

doi:10.11937/bfyy.20190582

超声波-酶协同提取枸杞总黄酮的工艺及其抗氧化活性

牛红军¹, 刘 鹏¹, 袁文蛟¹, 李赫宇², 杨官娥³

(1. 天津现代职业技术学院 生物工程学院, 天津 300350; 2. 天津市益倍建生物技术有限公司, 天津 300457;
3. 山西医科大学 药学院, 山西 太原 030001)

摘 要:以枸杞子为试材,采用超声波-酶协同法提取枸杞子中的总黄酮,通过单因素试验与响应面分析法分析液料比、纤维素酶添加量、酶解时间、酶解温度、酶解 pH 和超声时间对枸杞总黄酮提取率的影响,优化得出最佳工艺参数。结果表明:超声波-酶协同提取枸杞总黄酮的最佳提取条件为液料比 20:1 mL·g⁻¹、纤维素酶添加量 1.0%、酶解时间 1.5 h、酶解温度 51℃、酶解 pH 5.1 和超声时间 21 min,该条件下枸杞总黄酮的提取率为 1.3%,与模型的预计值基本相符;枸杞总黄酮具有对 DPPH 自由基清除能力和对 Fe³⁺ 还原能力,呈抗氧化活性,并且抗氧化活性与质量浓度呈一定的量效关系。

关键词:超声波-酶协同法;枸杞总黄酮;提取工艺;响应面分析法

中图分类号:S 567.19 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2020)02-0101-07

枸杞子属茄科枸杞属植物宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)的干燥成熟果实,既是食品又是药品。枸杞子性甘味平,是一种传统的滋补类中药,具有滋补肝肾和益精名目的功能^[1]。研究表明,枸杞色素、枸杞总黄酮、枸杞多糖和甜菜碱等是枸杞子中重要的活性物质。枸杞总黄酮是枸杞子中黄酮类化合物的总称,具有抑制肿瘤细胞增殖、抗氧化、抑菌、延迟血糖升高、调血脂和调节生殖系统等活性^[2-5]。

枸杞子中黄酮化合物种类较多,主要是醇溶性的黄酮苷元和水溶性的黄酮苷,因此多采用乙

醇溶液提取枸杞总黄酮。目前,提取枸杞总黄酮的方法包括有机溶剂提取法、微波辅助提取法、酶催化提取法、超声波辅助提取法和索氏提取法等。超声波辅助提取法具有提取率高、溶剂用量小和耗时短等优点,已成为常用的提取黄酮的方法之一^[6]。酶通常由产酶菌株通过发酵制得,为进一步提高超声波法的提取效率,已有联用酶与超声波法提取总黄酮的研究^[7-8],但尚鲜见将超声波-酶协同法用于提取枸杞总黄酮的报道。该研究以乙醇溶液为溶剂,在单因素试验的基础上,运用响应面分析法优化超声波-酶协同提取枸杞子中总黄酮的工艺,旨在探索出提取率更高,易于规模化生产的枸杞总黄酮的提取工艺,为提高枸杞子中总黄酮的利用效率提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试深红色干燥的枸杞子由中宁县寿宝工贸有限公司提供。

芦丁标准品、DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯

第一作者简介:牛红军(1981-),男,硕士,副教授,高级工程师,研究方向为生物制药与天然活性物质提取。E-mail:hayaoshengwu@126.com.

责任作者:杨官娥(1967-),女,博士,教授,研究方向为天然活性物质提取。E-mail:yangguane@aliyun.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81173473);天津市津南区科技计划资助项目(201805016);中国轻工业联合会教育工作分会 2019 年度资助项目(QGJY2019031)。

收稿日期:2019-09-29

胍)(Solarbio 公司);纤维素酶($>400 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$)(南京奥多福尼生物公司);抗坏血酸(VC)、亚硝酸钠、硝酸铝和无水乙醇等均为国产分析纯试剂(天津市科密欧化学试剂有限公司)。

