

## 菜籽饼粕中菜籽多酚的提取新工艺研究\*

王承明, 陈建峰, 任初杰, 吴谋成

(华中农业大学食品科学技术学院, 湖北武汉, 430070)

**摘要** 采用酸性乙醇体系提取菜籽饼粕中的菜籽多酚, 确定了提取的最佳工艺: 40 目的菜籽饼粕, pH 为 2.0 的(体积分数)70%乙醇溶液, 料液比(g:mL)为 1:4, 提取温度为 40℃, 提取时间为 40min, 分 3 次提取。在此条件下, 菜籽饼粕中菜籽多酚的提取率达到 2.09%, 高于以往的丙酮提取法。

**关键词** 菜籽饼粕, 菜籽多酚, 提取, 溶剂

油菜是我国重要的油料作物, 无论是种植面积还是总产量均占世界第 1 位, 菜籽油是我国的主要食用油之一, 占食用油的 45% 左右。菜籽榨油的饼粕中蛋白质含量达到 45% 左右, 因为含有硫代葡萄糖苷、植酸、多酚化合物等有害及抗营养成分, 大大降低了饼粕的生物效价限制了菜籽饼粕的应用<sup>[1]</sup>。

从菜籽饼粕中提取菜籽多酚, 国内研究的不多, 曾有报道用甲醇和丙酮提取菜籽多酚, 但是由于甲醇和丙酮的工业污染以及成本等原因, 不太适合于工业上应用<sup>[2]</sup>; 也有通过硫酸、甲醇和水的混合体系脱毒, 但只是脱出饼粕中的多酚和植酸, 没有考虑到回收及商用价值<sup>[3]</sup>。文中着重研究了用酸性乙醇体系提取菜籽饼粕中菜籽多酚的各个影响因素, 并对其进行了优化。因为乙醇污染性小, 提取效率高, 与其他菜籽饼粕深加工来比更具优势, 是一种新型的菜籽多酚提取工艺。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和仪器

油菜饼粕: 选用湖北浠水榨油厂提供的“双低”品种华杂 4 号脱壳冷榨饼粕; 石油醚(30~60℃ 沸程)、(体积分数)95%乙醇、硫酸、盐酸、钨酸钠、磷钼酸、磷酸等, 均为分析纯试剂, 试验用水为二次蒸馏水。

分析天平(AL204), 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; 721 型分光光度计, 上海欣茂仪器有限公司; Delta 320-S pH 计; 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; HH-2 恒温水浴锅, 金坛市杰瑞尔电器有限公司; JJ-1 型精密增力电动搅拌器, 常州国华电器有限公司; DHG-9241A 电热恒温干燥箱; 上海精宏实

验设备有限公司等。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 菜籽饼粕中多酚的提取方法

菜籽饼粕→粉碎→筛分→石油醚脱脂→提取剂提取→过滤→滤液→冷冻干燥→多酚成品

#### 1.2.2 多酚测定方法。

(1)定性方法: 质量分数分别为 0.3%  $\text{FeCl}_3$ 、0.3%  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  溶液等量加入待测样品中, 混匀显色或用质量分数 1% 明胶水溶液滴加到待测样品中, 生成白色沉淀可证明有多酚存在<sup>[4]</sup>。

(2)定量方法: Folin-Denis 法<sup>[5,6]</sup>。单宁类化合物在碱性溶液中, 可将磷钨酸钠还原并生成蓝色化合物。在 760 nm 最大吸收处比色可测定单宁的含量, 以单宁酸为标样做工作曲线。

磷钨酸钠的配制: 钨酸钠 50 g, 磷钼酸 10 g 溶于含 375 mL 水的烧瓶中, 再加入 25 mL 质量分数 85% 的磷酸, 水浴回流 2 h, 冷却后定容至 500 mL 棕色瓶中保存。

标准曲线的绘制: 准确配制 0.102 mg/mL 的单宁酸标准液, 分别吸取 0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5 不清 mL 标样加入装有 25 mL 水的 50 mL 容量瓶中, 再各加 2.5 mL Folin-Denis 试剂, 1 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10 mL, 摇匀定容, 放置 30 min 后比色, 以吸光值与加入的标样量作线性回归分析, 得到回归方程。

