

# 响应面法优化超声辅助提取 酸枣仁异牡荆素工艺

杨婷婷<sup>1</sup>, 李佳怡<sup>1</sup>, 张彦青<sup>1,2,\*</sup>, 解军波<sup>1,2</sup>, 王 轻<sup>1,2</sup>

(1.天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134;

2.天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134)

**摘要:**本研究旨在用响应面方法优化酸枣仁异牡荆素的超声辅助提取工艺。通过单因素实验考察超声时间、超声功率、乙醇体积分数、超声温度和液固比对异牡荆素得率的影响,以这些因素为自变量,异牡荆素得率为响应值,设计四因素三水平 Box-Behnken 响应面试验方法。结果表明,响应面法优化超声提取条件:超声功率 419 W,液固比 16:1 mL/g,超声时间 61 min,乙醇体积分数 73.70%,各因素的影响重要性依次为:乙醇体积分数 > 超声时间 > 液固比 > 超声功率。预测最佳得率 0.236% 与实际得率 0.241% 相比,相对误差为 2.075%,证明模型理论预测值与实际值拟合效果良好。本研究优化了提取异牡荆素的超声辅助技术,为超声辅助提取黄酮类化合物提供了方法借鉴。

**关键词:**酸枣仁,异牡荆素,超声辅助提取,得率,Box-Behnken 响应面

## Optimization of Ultrasonic Assisted Extraction of Isovitexin from *Zizyphi spinosae* Semen by Response Surface Methodology

YANG Ting-ting<sup>1</sup>, LI Jia-yi<sup>1</sup>, ZHANG Yan-qing<sup>1,2,\*</sup>, XIE Jun-bo<sup>1,2</sup>, WANG Qing<sup>1,2</sup>

(1.School of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China;

2.Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, Tianjin 300134, China)

**Abstract:** The ultrasonic assisted extraction of isovitexin from *Zizyphi spinosae* semen was optimized. On the basis of single factor experiment, ultrasound time, ultrasound power, ethanol volume fraction and liquid-solid ratio were selected as independent variables, the yield of isovitexin was used as the response value. The 4 factors and 3 level response surface tests were designed by Box-Behnken experiment. The results showed that the ultrasonic extraction conditions of optimization by response surface methodology was as follows: Ultrasound power 419 W, liquid-solid ratio 16:1 mL/g, ultrasound time 61 min, ethanol volume fraction 73.70%. The influence factors on the yield of isovitexin was as follows: Ethanol volume fraction > ultrasound time > liquid-solid ratio > ultrasound power. The relative error between the predicted optimum yield 0.236% and the actual yield 0.241% was 2.075%, which proved that the theoretical predicted value of the model fitted well with the actual value. In this study, the ultrasound assisted extraction technology of isovitexin was optimized to provide a reference for ultrasonic-assisted extraction of flavonoids.

**Key words:** *Zizyphi spinosae* semen; isovitexin; ultrasonic assisted extraction; yield; Box-Behnken response surface

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2019)15-0143-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2019.15.023

引文格式: 杨婷婷, 李佳怡, 张彦青, 等. 响应面法优化超声辅助提取酸枣仁异牡荆素工艺[J]. 食品工业科技, 2019, 40(15): 143-147, 154.

酸枣仁是鼠李科植物酸枣 (*Ziziphous jujuba* Mill. Var. *Spinosa* (Bunge) Hu. Et H.f. Chou) 的干燥成熟种子, 具有镇静安眠、补肝宁心等功效<sup>[1]</sup>, 黄酮类化合物是其主要化学成分<sup>[2-3]</sup>。大量研究证明, 异牡荆素是具有较强抗氧化活性的黄酮类化合物<sup>[4]</sup>, 可通过缓解细胞氧化应激来减轻过氧化氢诱导的细胞损伤<sup>[5]</sup>。

目前, 酸枣仁异牡荆素的主要提取方法有浸提法和乙醇加热回流法<sup>[6]</sup>, 但是浸提法提取时间太长, 而乙醇加热回流法设置温度太高。近年来, 超声提取技术因利用空化、机械和热效应的优势被广泛用于提取化合物, 具有得率高、提取时间短的优点, 从而提高工作效率<sup>[7-8]</sup>。目前, 超声辅助提取技术被广

收稿日期: 2018-10-25

作者简介: 杨婷婷 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药食同源物质研究与开发, E-mail: tty1993221@163.com。

\* 通讯作者: 张彦青 (1976-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 药食同源物质研究与开发, E-mail: zhyqing@tjcu.edu.cn。

