

响应面法优化番石榴幼果提取液粉末原料喷雾干燥工艺^Δ

苏丹*, 谢果, 刘文利, 吴敏芝(电子科技大学中山学院化学与生物工程学院, 广东中山 528402)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)34-4840-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.34.29

摘要 目的: 优选番石榴幼果提取液的喷雾干燥工艺条件。方法: 以得率为指标, 基于单因素试验对番石榴幼果提取液的进样质量浓度、进样温度、进样速度3个因素采用响应面法优化喷雾干燥工艺条件; 同时考察了总黄酮和总多酚在各工艺步骤中的含量和转移率。结果: 最优工艺条件为进样质量浓度100 g/L、进样温度170 ℃、进样速度180 ml/h; 验证试验显示3批产品得率为(56.08 ± 0.58)% (RSD=1.04%, n=3), 试验值与预测均值差值为0.25, 无显著性差异(P>0.05); 喷干粉中保留了较高的总黄酮和总多酚, 二者质量分数分别为(17.80 ± 0.09)%和(1.23 ± 0.06)%, 工艺转移率分别为87.7%、25.7%。结论: 优化的工艺可行, 所得产品合格, 可用于进一步制备多种固体制剂。

关键词 番石榴; 幼果; 提取液; 喷雾干燥; 工艺优化; 响应面法; 总黄酮; 总多酚

Optimization of Spray Drying Process of Powder from the Raw Fruits Extracts of *Psidium guajava* by Response Surface Method

SU Dan, XIE Guo, LIU Wen-li, WU Min-zhi (School of Chemistry and Bioengineering, Institutes of Zhongshan, University of Electronic Science and Technology, Guangdong Zhongshan 528402, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize spray drying process for the raw fruits extract of *Psidium guajava*. METHODS: Based on single factor, the response surface method was designed to optimize spray drying process condition, using extract rate as index and mass concentration, sampling temperature and sampling speed as factors. The contents and transport rate of total flavones and total polyphenol were determined in each step. RESULTS: The optimal process was as follows as mass concentration of 100 g/L, sampling temperature of 170 ℃, sampling speed of 180 ml/h. Under this condition, the yield of 3 batches of product was (56.08 ± 0.58)% (RSD=1.04%, n=3). The difference value between test value and predict value was 0.25, without significant difference (P>0.05). The powder of the raw fruits of *P. guajava* had high contents of total flavones [(17.80 ± 0.09)%] and total polyphenol [(1.23 ± 0.06)%]. The transport rates of them were 87.7% and 25.7%. CONCLUSIONS: Optimized process is feasible to obtain qualified product, and can be used to make medicinal solid preparation.

KEYWORDS *Psidium guajava*; Raw fruits; Extract; Spray drying; Process optimization; Response surface method; Total flavones; Total polyphenol

番石榴(*Psidium guajava* L.)为桃金娘科(Myrtaceae)番石榴属(*Psidium*)常绿灌木或小乔木, 又称芭乐、鸡矢果、番桃等。其原产于南美洲热带地区, 于17世纪传入中国, 在我国南部广东、广西、福建、云南等省广泛分布。近年来的许多研究表明, 番石榴具有降糖、降压、抗病毒等多种生理作用^[1-3]。

广东省中药材标准(第一册)记载了番石榴的未成熟幼果

及叶, 其主要功效是涩肠止泻、收敛止血, 用于治疗泄泻、下痢不止; 其幼果果汁具有降血糖作用^[4]。相对于番石榴的成熟果实, 虽然其幼果本身是种植过程中的副产品, 但却具有更强的生物活性和药用价值, 更值得进一步研究和开发^[5-7]。笔者在本研究中, 先采用超声波法提取番石榴幼果, 再对其提取液进行喷雾干燥, 以得率为指标, 采用响应面法进行工艺优选; 并

2013, 29(1): 13.

- [4] 代春敏, 曹柏营, 昌友权. 返魂草对人体免疫作用的试验研究[J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(3): 299.
- [5] 王月花, 范小琴, 侯立新. 姜黄素滴丸的成型工艺优选及质量评价[J]. 中国药房, 2013, 24(31): 2 929.
- [6] 夏海建, 张振海, 贾晓斌. 雷公藤红素缓释滴丸的研究[J]. 中草药, 2013, 44(7): 834.

