

微波辅助萃取花椰菜废弃菜叶叶绿素的工艺研究

张化生, 杨永岗

(甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃兰州 730070)

摘要: 应用微波辐射技术, 以花椰菜废弃菜叶为原料提取叶绿素。以菜叶粉碎目数、破壁助剂浓度、微波功率、辐照时间、萃取剂浓度、料液比作为影响因素进行单因素试验, 分析确定单因素的最佳实验条件。采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验设计, 优化菜叶叶绿素的提取条件。结果表明: 微波辅助萃取菜叶叶绿素的最佳提取条件为破壁助剂乙醇浓度 60%, 辐照时间 30 s, 萃取剂乙醇浓度 90%, 料液比 1:20, 叶绿素的提取率可以达到 6.84 mg/g, 较传统提取方法的提取率提高 62.2%。

关键词: 废弃菜叶; 利用; 叶绿素; 微波萃取

文章编号: 1673-9078(2012)7-825-827

Microwave Assisted Extraction of Cauliflower Trash Foliage Chlorophyll

ZHANG Hua-sheng, YANG Yong-gang

(Vegetable Institute of Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Cauliflower foliage was used as the raw material for extracting chlorophyll with microwave extraction. Some factors were considered for single factor experiment, such as size of cauliflower foliage powder, density of cell wall crack agent, microwave power, irradiation time, extractant concentration, solid-liquid ratio. $L_{16}(4^5)$ orthogonal experiment was adopted for getting the optimal mixed test conditions. The result showed that the extraction ratio of chlorophyll could be achieved as 6.843mg/g under the following conditions: 60% of density of cell wall crack agent, 30s of irradiation time, 90% of extractant concentration and 1:20 of solid-liquid ratio. Compared with the traditional technology, microwave assisted extraction method can increase extracting rate of chlorophyll by 62.2%.

Key words: cauliflower foliage; chlorophyll; microwave assisted extraction

花椰菜为十字花科 (*Cruciferae*) 芸苔属甘蓝种的变种 (*Brassica oleracevar. botrytis* L.), 是富含营养、人们喜食的蔬菜之一, 在全国被广泛种植^[1]。在花椰菜带来经济效益的同时, 产生大量的废弃菜叶。长期以来, 这些废弃菜叶得不到有效利用。花椰菜菜叶富含叶绿素, 本试验旨在从叶绿素入手对废弃菜叶加以利用。

微波辅助萃取是近年来一种新兴的萃取技术, 利用微波直接与分离物作用, 微波的激活作用导致样品基体内不同成分的反应差异使被萃取物与基体快速分离, 并达到较高产率。和传统萃取方法相比, 微波辅助萃取具有质量好、产量大、对萃取物具有高选择性、快速、节能的特点^[2-4]。

目前, 国内外对花椰菜叶片叶绿素利用研究较少, 有关微波萃取花椰菜叶绿素的提取及优化提取条件未见报道。本试验以花椰菜叶片为原料提取叶绿素, 为提高废弃菜叶的利用和产业化生产叶绿素提供理论依

收稿日期: 2012-04-01

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2007BAD52B01), 兰州市科技发展计划项目 (2009-1-22)

作者简介: 张化生, 助理研究员, 专业方向: 蔬菜栽培与育种
据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

花椰菜叶片 (采自甘肃省农科院蔬菜所皋兰试验基地), 无水乙醇 (分析纯), Galanz 微波炉 (P7021TP-6), 分析天平, 微型植物组织粉碎机, SIGMA 离心机 (1-15PK), TU-1901 型双光束紫外可见分光光度计。

1.2 试验方法

花椰菜叶片 → 阴干 → 粉碎 → 过筛 → 加入破壁助剂 → 微波处理 → 加入萃取剂萃取 → 离心 → 比色

称取 5 g 花椰菜叶片碎粉, 放入锥形瓶中, 加入一定量的细胞破壁助剂调成糊状, 然后把锥形瓶置于微波炉中破壁, 取出后按一定料液比加入萃取剂萃取 30 min, 然后离心, 测定叶绿素含量确定提取效果。试验 3 次重复。

1.3 叶绿素含量的测定和计算

叶绿素含量用 Arnon 法 Arnon 法计算公式^[5]:

叶绿素 a 浓度 (mg/L): $C_a=12.71A_{663}-2.69A_{645}$;

