

超声辅助低共熔溶剂提取油橄榄果渣中羟基酪醇的工艺优化研究

刘月含, 吕明俊, 姜晓坤*

(吉林农业科技学院食品科学与营养工程学院, 吉林 吉林 132101)

摘要: 本试验通过超声波辅助低共熔溶剂提取油橄榄果渣中的羟基酪醇, 考察了超声提取温度、超声提取时间、超声功率、低共熔溶剂含水率和低共熔溶剂摩尔比对油橄榄果渣中羟基酪醇提取率的影响。结果表明, 超声提取温度 40 °C、超声提取时间 30 min、超声功率 300 W、低共熔溶剂含水率 20%、低共熔溶剂摩尔比 1:1 为最佳提取工艺条件。并通过响应面分析对提取工艺的条件进行了优化, 最佳提取率为 19.76%。

关键词: 油橄榄果渣; 羟基酪醇; 低共熔溶剂; 超声辅助; 响应面软件优化

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2024)02-0102-06

Optimization of Ultrasound Assisted Low Co-Soluble Solvent Extraction Process for Hydroxyl Casein from Olive Pomace

LIU Yuehan, LYU Mingjun, JIANG Xiaokun*

(College of Food Science and Nutritional Engineering Jilin Agriculture Science and Technology University, Jilin 132101, China)

Abstract: Using olive pomace as raw material, extraction of hydroxyl casein using ultrasonic assisted low eutectic solvent. By examining the effects of ultrasound extraction time, ultrasound temperature, ultrasound power, low eutectic solvent molar ratio, and water content on the extraction rate of hydroxyl cheese in olive pomace. The results showed that the optimal extraction process conditions were ultrasonic extraction time of 30 minutes, ultrasonic extraction temperature of 40 °C, ultrasonic power of 300 W, molar ratio of low eutectic solvent of 1:1, water content of 20%. The extraction conditions were optimized by response surface software. The optimal extraction rate is 19.76%.

Key word: Olive pomace; Hydroxyl casein; Low co-soluble solvent; Ultrasonic assistance; Response surface software optimization

油橄榄果渣是油橄榄加工后的副产品, 易获取、成本低廉^[1-3]。羟基酪醇又名 3,4-二羟基苯乙醇, 主要是以酯类化合物橄榄苦苷的形式存在于油橄榄的各个部位, 游离的羟基酪醇可以通过橄榄苦苷经过水解后得到。羟基酪醇作为从油橄榄果渣里提取的天然化合物, 具有抗血小板聚集、抗氧化性、调血脂、抗动脉粥样硬化、抗癌性和抗菌性, 被广泛应用到食品行业和保健品中, 由于可以清除体内的自由基, 所以还广泛应用到化妆

品和医疗等行业, 近些年其需求量呈直线上升的趋势^[4-7]。

低共熔溶剂是由一定摩尔比的氢键供体和受体通过分子间氢键在室温的条件下形成的呈液态的均一混合物。与常见的离子液体相比, 低共熔溶剂具有方便获取且价格便宜、无毒安全环保、制备方便简单、容易降解等优点^[8-9]。低共熔溶剂作为一种无毒无害且安全能被降解的绿色溶剂, 可以促进反应进行, 在化学合成方面起了很大作用, 其熔点较低可以取代沸点较高的有机溶剂。目前低共熔溶剂在提取天然产物中应用的报道较多。

但是就目前来看, 国内关于提取油橄榄果渣中的羟基酪醇报道较少, 对于超声辅助低共熔溶剂提取油橄榄果渣中羟基酪醇工艺优化的报道更少, 本研究采用的油橄榄果渣成本低, 实现了废物利用, 提取材料低共熔溶剂绿色安全无毒无

收稿日期: 2023-12-16

基金项目: 吉林农业科技学院省级大学生科技创新项目 (S202311439057)

作者简介: 刘月含 (2003-), 女, 在读本科, 从事食品质量与安全研究。

通讯作者: 姜晓坤, 女, 硕士, 高级实验师, E-mail: 602269329@qq.com

害,通过响应面软件优化试验,研究出一套最佳提取工艺,为油橄榄果渣中羟基酪醇的提取提供技术参考和理论指导。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