基金项目: 2015 年天津市“131”创新型人才培养工程第一层次人才计划项目; 天津自然科学基金 (17JQJNC06000)。

泛用于提取中药化学成分<sup>[9-10]</sup>,展现出良好的应用前景。近几年,关于植物中异牡荆素提取的研究较多且得率都较低<sup>[11-12]</sup>,同时,关于超声技术用于优化酸枣仁黄酮化合物异牡荆素提取方面的研究报道尚少。

本研究在单因素实验的基础上,结合响应面优化试验对影响异牡荆素得率的主要因素及其交互作用进行分析探讨,优化超声辅助提取技术的最佳提取工艺参数,以期建立一种实用有效的异牡荆素提取方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

酸枣仁 天津蓟县;异牡荆素对照品 实验室自制,纯度 > 98%;乙腈、冰醋酸、无水乙醇、石油醚 天津市鑫桥化工有限公司;去离子水 实验室自制。

SB25-12 DTD 型数控超声波清洗器 宁波新芝生物科技有限公司;V-700 型旋转蒸发器 瑞士 Buchi 公司;LG10-2.4A 型高速离心机 北京医用离心机厂;DH-101 型电热恒温鼓风干燥箱 天津中环实验电炉有限公司;FA1004Max 100 g 型电子天平 上海精科天平有限公司;ALPHA 1-2LD PLUS 型真空冷冻干燥机 德国 Marin Christ 公司;FW100 型高速万能粉碎机 天津泰斯特仪器有限公司;Agilent 1100 型高效液相色谱仪、Agilent1100 色谱工作站、二极管阵列检测器 安捷伦科技中国有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 酸枣仁脱脂 酸枣仁 50 °C 干燥 24 h 后粉碎至 60 目,以液固比 3:1 (mL/g) 加入石油醚,加热回流脱脂两次,第一次 70 °C 加热回流 3 h,第二次 70 °C 加热回流 2 h<sup>[13]</sup>。静置冷却,利用旋转蒸发器在 55 °C 下减压回收石油醚,合并脱脂粉末于通风橱,挥干后常温放置备用。

1.2.2 超声辅助提取工艺 精密称定脱脂酸枣粉末 5.00 g 于具塞三角瓶中,以一定料液比加入乙醇,然后放置在已达到一定实验温度的数控超声波清洗器中,在一定功率下超声一定时间,开始超声提取。超声停止后,离心过滤得异牡荆素提取物,测定异牡荆素得率。

1.2.3 单因素实验 大量研究证明,影响异牡荆素得率的主要因素有超声时间、超声功率、乙醇体积分数和液固比<sup>[14-17]</sup>。固定提取因素的条件:超声时间 50 min,乙醇体积分数 60%,超声功率 300 W,液固比 15:1 mL/g,在其他条件不变的情况下,改变其中一个因素考察其对异牡荆素得率的影响。超声功率考察水平有 100、200、300、400、500 W,超声时间考察水平有 30、40、50、60、70 min,液固比考察水平有 5:1、10:1、15:1、20:1、25:1 mL/g,乙醇体积分数考察水平有 40%、50%、60%、70%、80%。

1.2.4 响应面优化试验<sup>[18]</sup> 在单因素实验的基础上,筛选出了超声功率、液固比、超声时间、乙醇体积分数四个影响因素的水平,以这四个因素为自变量,异牡荆素得率(Y)为响应值,设计响应面因素水平设计见表 1。

表 1 响应面因素水平设计

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

因素	水平		
	-1	0	1
A 超声功率(W)	300	400	500
B 液固比(mL/g)	10:1	15:1	20:1
C 超声时间(min)	50	60	70
D 乙醇体积分数(%)	60	70	80

### 1.2.5 异牡荆素得率的测定

1.2.5.1 高效液相色谱条件 色谱条件:ODS C<sub>18</sub> 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(千分之一醋酸) = 18:72 (V/V);体积流量:0.5 mL/min;柱温:30 °C;进样量:10 μL,检测波长:335 nm<sup>[11]</sup>。

1.2.5.2 标准曲线的制作 为得到异牡荆素标准曲线,精密称取异牡荆素对照品 50.0 mg,用 18% 乙腈溶解,定容于 50 mL 容量瓶中,分别精密吸取标准品溶液 0.5、1.0、1.5、2、2.5、3 mL 于 10 mL 量瓶中,18% 乙腈定容,摇匀即配制浓度为 50、100、150、200、250、300 μg/mL 对照品溶液,HPLC 法(安捷伦 1200 系列高效液相色谱系统)检测得峰面积。以标准品浓度 C 为横坐标,峰面积(A)为纵坐标,得到异牡荆素标准曲线为  $A = 1.3901C + 3.98$ ,  $R^2 = 0.9993$ ,具有良好的线性关系。