叶绿素 b 浓度 (mg/L): $C_b=22.88A_{645}-4.67A_{663}$;

叶绿素总浓度 (mg/L): $C(a+b)=C_a+C_b$

叶绿素含量 (mg/g) = 叶绿素总浓度 × 浸提液体积 × 稀释倍数 / 样品 (鲜) 干重

2 结果与分析

2.1 微波辅助萃取花椰菜叶片叶绿素单因素试验结果与分析

2.1.1 原料目数选择

分别称取 40、60、80、100 目的花椰菜叶片碎粉各 5 g, 加入含 50% 乙醇的破壁助剂调成糊状, 在 655 W 的微波功率下辐照 20 s, 然后用 95% 乙醇浸提 30 min, 测定不同目数的叶绿素得率, 确定叶绿素提取的最佳原料目数, 试验结果见表 1。

表 1 不同原料目数对微波萃取叶绿素的影响

Table 1 The effects of different particle size on the microwave extraction

原料目数(目)	40	60	80	100
叶绿素含量/(mg/g)	3.06d	5.65a	5.22b	4.38c

注: 数值后的不同字母表示彼此间差异显著, 下同。

从表 1 可以看出, 当花椰菜叶片粉碎目数为 60 目时, 叶绿素的得率达最大, 为 5.65 mg/g, 显著大于其他处理。因为在微波萃取中, 粒径相对不能太细小, 可以方便地进行过滤^[6]; 另一方面, 虽然提取过程理论上是粉碎粒度越小提取率越高, 但如果粒度太细(直径 < 0.28 mm), 就容易粘结在一起, 在没有强力搅拌的情况下会影响提取率^[7]。试验结果分析选定 60 目为最佳粉碎目数。

2.1.2 破壁助剂浓度确定

本试验选用乙醇—水作为细胞破壁助剂, 助剂中乙醇含量不同, 对提取液中叶绿素的含量产生显著影响。称取相同质量的花椰菜叶片碎粉 5 份, 分别加入乙醇含量为 20%、40%、60%、80%、100% 的破壁助剂调成糊状, 在 655 W 的微波功率下辐照 20 s, 然后用 95% 乙醇浸提 30 min, 测定不同破壁助剂浓度的叶绿素得率, 确定叶绿素提取的最佳破壁助剂浓度, 试验结果见表 2。

表 2 助剂浓度对微波萃取叶绿素的影响

Table 2 The effects of different density of cell wall crack agent on the microwave extraction

乙醇含量/%	20	40	60	80	100
叶绿素含量/(mg/g)	4.44c	4.97b	5.67a	4.68b	4.32cd

从表 2 看出, 随着助剂乙醇浓度的增加, 叶绿素得率迅速上升, 在助剂乙醇浓度 60% 是达到最高, 紧接着叶绿素得率下降。因为水的气化潜热是 2260 KJ/kg, 乙醇的气化潜热是 843 KJ/kg, 随着乙醇含量增加, 细胞内汽化的乙醇越来越多, 细胞壁破碎更加充分, 叶绿素扩散阻力减小, 所以叶绿素的得率随乙醇浓度的增加而迅速增加; 但叶绿素不稳定, 当乙醇浓度继续增加时, 乙醇汽化后, 物料温度升至 80 °C 以上, 叶绿素变质, 得率随之下降。根据试验结果分析乙醇浓度 60% 时叶绿素得率较佳。

2.1.3 微波功率选择

在 285 W、308 W、508 W、655 W、770 W 的微波功率下破壁, 按照 1.2 试验方法, 研究不同辐照功率的叶绿素得率, 试验结果见表 3

表 3 不同微波功率对微波萃取叶绿素的影响

Table 3 The effect of different microwave power on the microwave extraction

辐照功率/W	285	308	508	655	770
叶绿素含量/(mg/g)	4.54b	4.65b	5.16ab	5.48a	5.21ab

从表 3 看出, 叶绿素得率先升高后降低, 当功率为 655 W 时叶绿素得率最高, 与功率 285 W、308 W 的叶绿素得率差异显著, 与功率 508 W、770 W 的叶绿素得率差异不显著。当微波所释放的能量小于细胞破碎所需能量

