

文章编号:1001-6880(2014)10-1711-05

响应曲面法优化柠檬皮渣苦素提取工艺

李建凤¹,廖立敏^{1,2*}¹内江师范学院 化学化工学院; ²四川省高等学校“果类废弃物资源化”重点实验室,内江 641112

摘要:以45℃下烘干的柠檬皮渣为原料,采用超声波辅助乙醇提取其中的苦素类物质,考察了乙醇浓度、液固比、超声波处理时间对提取率的影响。运用响应曲面法设计实验方案,建模分析得到柠檬苦素提取最优工艺条件,即乙醇浓度70%、液固比15、处理时间35 min。此条件下,苦素平均提取率达1.721 mg/g,而且实验的重现性好,可望为柠檬苦素的提取与利用提供参考。

关键词:柠檬苦素;柠檬皮;响应曲面法;超声波提取

中图分类号:Q946.91

文献标识码:A

Optimization of Extraction of Bitter Element from Lemon Peel using Response Surface Methodology

LI Jian-feng¹, LIAO Li-min^{1,2*}¹College of Chemistry and Chemical Engineering, Neijiang Normal University;²Key Laboratory of fruit waste treatment and resource recycling, Neijiang 641112, China

Abstract: In this study, 45 °C dried lemon peel was used as raw material to extract the bitter element by ultrasonication using ethanol as extraction solvent. The effects of ethanol concentration, liquid solid ratio and ultrasonic treatment time on the extraction yield of bitter element were studied. The response surface methodology was used to design experimental program. The optimized extraction conditions were obtained as follows: the ethanol concentration was 70%, liquid solid ratio was 15:1 and ultrasonic treatment time was 35min. Under these conditions, the average extraction yield of bitter element was determined to be 1.721 mg/g with good reproducibility. The results of this study provided reference data for the extraction and utilization of limonin.

Key words: limonin; lemon peel; response surface methodology; ultrasonic extraction

柑橘类水果为我国第三大国际贸易农产品,四川是我国柑橘类水果的主要产地之一,盛产柠檬、柑橘、塔罗科血橙和脐橙等柑橘类水果。内江地区是四川柑橘类水果的主要生产基地之一,四川安岳,早在二三十年代就开始种植柠檬,被誉为“中国柠檬之乡”。内江现有柠檬种植面积13万亩,其附近的安岳现有柠檬种植面积23万亩,总产值近18亿元。内江现有饮料制造企业近50家,内江及安岳年加工柑橘类鲜果100余万吨。而柑橘类果皮渣是柑橘类水果加工业的主要副产物,约占整个果重的25%~40%,因此内江及安岳每年产生约25~40余万吨的柑橘类果皮渣废弃物。传统的处理方法是将其直接进行丢弃、填埋或小部分加工成饲料,从环境和经济

的角度分析,都是不科学、不合理的解决途径,造成了极大的浪费,给当地环境带来了负面影响。因此柑橘果皮的综合利用对提高柑橘加工厂的经济效益和减少污染、保护环境都是十分有利的。

柠檬皮渣中含有丰富的果胶^[1]、黄酮^[2]、柠檬苦素等活性物质,对其合理利用具有较好的经济效益和环境效益。柠檬苦素类化合物是一类三萜类物质,研究表明其具有明显的抗菌^[3]、抗癌^[4]和昆虫不育^[5]等作用。目前对苦素类物质的提取分离方法主要有水抽提法^[6]、有机溶剂提取法^[7]、超临界CO₂萃取法^[8]、超声提取法^[9]和离子交换法^[10]等。本实验以乙醇为提取溶剂,采用超声波提取柠檬皮渣中的苦素类物质,并运用响应曲面法优化工艺条件,以期提高柠檬皮渣中苦素的得率,为开发柑橘类果皮渣中的苦素类物质提供有益参考。

1 实验部分

收稿日期:2013-04-09 接受日期:2013-09-10

基金项目:2012年度内江师范学院重点项目(12NJZ01);四川省高等学校“果类废弃物资源化”重点实验室经费资助

*通讯作者 E-mail:liaolimin523@126.com

1.1 仪器与材料

UVmini-1240 紫外可见分光光度计(日本岛津公司);KQ-400KDB 型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);CP2202S 电子分析天秤(赛特利斯(北京)有限公司)。

柠檬苦素标样(西安开来生物工程有限公司,柠檬苦素,含量大于等于 98%);无水乙醇、甲醇、二氯甲烷、浓硫酸、香草醛等化学试剂均为国产分析纯试剂;柠檬采自四川安岳。

1.2 实验方法

1.2.1 柠檬皮渣苦素的提取

称取柠檬粉末 5 g,置锥形瓶中加入一定量和一定浓度的乙醇(用保鲜膜包住瓶口),50 °C 下超声波(400 W)处理一定时间。处理后抽滤,用少量乙醇清洗烧杯,清洗液一并过滤,滤液浓缩至干,用约 40 mL 二氯甲烷溶解烧瓶中的残余物,转移至 50 mL 容量瓶中二氯甲烷定容至刻度,得待测提取液。