1.2.5.3 异牡荆素得率的计算 所有提取样品经 0.45 μm 微膜过滤,进行 HPLC 检测,将峰面积代入异牡荆素标准曲线,计算得到对应浓度 C,再将 C 带入下式计算得异牡荆素得率。Y 异牡荆素得率(%) =  $(CV \times \text{稀释倍数})/m \times 100$ ,其中 V 是提取液的体积,m 是脱脂后原料干重。

### 1.3 数据处理

数据处理软件 GraphPad Prism 5<sup>TM</sup> 和 SPSS,绘图软件 GraphPad Prism 5<sup>TM</sup>,响应面数据分析软件 Design-Expert,每组实验重复 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果

2.1.1 超声功率对酸枣仁异牡荆素得率的影响 超声功率对酸枣仁异牡荆素得率的影响如图 1。由图可知,异牡荆素得率随着超声功率的升高呈现先增高再降低的趋势,在 400 W 时得率达到最大值 0.202%,随后超声功率继续增加,破坏了异牡荆素的稳定性,导致溶出的异牡荆素大量降解,因此得率降低,超声功率 500 W 时,得率仅为 0.151%。因此选择超声功率 300、400 和 500 W 三个水平进行响应面优化试验。

2.1.2 超声时间对酸枣仁异牡荆素得率的影响 超声时间对酸枣仁异牡荆素得率的影响(图 2)表明,随着时间的延长,异牡荆素得率呈现先升高后降低的趋势,50 min 得率为 0.170%,在 60 min 时出现最大值 0.228%,超过 60 min 后,超声时间过长,异牡荆素被降解,因此得率呈现悬崖式下降,超声持续到 70 min 得率仅为 0.115%。因此,选择超声时间为 50、60 和 70 min 进行响应面优化试验。

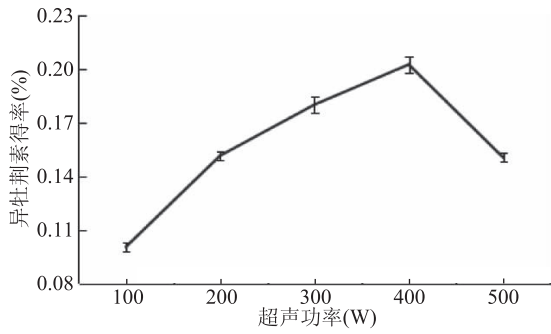


图1 超声功率对异牡荆素得率的影响

Fig.1 The effect of ultrasonic power on the yield of isovitexin

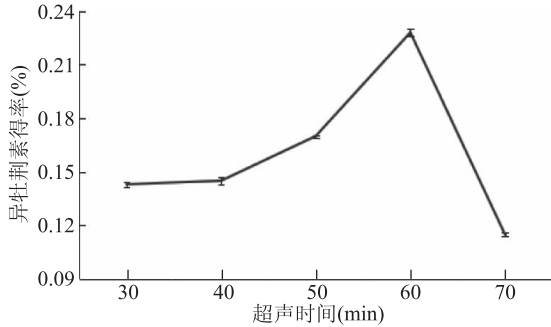


图2 超声时间对异牡荆素得率的影响

Fig.2 The effect of ultrasonic time on the yield of isovitexin

2.1.3 液固比对酸枣仁异牡荆素得率的影响 超声功率对酸枣仁异牡荆素得率的影响如图3。由图3可知,异牡荆素得率随着液料比的增加呈先增大后降低的趋势,液固比为5:1 mL/g时,得率为0.106%,液固比15:1 mL/g的得率最大,为0.195%,在液料比为15:1~25:1 mL/g处,异牡荆素几乎已全部溶出,过高的溶剂体积使溶出的异牡荆素被不断稀释,从而导致得率缓慢下降到25:1 mL/g的0.187%。考虑到节约原料,选择液固比为10:1、15:1和20:1 mL/g进行响应面优化试验。

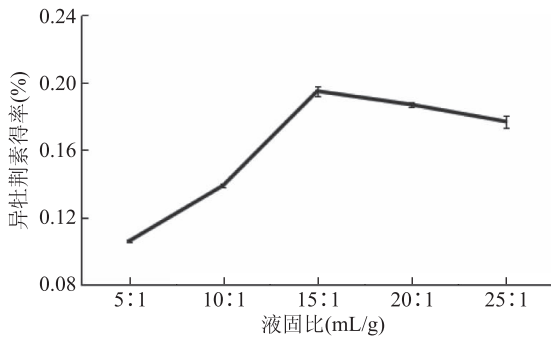


图3 液固比对异牡荆素得率的影响

Fig.3 The effect of liquid to solid ratio on the yield of isovitexin

2.1.4 乙醇体积分数对酸枣仁异牡荆素得率的影响 从图4可以看出,乙醇体积分数对异牡荆素得率的影响比较大,40%乙醇处异牡荆素得率为0.146%,随着乙醇体积分数的增加,异牡荆素得率逐渐增大,在70%处,得率急速增到0.231%又急速降低,过高的乙醇浓度会破坏黄酮的化学结构,导致异牡荆素分解,从而导致得率降低,在乙醇体积分数为

