

超声波辅助萃取波罗蜜种子多酚工艺研究

周昂摺, 周巧婷, 周恩牧, 金建忠

(浙江树人大学 生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310015)

摘要: 为获得高得率的超声波辅助萃取波罗蜜 *Artocarpus heterophyllus* 种子多酚工艺, 通过单因素试验和正交试验考察了超声温度、超声时间、超声功率、乙醇浓度、料液比 5 种因素对超声波辅助萃取波罗蜜种子多酚产量的影响。结果表明, 5 种因素对波罗蜜种子多酚产量影响的大小顺序为: 乙醇浓度>超声温度>料液比> 超声时间>超声功率; 其最佳萃取工艺条件为超声温度 45℃、超声时间 10 min、超声功率 55 W、料液比 1:50 ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、乙醇浓度 60%, 在此条件下波罗蜜种子多酚产量可达 5.368 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

关键词: 超声波辅助萃取; 波罗蜜种子; 多酚; 单因素试验; 正交试验

中图分类号: TQ243; R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3776 (2020) 04-0049-05

Technology of Ultrasonic-assisted Extraction of Polyphenols from *Artocarpus heterophyllus* Seeds

ZHOU Ang-zhe, ZHOU Qiao-ting, ZHOU En-mu, JIN Jian-zhong

(College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China)

Abstract: Experiments were conducted on technology of ultrasonic-assisted extraction of polyphenols from *Artocarpus heterophyllus* seeds with different ultrasonic temperature, ultrasonic time, ultrasonic power, ethanol concentration and solid-liquid ratio. Single factor and orthogonal test on 5 factors above-mentioned demonstrated that effect of factors was ordered by ethanol concentration > ultrasonic temperature > material to liquid ratio > ultrasonic time > ultrasonic power. Experiments indicated that the optimal extraction technology was under 45℃ ultrasonic temperature, 10 min ultrasonic time, 55 W ultrasonic power, 1:50 solid-liquid ratio, and 65% ethanol concentration. The yield extracted from *A. heterophyllus* seeds was 5.368 mg/g.

Key words: ultrasonic-assisted extraction; *Artocarpus heterophyllus* seeds; polyphenol; single factor test; orthogonal test

波罗蜜 *Artocarpus heterophyllus* 为桑科 Moraceae 波罗蜜属 *Artocarpus* 植物, 是典型的热带果树, 原产于印度, 现在我国广东、广西、海南、云南、福建和四川南部的热带、南亚热带地区均有栽培^[1]。波罗蜜果肉爽脆、蜜甜、芳香味浓, 肉色橙黄鲜艳, 富含糖、蛋白质、维生素 A、维生素 C 以及人体所必须的钾、钙、锌等元素^[2]。目前, 对波罗蜜加工利用的部分主要是其果肉, 而其果皮和种子通常被当作废弃物丢弃, 这不但浪费资源, 而且对环境造成污染^[3]。波罗蜜种子呈椭圆形, 不仅富含淀粉, 还含有脂肪、挥发油、多酚、蛋白质和纤维素等, 是有待开发加工利用的新资源^[4]。目前, 对波罗蜜种子的研究主要集中在其淀粉特性及提取制备上^[4], 对其多酚的研究较少^[5]。植物多酚亦称植物单宁, 其在抗氧化、抗突变、抗肿瘤等很多方面具有突出作用和广泛的保健功能, 其中, 最重要的是抗氧化功能^[6]。现有对植物多酚的提取方法主要有溶剂提取法^[7-9]、离子沉淀法^[10-12]、超声波辅助提取法^[13-14]、微波辅助提取法^[15-16]、生物酶提取法^[17-19]、超临界 CO₂ 提取法^[21-22]等。本文