时, 叶绿素得率随微波功率增大而增大, 当微波所释放的能量大于细胞破碎所需能量时, 微波功率对叶绿素得率影响不大。

2.1.4 辐照时间选择

在最佳的微波功率下分别辐照 5s、10s、15s、20s、25s、30s, 按照 1.2 试验方法, 研究不同辐照时间的叶绿素得率, 试验结果见表 4。

表 4 不同辐照时间对微波萃取叶绿素的影响

Table 4 The effect of different irradiation time on the microwave extraction

辐照时间/s	5	10	15	20	25	30
叶绿素含量/(mg/g)	2.16d	3.69c	4.25b	5.56a	5.35b	5.19c

从表 4 看出, 随着辐照时间的延长, 叶绿素得率先增大后减小, 辐照时间 20s 时提取率最高; 因为随着辐照时间的增加, 细胞破碎的越来越多, 后期的浸取越充分; 当辐照一定时间后, 细胞破碎完全, 浸取效果达到最高; 继续辐照后, 由于微波热效应, 叶绿素在热的条件下会分解失绿, 导致得率降低, 所以选择 20s 为最佳辐照时间。

2.1.5 萃取剂浓度选择

表 5 不同乙醇浓度对微波萃取叶绿素的影响

Table 5 The effect of different ethanol concentration on the microwave extraction

乙醇浓度/%	60	70	80	90	100
叶绿素含量/(mg/g)	4.25d	4.73c	5.05b	5.57a	5.20b

本试验选用不同浓度的乙醇溶液作为萃取剂。按乙醇浓度 60%、70%、80%、90%、100% 加入溶剂, 按照 1.2 试验方法, 研究不同的萃取剂乙醇浓度下叶绿素得率, 试验结果见表 5。

从表 5 看出, 随着乙醇浓度升高, 叶绿素提取率先升高后下降, 乙醇浓度 90% 时叶绿素提取率最大。萃取剂的极性对萃取效率有很大的影响^[8], 当乙醇浓度 90% 时, 较适合对叶绿素的提取和溶解。

2.1.6 料液比选择

按料液比 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 加入溶剂, 按照 1.2 试验方法, 研究不同物料比条件下叶绿素得率, 试验方法同 1.2, 试验结果见表 6。

表 6 料液比微波萃取叶绿素的影响

Table 6 The effect of solid-liquid ratio on the microwave extraction

料液比	1:10	1:15	1:20	1:25	1:30
叶绿素含量/(mg/g)	3.13d	4.27c	4.85b	5.56a	5.56a

从表 6 看出, 随着料液比增加, 叶绿素提取量也随之增加。当料液比较小时, 由于乙醇量较小, 叶绿素在提取液的浓度增长得比较快, 溶剂中的叶绿素与细胞中的叶绿素很容易形成传质平衡, 叶绿素的提取量较少; 随着乙醇量增加, 叶绿素传质平衡右移, 从细胞中向提取液中扩散, 叶绿素的提取量增加。当乙醇量超过一定比例后, 细胞内的叶绿素大部分被萃取出来, 这时再加入乙醇效果就不明显, 提取叶绿素的量增势趋于平缓; 乙醇用量过大, 造成浪费, 同时对后续叶绿素的浓缩增加能耗, 所以从提取量 and 经济考虑料液比 1:25 为宜。

2.2 微波萃取花椰菜叶片叶绿素的正交试验结果与分析

表 7 微波萃取叶绿素 $L_{16}(4^5)$ 正交试验因素水平表

Table 7 The factors and levels of $L_{16}(4^5)$ orthogonal experimental of Chlorophyll extraction by microwave

水平	因素			
	A (破壁助剂浓度/%)	B (辐照时间/s)	C (萃取剂浓度/h)	D [料液比/(1/X)]
1	40	15	70	1:15
2	60	20	80	1:20
3	80	25	90	1:25
4	100	30	100	1:30

根据单因素试验结果可知破壁助剂浓度、辐照时间、萃取剂浓度和料液比对试验结果的影响是最大的, 所以选取这 4 个因素作为正交试验的 4 因素, 设置 4 水平进行 $L_{16}(4^5)$ 正交试验, 确定最佳的提取条件, 正交试验因素水平

