

膜分离技术纯化花生衣中的原花色素

刘志强^{1,2}, 张初署¹, 孙杰¹, 于丽娜¹, 张岩², 王世清², 杨庆利^{1,*}

(1.山东省花生研究所, 山东 青岛 266100; 2.青岛农业大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266109)

摘要:以花生衣的原花色素提取液为原料, 研究不同孔径的膜组件(NF-500、HPS-1、PS-5、PS-10)纯化原花色素提取液的效果。确定最佳纯化效果的膜组件, 以及其不同操作压力、操作温度对纯化花生衣中原花色素得率和纯度的影响。结果表明: 最佳纯化膜组件为 HPS-1 超滤组件, 其操作压力 0.54MPa, 操作温度 25℃, 在此条件下, 原花色素得率 13.3%、纯度 85.8%。

关键词: 原花色素; 花生衣; 膜分离

Membrane Separation Technique for Purifying Proanthocyanidins from Peanut Skin

LIU Zhi-qiang^{1,2}, ZHANG Chu-shu¹, SUN Jie¹, YU Li-na¹, ZHANG Yan², WANG Shi-qing², YANG Qing-li^{1,*}

(1. Shandong Peanut Research Institute, Qingdao 266100, China ;

2. College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qiangdao 266109, China)

Abstract: The proanthocyanidin-rich extract from peanut skin was purified and condensed by membrane separation technique. The purification effects of membrane modules with different pore sizes (NF-500, HPS-1, PS-5 and PS-10) on the extract were assessed. Collectively considering product yield and purity, the optimal purification conditions were using HPS-1 module at a trans-membrane pressure of 0.54 MPa and an operating temperature of 25 °C. Under such purification conditions, the yield and purity of purified proanthocyanidin were up to 13.3% and 85.8%, respectively.

Key words: proanthocyanidin; peanut skin; membrane separation

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)20-0183-04

花生衣为豆科植物花生种皮, 红棕色膜质, 味甘、微苦、性平, 有止血散瘀和消肿之功效, 在《本草纲目》和《中华药典》等书中均有记载^[1-3]。花生衣中含有丰富的原花色素, 其中 50% 左右为生物活性较高的低聚物^[4]。原花色素作为天然抗氧化剂, 以其极强的清除自由基能力和心血管系统活性在药品、保健品和化妆品中越来越受到人们的欢迎^[5-6]。但是花生衣原花色素粗提液中含有蛋白质、糖类杂质^[7-9], 这些成分的存在不仅影响色素的纯度, 还影响其储藏的稳定性; 同时未经纯化的花生衣原花色素达不到食品加工对其纯度要求。因此对原花色素提取液进行纯化才能达到贮藏和食品加工的要求。

膜分离是一种新兴的生化分离技术, 是指借助膜的选择渗透作用, 在外界能量或化学位差的推动下对混合物中溶质和溶剂进行分离、分级、提纯和富集, 广泛

应用于化工、食品、医药及废水处理等领域^[10-12]。与传统分离技术相比, 膜分离法不会发生相变, 耗能少, 不消耗化学试剂和添加剂, 不会污染产品, 而且膜分离生产过程可在常温封闭回路中进行, 适合处理热敏性物质同时避免氧气氧化有效物质。该法在天然色素的提取中得到应用^[13-15]。本研究以花生衣的原花色素提取液为原料, 从膜组件的膜通量、原花色素得率和纯度角度出发, 探讨膜分离的过程所需最佳膜孔径及该孔径下分离的最佳工作条件, 为花生衣中原花色素的提取提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂与仪器

花生衣 青岛东生集团股份有限公司; 原花色素 (≥98%) 上海融禾医药科技有限公司; 香草醛(分析纯)

收稿日期: 2010-06-21

基金项目: 国家“863”计划项目(2007AA10Z189; 2006AA10A114); 农业部公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-0140); 山东省自主创新重大科技专项(2006GG1107009)

