

# 基于多级错流提取槟榔生物碱的工艺优化

## Study on optimal conditions for extracting alkaloids from areca catechu based on multistage cross flow extraction

高晓婷 杨大伟 蒋晨凤

GAO Xiao-ting YANG Da-wei JIANG Chen-feng

(湖南农业大学食品科技学院, 湖南长沙 410128)

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

**摘要:**为了优化槟榔生物碱的提取工艺,以青果槟榔壳为原料,采用多种溶剂体系进行提取,确定最佳提取溶剂;根据多级错流浸取理论公式设计料液比和浸取级数,在单因素试验的基础上,以提取温度、提取时间、溶剂 pH 值为自变量,以槟榔生物碱提取率为指标,进行有交互的正交试验。结果表明:以水为提取剂,料液比 1:20(m:V),提取温度 60℃,提取时间 100 min, pH 值为 2, 提取 2 次, 该条件下的槟榔生物碱提取率为 7.241 7 mg/g。

**关键词:** 槟榔; 生物碱; 多级错流浸取; 工艺优化

**Abstract:** In order to optimize the extraction process of alkaloids from areca catechu, the alkaloids was extracted by varied extraction solvent systems from areca catechu shell and the optimal extraction solvent was explored. According to the theoretical formula of multistage cross flow extraction, solid to liquid ratio and extractive grades was designed. Based on the results of single-factor test, the effect of extraction temperature, extraction time, pH value on extraction rate were conducted by orthogonal test of interaction. The result showed that the extraction rate of alkaloids was 7.241 7 mg/g under the optimal conditions: taking water as the solvent, solid to liquid ratio 1:20(m:V), extraction temperature 60℃, extraction time 100 min; pH value, 2, extraction times 2.

**Keywords:** areca catechu; alkaloids; Multistage cross flow extraction; process optimization

槟榔(*Areca catechu Linnaeus*)为棕榈科植物槟榔的干燥成熟种子,又名仁频、宾门、橄榄子、青仔及榔玉等<sup>[1]</sup>,是中国热带、亚热带地区仅次于橡胶的第二大产业<sup>[2]</sup>。槟榔中含有很多有益成分,如生物碱、儿茶素、槟榔油、有机酸、脂肪

等<sup>[3]</sup>,其中最主要的是生物碱,包括槟榔碱、槟榔次碱、去甲基槟榔次碱、去甲基槟榔碱、槟榔副碱、高槟榔碱以及异去甲基槟榔碱等,均以与鞣酸结合成盐的形式存在<sup>[4]</sup>。槟榔生物碱具有灭螺驱虫、刺激交感神经,兴奋 M 胆碱受体、提神、有效延缓动脉粥样硬化、促消化等生理活性<sup>[5-8]</sup>。目前,普遍直接以氨性乙醚或乙醇来提取生物碱<sup>[9]</sup>,或对超声、微波等辅助方法的选择进行研究<sup>[10-11]</sup>。多级错流浸取实际上是多个单级浸取的组合,将前一级的底流液作为下一级的进料,并引入新鲜溶剂浸取,每级产生的溢流合并即为浸取液。浸取过程只有在溶剂相的溶质浓度小于固体相溶液中溶质浓度时才会发生,且浓度差越大,浸取效率越好。多级错流浸取每次加入的都是新鲜溶剂,能使溶质浓度差保持最大,提高浸取效率。

本研究拟先对提取溶剂进行选择,再运用多级错流浸取工艺推导出的理论公式直接设计出料液比和提取次数,以减少试验因素,简化工艺优化条件,在此基础上对槟榔生物碱的提取工艺进行优化,为槟榔或植物生物碱提取研究和生产提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料与试剂

