

基于因素最少化的槟榔多酚错流提取条件研究

蒋晨凤, 杨大伟*, 高晓婷

(湖南农业大学 食品科技学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 有效提高槟榔多酚提取率, 采用多种溶剂体系进行提取, 探讨最佳提取溶剂。根据错流浸取工艺理论设计了料液比与浸取级数, 并在单因素试验的基础上进行正交优化设计, 最终确定了槟榔中多酚提取的最佳工艺条件。结果表明, 最佳提取剂为混合溶剂(甲醇:丙酮:水=1:2:2) (V:V), 料液比为1:20 (g:mL), pH值为4.0, 在70℃下提取100 min, 提取次数为2, 槟榔多酚提取率达到34.46 mg/g。

关键词: 槟榔; 多酚; 错流浸取; 正交试验

中图分类号: TS255.36

文献标识码: A

文章编号: 0254-5071(2015)09-0087-05

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2015.09.021

Cross-flow extraction conditions of *Areca catechu* polyphenol based on the least factor

JIANG Chenfeng, YANG Dawei*, GAO Xiaoting

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: In order to improve the polyphenol extraction rate, *Areca catechu* polyphenol was extracted by different extraction solvent systems to explore the optimal extraction solvent. The material/liquid ratio and extractive grades were designed based on the theory of multistage cross flow extraction process. In addition, on the basis of single factors test, the optimal polyphenol extraction condition was determined by orthogonal test. The results showed that the optimal conditions for the extraction of *A. catechu* polyphenol were as follows: mixed solvent (methanol:acetone:water=1:2:2) (V:V) as extraction solvent, material/liquid ratio 1:20 (g:ml), pH 4.0, extraction time 100 min, temperature 70℃, extraction times 2. Under this condition, the extraction efficiency was 34.46 mg/g.

Key words: *Areca catechu*; polyphenol; cross extraction; orthogonal tests

槟榔 (*Areca catechu* Linnaeus) 属棕榈科 (Arecaceae) 槟榔亚科 (Arecoideae) 槟榔族 (Arecinae) 槟榔属 (*Areca*)^[1], 2011年中国海南槟榔种植面积达79 232 hm²^[2]。它是我国四大南药之一, 具有抗氧化、抗菌、抗抑郁、抗衰老等生理活性, 而这些生理活性均与槟榔多酚有关^[3-6]。植物多酚因其生理功能的多样性, 已经成为人们研究的热点内容, 目前, 植物多酚的提取普遍是通过综合多种因素以获得最佳条件, 然而因素越多, 各因素以及因素之间的相互作用对试验结果的影响越复杂, 最佳提取条件越难获得。本研究运用错流浸提工艺理论直接设计和推导出料液比与提取次数, 减少了实验因素, 降低了试验的复杂性, 研究槟榔多酚的最佳提取条件, 为槟榔多酚和植物多酚的提取研究提供理论与实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

烟熏槟榔果(去核粉碎过40目筛): 由湖南宾之郎食品有限公司提供。

没食子酸标准品(色谱纯): 中国药品生物制品检定

所; 甲醇、丙酮、钨酸钠、钼酸钠、磷酸、硫酸锂、液溴、浓盐酸、碳酸钠均为分析纯: 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

FW177中药粉碎机: 天津市泰斯特仪器有限公司; CP214电子分析天平: 上海豪斯仪器有限公司; B-260恒温水浴锅: 上海惠海电器设备有限公司; TGL-16台式电动离心机: 常州市华普达教学仪器有限公司; 722s可见分光光度计: 湖南省计量检测研究所; UV-2450紫外可见分光光度计: 日本岛津公司。

1.3 试验方法

1.3.1 槟榔总酚含量的测定

(1) 测定波长的选择

分别取没食子酸标准溶液1 mL, 槟榔酚提取液0.5 mL, 加入2.0 mL Folin-酚试剂^[7]并充分摇匀, 1 min后加入10 mL 10%的碳酸钠溶液, 并定容至50 mL, 室温静置1 h后, 以空白为对照, 用紫外可见分光光度计在400~900 nm范围内进行波长扫描, 根据呈色化合物的吸收曲线选择测定波长。

(2) 没食子酸标准曲线的绘制

收稿日期: 2015-08-08

基金项目: 食用槟榔品质提升与槟榔文化研究(1017DS0400)

作者简介: 蒋晨凤(1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物食品加工。

*通讯作者: 杨大伟(1967-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品工程与农产品综合利用与开发。