将处理过的油橄榄果渣置于恒温干燥箱内,85℃,常压干燥至恒重,粉碎,过0.15 mm孔径筛后装入磨口玻璃瓶,密封保存备用。

试验试剂:羟基酪醇标准品(阿拉丁试剂)、氯化胆碱(上海展云化工有限公司)、苹果酸(天津福晨化学试剂有限公司)、葡萄糖(天津永大化学试剂有限公司)、乳酸(天津科密欧化学试剂有限公司)、草酸(天津海欣化工有限公司)、乙二醇(天津致远化学试剂有限公司),均为分析纯试剂。

1.2 仪器设备

Cary60 UV-Vis 紫外吸收光谱仪(Agilent Technologies)、电子分析天平JJ124BF(常熟市双杰测试仪器厂)、康士洁超声波清洗器PL-S100TX(东莞康士洁超声波科技有限公司)、台式离心机(湖南可成仪器设备有限公司)等。

1.3 试验方法

1.3.1 标准曲线的绘制

准确称量羟基酪醇标准品100 mg放入10 mL容量瓶中,用氯化胆碱和苹果酸配成的低共熔溶剂溶解至刻度,摇匀,密塞,制备10 mg/mL的储备液。精确吸取此标准品储备液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL分别放到25 mL的具塞比色管中,并用水定容到刻度,得到的标准溶液的浓度分别为0.04、0.08、0.16、0.24、0.32、0.40、0.48、0.56 mg/mL,在310 nm波长下测定紫外吸光度,重复3次,取平均值。以羟基酪醇浓度为横坐标,溶液吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。根据标准曲线求得回归方程: $y=ax+b$ 。

1.3.2 羟基酪醇提取工艺流程

油橄榄果渣→清洗→干燥→粉碎→过筛→称量→超声波辅助低共熔溶剂法提取→离心→取滤液测定含量→浓缩干燥→羟基酪醇

1.3.3 羟基酪醇的定性检验

以含水率为20%的氯化胆碱和苹果酸按摩尔比1:1混合作为溶剂,与提取液和羟基酪醇标品配成溶液,用Cary60 UV-Vis紫外吸收光谱仪在波长200~400 nm扫描紫外吸收光谱图,通过对比提取液和羟基酪醇标品的紫外吸收光谱图的形状、

峰的位置、峰的数目,做定性分析。

1.3.4 羟基酪醇的定量测定

油橄榄果渣中羟基酪醇得率的测定,根据标准曲线计算羟基酪醇含量。计算公式为:

$$\text{提取率} = \frac{CVF}{M} \times 100\%$$

式中:M为油橄榄果渣质量(mg),C为羟基酪醇浓度(mg/mL),V为溶液的总体积(mL),F为定容后提取液的稀释倍数。

1.4 试验设计

1.4.1 单因素试验

称取2.00 g油橄榄果渣粉末,置于100 mL具塞锥形瓶中,分别加入含水量为10%、15%、20%、25%、30%,摩尔比为1:4、1:2、1:1、2:1、4:1的低共熔溶剂(氯化胆碱:苹果酸),超声功率设定为240、270、300、330、360 W,超声提取时间设定为20、25、30、35、40 min,超声提取温度设定为30、35、40、45、50℃,考察低共熔溶剂摩尔比对羟基酪醇提取率的影响。每个处理重复3次^[10-11]。

1.4.2 响应面法优化试验

通过单因素试验筛选出对羟基酪醇提取率影响显著的因素,将试验因素与水平通过响应面软件进行响应面法中的Box-Behnken试验(三因素三水平)^[12-14],以油橄榄果渣中的羟基酪醇提取率为指标,优化提取条件。

