

槟榔下脚料中槟榔碱的提取工艺及应用研究

Study on extraction technology and application of arecoline from betel-nut waste

陈娟¹ 卢克强¹ 朱门君¹ 蒋雪薇²

CHEN Juan¹ LU Ke-qiang¹ ZHU Men-jun¹ JIANG Xue-wei²

(1. 湖南皇爷食品有限公司, 湖南湘潭 411228; 2. 长沙理工大学, 湖南长沙 410000)

(1. Hunan Onyear Food Co., Ltd., Xiangtan, Hunan 411228, China;

2. Changsha University of Science and Technology, Changsha, Hunan 410000, China)

摘要:以槟榔核为原料,采用酸水提取法提取槟榔碱,通过单因素试验考察了粉碎粒度、提取时间、提取温度、料液比、盐酸质量浓度、提取次数对槟榔碱影响,再用 Box-behnken 响应面设计法建立时间、温度和盐酸质量浓度的二次多项式模型,优化提取工艺;并将最优提取工艺得到的槟榔碱提取物应用至槟榔生产中以考察其对槟榔产品品质的影响。结果表明:槟榔碱的最优提取工艺条件为粉碎粒度 60 目、料液比($m_{\text{核}}:V_{\text{水}}$)1:15 (g/mL)、提取次数 2 次、提取时间 45 min,提取温度 80 °C,盐酸质量浓度 0.22%,该工艺条件下槟榔碱提取量为(8.330 ± 0.109) mg/g;槟榔碱提取物可以增加槟榔产品的劲道等风味,改善其品质。

关键词: 槟榔; 下脚料; 槟榔碱; 酸水提取

Abstract: Arecoline was extracted from the core of betel-nut by acid water extraction method. Based on the effects of time, temperature, ratio of material to liquid, hydrochloric acid concentration and extraction times on arecoline by single factor method, a quadratic polynomial model of time, temperature and hydrochloric acid concentration was established by box-Behnken response surface design method to optimize the extraction process. The arecoline extraction was applied to betel-nut products to investigate its effect on the quality of areca products. The results showed that the optimum extraction process conditions were solid-liquid ratio 1:15 (g/mL), extraction times 2, extraction time 45 minutes, temperature 80 °C and hydrochloric acid concentration 0.22%. The arecoline extraction amount obtained under this process condition was (8.330 ± 0.109) mg/g. The arecoline extraction can enhance the flavor of areca products,

thus enhancing the market competitiveness of betel-nut products.

Keywords: betel-nut; betel-nut waste; arecoline; acid extraction

食用槟榔是指以槟榔干果(也称槟榔原籽)为原料经甜味剂及香精发制而制成的一类休闲食品^[1]。据报道^[2],截至 2017 年底,仅湖南省湘潭市天易全区的槟榔年制成品就超过 10 万 t,而槟榔在加工过程中会产生槟榔核、槟榔蒂及报废槟榔片等下脚料,其中下脚料约占槟榔成品量的 10%~15%,然而目前这些下脚料常常作为废弃物或生活垃圾以焚烧等方式处置,不仅浪费了资源,也易造成环境污染。有研究^[3-4]表明,槟榔果的各个部位均含有槟榔碱,其中鲜果槟榔核的槟榔碱含量为 0.118%、槟榔壳的含量为 0.043%,且槟榔碱含量随熟度的增加而增加。因此可将槟榔下脚料用作提取槟榔碱的原料。

目前,槟榔碱的提取方法有有机试剂提取法^[5-6]、超声波辅助提取法^[7]、微波辅助提取法^[8]、超临界 CO₂ 流体萃取法^[9-10]、亚临界水提取法^[11]等,在大规模生产过程中,低沸点易燃的有机试剂有一定的安全隐患,超声波、微波、超临界和亚临界 CO₂ 流体萃取等方法的辅助设备的造价过高。研究拟采用酸水提取法提取槟榔碱,并将经响应面法优化的最佳提取工艺得到的提取物应用于槟榔产品中,以期低成本高值化利用槟榔下脚料这一资源。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

槟榔加工下脚料:湖南皇爷食品有限公司;

甲醇:色谱纯,默克股份两合公司;

乙腈:色谱纯,国药集团化学试剂有限公司;

