

# 响应面法优化新疆野酸梅果肉多酚提取工艺研究

刘伟<sup>1</sup>, 杨如箴<sup>2</sup>, 李紫薇<sup>1</sup>, 闫丽丽<sup>1</sup>, 许凌燕<sup>1</sup>

(1. 伊犁师范学院 化学与生物科学学院, 新疆 伊宁 835000; 2. 伊犁州农业技术推广总站, 新疆 伊宁 835000)

**摘要:**以新疆野酸梅果肉为原料,以多酚提取量为指标,在单因素试验基础上,采用3因素3水平的Box-Behnken试验设计优化新疆野酸梅果肉多酚提取工艺。结果表明:新疆野酸梅果肉多酚最佳提取工艺为乙醇体积分数39%,料液比1:35 g/mL,提取温度63.1℃,提取时间90 min,多酚提取量为13.89 mg/g,与理论预测值(13.96 mg/g)相符合。表明响应面法用于优化野酸梅果肉多酚提取工艺稳定、可行。

**关键词:**野酸梅(樱桃李);响应面分析法;多酚

**中图分类号:**S 663.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)04-0123-04

野酸梅学名樱桃李(*Prunus cerasifera*),属蔷薇科落叶灌木或小乔木,是珍贵的野生小浆果种,果肉柔软多汁,果皮红色至紫黑色<sup>[1-2]</sup>。主要分布于中亚天山、高加索、小亚细亚及巴尔干半岛,新疆伊犁地区天山地段是它分布区的东端,在我国仅分布于新疆霍城县的大西沟和小西沟,也是目前世界仅存的野生纯林<sup>[3-4]</sup>。居住在天山大西沟的哈萨克牧民长期食用野酸梅果酱或将果实晒干泡茶饮用,高血脂及高血压患者较少,因此野酸梅被誉为“雪域珍果”<sup>[5]</sup>,具有天然的保健功能和开发前景。植物多酚是天然抗氧化物中的一大类重要物质,蓝莓、树莓、黑莓、草莓等小浆果富含天然酚类活性物质

成分<sup>[6-7]</sup>,具有很强的抗氧化和清除自由基活性以及抗癌、抗老化等功效<sup>[8]</sup>,其提取工艺的优化可为新疆野酸梅的深度开发利用创造新的途径。目前,国内外对野酸梅果肉中多酚研究鲜见报道。该试验以野酸梅果肉为原料,通过响应面法优化果肉中多酚的提取工艺,以期提高新疆野酸梅的深加工利用附加值。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试野酸梅于新疆伊犁霍城县大西沟随机采摘,经伊犁师范学院资源与生态研究所赵玉副教授鉴定,去杂后挑选无伤、成熟度基本一致的剥皮、果肉冻干、粉碎后过40目筛备用;福林酚试剂:Sigma公司;没食子酸:中国药品生物制品检定所;其它试剂均为分析纯。

仪器与设备:FA2104电子天平(上海舜宇恒平科学

**第一作者简介:**刘伟(1985-),男,硕士,讲师,研究方向为天然产物活性成分提取分离。E-mail:nculiuwei@126.com.

**基金项目:**伊犁师范学院有机重点学科资助项目(2013ylsyy002)。

**收稿日期:**2013-10-23

## Study on Ultrasonic Extraction of Flavonoids From Ginger and Antibacterial Activity

JIANG Shao-juan, LIU Xiao-li

(Department of Biology and Chemistry Engineering, Panzhihua University, Panzhihua, Sichuan 617000)

**Abstract:** With ginger as raw material, the ultrasonic extraction of flavonoids from ginger was studied. The extraction process of flavonoids was optimized with single factor experiment and orthogonal experiment, and the antibacterial activity of flavonoids from ginger was studied by filter paper method. The results showed that the optimum extraction conditions were determined as follows: alcohol concentration 80%, solid-liquid ratio 1:12 g/mL, extraction temperature 50℃, extraction time 15 minutes. And ginger flavonoids showed different antibacterial activity for the four bacteria, the order of the strength of the inhibitory effect was *Bacillus subtilis* > *Aspergillus niger* > *Penicillium* > *Escherichia coli*.