Δ 基金项目: 广东省中山市科技计划项目(No.2013A3FC0269; 20123A276)

* 讲师, 博士。研究方向: 天然药物的开发与利用。电话: 0760-88325742。E-mail: sdsy@163.com

- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010; 附录 86.
- [8] 李宁, 冯兆佳, 叶秀金, 等. 白芍总苷缓释滴丸的制备研究[J]. 中草药, 2009, 40(9): 1 388.
- [9] 方瑜, 向柏, 潘振华, 等. 姜黄素缓释滴丸的制备及体外释放度考察[J]. 中成药, 2010, 33(1): 111.
- [10] 张秀荣, 崔佰吉, 郝乘仪, 等. 均匀设计优化延灯滴丸的制备工艺[J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(2): 112.

(收稿日期: 2015-06-17 修回日期: 2015-08-31)

(编辑: 刘萍)

对幼果、提取液及喷干粉中的有效成分总黄酮与总多酚进行了含量测定,从而为下一步制备番石榴幼果降糖药物或功能性保健食品的固体制剂奠定基础。

1 材料

1.1 仪器与设备

KQ-50B、KQ5200V型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HH-4型数显恒温水浴锅(上海博泰实验设备有限公司);RE-52型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);AL104型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);HCP246型恒温干燥箱(上海实验仪器有限公司);DZF-6210型真空干燥箱(上海精密仪器仪表有限公司);B290型Mini Sprayer喷雾干燥机(瑞士Buchi公司);PCF型高压磁力搅拌反应釜(烟台科立化工设备有限公司)。

1.2 药材、药品与试剂

新鲜采集的番石榴幼果(中山市翠山食品有限公司提供,夏季6—7月份采摘);芦丁对照品(批号:100080-201408,纯度:92.8%)、没食子酸对照品(批号:110831-201204,纯度:89.9%)均来源于中国食品药品检定研究院;Folin酚试剂(合肥博美生物科技有限责任公司);麦芽糊精(济南嘉裕化工有限公司,食用级);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总黄酮的测定

采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色法^[8-9],并加以改进。将番石榴幼果原料干粉以80%乙醇为提取溶剂浸泡30 min后水浴回流1.5 h,过滤,将母液转入1 000 ml量瓶中定容;提取液浓缩汁及喷雾干燥粉直接用80%乙醇溶解稀释。测定时各供试品按照线性范围要求稀释至合适浓度。量取2.0 ml样品液置于10 ml量瓶中,加入80%乙醇3 ml、5%亚硝酸钠0.4 ml,摇匀,放置6 min,加入10%硝酸铝溶液0.4 ml,摇匀,放置6 min,再加入4%氢氧化钠溶液4 ml,加水至10 ml,摇匀,放置15 min。以相应的试剂作空白对照,在510 nm波长处测定并计算总黄酮含量。提取液浓缩汁中含量相应折算为干物质含量。以芦丁为对照品,绘制总黄酮的标准曲线方程为 $y=0.0101x-0.0104$ (y 为吸光度, x 为质量浓度, $r=0.9998$),芦丁检测质量浓度线性范围为11.5~57.5 $\mu\text{g/ml}$;精密密度试验的RSD=0.42%($n=6$);回收率为101.3%(RSD=0.98%, $n=6$)。

2.2 总多酚的测定

参照文献^[10-11],采用Folin酚法,并加以改进。精密称取番石榴幼果原料干粉100 g至1 000 ml锥形瓶中,加入500 ml 80%乙醇密封浸泡1 d。将锥形瓶放入超声波清洗器中超声提取3次(功率:40 W,频率:40 kHz),每次溶剂量均为500 ml,超声时间30 min,温度为30 $^{\circ}\text{C}$ 。抽滤,合并3次提取滤液,40 $^{\circ}\text{C}$ 下旋转蒸发器减压浓缩至无醇味后转移至250 ml量瓶中,加水至刻度,摇匀,定容。取该溶液1 ml至100 ml量瓶中,加水至刻度,摇匀,定容,作为供试品溶液。提取液浓缩汁、喷雾干燥粉直接加水溶解稀释。测定时各供试品按照线性范围要求稀释至合适浓度。精密吸取样品溶液1 ml于10 ml量瓶中,加水至刻度;精密量取0.2 ml置于10 ml量瓶中,加入0.5 ml Folin酚试剂乙,立即混匀并振荡1 min,再加入2 ml Folin酚试剂甲,立即混匀并振荡0.5 min,用水定容至刻度,在