2 结果与分析

2.1 油橄榄果渣中羟基酪醇标准曲线的绘制

标准曲线的回归方程为: $y=3.5164x+0.5633$, $R^2=0.9997$,y为吸光度值,x为羟基酪醇浓度。

2.2 单因素试验

2.2.1 超声提取温度对油橄榄果渣中羟基酪醇提取率的影响

由图1可知,在超声提取时间30 min、超声功

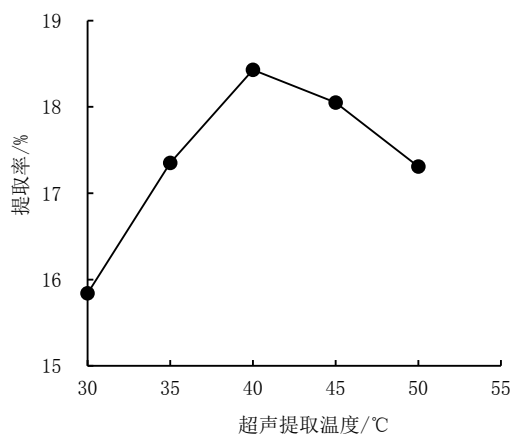


图1 超声提取温度对羟基酪醇提取率的影响

率300 W、低共熔溶剂含水率20%、低共熔溶剂摩尔比1:1的条件下,考察超声提取温度对羟基酪醇提取率的影响。在30~40℃时,随着超声提取温度的上升羟基酪醇的提取率明显提高,40℃时达到最高。超过40℃提取率逐渐下降,可能是温度过高,导致油橄榄果渣中羟基酪醇分解。因此选择40℃为最佳超声提取温度。

2.2.2 超声提取时间对油橄榄果渣中羟基酪醇提取率的影响

在超声提取温度40℃、超声功率300 W、低共熔溶剂含水率20%、低共熔溶剂摩尔比1:1的条件下,考察超声时间对羟基酪醇提取率的影响。由图2可知,在超声提取时间20~30 min条件下,随着提取时间的延长羟基酪醇提取率逐渐增加。在30 min时,羟基酪醇提取率达到最高,30 min后提取率有所下降,其原因可能是在长时间的超声过程中已经提取出来的羟基酪醇被氧化,因此确定30 min为最佳超声提取时间。

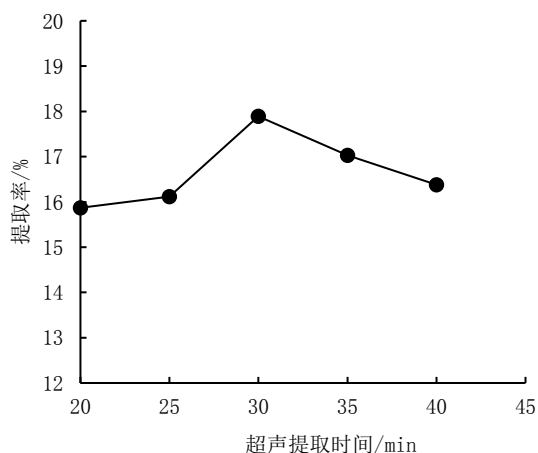


图2 超声提取时间对羟基酪醇提取率的影响

2.2.3 超声功率对油橄榄果渣中羟基酪醇提取率的影响

由图3可知,在超声提取温度40℃、超声提

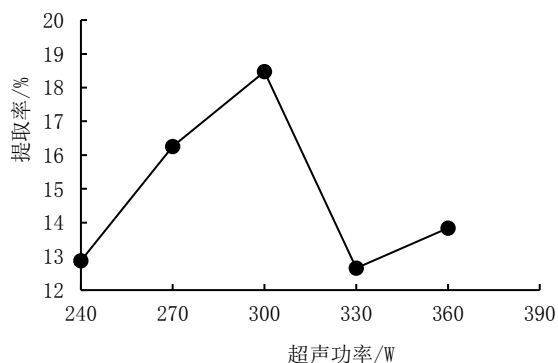


图3 超声功率对羟基酪醇提取率的影响

取时间30 min、低共熔溶剂含水率20%、低共熔溶剂摩尔比1:1的条件下,考察超声功率对羟基酪醇提取率的影响。超声功率在240~300 W时,随着超声功率的增加,羟基酪醇的提取率有明显的升高,300 W时提取率最高。随后下降,330~360 W又有一个小幅度提高。因此最佳超声提取功率为300 W。