收稿日期: 2019-12-30; 修回日期: 2020-05-13

基金项目: 国家级大学生创新训练项目 (201911842013; 201711842017), 浙江树人大学大学生科技创新活动资助项目

作者简介: 周昂摺, 本科, 从事应用化学研究; E-mail: 2118577847@qq.com。通信作者: 金建忠, 教授, 从事天然产物化学研究; E-mail: hzjjz@163.com。

以波罗蜜种子为研究对象,采用超声波辅助萃取技术提取多酚,通过单因素和正交试验进行提取工艺的优化实验,以期波罗蜜种子开发新的利用方向,减少环境污染。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

没食子酸,福林酚试剂,无水 Na₂CO₃, 95%乙醇(分析纯);波罗蜜种子(购自广东湛江,为当年生种子)。

1.2 仪器与设备

LSA-E24/1200 超声波清洗器(杭州法兰特超声波科技有限公司), Evolution 201 紫外可见分光光度计(中国 Thermo), AB204-N 电子天平(美国奥豪斯)。

1.3 实验方法

1.3.1 超声波辅助萃取方法 将在 100℃干燥至恒质量的波罗蜜种子直接粉碎并过 30 目筛,获得波罗蜜种子粉末。精确称取 0.400 0 g 波罗蜜种子粉末于 25 mL 比色管中,首先固定超声时间为 40 min,料液比为 1 : 50(g·mL⁻¹), 超声功率为 85 W, 超声温度为 50℃, 改变乙醇浓度进行乙醇浓度单因素试验,当温度达到设定值时将比色管放入仪器中超声萃取,超声结束后过滤得提取液。确定最佳乙醇浓度后再依次进行其他因素的试验。

为了全面考察超声波辅助萃取波罗蜜种子多酚时各因素对其的影响,在单因素实验的基础上设计正交试验。考察超声温度(A)、超声时间(B)、超声功率(C)、料液比(D)和乙醇浓度(E)五个因素对波罗蜜种子多酚产量的影响,选用 L₁₆(4⁵)正交表,考察因素、水平及正交试验结果见表 1。

表 1 正交试验结果及分析
Table 1 Result of orthogonal test and analysis

序号	A/℃	B/min	C/W	D/(mg·mL ⁻¹)	E/%	产量/(mg·g ⁻¹)
1	35	10	55	1 : 20	60	4.426
2	35	20	65	1 : 30	65	3.859
3	35	30	75	1 : 40	70	3.729
4	35	40	85	1 : 50	75	3.446
5	40	10	65	1 : 40	75	3.211
6	40	20	55	1 : 50	70	3.968
7	40	30	85	1 : 20	65	3.404
8	40	40	75	1 : 30	60	4.041
9	45	10	75	1 : 50	65	4.926
10	45	20	85	1 : 40	60	4.594
11	45	30	55	1 : 30	75	4.050
12	45	40	65	1 : 20	70	3.750
13	50	10	85	1 : 30	70	4.042
14	50	20	75	1 : 20	75	3.701
15	50	30	65	1 : 50	60	4.564
16	50	40	55	1 : 40	65	4.244
k ₁	3.865	4.151	4.172	3.820	4.406	
k ₂	3.656	4.030	3.846	3.998	4.108	
k ₃	4.330	3.937	4.099	3.944	3.872	
k ₄	4.138	3.870	3.871	4.226	3.602	
R	0.674	0.281	0.326	0.406	0.804	

1.3.2 多酚的测定

1.3.2.1 标准曲线绘制 准确吸取 40 μg·mL⁻¹ 没食子酸标准溶液 0, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00 mL 分别置于 6 支 25 mL 具塞比色管中,依次加入 8.75 mL 的 20%福林酚试剂、5.00 mL 7.5%的 Na₂CO₃ 溶液,加水定容,放置 40 min 后以空白样品为参比溶液,在 760 nm 波长处测其吸光度。以浓度(C)为横坐标,以吸光度(A)为纵坐标绘制标准曲线,其回归方程为:

$$A = 0.021 + 0.100C, R = 0.999$$

1.3.2.2 最佳波长的选择 按 1.3.2.1 的测定方法分别测定没食子酸和波罗蜜种子多酚提取液的吸收曲线, 见图 1。由图 1 可知, 没食子酸和波罗蜜种子多酚提取液经显色反应后的光谱曲线形状相似, 均在 760 nm 处有最大吸收。所以, 测定波罗蜜种子多酚含量可以用没食子酸作为标准物质, 同时, 以 760 nm 为最佳波长。