(3)饼粕中菜籽多酚含量的测定。准确称取 5.00 g 脱脂饼粕, 加提取溶剂 30 mL 在设定温度的水浴中搅拌提取一定时间, 过滤, 定容至 100 mL, 取滤液 1 mL 置于盛有 25 mL 水的 50 mL 容量瓶中, 加 2.5 mL Folin-Denis 试剂, 1 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10 mL 溶液摇匀定容, 静置 30 min, 760 nm 处比色<sup>[7]</sup>。

(4)单宁回收率测定方法。称取脱酯饼粕 5.00 g 2 份, 其中 1 份中加入单宁酸 100 mg, 各自加入提取溶剂, 搅拌浸提, 过滤, 收集滤液, 定容至 100 mL,

第一作者: 博士, 副教授。

\* 国家“十五”重大科技专项(No. 2001BA501A20), 湖北省重大科技攻关项目(No. 2006AA201B32)

收稿日期: 2007-03-12, 改回日期: 2007-04-23

另取单宁酸 100 mg, 直接定容至 100 mL, 然后进行比色测定, 计算回收率。

### 1.2.3 植酸的测定

三氯化铁法<sup>[8,9]</sup>。

### 1.2.4 粗蛋白的测定

改良凯氏定氮法<sup>[10]</sup>。

### 1.2.5 硫代葡萄糖苷的测定

氯化钡法<sup>[11]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线及菜籽多酚含量的计算

根据 1.2.2, 以吸光度  $A$  为横坐标, 以菜籽多酚含量(mg)为纵坐标  $M$ , 绘制标准曲线, 得回归直线方程  $M=1.4825A+0.0130$  ( $M$ : 所取 1 mL 溶液中所含的菜籽多酚的毫克数,  $A$  为吸光度值), 相关系数

$R^2=0.9969$ 。

### 2.2 提取溶剂种类的选择

选用体积分数 70% 丙酮、蒸馏水、甲醇、70% 乙醇或 70% 乙醇(1% HCl)酸性溶液, 称取 5.00 g 样品(20 目), 按料液比 1:6 (1 g 样品溶于 6 mL 提取液中)、提取温度 50℃、提取时间 40 min、提取一次的条件分别进行提取, 测定菜籽多酚的含量, 结果见表 1。另外通过溶剂丙酮和乙醇对多酚提取的回收率实验, 结果见表 2。

结果表明: 丙酮溶液和乙醇溶液的提取效果均好于水, 其中体积分数 70% 丙酮和体积分数 70% 乙醇的提取率差别不大, 其中 70% 乙醇经酸化后有助于多酚的提取, 其主要原因可能是菜籽饼粕中的大部分是缩合多酚, 采用弱酸性的醇-水体系可以使一部

表 1 5 种提取液提取菜籽多酚的结果

|  | 体积分数 70% 丙酮 | 蒸馏水  | 甲 醇  | 体积分数 70% 乙醇 | 体积分数 70% 乙醇酸性溶液 |
|--|-------------|------|------|-------------|-----------------|
| 提取多酚的含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ | 8.62        | 6.84 | 9.78 | 10.67       | 14.04           |

表 2 两种溶剂对菜籽多酚的回收率的影响

|           | 溶剂 | 丙酮    | 乙醇    |
|-----------|----|-------|-------|
| $A_{760}$ | 1  | 0.190 | 0.215 |
|           | 2  | 0.649 | 0.669 |
|           | 3  | 0.524 | 0.527 |
| 回收率/%     |    | 87.6  | 86.1  |

注: 回收率计算公式: 回收率  $P=[(\text{加标试样测定值}-\text{试样测定值})/\text{加标量}] \times 100\%$ 。1—样品中未加入单宁酸提取测定, 2—样品中加入单宁酸提取测定, 3—单宁酸直接测定(加标量)。

分不可提取的多酚(以共价键与植物组织分子相连的那部分多酚)降解溶出, 一方面有助于断裂多酚与蛋白质、多糖及其本身之间的氢键和疏水键, 另一方面断裂多酚与金属离子的络合键, 所以多酚提取率可以得到提高。并且多酚的水溶液在 pH 值较高时易被空气中的  $\text{O}_2$  所氧化, 其氧化速度随 pH 值增大而加快, 氧化后颜色变深<sup>[12]</sup>。丙酮和乙醇对多酚的回收率相差不大, 所以从提取效率和环保考虑, 并且为防止提取物被氧化, 最终选用酸化的乙醇溶液进行提取。