RE2000A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);UV-1800PC-DS2 紫外可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司);ME204E 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);FW80-I 高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);SHZ-D(III)循环水真空泵(予华仪器有限公司);5804R 台式高速大容量离心机(德国 Eppendorf 公司);YH-200DH 超声波震荡器(上海予皓科学仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 芦丁标准曲线的绘制

精密称取芦丁标准品 25 mg,用 75%乙醇溶解,定容于 25 mL 容量瓶,配制成 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液,待用。分别量取 0.00、0.05、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 芦丁标准品溶液置于 25 mL 容量瓶中,加入 1.00 mL 5%亚硝酸钠溶液,摇匀,静置 6 min 后,加入 1.00 mL 10%硝酸铝溶液,摇匀,静置 6 min 后,加入 5.00 mL 4%氢氧化钠溶液,定容,摇匀,静置 20 min。以 510 nm 波长测定溶液的吸光度,绘制标准曲线,得出浓度与吸光度方程 $A=12.052C+0.013$, $R^2=0.9993$,线性关系良好。

1.2.2 枸杞总黄酮的提取及含量测定

枸杞子 60 °C 干燥至恒质量,粉碎后过药筛,取 50~80 目枸杞子粉末,置于索氏提取器中用石油醚脱脂,除去脂肪和色素等脂溶性杂质(石油醚溶液用于制备枸杞色素)。取脱脂后的枸杞子粉末,加入 30%乙醇溶液^[9]和酶^[10],用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 和 HCl 溶液调节 pH 后,一定温度下酶解,然后,以预试验确定的超声功率 200 W、超声频率 40 kHz 提取一定的时间后,得枸杞总黄酮提取液。以 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,上清液即为待测液。待测液准确定容至适当浓度后,参照 1.2.1 中 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 显色法测定枸杞总黄酮的浓度,计算枸杞总黄酮的质量和提取率。

总黄酮提取率(%)=(提取液中总黄酮的质量/枸杞子的质量) $\times 100$ 。

1.2.3 单因素试验和响应面设计

以枸杞总黄酮提取率为考察指标,考察液料

比、酶添加量、酶解温度、酶解 pH、酶解时间,以及超声时间等因素对提取效果的影响。液料比对枸杞总黄酮提取率的影响:准确称取 2.00 g 脱脂的枸杞子粉末 6 份,分别以液料比为 10:1、20:1、30:1、40:1、50:1、60:1 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 加入 30%的乙醇溶液, pH 5.5,加入 1.2%纤维素酶,酶解温度为 50 °C,酶解时间为 2 h,超声提取 20 min。酶添加量对枸杞总黄酮提取率的影响:准确称取 2.00 g 脱脂的枸杞子粉末 6 份,以液料比为 20:1 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$,加入 30%的乙醇溶液, pH 5.5,分别以 0.6%、0.8%、1.0%、1.2%、1.4%、1.6%加入纤维素酶,酶解温度为 50 °C,酶解时间为 2 h,超声提取 20 min。酶解温度对枸杞总黄酮提取率的影响:准确称取 2.00 g 脱脂的枸杞子粉末 5 份,以液料比为 20:1 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$,加入 30%的乙醇溶液, pH 5.5,加入 1.0%纤维素酶,酶解温度分别为 30、40、50、60、70 °C,酶解时间为 2 h,超声提取 20 min。酶解 pH 对枸杞总黄酮提取率的影响:准确称取 2.00 g 脱脂的枸杞子粉末 6 份,以液料比为 20:1 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$,加入 30%的乙醇溶液, pH 分别为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5,加入 1.0%纤维素酶,酶解温度为 50 °C,酶解时间为 2 h,超声提取 20 min。酶解时间对枸杞总黄酮提取率的影响:准确称取 2.00 g 脱脂的枸杞子粉末 6 份,以液料比 10:1 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$,加入 30%的乙醇溶液, pH 5.0,加入 1.0%纤维素酶,酶解温度为 50 °C,酶解时间分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h,超声提取 20 min。超声时间对枸杞总黄酮提取率的影响:准确称取 2.00 g 脱脂的枸杞子粉末 6 份,以液料比为 20:1 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$,加入 30%的乙醇溶液, pH 5.0,加入 1.0%纤维素酶,酶解温度为 50 °C,酶解时间为 1.5 h,超声提取时间分别为 10、20、30、40、50、60 min。

