86±0.10)%,糖类含量(39.38±0.20)%,蛋白质含量(38.21±0.08)%,灰分含量(10.93±0.16)%,脂肪含量(4.62±0.23)%)。

芝麻素酚三糖苷标准品(实验室自制<sup>[11]</sup>),液相纯度98.13%,聚酰胺填料(100~200目),葡聚糖凝胶LH-20,乙醇、硼酸、凯氏定氮催化剂、浓硫酸、氢氧化钠、盐酸等均为分析纯,甲醇为色谱纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

XH-2008DE智能温控双频超声波合成/萃取仪,DL-5-B离心机,TGL-16A离心机,XS205电子天平,RE52-86A型旋转蒸仪,Ultimate 3000高效液相色谱仪,电热恒温鼓风干燥箱,K-05型全自动凯氏定氮仪,KDN-12C数显温控消化炉,TM-0910P陶瓷纤维马弗炉,CMR-420纯水机。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的提取

称取一定量过60目筛的亚临界芝麻粕样品,置于25 mL具塞锥形瓶中,按照料(芝麻粕质量)液(乙醇溶液体积)比1:40,加入80%乙醇溶液,放入转子,调节溶液pH,称重,在不同的超声波作用方式、功率及转速下,(40±1)℃恒温提取20 min,提取结束后,冷却,补足到先前称重时的质量,摇匀后静

置,吸取上清液,经0.45 μm滤膜过滤后置于进样瓶中,高效液相色谱法定量。

#### 1.2.2 芝麻素酚三糖苷的HPLC测定条件

Agilent 5 TC-C18(2)色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);检测波长290 nm;柱温30℃;进样量10 μL。以流动相甲醇(A)和水(B)进行梯度洗脱:0 min(1 mL/min,40% A)→10 min(1 mL/min,40% A)→15 min(0.8 mL/min,40% A)→35 min(0.8 mL/min,40% A)→40 min(1 mL/min,80% A)→50 min(1 mL/min,80% A)→55 min(1 mL/min,40% A)<sup>[11]</sup>。

#### 1.2.3 芝麻素酚三糖苷标准曲线的建立

精确称取9.20 mg(精确至0.01 mg)芝麻素酚三糖苷标准品,使用甲醇溶解并定容至50 mL,配成质量浓度为184 μg/mL的芝麻素酚三糖苷母液,稀释成质量浓度分别为7.36、18.40、55.20、92.00、128.80、165.60 μg/mL的标准溶液。将标准溶液进行HPLC分析,以芝麻素酚三糖苷标准溶液的质量浓度(X)作为横坐标、峰面积(Y)作为纵坐标绘制标准曲线。标准曲线回归方程为 $Y = 16.825 X - 0.4932$ ,线性相关系数( $R^2$ )为0.9993,线性范围为7.36~165.60 μg/mL。

#### 1.2.4 芝麻素酚三糖苷得率的计算

$$\text{芝麻素酚三糖苷得率} = VC/W$$

式中:V为提取液体积,mL;C为提取液中芝麻素酚三糖苷的质量浓度,mg/mL;W为亚临界芝麻粕质量,g。

#### 1.2.5 数据统计分析

所有试验均重复测定3次,结果取平均值。试验数据采用SPSS 16.0软件进行单因素方差分析,采用Origin 8.5进行单因素制图,采用SAS 9.4进行响应面分析。单因素试验图中相同字母表示各数值之间没有显著性差异。 $p < 0.05$ 为显著, $p < 0.01$ 为极显著。

## 2 结果与分析

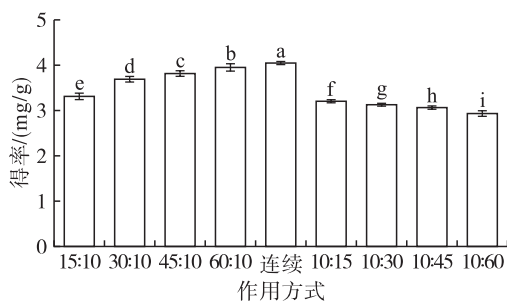
### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 超声波作用方式的影响

在超声功率1200 W、提取液pH 7.0、转速100 r/min、不同超声波作用方式(连续或间歇)条件下超声提取,研究不同超声波作用方式对芝麻素酚三糖苷得率的影响,结果见图1。

由图1可知:逐渐延长超声波工作时间,芝麻素酚三糖苷得率逐渐升高,当超声波作用方式为连续时,芝麻素酚三糖苷得率最高;随着超声波间歇时间的延长,芝麻素酚三糖苷得率逐渐降低。因此,选择

