

Hartley 方法优化菠萝皮渣多酚化合物提取工艺

李 俶^{1,2}, 沈佩仪², 吴华星², 刘成梅^{2,*}, 李积华¹

(1. 农业部热带作物产品加工重点开放实验室, 广东 湛江 524001;

2. 南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 在单因素试验基础上, 采用 SAS 9.2 中的响应曲面分析-Hartley 方法对菠萝皮渣中的多酚类化合物提取工艺进行优化, 建立提取温度、提取时间、乙醇体积分数和液料比 4 个因素与总多酚得率(Y)之间的编码水平回归模型, 并得出各因素对菠萝皮渣总多酚得率的影响顺序为提取温度>提取时间>液料比>乙醇体积分数。在提取温度 48.4℃、提取时间 73.6min、乙醇体积分数 41.6%、液料比 46.8:1(mL/g)的条件下, 菠萝皮渣总多酚得率最高, 可达 7.77mg/g, 与理论值 7.80mg/g 基本吻合。响应面法所得的优化提取条件工艺参数可靠, 可用于菠萝皮渣中多酚产品的开发。

关键词: 菠萝皮渣; 多酚; 响应曲面; Hartley 方法; 提取

Optimizing the Extraction of Polyphenols from Pineapple Peel Residue by Hartley's Experimental Design Method

LI Ti^{1,2}, SHEN Pei-yi², WU Hua-xing², LIU Cheng-mei^{2,*}, LI Ji-hua¹

(1. Key Laboratory of Tropical Crop Products Processing, Ministry of Agriculture, Zhanjiang 524001, China;

2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: In the present study, process optimization for the extraction of polyphenols from pineapple peel residue with ethanol aqueous solution was carried out by Hartley's experimental design method combined with response surface analysis based on a series of one-factor-at-a-time experiments. A regression model for total polyphenols yield as a function of four factors, namely temperature, extraction time, ethanol concentration and liquid-to-material ratio was built. The importance of the four factors affecting total polyphenols yield declined in the following sequence: temperature, extraction time, liquid-to-material ratio and ethanol concentration. Extraction at 48.4 °C for 73.6 min with a 46.8-fold volume of 41.6% ethanol aqueous solution yielded the most total polyphenols, reaching 7.77 mg/g, which was basically in accordance with the model-predicted value. In conclusion, the optimized extraction process is reliable and can be used for the development of products based on pineapple peel polyphenols.

Key words: pineapple peel residue; polyphenols; response surface analysis; Hartley's method; extraction

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)04-0131-04

菠萝又名凤梨, 是目前华南外销水果之一, 现已成为华南主产区农村经济的一大支柱产业^[1], 2008 年广东菠萝产量为 55.59 万吨^[2]。但果实由于不易贮存, 除极少部分直接销售外, 大部分用于加工成罐头和果脯^[3]。菠萝果实加工产生的副产物——果皮渣, 占 50%~60%, 若不加以利用而遗弃于河流、公路两旁或加工厂附近, 既浪费水果资源, 又严重污染环境。

已有研究表明, 多酚类化合物具有较强的清除自由基能力、抗肿瘤、抗菌、防癌, 抗辐射、预防心血管疾病、延缓衰老等生物活性^[4]。菠萝皮中的总多酚高于其果肉^[5], 且价格低廉, 因此是良好的多酚提取原料。易湘茜等^[6]通过高效液相色谱法测定了菠萝皮中含

有的多酚种类, 发现其富含有益于心肺健康的儿茶素和可用于治疗白细胞减少症的阿魏酸^[7]。关于对菠萝多酚化合物的提取分离的研究报道较少, 本实验利用二次正交旋转组合设计对菠萝皮渣中多酚化合物提取工艺进行优化, 为菠萝皮渣中总多酚化合物的开发和利用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菠萝鲜果 江西南昌。

没食子酸标准品(分析纯) 遵义市第二化工厂; 乙醇(分析纯) 天津市永大化学试剂有限公司; 福林酚试

收稿日期: 2010-06-22

作者简介: 李俶(1971—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为天然产物化学。E-mail: liti@ncu.edu.cn

* 通信作者: 刘成梅(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品科学。E-mail: chengmeiliu@yahoo.com.cn

剂;无水碳酸钠(分析纯) 天津市大茂化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

DFY-500 型粉碎机 大德药剂有限公司; T6 新世纪型紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限公司; AR1140 型电子天平 Ohaus 公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备