80%时得率仅为0.142%。因此,选择乙醇体积分数60%、70%和80%三水平进行响应面优化试验。

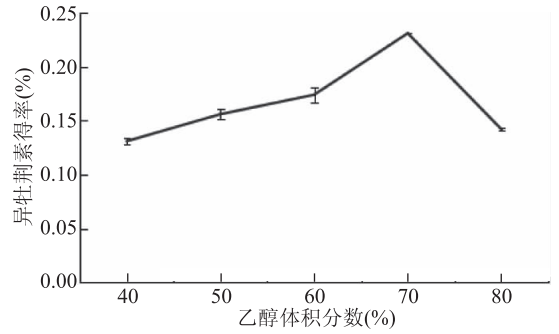


图4 乙醇体积分数对异牡荆素得率的影响

Fig.4 The effect of solvent concentration on the yield of isovitexin

## 2.2 响应面优化试验结果

2.2.1 响应面试验设计及结果 根据表2中的因素与水平值,建立四因素三水平响应面优化提取工艺,结果见表2。

表2 响应面试验设计与结果

Table 2 Design and results of response surface experiment

试验号	A	B	C	D	Y 异牡荆素得率 (%)
1	-1	1	0	0	0.181
2	-1	0	1	0	0.188
3	0	0	0	0	0.235
4	-1	-1	0	0	0.163
5	1	-1	0	0	0.171
6	0	1	1	0	0.221
7	-1	0	-1	1	0.185
8	0	0	-1	-1	0.173
9	0	0	1	1	0.215
10	0	0	0	0	0.231
11	-1	0	-1	0	0.157
12	0	-1	0	1	0.197
13	0	-1	1	0	0.199
14	0	1	-1	0	0.182
15	0	0	0	0	0.224
16	-1	0	0	-1	0.169
17	1	0	-1	0	0.176
18	0	0	1	-1	0.181
19	1	0	0	-1	0.173
20	1	1	0	0	0.191
21	0	1	0	1	0.221
22	0	0	0	0	0.231
23	1	0	0	1	0.199
24	0	1	0	-1	0.187
25	0	-1	-1	0	0.178
26	0	0	-1	1	0.191
27	0	-1	0	-1	0.176
28	1	0	1	0	0.199
29	0	0	0	0	0.231

表3 回归模型的方差分析结果

Table 3 The results of variance analysis of the regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p	显著性
模型	0.014	14	$1.018 \times 10^{-3}$	39.880	<0.0001	**
A	$3.630 \times 10^{-4}$	1	$3.630 \times 10^{-4}$	14.220	0.0021	**
B	$8.160 \times 10^{-4}$	1	$8.160 \times 10^{-4}$	32.000	<0.0001	**
C	$1.776 \times 10^{-3}$	1	$1.776 \times 10^{-3}$	69.600	<0.0001	**
D	$1.850 \times 10^{-3}$	1	$1.850 \times 10^{-3}$	72.490	<0.0001	**
AB	$1.000 \times 10^{-6}$	1	$1.000 \times 10^{-6}$	0.039	0.8459	
AC	$1.600 \times 10^{-5}$	1	$1.600 \times 10^{-5}$	0.630	0.4417	
AD	$2.500 \times 10^{-5}$	1	$2.500 \times 10^{-5}$	0.980	0.3391	
BC	$8.100 \times 10^{-5}$	1	$8.100 \times 10^{-5}$	3.170	0.0965	
BD	$4.225 \times 10^{-5}$	1	$4.225 \times 10^{-5}$	1.660	0.2191	
CD	$6.400 \times 10^{-5}$	1	$6.400 \times 10^{-5}$	2.510	0.1356	
A <sup>2</sup>	$6.883 \times 10^{-3}$	1	$6.883 \times 10^{-3}$	269.710	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	$2.149 \times 10^{-3}$	1	$2.149 \times 10^{-3}$	84.190	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	$2.360 \times 10^{-3}$	1	$2.360 \times 10^{-3}$	92.480	<0.0001	**
D <sup>2</sup>	$2.149 \times 10^{-3}$	1	$2.149 \times 10^{-3}$	84.190	<0.0001	**
残差	$3.573 \times 10^{-4}$	14	$2.552 \times 10^{-5}$			
失拟项	$2.941 \times 10^{-4}$	10	$2.941 \times 10^{-5}$	1.860	0.288	
纯误差	$6.320 \times 10^{-5}$	4	$1.580 \times 10^{-5}$			
总和	0.015	28				

