

低共熔溶剂提取油茶籽壳中原花青素的工艺优化

侯黔灵¹, 范丽美²

(1. 黔东南州林业科学研究所, 贵州 凯里 556000; 2. 凯里学院 经济与管理学院, 贵州 凯里 556011)

摘要:为促进油茶籽副产物的高值化利用, 采用低共熔溶剂提取油茶籽壳中的原花青素, 通过单因素试验考察了提取溶剂种类、摄取溶剂质量分数、料液比、提取温度和提取时间对原花青素得率的影响, 并利用正交试验对油茶籽壳中原花青素提取的工艺条件进行优化。结果表明: 低共熔溶剂提取油茶籽壳中原花青素的最优工艺条件为以氯化胆碱-柠檬酸(物质的量比 1:1)溶液为提取溶剂、氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数 80%、料液比 1:25、提取温度 80℃、提取时间 40 min, 在此条件下原花青素得率为 5.26%。综上, 低共熔溶剂可有效提取油茶籽壳中的原花青素。

关键词:低共熔溶剂; 提取; 油茶籽壳; 原花青素; 正交优化

中图分类号: TQ413; TS209

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2023)02-0129-04

Optimization of extraction of procyanidins from oil-tea camellia seed shell with deep eutectic solvents

HOU Qianling¹, FAN Limei²

(1. Qiandongnan Institute of Forestry, Kaili 556000, Guizhou, China;

2. School of Economics Management, Kaili University, Kaili 556011, Guizhou, China)

Abstract: To promote the high value utilization of by-products from oil-tea camellia seed, procyanidins was extracted from oil-tea camellia seed shell with deep eutectic solvents, the effects of extraction solvent type, mass fraction of solvent, solid-liquid ratio, extraction temperature and extraction time on the yield of procyanidins were investigated by single factor experiment and process conditions for extraction of procyanidins from oil-tea camellia seed shell were optimized by orthogonal experiment. The results showed that the optimal extraction conditions were obtained as follows: with choline chloride-citric acid (molar ratio 1:1) solution as extraction solvent, mass fraction of choline chloride-citric acid solution 80%, solid-liquid ratio 1:25, extraction temperature 80℃, extraction time 40 min. Under these conditions, the yield of procyanidins was 5.26%. In conclusion, the procyanidins can be effectively extracted from oil-tea camellia seed shell with deep eutectic solvents.

Key words: deep eutectic solvents; extraction; oil-tea camellia seed shell; procyanidins; orthogonal optimization

油茶(*Camellia oleifera* Abel)系山茶科小乔木植物,为我国特有油料,与椰子、油棕、油橄榄并称为世界四大木本油料植物^[1]。2016年油茶正式被我

国列为大宗油料作物,近年来各产区的油茶种植面积、油茶籽油产量及产值均稳步提高^[2]。油茶籽加工副产物油茶籽壳为油茶籽外层种皮,占油茶籽质量的30%~40%^[3],除含粗纤维外,其还含有多酚、黄酮和原花青素等活性成分^[4-6],目前企业对油茶籽壳主要采用焚烧的方式处理,造成了生物资源浪费和环境污染。原花青素是一类由不同数量的单体黄烷-3-醇或黄烷-3,4-二醇缩合而成的高效、低毒、生物利用率高的聚多酚类天然物质,具有抗氧

收稿日期:2021-12-16;修回日期:2022-09-29

基金项目:贵州省林业局林业优秀青年人才培养专项资金(黔林科合J字[2020]11号)

作者简介:侯黔灵(1984),男,工程师,研究方向为林业经济(E-mail)tix1111@126.com。

化、清除自由基、抗弹性酶活性和改善微循环活性等作用,被誉为“皮肤维生素”和“口服化妆品”^[7-9]。

低共熔溶剂(Deep Eutectic Solvents, DESs)是由氢键供体和氢键受体以一定物质的量比混合加热形成的均相透明溶液,其与离子液体特性相近,是一种新型绿色溶剂,具有生物降解性好、安全性高、提取效率高等优点,被广泛应用于生物、化学等领域^[10-12]。

采用低共熔溶剂从油茶籽壳中提取原花青素的研究未见报道。本研究以油茶籽壳为原料,采用低共熔溶剂对原花青素进行提取,旨在为油茶籽壳高值化利用提供基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

油茶籽壳,取自贵州大亨油茶科技有限公司;原花青素(纯度 $\geq 95\%$)、氯化胆碱(分析纯),上海源叶生物科技有限公司;柠檬酸、丙二酸、乳酸、盐酸、正丁醇、硫酸铁铵、甲醇、乙醇,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

UW1020H型分析天平,岛津国际贸易(上海)有限公司;LU-2000Y2型粉碎机,永康市尼阳机械制造有限公司;UV-1800型紫外-可见分光光度计,上海精密仪器仪表有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 低共熔溶剂溶液制备