青果槟榔:粉碎过 60 目筛,湖南宾之郎食品有限公司;  
氢溴酸槟榔碱标准品:中国药品生物制品检定所;  
溴甲酚绿:分析纯,天津市化学试剂研究所。

### 1.2 主要仪器与设备

中药粉碎机:FW117 型,天津市泰斯特仪器有限公司;  
电子分析天平:CP214 型,上海豪斯仪器有限公司;  
恒温水浴锅:DFD-700 型,上海惠海电器设备有限公司;  
离心机:80-1 型,常州市华普达教学仪器有限公司;  
可见分光光度计:722s 型,湖南省计量检测研究所。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 槟榔生物碱提取率的测定

(1)测定方法:精密吸取 1 mL 提取液置分液漏斗中,并

基金项目:校企合作项目(编号:1017DS0400)

作者简介:高晓婷(1991—),女,湖南农业大学在读硕士研究生。

E-mail:845426239@qq.com

通讯作者:杨大伟

收稿日期:2015-08-14

做空白对照。加入 pH 5.0 醋酸—醋酸钠缓冲液 4.00 mL、0.80 mg/mL 溴甲酚绿溶液 2.00 mL, 振摇, 再加入 10.00 mL 氯仿, 振摇 1 min, 静置 30 min, 分取氯仿层, 置预先放有无水硫酸钠 0.2 g 的干燥容量瓶中, 振摇, 静置, 精密吸取上清液 5 mL, 精密加入 0.01 mol/L 氢氧化钾无水乙醇液 1 mL, 在 618 nm 处测其吸光度<sup>[12]</sup>。

(2) 标准曲线的绘制: 参照文献[9]绘制氢溴酸槟榔碱标准曲线。

(3) 计算: 将测得的吸光度代入标准曲线中, 通过式(1)计算生物碱提取率。

$$Y = \frac{(A+b) \times V}{a \times M} \quad (1)$$

式中:

Y——总生物碱含量, mg/g;

A——吸光度;

b——标准曲线截距;

V——提取溶剂体积, mL;

a——标准曲线斜率;

M——槟榔粉末质量, g。

### 1.3.2 提取溶剂的选择

(1) 水、甲醇、乙醇提取对槟榔生物碱提取率的影响: 精确称取 1.00 g 青果槟榔粉末(过 60 目筛)于锥形瓶中, 分别加入 30 mL 水、甲醇、乙醇, 称定质量, 用保鲜膜和牛皮纸封好, 在 30 °C 下提取 1 h 并冷却至室温, 再称定质量, 用提取溶剂补足减失的质量, 过滤得滤液, 按 1.3.1 所述方法测定其生物碱提取率, 计算提取率。每个水平重复 3 次。

(2) 甲醇和乙醇浓度对槟榔生物碱提取率的影响: 各取 30 mL 甲醇和乙醇溶液, 其质量分数分别为 10%, 30%, 50%, 70%, 90%, 试验方法同 1.3.2(1)。

1.3.3 多级错流浸取级数及料液比的设计 参照多级逆流浸取的解析法, 推导出多级错流浸取的理论公式(式(2))<sup>[13]</sup>。

$$\frac{1}{R} = (a_1 + 1)(a + 1)^{n-1} \quad (2)$$

$$a = \frac{V}{L} \quad (3)$$

式中:

R——残留率, 是残渣排走的溶质量与原料所含溶质量之比, %;

$a_1$ ——第一级溢流底流比;

a——溢流底流比;

n——浸取级数;

V——溢流(得到的澄清提取液), mL;

L——底流(夹带少量液体的固体糊状物), mL。

将提取液放入离心管中离心, 得到排出的底流液恒为 5 mL, 设定残留率为 5%, 利用式(2)计算出不同料液比条件下的错流浸取理论级数见表 1。从计算结果可以看出, 若选用料液比 1:10(m:V), 需提取 3 次, 共需提取剂 30 mL; 若选用料液比 1:20(m:V), 需提取 2 次, 共需提取剂 40 mL; 若选用料液比 1:30(m:V), 需提取 2 次, 共需提取剂 60 mL。