2.2.4 低共熔溶剂含水率对油橄榄果渣中羟基酪醇提取率的影响

设定超声提取温度40℃、超声提取时间30 min、超声功率300 W、低共熔溶剂摩尔比1:1的条件下,考察低共熔溶剂含水率对羟基酪醇提取率的影响。由图4可知,低共熔溶剂含水率不高于20%条件下,随着含水率的增大,羟基酪醇的提取率逐渐增加,当低共熔溶剂含水率为20%时,羟基酪醇提取率达到最高,说明此时羟基酪醇提取最完全,因此提取的最佳低共熔溶剂含水率为20%。

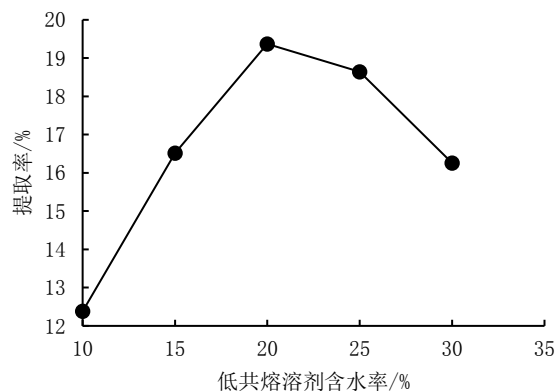


图4 低共熔溶剂含水率对羟基酪醇提取率的影响

2.2.5 低共熔溶剂摩尔比对羟基酪醇提取率的影响

设定超声提取温度40℃、超声提取时间30 min、超声功率300 W、低共熔溶剂含水率20%的条件下,考察低共熔溶剂的摩尔比对羟基酪醇提取率的影响。由图5可知,将低共熔溶剂的摩尔比设定

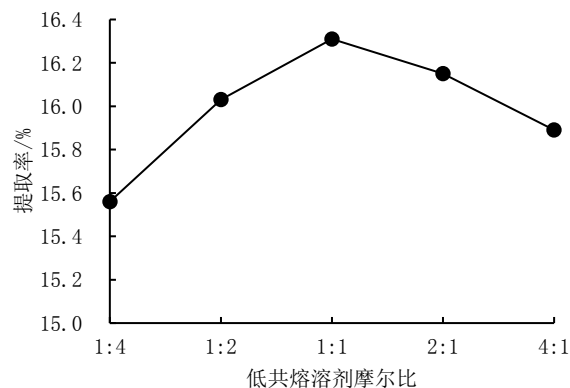


图5 低共熔溶剂的摩尔比对羟基酪醇提取率的影响

在1:4、1:2、1:1、2:1、4:1时,提取率变化趋势明显;在摩尔比为1:1时,羟基酪醇提取率最高,故最优低共熔溶剂的摩尔比为1:1。

2.3 响应面分析试验

2.3.1 响应面数学模型的建立及显著性分析

通过单因素试验,并对结果进行了分析,从五

因素五水平中选择了对提取率影响显著的三因素三水平进行响应面分析,结果如表1所示,对数据的方差分析结果见表2。

经响应面软件的分析 and 回归方程的方差分析可知,回归模型 $P<0.01$,证明本模型具有研究意义,可用于羟基酪醇的条件优化分析,模型回归

表1 响应面分析试验结果

Run	Std	低共熔溶剂 含水率	超声提 取温度	超声功率	提取率	Run	Std	低共熔溶剂 含水率	超声提 取温度	超声功率	提取率
1	6	1.00	0.00	-1.00	18.56	10	7	-1.00	0.00	1.00	16.28
2	10	0.00	1.00	-1.00	18.44	11	16	0.00	0.00	0.00	19.62
3	15	0.00	0.00	0.00	19.62	12	12	0.00	1.00	1.00	18.21
4	11	0.00	-1.00	1.00	19.27	13	8	1.00	0.00	1.00	18.09
5	3	-1.00	1.00	0.00	15.5	14	5	-1.00	0.00	-1.00	12.28
6	1	-1.00	-1.00	0.00	13.26	15	9	0.00	-1.00	-1.00	15.04
7	14	0.00	0.00	0.00	19.26	16	4	1.00	1.00	0.00	18.45
8	17	0.00	0.00	0.00	19.62	17	2	1.00	-1.00	0.00	19.38
9	13	0.00	0.00	0.00	19.62						

