

# 响应面法优化枣核总黄酮 超声提取工艺研究

陈 兰,李喜宏\*,王腾月,郝梅梅,马 文

(天津科技大学食品工程与生物技术学院,天津 300457)

**摘 要:**采用响应面法优化枣核中总黄酮的超声提取工艺。在单因素实验的基础上,采用响应面分析法优化超声提取工艺条件。结果表明,枣核中总黄酮的最佳超声提取工艺为:料液比1:50(g/mL)、超声功率305W、提取温度60℃,该工艺条件下枣核中总黄酮提取率为7.03mg/g,与预测值的相对误差为0.43%,实验值与预测值相吻合。枣核总黄酮提取工艺经优化后提取率得到有效提高,可为枣核的再利用提供参考。

**关键词:**枣核,总黄酮,提取率,响应面分析

## Study on optimization of the extraction of total flavonoids from date seeds by response surface methodology

CHEN Lan, LI Xi-hong\*, WANG Teng-yue, HAO Mei-mei, MA Wen

(School of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** The experiment is carried to achieve the optimal conditions for ultrasonic extraction of total flavonoids from Chinese date seeds. Base on single-factor experiments, the extraction conditions of the total extraction yield of flavonoids in the date seeds were optimized by response surface analysis method. The results showed that optimum extraction process conditions were as follows: solid-liquid ratio 1:50, ultrasonic power 305W, extraction temperature 60℃. The result of verification experiment (7.03mg/g) was coincided with predictive value. The extraction ratio of total flavonoids was effectively improved with the optimum extraction conditions, which could provide a reference for the reuse of date seeds.

**Key words:** date seeds; total flavonoids; extraction ratio; response surface analysis

中图分类号:TS255.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2013)24-0292-04

我国大枣资源丰富,年产量可达300多万t,其营养价值和药用价值极高,被誉为“木本粮食,滋补佳品”。目前,大枣产品多种多样,如蜜枣、枣泥、枣脯、枣酒等,而其加工和食用后的枣核下脚料则被丢弃或烧掉。《本草纲目》中记载:“核,烧、研,惨脞良”,可见,枣核具有一定的药用价值,若被丢弃或燃烧,在一定程度上污染了环境,并造成资源的浪费。研究表明,枣核中有较多的总黄酮物质,并且具有预防心脑血管疾病、防癌抗癌的功效<sup>[1-2]</sup>。以枣核为材料,提取其中的总黄酮物质,可以为枣核的综合利用提供理论依据。黄酮类物质的主要提取方法有机溶剂提取法、碱性稀醇或碱性水提取、超滤法、超声波辅助提取法、微波提取法和酶辅助提取法<sup>[3-4]</sup>,其中超声波辅助提取具有提取率高、提取时间短等特点,被广泛应用于生物活性物质的提取。与正交和均匀设计相比,Box-Behnken设计可以评价指标和因素间的非线性关系,使用方便,条件预测性好,对实验影响因素

的研究较为全面<sup>[5-6]</sup>。经查阅,采用超声波提取法对枣核中总黄酮进行提取的相关研究较少<sup>[7-8]</sup>,本文将以枣核为实验材料,结合单因素实验和响应面实验设计对枣核中总黄酮的超声提取工艺进行优化,旨在获取最佳工艺参数,为枣核的综合利用提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与amp;仪器

枣核 烘干后粉碎过40目筛(宁夏灵武地区灵武长枣);芦丁标品 中国药品生物制品检定所。

UV-2550PC型紫外可见分光光度计 日本岛津公司;FW-100型高速万能粉碎机 北京市永光明医疗仪器厂;Scientz-II D型超声波细胞粉碎机 宁波新芝生物科技股份有限公司;SHZ-III型循环水真空泵 上海亚荣生化仪器厂。

### 1.2 实验方法

1.2.1 总黄酮标准曲线的绘制 本实验以芦丁为标品,采用NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>比色法测定标准曲线<sup>[9-10]</sup>。芦丁标品浓度C(mg/L)在一定范围内与吸光度A呈良好的线性关系。线性回归方程为A=10.866C+0.0025,线性回归系数R=0.9991。