盐酸、磷酸、乙二胺:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

作者简介:陈娟,女,学士。

通信作者:卢克强(1961—),男,湖南皇爷食品有限公司高级工程师,硕士。E-mail:13600007949@sina.com

收稿日期:2020-06-12

槟榔碱氢溴酸盐:色谱纯(纯度 98.5%),国家计量标准物质网。

1.1.2 主要仪器设备

烘箱:DKN412C型,日本雅马拓公司;
粉碎机:RRH-A350型,上海缘沃工贸有限公司;
超声波:KQ-500E型,昆山市超声仪器有限公司;
高效液相色谱仪:RF-20A型,日本岛津公司;
水浴恒温振荡器:SHZ-A型,上海博讯医疗生物仪器股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 槟榔下脚料的选择 将收集的槟榔下脚料于 50℃ 干燥至水分含量为 10%~15%,再按核、蒂、废弃槟榔片分类分开,粉碎机分别粉碎后,测定其槟榔碱含量。每组试验重复 3 次。

1.2.2 槟榔碱的提取 称取 5 g 过 60 目筛的槟榔核,按照试验方案加入一定量的溶剂,在恒温振荡水浴锅(105 r/min)中以一定的温度处理一定时间后,过滤,收集滤液,测定滤液中槟榔碱含量。

1.2.3 单因素试验

(1) 粉碎粒度对槟榔碱提取量的影响:槟榔核经粉碎机处理后过 20,40,60,80,100,120 目筛,分别测定不同粉碎粒度下槟榔核提取物的槟榔碱含量。

(2) 提取时间对槟榔碱提取量的影响:在粉碎粒度 60 目,盐酸质量浓度 0.00%,料液比($m_{\text{槟榔}} : V_{\text{水}}$)为 1:15 (g/mL),提取温度 70℃,提取次数 1 次的条件下测定提取时间为 15,30,45,60,75 min 时滤液的槟榔碱含量。

(3) 提取温度对槟榔碱提取量的影响:在粉碎粒度 60 目,盐酸质量浓度 0.00%,料液比($m_{\text{槟榔}} : V_{\text{水}}$)为 1:15 (g/mL),提取时间 30 min,提取次数 1 次的条件下测定提取温度为 50,60,70,80,90℃ 时滤液的槟榔碱含量。

(4) 料液比对槟榔碱提取量的影响:在粉碎粒度 60 目,盐酸质量浓度 0.00%,提取时间 30 min,提取温度 70℃,提取次数 1 次的条件下测定料液比($m_{\text{槟榔}} : V_{\text{水}}$)分别为 1:5,1:10,1:15,1:20,1:25 (g/mL) 时滤液的槟榔碱含量。

(5) 盐酸质量浓度对槟榔碱提取量的影响:在粉碎粒度 60 目,料液比($m_{\text{槟榔}} : V_{\text{水}}$)为 1:15 (g/mL),提取温度 70℃,提取时间 30 min,提取次数 1 次的条件下测定盐酸质量浓度分别为 0.00%,0.15%,0.30%,0.45%,0.60% 时滤液的槟榔碱含量。

(6) 提取次数对槟榔碱提取量的影响:在粉碎粒度 60 目,盐酸质量浓度 0.00%,料液比($m_{\text{槟榔}} : V_{\text{水}}$)为 1:15 (g/mL),提取温度 70℃,提取时间 30 min 的条件下测定提取次数分别为 1,2,3,4,5 次时滤液的槟榔碱含量。

每组试验 3 次重复。

1.2.4 响应面试验设计 根据中心试验设计原理,在单因素试验结果的基础上,考察提取时间、提取温度、盐酸质量浓度对槟榔碱提取量的影响,确定最佳提取工艺。

1.2.5 槟榔碱含量的测定及提取量的计算 根据文献[12]修改如下:

(1) 样品处理方式:取适量样品于比色管中,加甲醇定容至 25 mL。混匀后超声波处理 1 h,过 0.45 μm 有机膜,进样。

(2) 标准曲线的制定:配制 0.1 mg/mL 的氢溴酸槟榔碱对照品溶液,分别吸取 0.06,0.20,0.40,0.80,1.60,3.20,4.00 mL 对照品溶液加流动相定容至 4 mL,混匀后进样。根据试验所得结果以氢溴酸槟榔碱标准品的峰面积为纵坐标,氢溴酸槟榔碱的浓度(mg/mL)为横坐标,绘制槟榔碱标准曲线,得到线性关系式: $y = 2 \times 10^7 x + 173\ 859$ 。