### 2.3 样品粒度对菜籽多酚提取率的影响

将样品粉碎后分别用 20 目、40 目、60 目、80 目过筛分级, 称取 5.00 g 样品, 然后在体积分数 70% 乙醇(1% HCl)酸性溶液, 按料液比 1:6、提取温度 50℃、提取时间 40 min、然后过滤并定容, 用 Folin-Denis 比色法测定多酚含量, 结果如图 1 所示。

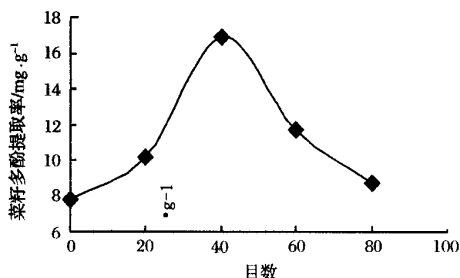


图 1 粉碎度对菜籽多酚提取率的影响

由图 1 可知, 样品粉碎前后的样品在相同的提取条件下提取率有很大的不同, 一般来说, 样品在粉碎后有利于提取, 但当粒度达到一定程度后, 提取率反而会下降, 因为要将样品粉碎过细, 需要粉碎的强度加大, 这时的多酚会由于温度的升高而氧化, 反而不利于提取率的提高。从图 1 可知粒度为 40 目时, 可以得到较高的提取率。

### 2.4 提取时间对菜籽多酚提取率的影响

选用体积分数 70% 乙醇溶液, 称取 5.00 g 样品(40 目), 按料液比 1:6、提取温度 50℃、提取一次的条件分别搅拌提取时间分别为 20、30、40、50、60 min, 过滤、定容后测定菜籽多酚的含量, 结果如图 2 所示。

由图 2 可知, 在一定的范围内随着提取时间的延

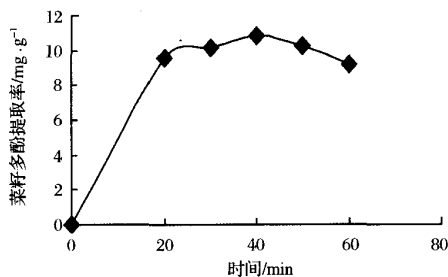


图2 提取时间对菜籽多酚提取率的影响

长,提取率得到提高,但在40min后提取率反而略有下降。其原因可能是在长时间高温下菜籽多酚发生降解、缩合、氧化等反应,使测定值下降。因此提取时间不宜过长。建议进行多次提取,既能增加提取率,又能保证菜籽多酚不被氧化。

## 2.5 提取温度对菜籽多酚提取率的影响

选用体积分数70%乙醇溶液,称取5.00 g样品(40目),按料液比1:6、提取时间40 min、提取温度分别在20、30、40、50、60℃下搅拌提取,过滤、定容后测定菜籽多酚的含量,结果如图3所示。

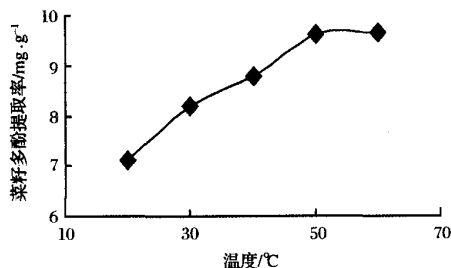


图3 提取温度对菜籽多酚提取率的影响

由图3知道,随着提取温度的提高,菜籽多酚的提取率也随之上升,在50℃后上升趋势平缓。因多酚含有大量的酚羟基,若在过高温或过长时间下容易发生各种不可逆的化学反应,例如被空气中的O<sub>2</sub>氧化,所以在适当的温度和时间内避光提取。

## 2.6 提取液pH值对菜籽多酚提取率的影响

称取5.00 g样品(40目),按料液比1:6、提取温度50℃、提取时间40 min、pH值分别调至3、4、5、6、7下搅拌提取,过滤、定容后测定菜籽多酚的含量,结果如图4所示。

由图4知,降低提取液pH值,提取率会上升,但是到达一定限度后提取率反而会下降。这时因为酸性环境可以防止多酚氧化,但是过酸的环境使多酚容易发生自缩合反应,降低其溶解性。