收稿日期:2013-05-10 \* 通讯联系人

作者简介:陈兰(1989-),女,硕士研究生,研究方向:农产品加工与贮藏。

基金项目:银川市灵武市农业综合开发产业化财政补助项目(640181202)。

### 1.2.2 枣核中总黄酮的超声提取工艺及单因素实验

准确称取一定量的干燥枣核粉,用50%的乙醇作为浸提剂,在设定的料液比(1:40)、超声功率(300W)、提取温度(55℃)下超声提取60min,抽滤得澄清溶液即为粗黄酮提取液。在进行单因素实验时,分别固定料液比(1:40)、超声功率(300W)、提取温度(55℃)中的两个因素,分别考察第三个因素料液比(1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70)、超声功率(200、250、300、350、400、450W)、提取温度(25、35、45、55、65、75℃)对枣核中总黄酮提取率的影响,进行单因素实验。

1.2.3 枣核中总黄酮提取率的计算 准确量取一定体积的总黄酮提取液,按1.2.1中的相关步骤,测吸光度,将数据代入线性回归方程得滤液中总黄酮浓度,再按下式计算得枣核中总黄酮提取率:  $Y(\text{mg/g}) = C \times V / M$

式中,  $C$ 为提取液中总黄酮浓度,  $\text{mg/L}$ ;  $V$ 为抽滤后得的滤液总体积,  $L$ ;  $M$ 为称取的枣核粉质量,  $g$ 。

1.2.4 响应面实验设计 在单因素实验的基础上,以枣核中总黄酮提取率为响应值,根据Box-Behnken实验设计原理<sup>[1]</sup>,运用Design Expert 8.0软件设计三因素三水平响应面实验,考察料液比、超声功率、提取温度及因素间交互作用对枣核中总黄酮提取率的影响,因素水平设计见表1。

表1 响应面分析因素水平表

水平	因素		
	A 料液比	B 超声功率(W)	C 提取温度(℃)
-1	1:40	250	45
0	1:50	300	55
1	1:60	350	65

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验

2.1.1 料液比对枣核总黄酮提取率的影响 图1为料液比对总黄酮提取率的影响,由图1可以看出,当料液比在1:20~1:50之间时,黄酮提取率随料液比增加而增加,当料液比在1:50~1:70时,提取率有缓慢下降的趋势,这是因为料液比大时,浸提剂乙醇可以与枣核粉充分接触,使黄酮类物质容易溶出,但是当其

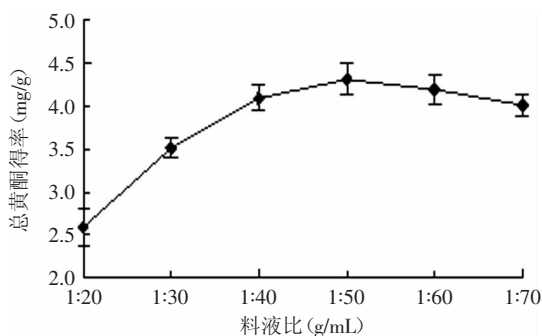


图1 料液比对枣核中总黄酮得率的影响

Fig.1 Effect of solid-liquid ratio on extraction of total flavonoids from date seeds

超过一定范围时,会导致其他杂质的过多溶出,从而影响总黄酮的溶解,并且为后续抽滤分离带来负担,增加成本。

2.1.2 超声功率对枣核总黄酮提取率的影响 实验结果如图2所示。由图2可知,当超声功率小于300W时,总黄酮得率随着超声功率的增加而迅速提高,当超声功率达到300W时,总黄酮得率达到最大值5.78mg/g,功率继续增大时,提取率反而下降,这是因为超声波可以使植物细胞壁形成较多的小孔,增强细胞膜的透性,利于胞内物质的溶出,但是功率过大会对黄酮类物质造成破坏,并且会增加能耗,增加提取成本。

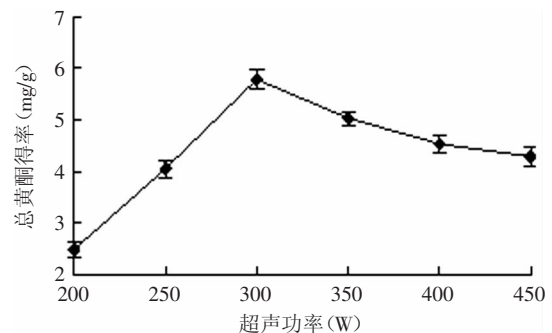


图2 超声功率对枣核中总黄酮得率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic power on extraction of total flavonoids from date seeds