注: \* 表示有显著差异( $p < 0.05$ ); \*\* 表示有极显著差异( $p < 0.01$ )。

### 2.2.2 回归方程拟合及方差分析 Design-Expert

8.0.6 软件对表 3 中的数据进行分析,拟合出的二次多项回归方程为:

$$Y = 0.23 + 5.5 \times 10^{-3}A + 8.25 \times 10^{-3}B + 0.012C + 0.012D - 5 \times 10^{-4}AB - 2 \times 10^{-3}AC + 2.5 \times 10^{-3}AD + 4.5 \times 10^{-3}BC + 3.25 \times 10^{-3}BD + 4 \times 10^{-3}CD - 0.033A^2 - 0.018B^2 - 0.019C^2 - 0.018D^2$$

该模型的拟合程度达极显著水平( $p < 0.0001$ ),说明模型有意义。失拟项不显著( $p = 0.288$ ),表明该模型拟合程度良好,与试验值的误差相对较小。模型决定系数( $R^2 = 0.9755$ )较高,可以用回归方程代替试验真实点,对结果进行分析和预测<sup>[19-20]</sup>。此外模型变异系数(CV) = 2.60%,表明该试验值精密可靠,可以用于统计学分析。A(超声功率)、B(液固比)、C(超声时间)和D(乙醇体积分数)对异牡荆素得率都有极显著影响( $p < 0.01$ ),二次项 A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup>和D<sup>2</sup>达到极显著水平( $p < 0.01$ )。各因素的影响重要性依次为:乙醇体积分数 > 超声时间 > 液固比 > 超声功率。

2.2.3 交互作用分析 通过用 Design-expert V8.0.6 软件设计三维响应面来反映最佳区域,固定两个影响因素为中值,代入模型方程考察其余两个因素间的相互作用<sup>[21]</sup>,根据方程做出三维响应面图和等高线图,通过判断三维图的坡度和等高图的圆形程度,从中选取得率最佳的提取条件<sup>[22]</sup>,结果见图 5。

根据响应面试验的设计原理分析图 5 可知,六组三维图的弯曲度都比较大,说明随着超声功率、超声时间、液固比和乙醇体积分数等因素水平的变化,

异牡荆素提取效果也呈现显著性地先升高再逐渐减小的变化趋势,但两两因素间交互作用对响应值没有显著的影响( $p > 0.05$ )。

2.2.4 验证实验 由响应面软件得到的最佳提取工艺条件为:超声功率为 419.00 W,液固比 15.5:1 mL/g,超声时间 60.20 min 和乙醇体积分数 73.7%。预测最佳目标值为 0.236%。根据实验操作的具体情况,改进最佳提取条件为:超声功率 419 W,液固比 16:1 mL/g,超声时间 61 min,乙醇体积分数 73.70%。测得异牡荆素得率的实际值为  $0.241\% \pm 0.0126\%$ ,与预测得率的 0.236% 相对误差为 2.075%,且 t 检验的结果差异不显著( $p > 0.05$ ),证明模型理论预测值与实际值拟合效果良好。

## 3 结论

本研究采用超声辅助法提取酸枣仁中的异牡荆素,利用响应面法优化提取工艺条件。单因素实验结果表明,超声功率、液固比、超声时间和乙醇体积分数对异牡荆素得率的影响作用都比较明显。在单因素实验基础上,建立四因素三水平的 Box- Behnken 响应面试验方法对异牡荆素提取工艺进行优化以及验证。结果表明各因素对异牡荆素得率的影响大小顺序为:乙醇体积分数 > 超声时间 > 液固比 > 超声功率。优化提取工艺条件为:超声功率 419 W,液固比 16:1 (mL/g),超声时间 61 min,乙醇体积分数 73.70%。实际得率为  $0.241\% \pm 0.0126\%$ ,与模型预测值 0.236% 相符良好。因此,本试验建立的二次多项回归方程模型能够良好地预测各因素与响应面之间的变化关系。