超声波作用方式为连续。



注:作用方式中的数据比为工作时间与间歇时间的比,时间单位为s。

图1 超声作用方式对芝麻素酚三糖苷得率的影响

### 2.1.2 超声功率的影响

在提取液 pH 7.0、转速 100 r/min、不同超声功率条件下连续超声提取,研究不同超声功率对芝麻素酚三糖苷得率的影响,结果见图2。

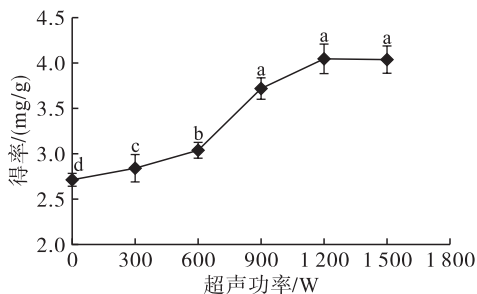


图1 超声功率对芝麻素酚三糖苷得率的影响

由图2可知,超声功率为0 W时,芝麻素酚三糖苷得率较低,为2.72 mg/g。在0~1200 W范围内,随着超声功率增大,芝麻素酚三糖苷得率随之提高,这是由于超声功率增大,空化作用和机械作用越强烈,芝麻素酚三糖苷扩散速率增加,从而提升提取液中浓度<sup>[14]</sup>。超声功率为1200 W时,芝麻素酚三糖苷得率为4.04 mg/g,与超声功率为0 W相比,芝麻素酚三糖苷得率提高了48.5%。超声功率超过1200 W后,随着超声功率的增加,芝麻素酚三糖苷得率趋于平稳。故选择超声功率为1200 W。

### 2.1.3 提取液 pH 的影响

在超声功率1200 W、转速100 r/min、不同提取液 pH 条件下连续超声提取,研究不同提取液 pH 对芝麻素酚三糖苷得率的影响,结果见图3。

由图3可知,在酸性条件下,随着 pH 的升高,芝麻素酚三糖苷得率整体上逐渐升高,当 pH 达到7.0时,芝麻素酚三糖苷得率最高,当 pH 进一步升高,溶液呈碱性时,芝麻素酚三糖苷得率略有下降。这可能是因为酸性条件导致芝麻素酚三糖苷结构不稳定,使其结构降解或转化为其他化合物,而碱性条

件下对芝麻素酚三糖苷没有明显的破坏作用,这一结果与文献[15]报道结果一致,进一步说明芝麻素酚三糖苷在 pH 7.0 时结构比较稳定。因此,选择提取液 pH 为7.0。

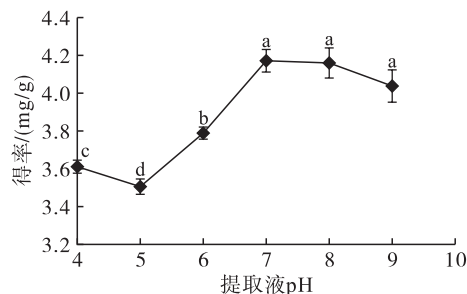


图3 提取液 pH 对芝麻素酚三糖苷得率的影响

### 2.1.4 转速的影响

在超声功率1200 W、提取液 pH 7.0、不同转速条件下连续超声提取,研究不同转速对芝麻素酚三糖苷得率的影响,结果见图4。

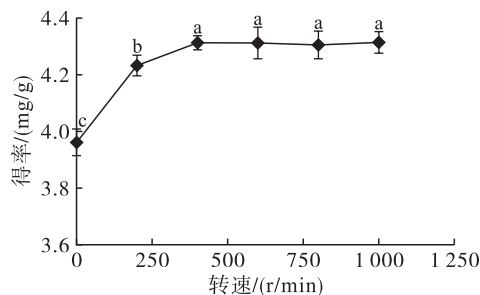


图4 转速对芝麻素酚三糖苷得率的影响

由图4可知,随着转速的提高,芝麻素酚三糖苷得率逐渐升高,在转速达到400 r/min时,芝麻素酚三糖苷得率最高,随着转速的进一步提升,芝麻素酚三糖苷得率趋于稳定,这说明当转速达到400 r/min时,芝麻素酚三糖苷从芝麻粕中溶入溶剂的过程已达到动态平衡,继续提高转速只会增加能源消耗。因此,选择转速为400 r/min。

## 2.2 响应面实验

### 2.2.1 响应面实验设计与结果

在单因素试验的基础上,采用连续超声提取,以超声功率( $X_1$ )、提取液 pH( $X_2$ )、转速( $X_3$ )为考察因素,以芝麻素酚三糖苷得率( $Y$ )为响应值,根据 Box - Behnken 设计三因素三水平响应面实验,响应面实验因素与水平见表1,响应面实验设计及结果如表2所示。