根据以上单因素试验结果,确定酶解温度、酶解 pH 和超声时间为需要通过响应面试验进一步优化的因素(表 1)。以枸杞总黄酮提取率为考察指标,采用 Design-Expert 8.0 软件的 Box-Behnken Design 设计法优化工艺参数,得出超声波-酶协同提取枸杞总黄酮的优化工艺条件。

1.2.4 对比试验

超声波法提取枸杞总黄酮。准确称取 2.00 g

表1 响应面试验因素及水平

Table 1 Level and factor of the response surface experiment

水平 Level	因素 Factor		
	A 酶解温度 Temperature/℃	B 酶解 pH pH	C 超声时间 Time/min
-1	40	4.5	20
0	50	5.0	30
1	60	5.5	40

脱脂的枸杞子粉末,采用50%乙醇溶液,以液料比为40:1 mL·g⁻¹,温度为80℃,超声提取60 min^[11]。

酶法提取枸杞总黄酮。准确称取2.00 g脱脂的枸杞子粉末,采用45%乙醇溶液,以液料比20:1 mL·g⁻¹,纤维素酶添加量0.3%,酶解温度50℃,pH 4.0,酶解提取2.5 h^[12]。

1.2.5 枸杞总黄酮体外抗氧化活性测定

以维生素C为对照,采用DPPH自由基清除试验测定枸杞总黄酮的抗氧化活性^[13-14]。取3.0 mL枸杞总黄酮提取液,加入1 mL 0.2 mmol·L⁻¹的DPPH乙醇溶液,混匀后室温下避光放置30 min。以无水乙醇调零,在517 nm波长测定吸光度 A_i 。以等体积水代替DPPH乙醇溶液,其它不变,测得吸光度 A_c ,另外,以等体积水代替样品,其它同上,测得吸光度为 A_0 。DPPH自由基清除率计算公式如下:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = (1 - (A_i - A_c) / A_0) \times 100.$$

以维生素C为对照,参照文献^[15],测定枸杞总黄酮对Fe³⁺的还原能力。

1.3 数据分析

试验数据重复3次取平均值,采用Design-Expert 8.0软件进行数据统计与分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 液料比对枸杞总黄酮提取率的影响

由图1可知,黄酮提取率随着液料比变大而增高,当液料比大于20:1 mL·g⁻¹后,提取率变化不明显,甚至不再增大而略有下降。增大溶剂用量,可增大原料与溶剂接触面积,利于黄酮浸出,但是,体积增大会使纤维素酶浓度降低,影响酶解效果,当液料比达40:1 mL·g⁻¹及更大时提

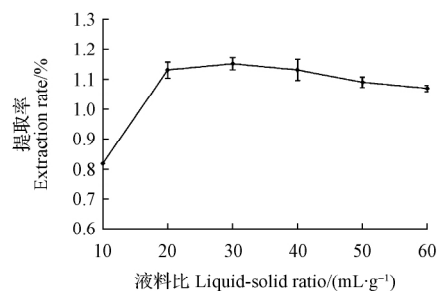


图1 液料比对枸杞总黄酮提取率的影响

Fig. 1 Effect of liquid-solid ratio on flavonoid yield

取率略有下降。因此,综合考虑溶剂消耗与提取率,生产工艺中适宜的液料比为20:1 mL·g⁻¹。

2.1.2 酶添加量对枸杞总黄酮提取率的影响

由图2可知,总黄酮提取率随着酶添加量增加而增高,提高纤维素酶的浓度会增强对细胞壁的破坏效果,利于总黄酮溶解。因此,参照曲线变化趋势,从节约酶资源的角度出发,生产工艺中适宜的酶添加量为1.0%。