作者简介: 刘志强(1984—), 男, 硕士研究生, 主要从事农产品加工及贮藏研究。E-mail: liuzhiqiang_1984@126.com

*通信作者: 杨庆利(1979—), 男, 副研究员, 博士, 主要从事功能食品研究。E-mail: rice407@sohu.com

天津博迪化工; 盐酸、甲醇、无水乙醇(均为分析纯)。

RO-NF-UF-4050/4100/4010 实验用膜分离装置/超滤器 上海摩速科学器材有限公司; 膜组件(NF-500 芳香聚酰胺膜、HPS-1 聚砜膜、PS-5 聚砜膜、PS-10 聚砜膜、截留分子质量分别为 500、1000、5000、10000D, 膜面积为 0.1m²); 冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司; SHZ-3 循环水多用真空泵 上海沪西分析仪器厂; SHA-B 双功能水浴恒温振荡器 金坛市杰瑞尔电器有限公司; VDRTEX-5 漩涡混合器 海门市其林贝尔仪器制造有限公司; FZ102 型微型植物粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司; TU-1800S 紫外分光光度计 北京普析通用仪器有限公司; TE212-L 电子天平 德国赛多利斯股份有限公司; HH-4 数显恒温水浴锅 国华电器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 原花色素提取液制备

将花生衣在粉碎机中粉碎, 按照 1:20(g/mL)的比例加入石油醚 30℃ 恒温水浴脱脂 5h, 之后进行抽滤, 将得到的滤渣在通风橱中除去残留的石油醚, 得脱脂花生衣^[16]。采用超声波辅助法提取脱脂花生衣中原花色素, 提取条件: 超声波功率 120W、提取温度 35℃、提取时间 5min、料液比 9.24(g/mL)、乙醇体积分数 55%。

将得到的原花色素提取液减压过滤除去残渣, 滤液在 30℃ 下真空旋转蒸发, 待浓缩液的体积为原体积的 1/5 时, 对其进行冷冻, 之后进行真空冷冻干燥得到原花色素粉末。

1.2.2 原花色素测定及标准曲线的制作

采用香草醛-盐酸法测定提取液中的原花色素。取样液 1.0mL, 放入试管中, 加入 4g/100mL 香草醛-甲醇溶液 3.0mL 混合, 再加入 1.5mL 浓盐酸(质量分数为 36%~38%), 立即混匀。室温下显色 15min 左右, 在 500nm 波长处测定吸光度, 4g/100mL 香草醛-甲醇溶液做空白对照, 避光保存。

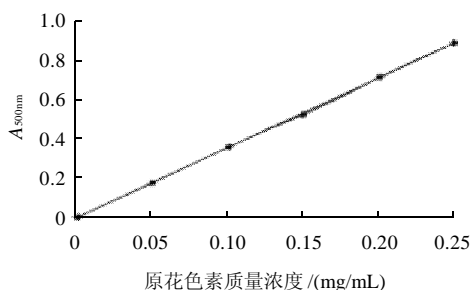


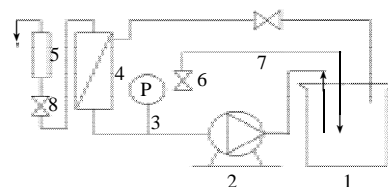
图1 原花色素标准曲线图

Fig.1 Standard curve of proanthocyanidins

精确称取原花色素标准品 10.0mg, 定容于 10mL 容量瓶中, 再进行一定倍数的稀释, 配制出 0.05、0.10、

0.15、0.20、0.25mg/mL 质量浓度原花色素标准液。采用香草醛-盐酸法测定吸光度, 绘制出原花色素质量浓度与吸光度的关系曲线, 见图 1。并计算出回归方程: $A=3.5018C-0.0025$ ($R^2=0.9998$), 式中: A 为吸光度; C 为原花色素质量浓度(mg/mL)。

1.2.3 膜分离装置



1.原料液槽; 2.输液泵; 3.压力表; 4.膜过滤组件;
5.流量计; 6.循环阀; 7.浓液阀; 8.流量计阀。

图2 RO-NF-UF-4050/4100/4010 实验用膜分离装置/超滤器
Fig.2 RO-NF-UF-4050/4100/4010 laboratory membrane separation device/ultra-filtration instrument