25 $^{\circ}\text{C}$ 下反应60 min,于765 nm波长处测定并计算总多酚含量。提取液浓缩汁中含量相应折算为干物质含量。以没食子酸为对照品,绘制总多酚的标准曲线方程为 $y=0.0367x+0.0223$ ($r=0.9991$),表明没食子酸检测质量浓度线性范围为4.24~21.2 $\mu\text{g/ml}$;精密密度试验RSD=0.95%($n=6$);回收率为102.4%(RSD=1.28%, $n=6$)。

2.3 原料处理与提取

将新鲜番石榴幼果用水清洗干净之后或切丝干燥后用粉碎机粉碎到60目左右,按料液比1:4加入水,在常温下浸泡120 min,浸泡过程中用超声波强化提取(功率:200 W,频率:40 kHz)30 min;置于高压反应釜中在70 $^{\circ}\text{C}$ 、16 MPa条件下搅拌提取120 min(200~300 r/min),采用离心分离并收集上清液;滤渣加入相同比例的水重复上述过程再提取1次,离心分离并合并上清液;然后采用真空薄膜法浓缩至原体积的30%,用70%乙醇作为沉淀剂除去杂质,用离心法收集的上清液,采用真空薄膜法浓缩至密度为1.05 g/ml,即为番石榴幼果提取液浓缩汁。

按“2.1”和“2.2”项下方法测定幼果和提取液浓缩汁中的总黄酮和总多酚,结果幼果中的总黄酮质量分数为(3.11 \pm 0.06)% (RSD=2.00%, $n=6$),总多酚质量分数为(0.073 \pm 0.003)% (RSD=4.06%, $n=6$);提取液浓缩汁(折成干物质计)中的总黄酮质量分数为(29.49 \pm 0.54)% (RSD=1.84%, $n=6$),总多酚质量分数为(6.83 \pm 0.35)% (RSD=5.13%, $n=6$);总黄酮、总多酚提取率分别为69.8%、44.9%。

2.4 喷雾干燥单因素试验

在前期试验基础上,笔者发现喷雾干燥工艺的进样质量浓度、进样温度和进样速度3个因素对喷干粉得率影响较大,所以首先分析各个因素对得率的影响,从而确定响应面设计的中心值和范围。产品得率=喷雾干燥粉质量/喷雾干燥前番石榴浓缩液总固形物质量 \times 100%。

2.4.1 单因素试验设计 (1)进样质量浓度:将待喷雾干燥的原液分别加入助干剂制备成质量浓度为50、75、100、125 g/L(以总固形物质量计)的料液,固定进样温度180 $^{\circ}\text{C}$ 和进样速度200 ml/h,喷雾干燥后分别收集干粉,计算得率。(2)进样温度:选取120、150、175、200 $^{\circ}\text{C}$ 作为进样温度,固定进样质量浓度70 g/L和进样速度200 ml/h,喷雾干燥后分别收集干粉,计算得率。(3)进样速度:选取100、200、300、400 ml/h为进样速度,固定进样质量浓度70 g/L和进样温度180 $^{\circ}\text{C}$,喷雾干燥后分别收集干粉,计算得率。

2.4.2 单因素试验结果 3种因素对喷雾干燥粉得率的影响详见图1。

从图1可见:(1)进样质量浓度。图1a中其最优值为100 g/L,但在100~125 g/L间数值下降较快,如果考虑单因素影响所得到的最优值在一定范围内与高斯分布类似,为了保证得到最优工艺,最终选取了90 g/L作为中心点,高、低值分别为110、70 g/L。(2)进样温度。图1b可见其最优值为175 $^{\circ}\text{C}$,选取170 $^{\circ}\text{C}$ 为中心点,高、低值分别为180、160 $^{\circ}\text{C}$ 。(3)进样速度。图1c可见其最优值为200 ml/h,选取200 ml/h为中心点,高、低值分别为250、150 ml/h。