**Key words:** ginger; ultrasonic extraction; flavonoids; orthogonal experiment; antibacterial activity

仪器有限公司);DD-5M 型低速离心机(湘仪离心机有限公司);SY-2000 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);美国 Millrock BT85 小型台式冻干机(上海汇分电子科技有限公司);SHZ-III 循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂);UV-2550 紫外可见分光光度计(日本岛津分析仪器厂);BAO-150AG 型电热恒温干燥箱(上海亚荣生化仪器厂)。

## 1.2 试验方法

1.2.1 提取方法 称取适量冻干并粉碎的野酸梅果肉粉末于圆底烧瓶中,加入一定体积分数的乙醇溶液,置于恒温磁力搅拌器中,按照相应的提取条件控温搅拌提取、冷却后补重,离心取上清液,定容备用。

1.2.2 标准曲线的绘制 参照文献[9]方法并稍加修改,精密称量 50 mg 没食子酸,用蒸馏水溶解并定容至 100 mL,精密量取 5 mL 定容至 10 mL 容量瓶中,分别移取 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL 于 25 mL 的比色管中,加入 1.0 mL 福林酚试剂,摇匀静置 4 min,加入 2 mL 7.5 g/L 碳酸钠溶液,蒸馏水定容。将上述溶液避光放置 2 h,以蒸馏水为空白参比,在 760 nm 波长处测定吸光度。以质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。得回归方程: $Y=105.92983X+0.05252(R^2=0.9997)$ ,说明没食子酸在质量浓度 1.39~7.05  $\mu\text{g/mL}$  与吸光度线性关系良好。

1.2.3 多酚含量的测定 准确量取 1.0 mL 野酸梅果肉提取液定容至 100 mL 容量瓶中,精密量取 0.5 mL 于 25 mL 比色管中,按没食子酸标准品测定方法,于 760 nm 波长处测定吸光度,计算多酚提取量( $\text{mg/g}$ )。多酚含量( $\text{mg/g}$ )= $\text{CVN}/W^{[10]}$ ,式中: $C$ 为根据标准曲线计算出待测液中多酚含量( $\text{mg/mL}$ ); $V$ 为待测液体积( $\text{mL}$ ); $N$ 为稀释倍数; $W$ 为野酸梅果肉质量( $\text{g}$ )。

1.2.4 单因素试验 乙醇体积分数对多酚提取量的影响:控制反应条件为料液比 1:30  $\text{g/mL}$ 、反应时间 60 min、反应温度 50℃,考察在乙醇体积分数为 30%、45%、60%、75%、90% 时多酚的提取量。提取温度对多酚提取量的影响:控制反应条件为乙醇体积分数 45%、料液比 1:30  $\text{g/mL}$ 、反应时间 60 min,考察反应温度在 25、40、55、70、85℃ 时多酚的提取量。料液比对多酚提取量的影响:控制反应条件为乙醇体积分数 45%、反应时间 60 min、反应温度 50℃,考察在液料比为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50  $\text{g/mL}$  时多酚的提取量。提取时间对多酚提取量的影响:控制反应条件为乙醇体积分数 45%、反应温度 50℃、料液比 1:30  $\text{g/mL}$ ,考察在提取时间为 30、60、90、120、150 min 时多酚的提取量。

1.2.5 野酸梅果肉多酚提取工艺响应面试验优化 在

单因素试验的基础上,以提取液中多酚质量浓度为响应值,采用 Box-Behnken 设计 3 因素 3 水平试验并结合响应面分析法对野酸梅果肉多酚的提取工艺进行优化,因素水平设计见表 1。

表 1 响应面试验因素及水平

因素	水平		
	-1	0	1
A 乙醇体积分数/%	30	45	60
B 料液比/ $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	1:25	1:30	1:35
C 提取温度/℃	50	60	70

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

2.1.1 不同乙醇体积分数对多酚提取量的影响 由图 1 可知,多酚提取量随乙醇体积分数在 30%~45% 范围内升高而增加,之后开始下降。推测野酸梅果肉的主要成分为强极性化合物,因此确定乙醇最佳体积分数为 45%。

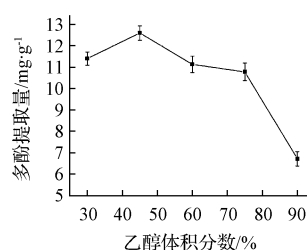


图 1 乙醇体积分数对多酚提取量的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentration on polyphenol yield

2.1.2 不同提取温度对多酚提取量的影响 由图 2 可知,在试验温度范围内,多酚提取量随着温度升高而增加。原因可能是温度升高加快了多酚类物质的溶出速率,考虑到温度过高提取物中活性成分易被破坏,提取温度以 55℃ 为宜。

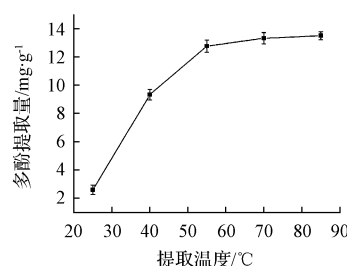


图 2 提取温度对多酚提取量的影响

Fig. 2 Effect of extraction temperature on polyphenol yield

2.1.3 不同料液比对多酚提取量的影响 由图 3 可知,在试验料液比范围内,多酚提取量随着提取剂用量增大而逐渐升高,当料液比达到 1:30  $\text{g/mL}$  时,继续增加提取液的比例,对多酚提取量的影响并不显著。