表 1 多级错流浸取级数

Table 1 Grades of Multistage cross flow extraction

料液比(m:V)	a	a <sub>1</sub>	n(理论值)	n(实际值)
1:10	1	2	3.10	3
1:20	3	4	2.00	2
1:30	5	6	1.61	2

结合实际操作方便性与经济效益等因素综合考虑, 宜选用料液比为 1:20(m:V), 浸取级数为 2。

1.3.4 正交法优化槟榔生物碱提取条件 选定最佳提取溶剂、料液比以及浸取级数后, 在此条件下进行单因素试验, 并在单因素试验结果的基础上用  $L_8(2^7)$  表进行有交互作用的正交试验<sup>[14]</sup>。

(1) 提取时间对生物碱提取率的影响: 以水作为提取溶剂, 料液比 1:20(m:V), 提取两次, 固定提取温度为 60 °C, 考察不同提取时间(40, 60, 80, 100, 120 min)对槟榔生物碱提取率的影响。

(2) 提取温度对生物碱提取率的影响: 以水作为提取溶剂, 料液比 1:20(m:V), 提取两次, 固定提取时间为 100 min, 考察不同提取温度(40, 50, 60, 70, 80 °C)对槟榔生物碱提取率的影响。

(3) 提取溶剂 pH 值对生物碱提取率的影响: 以水作为提取溶剂, 料液比 1:20(m:V), 提取两次, 固定提取时间为 100 min, 提取温度为 60 °C, 考察不同提取溶剂 pH 值(2, 4, 6, 8, 10)对槟榔生物碱提取率的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 氢溴酸槟榔碱标准曲线的绘制

精密称取氢溴酸槟榔碱 10 mg, 置 200 mL 容量瓶中, 加 pH 5.0 醋酸—醋酸钠缓冲液溶解并定容, 得对照品浓度为 0.05 mg/mL。精密吸取对照品溶液 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL, 分别置于分液漏斗中, 按 1.3.1 的方法测定吸光度, 以槟榔碱量 X 为横坐标, 吸光度 Y 为纵坐标作标准曲线见图 1。

得回归方程  $y = 2.6038x - 0.0294$ ,  $R^2 = 0.9997$ , 表明槟榔生物碱在 0.052~0.156 mg 范围内具有良好的线性关系。

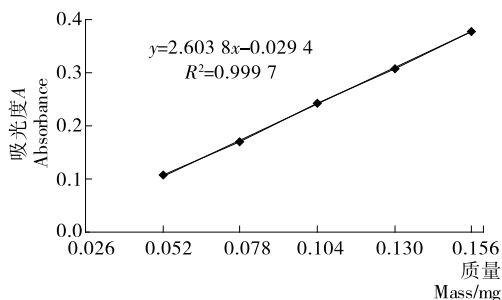
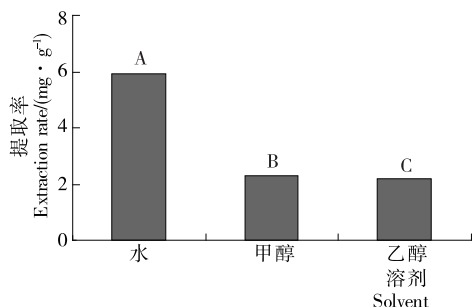


图 1 氢溴酸槟榔碱标准线

Table 1 The standard curve of areoline hydro bromide

## 2.2 提取溶剂的选择

2.2.1 溶剂对槟榔生物碱提取率的影响 由图 2 可知,不同溶剂对槟榔生物碱提取率有极显著影响。水的提取率最大,且明显高于甲醇和乙醇,而甲醇和乙醇的提取率较接近。这是因为槟榔中生物碱和鞣酸结合以铵盐形态存在,鞣酸中含有很多酚羟基,槟榔次碱和去甲基槟榔次碱含有羧基,它们都是极性基团,易溶于水;另一个原因与槟榔生物碱和甲醇、乙醇的易挥发性有关,导致甲醇和乙醇的提取率低于水的提取率。甲醇和乙醇的极性较为接近,提取率相差不大。因此,综合考虑,选用水作为提取溶剂。