(3) 槟榔碱提取量计算:按式(1)计算。

$$Y = \frac{C \times V}{m_1} \times \frac{155.19}{236.11} \times \frac{m_2}{m_3} \quad (1)$$

式中:

Y——槟榔碱提取量,mg/g;

X——检测样品的槟榔碱含量,mg/g;

C——检测样品对应的标准曲线的浓度,mg/mL;

V——检测样品的定容体积,mL;

m_1 ——检测样品的质量,g;

m_2 ——滤液质量,g;

m_3 ——槟榔核的质量,g。

1.2.6 槟榔提取物对槟榔产品品质的影响 按槟榔原籽→煮籽→发制→烤籽→闷香→压籽→上胶→切籽→去核→点卤→晾片→包装的工艺流程制作槟榔产品。其中试验样品在发制步骤中用槟榔碱最优提取方案得到的提取物浓缩 5 倍后等量替代熬料用水,其余不变。测定试验样品与对照样品中的槟榔碱含量,并组织 10 名经过训练的品评人员对样品按照表 1 中的项目打分,最后统计各项的平均得分。

1.3 数据处理与分析

数据均使用 SPSS、Design-Expert 8.0.6 软件进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 槟榔下脚料的选择

槟榔核、槟榔蒂和废弃槟榔片中槟榔碱含量见图 1。由图 1 可知,槟榔核中的槟榔碱含量远高于槟榔蒂和废弃槟榔片,与刘蕊等^[13]试验得出的鲜槟榔中槟榔碱含量 槟榔核 > 纤维层 > 表皮基本一致。由于槟榔在高温水洗、烘烤的加工过程中会破坏槟榔壳、蒂中的槟榔碱,而槟榔核被壳包裹能较好地保留槟榔碱,而且槟榔下脚料

中槟榔核占总量的 90% 左右,因此选择槟榔核作为槟榔碱的提取原料。

2.2 单因素试验

由图 2~7 可知,最佳的单因素参数为:粉碎粒度 60 目,料液比($m_{\text{槟榔}} : V_{\text{水}}$) 1 : 15 (g/mL),提取时间 30 min,提取温度 70 °C,盐酸质量浓度 0.15%,提取次数 2 次。

表 1 感官品评表

Table 1 Sensory evaluation table

项目	评分标准	分值
香型	正常烟熏风味	14~20
	烟熏味较淡	8~13
	有明显异味(香味)	0~7
浆汁感	浆汁丰富、嚼食时间长	14~20
	浆汁一般、嚼食时间稍短	8~13
	浆汁感差	0~7
劲道	劲道大、后劲足	14~20
	劲道一般,无后劲	8~13
	基本无劲道	0~7
口感	甜感纯正	14~20
	偏甜或偏淡	8~13
	有明显异味(口味)	0~7
背皮和边口	背皮光亮、边口白	14~20
	背皮脱胶,边口稍黑	8~13
	背皮黯哑,边口黑	0~7

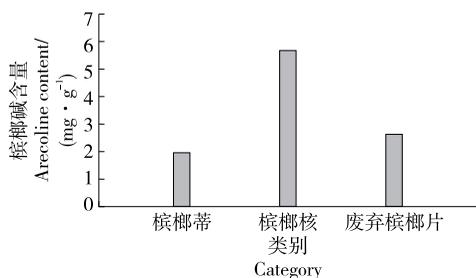


图 1 不同类别槟榔下脚料的槟榔碱含量对比
Figure 1 Arecoline content at different category of the betel-nut waste

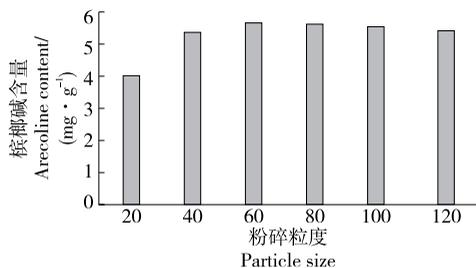


图 2 不同粉碎粒度下提取的槟榔碱含量
Figure 2 Extracted arecoline content at different grinding particle sizes