表1 响应面实验因素与水平

水平	$X_1/W$	$X_2$	$X_3/(r/min)$
-1	1 100	6.5	300
0	1 200	7.0	400
1	1 300	7.5	500

表2 响应面试验设计及结果

试验号	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$Y/(mg/g)$
1	-1	-1	0	4.12
2	-1	1	0	4.24
3	1	-1	0	4.20
4	1	1	0	4.28
5	0	-1	-1	4.13
6	0	-1	1	4.19
7	0	1	-1	4.25
8	0	1	1	4.29
9	-1	0	-1	4.10
10	1	0	-1	4.21
11	-1	0	1	4.22
12	1	0	1	4.29
13	0	0	0	4.30
14	0	0	0	4.31
15	0	0	0	4.32

## 2.2.2 响应面回归模型与方差分析

利用 SAS 9.4 软件对表 2 中所有试验数据进行分析,得到芝麻素酚三糖苷得率的回归模型: $Y = 4.31 + 0.0375X_1 + 0.0525X_2 - 0.0375X_3 - 0.055X_1^2 - 0.01X_1X_2 - 0.01X_1X_3 - 0.045X_2^2 - 0.005X_2X_3 - 0.07X_3^2$ 。

对回归模型进行方差分析,结果见表 3。由表 3 可知:模型  $p < 0.01$ ,表明该方程模型极显著;失拟项  $p = 0.1498$ ,失拟结果不显著;同时,模型相关系数( $R^2$ ) = 0.9728,校正系数( $R_{Adj}^2$ ) = 0.9237,说明该模型与试验数据拟合程度较好,可通过回归方程确定芝麻粕中芝麻素酚三糖苷提取的最优工艺参数。各因素对响应值显著性的排序依次是  $X_2 > X_1 = X_3$ ,且  $X_1, X_2, X_3, X_1^2, X_2^2, X_3^2$  对芝麻素酚三糖苷得率影响极显著( $p < 0.01$ )。

表3 方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	$F$	$p$	显著性
模型	0.0697	9	0.0077	19.8433	0.0021	**
$X_1$	0.0113	1	0.0113	28.8462	0.0030	**
$X_2$	0.0221	1	0.0221	56.5385	0.0007	**
$X_3$	0.0113	1	0.0113	28.8462	0.0030	**
$X_1X_2$	0.0004	1	0.0004	1.0256	0.3577	
$X_1X_3$	0.0004	1	0.0004	1.0256	0.3577	
$X_2X_3$	0.0001	1	0.0001	0.2564	0.6341	
$X_1^2$	0.0112	1	0.0112	28.6391	0.0031	**
$X_2^2$	0.0075	1	0.0075	19.1716	0.0072	**
$X_3^2$	0.0092	1	0.0092	23.6686	0.0046	**
残差	0.0002	2	0.0001			
失拟项	0.0018	3	0.0006	5.8333	0.1498	
误差	0.0020	5	0.0004			
总和	0.0716	14				

注: \* 差异显著( $p < 0.05$ ); \*\* 差异极显著( $p < 0.01$ )。

## 2.2.3 验证试验

利用 SAS 9.4 软件对芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的提取条件进行优化,得到芝麻素酚三糖苷的最优提取条件为超声功率 1226.29 W、提取液 pH 7.73、转速 432.19 r/min,此条件下芝麻素酚三糖苷得率的预测值为 4.34 mg/g。由于实际操作的可性,选取超声功率 1220 W、提取液 pH 7.7、转速 430 r/min、超声波作用方式为连续,进行芝麻素酚三糖苷提取试验,重复 3 次,平均得率为(4.31 ± 0.03)mg/g,与预测值接近,表明此模型合理有效。说明回归方程可以反映各因素对芝麻素酚三糖苷得率的影响。

彭珍等<sup>[16]</sup>通过回流法对芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的提取工艺进行研究,最终芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的得率为 0.44 mg/g。本研究利用响应面优

化芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的提取工艺,得率为(4.31 ± 0.03)mg/g,尽管所采用乙醇体积分数、料液比较高,但溶剂可再回收利用,且具有提取时间短、得率高的优势。因此,超声波辅助提取芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的效果较好。

## 3 结论

本研究在单因素试验的基础上,利用 SAS 9.4 软件,根据 Box - Behnken 的试验设计原理,利用响应面优化超声波 - 磁力搅拌协同提取芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的工艺条件。通过回归数学模型得到最优工艺条件为:超声功率 1220 W,提取液 pH 7.7,磁力搅拌转速 430 r/min,超声波作用方式为连续。在最优工艺条件下,芝麻素酚三糖苷得率为(4.31 ± 0.03)mg/g。