1.3.2.3 波罗蜜种子多酚的测定 将超声波辅助萃取所得的多酚提取液置于 25 mL 容量瓶, 用水定容, 移取上述样品溶液 1.25 mL 于 25 mL 具塞比色管, 按标准曲线测定方法测定其吸光度, 由没食子酸标准溶液的线性回归方程计算出比色管中波罗蜜种子多酚提取液的浓度 C , 并计算波罗蜜种子中多酚的产量, 其方程如下:

$$\text{多酚产量 (mg} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{C \times 25 \times 25}{1.25 \times 1000 \times 0.4}$$

1.4 数据分析

图表数据统计分析用 Graphpad Prism 软件, 正交设计及分析采用正交设计助手软件。

2 结果与分析

2.1 波罗蜜种子多酚的超声波辅助萃取单因素实验

2.1.1 乙醇浓度对波罗蜜种子多酚提取量的影响 固定超声时间 40 min, 料液比 1:50, 超声功率 85 W, 超声温度 50℃, 控制乙醇浓度分别为 60%, 65%, 70%, 75%, 80% 时进行萃取, 结果见图 2。由图 2 可知, 波罗蜜种子多酚提取量随着乙醇浓度的升高呈先增加后降低的趋势, 在乙醇浓度为 60%~70% 时, 提取效果呈现上升趋势, 到 70% 时提取效果为最佳, 多酚提取产量达 $3.688 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 当乙醇浓度高于 70% 时, 提取效果逐渐下降。

2.1.2 超声温度对波罗蜜种子多酚提取的影响 固定乙醇浓度为 70%, 料液比为 1:50, 超声时间为 40 min, 超声功率为 85 W, 控制超声温度分别为 35℃, 40℃, 45℃, 50℃, 55℃ 时进行波罗蜜种子多酚提取, 结果见图 3。由图 3 可知, 随着处理温度的逐渐上升, 提取效果呈现先上升后下降的趋势, 在超声温度在 35~45℃ 时, 提取效果呈现上升趋势, 当温度达到 45℃ 时提取效果最佳, 多酚提取产量达 $3.938 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。当温度高于 45℃ 时, 提取效果呈下降趋势。这是因为温度过低, 乙醇提取波罗蜜种子多酚不完全, 但温度过高酒精挥发量增多, 使提取效果降低。