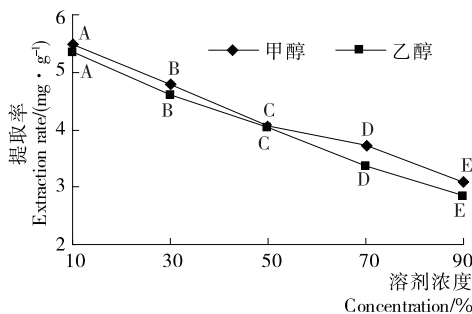


不同字母表示两者之间有极显著差异

图 2 溶剂对生物碱提取率的影响

Table 2 Effect of solvent type on the extraction rate of alkaloids

2.2.2 甲醇和乙醇浓度对槟榔生物碱提取率的影响 由图 3 可知,甲醇和乙醇浓度对槟榔生物碱提取率均有极显著影响。随着溶剂浓度的增大,槟榔生物碱的提取率越低,这是因为溶剂浓度越大,蒸馏水的比例越小,则溶液极性越小,提取率就越低,该结果与 2.2.1 的研究结果是一致的。



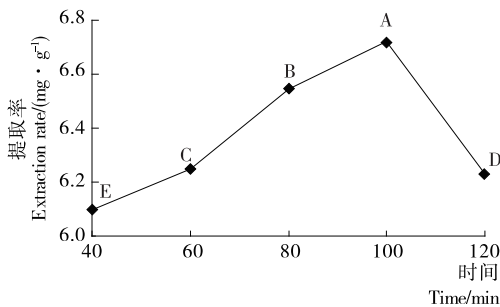
不同字母表示两者之间有极显著差异

图 3 不同溶剂及其浓度对槟榔生物碱提取率的影响

Table 3 Effect of solvent type and concentration on the extraction rate of alkaloids

## 2.3 提取时间对槟榔生物碱提取率的影响

由图 4 可知,提取时间对槟榔生物碱提取率有极显著影响。在 100 min 之内,槟榔生物碱的提取率逐渐增加,100 min 时达到最大,随后槟榔生物碱提取率随时间增加显著降低。这可能是因为浸取初期,提取溶剂与槟榔粉末接触还不充分,加之槟榔生物碱由细胞内向外迁移也需要一定的时间,当浸取时间达到 100 min 后,浸取的速度变缓,在浸取较



不同字母表示两者之间有极显著差异

图 4 提取时间对生物碱提取率的影响

Table 4 Effect of extraction time on the extraction rate of alkaloids

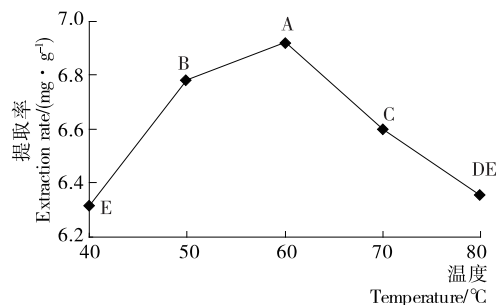
完全后,继续提取使部分已溶出的槟榔生物碱黏附在细胞壁上<sup>[15]</sup>,阻碍了后续槟榔生物碱的溶出,降低了生物碱提取率。

## 2.4 提取温度对槟榔生物碱提取率的影响

由图 5 可知,提取温度对槟榔生物碱提取率有极显著影响。随着温度的升高,生物碱的浸出量也增加,在 60 °C 左右达到最高,当温度超过 60 °C 时,生物碱的浸出量反而下降。这是因为适当提高温度,能软化植物组织,增强溶剂的浸润性,有利于有效成分的浸出。而槟榔碱性性质不稳定,易随水蒸气挥发<sup>[16]</sup>,当温度过高时,槟榔碱的损失越大。