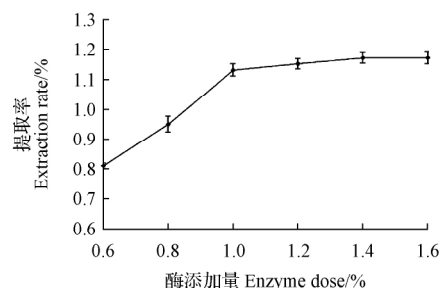


图2 酶添加量对枸杞总黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effect of enzyme dose on flavonoid yield

2.1.3 酶解温度对枸杞总黄酮提取率的影响

由图3可知,温度会影响纤维素酶活性,影响对细胞壁的破坏效果,从而影响总黄酮提取率。优化试验时宜选择酶解温度为40、50、60℃。

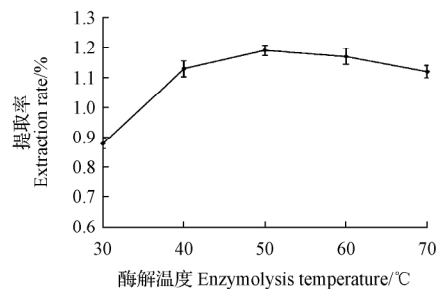


图3 酶解温度对枸杞总黄酮提取率的影响

Fig. 3 Effect of enzymolysis temperature on flavonoid yield

2.1.4 酶解 pH 对枸杞总黄酮提取率的影响

由图 4 可知,黄酮提取率受提取液 pH 的影响较明显,适宜 pH 时纤维素酶有较高的活性,能较好地破坏细胞壁,利于黄酮浸出。优化试验时,宜选择酶解 pH 为 4.5、5.0、5.5。

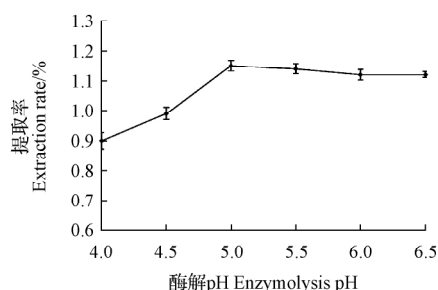


图 4 酶解 pH 对枸杞总黄酮提取率的影响

Fig. 4 Effect of enzymolysis pH on flavonoid yield

2.1.5 酶解时间对枸杞总黄酮提取率的影响

由图 5 可知,随着酶解时间延长,细胞壁破坏程度增强,黄酮溶出越来越充分。酶解时间较长时,细胞壁破坏已较充分,提取率不再随酶解时间的延长而提高。当酶解时间较长时,可能部分黄酮苷水解为极性较小的黄酮苷元而沉淀析出,使得黄酮提取液中黄酮含量下降。生产工艺中,适宜的酶解时间为 1.5 h。

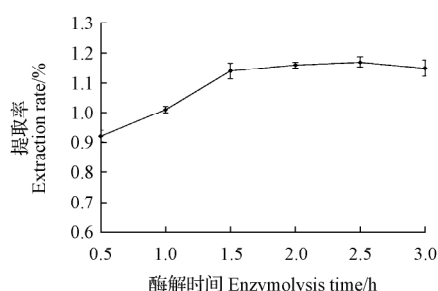


图 5 酶解时间对枸杞总黄酮提取率的影响

Fig. 5 Effect of enzymolysis time on flavonoid yield

2.1.6 超声时间对枸杞总黄酮提取率的影响

由图 6 可知,黄酮提取率随着超声时间延长而增加,但是,当超声时间超过 30 min 时,黄酮提取率开始下降。可能超声时间过长对纤维素酶活性造成影响,对细胞壁酶解能力减弱,同时,有黄酮苷被纤维素酶水解成苷元而导致提取率降低。优化试验时,超声提取时间宜选取 20、30、40 min。