2.5 响应面试验

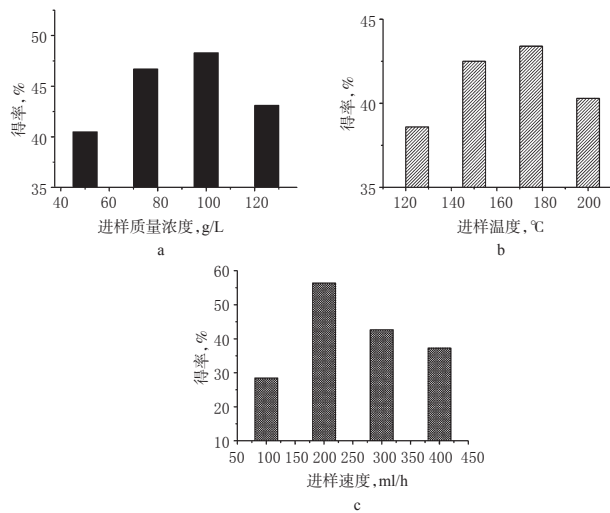


图1 3种因素对喷雾干燥粉得率的影响

Fig 1 Influence of 3 factors on the yield of spray powder

2.5.1 响应面试验设计 在单因素试验的基础上,通过 Design Expert 8.0.6.1 版软件,采用 Box-Behnken 中心组合试验设计法,以料液进样质量浓度(A)、进样温度(B)、进样速度(C) 3 个影响喷雾干燥粉得率的主要因素,进行 3 因素 3 水平响应面试验设计。试验因素与水平编码见表 1。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平 编码	因素		
	A(进样质量浓度),g/L	B(进样温度),°C	C(进样速度),ml/h
-1	70	160	150
0	90	170	200
1	110	180	250

2.5.2 响应面试验结果 对试验数据进行方差分析和回归分析,预测喷雾干燥的最优工艺参数。试验设计与结果见表 2。

表2 试验设计与结果

Tab 2 Design and results of experiment

试验号	A	B	C	喷干粉得率, %
1	70	170	250	37.37
2	90	170	200	55.67
3	70	170	150	38.31
4	90	170	200	55.58
5	90	160	250	30.22
6	70	160	200	43.46
7	90	170	200	55.36
8	110	180	200	49.71
9	90	180	150	36.73
10	90	170	200	55.71
11	110	170	250	38.65
12	90	170	200	55.47
13	110	170	150	49.58
14	90	180	200	43.32
15	110	160	200	49.62
16	70	180	200	42.42
17	90	160	150	49.59

利用 Design Expert 软件对表 2 中产品得率的试验数据进行回归分析,得到产品得率的二次多项回归方程为 $Y=55.56+3.25A-0.089B-3.08C+0.28AB-2.5AC+6.49BC-4.12A^2-$

$5.13B^2-10.46C^2$ 。在试验设计范围内,一次项的偏回归系数的绝对值 $A>C>B$,说明进样质量浓度对产品得率的影响最大,其次是进样速度,而进样温度的影响最小。对该模型进行方差分析,结果见表 3。

表3 回归模型方差分析

Tab 3 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	1 056.66	9	117.41	1 767.96	<0.000 1
A	84.50	1	84.50	1 272.44	<0.000 1
B	0.06	1	0.06	0.95	0.362 5
C	75.95	1	75.95	1 143.73	<0.000 1
AB	0.32	1	0.32	4.81	0.064 4
AC	24.95	1	24.95	375.71	<0.000 1
BC	168.48	1	168.48	2 537.06	<0.000 1
A ²	71.52	1	71.52	1 077.03	<0.000 1
B ²	110.98	1	110.98	1 671.20	<0.000 1
C ²	460.59	1	460.59	6 935.81	<0.000 1
残差	0.46	7	0.07		
失拟项	0.38	3	0.13	6.13	0.056 2
纯误差	0.08	4	0.02		
总变异	1 057.12	16			
$R^2=0.999 6$			校正 $R^2=0.999 0$		