将菠萝果皮渣用去离子水冲洗干净后,于烘箱中 70℃ 干燥,粉碎过 60 目筛备用。

1.3.2 标准曲线的制备

精密称量 0.2500g 没食子酸,用 5mL 乙醇溶解,定容至 50mL,分别移取 0.5、1.0、1.5、2.5、5.0mL 到 50mL 容量瓶中,用去离子水定容。从上述不同浓度的标准溶液中分别移取 0.5mL 加入到 50mL 容量瓶中,再分别加入 30mL 去离子水,混合,加入 2.5mL 福林酚试剂,混合,在 5~8min 内,加入 7.5mL 20% 碳酸钠溶液,混合,定容。将上述标准溶液在 20℃ 条件下放置 2h 后,以蒸馏水为空白参比,在 760nm 波长处测定吸光度。以标准样品质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.3.3 总多酚含量的测定

准确移取 0.50mL 多酚提取液于 50mL 容量瓶中,按照 1.3.2 节操作进行,在 760nm 波长处测定吸光度,并根据回归方程计算提取液中菠萝皮渣总多酚的含量(以没食子酸计)。

$$\text{菠萝总多酚得率}/(\text{mg/g}) = \frac{A_1 \times V_1}{m}$$

式中: A_1 为菠萝皮渣中总多酚含量/(mg/mL); V_1 为提取液总体积/mL; m 为样品质量/g。

1.4 菠萝总多酚提取的单因素试验^[8-10]

1.4.1 提取温度对菠萝皮渣总多酚提取的影响

精确称量 1000.0mg 菠萝皮渣粉加入 50mL 锥形瓶中,加入体积分数 50% 乙醇,液料比 30:1,分别置于 20、30、40、50、60、70℃ 恒温水浴中浸提 60min 后,过滤,测定过滤后提取液中的总多酚含量。

1.4.2 提取时间对菠萝皮渣总多酚提取的影响

精确称量 1.0g 菠萝皮渣粉加入 50mL 锥形瓶中,加入体积分数 50% 乙醇,液料比 30:1,置于 40℃ 条件下浸提,分别在 20、40、60、80、100、120min 后取出过滤。测定过滤后提取液中的总多酚含量。

1.4.3 乙醇体积分数对菠萝皮渣总多酚提取的影响

精确称量 1000.0mg 菠萝皮渣粉加入 50mL 锥形瓶中,按 30:1 液料比加入 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 乙醇溶液,在 40℃ 条件下浸提 60min。取

出提取液用滤纸过滤后测量总多酚含量。

1.4.4 液料比对菠萝皮渣总多酚提取的影响

精确称量 1000.0mg 菠萝皮渣粉加入 50mL 锥形瓶中,分别加入 10、20、30、40、50mL 50% 乙醇溶液,在 40℃ 条件下浸提 60min。取出提取液用滤纸过滤后测量总多酚含量。

1.5 二次正交旋转组合 Hartley 设计

根据单因素试验的结果,以提取温度、提取时间、乙醇体积分数和液料比为考察因素,设计四因素五水平 Hartley 试验,进一步优化提取条件。因素水平如表 1 所示。

表 1 二次正交旋转组合 Hartley 设计试验因素水平编码表
Table 1 Coded values and corresponding actual values of variables in quadratic orthogonal rotary combination design

水平	因素			
	X_1 提取温度/℃	X_2 提取时间/min	X_3 乙醇体积分数/%	X_4 液料比(mL/g)
-1.6818	23.2	6.4	33.2	13.2:1
-1	30	20	40	20:1
0	40	40	50	30:1
1	50	60	60	40:1
1.6818	56.8	73.6	66.8	46.8:1

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

得出其线性回归方程为 $y = 1.0705x + 0.0037$ (x 为没食子酸含量/(mg/mL), y 为吸光度), $R^2 = 0.9997$ 。

2.2 单因素试验

2.2.1 提取温度的影响

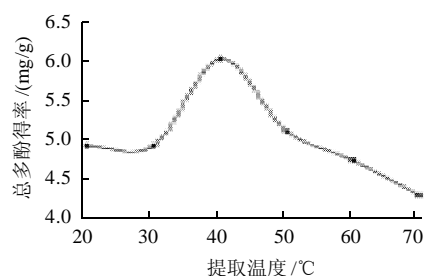


图 1 提取温度对菠萝皮渣总多酚得率的影响
Fig.1 Effect of temperature on total polyphenols yield

由图 1 可知,在相同的乙醇体积分数、液料比、提取时间条件下,随温度的升高,菠萝皮渣总多酚得率逐渐增加,而到 40℃ 后得率逐渐降低。这是由于温度越高,多酚溶出加快,温度过高导致多酚分解,含量降低。因此温度最佳为 40℃。