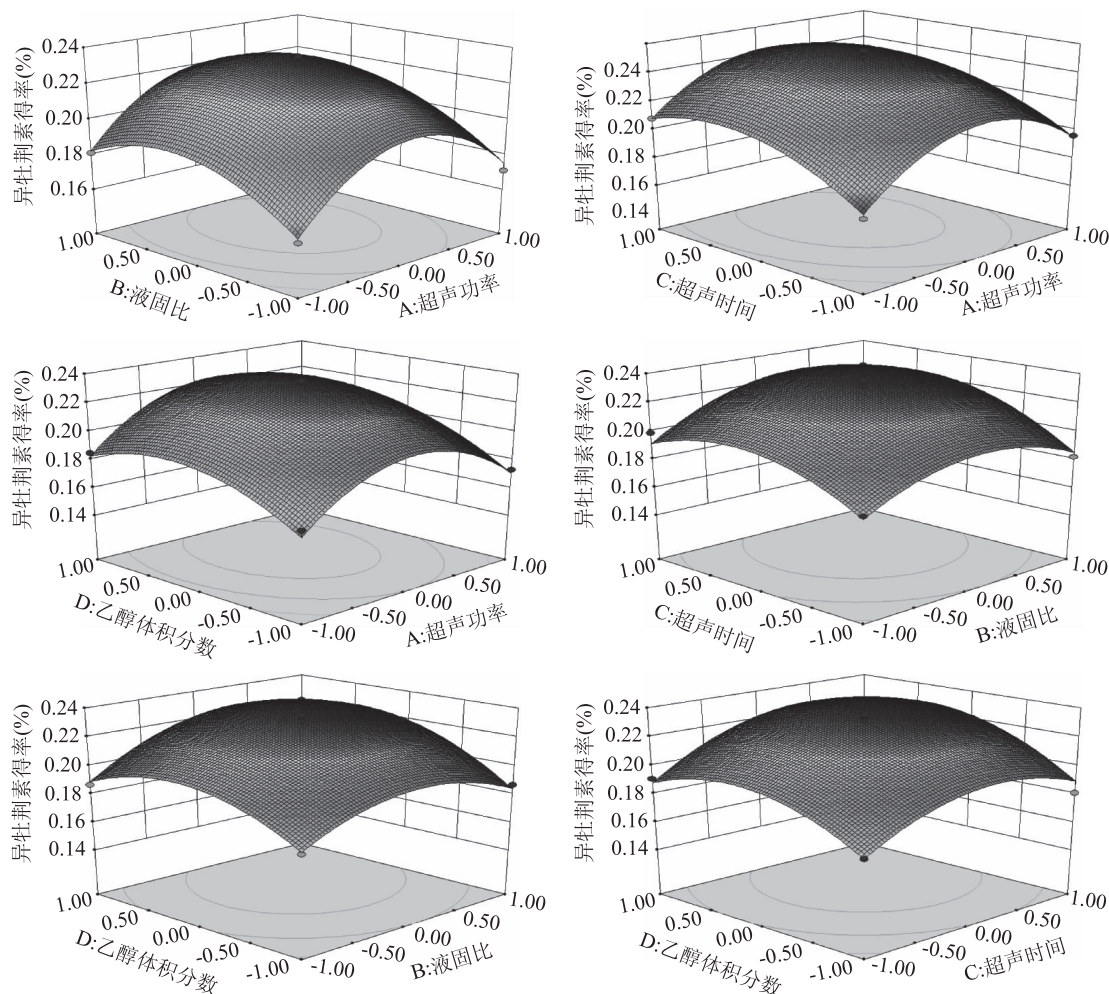


图5 两两因素交互作用对异牡荆素得率影响的响应面图

Fig.5 Response surface plots of the interaction of various factors on the yield of isovitexin

参考文献

[1] Zhang Y Q, Qiao L D, Song M Y, et al. Hplc-ESI-MS/MS analysis of the water-soluble extract from *Ziziphi spinosae* semen and its ameliorating effect of learning and memory performance in mice[J]. Pharmacogn Mag, 2014(10): 509-516.  
 [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 91.  
 [3] 张巧月, 杨浩天, 史贺, 等. HPLC-MS 法同时测定酸枣仁中 9 种成分[J]. 中草药, 2015(1): 123-128.  
 [4] Zhang L, Xu Z L, Wu C F, et al. Two new flavonoid glycosides from *Ziziphi Spinosae* semen [J]. J Asian Nat Prod Res, 2012(14): 121-128.  
 [5] Pate K M, Rogers M, Reed J W, Anthoxanthin polyphenols attenuate A  $\beta$  Oligomer-induced neuronal responses associated with Alzheimer's disease [J]. CNS Neurosci Ther, 2017, 23: 135-144.  
 [6] 卢国勇, 孟江, 廖华卫. 酸枣仁黄酮组分提取纯化工艺的研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 671-673.  
 [7] 高剑锋, 张朝华, 周福勤, 等. 酸枣仁中总黄酮的含量测定及提取工艺研究[J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(4): 52-54.  
 [8] Guo L, Zhu W C, Xu F Q, et al. Optimized ultrasonic assisted extraction of polysaccharides from *Cyclina sinensis* and evaluation