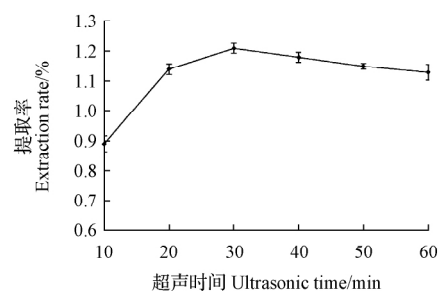


图 6 超声时间对枸杞总黄酮提取率的影响

Fig. 6 Effect of ultrasonic time on flavonoid yield

2.2 响应面试验

2.2.1 响应面试验结果分析

利用 Design-Expert 8.0 软件对响应面试验数据进行多元回归拟合、方差分析和显著性检验。响应面试验设计方案见表 2。得到以枸杞总黄酮提取率为(Y)目标函数的二次回归方程 $Y = 1.25 - 0.031A + 0.055B - 0.086C + 0.017AB - 0.065AC + 0.028BC - 0.11A^2 - 0.13B^2 - 0.051C^2$ 。

表 2 Box-Behnken 方案及结果

Table 2 Box-Behnken test design and results

试验号 No.	因素 Factor			枸杞总黄酮提取率 Extraction rate of flavonoid/%
	A	B	C	
1	50	4.5	40	0.90
2	40	5.0	40	1.13
3	50	5.0	30	1.26
4	40	4.5	30	0.99
5	50	5.0	30	1.24
6	40	5.0	20	1.15
7	40	5.5	30	1.08
8	60	5.0	20	1.19
9	50	4.5	20	1.15
10	50	5.5	20	1.19
11	60	5.5	30	1.08
12	60	5.0	40	0.91
13	50	5.0	30	1.27
14	50	5.0	30	1.23
15	50	5.5	40	1.05
16	60	4.5	30	0.92
17	50	5.0	30	1.26

对数据进行显著性检验,由表 3 可知,该模型 P 值小于 0.01,该模型极显著。模型校正相关系数 $R^2 = 0.964$,表明该模型试验值与理论值相关性高,能解释 96.40% 的响应值变化,失拟项 $P >$

0.05 不显著,模型可信度较高。回归模型中,一次项 A、B、C,交互项 AC,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对超声波-酶协同提取枸杞总黄酮工艺参数影响均极显著($P<0.01$)。方差分析结果下 F 值显示,影响枸杞总黄酮提取率因素的大小依次为超声时间>酶解 pH>酶解温度。

表 3 回归模型的方差分析
Table 3 Variance analysis for the regression equation

来源 Source	平方和 Sum of square	自由度 Freedom	均方 Mean of square	F 值 F value	P 值 P value
模型	0.250 0	9	0.028 0	48.58	<0.000 1
A	0.022 0	1	0.022 0	37.21	0.000 5**
B	0.007 9	1	0.007 9	13.74	0.007 6**
C	0.018 0	1	0.018 0	30.62	0.000 9**
AB	0.001 2	1	0.001 2	2.11	0.189 2
AC	0.017 0	1	0.017 0	29.17	0.001 0**
BC	0.003 0	1	0.003 0	5.22	0.056 2
A^2	0.047 0	1	0.047 0	81.67	<0.000 1**
B^2	0.070 0	1	0.070 0	120.02	<0.000 1**
C^2	0.011 0	1	0.011 0	18.91	0.003 4**
残差	0.004 1	7	0.000 5		
失拟项	0.002 9	3	0.001 0	3.67	0.120 5
纯误差	0.001 1	4	0.000 3		
总离差	0.260 0	16		$R^2=0.984 2$	$R_{adj}^2=0.964 0$

注: ** , $P<0.01$ 表示差异极显著。
Note: ** , $P<0.01$ extremely significant difference.