表见表7, 正交试验结果见表8。

表 8 微波萃取叶绿素 L₁₆(4⁵) 正交试验结果表

Table 8 The L₁₆(4⁵) orthogonal experimental results of microwave extraction

试验号	A	B	C	D	叶绿素得率/(mg/g)
1	40	15	70	1:15	4.35
2	40	20	80	1:20	4.52
3	40	25	90	1:25	4.88
4	40	30	100	1:30	4.32
5	60	15	80	1:25	4.91
6	60	20	70	1:30	5.61
7	60	25	100	1:15	5.27
8	60	30	90	1:20	6.84
9	80	15	90	1:30	4.85
10	80	20	100	1:25	5.37
11	80	25	70	1:20	5.44
12	80	30	80	1:15	5.27
13	100	15	100	1:20	5.34
14	100	20	90	1:15	5.26
15	100	25	80	1:30	4.93
16	100	30	70	1:25	5.21
k ₁	4.52	4.86	5.15	5.04	82.38
k ₂	5.66	5.19	4.91	5.54	
k ₃	5.23	5.13	5.46	5.09	
k ₄	5.19	5.41	5.07	4.93	
R	1.14	0.55	0.55	0.61	
较优水平 主次因素	A ₂ B ₄ C ₃ D ₂ A>D>B>C				

由表 8 极差分析可知, 对微波萃取花椰菜叶片叶绿素得率影响最大的因素是 A, 即破壁助剂浓度; 其次是 D, 即料液比对微波萃取花椰菜叶片叶绿素得率影响仅次于破壁助剂浓度; 辐照时间 B 对微波萃取花椰菜叶片叶绿素得率影响也有一定影响; 对微波萃取花椰菜叶片叶绿素得率影响最小的是因素 C 萃取剂浓度。从正交试验直观结果可知, 最佳条件为 A₂B₄C₃D₂, 即破壁助剂乙醇浓度 60%, 辐照时间 30 s, 萃取剂乙醇浓度 90%, 料液比 1:20。最佳提取条件是正交试验中的第 8 组试验, 其得率 6.84 mg/g, 远大于试验组合中的任何一组, 可见是微波萃取花椰菜叶片中叶绿素的最优提取条件。

2.3 对照试验结果分析

在不采用微波处理且其它条件均与正交试验结果得出的最佳提取条件相同的情况下进行对照试验, 得到的叶绿素得率为 4.22 mg/g, 显著低于正交试验最优组合叶绿素得率 6.84 mg/g, 可见微波处理后显著提高了花椰菜叶片叶绿素的提取效率。

3 结论

3.1 通过单因素试验确定的微波萃取花椰菜叶片叶绿素的最佳试验条件: 花椰菜叶片粉碎目数 60 目、破壁助剂乙醇浓度 60%、微波功率 655 W、辐照时间 20 S、萃取剂乙醇浓度 90%、料液比 1:25。

3.2 由正交试验结果可得到微波萃取苜蓿叶绿素的最优试验条件: 破壁助剂乙醇浓度 60%, 辐照时间 30 s, 萃取剂乙醇浓度 90%, 料液比 1:20。最佳提取条件是正交试验中的第 8 组试验, 其得率 6.84 mg/g, 显著高于对照试验

叶绿素得率为 4.22 mg/g。

3.3 微波辅助萃取法与传统浸取法相比, 具有很大的优越性, 主要表现在节省提取时间、产品叶绿素提取率较传统的提取方法提高 62.2%。

参考文献

- [1] 古瑜,毛英伟,赵前程,等.花椰菜(*Brassica oleraceavar. botrytis*)抗黑腐病差异表达 cDNA 片段的克隆及功能的初步研究[J].南开大学学报,2008,41(4):42-48
- [2] 王晓飞,郭海蓉,李志春,等.微波辅助提取甘蔗糖厂滤泥中叶绿素的初探[J].现代食品科技,2008,24(1):59-63
- [3] 孙丽芳,刘邻渭,唐丽丽.微波提取芦苇叶类黄酮的工艺研究[J].现代食品科技,2010,26(12):1375-1379
- [4] 任清国.微波辅助萃取蚕沙中叶绿素及叶绿酸铜钠的研究[D].辽宁,大连理工大学,2005
- [5] 段光明.叶绿素含量测定中 Amon 公式的推导[J].植物生理学通讯 1992,28(3):221-222
- [6] 贾莉萍,雷建飞.天然产物活性成分提取中微波辅助萃取技术的应用[J].中国中医药信息杂志,2006,13(12):100
- [7] Huang R H, Hao J Y, Wang P Y. Study of microwave extraction of orris root [J]. Food Chem, 2000, 17(11): 640- 642
- [8] 张成,贾绍义.微波萃取技术及其应用[J].化学工业与工程,2004,21(6):445