表2 回归方程的方差分析

方差来源	Squares	自由度	Square	F值	P值	显著性
模型	87.36	9	9.71	176.96	<0.000 1	**
A-低共熔溶剂含水率	36.81	1	36.81	671.06	<0.000 1	**
B-超声提取温度	1.67	1	1.67	30.36	0.000 9	**
C-超声功率	7.09	1	7.09	129.22	<0.000 1	**
AB	2.51	1	2.51	45.80	0.000 3	**
AC	5.00	1	5.00	91.07	<0.000 1	**
BC	4.97	1	4.97	90.66	<0.000 1	**
A ²	19.81	1	19.81	361.14	<0.000 1	**
B ²	2.25	1	2.25	41.08	0.000 4	**
C ²	4.88	1	4.88	88.96	<0.000 1	**
Residual	0.38	7	0.055			
Lack of Fit	0.28	3	0.093	3.60	0.1237	-
Pure Error	0.10	4	0.026			
Cor Total	87.74	16				

注:“**”表示差异极显著($P<0.01$),“-”表示差异不显著($P>0.05$)

系数 $R^2=0.995\ 6$ 、调整系数 $R_{Adj}^2=0.990\ 0$,证明试验预测值与实际测量之间具备高度相关性,变异系数 $CV=1.32\%$,证明该模型试验数值可信度及精确度较高。回归模型失拟项 $P=0.123\ 7>0.05$,失拟项不显著,证明响应面模型与实际试验拟合误差较小,拟合度良好,可用此模型预测值来代替羟基酪醇的

真实提取率数值。根据表2中的F值可以判断,各因素对羟基酪醇提取率的影响顺序为:A(低共熔溶剂的含水率)>C(超声功率)>B(超声提取温度)。由于各一次项、交互项、二次项的 $P<0.01$,说明对响应值的影响极显著。在交互项的对比中,按其影响程度来进行排序,结果为:AC>BC>AB。

2.3.2 响应面分析对提取条件的优化

通过等高线和响应曲面图可以直观地看出来两两因素之间的交互关系以及对羟基酪醇提取率的影响。超声提取温度和低共熔溶剂含水率之间的交互关系对羟基酪醇提取率的影响如图6所示,随着低共熔溶剂含水率的增加羟基酪醇的提取率呈上升趋势,随着提取温度的升高羟基酪醇的提取率也呈上升趋势。在低共熔溶剂含水率20%~25%、提取温度35~45℃条件下,羟基酪醇的提取率最高。一般情况下,低共熔溶剂含水率的增加会增加羟基酪醇的浸出率,但是当低共熔溶剂含水率过高时,对羟基酪醇提取的不够彻底,提取率下降。随着超声提取温度的升高羟基酪醇的提取率先增加后降低。响应面图曲线比较陡峭,说明低共熔溶剂含水率和超声提取温度的交互作用对羟基酪醇提取率的影响很大。