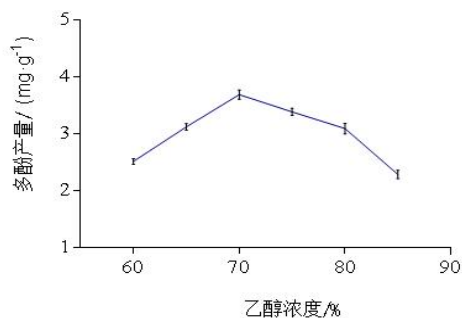


图 2 乙醇浓度对波罗蜜种子多酚提取量的影响

Figure 2 Effect of ethanol concentration on yield of polyphenols

from *A. heterophyllus* seeds

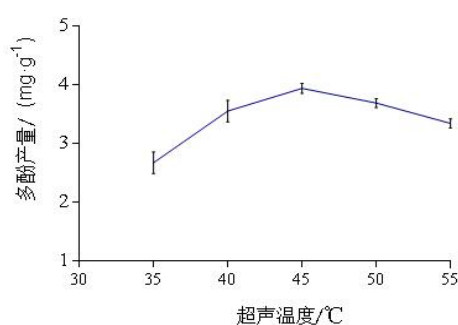


图 3 超声温度对波罗蜜种子多酚提取量的影响

Figure 3 Effect of ultrasonic temperature on yield of polyphenols

from *A. heterophyllus* seeds

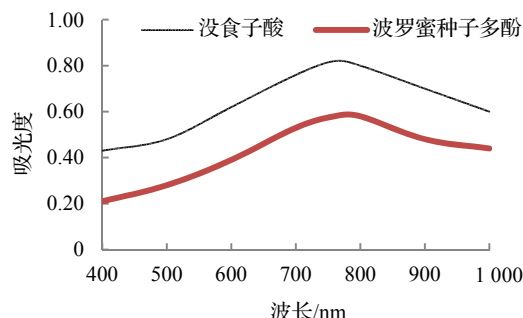


图 1 没食子酸和波罗蜜种子多酚吸收曲线

Figure 1 Absorption curves of gallic acid and polyphenols

2.1.3 料液比对波罗蜜种子多酚提取量的影响 固定超声温度为 45℃, 乙醇浓度为 70%, 超声时间为 40 min, 超声功率为 85 W, 控制波罗蜜种子粉末和乙醇的料液比分别为 1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60 时进行提取, 结果见图 4。由图 4 可知, 随着乙醇用量的增多, 提取效果呈现上升趋势, 当料液比达到 1:40 时提取效果达到最佳, 为 3.952 mg·g⁻¹。当料液比低于 1:40 时, 提取效果基本保持不变。这是因为在乙醇用量达到一定量时, 加入的乙醇所能提取出多酚的量已经达到饱和, 当乙醇用量继续增加, 料液比达到 1:40 时, 其样品中的多酚最大限度的被提取出来, 所以料液比低于 1:40 后提取效果基本不变。

2.1.4 超声时间对波罗蜜种子多酚提取量的影响 在超声温度为 45℃, 料液比为 1:40, 乙醇浓度为 70%, 超声功率为 85 W, 超声时间分别为 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min 时进行波罗蜜种子多酚提取, 结果见图 5。由图 5 可知, 随着超声时间的增加, 提取效果呈现先上升后下降的趋势, 当超声时间在 10~30 min 时, 提取效果呈现上升趋势, 当超声时间达到 30 min 时, 提取效果达到最佳, 为 4.275 mg·g⁻¹; 当超声时间超过 30 min 时提取效果有所降低, 这是因为前 30 min 是随着提取时间的延长, 其提取越完全, 但超过 30 min 后随着超声时间的增加, 其提取液中的乙醇挥发量增大, 使其提取液中的有效乙醇浓度降低, 从而使多酚提取量减少。