从表 3 方差分析结果来看,产品得率回归模型的 $P<0.000 1$,说明模型高度显著;模型的 R^2 和校正 R^2 分别为 0.999 6 和 0.999 0,说明该模型能解释 99.90% 响应曲面的变化,仅有总变异的 0.10% 不能用此模型解释;失拟项 $P>0.05$,说明模型拟合程度良好,试验误差小,该模型是合适的,可用于预测喷雾干燥中的产品得率。由分析还可知一次项 A、C,交互项 AC、BC 以及二次项 A²、B²、C²的 P 均小于 0.000 1,对产品得率的影响高度显著;一次项 B 与交互项 AB 对产品得率影响不显著。进样速度、进样质量浓度和进样温度的交互作用对产品得率的影响效果见图 2。

2.6 喷雾干燥工艺验证

以产品得率为响应值,对模型试验数据进行最优化分析,得到当 $A=0.592$ 、 $B=0.165$ 、 $C=-0.357$,即进样质量浓度为 101.83 g/L、进样温度为 171.65 °C、进样速度为 182.17 ml/h 时,产品得率最高(55.83%)。以模型条件为参考,选定进样质量浓度为 100 g/L、进样温度为 170 °C、进样速度为 180 ml/h 时进行验证试验,产品得率为 $(56.08 \pm 0.58)\%$ ($RSD=1.04\%$, $n=3$);试验值与预测均值差值为 0.25,无显著性差异($P>0.05$),验证了该模型的可靠性。

2.7 产品质量控制

依法测定喷雾干燥粉的总黄酮与总多酚含量,结果见表 4 (其中喷雾干燥粉含 31.5% 麦芽糊精助干剂),并得二者工艺转移率分别为 87.7%、25.7%。

另外,产品水分含量参照 2010 年版《中国药典》(一部)附录 IXH 第一法进行测定^[12],结果含水率均在 5% 之下。

3 讨论

番石榴幼果含有较多的鞣质、黏液质和糖分等杂质,提取液如果采用通常的湿法干燥、干法干燥、流化床干燥,都容易出现严重的结块现象,难以制粒。这种情况下,喷雾干燥工艺是较好的选择。在对喷雾干燥工艺进行研究时,笔者发现将

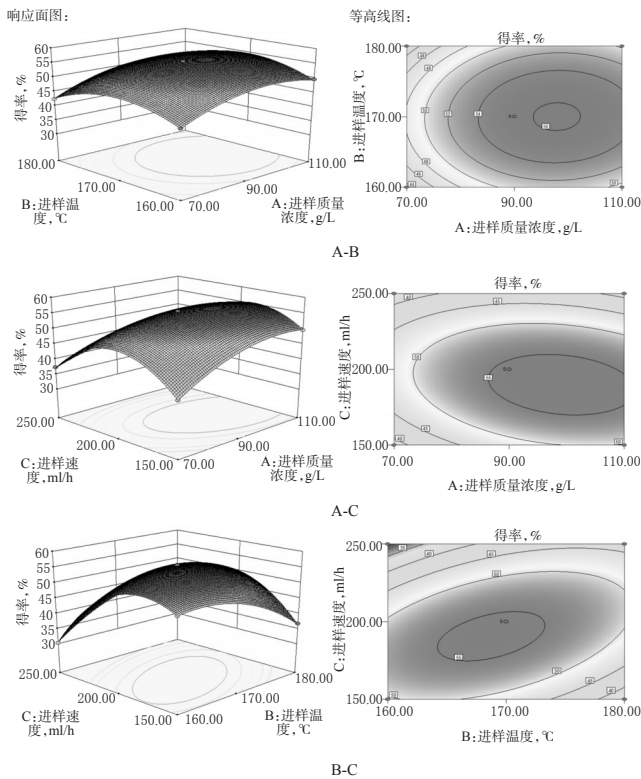


图2 3因素与得率间的响应面图与等高线图

Fig 2 Response surface plot and contour map of 3 factors and yield

表4 喷雾干燥粉中总黄酮与总多酚的测定结果(%)

Tab 4 The contents of total flavones and total polyphenol in powder of spray drying (%)

指标	喷雾干燥粉(n=6)	工艺转移率
总黄酮质量分数	17.80 ± 0.09(RSD=0.80%)	87.7
总多酚质量分数	1.23 ± 0.06(RSD=4.59%)	25.7