本实验采用上海摩速科学器材有限公司生产的 RO-NF-UF-4050/4100/4010 实验用膜分离装置/超滤器(图 2)。操作方法为样品液经输液泵输入膜分离组件, 以切向流的方式通过膜组件, 分为透过液和截留液, 在压力驱动下分别从膜分离柱外腔的透过口和循环口流出。

1.2.4 原花色素得率及纯度的计算

原花色素得率计算: $W=m_1/m_2$

式中: W 为原花色素得率%; m_1 为纯化后原花色素质量/mg; m_2 为称量脱脂花生衣的质量/mg。

原花色素纯度计算: $n=CVN/m_1$

式中: n 为原花色素纯度%; C 为原花色素质量浓度/(mg/mL); V 为溶液体积/mL; N 为稀释倍数; m_1 为纯化后原花色素质量/mg。

1.2.5 膜通量的计算

膜通量的计算式: $J=\Delta V/(S \cdot \Delta t)$

式中: J 为膜通量/(L/(m²·h)); ΔV 为取样时间内渗透液体积/L; S 为膜面积/m²; Δt 为取样时间/h。

2 结果与分析

2.1 膜组件的选择

采用 4 种不同规格的膜组件(NF-500、HPS-1、PS-5、PS-10, 截留分子质量分别为 500、1000、5000、10000D)对相同温度、相同体积、相同浓度的原花色素提取液进行浓缩纯化实验。从表 1 可以看出, 4 种不同规格的膜组件对花生衣原花色素提取液纯化效果。原花色素提取液经过 4 种膜组件纯化后所得原花色素纯度均大于未经纯化处理的 45.6%, 因为 4 种膜组件孔径不同, 对原花色素提取液除杂效果不同, 孔径越小, 纯化效

果越好,但是得率也会随之变小。PS-10 纯化原花色素得率最高为 19.6%,但是纯度最低,为 58.6%,得到的原花色素含有较多杂质;PS-5 和 HPS-1 纯化原花色素的得率相近分别为 12.1% 和 14.2%,而 HPS-1 所得原花色素纯度为 84.5%,远高于 PS-5 所得原花色素的纯度为 68.4%,说明 HPS-1 将一部分分子质量在 1000~5000D 一些糖类、色素等杂质有效地去掉,原花色素得率没有发生明显变化,可以推测花生衣中原花色素分子质量小于 5000D。NF-500 和 HPS-1 纯化原花色素的纯度相近为 86.7%,说明两种膜组件都可以除去绝大部分大分子蛋白质、多糖等,由于提取液中含有一些小分子糖类物质,所以进一步显著提高原花色素的纯度有难度,而 HPS-1 原花色素得率为 12.1%,显著高于 NF-500 的 8.1%,说明花生衣中原花色素的分子质量在 1000D 左右,膜组件 NF-500 的原花色素得率明显较低,是因为其截留分子质量过小,将一部分原花色素截留下。从原花色素得率和纯度总体角度进行选择,所以 HPS-1 为纯化原花色素最佳膜组件。

表 1 不同孔径膜组件纯化原花色素效果

Table 1 Effect of membrane modules with different pore sizes on purification efficiency of proanthocyanidins

膜组件	NF-500	HPS-1	PS-5	PS-10	未采用膜组件
原花色素得率/%	8.1	12.1	14.2	19.6	23.1
原花色素纯度/%	86.7	84.5	68.4	58.6	45.6

2.2 膜分离工艺参数的确定

2.2.1 操作压力的确定

对 20℃、800mL、质量浓度 5.90mg/mL 的原花色素提取液在不同压力下进行浓缩、纯化,考察不同操作压力对提取液膜通量、原花色素得率和纯度的影响。结果见图 3。

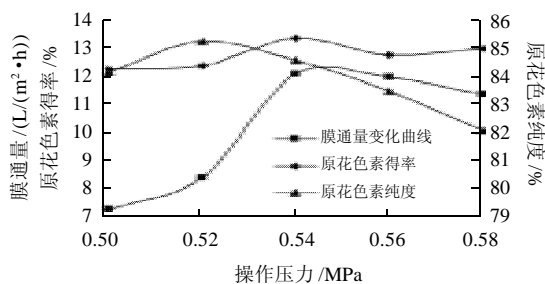


图 3 操作压力对膜通量、原花色素得率和纯度的影响

Fig.3 Effect of trans-membrane pressure on membrane flux, yield and purity of proanthocyanidins