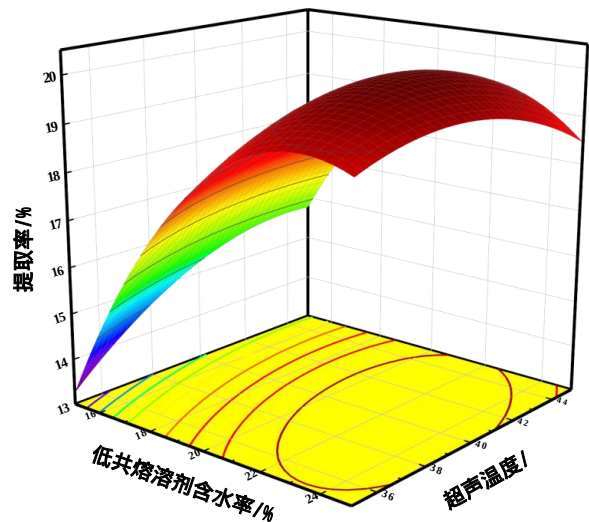


图6 超声温度和低共熔溶剂含水率对羟基酪醇提取率的影响

超声功率和低共熔溶剂含水率交互作用对羟基酪醇提取率的影响如图7所示,随着超声功率的增加羟基酪醇的提取率也明显增加,但当功率超过330 W时,羟基酪醇的提取率开始下降,可能是功率太大导致低共熔溶剂发生了改变,致使提取率下降。当超声功率在300~330 W、低共熔溶剂含水率20%~25%时,羟基酪醇的提取率达到最高值。超声功率和低共熔溶剂含水率的交互曲线比较陡峭,说明对羟基酪醇的提取率有很大影响。

超声功率和超声提取温度的交互作用对羟基酪醇提取率的影响如图8所示,在超声功率为300~330 W、超声提取温度35~45℃时,羟基酪醇

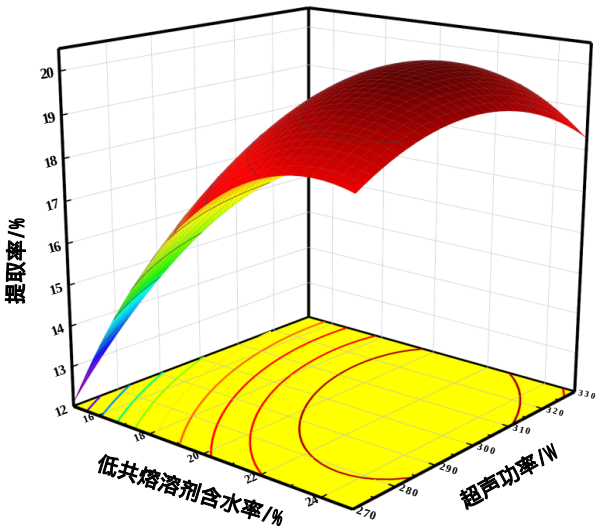


图7 超声功率和低共熔溶剂含水率对羟基酪醇提取率的影响

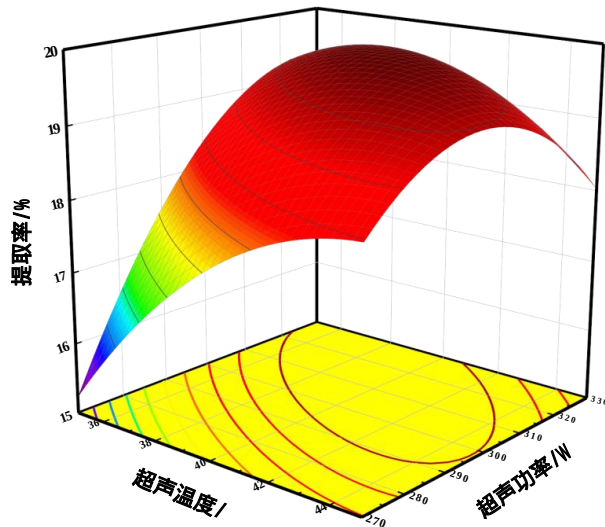


图8 超声功率和超声温度对羟基酪醇提取率的影响

的提取率最高。超声功率和超声提取温度的交互曲线比较陡峭,说明对羟基酪醇提取率的影响较大。

通过响应面分析对羟基酪醇的提取条件进行优化,确定最佳工艺条件为:超声提取温度40℃、超声功率300 W、低共熔溶剂含水率20%,并且设计了三组平行试验最后证明模型预测值19.79%与实际结果19.76%基本吻合。