2.2.2 提取时间的影响

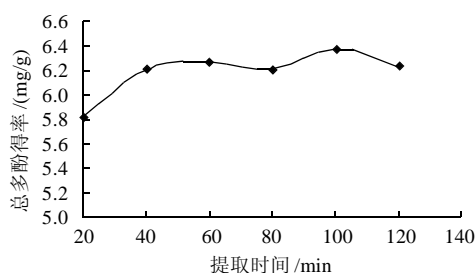


图2 提取时间对菠萝皮渣总多酚得率的影响

Fig.2 Effect of extraction time on total polyphenols yield

由图2可知,在相同的乙醇体积分数、液料比、提取温度条件下,随提取时间的增加,菠萝皮渣总多酚得率逐渐增加,而40min后,得率逐渐趋于稳定。考虑到实验效率和成本,确定最佳提取时间为40min。

2.2.3 乙醇体积分数的影响

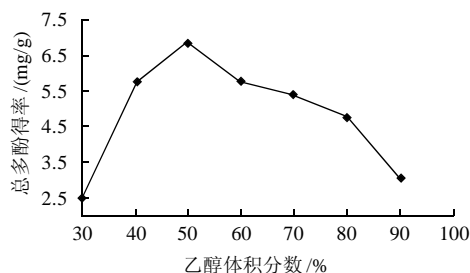


图3 乙醇体积分数对菠萝皮渣总多酚得率的影响

Fig.3 Effect of ethanol concentration on total polyphenols yield

由图3可知,在液料比、提取时间、温度相同的情况下,随提取液乙醇体积分数的升高,菠萝皮渣总多酚得率呈明显增大趋势,至体积分数50%时,达到最大之后又不断减少。这主要是由于多酚在植物体内与蛋白质、多糖类结合,乙醇可以破坏它们间氢键而促进多酚溶出;同时多酚是极性物质,乙醇的极性小于水,根据相似相容原理,过高的乙醇体积分数不利于多酚的溶解浸出。

2.2.4 液料比的影响

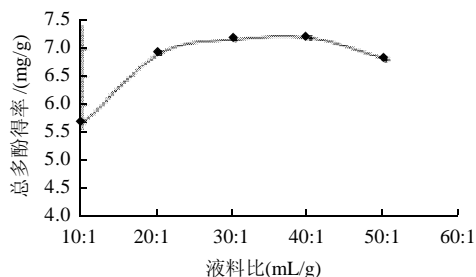


图4 液料比对菠萝皮渣总多酚得率的影响

Fig.4 Effect of liquid-to-material ratio on total polyphenols yield

由图4可知,在乙醇体积分数、提取时间、温度

相同的情况下,随液料比的增大,菠萝皮渣总多酚得率增加,至液料比40:1时,达到最大之后又逐渐减少。这主要是液料比过大,溶出杂质增加,有效成分并未增加。因此液料比最佳为30:1。

2.3 二次正交旋转组合 Hartley 设计^[11]

使用SAS自动生成菠萝皮渣中总多酚化合物的二次正交旋转组合Hartley试验组合及其结果,见表2。

表2 二次正交旋转组合Hartley设计试验及结果

Table 2 Quadratic orthogonal rotary combination design scheme and corresponding experimental results