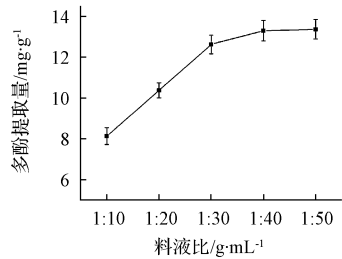


图3 料液比对多酚提取量的影响

Fig.3 Effect of solid-liquid ratio on polyphenol yield

2.1.4 不同提取时间对多酚提取量的影响 由图4可知,在90 min内,多酚提取量随着提取时间的增加而增大,之后趋势变化不显著,因此在其它条件确定时最佳提取时间为90 min。

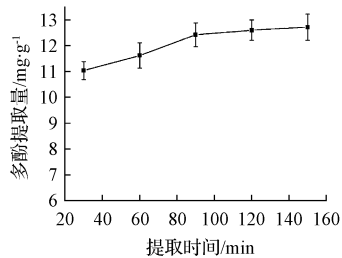


图4 提取时间对多酚提取量的影响

Fig.4 Effect of extraction time on polyphenol yield

2.2 响应面法优化多酚提取条件

在单因素试验基础上,固定提取时间90 min,以乙醇体积分数、料液比、提取温度为自变量,多酚提取量为响应值(Y),设计17次试验,其中析因部分试验12次,中心点重复试验5次。试验结果见表2,方差分析结果见表3。试验以随机次序进行,利用Design expert 8.0软件对数据进行多元回归拟合,得到以多酚提取量Y为目

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	A	B	C	Y 多酚提取量/mg·g <sup>-1</sup>
1	0	1	-1	12.602
2	1	0	-1	10.498
3	0	0	0	12.811
4	0	0	0	12.985
5	-1	-1	0	12.502
6	-1	0	1	12.981
7	0	-1	-1	10.753
8	1	-1	0	10.597
9	1	0	1	11.408
10	-1	1	0	13.702
11	0	0	0	13.017
12	0	1	1	13.314
13	1	1	0	12.862
14	0	-1	1	11.781
15	0	0	0	12.973
16	-1	0	-1	11.399
17	0	0	0	12.966

标函数: $Y=12.94-0.65A+0.85B+0.53C+0.26AB-0.17AC-0.082BC-0.53A^2-0.84C^2$ 。

表3 回归方程各项的方差分析

Table 3 Analysis of variance for the fitted regression model

参数	自由度	平方和	F 值	P 值	显著性
总模型	9	16.23	119.40	<0.0001	**
A	1	3.40	223.68	<0.0001	**
B	1	5.86	385.00	<0.0001	**
C	1	2.24	147.08	<0.0001	**
AB	1	0.28	18.63	0.0035	*
AC	1	0.12	7.42	0.0296	
BC	1	0.03	1.64	0.2411	
A <sup>2</sup>	1	1.22	80.01	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	1	0.00	0.02	0.9594	
C <sup>2</sup>	1	2.98	195.68	<0.0001	**
失拟项	3	0.08	4.17	0.1008	

注: \*\* 表差异极显著,  $P<0.01$ , \* 表差异显著,  $P<0.05$ 。

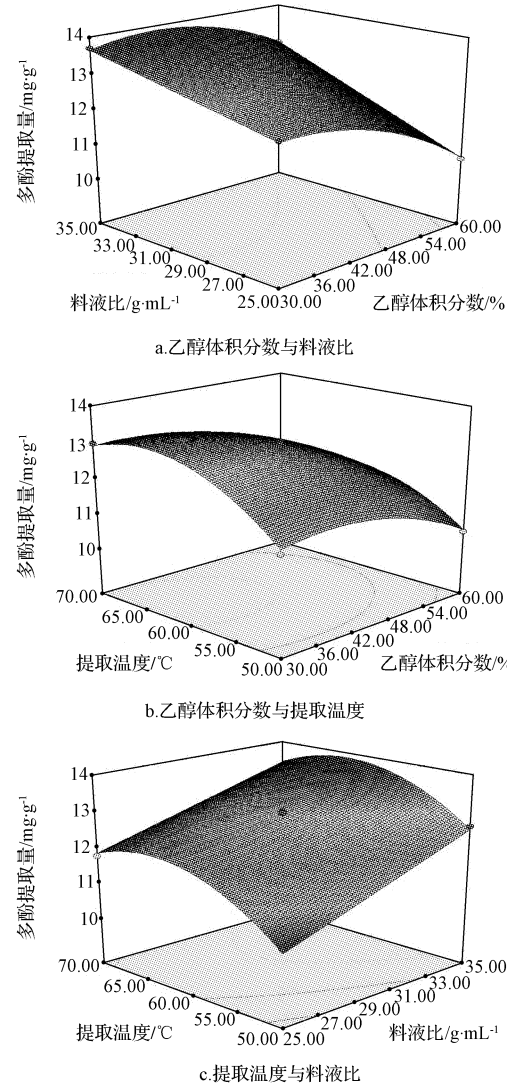


图5 不同自变量交互作用对多酚提取量影响的响应面图

Fig.5 Response surface for the interaction of different independent variables on the polyphenol yield