各个因素之间的相互作用对枸杞总黄酮提取率的影响可以由响应面和等高线反映出来。等高线呈圆形表示二因素的交互作用不显著,而呈椭圆形则表示二因素的交互作用显著。由图 7 可知,固定酶解 pH,超声时间与酶解温度二因素的响应面的斜率较大,等高线图呈椭圆形,说明其交互作用对枸杞总黄酮提取率的影响显著。

2.2.2 最佳工艺条件确定

单因素试验优化得出的工艺参数为:液料比为 20:1 mL·g⁻¹,纤维素酶添加量 1.0%,酶解时间为 1.5 h。对回归方程求一阶偏导,得出预测的其它因素的最佳工艺条件为:酶解温度 51.39℃、酶解 pH 5.06、超声时间 21 min,预测枸杞总黄酮提取率为 1.29%。根据操作实际情况,优化的工艺参数修正为:酶解温度 51℃、pH 5.1、超声时间 21 min。3 次验证试验得到枸杞总黄酮提取率的平均值为 1.30%,与模型预测所能得到的理论值相近。

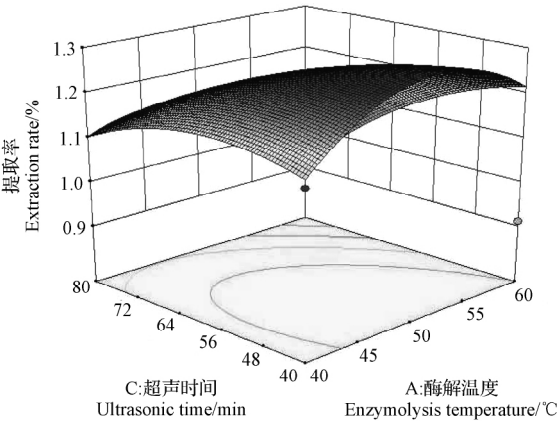


图 7 超声时间与酶解温度交互作用对枸杞总黄酮提取率影响的响应曲面

Fig 7 Response surface graphs showing the effect of ultrasonic time and enzymolysis time on the yield of flavonoid

2.2.3 对比试验结果

超声波法提取所得到枸杞总黄酮提取率为 0.99%,酶法提取所得到枸杞总黄酮提取率为 1.05%,2 种方法所得到枸杞总黄酮提取率均低于超声波-酶协同法的枸杞总黄酮提取率。通过对比试验,体现了超声波-酶协同法具有更高提取率的优势。

2.3 枸杞总黄酮体外抗氧化能力

由图 8 可知,当枸杞总黄酮质量浓度小于 60 μg·mL⁻¹ 时,随着枸杞总黄酮浓度的增加,DPPH· 的清除率逐步升高,当枸杞总黄酮浓度为 60 μg·mL⁻¹ 时,DPPH· 清除率达到 75.27%,当枸杞总黄酮浓度继续增大时,DPPH· 清除率变化缓慢,趋于平缓。经计算,维

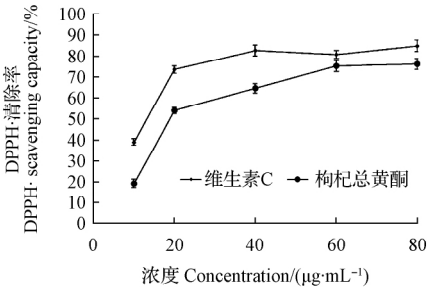


图 8 枸杞总黄酮 DPPH 自由基的清除率
Fig 8 DPPH· scavenging capacity of flavonoid from *Lycium barbarum*

生素 C 的 IC_{50} 为 $10.83 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 枸杞总黄酮的 IC_{50} 为 $25.24 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 枸杞总黄酮对 DPPH 的清除率小于维生素 C, 但依然体现出较强的抗氧化活性。

由图 9 可知, 随着枸杞总黄酮浓度由 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 增加至 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 枸杞总黄酮和维生素 C 对 Fe^{3+} 的还原能力逐渐增强, 并且还原能力与浓度呈明显的依赖关系。相同浓度枸杞总黄酮对 Fe^{3+} 的还原能力略低于维生素 C 对 Fe^{3+} 的还原能力。