2.3 响应面优化试验

2.3.1 试验设计及结果 根据 SPSS 软件进行单因素方差分析,结果表明粉碎粒度、提取时间、提取温度、料液比、提取次数、盐酸质量浓度对于槟榔碱提取量的影响都是极显著的($P < 0.01$)。试验得出的料液比与提取次数的结果与相关研究^[14]的结果基本一致,考虑到粉碎粒度、料液比、提取次数与试验设备、操作难易和成本耗费紧密

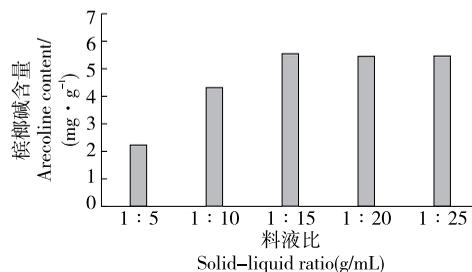


图 3 料液比对槟榔碱提取量的影响
Figure 3 Impact analysis of solid-liquid ratio

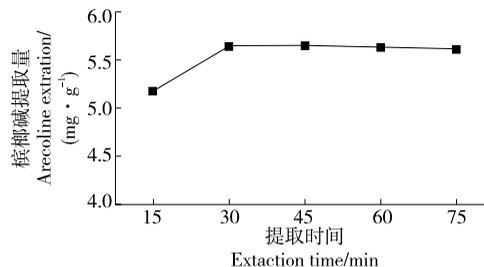


图 4 提取时间对槟榔碱提取量的影响

Figure 4 Impact analysis of extraction time

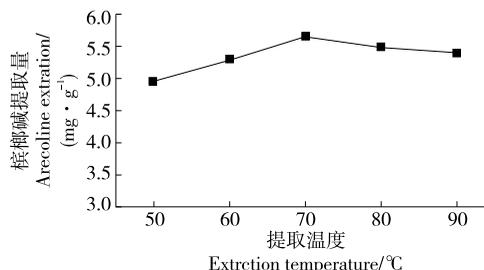


图 5 提取温度对槟榔碱提取量的影响

Figure 5 Impact analysis of extraction temperature

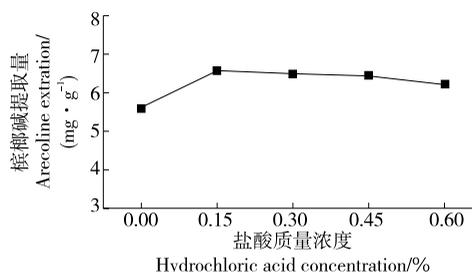


图 6 盐酸质量浓度对槟榔碱提取量的影响
Figure 6 Impact analysis of hydrochloric acid concentration

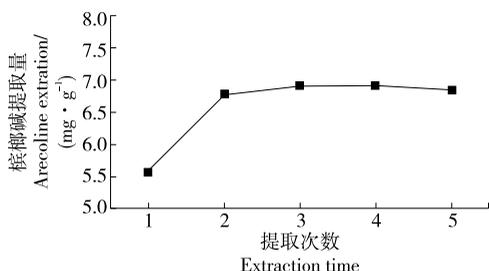


图7 提取次数对槟榔碱提取量的影响

Figure 7 Impact analysis of extraction times

相关,在选定粉碎粒度 60 目,料液比($m_{\text{槟榔}} : V_{\text{水}}$) 1 : 15 (g/mL),提取次数 2 次的基础上,选择提取时间、提取温度及盐酸质量浓度作为响应面优化的因素,试验因子与水平见表 2。具体试验设计与结果见表 3。

2.3.2 模型与数据分析 运用 Design-Expert 8.0.6 软件试验数据进行统计分析,得到槟榔碱提取量与提取参数的二次回归方程为:

$$Y = 7.84 + 0.30A + 0.25B + 0.65C - 0.075AB + 0.035AC + 0.24BC - 0.12A^2 - 0.14B^2 - 0.71C^2 \quad (2)$$