由表 3 可知,总模型  $F$  值为 119.40,表明模型显著;水平  $P < 0.01$ ,方程显著。由  $P$  值可知,交互项不显著,表明总酚提取量与自变量非简单的线性关系;检验的  $F$  值为 4.17,表明数据拟合效果较好,因此可以采用此模型对回归方程进行检验。

由图 5 可知,回归方程存在最大值,由 Design expert 8.0 软件分析得到最佳提取条件为乙醇体积分数 38.9%、料液比 1:35 g/mL、提取温度 63.1℃,理论多酚提取量为 13.96 mg/g。为方便操作,多酚提取优化工艺参数选为乙醇体积分数 39%、料液比 1:35 g/mL、提取温度 63.1℃、提取时间 90 min。在此条件下进行 3 次平行试验,多酚提取量为 13.89 mg/g。表明响应面法优化野酸梅果肉中多酚的提取工艺准确可靠,具有一定的实用价值。

### 3 结论

在单因素试验基础上,采用响应面分析法对野酸梅果肉多酚提取工艺进行优化,结合可操作性得出最佳提取条件为乙醇体积分数 39%、料液比 1:35 g/mL、提取温度 63.1℃,提取时间 90 min,多酚提取量为 13.89 mg/g,经检验证明该模型合理可靠。

### 参考文献

- [1] 李紫薇,欧阳艳,贾风勤,等.野酸梅皮色素抗氧化活性研究[J].食品科技,2011,36(6):269-271.
- [2] 李紫薇,欧阳艳,腊萍,等.树脂法提取野酸梅皮色素工艺研究[J].食品科学,2012,33(4):62-65.
- [3] 新疆植物志编委会.新疆植物志[M].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1995,364.
- [4] 李利平,海鹰,买买提安尼瓦尔,等.新疆伊犁地区野果林的群落特征及保护[J].干旱区研究,2011,28(1):60-66.
- [5] 张士康,肖正春,张广伦,等.樱桃李与蓝莓果的营养价值[J].中国野生植物资源,2004,23(3):1-3.
- [6] Kalt W, Forney C F, Martin A, et al. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(11):4638-4644.
- [7] 刘文旭,黄午阳,曾晓雄,等.草莓、黑莓、蓝莓中多酚类物质及其抗氧化活性研究[J].食品科学,2011,32(23):130-133.
- [8] Morton L W, Croft K D, Puddey I B, et al. Phenolic acid protect low-density lipoproteins from peroxynitrite-mediated modification *in vitro*[J]. Redox Report, 2000, 5(2/3):124-125.
- [9] Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-raventos R M, et al. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by mean of Folin-Ciocalteu reagent[J]. Meth Enzymol, 1999, 299(8):152-178.
- [10] 冯进,曾晓雄,李春阳.响应面法优化蓝莓叶多酚提取工艺[J].食品科学,2013,34(4):59-64.

## Optimization of Polyphenol From Xinjiang Wild Plum Flesh Using Response Surface Methodology

LIU Wei<sup>1</sup>, YANG Ru-zhen<sup>2</sup>, LI Zi-wei<sup>1</sup>, YAN Li-li<sup>1</sup>, XU Ling-yan<sup>1</sup>

(1. College of Chemistry and Biology Sciences, Ili Normal University, Yining, Xinjiang 835000; 2. Master Station for Spreading Agricultural Technique in Ili Prefecture, Yining, Xinjiang 835000)

**Abstract:** With Xinjiang wild plum flesh as raw material, the optimum conditions for the extraction of polyphenol from it were determined using response surface methodology. With the yield of polyphenol as the index, the Box-Behnken experimental design with three factors and three levels was used to optimize the extraction conditions on the basis of preliminary experimental results. The results showed that the optimal conditions for maximum polyphenol yield (13.89 mg/g) were 39% ethanol, 63.1℃ and 1:35 g/mL solid-liquid ratio for 90 min. Under these conditions, the maximum predicted extraction yield (13.96 mg/g) was in good agreement with its experimental counterpart. It suggested that response surface methodology for optimization of polyphenol from wild plum flesh was stable and reliable.

**Key words:** wild plum (*Prunus cerasifera*); response surface methodology; polyphenols