## 2.5 pH 值对槟榔生物碱提取率的影响

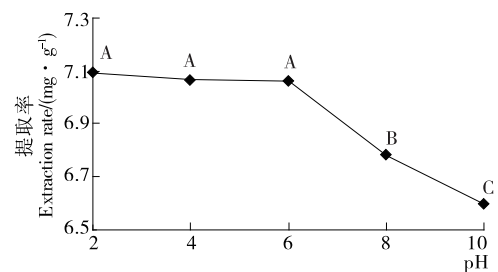
由图 6 可知,pH 值对槟榔生物碱提取率有极显著影响,



不同字母表示两者之间有极显著差异

图 5 提取温度对生物碱提取率的影响

Table 5 Effect of extraction temperature on the extraction rate of alkaloids



不同字母表示两者之间有极显著差异

图 6 pH 值对生物碱提取率的影响

Table 6 Effect of pH value on the extraction rate of alkaloids

多重比较表明,酸性条件下水对槟榔生物碱的提取率比碱性条件下的要高。这是因为槟榔中还含有部分未与鞣酸结合的生物碱,在酸性条件下,这些生物碱成盐而溶于水,增加了溶解度;而在碱性条件下,槟榔生物碱部分游离,而游离的生物碱不溶于水,且当碱性过强时,槟榔碱能水解生成甲醇和槟榔次碱<sup>[17]</sup>,因此导致在碱性条件下水对槟榔生物碱提取率

降低。

## 2.6 正交试验确定提取槟榔生物碱的最佳工艺条件

根据单因素试验结果,选择提取时间(80,100 min)、提取温度(50,60 ℃)、pH值(2,4)用表L<sub>8</sub>(2<sup>7</sup>)实施三因素两水平有交互作用的正交试验。对试验结果进行极差分析,结果见表2。

表2 正交试验结果极差分析

Table 2 Orthogonal array design matrix and experimental results

处理	A 温度/℃	B 时间/min	A×B	C pH 值	A×C	B×C	A×B×C	提取率/(mg·g <sup>-1</sup> )
1	1	1	1	1	1	1	1	6.796 2
2	1	1	1	2	2	2	2	6.734 8
3	1	2	2	1	1	2	2	6.942 2
4	1	2	2	2	2	1	1	7.011 3
5	2	1	2	1	2	1	2	7.111 1
6	2	1	2	2	1	2	1	7.072 7
7	2	2	1	1	2	2	1	7.241 7
8	2	2	1	2	1	1	2	7.172 6
<i>k</i> <sub>1</sub>	13.742 2	13.857 4	13.972 7	14.014 9	13.961 1	14.014 9	14.030 3	
<i>k</i> <sub>2</sub>	14.299 1	14.183 9	14.068 7	14.026 4	14.080 2	14.026 4	14.011 1	
<i>R</i>	0.556 9	0.326 4	0.096 0	0.011 5	0.119 1	0.011 5	0.019 2	

由表2可知,三因素之间的二级交互作用一般很弱,可作为试验误差因素对待,A和B因素以及A×B和A×C两个因素交互作用的极差均大于误差因素的极差(0.019 2),说明这些因素及其交互对槟榔生物碱提取率的影响是有效应的;pH值和时间与pH值的交互对槟榔生物碱提取率的影响没有效应,符合pH值的单因素试验结果。根据*R*值大小,因素及其交互对槟榔生物碱提取率影响的主次顺序为A>B>A×C>A×B。由于因素C与A的交互作用大于单因素C,所以C因素的最佳水平需要通过A和C的水平搭配结果(表3)来确定。

表3 因素A,C水平搭配

Table 3 Collocation of factor A, C and levels

因素水平	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>
C <sub>1</sub>	6.869	7.176
C <sub>2</sub>	6.873	7.123

通过分析因素A和C之间的水平搭配可知,C<sub>1</sub>为最佳水平。综上分析,提取槟榔生物碱的最优工艺条件为A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>。

在最佳提取条件下进行验证实验,得到实际残留率为5.14%,将设定值与测定值进行*t*检验,得*t*=1.110<单侧*t*<sub>0.05</sub>(5)=2.015,表明P>0.05,即两者差异不显著,符合试验所需条件。