由表 4 可知,该模型的 $P < 0.000 1$,说明该模型具有统计学意义,可以用来分析和预测酸水提取槟榔下脚料

表 2 响应面试验因素水平表

Table 2 Factors and levels of response surface experiment

水平	A 提取时间/min	B 提取温度/°C	C 盐酸质量浓度/%
-1	15	60	0.05
0	30	70	0.15
1	45	80	0.25

中槟榔碱的效果。且该模型的失拟合不显著,模型 R^2 为 0.976 3, R^2_{Adj} 为 0.945 8,说明该回归方程拟合度较好。提取时间、提取温度、盐酸质量浓度对槟榔碱提取量都起到了极显著($P < 0.01$)的影响;提取温度与盐酸质量浓度的交互作用对槟榔碱提取量的影响显著($P < 0.05$),而提取温度和提取时间、提取时间与盐酸质量浓度之间的交互

表 3 响应面试验设计和结果

Table 3 Design and results of response surface experiment

序号	A	B	C	Y 槟榔碱提取量/(mg·g ⁻¹)
1	0	-1	-1	6.443
2	-1	0	1	7.465
3	0	0	0	7.791
4	0	0	0	7.775
5	0	0	0	7.759
6	1	1	0	8.179
7	0	1	1	8.020
8	1	-1	0	7.728
9	-1	1	0	7.586
10	0	1	-1	6.371
11	-1	0	-1	6.103
12	-1	-1	0	6.836
13	0	0	0	8.101
14	1	0	-1	6.498
15	0	0	0	7.787
16	0	-1	1	7.123
17	1	0	1	8.000

表 4 响应面模型方差分析[†]

Table 4 ANOVA for the response surface quadratic model

方差来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P>F	显著性
模型	7.25	9	0.81	32.02	<0.000 1	* *
A	0.73	1	0.73	28.99	0.001 0	* *
B	0.51	1	0.51	20.40	0.002 7	* *
C	3.37	1	3.37	134.04	<0.000 1	* *
AB	0.02	1	0.02	0.89	0.377 2	
AC	4.90×10^{-3}	1	4.90×10^{-3}	0.19	0.672 2	
BC	0.23	1	0.23	9.33	0.018 4	*
A ²	0.06	1	0.06	2.27	0.175 3	
B ²	0.09	1	0.09	3.46	0.105 1	
C ²	2.12	1	2.12	84.29	<0.000 1	* *
总残差	0.18	7	0.03			
失拟合	0.09	3	0.03	1.46	0.352 0	不显著
纯误差	0.08	4	0.02			
总离差	7.42	16				

† * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$ 。

作用影响不大;二次项中盐酸质量浓度对槟榔碱提取达到极显著效应($P < 0.01$)。总体而言,盐酸质量浓度对槟榔碱提取量的影响最大,其中提取温度又影响盐酸的提取效果。

由图 8~10 可知,3 个因素对槟榔碱提取量的影响大小依次为:盐酸质量浓度 > 提取时间 > 提取温度。当盐酸质量浓度固定为 0.15% 时,槟榔碱提取量随着提取时间和提取温度的增加而缓慢增加,可能是作为主要影响因素的盐酸质量浓度还未达到最佳浓度,此时,增加提取

时间和提取温度有助于提高提取效率。当提取温度固定为 70 °C 时,提取率随盐酸质量浓度的增加先升高后降低,随提取时间的增加呈缓慢上升的趋势;当提取时间固定为 30 min 时,提取量随盐酸质量浓度和提取温度的增加先上升后降低,可能是高盐酸质量浓度可大大提升槟榔碱的提取量,但长时间的高温会导致被提取槟榔碱损失,造成其提取量下降。因此,在确定适当的盐酸质量浓度后,尤其要控制好提取温度以使槟榔碱提取量达到最大值。

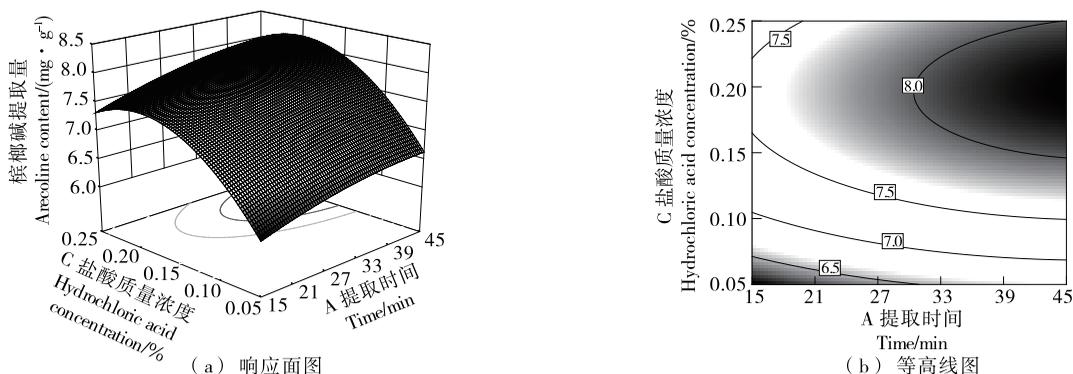


图 8 提取时间与盐酸质量浓度交互作用的等高线图和响应曲面图

Figure 8 Response surface and contour plots for interaction effects of time and hydrochloric acid concentration