1.2.2 柠檬苦素标准曲线的制备

精确称取柠檬苦素标准品 10 mg(精确到 0.00001 g),用二氯甲烷溶解并定容至 50 mL,得质量浓度为 0.2 mg/mL 的标准溶液。分别取柠檬苦素标准溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 10 mL 容

量瓶中,用二氯甲烷定容得标准系列浓度分别为 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mg/mL。取 1.4 mL 0.10 mg/mL 的柠檬苦素标准溶液于试管中,加入 0.4 mL 0.02 g/mL 香草醛乙醇溶液振荡混匀,静置 2 min,加入浓硫酸 0.6 mL,迅速振荡 10 s,加入 2.5 mL 甲醇溶液混匀显色,二氯甲烷定容至 5 mL,静置 10 min,在 300 ~ 700 nm 处进行光谱扫描,观察最大吸收峰波长为 547 nm。测定标准系列浓度的吸光度,用最小二乘法作线性回归,得柠檬苦素浓度 C 与吸光度值 A 的标准曲线回归方程为: $C = 0.223A - 0.036, R = 0.9981$ 。

1.2.3 柠檬苦素提取率计算

取 1.4 mL 柠檬苦素提取液于试管中,按上述方法显色并测定吸光度,计算柠檬苦素提取率。柠檬苦素提取率 = $C \times V/m = C \times 50/5 (\text{mg/g})$ 。

1.2.4 实验设计

在查阅参考文献及前期预实验的基础上,本文主要考察乙醇浓度、提取时间、液固比对提取效果的影响,应用 Design Expert 7.0.0 软件,采用 Box-Behnken Design 设计实验方案,以液固比(A)、乙醇体积分数(B)、提取时间(C)为影响因素,苦素提取率(Y)为响应值设立处理组,因子编码及水平见表 1。

表 1 实验因素与水平

Table 1 Factors and levels of experiments

因素 Factors	编码值 Unicode		
	-1	0	1
液固比(A) Liquid solid ratio (A)	10:1	15:1	20:1
乙醇体积分数(B) Ethanol concentration (B)	45	70	95
提取时间(C) Extraction time (C)	20	35	50

2 结果与讨论

2.1 实验结果及数据处理

共设计 17 个处理组,实验设计及结果见表 2。

表 2 Box-Behnken 设计方案及响应值

Table 2 Box-Behnken experimental design and response values

处理号 No.	液固比 Liquid solid ratio	乙醇体积分数 Ethanol concentration(%)	处理时间 Extraction time(min)	提取率 Extraction yield (mg/g)
1	15:1	95.00	20.00	1.223
2	20:1	70.00	20.00	1.275
3	10:1	70.00	20.00	0.965
4	15:1	45.00	20.00	0.768
5	15:1	70.00	35.00	1.698
6	20:1	95.00	35.00	1.415

7	10: 1	45.00	35.00	1.368
8	10: 1	95.00	35.00	1.105
9	20: 1	45.00	35.00	1.379
10	15: 1	70.00	35.00	1.725
11	15: 1	70.00	35.00	1.734
12	15: 1	95.00	50.00	1.397
13	20: 1	70.00	50.00	1.402
14	10: 1	70.00	50.00	1.279
15	15: 1	45.00	50.00	1.047
16	15: 1	70.00	35.00	1.727
17	15: 1	70.00	35.00	1.723

用 Design Expert 7.0.0 软件将表 2 中试验数据进行多元回归拟合, 得到柠檬苦素提取率对液固比(A)、乙醇浓度(B)、提取时间(C)的二次多项式回归模型。对所建立的响应模型进行方差分析, 结果

见表 3。由表 3 可知, 试验选用的模型高度显著($P < 0.01$), 说明该模型拟合程度良好, 可以用此模型来分析以乙醇为溶剂采用超声波对柠檬皮渣苦素的提取。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for regression model

变异来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	是否显著 Significance
模型 Model	1.23	9	0.14	7.05	0.0087	高度显著($P \leq 0.01$)
残差 Residual	0.14	7	0.019	-	-	-
失拟项 Lack of fit	0.13	3	0.045	-	-	-
纯误差 Pure error	7.532E-004	4	1.883E-004	-	-	-
总和 Cor total	4.36	16	-	-	-	-

回归模型系数显著性检验结果见表 4。由表 4 和 C^2 显著($P < 0.01$), 其他不显著($P > 0.1$)。可知, 模型一次项 A、C 较显著($P < 0.1$), 二次项 B^2