参照文献[7]绘制没食子酸标准曲线。

(3) 槟榔总酚含量的计算

准确吸取200 μL槟榔提取液于50 mL容量瓶中,加入2.0 mL Folin-酚试剂并充分摇匀,1 min后加入10 mL 10%的碳酸钠溶液,定容,室温静置1 h后于最大吸收波长下测定吸光度值,根据标准曲线回归方程计算总酚含量。总酚含量计算公式如下:

$$Y = \frac{(A-b) \times N \times V}{1\,000 \times a \times M}$$

式中:Y为总酚含量,mg/g;A为吸光度值;b为标准曲线截距;N为稀释倍数;V为溶剂体积,mL;a为标准曲线斜率;M为槟榔粉末质量,g。

1.3.2 提取溶剂的选择

(1) 不同体积分数甲醇提取剂对槟榔总酚含量的影响

精确称取1.00 g 槟榔烟果粉末于50 mL带塞试管中,分别加入25 mL体积分数分别为0%、20%、40%、60%、80%、100%的甲醇溶液,在40 ℃提取1 h,过滤后测定其总酚含量。每个水平重复3次。

(2) 不同体积分数丙酮提取剂对槟榔总酚含量的影响

精确称取1.00 g 槟榔烟果粉末于50 mL带塞试管中,分别加入25 mL丙酮体积分数分别为0%、20%、40%、60%、80%、100%的溶液,在40 ℃提取1 h,过滤后测定其总酚含量。每个水平重复3次。

(3) 不同比例混合溶液(甲醇:丙酮:水)提取剂对槟榔总酚含量的影响

精确称取1.00 g 槟榔烟果粉末于50 mL带塞试管中,分别加入25 mL混合溶剂,甲醇:丙酮:水的体积比分别为1:1:3、1:2:2、1:3:1、2:1:2、3:1:1、1:1:1,在40 ℃提取1 h,过滤后测定其总酚含量。每个水平重复3次。

1.3.3 多级错流浸取级数及料液比的设计

采用解析法推导错流浸取理论级数^[9]。通过实际操作确定底流量,设定残留率,推导并计算不同料液比条件下的错流浸取理论级数。浸提级数的计算如下:

$$\frac{1}{R} = (a_1 + 1) (a + 1)^{n-1}$$

$$a = \frac{V_0}{L}; a_1 = \frac{V_1}{L}$$

式中:R为残留率,%;a为溢流底流比;a₁为第一级溢流底流比;n为浸取级数;V₁为第一级溢流体积,mL;V₀为单级加入的溶剂体积,mL;L为底流液体体积,mL。

1.3.4 正交试验优化槟榔总酚提取条件

选定最佳提取溶剂、料液比以及浸取级数,在此条件下进行时间(40 min、60 min、80 min、100 min、120 min)、温度(40 ℃、50 ℃、60 ℃、70 ℃、80 ℃)和pH值(2.0、3.0、4.0、5.0、6.0)3个单因素分析。在单因素试验结果的基础上,以

总酚得率为指标,用L₉(3⁴)设计进行正交试验优化提取条件^[10],因素与水平见表1。

表1 提取条件优化正交试验因素与水平
Table 1 Factors and levels of orthogonal experiments for extraction conditions optimization