## 3 结论

槟榔生物碱具有很多的生理活性,研究槟榔生物碱的提取很有必要。本研究采用多级错流浸提工艺,通过推导出来的理论公式直接计算出料液比和提取次数,采用正交试验,

选择浸提时间、浸提温度、溶剂pH值3个因素,用方差分析法研究槟榔中生物碱最佳提取工艺,优化验证后得到的最佳提取工艺条件为:水为提取剂,料液比1:20(*m*:*V*),提取温度60 ℃,提取时间100 min,pH值为2,提取2次,在此条件下的槟榔碱提取率为7.241 7 mg/g。与其他提取工艺相比,本提取工艺减少了研究因素,且能缩短提取时间,在一定程度上降低了能耗,提高了研究效率,对于提取工艺的研究与实践具有借鉴意义。

## 参考文献

- 张橡楠. 槟榔化学成分和药理作用研究进展[J]. 生物技术世界, 2012(7): 9~10.
- 黄永华. 槟榔有效化学成分分析测定[J]. 食品与机械, 2002, 18(3): 38~39.
- 严聃, 李彦. 食用槟榔的加工工艺研究[J]. 食品与机械, 2003, 19(6): 34~35.
- Luo Shi-shu. Studies on activity and extraction-separation of arecoline from areca nut[D]. Haikou City: Master Degree Thesis of Hainan University, 2011: 1~53.
- 曾琪, 李忠海, 袁列江, 等. 槟榔生物碱的研究现状及展望[J]. 食品与机械, 2006, 22(6): 158~161.
- Ono M, Minamoto Y, Shibata S, et al. Attenuating effect of arecoline and physostigmine on an impairment of mealtime-associated activity rhythm in old rats[J]. Physiology & Behavior, 1995, 57(1): 189~191.
- Nai-Shin Chu MD. Effects of betel chewing on the central and autonomic nervous systems[J]. Journal of Biomedical Science, 2001(8): 229~236.

(下转第258页)

“食品质量与安全实验”课中得到综合性锻炼和能力提升。

#### 2.4 实材资源协同

食品科学与工程专业开设的“食品工艺学实验”课程可以为食品质量与安全专业学生的“现代食品检测技术”、“食品感官评价”、“食品质量与安全实验”课提供原料和成品,让食安专业学生进行质量分析和安全检验;食品质量与安全专业的“食品工艺学”实验课的产品同样也可以为食品科学与工程专业的“食品分析”课提供实验材料。资源协同使用大大节约了实验教学成本,做到了食品原料和成品的合理利用。

#### 2.5 实验条件协同

学校农业分析中心具有较好的实验条件,“现代食品检测技术”的部分实验可借助此平台完成;借助挂在食品学院的国家大宗淡水鱼加工研发分中心、天津市农副产品深加工技术工程中心、天津市农产品加工科技创新与成果转化基地、天津市农产品加工及质量安全控制实验教学中心等科研和教学平台开展科学研究、创新与创业项目、本科实验、毕业论文或设计,充分共享学校及学院的实验平台和条件。

#### 2.6 实验实训协同

紧紧围绕本专业的教学目标,充分体现本专业的特色,将“食品质量与安全实训”和第七学期开设的一门综合性、研究性的“食品质量与安全实验”相结合。从水产及加工品、果蔬及加工品、畜产及加工品、粮油及加工品等4个方面设置了实训和实验内容,从原料的选购、原料品质的检验、到产品加工过程的质量与安全控制,再到成品的质量、营养、安全卫生指标的检测检验。让学生在食品加工的全过程中掌握和了解食品质量与安全的控制原理、技术和方法。