将氢键受体试剂(氯化胆碱)和氢键供体试剂(柠檬酸、丙二酸和乳酸)按等物质的量混合,加热至 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 后待呈无色均一的溶液时停止加热,冷却至室温后与蒸馏水混合制备一定质量分数的低共熔溶剂溶液,备用。

1.2.2 低共熔溶剂提取油茶籽壳中原花青素

将油茶籽壳超微粉碎并过 0.85 mm (20目)筛得到油茶籽壳粉。称取 10 g 油茶籽壳粉,按一定料液比加入一定质量分数的低共熔溶剂或体积分数 60% 的乙醇溶液,加热搅拌,冷凝回流一定时间,过滤,收集提取液,待测。

1.2.3 原花青素含量测定

标准曲线制作:将原花青素标准品用甲醇溶解,并制备 25 、 50 、 100 、 150 、 $200\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的系列标准工作液,准确吸取原花青素系列标准工作液各 1 mL ,置于安瓿瓶中,精确加入盐酸-正丁醇溶液(体积比 $5:95$) 6 mL ,质量浓度 2 g/100 mL 的硫酸铁铵溶液 0.2 mL ,混匀,置沸水中冷凝回流, 40 min 后取出,立即置冰水中冷却至室温,于 546 nm 波长处测吸光

度。以吸光度(Y)为纵坐标,原花青素质量浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线,所得回归方程为 $Y = 0.0031X + 0.1565$ ($R^2 = 0.9996$)。

样品检测:将待测液稀释 $10\sim 25$ 倍,再吸取 1 mL 待测稀释液,按照标准曲线的测定方法,测定其在 546 nm 波长处的吸光度,根据标准曲线回归方程计算样品中原花青素含量,空白样品为相应的提取溶剂。原花青素得率按公式(1)计算。

$$A = B/C \times 100\% \quad (1)$$

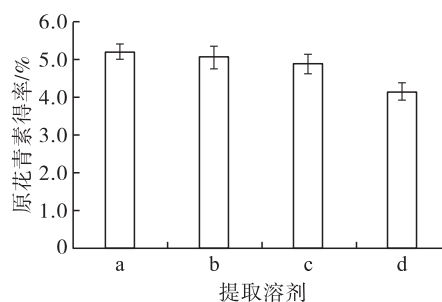
式中: A 为原花青素得率; B 为提取的原花青素质量; C 为油茶籽壳样品的质量。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 提取溶剂对原花青素得率的影响

固定料液比 $1:20$ 、提取温度 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 、提取时间 40 min ,考察提取溶剂对原花青素得率的影响,结果见图1。



注:a为质量分数 80% 的氯化胆碱-柠檬酸溶液;b为质量分数 80% 的氯化胆碱-丙二酸溶液;c为质量分数 80% 的氯化胆碱-乳酸溶液;d为体积分数 60% 的乙醇溶液

图1 提取溶剂对原花青素得率的影响

由图1可知,4种提取溶剂均可有效提取油茶籽壳中的原花青素,3种低共熔溶剂(80% 氯化胆碱-柠檬酸溶液、 80% 氯化胆碱-丙二酸溶液、 80% 氯化胆碱-乳酸溶液)提取油茶籽壳中原花青素的效果好于 60% 乙醇溶液,这可能与低共熔溶剂具有与离子液体类似的理化性质,能够快速将目标成分溶出有关^[13]。3种低共熔溶剂中 80% 氯化胆碱-柠檬酸溶液对油茶籽壳中原花青素提取效果最佳,根据相似相容原理,说明 80% 氯化胆碱-柠檬酸溶液的极性更接近原花青素的极性。因此,选择 80% 氯化胆碱-柠檬酸溶液作为提取溶剂。

2.1.2 氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数对原花青素得率的影响

固定料液比 $1:20$ 、提取温度 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 、提取时间 40 min ,考察氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数对原花青素得率的影响,结果见图2。

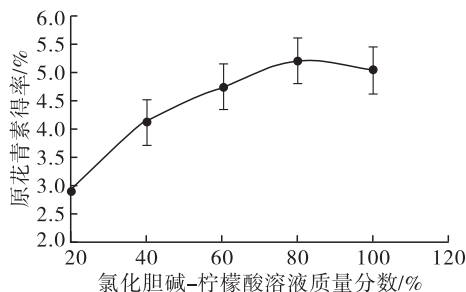


图2 氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数对原花青素得率的影响

由图2可知,随着氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数的增加,原花青素得率先增大后减小,当氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数达到80%时,原花青素得率达到最大值。原因可能是:一方面随着氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数的增大,溶液极性接近原花青素的极性;另一方面随着氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数继续升高,一些弱极性或非极性物质的溶出增加,干扰原花青素的提取,从而导致原花青素得率降低^[14]。因此,选择氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数为60%、80%和100%进行正交试验。