3 结论与讨论

通过单因素试验对超声提取温度、超声提取时间、超声功率、低共熔溶剂含水率、低共熔溶剂摩尔比5个指标对羟基酪醇提取率的影响进行考察,最终选取最佳工艺条件为:超声提取温度40℃、超声提取时间30 min、超声功率300 W、低

共熔溶剂含水率 20%、低共熔溶剂摩尔比 1:1。进一步选取超声提取温度、超声功率、低共熔溶剂含水率采用响应面分析对三因素进行优化。

试验过程中对各影响因素进行严格控制,以确保试验的准确性,包括离心机的转速和时间、超声波清洗机的水位、离心后的过滤时间等。本试验以羟基酪醇提取率为考察指标,研究超声提取温度、超声功率、低共熔溶剂含水率对羟基酪醇提取率的影响,得到各因素对羟基酪醇提取率影响的等高线图,通过趋势线和等高线确定各因素的不同水平。应用响应面分析,研究超声提取温度、超声功率、低共熔溶剂含水率和两个因素交互作用对羟基酪醇提取率的影响,利用软件对数据拟合得出回归方程为:

$$Y=9.55+2.15A+0.46B+0.94C-0.79AB-1.12AC-1.12BC-2.7A^2-0.73B^2-1.08C^2$$

采用响应面分析优化羟基酪醇提取工艺条件,确定最佳提取工艺参数为:超声提取温度 40℃、超声功率 300 W、低共熔溶剂含水率 20%,最佳提取率为 19.76%。

参考文献:

- [1] Zhou Y H, Gui R J. Research on the realization of ecological product value based on Gansu Longnan olive oil[J] Friends of Accountants, 2020(9): 155-161.
- [2] 王安华,龙国清,王东东,等.油橄榄果渣中多酚提取及活性研究进展[J].食品研究与开发,2021,42(5):220-221.
- [3] 向方桃,李书华,陈封政.橄榄油抗氧化性能及抗氧化活性物质的研究[J].乐山师范学院学报,2020,35(4):29-32.
- [4] De P R M, Espinosa-oliva A M, Hornedo-ortega R, et al. ydroxytyrosol protects from aging process via ampk and autophagy; a review of its effects on cancer, metabolic syndrome, osteoporosis, immune-mediated and neurodegenerative diseases [J]. Pharmacological Research, 2019, 143: 58-72.
- [5] 叶文斌,陈文东,何九君.富含羟基酪醇橄榄油和玉米黄质色素橄榄油对高血脂小鼠的影响[J].粮食与油脂,2023,36(12):74-75.
- [6] 唐娟,刘琳,李承蔓,等.羟基酪醇的药理作用和药代动力学研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(6):241-250.
- [7] 岳慧娟,杨述祯,殷程程,等.橄榄油中羟基酪醇的研究进展[J].食品工业,2019,40(12):260-264.
- [8] 王新茗,马天宇,徐丽华,等.低共熔溶剂提取天然产物的研究进展[J].食品与药品,2021,23(2):178-179.
- [9] 孙悦,何莲芝,苏卓文,等.超声辅助低共熔溶剂提取甘草多糖的研究[J].食品研究与开发,2021,42(2):85-89.
- [10] 鞠星可.中药青果中羟基酪醇的提取、衍生化及活性研究[D].西安:陕西科技大学,2021.
- [11] 王广慧,李士慧,梁婷,等.响应面优化超声波辅助复合酶法提取杏鲍菇黄酮[J].东北农业科学 2018,43(1):45-50.
- [12] 王君,陈新,高文彬,等.响应面法优化超声辅助提取金丝皇菊多糖工艺及生理活性研究[J].中国食品添加剂,2022,33(2):100-109.
- [13] 王胜优,孙海峰,艾仁丽,等.烟草可溶性蛋白提取工艺优化及抗氧化活性研究[J].东北农业科学,2023,48(4):122-128.
- [14] 肖培富.美藤果叶中提取羟基酪醇方法[J].热带农业工程,2021,45(3):2-3.

(责任编辑:范杰英)