超滤过程是以压力为驱动力,其大小会直接影响膜组件的通透性。图 3 数据表明,操作压力在 0.50~0.54MPa 时,膜通量由 7.27L/(m²·h)上升至 12.1L/(m²·h),

在 0.54MPa 之后膜通量略有下降。因为在开始阶段随操作压力增大,膜通量随之增大;操作压力继续增加,经过超滤浓缩使原料溶液的浓度加大,致使浓差极化加剧,逐步形成凝胶层,膜通量趋于极限值,所以不再随压力的增大而增大,另一方面,随着凝胶层的积蓄加厚,阻力增大,致使膜通量反而会有下降的趋势,而且压力越高,凝胶层形成的速度越快,压力过大,膜甚至会被挤压而导致严重堵塞。尽管较低的压力能减缓堵塞,但是膜通量过小会影响生产效率。综合考虑各项因素,操作压力选择 0.54MPa。

从图 3 可知,膜组件操作压力对花生衣中原花色素得率和纯化效果。操作压力在 0.50~0.54MPa 原花色素的得率随之压力的增加有由 12.3% 上升至 13.4%,在 0.54MPa 之后略有下降,可能因为随着压力增加,浓差极化加剧,凝胶层出现及固化,导致原花色素透过率降低。原花色素纯度在 82.1%~85.3% 之间,在 0.52MPa 处最大为 85.3%,当操作压力为 0.54MPa 时纯度为 84.6%,呈降低趋势。原花色素的纯度在 0.52MPa 和 0.54MPa 处相差很小,同时从提取液膜通量和原花色素得率角度考虑,故操作压力为 0.54MPa 最为合适。

2.2.2 操作温度的确定

对 0.52MPa、800mL、质量浓度 5.90mg/mL 的色素提取液在不同温度下进行浓缩,考察不同操作温度对提取液膜通量、原花色素得率和纯度的影响。结果见图 4。

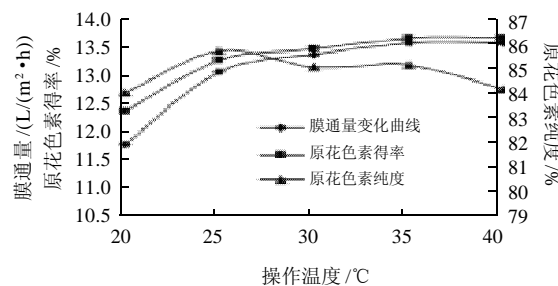


图 4 操作温度对膜通量、原花色素得率和纯度的影响

Fig.4 Effect of operating temperature on membrane flux, yield and purity of proanthocyanidins

从图 4 可知,操作温度在 20~40℃,膜通量由 11.8 L/(m²·h)上升至 13.7L/(m²·h),呈逐渐增加趋势,因为温度升高时,扩散系数和传质系数增大,相应会减弱膜表面的浓差极化,故膜通量增加;但是原花色素是一类温度过高易分解的物质,高温可以使膜通量增加,同时也会使原花色素发生分解,使有效成分减少。综合考虑膜的性能,料液稳定性以及操作方便,采用 25℃。

从图 4 可知,膜组件操作温度对花生衣中原花色素得率和纯化效果的影响。操作温度为 20~25℃时,原花色素得率 12.4% 升为 13.3%,上升趋势明显,可能

因为温度升高,膜表面的浓差极化减弱,膜材料微观布朗运动加剧,透过物增加,所以原花色素得率增加;在25℃后,原花色素得率趋于平缓。操作温度为20~25℃时,原花色素的纯度由84.1%升至85.8%,之后呈下降趋势,可能因为随着温度继续升高,膜材料布朗运动加剧,使瞬间单位体积的小孔机率增加,造成膜的截留性能下降,一些分子质量较大的物质没有被膜组件截留下来,所以原花色素的纯度降低。从提取液膜通量、原花色素得率及纯度的角度考虑,故采用25℃。