2.1.3 提取温度对枣核总黄酮提取率的影响 实验结果如图3所示。由图3可知,当温度小于55℃时,随着温度的增高,枣核中总黄酮得率也随之增加,但是当提取温度超过55℃时,总黄酮得率开始下降,这是因为适当提高温度可以增强超声波对细胞的破坏作用,并加快总黄酮的渗透和扩散速度<sup>[12]</sup>,但是温度过高时,黄酮物质发生降解,并且长时间加热,导致浸提剂乙醇挥发,影响黄酮的浸出,因此确定提取温度在55℃左右比较合适。

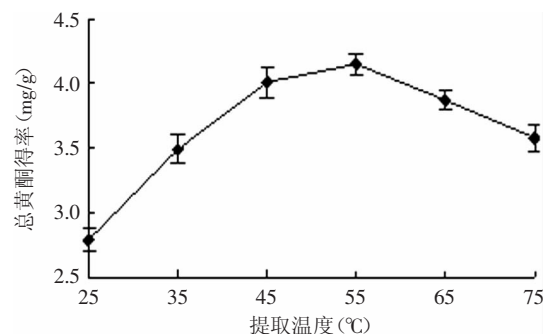


图3 提取温度对枣核中总黄酮提取率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on extraction of total flavonoids from date seeds

### 2.2 响应面优化总黄酮提取工艺的结果

2.2.1 回归模型的建立与分析 在单因素实验的基础上,进行三因素三水平响应面设计分析,设计17次实验,其中析因实验12次,中心组合实验重复5次,实

验设计方案及结果如表2所示,方差分析见表3。

表2 响应面设计方案及实验结果

Table 2 Design and results of response surface methodology

实验号	A	B	C	Y 总黄酮得率 (mg/g)	
				实验值	预测值
1	0	1	-1	4.69	4.64
2	0	0	0	7.16	6.99
3	0	-1	-1	4.57	4.67
4	0	-1	1	4.61	4.66
5	0	0	0	7.22	6.99
6	0	1	1	5.84	5.74
7	0	0	0	6.99	6.99
8	1	-1	0	4.26	4.14
9	1	0	1	5.97	6.03
10	-1	-1	0	4.09	4.06
11	1	1	0	4.15	4.18
12	-1	0	1	5.57	5.55
13	1	0	-1	4.58	4.60
14	-1	0	-1	5.94	5.88
15	0	0	0	6.79	6.99
16	-1	1	0	4.95	5.07
17	0	0	0	6.81	6.99

利用Design Expert 8.0软件对表2中的数据进行多元回归拟合分析,得到响应回归方程:

$$Y=6.99-0.20A+0.26B+0.28C-0.24AB+0.44AC+0.28BC-1.02A^2-1.61B^2-0.46C^2$$

式中,Y为枣核中总黄酮含量的预测值,A、B、C分别为料液比、超声功率、提取温度。

由表3的方差分析可知,该模型高度显著( $p < 0.0001$ ),失拟项不显著( $p = 0.6809 > 0.05$ ),决定系数 $R^2=0.9895$ ,校正系数 $R^2_{Adj}=0.9760$ ,表明此模型对于枣核中总黄酮得率实际值与预测值之间具有很好的拟

合度,可用该模型对枣核中总黄酮得率进行很好地分析和预测。

由表3还可看出,所选3个因素及之间的交互作用对总黄酮得率有显著影响,其中超声功率B和提取温度C分别对总黄酮提取率有极显著的影响,料液比和提取温度之间的交互作用极显著,且由 $p$ 值和 $F$ 值可以看出,各因素对总黄酮提取率影响的顺序为:提取温度>超声功率>料液比。

2.2.2 响应面分析 响应曲面三维图可以直观的反映各因素对响应值的影响程度及因素间的交互作用强弱,三维图在平面上的投影即为等高线图,等高线形状反映了交互影响的强弱,等高线趋于圆形时,两因素的交互作用相对较弱;等高线为椭圆形时,两因素的交互作用相对较强<sup>[13]</sup>,回归模型的响应面分析所作的响应曲面图如图4~图6所示。从图4~图6可以看出,所选三个因素的主效应显著,并且因素之间的交互作用也较大,与方差分析的结果相吻合;从三组三维曲面图可以看出提取温度温度相较于超声功率、料液比的曲线较陡峭,说明温度对于总黄酮提取的影响最为显著;当提取温度固定时,超声功率的曲