表 4 回归模型系数显著性检验

Table 4 Analysis of significance for regression coefficient

因子项 Factor	回归系数 Regression coefficients	自由度 df	F 值 F value	P 值 P value	是否显著 Significance
Intercept	1.72	1	-	-	-
A	0.094	1	3.67	0.0969	较显著
B	0.072	1	2.16	0.1853	不显著
C	0.110	1	5.16	0.0573	较显著
AB	0.075	1	1.15	0.3182	不显著
AC	-0.047	1	0.45	0.5231	不显著
BC	-0.026	1	0.14	0.7171	不显著
A^2	-0.140	1	4.36	0.0752	较显著
B^2	-0.260	1	15.06	0.0060	显著
C^2	-0.350	1	26.59	0.0013	显著

2.2 响应面分析

响应面图形是响应值对各因素所构成的三维空间的曲面图,图1、图2和图3为液料比(A)、乙醇浓度(B)、处理时间(C)在其中一个固定时,另外两个对柠檬皮渣柠檬苦素提取影响曲面图。比较图1、图2和图3的曲面图可知,液固比(A)、超声波处理时间(C)对柠檬皮渣柠檬苦素提取的影响较为显著,表现为曲线较陡峭,乙醇浓度(B)不显著,表现为曲线相对平滑。可能是柠檬苦素类化合物在400W超声波处理下,在乙醇溶液中浸出速度都很大,故提取乙醇浓度的变化对柠檬苦素提取率影响不显著。比较图1、图2和图3的等高线图可以看出液料比(A)、乙醇浓度(B)、提取时间(C)的交互影响显著性相似,表现为等高线相对密度相似,这与方差分析结果一致。

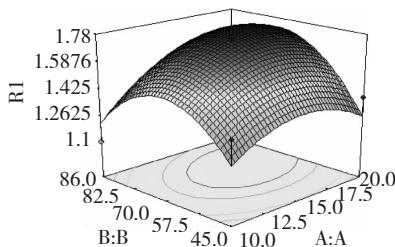


图1 乙醇浓度、液固比及其交互作用对提取率的影响

Fig. 1 Effects of liquid solid ratio, ethanol concentration and their interactions on the extraction yield

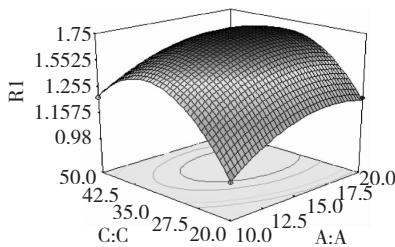


图2 液固比、提取时间及其交互作用对提取率的影响

Fig. 2 Effects of liquid solid ratio, extraction time and their interactions on the extraction yield

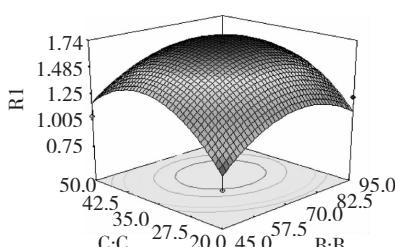


图3 乙醇浓度、提取时间及其交互作用对提取率的影响

Fig. 3 Effects of ethanol concentration, extraction time and their interactions on the extraction yield

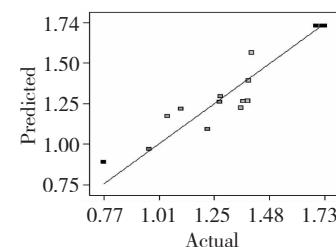


图4 预测值与实验值相关图

Fig. 4 Correlation plot of predicted extraction yield and actual extraction yield

2.3 模型优化与验证

模型对各实验号的预测值与实验值相关图见图4,图4可以发现大部分样本点落在45度的对角线附近,说明模型的预测值与实验值之间误差较小,模型能用于柠檬苦素提取率的预测。在选取的各因素范围内,根据回归模型通过Design Expert软件分析得出,柠檬苦素最佳提取条件为:液固比为16.80:1,乙醇体积分数为74.55%,超声波处理时间为36.94 min,提取率理论预测值为1.752 mg/g。而最优工艺条件恰好与表2中处理号为5、10、11、16和17的实验条件相近(液固比为15,乙醇体积分数为70%,超声波处理时间为35 min),这5个实验的提取率分别为1.698、1.725、1.734、1.727和1.723 mg/g,平均值为1.721 mg/g,平均值与理论预测值为1.752 mg/g接近,说明响应曲面得出的结论是正确的,即该方程与实际情况拟合很好,响应曲面法适用于柠檬皮渣苦素超声波提取工艺分析和参数优化。

3 结论

本文利用试验设计软件Design Expert,采用Box-Behnken Design设计实验方案,分析得出柠檬皮渣柠檬苦素超声波乙醇提取的最佳工艺条件,在最佳工艺条件下对柠檬皮渣苦素进行提取,不但提取液柠檬苦素含量最高,而且实验的重现性好,说明响应曲面法得出的结论是正确的,本文得出的柠檬苦素最佳提取工艺具有一定开发价值。

参考文献

- Li JF(李建凤),Ren L(任磊),Wang Z(王真),et al. Study on ultrasound-assisted extraction of pectin from lemon peel by using surface response method. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技),2013,34:267-269.

(下转第1601页)