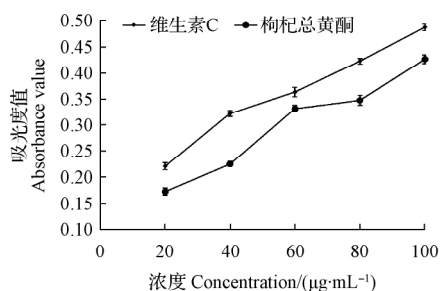


图 9 枸杞总黄酮对 Fe^{3+} 的还原能力

Fig. 9 Effect of flavonoids from *Lycium barbarum* on iron reducing force

3 结论与讨论

该研究采用超声波-酶协同法提取枸杞总黄酮, 并用单因素试验法和 Box-Behnken Design 响应面分析法优化提取工艺参数, 得出该提取方法的最佳提取工艺参数为: 液料比 $20:1 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 、纤维素酶添加量 1.0% 、酶解时间 1.5 h 、酶解温度 51°C 、酶解 pH 5.1 、超声时间 21 min , 在此工艺条件下, 枸杞总黄酮提取率为 1.30% 。方差分析结果显示, 影响枸杞总黄酮提取率大小的因素依次为超声时间 $>$ 酶解 pH $>$ 酶解温度。超声波-酶协同法提取制得的枸杞总黄酮具备对 DPPH 自由基清除能力和对 Fe^{3+} 还原能力, 具有抗氧化

活性, 并且枸杞总黄酮的抗氧化活性与其质量浓度呈一定的量效关系。响应面分析法可以较好地超声-酶协同法提取枸杞总黄酮工艺进行回归分析和工艺参数优化, 能够为进一步研究和应用枸杞总黄酮提供参考依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [2] 朱雅婷, 楚元奎, 王俊, 等. 宁夏枸杞总黄酮对恶性胶质瘤细胞株 U87-MG 表型的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2016(17): 1443-1446.
- [3] SUN Y J, RUKEY A J, TAO W Y, et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of wolfberry infusion[J]. Sci Rep, 2017(7): 40605.
- [4] 王伟, 尚佳, 廖国玲, 等. 枸杞总黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠血糖、血脂的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2017(1): 17-20.
- [5] 杨丽, 黄存, 郎多勇, 等. 枸杞总黄酮对良性前列腺增生大鼠血清性激素的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015(19): 240-241.
- [6] 马金菊, 孙江飞, 武文浩, 等. 响应面法优化无花果叶总黄酮超声辅助提取工艺[J]. 中国酿造, 2018, 37(3): 140-144.
- [7] 石松标, 周妙玲, 莫红玲, 等. 超声波辅助纤维素酶解法优化毛果鱼藤总黄酮的提取工艺及抗氧化活性[J]. 食品科技, 2018(8): 215-221.
- [8] 陈瑶, 吴龙月, 向福, 等. 泥鳅叶总黄酮的酶法提取及其抗氧化活性评价[J]. 中国酿造, 2017, 36(6): 142-146.
- [9] 贾冬舒, 秦凤贤, 刘蓓, 等. 酶法-乙醇辅助提取稻壳总黄酮工艺的研究[J]. 粮食与油脂, 2018, 31(8): 19-22.
- [10] 刘汉珍, 史亚东, 俞浩, 等. 超声-果胶酶协同提取滁菊总黄酮的工艺研究[J]. 中药材, 2016, 39(12): 2820-2822.
- [11] 吴韶梅, 哈婧, 冀亚敏. 枸杞总黄酮的提取及抗氧化作用研究[J]. 中国食品添加剂, 2013(5): 133-137.
- [12] 孙昊, 王芃. 酶与微波联用法提取枸杞总黄酮[J]. 食品研究与开发, 2017(9): 85-90.
- [13] 李婉仪, 吉文丽, 李蕊, 等. 响应面优化牡丹籽壳总黄酮超声波提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(4): 114-118.
- [14] 洪军, 张慧敏, 胡建业, 等. 禹州漏芦总黄酮最佳提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2018(10): 69-75.
- [15] SINGH S, SINGH R P. In vitro methods of assay of antioxidants: An overview[J]. Food Reviews International, 2008, 24(4): 392-415.