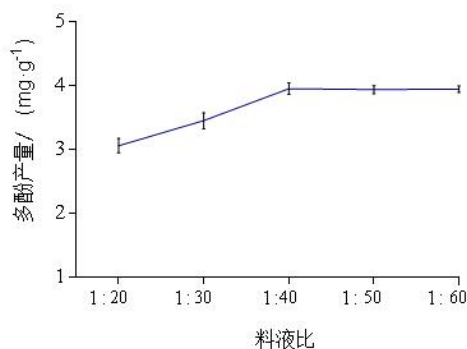


图 4 料液比对波罗蜜种子多酚提取量的影响

Figure 4 Effect of solid-liquid ratio on yield of polyphenols from

A. heterophyllus seeds

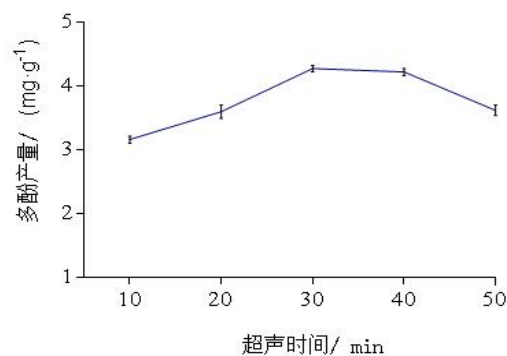


图 5 超声时间对波罗蜜种子多酚提取量的影响

Figure 5 Effect of ultrasonic time on yield of polyphenols from

A. heterophyllus seeds

2.1.5 超声功率对波罗蜜种子多酚提取量的影响 固定超声时间为 30 min, 料液比为 1:40, 超声温度为 45℃, 乙醇浓度为 70%, 改变超声功率分别为 55 W, 65 W, 75 W, 85 W, 95 W 时进行提取, 结果见图 6。由图 6 可知, 随着超声功率的增大, 空化强度增大, 多酚提取量呈现上升趋势, 当超声功率达到 65 W 时, 提取效果达到最佳, 为 5.030 mg·g⁻¹。但超声功率过高会产生大量的无用气泡, 增加散射衰减, 形成声屏障, 同时也会增加非线性衰减, 故当超声功率高于 65 W 时多酚提取量呈现下降趋势。

2.2 超声波辅助萃取波罗蜜种子多酚的正交试验

由正交试验结果 (见表 1) 表明, 波罗蜜种子多酚的超声波辅助萃取各因素对多酚产量影响程度的大小顺序为: E > A > D > C > B。最佳提取条件为 A₃B₁C₁D₄E₁, 即超声温度为 45℃、超声时间为 10 min、超声功率为 55 W、料液比为 1:50、乙醇浓度为 60%。

由表 2 的方差分析结果表明, 超声波辅助萃取各因素对多酚产量影响程度的大小顺序为: E > A > D > C > B, 与表 1 的直观分析结果一致, 且各因素的 F 值 < $F_{0.05}(3, 3)$, 表明各萃取条件对多酚产量的影响都不显著。

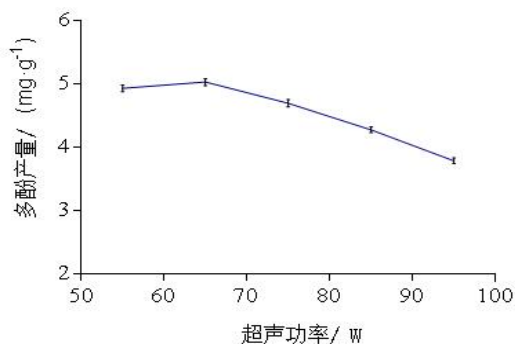


图 6 超声功率对波罗蜜种子多酚提取量的影响

Figure 6 Effect of ultrasonic power on yield of polyphenols

from *A. heterophyllus* seeds

表 2 方差分析
Table 2 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	均方差	F 值
A	1.058	3	0.353	5.944
B	0.178	3	0.059	1.000
C	0.319	3	0.106	1.792
D	0.346	3	0.115	1.944
E	1.406	3	0.469	7.899
误差	0.180	3		

注: $F_{0.05}(3, 3) = 9.28$ 。

2.3 验证试验

在正交实验所得的最佳萃取条件下重复萃取波罗蜜种子 3 次, 所得多酚的产量分别为 $5.261\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $5.395\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $5.451\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 平均产量为 $5.368\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。此提取条件与正交试验任意组对比, 均大于各组萃取量, 验证了所确定条件为最佳工艺条件。

3 结论

本文采用超声波辅助萃取了波罗蜜种子中的多酚, 通过单因素试验和正交试验考察了超声时间、超声温度、乙醇浓度、料液比、超声功率 5 种因素对波罗蜜种子多酚产量的影响。实验结果表明, 各因素对波罗蜜种子多酚产量影响的大小顺序为: 乙醇浓度 > 超声温度 > 超声功率 > 料液比 > 超声时间; 其最佳萃取工艺条件为: 超声温度 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、超声时间 10 min、超声功率 55 W、料液比 1 : 50、乙醇浓度 60%, 在此条件下波罗蜜种子多酚产量达 $5.368\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。但该工艺的料液比过低, 在工业化生产时会造成浓缩能耗过大的问题, 有待进一步研究解决。

参考文献:

[1] 谭乐和, 郑维全. 菠萝蜜种子淀粉提取及其理化性质测定[J]. 海南大学学报: 自然科学版, 2000, 18 (4): 388-390.