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	得率/(mg/g)		拟合误差/(mg/g)
					实测值	拟合值	
1	-1	-1	-1	1	6.3624	6.3204	0.0420
2	1	-1	-1	1	6.8508	6.8307	0.0201
3	-1	1	-1	-1	6.0552	6.0132	0.0420
4	1	1	-1	-1	6.9568	6.9367	0.0201
5	-1	-1	1	-1	6.2993	6.2573	0.0420
6	1	-1	1	-1	7.1071	7.0870	0.0201
7	-1	1	1	1	6.8508	6.8088	0.0420
8	1	1	1	1	7.1889	7.1688	0.0201
9	-1.6818	0	0	0	6.3497	6.4196	-0.0700
10	1.6818	0	0	0	7.5049	7.5227	-0.0178
11	0	-1.6818	0	0	6.2651	6.3090	-0.0439
12	0	1.6818	0	0	6.9977	7.0416	-0.0439
13	0	0	-1.6818	0	6.4342	6.4781	-0.0439
14	0	0	1.6818	0	6.6596	6.7035	-0.0439
15	0	0	0	-1.6818	6.6652	6.7091	-0.0439
16	0	0	0	1.6818	7.3589	7.4028	-0.0439
17	0	0	0	0	7.1104	7.1744	-0.0640
18	0	0	0	0	7.2795	7.1744	0.1051
19	0	0	0	0	7.1668	7.1744	-0.0076
20	0	0	0	0	7.3358	7.1744	0.1614
21	0	0	0	0	7.0822	7.1744	-0.0921

2.3.1 回归方程的建立及参数重要性分析

表3 回归系数及变量分析

Table 3 Significant test of each regression coefficient of the built regression model

因素	F值	P值
X_1	117.2183	< 0.0001
X_2	21.41532	0.0036
X_3	2.027512	0.2043
X_4	19.20377	0.0047
X_1^2	6.156948	0.0477
X_1X_2	0.031679	0.8646
X_1X_3	0.594867	0.4698
X_1X_4	7.775512	0.0316
X_2^2	37.132	0.0009
X_2X_3	2.747597	0.1485
X_2X_4	1.938031	0.2133
X_3^2	50.77534	0.0004
X_3X_4	7.094973	0.0373
X_4^2	2.090923	0.1983
总模型	19.82549	0.0007

通过 SAS 分析(表 3), 得到提取温度、提取时间、乙醇体积分数和液料比 4 个因素与菠萝皮渣总多酚得率之间的代码水平(-1,1)多元二次回归方程式:

$$Y = 7.17437 + 0.327943X_1 + 0.217797X_2 + 0.067015X_3 + 0.206245X_4 - 0.07185X_1^2 - 0.007044X_1X_2 - 0.030524X_1X_3 - 0.110356X_1X_4 - 0.176448X_2^2 - 0.101929X_2X_3 + 0.085605X_2X_4 - 0.206333X_3^2 - 0.163793X_3X_4 - 0.041871X_4^2$$

此外通过 SAS 分析可得: 模型变异系数 $CV=1.6338$, 误差平方根 $RMSE=0.1119$, $R^2=0.9788 > 0.8$, 说明得到的回归方程在本试验中有实际意义, 而本方程的显著性检验发现 $P=0.0007$, 达到极显著, 模型失拟的 $P=0.4014 > 0.05$, 说明失拟不显著, 说明方程可用于对模型的预测。同时通过对回归系数的显著性检测可知, 影响总多酚得率因素的主次顺序为提取温度>提取时间>液料比>乙醇体积分数, 其中提取温度对提取得率影响达到极显著水平, 提取时间和液料比的影响达到显著水平, 乙醇体积分数一次项的影响不显著, 但其二次项影响达到极显著。

2.3.2 单因素效应分析

单独分析各个因素的影响, 将其他 3 个因素设为零水平, 得到各个因素与总多酚得率的效应方程为:

$$Y_1=7.17437 + 0.327943X_1 - 0.07185X_1^2; Y_2=7.17437 + 0.217797X_2 - 0.176448X_2^2; Y_3=7.17437 + 0.067015X_3 - 0.206333X_3^2; Y_4=7.17437 + 0.206245X_4 - 0.041871X_4^2$$

由各效应方程作图, 见图 5。由图 5 可知, 在 23.2~56.8℃ 范围内, 得率随着温度的上升而提高, 但是考虑到多酚为热敏性物质, 温度过高会造成多酚的氧化, 因此提取温度不宜过高; 在 6.36~73.70min 之间, 随着时间的增加, 多酚的得率出现先上升后趋平的趋势, 在 40min 时趋近最大值; 当提取剂中乙醇体积分数在 50% 时, 菠萝皮渣多酚提取量达到最大值, 高于或低于这个体积分数, 都随着偏离的增大呈现下降的趋势; 而随着液料比的增加, 提取得率呈现增加的趋势。