Ultrasonic Assisted Enzyme Extraction Technology and Antioxidant Activities of Total Flavonoids From *Lycium barbarum*

NIU Hongjun¹, LIU Peng¹, YUAN Wenjiao¹, LI Heyu², YANG Guan'e³

(1. School of Bioengineering, Tianjin Modern Vocational Technology College, Tianjin 300350; 2. Tianjin Ubasichealth Nutrition Co. Ltd., Tianjin 300457; 3. School of Pharmaceutical, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001)

doi:10.11937/bfyy.20191405

响应面法优化红树莓籽中鞣花酸的提取工艺

刘丽娜

(包头轻工职业技术学院, 内蒙古 包头 014035)

摘要:以红树莓籽为试材,在单因素试验基础上,采用 Box-Behnken 响应面设计法优化红树莓籽中鞣花酸的提取工艺,以期工业化生产提供必要的技术支持。结果表明:红树莓籽中鞣花酸的最佳提取工艺为 70% 丙酮与红树莓籽粉的固液比 1 : 14 g · mL⁻¹、提取时间 30 min、提取温度 70 ℃。在该条件下,红树莓籽中鞣花酸提取量达到 321.00 μg · g⁻¹。

关键词:红树莓籽;鞣花酸;提取;响应面法

中图分类号:TS 201.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2020)02-0107-06

树莓属蔷薇亚科悬钩子属^[1],又名悬钩子、覆盆子,为聚合浆果。树莓营养丰富,富含维生素 B₂、钙、锌、镁等,维生素 C 含量是苹果的 5 倍^[2],氨基酸及铁、锌、磷等微量元素含量高于苹果和葡萄^[3]。鞣花酸是一种多酚二内酯,广泛存在于树莓果实、树莓籽和叶子中,鞣花酸类物质具有保护 DNA、凝血止血、抗氧化、抗炎、抗诱变、

抗病毒、抗癌的作用^[4]。

目前鞣花酸等多酚类的提取方式以溶剂提取和超声辅助提取为主,除此之外乙酸乙酯萃取法、酸水解法、分离沉淀法等传统的方法由于提取时间长,很容易使多酚化合物降解。超声辅助提取树莓籽中鞣花酸的工艺具有成本低、耗能小、提取量高的特点^[5],适合多酚类化合物的提取。目前,关于超声辅助溶剂提取红树莓籽中鞣花酸的试验尚鲜见报道。

该研究中,采用超声辅助提取技术进行红树莓籽鞣花酸提取,研究了 70% 丙酮与红树莓籽粉的固液比、提取时间、提取温度对红树莓籽鞣花酸提取量的影响,并采用响应面法对提取工艺进行了优化。

作者简介:刘丽娜(1982-),女,硕士,副教授,研究方向为农产品加工与质量检测。E-mail:466457472@qq.com.

基金项目:内蒙古自治区“十三五”规划 2018 年度课题资助项目(NZJGH2018073);包头轻工职业技术学院校级重点资助项目(QY2017-1-3-15)。

收稿日期:2019-07-11

Abstract: Taking *Lycium barbarum* as materials, the total flavonoids of *Lycium barbarum* were extracted by ultrasonic assisted enzyme method. The liquid-solid ratio, enzyme dosage, enzymolysis time, enzymolysis temperature, enzymolysis pH and ultrasonic time were selected as factors by one-factor experimental design and response surface analysis for ultrasonic assisted enzyme method. The results showed that the optimum conditions of extraction of total flavonoids from *Lycium barbarum* by ultrasonic assisted enzyme method were liquid-solid ratio 20 : 1 mL · g⁻¹, enzyme dosage 1.0%, enzymolysis time 1.5 hours, enzymolysis temperature 51 ℃, enzymolysis pH 5.1 and ultrasonic time 21 minutes. Under the condition, the extraction rate of total flavone from *Lycium barbarum* was 1.30%. The total flavonoids had scavenging ability on DPPH · and Fe³⁺ reducing power. The antioxidant ability and mass concentration were in a concentration-dependent manner.

Keywords: ultrasonic assisted enzyme method; total flavonoids from *Lycium barbarum*; extraction technology; response surface analysis