## 参考文献:

- [1] 杨湄,黄凤洪. 中国芝麻产业现状与存在问题、发展趋势与对策建议[J]. 中国油脂,2009,34(1): 7-12.
- [2] 王瑞元. 我国芝麻产业的发展[J]. 中国油脂,2016,41(2): 1-2.
- [3] KURIYAMA K I, TSUCHIYA K Y, MURI T. Analysis of lignan glycosides in sesame seed by high pressure liquid chromatography[J]. Nippon Nogei Kagaku Kaishi, 1993, 67(12): 1693-1700.
- [4] KATSUZAKI H, KAWAKISHI S, OSAWA T. Sesaminol glucosides in sesame seeds[J]. Phytochemistry, 1994, 35(3): 773-776.
- [5] SUJA K P, JAYALEKSHMY A, ARUMUGHAN C. Free radical scavenging behavior of antioxidant compounds of sesame (*Sesamum indicum* L.) in DPPH· system[J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(4): 912-915.
- [6] MIYAKE Y, FUKUMOTO S, OKADA M, et al. Antioxidative catechol lignans converted from sesamin and sesaminol triglucoside by culturing with *Aspergillus* [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(1): 22-27.
- [7] PENG Z, XU Y Y, MENG Q R, et al. Preparation of sesaminol from sesaminol triglucoside by  $\beta$ -glucosidase and cellulose hydrolysis[J]. J Am Oil Chem Soc, 2016, 93(6): 765-772.
- [8] KANG M H, KAWAI Y, NAITO M, et al. Dietary defat-
- ted sesame flour decreases susceptibility to oxidative stress in hypercholesterolemic rabbits [J]. J Nutr, 1999, 129(10): 1885-1890.
- [9] ZHU X L, ZHANG X, SUN Y, et al. Purification and fermentation in vitro of sesaminol triglucoside from sesame cake by human intestinal microbiota [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(8): 1868-1877.
- [10] MOAZZAMI A A, ANDERSSON R E, KAMAL-ELDIN A. HPLC analysis of sesaminol glucosides in sesame seeds [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(3): 633-638.
- [11] 高锦鸿,梅鸿献,汪学德,等. 芝麻中芝麻素酚三糖苷超声辅助提取工艺研究[J]. 中国油脂,2016,41(2): 97-100.
- [12] 彭珍,孟庆然,徐亚元,等. 芝麻粕中芝麻素酚三糖苷高效液相色谱检测方法的建立[J]. 中国油脂,2016,41(7): 90-93.
- [13] 汪学德. 亚临界萃取芝麻脂溶性和水溶性木酚素及其生物活性研究[D]. 广州:广东工业大学,2016.
- [14] 易军鹏,朱文学,马海乐,等. 牡丹籽油超声辅助提取工艺的响应面法优化[J]. 农业机械学报,2009,40(6): 103-110.
- [15] 朱秀灵,戴清源,王枫,等. 处理条件对芝麻素酚三糖苷稳定性的影响[J]. 食品与机械,2019,35(6): 30-35.
- [16] 彭珍. 芝麻粕中芝麻素酚三糖苷的提取及转化研究[D]. 江苏 无锡:江南大学,2016.
- (上接第55页)
- [12] PASDAR N A, CHAN E C L I. Comparison of protein surface hydrophobicity measured at various pH values using three different fluorescent probes[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(2): 328-334.
- [13] 杨梅琳. 蚕蛹蛋白的酶法水解及其产物的抗氧化性研究[D]. 江苏 无锡:江南大学,2006.
- [14] 张尔贤,俞丽君,周意琳,等.  $Fe^{2+}$  诱发脂蛋白 PUFA 过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价[J]. 生物化学与生物物理学报, 1996, 28(2): 218-222.
- [15] XIE N, WANG B, JIANG L, et al. Hydrophobicity exerts different effects on bioavailability and stability of antioxidant peptide fractions from casein during simulated gastrointestinal digestion and Caco-2 cell absorption[J]. Food Res Int, 2015, 76: 518-526.
- [16] WANG C, LI B, WANG B, et al. Degradation and antioxidant activities of peptides and zinc-peptide complexes during in vitro gastrointestinal digestion [J]. Food Chem, 2015, 173: 733-740.
- [17] 张会翠,唐琳,杨庆利,等. 超滤法分离花生肽及其抗氧化活性的研究[J]. 花生学报, 2012, 41(1): 1-5.
- [18] CASTRO R J S D, SATO H H. Comparison and synergistic effects of intact proteins and their hydrolysates on the functional properties and antioxidant activities in a simultaneous process of enzymatic hydrolysis [J]. Food Bioprod Process, 2014, 92(1): 80-88.
- [19] PATHAK N, SALAS-AUVERT R, RUCHE G, et al. Comparison of the effects of hydrophobicity, amphiphilicity, and  $\alpha$ -helicity on the activities of antimicrobial peptides [J]. Proteins Struct Funct Bioinform, 2010, 22(2): 182-186.