2.2.3 膜分离法与传统溶剂萃取法纯化花生衣中原花色素的比较

膜分离法:超声波辅助提取法得到花生衣原花色素提取液,采用膜组件为HPS-1超滤组件,在其操作压力0.54MPa,操作温度25℃条件下对花生衣中原花色素提取液进行纯化,得到滤液真空旋转蒸发到其原体积的1/5,再进行真空冷冻干燥,原花色素得率为13.3%,纯度为85.8%。

传统溶剂萃取法:超声波辅助提取法得到花生衣原花色素提取液,对提取液进行真空旋转蒸发(经蒸发去掉乙醇),再用乙酸乙酯在酸性环境下(pH3.5~4.0)对浓缩液浸提(3次)后进行干燥,原花色素得率为3.2%,纯度为59.6%。

与传统溶剂萃取法相比,膜分离法比传统溶剂萃取法原花色素得率提高了10.1个百分点,纯度提高了26.2个百分点。

3 结 论

采用膜分离技术对花生衣原花色素提取液进行处理,纯化花生衣中的生物活性物质——原花色素,研究4种不同截留分子质量的膜过滤组件对原花色素的纯化效果,从原花色素得率和纯度角度考虑,HPS-1(截留分子质量1000D)纯化效果最好。

研究了膜组件HPS-1操作压力、操作温度对膜通量

及对原花色素得率和纯度的影响,结果表明:膜过滤最佳条件为压力0.54MPa、温度25℃,花生衣原花色素得率13.3%,其纯度85.8%。与传统溶剂萃取法相比,原花色素得率提高了10.1个百分点,纯度提高了26.2个百分点。膜分离纯化原花色素在得率和纯度都得到显著增高,纯化效果明显。

参 考 文 献:

- [1] 赵志强,万书波,束春德.花生加工[M].北京:中国轻工业出版社,2001.
- [2] 曹凯光,潜学基,史建红.从花生红衣皮中提取红衣粉的研究[J].食品工业科技,1995,17(5):21-23.
- [3] 陈杰,徐鹤龙,方志伟.花生红衣的研究与开发应用[J].广东农业科学,2007(8):80-81.
- [4] 王峰.黑花生衣色素的研究[D].长沙:湖南农业大学,2007.
- [5] SANONER P, GUYOT S, MARNET N, et al. Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.)[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47(12): 4847-4853.
- [6] PATAKI T, BAK I, KOVACS P, et al. Grape seed proanthocyanidins improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rat hearts[J]. Am J Clin Nutr, 2002, 75(5): 894-899.
- [7] 张红梅.花生衣红色素的提取、性质及其应用的研究[D].无锡:江南大学,2005.
- [8] 王峰.黑花生衣色素的研究[D].长沙:湖南农业大学,2007.
- [9] 张秀尧,凌罗庆,戴荣兴.花生衣的化学成分研究[J].中国中药杂志,1990,15(6):36-38.
- [10] 陈少洲,陈芳.膜分离技术与食品加工[M].北京:化学工业出版社,2005.
- [11] 孟祥河,潘秋月,邵平,等.酶解膜分离两步分离乳清中 β -乳球蛋白的研究[J].农业工程学报,2008,24(5):280-283.
- [12] 张晓平,董银卯,刘永国,等.中空纤维膜分离燕麦蛋白工艺及膜清洗方案[J].农业工程学报,2010,26(3):332-340.
- [13] 李媛媛,高彦祥.膜分离技术纯化栀子黄色素的研究[J].食品科学,2006,27(6):113-117.
- [14] 陈渝,李志远,侯小桢.膜分离技术在菠萝汁澄清中的应用研究[J].食品工业科技,2005,26(9):63-66.
- [15] 卢艳民,周梅村,郑华,等.超滤膜精制胭脂虫红色素的研究[J].食品科学,2008,29(9):196-198.
- [16] 朱凤,张初署,杨庆利,等.微波辅助提取花生衣原花色素工艺优化[J].食品科学,2009,30(20):89-93.