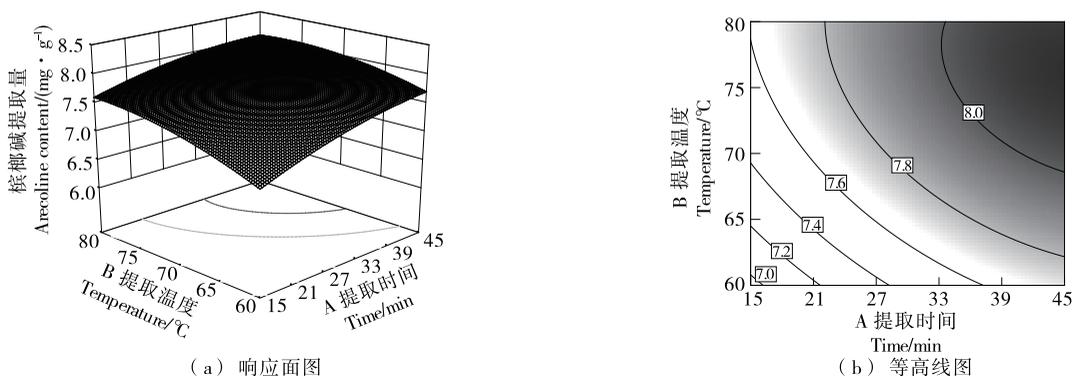


图 9 提取时间与提取温度交互作用的等高线图和响应曲面图

Figure 9 Response surface and contour plots for interaction effects of time and temperature

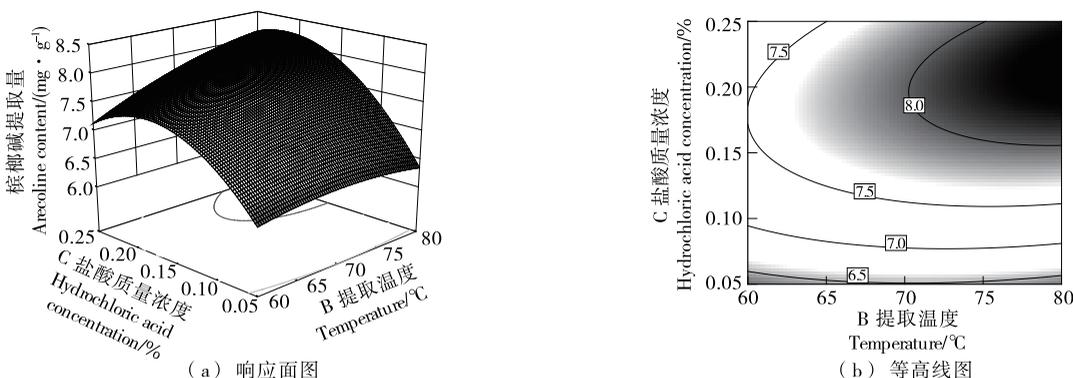


图 10 提取温度与盐酸质量浓度交互作用的等高线图和响应曲面图

Figure 10 Response surface and contour plots for interaction effects of temperature and hydrochloric acid concentration

2.3.3 最优工艺条件的验证 由 Design-Expert 8.0.6 软件分析得出的最优工艺条件为: 提取时间 45 min, 提取温度 80 °C, 盐酸质量浓度 0.22%, 此优化条件下预测的槟榔碱提取量为 8.365 mg/g。对其进行 3 次重复实验, 得到槟榔碱提取量的平均值为 (8.330 ± 0.109) mg/g, 与理论提取量的相对误差为 0.42%, 说明该工艺条件合理可行, 能用于实际生产。