of antioxidant activities *in vitro* [J]. CyTA - J Food, 2013, 12: 32-39.  
 [9] 黄菊, 何伟平, 董黎明, 等. 超声辅助提取石榴皮黄酮及抗氧化活性研究[J]. 保鲜与加工, 2016, 16(6): 92-97.  
 [10] Vilku K, Mawson R, Simons L, et al. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review[J]. Innov Food Sci Emerg, 2008, 9: 161-169.  
 [11] 李攻科, 杜甫佑, 肖小华. 微波辅助萃取技术在中药现代化中的应用[J]. 精细化工, 2007, 24(12): 1184-1191.  
 [12] 孔娜, 邹小兵, 黄锐, 等. 微波辅助萃取/样品前处理联用技术的研究进展[J]. 分析测试学报, 2010, 29(10): 1102-1108.  
 [13] Xie J B, Zhang Y Q, Wang L J, et al. Composition of fatty oils from *Semen Ziziphi Spinosae* and its cardiotoxic effect on isolated toad hearts[J]. Nat Prod Res, 2012, 26: 479-483.  
 [14] Zhang F X, Li M, Qiao L R, et al. Rapid characterization of *Ziziphi Spinosae* semen by UPLC/Qtof MS with novel informatics platform and its application in evaluation of two seeds from *Ziziphus* species[J]. J Pharmaceut Biomed, 2016(122): 59-80.  
 [15] 蔡雨晴, 贾棹东, 吴茜茜, 等. 响应面法优化野生酸枣仁中总黄酮的提取工艺[J]. 中国饲料, 2016(3): 23-27.  
 [16] 李慎欧, 郝庆红, 土常富, 等. 超声波提取酸枣仁总黄酮工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(28): 13790-13792.  
 [17] 李游, 靳爱仙, 梁宗锁, 等. 酸枣仁总黄酮提取工艺及其

(下转第 154 页)

添加山楂超微果粉不仅增添了酸奶的种类,还改善了酸奶的风味。PGA 的加入使山楂酸奶的风味更佳浓郁,由于 PGA 对乳酸菌的抑制作用,使酸奶的货架期得到了相应的延长,并保持乳酸菌的活性。因此可以说明经 PGA 改善的山楂超微果粉活菌乳饮料符合人们的需求。值得注意的是,适宜菌粉的添加温度为 37~42 ℃,本文在实验中,为了保证菌粉的活性,选择在低温温度 37 ℃ 下添加菌粉。但低温 37 ℃ 下添加菌粉后,需要在 42 ℃ 下进行发酵,这就需要溶液进行加热操作,增加了实验中所需的总能耗。而在实际的工业生产中,可以通过在高温温度 40 ℃ 时添加菌粉来降低总能耗。