提取液直接喷干,一方面粘壁严重,产品得率极低;另一方面,喷干粉极易迅速吸潮,产生严重的粘连和板结,无法制粒。因此,制备其固体制剂的工艺,只能先考虑加入助干剂得到可以制粒的喷干粉末,再根据其中有效成分的含量来选择制剂的剂量(例如,颗粒剂的装量、片剂的片质量或胶囊的号数等)。

从产品的质量、工艺和经济因素综合考虑,本研究以产品得率考察喷雾干燥的工艺,喷雾干燥3个工艺参数的影响大小为进样质量浓度>进样速度>进样温度。利用软件进行优化分析得到模型中各因素的最优组合的产品得率最高,为55.83%。以模型条件为参考,经适当调整后验证试验,产品得率为56.1%,试验值与预测值接近,证明模型是可靠的。

在生产实践中,笔者发现单因素影响所得到的最优值通常在一定范围内与高斯分布类似,因此利用单因素考察得到最优值后,对进样质量浓度和进样温度的响应面设计的中心值作了偏移处理;为了保证得到最优工艺,3个参数的考察范围也相应地进行了缩小。结果表明,在较小的考察范围内仍然可以得到较好的响应面模型,说明在研究喷雾干燥难度较高的提取物(如与番石榴幼果类似的)的工艺条件时,响应面方法具有很好的适用性和预测精确度。

番石榴幼果的杂质较多,在喷雾干燥时易出现喷雾口阻塞、粘壁严重等现象。为了保证喷干粉质量,前期试验对提取工艺中的乙醇体积分数和喷雾干燥的助剂类型进行了考察。结果表明,提取时需要较高的乙醇体积分数(70%)进行沉淀才能得到可供喷雾干燥的提取液。对多种助干剂辅料麦芽糊精、β-环糊精、可溶性淀粉进行筛选,发现添加麦芽糊精作为助剂辅料可有效改善喷雾干燥效果,使喷雾干燥顺利进行。

在优化条件下,制备出了品质良好的番石榴幼果提取液粉末,保留了较高的黄酮类成分,多酚类成分也有一定的保留,含水率<5%,具有较高稳定性,为番石榴幼果降糖药物或功能性保健食品的固体制剂提供了可靠的原料。

参考文献

- [1] Ghorbani A, Langenberger G, Feng L, et al. Ethnobotanical study of medicinal plants utilised by Hani ethnicity in Naban River Watershed National Nature Reserve, Yunnan, China[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 134(3):651.
- [2] Wang HJ, Chiang BH. Anti-diabetic effect of a traditional Chinese medicine formula [J]. *Food & Function*, 2012, 3(11):1161.
- [3] Hsieh CL, Lin YC, Yen GC, et al. Preventive effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaves and its active compounds against α-dicarbonyl compounds induced blood coagulation[J]. *Food Chem*, 2007, 103(2):528.
- [4] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准:第1册[S]. 广州:广东科技出版社, 2004:138-139.
- [5] Huang CS, Yin MC, Chiu LC. Antihyperglycemic and antioxidant potential of *Psidium guajava* fruit in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(9):2189.
- [6] Lin CY, Yin MC. Renal protective effects of extracts from guava fruit (*Psidium guajava* L.) in diabetic mice[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2012, 67(3):303.
- [7] 侯峰. 番石榴叶和幼果降糖成分开发研究[D]. 广州:华南理工大学, 2011:1-18.
- [8] 徐金瑞, 张名位, 张瑞芬, 等. 番石榴中总黄酮的微波萃取工艺研究[J]. *现代食品科技*, 2008, 24(7):674.
- [9] 彭伟文, 王英晶, 梅全喜, 等. 正交试验优选黑面神枝叶中总黄酮水提工艺[J]. *中国药房*, 2014, 25(19):1763.
- [10] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 茶叶中茶多酚和儿茶酚类含量的检测方法 GB/T 8313-2008[S]. 2008-10-01.
- [11] 冯子旺, 俞力超, 李峰, 等. 正交试验优选桑黄多酚超声提取工艺[J]. *中国药房*, 2012, 23(3):221.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:附录52.

(收稿日期:2015-08-27 修回日期:2015-09-20)

(编辑:刘萍)