水平	A 时间/min	B 温度/℃	C pH值
1	90	60	3.0
2	100	65	4.0
3	110	70	5.0

2 结果与分析

2.1 测定波长的选择

按照1.3.1的方法,测定没食子酸及槟榔提取液最大吸收波长,绘制出的吸收曲线分别如图1和图2所示。

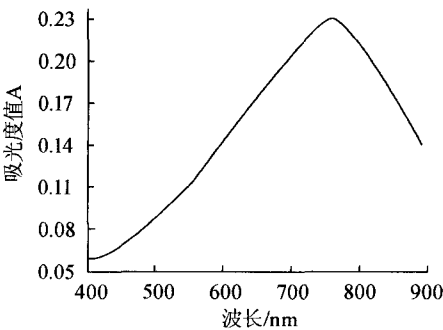


图1 没食子酸溶液吸收光谱
Fig. 1 Absorption spectrum of gallic acid solution

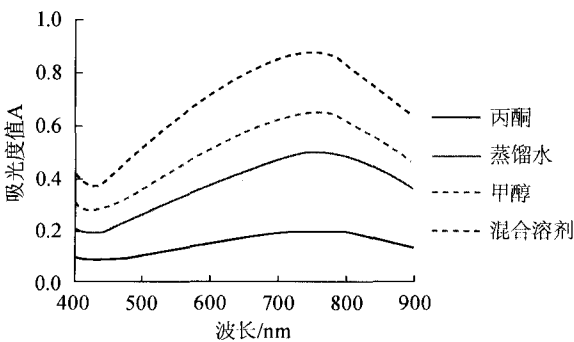


图2 槟榔提取液吸收光谱
Fig. 2 Absorption spectrum of A. catechu extract

由图1可知,没食子酸标准溶液经显色后的最大吸收波长在765 nm。4种曲线分别代表提取溶剂为纯丙酮、蒸馏水、纯甲醇和混合溶剂(甲醇:丙酮:水=1:2:2, V/V)条件下槟榔酚提取液的吸收曲线见图2。由图2可知,4种溶剂提取条件下的槟榔酚提取液经显色后的最大吸收波长均在765 nm左右,与没食子酸标准溶液基本一致,因此选择765 nm作为测定波长。

2.2 没食子酸标准曲线绘制

按照1.3.1的方法在765 nm波长下测定吸光度值,以没食子酸质量浓度(x)为横坐标,吸光度值(y)为纵坐标,绘制没食子酸标准曲线如图3所示。由图3可知,标准曲线回归方程: $y=0.094\ 0x+0.028\ 3$,相关系数 $R^2=0.999\ 1$,表明没食子酸质量浓度在0~6.24 mg/L范围内与吸光度值线性关系良好。

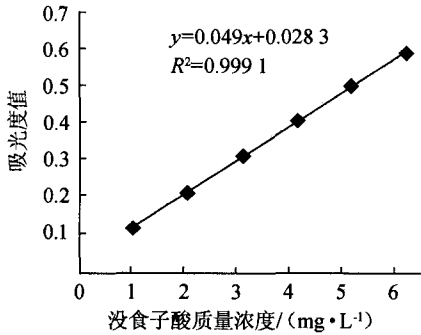


图3 没食子酸标准曲线
Fig. 3 Standard curve of gallic acid

2.3 提取溶剂的选择

2.3.1 不同溶剂及其浓度对槟榔总酚提取率的影响

不同溶剂及其体积分数对槟榔总酚提取率的影响如图4所示。

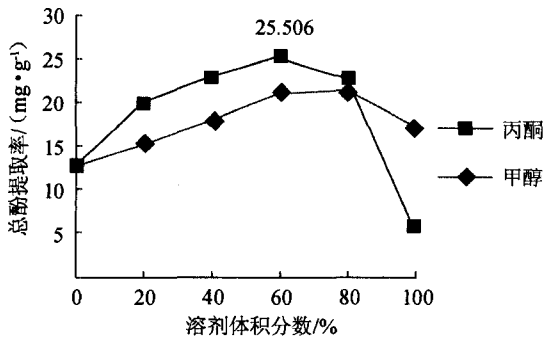


图4 不同溶剂及其浓度对总酚提取率的影响
Fig. 4 Effect of different solvent and concentration on extraction rate of total polyphenols

由图4可知,水和两种纯溶剂提取槟榔总酚的提取率均较低,其中纯丙酮提取总酚效果最差,而两种有机溶剂在与水的复合体系下总酚提取率较高。这可能是因为多酚常与蛋白质、多糖以及多酚分子间以氢键和疏水键形式形成稳定的分子复合物,水是多酚的良溶剂,而有机溶剂具有氢键断裂作用,因此有机溶剂与水的复合体系最适合多酚的提取^[11]。结果表明,丙酮/水溶剂体系比甲醇/水溶剂体系提取率好,体积分数为80%甲醇与体积分数为60%丙酮分别在各溶剂体系中提取率较高,其中体积分数为60%丙酮提取率最佳,当丙酮体积分数>60%时,多酚提取率呈下降趋势,原因可能是当有机溶剂浓度达到一

定程度,色素等亲脂性强的成分溶出,同时组织通透性下降,导致总酚得率下降^[12]。因此,单一溶剂提取槟榔总酚,体积分数为60%丙酮为宜。

2.3.2 混合溶剂对槟榔总酚提取率的影响

不同体积比的甲醇/丙酮/水混合溶剂对槟榔总酚提取率的影响如图5所示。

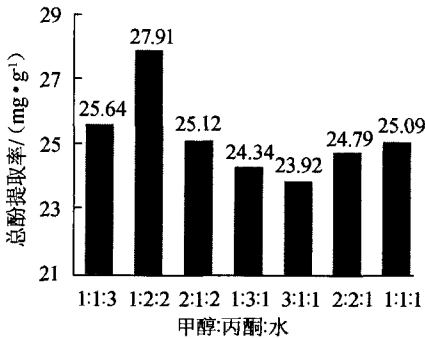


图5 混合溶剂比例对总酚提取率的影响
Fig. 5 Effect of mixed solvent ratio on extraction rate of total polyphenols