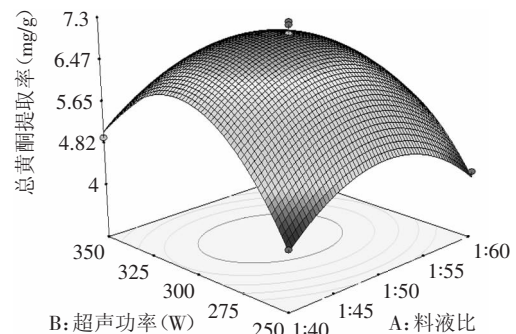


图4 超声功率和料液比交互作用的响应面

Fig.4 Response surface of ultrasonic power and solid-liquid ratio

表3 回归方差分析表

Table 3 Variance analysis of mathematical regression model

方差来源	平方和SS	自由度Df	均方MS	F值	p	显著程度
总模型	20.42	9	2.25	65.46	<0.0001	**
A	0.32	1	0.32	9.2	0.0151	*
B	0.55	1	0.55	16.04	0.0039	**
C	0.61	1	0.61	17.77	0.0030	**
AB	0.24	1	0.24	6.85	0.0281	*
AC	0.77	1	0.77	22.54	0.0016	**
BC	0.31	1	0.31	8.97	0.0160	*
A <sup>2</sup>	4.40	1	4.35	126.5	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	10.91	1	10.83	315.1	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	0.88	1	0.86	24.93	0.0011	**
残差	0.22	7	0.031			
失拟误差	0.062	3	0.021	0.54	0.6809	
纯误差	0.15	4	0.039			
总和	20.63	16				

注:相关系数 $R^2=0.9895$ ;校正系数 $R^2_{Adj}=0.9760$ ;\*: $p < 0.05$ ,显著;\*\*: $p < 0.01$ ,极显著。



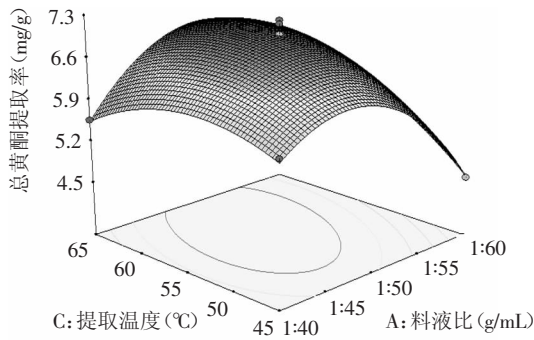


图5 提取温度和料液比交互作用的影响面

Fig.5 Response surface of extraction temperature and solid-liquid ratio

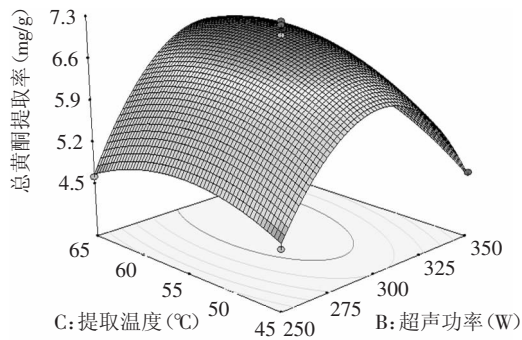


图6 提取温度和超声功率的影响面

Fig.6 Response surface of extraction temperature and ultrasonic power

线比料液比的陡峭,再一次的验证了枣核总黄酮的提取过程中,超声功率的影响比料液比的大。由图4可以看出,三维图的投影等高线图呈椭圆形,并且椭圆的轴线与纵、横坐标存在着一定的角度,说明料液比和提取温度存在着极显著的交互作用,这与回归方差分析表的结果相吻合。