2.4 应用试验

水的极性大, 除了能提取槟榔碱外, 也能较全面地提取出具有槟榔风味的物质。由表 5 可知, 添加了槟榔提取物的槟榔产品风味更加浓郁且无异味, 嚼食时更有浆汁感和劲道, 说明槟榔提取物的加入可以提升槟榔产品的品质。其次, 测定的试验样品的槟榔碱含量和劲道评分高于对照产品, 表明样品劲道的提升可能与槟榔碱有关。

表 5 试验样品与对照样品的对比

Table 5 Comparison between experimental products and control products

样品	槟榔碱量/ (mg · g ⁻¹)	感官评价				
		香型	浆汁感	劲道	口感	背皮和边口
试验样品	1.215 ± 0.029	19	17	17	19	18
对照样品	1.089 ± 0.037	18	12	10	15	18

3 结论

采用酸水提取法提取槟榔核中槟榔碱的最佳提取工艺条件为粉碎粒度 60 目、料液比 ($m_{\text{槟榔}} : V_{\text{水}}$) 1 : 15 (g/mL)、提取次数 2 次、提取时间 45 min、提取温度 80 °C、盐酸质量浓度 0.22%, 该条件槟榔碱提取量为 (8.330 ± 0.109) mg/g, 与传统乙醇提取法 (提取率 1.90 mg/g^[15]) 相比, 槟榔碱的提取效率大幅提高。

将槟榔提取物添加至槟榔产品可以提升其品质, 并且能够提高槟榔下脚料的附加值, 具有极大的应用前景。槟榔提取物不仅可以应用于槟榔产品中, 还可以应用于医药领域。因此, 下一步可根据其具体的应用领域来开发适宜的提取、纯化方法, 以充分利用槟榔下脚料这一资源。

参考文献

- [1] 巢雨舟, 柳毅, 陈洁, 等. 湘潭市食用槟榔产业现状及发展对策[J]. 农产品加工, 2019(2): 74-77.
- [2] 邓建阳, 李浩, 蒋雪薇, 等. 食用槟榔加工工艺及其化学与微生物污染研究进展[J]. 食品与机械, 2018, 34(1): 173-176.
- [3] 王海灿, 吉建邦, 康效宁, 等. 鲜槟榔中槟榔碱的提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(3): 55-58.
- [4] WANG Chin-kun, LEE Wen-hsiu, PENG Chin-hui. Contents of phenolics and alkaloids in *Areca catechu* Linn during Maturation[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1997, 45(4): 1 185-1 188.
- [5] 史载锋, 吴亚弟, 林小明, 等. 槟榔碱提取分离工艺的研究[J]. 海南师范学院学报(自然科学版), 2006(3): 246-247, 266.
- [6] 曾琪. 槟榔化学成分的研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2007: 15-19.
- [7] 罗士数, 张海德, 李国胜, 等. 槟榔中槟榔碱的超声波提取

工艺研究[J]. 食品科技, 2010, 35(8): 240-243.

- [8] 方馥蕊, 李灼全, 梁华伦. 微波提取法对槟榔中槟榔碱的提取率的影响[J]. 中外健康文摘·医药月刊, 2007, 4(6): 19-21.
- [9] 吴清波, 罗士数, 张海德. 响应面法优化超临界萃取槟榔碱工艺[J]. 食品科技, 2011, 36(9): 251-256, 261.
- [10] 滕春娟, 唐彬, 田冠宇. 姜叶果中槟榔碱的超临界萃取工艺研究[C]//第十二届全国超临界流体技术学术及应用研讨会暨第五届海峡两岸超临界流体技术研讨会论文集. 大连: 中国化工学会, 2018: 51.
- [11] 康丽如, 符素芳, 曾广琳, 等. 响应面法优化亚临界水提取槟榔籽中槟榔碱的工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(9): 3 773-3 780.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 2015 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 365.
- [13] 刘蕊, 范海阔, 黄丽云. 槟榔花果中槟榔碱的组织化学定位研究[J]. 中国南方果树, 2018, 47(4): 65-69, 72.
- [14] 高晓婷. 槟榔生物碱的分离纯化及其热处理工艺参数的优化设计[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2016: 12-23.
- [15] 张战峰, 张继瑜, 李剑勇, 等. 槟榔碱提取分离工艺的研究及其含量测定[J]. 中兽医医药杂志, 2007(2): 18-20.