由图5可知,总酚提取率随混合溶剂中有机溶剂比例的增加呈先升高后降低的趋势,当甲醇:丙酮:水的体积比为1:2:2时总酚提取率最高,此比例混合溶剂中有机溶剂所占比例为60%,其中甲醇占20%,丙酮占40%,而同样占60%有机溶剂的混合溶剂(2:1:2)其提取率相对较低,可见丙酮比甲醇提取总酚能力更高,这也与2.3.1所得结果相符,此外,甲醇:丙酮:水的体积比为1:1:1时,总酚提取率不及体积比1:2:2,这可能也与有机溶剂所占比例有关。混合溶剂提取相比于溶剂/水体系提取效率更高,因此,选择甲醇:丙酮:水体积比为1:2:2的混合溶剂作为最佳提取溶剂。

2.4 多级错流浸取级数及料液比

设定残留率为5%,即残渣排走的总酚量与原料所含总酚量之比为5%,此时可视为总酚基本提取完全,通过试验确定当槟榔粉末质量为1.00 g时各浸取级排出的底流液为3 mL,利用公式计算出不同料液比条件下的错流浸取理论级数如表2所示。从实际操作方便性与经济效益等方面综合考虑,宜选用料液比为1:20 (g:mL),浸取级数为2,通过验证试验得出在该料液比与浸取级数条件下其残留率为4.94%,符合实验所需条件。

表2 多级错流浸取级数
Table 2 Stages of multilevel cross-flow extraction

料液比 (g:mL)	第一级溢流 底流比a ₁	溢流底 流比a	浸取级数n (理论值)	浸取级数n (实际值)
1:10	2.33	3.33	2.22	3
1:20	5.67	6.67	1.54	2
1:30	9.00	10.00	1.29	2

2.5 提取时间对槟榔总酚提取率的影响

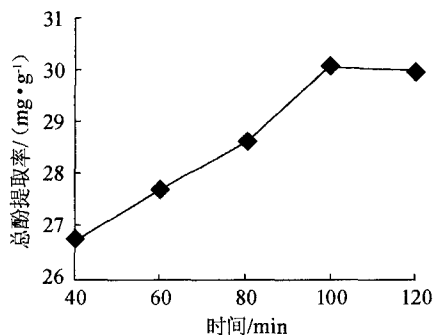


图6 提取时间对总酚提取率的影响

Fig. 6 Effect of extraction time on extraction rate of total polyphenols

以甲醇:丙酮:水=1:2:2的混合溶剂为提取剂,料液比1:20(g:mL),温度60℃,浸提级数2的条件下,分别提取不同时间,结果如图6所示。由图6可知,在100 min内随时间的增加,槟榔总酚提取率显著增加,100 min时提取率达到最大(30.14 mg/g),随后总酚提取率随时间增加而缓慢降低。这是因为在较高的温度下,随着时间的延长,多酚被逐步氧化,在实际工业生产中,提取时间太长会延长生产周期,从而增加生产成本,提取时间太短则使多酚提取不完全导致提取率低^[13]。因此,提取时间选择100 min为宜。

2.6 提取温度对槟榔总酚提取率的影响

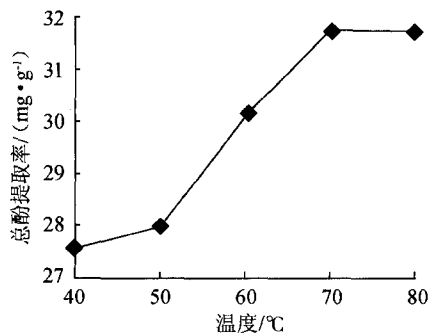


图7 提取温度对总酚提取率的影响

Fig. 7 Effect of extraction temperature on extraction rate of total polyphenols

以甲醇:丙酮:水=1:2:2的混合溶剂为提取剂,料液比1:20(g:mL),时间100 min,浸提级数2的条件下,分别在不同温度下提取,结果如图7所示。由图7可知,在50~70℃,随着温度的增加,槟榔总酚提取率迅速增加,在温度70℃时提取率达到最大(31.75 mg/g),而后随温度增加其总酚提取率变化不明显,原因可能是增加温度可软化植物组织,加速分子间的运动,从而促进多酚类物质从植物细胞中溶出^[14]。温度过高,多酚被氧化而遭到破坏,甚至使含量降低^[15],因此,提取温度选择70℃为宜。