2.1.3 料液比对原花青素得率的影响

固定80%氯化胆碱-柠檬酸溶液为提取溶剂、提取温度80℃、提取时间40 min,考察料液比对原花青素得率的影响,结果见图3。

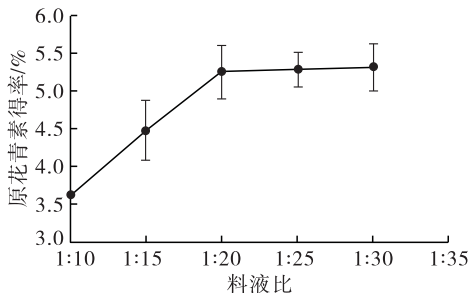


图3 料液比对原花青素得率的影响

由图3可知,随着料液比的增加,原花青素得率先增加后趋于平衡。这可能是由于料液比的增加使细胞内外的原花青素浓度差增大,有利于胞内原花青素向胞外扩散,促使原花青素得率提高。当料液比高于1:20时,油茶籽壳中原花青素提取过程基本完成,原花青素得率不再升高。因此,选择料液比为1:15、1:20、1:25进行正交试验。

2.1.4 提取温度对原花青素得率的影响

固定80%氯化胆碱-柠檬酸溶液为提取溶剂、料液比1:30、提取时间40 min,考察提取温度对原花青素得率的影响,结果见图4。

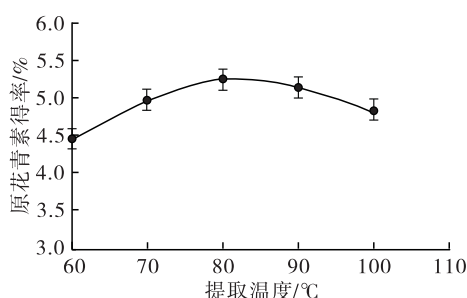


图4 提取温度对原花青素得率的影响

由图4可知,随着提取温度的升高,原花青素得率先升高后下降,提取温度80℃时达到最大。随着提取温度的升高,一方面提高温度有利于油茶籽壳中原花青素的溶出,另一方面其他杂质不断溶出,阻碍原花青素的提取,且过高的温度容易导致原花青素氧化,使原花青素得率下降。因此,选择提取温度为70、80、90℃进行正交试验。

2.1.5 提取时间对原花青素得率的影响

固定80%氯化胆碱-柠檬酸溶液为提取溶剂、料液比1:30、提取温度80℃,考察提取时间对原花青素得率的影响,结果见图5。

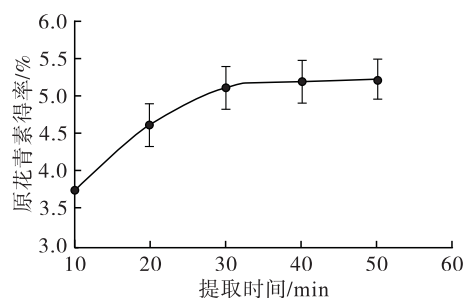


图5 提取时间对原花青素得率的影响

由图5可知,随着提取时间的延长,原花青素得率先增加后趋于平衡。提取时间10~30 min时,低共熔溶剂不断进入细胞溶解原花青素,使得原花青素不断溶出,因此原花青素得率呈上升趋势,而当提取时间超过30 min时,油茶籽壳细胞中原花青素浓度与细胞外原花青素浓度达到一致,此时提取过程基本完成,随着提取时间继续延长,原花青素得率不再增加。因此,选择提取时间为20、30、40 min进行正交试验。

2.2 正交试验

在单因素试验的基础上,以氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数(A)、料液比(B)、提取温度(C)和提取时间(D)为因素,以原花青素得率为指标,进行四因素三水平正交试验设计。正交试验因素及水平见表1,正交试验设计及结果见表2。

表1 正交试验因素及水平

水平	氯化胆碱-柠檬酸 溶液质量分数/%	料液比	提取 温度/°C	提取 时间/min
1	60	1:15	70	20
2	80	1:20	80	30
3	100	1:25	90	40

表2 正交试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	原花青素得率/%
1	1	1	1	1	3.12
2	1	2	2	2	4.58
3	1	3	3	3	4.62
4	2	1	2	3	4.45
5	2	2	3	1	4.24
6	2	3	1	2	5.20
7	3	1	3	2	3.63
8	3	2	1	3	4.66
9	3	3	2	1	4.38
k_1	4.11	3.73	4.33	3.91	
k_2	4.63	4.49	4.47	4.47	
k_3	4.22	4.73	4.16	4.58	
R	0.52	1.00	0.31	0.67	