## 2.7 料液比对菜籽多酚提取率的影响

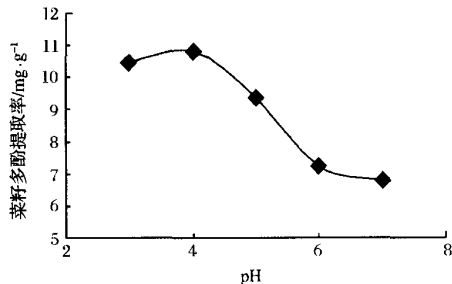


图4 提取液pH值对菜籽多酚提取率的影响

选用体积分数70%乙醇溶液,称取5.00 g样品(40目),按提取温度50℃、提取时间40 min、料液比分别为1:4、1:6、1:8、1:10下搅拌提取,过滤、定容后测定菜籽多酚的含量,结果如图5所示。

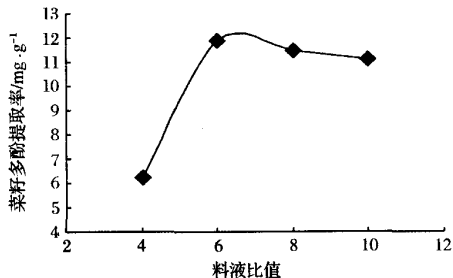


图5 料液比对菜籽多酚提取率的影响

由图5知,随着单位样品内提取液的增加,提取率得到提高,但是到了一定程度后提取率反而会有微弱的降低并趋向于平稳。因为菜籽多酚在一定体积提取液内溶解度达到最高,再增加提取液反而会使菜籽多酚溶出率降低。另外增加提取液会使提取成本加大,因此提取液的用量不宜太大,样品质量(g);提取液体积(mL)比1:6时比较合理。

## 2.8 正交试验

在单因素试验的基础上,选用体积分数70%乙醇作为提取剂,称取5.00 g样品(40目),以温度、时间、料液比、pH值为考察因素,取三水平进行正交试验L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>),以菜籽多酚的提取率为考察指标,筛选最佳条件(见表3)。正交试验的结果见表4,同时对结果进行了方差分析(见表5)。

表3 正交试验设计表

| 水 平 | 因 素     |           |        |        |
|-----|---------|-----------|--------|--------|
|     | A(温度/℃) | B(时间/min) | C(料液比) | D(pH值) |
| 1   | 20      | 20        | 1:4    | 2      |
| 2   | 40      | 40        | 1:6    | 4      |
| 3   | 60      | 60        | 1:8    | 6      |

表 4 正交试验结果

| 试验号   | 因 素   |        |        |        | 提取率/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ |
|-------|-------|--------|--------|--------|--------------------------------------|
|       | A     | B      | C      | D      |                                      |
| 1     | 1     | 1      | 1      | 1      | 12.472                               |
| 2     | 1     | 2      | 2      | 2      | 10.552                               |
| 3     | 1     | 3      | 3      | 3      | 13.139                               |
| 4     | 2     | 1      | 2      | 3      | 12.330                               |
| 5     | 2     | 2      | 3      | 1      | 14.473                               |
| 6     | 2     | 3      | 1      | 2      | 14.675                               |
| 7     | 3     | 1      | 3      | 2      | 12.411                               |
| 8     | 3     | 2      | 1      | 3      | 10.754                               |
| 9     | 3     | 3      | 2      | 1      | 11.744                               |
| $K_1$ |       | 12.054 | 12.404 | 12.634 | 12.896                               |
| $K_2$ |       | 13.826 | 11.926 | 11.542 | 12.545                               |
| $K_3$ |       | 11.636 | 13.186 | 13.341 | 12.074                               |
| R     | 2.190 | 1.260  | 1.799  | 0.822  |                                      |

由表 4 可知,  $R_A > R_C > R_B > R_D$ , 即影响因素顺序为: 温度 > 料液比 > 时间 > pH 值。可以得到菜籽多酚提取的最佳条件组合为  $A_2B_3C_1D_2$ 。由表 5 知,