2.7 pH值对槟榔总酚提取率的影响

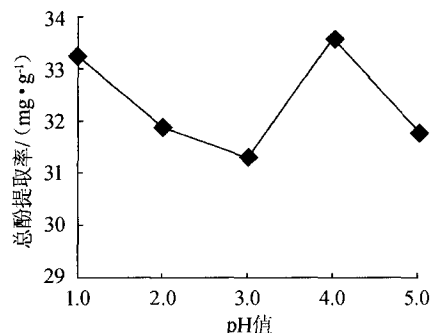


图8 pH值对总酚提取率的影响

Fig. 8 Effect of pH on extraction rate of total polyphenols

以甲醇:丙酮:水=1:2:2的混合溶剂为提取剂,料液比1:20(g:mL),时间100 min,温度70℃,浸提级数2的条件下,分别在不同pH值下提取,结果如图8所示。由图8可知,pH值为4.0时,总酚提取率达到最大(33.60 mg/g),继续增大pH值,总酚提取率降低,当pH<3.0,随着pH值的降低,总酚提取率反而增大,且提取液颜色逐渐变深,原因可能是提取液中的单宁等聚合态多酚在低pH值条件下发生降解,因此多酚提取时,提取液的pH值不能<3.0^[16],因此,提取剂pH值调节为4.0为宜。

2.8 提取条件优化正交试验

为了得到最佳提取工艺条件,对影响因素及参数进一步优化,根据以上试验结果,设计了3因素3水平的正交试验,结果与分析见表3,方差分析见表4。

表3 提取条件优化正交试验结果与分析
Table 3 Results and analysis of orthogonal experiments for extraction conditions optimization

试验号	A	B	C	空列	多酚提取率/(mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	27.42
2	1	2	2	2	34.13
3	1	3	3	3	30.22
4	2	1	2	3	32.86
5	2	2	3	1	29.47
6	2	3	1	2	30.85
7	3	1	3	2	27.58
8	3	2	1	3	29.42
9	3	3	2	1	33.09
K ₁	91.77	87.86	87.69	89.98	
K ₂	93.18	93.02	100.08	92.56	
K ₃	90.09	94.16	87.27	92.50	
k ₁	30.59	29.29	29.23	29.99	
k ₂	31.06	31.01	33.36	30.85	
k ₃	30.03	31.39	29.09	30.83	
R	1.03	2.10	4.27	0.86	

由表3可知,因素的主次顺序为 $C>B>A$,即pH值>温度>时间。最优组合为 $A_2B_3C_2$,即提取条件为时间100 min,温度70℃,pH 4.0。在此最佳条件下进行验证试验,多酚提取率为34.46 mg/g。

表4 正交试验结果方差分析

Table 4 Variance analysis of orthogonal experiments results

差异源	平方和	自由度	均方差	F值	F临界值
A	1.595	2	0.798	1.104	$F_{0.05}(2,8)=4.46$
B	7.513	2	3.757	5.196*	$F_{0.01}(2,8)=8.65$
C	35.309	2	17.655	24.419**	
误差	1.446	2	0.723		
总变异	45.863	8			

注:“*”表示对结果影响显著($P<0.05$);“**”表示对结果影响极显著($P<0.01$)。

由表4可知,因素C对槟榔总酚提取率影响极显著($P<0.01$),因素B对槟榔总酚提取率影响显著($P<0.05$),而因素A对槟榔总酚提取率影响不显著。

3 结论

在因素最少化条件下,为探讨槟榔多酚提取最佳条件,通过多级错流浸取工艺理论设计提取次数与料液比并进行实验验证,在单因素试验的基础上进行正交试验,得到最佳提取条件为:混合溶剂(甲醇:丙酮:水=1:2:2)为提取剂,料液比1:20(g:mL),浸提级数2,pH 4.0,温度70℃,时间100 min。在此最佳提取条件下,槟榔总酚的提取率为34.46 mg/g。该法不但提取率高,而且可以缩短提取时间,降低能耗,为植物功能成分的提取提供有益的借鉴。

参考文献:

- [1] 覃伟权,范海阔. 槟榔[M]. 北京:中国农业大学出版社,2010.
- [2] 王丹,庞玉新,胡璇,等. 海南省槟榔种植业发展现状及其动力分析[J]. 广东农业科学,2013(15):213-215.
- [3] ZHANG W M, LI B, HAN L. Antioxidant activities of extracts from areca (*Areca catechu* L.) flower, husk and seed[J]. *Afr J Biotechnol*, 2009, 16(8): 3887-3892.
- [4] UCHINO K, TOUKAIRIN T, KAWAGUCHI K, et al. The growth inhibition of *Streptococcus mutans* by 5'-nucleotidase inhibitors from *Areca catechu* L[J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(5): 1323-1324.
- [5] 何嘉泳,陈杰桃,辛志添,等. 槟榔壳总酚类提取物抗抑郁作用研究[J]. 中国药师,2012,15(8):18-20.
- [6] LEE K K, CHOY J J, PARK E J, et al. Anti-elastase and anti-hyaluronidase of phenolic substance from *Areca catechu* as a new anti-ageing agent[J]. *Int J Cosmet Sci*, 2001(23): 341-346.
- [7] 田文礼,孙丽萍,董捷,等. Folin-Ciocalteu 比色法测定蜂花粉中的总酚[J]. 食品科学,2007,28(2):258-260.
- [8] 宁正祥. 食品成分分析手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,1997.
- [9] 杨同舟,于殿宇. 食品工程原理[M]. 北京:中国农业出版社,2011.
- [10] 李安平,杨大伟. 食品试验设计与分析[M]. 武汉:华中科技大学出版社,2013.
- [11] 石碧,狄莹. 植物多酚[M]. 北京:科学出版社,2000.
- [12] 周向军,高义霞,李娟娟,等. 乳苣多酚提取工艺及抗氧化研究[J]. 中国酿造,2011,30(9):118-121.
- [13] 赵国建,席东亮,段江莲. 核桃青皮多酚提取工艺优化[J]. 陕西农业科学,2013(4):5-7.
- [14] 李西柳,庞明,王俊儒,等. 柿子渣中多酚的提取工艺及其抗氧化性研究[J]. 西北植物学报,2010,30(7):1475-1480.
- [15] 张春梅,陈朝银,赵声兰,等. 核桃内种皮多酚提取工艺及其体外抗氧化性的初步研究[J]. 中国酿造,2014,33(7):130-134.
- [16] 任亚梅,李光辉,许永涛. 石榴籽多酚的提取及其种壳仁抗氧化活性研究[J]. 食品科学,2012,33(4):31-35.

《中国酿造》杂志广告征订启事

《中国酿造》创刊于1982年,是由中国商业联合会主管,中国调味品协会及北京食品科学研究院主办的综合性科技月刊(国内统一刊号CN 11-1818/TS,国际标准刊号ISSN 0254-5071,广告许可证号:京宣工商广字第0033号)。全国各地邮局均可订阅,邮发代号:2-124;国外总发行:中国国际图书贸易总公司,国外发行代号:BM1437。《中国酿造》历次被评为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、《中国知网》重点收录期刊、《万方数据库》全文收录期刊、《中文科技期刊数据库》来源期刊、中国学术期刊网络出版总库收录期刊、美国《乌利希期刊指南》(UPD)收录期刊、英国《食品科学文摘》(FSTA)收录期刊、英国《国际农业与生物科学研究中心》(CABD)收录期刊、美国《化学文摘》(CA)收录期刊、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)收录期刊、中国科学评价研究中心(RCCSE)数据库收录期刊,也是学位与研究生教育的中文重要期刊。

《中国酿造》重点报道调味品、酿酒、食品微生物、食品添加剂、发酵乳制品、生物工程技术、生物化工、生物质能源的开发利用等研究方向的新工艺、新技术、新设备、分析检测、安全法律法规及标准、保鲜与贮运技术、综合利用、质量保障体系等方面的基础理论、应用研究及综述文章。设有“研究报告”、“专论综述”、“创新借鉴”、“经验交流”、“分析检测”、“产品开发”、“酿造文化”、“海外文摘”等栏目。

《中国酿造》发行历史长、范围广、行业知名度高,广告影响面大,效果甚佳,而且价格合理,是一个理想的宣传媒体。欢迎新老广告客户来函、来电、来人联系办理广告业务,我们将提供一切方便,竭诚为您服务。

《中国酿造》是您企业品牌推广、品质提升、技术交流、产品推介的最佳平台。

邮箱:zgzzzz@163.com 网站:www.chinabrewing.net.cn 电话:010-83152738/83152308

《中国酿造》杂志社