2.2.3 最佳工艺的预测与验证 利用Design-expert 8.0的optimization功能,将总黄酮提取率的Goal选项选择为maximize,可得到唯一一个优化方案,即:料液比1:49.57、超声功率为305.59W、提取温度为58.15°C,枣核中总黄酮得率预测值为7.06mg/g。考虑实际操作过程的方便性,选择提取工艺参数为:料液比1:50、超声功率305W、提取温度60°C,在该工艺下进行五次平行实验所得的总黄酮平均得率为7.03mg/g,与预测值之间的相对误差仅为0.43%,表明用响应面法对枣核中总黄酮超声提取的各因素进行优化研究是合理可

行的,可以为工业化的生产提供合理的方案。

### 3 结论

采用超声法提取枣核中的总黄酮,通过单因素实验和响应曲面分析优化工艺条件,并结合实际操作确定枣核中总黄酮超声提取的最佳工艺为:料液比1:50、超声功率305W、提取温度60°C,提取率为7.03mg/g,提取率较高,对枣核中总黄酮进行提取利用是工业下脚料枣核资源化的有效途径,可为枣核的再利用提供参考依据。

### 参考文献

- [1] 张志国. 冬枣核类黄酮的提取工艺研究及其生物功能初探[D]. 西安:陕西师范大学,2006.
- [2] 张娜,杨保求,王倩,等. 枣核黄酮类物质的抗氧化性研究[J]. 安徽农业科学,2010,35:20037-20039.
- [3] 梁单,张保存. 黄酮类化合物提取和分离方法研究进展[J]. 周口师范学院学报,2007,24(5):87-88.
- [4] 李巧玲. 黄酮类化合物提取分离工艺的研究进展[J]. 山西食品工业,2003(4):6-7.
- [5] 高晓娟,马志刚,董琳,等. 响应面法优化伏毛铁棒锤根部总生物碱提取工艺[J]. 中药材,2010(10):1628-1632.
- [6] Yan Y, Yu C, Chen J, et al. Ultrasonic-assisted extraction optimized by response surface methodology, chemical composition and antioxidant activity of polysaccharides from Tremella mesenterica[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(1):217-224.
- [7] 张春兰,张锐利,熊素英,等. 超声波辅助提取红枣核中总黄酮的研究[J]. 安徽农业科学,2010(12):6503-6505.
- [8] 张吉祥,欧来良. 正交实验法优化枣核黄酮的超声提取工艺研究[J]. 食品工业科技,2012(10):280-283.
- [9] 张进荣,姚本林,刘伏煌,等. 银杏叶提取物中总黄酮的紫外分光光度测定[J]. 武汉化工学院学报,1998(1):27-29.
- [10] 郭雪峰,岳永德. 黄酮类化合物的提取·分离纯化和含量测定方法的研究进展[J]. 安徽农业科学,2007(26):8083-8086.
- [11] Yamazaki, Kushida N, Oguchi A, et al. Response Surface Design and Analyses[M]. New York:Marcel Dekker Inc, 1987: 149-205.
- [12] 陈志伟,陈坤,胡银川,等. 响应面法对苦丁茶总黄酮提取工艺的优化[J]. 西南大学学报:自然科学版,2012(5):119-125.
- [13] 王梅英,陈慧斌,陈军. 响应面法优化超声波辅助提取岩茶总黄酮工艺研究[J]. 食品工业科技,2011,32(12):327-330.
- [4] Melo P S, Bergamaschi K B, Tiveron A P, et al. Phenolic composition and antioxidant activity of agroindustrial residues[J]. Ciencia Rural, 2011, 41(6):1088-1093.
- [5] 韩丙军,彭黎旭. 植物多酚提取技术及其开发应用现状[J]. 华南热带农业大学学报,2005,11(1):21-25.
- [6] 王明芝,于丽梅,高春梅,等. 微波萃取技术在中药及天然产物提取中的应用[J]. 人参研究,2009(2):29-32.
- [7] 郭景强. 微波辅助提取技术及其在中药提取中的应用[J]. 天津药学,2010,22(4):63-65.
- [8] 曹增梅,黄和. 超声波辅助提取番石榴中多酚类物质的研究[J]. 食品与机械,2012,28(5):123-126.
- [9] 张云竹,王芳,谭秀霞. 番石榴中多酚物质的提取[J]. 食品研究与开发,2007,128(4):40-44.
- [10] 郑仕宏,张海德,何双,等. Folin-Ciocalteus法测定槟榔中多酚含量的研究[J]. 中南林业科技大学学报,2009,29(6):165-169.

(上接第291页)