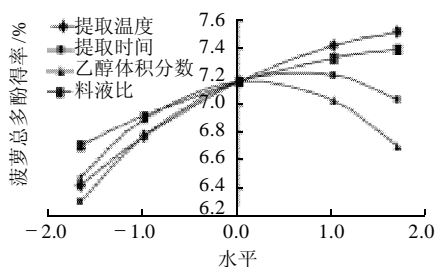


图 5 单因素效应分析图

Fig.5 Graph of single factor analysis

2.3.3 菠萝皮渣总多酚提取的优化与验证

通过使用 SAS, 在所测范围条件下, 得出最佳的

提取工艺为提取温度 48.4℃、提取时间 73.6min、乙醇体积分数 41.6%、液料比 46.8:1(mL/g), 菠萝皮渣的提取量最高可达 7.77mg/g。验证值为 7.80mg/g, 与理论值基本吻合, 进一步验证了 SAS 软件 Hartley 方法的精确性。

3 结 论

3.1 单因素试验结果表明, 使用乙醇溶液为提取剂, 菠萝多酚提取工艺的最优条件是提取温度 40℃、提取时间 40min、乙醇体积分数 50% 和液料比 30:1。

3.2 通过使用 SAS 软件中的 Hartley 方法, 得到提取时间、提取温度、乙醇体积分数和液料比 4 个影响因素与总菠萝多酚得率之间的水平编码回归方程:

$$Y = 7.17437 + 0.327943X_1 + 0.217797X_2 + 0.067015X_3 + 0.206245X_4 - 0.07185X_1^2 - 0.007044X_1X_2 - 0.030524X_1X_3 - 0.110356X_1X_4 - 0.176448X_2^2 - 0.101929X_2X_3 + 0.085605X_2X_4 - 0.206333X_3^2 - 0.163793X_3X_4 - 0.041871X_4^2$$

模型变异系数 $CV=1.6338$, 误差平方根 $RMSE=0.1119$, $R^2=0.9788$, 失拟不显著, 这些都表明该模型能在试验范围内较准确的预测总多酚的得率。

3.3 在试验范围内, 各因素对菠萝皮渣总多酚得率的影响大小顺序为提取温度>提取时间>液料比>乙醇体积分数, 其中提取温度和提取时间对提取得率影响达到极显著水平, 液料比的影响达到显著水平, 乙醇体积分数一次项的影响不显著, 但其二次项影响达到极显著。

3.4 通过 SAS 分析可知, 在提取温度 48.4℃、提取时间 73.6min、乙醇体积分数 41.6%、液料比 46.8:1 条件下, 菠萝皮渣的提取量最高可达 7.77mg/g。验证值为 7.80mg/g, 与理论值基本吻合。

参考文献:

- [1] 董定超, 李玉萍, 梁伟红, 等. 中国菠萝产业发展现状[J]. 热带农业工程, 2009, 33(4): 13-17.
- [2] 徐一菲, 周灿芳, 万忠, 等. 菠萝产业发展现状分析[N]. 广东科技报, 2010-2-26.
- [3] 杨礼富, 谢贵水. 菠萝加工废料—果皮渣的综合利用[J]. 热带农业科学, 2002, 22(4): 69-70.
- [4] 金莹, 孙爱东. 植物多酚的结构及生物学活性的研究[J]. 中国食物与营养, 2005(9): 27-30.
- [5] 王志远, 李清彪, 杨翠娟, 等. 八种水果中的多酚含量及其抗氧化性[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(6): 1042-1043; 1023.
- [6] 易湘茜, 韦保耀, 滕建文, 等. 高效液相色谱法测定菠萝中多酚类化合物[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(2): 99-101.
- [7] 高向东, 吴梧桐. 当归及其成分阿魏酸对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国生化药物杂志, 1994, 15(2): 107-110.
- [8] 贾冬英, 李尧, 姚开, 等. 香蕉皮中多酚的提取工艺条件研究[J]. 四川大学学报: 工程科学版, 2005, 37(11): 52-55.
- [9] 周丽丽, 李春美. 芒果多酚提取条件的研究[J]. 食品科技, 2007(3): 107-109.
- [10] 张云竹, 王芳, 谭秀霞. 番石榴中多酚物质的提取[J]. 食品研究与开发, 2007, 128(4): 40-44.
- [11] PATTERSON H D, LIPTON S. An investigation of Hartley's method for fitting an exponential curve[J]. Biometrika, 1959, 46(3/4): 281-292.