表 5 正交试验结果方差分析

| 方差来源 | 自由度<br>DF(n-1) | 离均差<br>平方和 | 均方和     | F 值    | 显著性 |
|------|----------------|------------|---------|--------|-----|
| A    | 2              | 0.025 3    | 0.012 6 | 173.74 | **  |
| B    | 2              | 0.008 9    | 0.004 4 | 48.45  | **  |
| C    | 2              | 0.014 8    | 0.007 4 | 80.49  | **  |
| D    | 2              | 0.003 9    | 0.002 0 | 21.27  | *   |

各个因素对提取结果都有显著性。虽然这里得到的提取最佳时间是 60 min, 但是由于在长时间高温下菜籽多酚往往容易被氧化, 因此建议进行短时多次提取。

2.9 最优提取条件的确定

2.9.1 提取次数的确定

称取 5.00 g 样品(40 目), 用体积分数 70% 乙醇(pH 值为 2)以 1 : 4 的料液比, 在提取温度 40℃ 下每次提取 40 min, 共提取 5 次, 测定每次提取液中的菜籽多酚含量。结果如表 6 所示。

表 6 提取次数对提取率的影响

| 提取条件                   | 提取次数                        |       |       |       |       | 总量/mg  |
|------------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
|                        | 1                           | 2     | 3     | 4     | 5     |        |
|                        | 菜籽多酚含量/mg · g <sup>-1</sup> |       |       |       |       |        |
| 70%乙醇、40℃、40min、pH 2.0 | 14.578                      | 5.742 | 2.017 | 0.753 | 0.069 | 23.159 |

从表 6 可以知道, 在此条件下, 菜籽多酚的提取率第一次最高, 占总量的 63%, 经过 3 次提取后, 97% 的菜籽多酚可以被提取出来, 样品中剩余的菜籽多酚已经很少, 所以最终确定的提取次数是 3 次。

2.9.2 提取前后样品成分分析

称取 5.00 g 样品(40 目), 用 pH 2.0 的 70% 乙醇溶液, 以 1 : 4 的料液比, 提取温度 40℃, 提取时间 40min, 提取 3 次, 合并滤液, 滤渣, 分别测定出菜籽饼粕中的菜籽多酚, 蛋白质, 植酸, 硫代葡萄糖苷含量。结果如表 7 所示。

表 7 提取前后样品成分变化

|         | 蛋白质/% | 菜籽多酚/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ | 植酸/%   | 硫代葡萄糖苷/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ |
|---------|-------|---------------------------------------|--------|---|
| 提取后菜籽饼粕 | 53.74 | 2.57                                  | 1.83   | 27.51                                       |
| 菜籽饼粕样品  | 46.28 | 20.85                                 | 2.49   | 39.77                                       |
| 增减幅度/%  | 16.12 | -87.67                                | -26.51 | -30.83                                      |

从表 7 可知, 菜籽饼粕中的菜籽多酚基本上被提取出来, 剩下的饼粕中蛋白质含量得到提高, 植酸和硫代葡萄糖苷的含量也得到明显降低。这说明提取后的菜籽饼粕的抗营养性得到明显改善, 可以作为一种较好的蛋白质资源加以利用<sup>[13]</sup>。

3 结 论

(1) 用酸性乙醇溶液可以很好的提取出菜籽饼粕的菜籽多酚, 同时饼粕中的蛋白质成分不被破坏, 且抗营养成分也得到降低, 实验工艺简单, 有利于在工业生产中推广。

(2) 提取菜籽多酚的最优条件是: 菜籽饼粕的粒度为 40 目, pH 为 2.0 的体积分数 70% 乙醇溶液, 料液比为 1 : 4, 提取温度为 40℃, 提取时间为 40min, 分 3 次提取。在此条件下, 菜籽多酚的提取率为 2.09%。

参 考 文 献

1 曾晓波, 吴谋成, 王海英. 丙酮浸提法制取菜籽浓缩蛋白[J]. 中国粮油学报, 2001, 16(4): 10~13  
2 吴谋成, 张 燕. 油菜籽中单宁的提取、组成及性质的研究[J]. 中国粮油学报, 1998, 13(2): 17~21