#### 2.7 模拟岗位协同

依照《食品安全法》的规定,让同学参加“食品质量与安全实训”,模拟质量监督部门(食药局的监管一司)、工商行政管理部门(食药局的监管二司)、国家食品药品监督管理部门的工作人员对食品科学与工程专业学生的“食品工艺学实训”过程进行监督和监控,从原料质量控制、食品加工过程控制、产品安全检验和质量控制。这一系列过程均由学生在老师指导下独立完成,通过实训掌握不同业务岗位职责和需要掌握的技能,了解不同岗位之间相互联系、相互配合、相互牵制的关系。

#### 2.8 校内校外协同

充分利用校内教学和科研平台资源,做好校内实验、实习、实训、毕业论文(设计)、科研课题;在校外,通过建立实践教学基地,如天津顶益国际食品有限公司、国家农产品保鲜工程技术研究中心、天津可口可乐饮料有限公司、王朝葡萄酒有限公司、养乐多有限公司、天津大海实业有限公司、天津桂发祥十八街麻花有限公司、天津海河乳业集团、天津长城罐头有限公司、天津众品食业有限公司等食品加工企业,让学生深入社会,参观实习、教学实习和顶岗实习,从而为提高学生应用能力、复合能力、科研能力、适应能力创造良好的内外部环境。

### 3 结论

通过改革和努力培养的食安专业人才质量正逐步提高。新的教学模式和培养计划从2010级食安专业学生实行,目前正在2012~2015级食安专业学生教学中实践,获得了较好的效果。近3年,本专业学生90%以上通过“食品质量内部审核员”、“食品检验工”培训;学生获得科技创业、创新、挑战杯项目38项,8项国家级、12项市级、18项校级;近65%的学生参与导师主持或参加的国家级或省部级科研项目中;15名同学以第一作者身份发表论文。专业建设是一个不断改革、不断创新的过程。在保障现有办学质量的前提下,应大胆探索,不断实践,争取培养出更多的适应天津都市型现代农业发展的食品质量与安全专业复合型人才。

#### 参考文献

- 邵平,张建友,何晋浙,等. 校企政协同食品专业工程实践教学体系探索与实践[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 266~268.
- 倪志梅. 从高校复合人才培养看人才培养模式的改革[J]. 教育与职业, 2012(9): 27~28.
- 王巧玲. 复合人才培养目标下的大学计算机基础课程设置分析[J]. 电子制作, 2013(22): 94.
- 陈洁瑾. 基于TQC的高等职业教育教学质量控制研究[J]. 无锡商业职业技术学院学报, 2008(6): 40~42.
- 赵居礼,张优智. 实施全面质量管理,提高高职高专教育教学工作水平[J]. 湖南工业职业技术学院学报, 2001, 1(2): 55~58.
- 吴希艳. 高等院校协同式教学模式策略初探[J]. 中国商界, 2010(9): 268.

(上接第185页)

- Molinengo L, Fundaro A M, Cassone M C. Action of a chronic arecoline administration on mouse motility and on acetylcholine concentrations in the CNS[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1988(40): 821~822.
- 王海灿. 鲜槟榔中槟榔碱的提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(3): 55~57.
- 杨昱,白靖文,俞志刚. 超声辅助提取技术在天然产物提取中的应用[J]. 食品与机械, 2011, 27(1): 170~173.
- 邹建国,刘飞,徐小龙,等. 微波辅助提取马钱子中总生物碱工艺[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 116~119.
- 徐洁. 酸性染料比色法测定槟榔中生物碱的提取率[J]. 海峡药学, 2001, 13(1): 30~31.
- 杨同舟,于殿宇. 食品工程原理[M]. 2版. 北京:中国农业出版社, 2011: 388~389.
- 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: 160~161.
- 吴小卿. 福鼎槟榔芋芋梗生物碱提取及功能特性的研究[D]. 福州:福建农林大学, 2011: 1~40.
- 惠秋沙,孙立立. 炮制对槟榔化学成分的影响[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1331~1335.
- 张战峰,张继瑜,李剑勇,等. 槟榔碱提取分离工艺的研究及其提取率测定[J]. 中兽医医药杂志, 2007(2): 18~19.