### 参考文献

- [1] 吴西梅,谢霖,陈永泉.天然防腐剂的研究进展及应用前景[J].广州食品工业科技,2000(4):19-22.
- [2] Takenaka T, Muto O, Yasunami K, et al. Antibacterial activity of pectin hydrolyzates[J]. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology, 2009, 41(11): 785-792.
- [3] 丁鹏,沈照鹏,张京良,等.酶法制备黑莓果胶寡糖及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2016,37(11):76-79.
- [4] 季尧虎,窦华亭,吴厚玖,等.低聚糖抗菌活性的研究进展[J].食品科学,2016,37(13):237-242.
- [5] Sun H, Song W, Zhang L, et al. Structural characterization and inhibition on  $\alpha$ -glucosidase of a novel oligosaccharide from barley malt[J]. Journal of Cereal Science, 2018, 82: 82-93.
- [6] 卢伟,耿楠,陆宁.山楂功能性成分分析及检测方法[J].包装与食品机械,2017,35(3):65-69.
- [7] 张晓波,邓捷,温玲蓉,等.不同品种山楂活性成分及其抗氧化活性的研究[J].现代食品科技,2017,33(9):91-95.
- [8] 姚园.山楂果胶和半乳糖醛酸寡糖的制备与应用研究[D].秦皇岛:河北科技师范学院,2017.
- [9] 李博艺,湛柄旭,魏志阳,等.高效液相色谱法测定山楂黄酮的研究[J].中国酿造,2018,37(3):157-161.
- [10] Avila J A D, Ochoa M A V, Parrilla E A, et al. Interactions between four common plant-derived phenolic acids and pectin, and its effect on antioxidant capacity [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2018, 12(2): 992-1004.
- [11] 杜丽娟,李拖平,王娜.山楂果胶分解物抗氧化作用研究[J].食品研究与开发,2009,30(6):18-20.
- [12] 张建梅,罗艳艳,罗海青,等.超微粉碎对黑蒜粉末物理性质及抗氧化能力的影响[J].食品工业科技,2018,39(10):51-57.
- [13] Liu S W, Guo S, Xia X Y, et al. Effects of dry-, wet- and freeze-grinding pretreatment methods on the physicochemical properties of maitake mushroom (*Grifola frondosa*) superfine powders [J]. Food Science and Technology, 2015, 7(9): 730-738.
- [14] 徐溪.苹果果胶寡糖的分离制备及其活性研究[D].西安:西北大学,2010.
- [15] 徐溪,李潇,黄琳娟,等.苹果果胶活性寡聚半乳糖醛酸的分离制备及其 ESI-MS 分析研究[J].化学学报,2010,68(15):1525-1531.
- [16] 段双艳.苹果果胶多糖和果胶寡糖的分离纯化及其活性研究[D].西安:西北大学,2012.
- [17] 刘素稳,吴瞻邑,由璐,等.山楂果胶低聚半乳糖醛酸提取物对中波紫外线辐射 HaCaT 细胞氧化损伤和光老化的保护作用[J].食品科学,2018,39(21):217-225.
- [18] 姚园,刘素稳,李聪,等.微波真空膨化山楂片工艺参数优化研究[J].食品工业科技,2016,37(14):227-232.
- [19] 陈壁州,谭峰,陈莹,等.山楂酸奶的研制[J].食品与发酵工业,2003,29(15):103-104.
- [20] 林祥群,马彩梅,杨国江,等.凝固型沙棘酸奶的研制及其评价[J].新疆农业科学,2016,53(11):2062-2068.
- [21] 谢灵来,赵良忠,李新社,等.凝固型红枣山楂酸奶的研制[J].邵阳学院学报,2016,13(2):102-107.
- [22] 朱建平,邓文祥,冯楚雄,等.功能性食品黄精山楂酸奶的配方筛选[J].湖南中医药大学学报,2017,37(3):271-274.
- [23] 崔国庭,李沁沛,王锻,等.红枣多糖对乳酸菌发酵及酸奶品质的影响[J].食品工业科技,2017,38(19):203-207.
- [24] 蔡超.酸奶在贮存期间参数变化和对货架寿命预测模式的研究[D].武汉:华中农业大学,2012.
- [25] 周卫华.食品检验中乳酸菌鉴定方法的探讨[J].中小企业管理与科技(中旬刊),2018(6):169-170.
- [26] 刘露,张雁,邓媛元,等.山药低聚糖体外调节乳酸菌生长的作用[J].中国食品学报,2017,17(10):37-43.
- [27] 耿钰柱.低聚糖对益生菌饮料活菌数量的影响[D].重庆:西南大学,2016.
- [28] 刘丹.饮用型风味发酵乳的研制[J].中国乳业,2018(08):72-75.
- [29] 孙颜君,孙颜杰,刘振民.超声波处理对常温发酵乳发酵特性及其产品性质的影响[J].食品工业,2018,39(01):80-85.
- [30] 王巍,牟德华,李丹丹.山楂果胶寡糖的抑菌性能及机理[J].食品科学,2018,39(3):110-116.
- [31] 金山.山楂果胶寡糖的分离制备及其抗菌特性的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2008.
- [18] 王燕,赖普辉.采用 Box-Behnken Design 优化玉米须总黄酮提取工艺[J].西部林业科学,2015,44(3):175-179.
- [19] Diaz-de-Cerio E, Tylewicz U, Verardo V, et al. Design of sonotrode ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Psidium guajava* L. leaves [J]. Food Anal Method, 2017, 10: 2781-2791.
- [20] 罗磊,张冰洁,朱文学,等.响应面试验优化超声辅助提取金银花叶黄酮工艺及其抗氧化活性[J].食品科学,2016,37(6):13-19.
- [21] 王彦平,汤高奇,孙瑞林,等.超声辅助提取葡萄皮渣总黄酮及其抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2017,38(2):51-55.
- [22] Liu W, Yu Y Y, Yang R Z, et al. Optimization of total flavonoid compound extraction from *Gynura medica* leaf using response surface methodology and chemical composition analysis [J]. Int J Mol Sci, 2010, 11: 4750-4763.

(上接第 147 页)

预测模型研究[J].西北农林科技大学学报,2009,37(10):193-198.

[18] 王燕,赖普辉.采用 Box-Behnken Design 优化玉米须总黄酮提取工艺[J].西部林业科学,2015,44(3):175-179.

[19] Diaz-de-Cerio E, Tylewicz U, Verardo V, et al. Design of sonotrode ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Psidium guajava* L. leaves [J]. Food Anal Method, 2017, 10: 2781-2791.

[20] 罗磊,张冰洁,朱文学,等.响应面试验优化超声辅助提