- 3 何国菊,李学刚,赵海伶. 菜籽饼粕脱毒工艺参数的研究[J]. 中国油脂, 2003, 28(12): 23~26
- 4 孙旺达. 植物单宁化学. 北京: 中国林业出版社, 1992: 13~14
- 5 程春龙,李俊清. 植物多酚的定量分析方法和生态作用研究进展. 应用生态学报, 2006, 17(12): 2 457~2 460
- 6 于炎湖,吴谋成. 饲料毒物学附毒物分析[M]. 农业出版社, 1992. 242~243
- 7 石 碧,狄 莹. 植物多酚. 北京: 科学出版社, 2000
- 8 许金林,汪远金,傅蕙英. 三氯化铁法测定植酸[J]. 化学世界, 1993, (10): 495
- 9 刘 碑. 不同植酸测定方法的对比分析[J]. 青岛医学院学报, 1997, (3): 191~192
- 10 何照范. 粮油籽粒品质及其分析[M]. 北京: 农业出版社, 1992
- 11 吴谋成. 油菜籽(饼) 中硫甙总量快速定量测定方法[J]. 华中农学院学报, 1983, 2(3): 73~81
- 12 周锦兰,胡健华,裴爱泳. 菜籽饼乙醇脱毒脱油工艺研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(6): 40~44
- 13 钱 和,雕鸿荪,沈蓓英. 现行油菜籽加工过程中各种成分的变化[J]. 无锡轻工业大学学报, 1995, 14(2): 129~135

## A New Extracting Technology of Polyphenol from Rapeseed Cake

Wang Chengming, Chen Jianfeng, Wu Moucheng

(School of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**ABSTRACT** rapeseed polyphenol was extracted from the rapeseed paste by acidic alcohol system. The best extracting condition was: 40 mesh sized rapeseed paste, pH 2.0, 70% ethyl alcohol solution, at 1: 4 solid / liquid ratio, under 40 °C, 40minuts, extracting 3 times. Under this condition, rapeseed polyphenol extraction rate was up to 2.09%, higher than acetone extraction method. The operating condition of the method was mild, suitable to the industrial application and was a economic way to reuse the agricultural subsidiary products.

**Key words** rapeseed cake, rapeseed polyphenol, extraction, solvent

### 国内首条塑料壶装酒热灌装生产线投产

国内第一条采用热灌装工艺的壶装酒自动灌装生产线在古越龙山第二酿酒厂成功投产。

该生产线的投入使用,标志着古越龙山率先攻克黄酒行业塑料壶桶装酒低效率、低产量的手工灌装生产模式,跨入机械化自动生产的行列。

无可否认,坛装黄酒有其贮存时间长的优势,但也存在一些缺点,如泥头易松动、脱落,造成黄酒变质;碎泥、荷叶箸壳残片在开启过程中易落入坛中,不卫生。而且,随着销售区域的扩大化,长距离运输包装易碎,运费相当惊人。以载重 25t 的货车计算,坛装酒为 588 坛(酒净含量:13.5t),坛与泥头自重就占 38%,容积率也低。改用 2.5L 的塑料壶包装,壶重几可忽略不计,容积率高,可装 9 600 壶(酒净含量 24t)。随着消费者对原酒需求的增加,桶装酒替代坛装酒的趋势已不可逆转。

2006 年,壶装酒市场异军突起,成为黄酒销售的一大亮点。所谓壶装酒,即以 PP 材质注塑制成的方或圆形 2.5~4L 的壶为包装容器出售的酒。该酒定位低端消费群体,以其低价位、携带方便、空壶尚可重新利用等优势,一经上市,受到大众消费者的青睐。

古越龙山找准市场切入点,决心在黄酒壶装热灌装技术上创新突破。但此容器在一般的酒类机械化包装线上无法实现全过程自动生产。敢为人先的古越龙山公司一方面注重生产环节卫生,按照 HACCP 及 1809000、ISO14000 等体系要求规范操作,确保灌装产品的质量;另一方面对灌装工艺进行大胆的探索和试验,对生产工序和操作进行周密的思考和分析,对设备、管道的安装和布局进行充分的设计和论证,对生产环境进行精心的布置和改造,积极寻求开发全自动灌装生产线。

2006 年底,在工艺、设备专题攻关组技术人员的努力下,国内第一条采用热灌装工艺的壶装酒自动灌装生产线在古越龙山第二酿酒厂成功试产。通过几个月的调试,投入批量生产以来,生产线运行基本正常,定员减少,产能得到大幅度提升。