[2] 焦凌梅. 菠萝蜜营养成分与开发利用价值[J]. 广西热带农业, 2010 (1): 17-19.

[3] 尹道娟, 张国治, 薛慧, 等. 菠萝蜜种子主要化学成分和加工性能研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2014, 35 (1): 87-91.

[4] 杨慧强, 白新鹏, 吕晓亚, 等. 菠萝蜜种子淀粉提取工艺及其物性的研究[J]. 食品科技, 2016, 41 (03): 237-242.

[5] 王佳珺, 郭璇华. 菠萝蜜下脚料中多酚含量的分析[J]. 食品研究与开发, 2015, 33 (6): 36-39, 104.

[6] 石碧, 狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2000.

[7] 刘焕云, 刘月英, 陈延峰, 等. 莲藕皮多酚的提取及抗氧化性能研究[J]. 林产化学与工业, 2011, 31 (2): 87-90.

[8] 林文秋, 杨为海, 邹明宏. 澳洲坚果果皮不同溶剂提取物的含量和抗氧化活性[J]. 江苏农业科学, 2017, 45 (1): 171-174.

[9] 李翌, 李宏强, 陈国刚, 等. 溶剂类型对葡萄籽多酚提取及抗氧化活性的影响[J]. 食品工业, 2016, 37 (12): 122-127.

[10] 欧阳玉祝, 李雪峰, 姚懿桓. 离子沉淀法分离八月瓜果皮中的总多酚[J]. 食品科学, 2014, 35 (16): 76-79.

[11] 易灵红. 离子沉淀法提取绿茶中的茶多酚[J]. 化工技术与开发, 2013, 42 (3): 18-20.

[12] 葛宜掌, 金红. 茶多酚的离子沉淀提取[J]. 应用化学, 1995, 12 (2): 107-109.

[13] 王凯博, 逢涛, 陶丽红, 等. 废弃茶叶中茶多酚的超声波辅助提取及纯化工艺研究[J]. 云南农业大学学报: 自然科学, 2016, 31 (05): 959-966.

[14] 卢圣楼, 符家珍, 刘红, 等. 神秘果叶多酚的超声波提取工艺及其抗氧化能力[J]. 林产化学与工业, 2014, 34 (5): 145-151.

[15] 刘仙俊, 范向前, 史起鹏, 等. 燕麦总多酚的微波辅助提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37 (17): 55-59.

[16] 黄社健, 阮玉凤, 罗宝芳, 等. 微波辅助提取芒果核多酚及其抑菌活性的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35 (12): 295-298.

[17] 曾帅, 周德庆, 刘楠. 正交试验法优化酶辅助提取羊栖菜多酚工艺[J]. 南方农业学报, 2016, 47 (9): 1564-1569.

[18] 陈安徽, 巫永华, 刘恩岐, 等. 山楂叶多酚的酶法提取及抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2017, 42 (02): 203-208.

[19] 徐婕, 汤韧, 吉树臣, 等. 酶法辅助提取茶多酚的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37 (5): 86-91.

[20] 魏福祥, 曲恩超. 超临界 CO_2 从苹果渣中萃取苹果多酚的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27 (7): 60-63.

[21] 刘杰超, 张春岭, 刘慧超, 等. 超临界 CO_2 萃取枣核多酚工艺优化及其生物活性[J]. 食品科学, 2013, 34 (22): 64-69.