由表2可知,各因素对原花青素得率影响程度依次为料液比>提取时间>氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数>提取温度,最优工艺条件为 $A_2B_3C_2D_3$,即氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数80%、料液比1:25、提取温度80°C、提取时间40 min,在此条件下原花青素得率为5.26%。

3 结论

在单因素试验基础上,采用正交试验优化了低共熔溶剂提取油茶籽壳中原花青素工艺条件。结果表明,低共熔溶剂提取油茶籽壳中原花青素的最优工艺条件为以氯化胆碱-柠檬酸(物质的量比1:1)溶液为提取溶剂、氯化胆碱-柠檬酸溶液质量分数80%、料液比1:25、提取温度80°C、提取时间40 min,

在此条件下原花青素得率为5.26%。

参考文献:

- [1] 周激,吴雪辉. 油茶综合利用开发前景[J]. 中国农村科技,2006(10):21-23.
- [2] 全国大宗油料作物生产发展规划(2016—2020年)[EB/OL]. (2016-08-15)[2021-12-16]. http://www.gov.cn/xinwen/2016-09/05/content_5105421.htm.
- [3] 郭华,谭惠元,罗佳. 红花油茶果的主要成分分析[J]. 中国油脂,2010,35(1):70-73.
- [4] 余红军,郑生宏,李立祥. 油茶籽壳原花青素的分离纯化[J]. 食品与发酵工业,2012,38(9):196-199.
- [5] 蒋其忠. 茶籽壳原花青素的分离纯化、稳定性及抗氧化活性研究[D]. 合肥:安徽农业大学,2010.
- [6] 李晓娜. 油茶籽壳抗氧化组分的提取与分离研究[D]. 长沙:中南林业科技大学,2011.
- [7] 张慧文,张玉,马超美. 原花青素的研究进展[J]. 食品科学,2015,36(5):296-304.
- [8] 陈梦雨,黄小丹,王钊,等. 植物原花青素的研究进展及其应用现状[J]. 中国食物与营养,2018,24(3):54-58.
- [9] 刘沙,肖建辉,涂瑾,等. 小麦肽协同有机酸对花生红衣原花青素抗氧化稳定性的影响[J]. 中国油脂,2020,45(5):12-16.
- [10] TANG X, ZUO M, LI Z, et al. Green processing of lignocellulosic biomass and its derivatives in deep eutectic solvents[J]. Chem Sus Chem,2017,10(13):2696-2706.
- [11] PAIVA A, CRAVEIRO R, AROSO I. Natural deep eutectic solvents - solvents for the 21st century[J]. ACS Sus Chem Eng,2014,2(5):1063-1071.
- [12] SMITH E L, ABBOTT A P, RYDER K S. Deep eutectic solvents (DESs) and their applications[J]. Chem Rev, 2014,114(21):11060-11082.
- [13] 李杰,吴艳芳,王新胜,等. 低共熔溶剂提取枳实中黄酮类成分的工艺研究[J]. 应用化工,2020,49(12):3078-3082.
- [14] 吴澎,王明林. 超声波辅助法提取白刺果籽中原花青素的工艺[J]. 食品与发酵工业,2005,31(5):158-160.
- [24] 徐芷怡,陈梦婷,侯锡爱,等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法同时测定芝麻油中7种农药残留[J]. 分析化学,2020,48(7):928-936.
- [25] 阳曦,刘玮,向世杰. 液液萃取-全碳同位素标记-液质联用法测定酱油中玉米赤霉烯酮[J]. 中国调味品,2021,46(11):151-154.
- [26] 黄彪,刘文静,傅建炜,等. QuEChERS前处理法-超高效液相色谱串联质谱法同时测定茶油中7种烟碱类农药残留[J]. 农产品质量与安全,2019(1):45-48,61.
- [27] 罗辉泰,黄晓兰,吴惠勤,等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时快速测定食用油中9种外源性杂质成分[J]. 分析测试学报,2019,38(5):532-538.
- [28] 吴纤榛,郑平安,周勇,等. 不同种类固相萃取柱对特医食品中香料含量结果的影响[J]. 食品工业,2021,42(1):291-296.
- [29] 杨华梅,杭莉. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中4种常用香精[J]. 色谱,2015,33(3):250-255.
- [30] 曹小云,陈树干,曾楚莹,等. QuEChERS-分散液液微萃取/气相色谱-串联质谱法高通量快速检测蔬果中152种农药残留[J]. 分析测试学报,2019,38(8):920-930.
- [31] 谢瑜杰,陈辉,胡雪艳,等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物[J]. 食品工业科技,2020,41(7):233-238.

(上接第107页)