

响应面法优化提取香椿叶总膳食纤维的工艺条件及其抗氧化活性研究

刘 静,李湘利,张 艳,胡彦营,朱九滨
(济宁学院生命科学与工程系,山东曲阜 273155)

摘 要:采用响应面法优化中性蛋白酶提取香椿叶总膳食纤维的工艺条件,并测定了其抗氧化活性。结果表明: pH5.8、酶解温度 61℃、酶解时间 50min、中性蛋白酶添加量 0.2%,此条件下总膳食纤维得率为 72.45%;香椿叶总膳食纤维浓度在 2~10mg/mL 时对 DPPH· 具有较强的清除能力,IC₅₀ 为 3.26mg/mL;对 O₂⁻·、·OH 最高清除率分别为 35.13% 和 27.38%。

关键词:香椿叶,总膳食纤维,提取工艺,抗氧化活性,响应面法

Optimization of the extraction for total dietary fiber from leaves of *Toona Sinensis* by response surface method and its antioxidant activity

LIU Jing, LI Xiang-li, ZHANG Yan, HU Yan-ying, ZHU Jiu-bin

(Department of Life Science and Engineering, Jining University, Qufu 273155, China)

Abstract: Optimization of the technology for extracting total dietary fiber from leaves of *Toona sinensis* with neutral protease by response surface method and its antioxidant activities were studied in this paper. The results showed that the optimum conditions were pH5.8, enzymolysis temperature 61℃, time 50min and enzyme concentration 0.2%. Under these conditions, the yield of total dietary fiber was 72.45%. The total dietary fiber of *Toona sinensis* leaves had a good scavenging capacity against DPPH radicals with IC₅₀ values 3.26mg/mL. The highest scavenging against O₂⁻· and ·OH were 35.13% and 27.38% respectively in the range of 2~10 mg/mL.

Key words: Leaves of *Toona sinensis*; total dietary fiber; extraction technology; antioxidant activity; response surface methodology

中图分类号: TS201.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2014)05-0182-06

膳食纤维是一类不被人体消化的多糖类碳水化合物和木质素的总称,能有效预防和减少结肠癌、糖尿病、冠心病、肥胖症、心肌梗塞等疾病的发生,被誉为人体的“第七大类营养素”^[1-2]。膳食纤维的生理功能多与其抗氧化活性有关,不同来源的膳食纤维,抗氧化活性差异较大^[3]。

香椿(*Toona Sinensis* (A. Juss.) Roem)是我国的一种绿色保健菜^[4],具有清除体内自由基、抗氧化衰老、维持毛细血管脆性和调节人体微循环等功效^[5];它还有清热解毒、健胃理气、杀虫和固精等作用^[6]。现有研究表明,香椿叶提取物具有抗氧化活性^[7-8]和抑菌作用^[9]。目前,关于香椿叶的研究多集中于黄酮类^[10]、多酚物质^[11]等方面,而关于总膳食纤维(Total dietary fiber, TDF)提取及其抗氧化活性尚缺乏系统研究。本实验通过单因素实验和响应面分析方法,以香椿叶 TDF 得率为指标,优化了中性蛋白酶提取

TDF 的工艺参数,并对其抗氧化活性进行探讨,旨在为开发天然抗氧化剂资源及香椿叶综合利用提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

香椿叶 2012 年 9 月采自本校教工生活区;耐高温 α-淀粉酶 北京东华强盛生物科技有限公司,2000U/g;中性蛋白酶 南宁庞博生物工程公司,40 万 U/g;纤维素酶 湖州米纯生物科技有限公司,10 万 U/g;无水乙醇、水杨酸、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、邻苯三酚、1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH)等,分析纯。

FCD2000 鼓风干燥箱 上海琅环实验设备有限公司;2H-25C 多功能食品加工机 澳柯玛小家电有限公司;pHS-3C 酸度计 上海宇隆仪器有限公司;RE201B 旋转蒸发仪 南京金正教学仪器有限公司;HH-S24S 数显恒温水浴锅 上海跃进医疗器械厂;TD6 低速离心机 长沙英泰仪器有限公司;723PC 分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 香椿叶 TDF 提取工艺 香椿叶→烘干→粉碎→

收稿日期:2013-08-08

作者简介:刘静(1980-),女,硕士,研究方向:园艺产品资源开发与利用。

基金项目:山东省高等学校科技计划项目(J12LF52)。

过筛→香椿叶粉→脱脂→干燥→复合酶酶解→灭酶→冷却→中性蛋白酶酶解→灭酶→冷却→乙醇沉淀→离心→洗涤→沉淀→干燥→产品 TDF

1.2.2 操作要点 将香椿叶于 60℃ 烘干至恒重, 粉碎, 过 40 目筛, 用石油醚脱除脂肪, 蒸馏水洗净; 干燥后按料液比 1:20 (g/mL) 加入蒸馏水, 调节 pH6.0, 添加 0.2% 复合酶 (纤维素酶: 淀粉酶 = 1:1) 于 60℃ 酶解 2h^[12], 煮沸灭酶; 冷却后加一定量的中性蛋白酶在一定的 pH、温度、时间下进行酶解, 然后煮沸灭酶; 冷却后加 4 倍体积 95% 乙醇沉淀 1h, 4000r/min 离心 10min, 沉淀分别用 15mL 的 78% 乙醇、95% 乙醇和丙酮各冲洗 2 次, 105℃ 烘干即得香椿叶 TDF。

1.2.3 TDF 提取条件的优化 在单因素实验的基础上, 以酶解 pH (X_1)、酶解温度 (X_2)、酶解时间 (X_3)、酶添加量 (X_4) 为自变量, TDF 得率 (Y) 为响应值, 设计四因素三水平的二次回归方程拟合自变量和 TDF 得率之间的函数关系, 采用响应面分析法优化提取工艺条件, 各实验因素与水平见表 1。

表 1 响应面实验因素与水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiments

因素	水平		
	-1	0	1
X_1 酶解 pH	5.5	6.0	6.5
X_2 酶解温度 (°C)	55	60	65
X_3 酶解时间 (min)	30	60	90
X_4 酶添加量 (%)	0.1	0.2	0.3

注: 表中各自变量编码值与真实值的关系是 $X_1 = (X_1 - 6.0) / 0.5$ 、 $X_2 = (X_2 - 60) / 5$ 、 $X_3 = (X_3 - 60) / 30$ 、 $X_4 = (X_4 - 0.2) / 0.1$ 。

TDF 得率的计算公式为:

$$\text{TDF 得率}(\%) = \frac{\text{TDF 的质量}(\text{g})}{\text{样品的质量}(\text{g})} \times 100$$

1.2.4 化学成分的测定 水分, 直接干燥法 (GB5009.3-2010); 灰分, 直接灰化法 (GB5009.4-2010); 蛋白质, 考马斯亮蓝染色法^[13]; 淀粉, 酸水解法 (GB/T5009.9-2008); 脂肪, 索氏抽提法 (GB/T5009.6-2003); 产品膳食纤维, 酶重量法 (AOAC991.43)。

1.2.5 香椿叶 TDF 抗氧化能力实验

1.2.5.1 对 DPPH· 的清除作用 采用比色法测定^[14]。用无水乙醇将 10mg/mL TDF 溶液分别稀释成质量浓度为 2、4、6、8、10mg/mL 的溶液。在试管中加入 1.0mL TDF 溶液, 4.0mL 1.0×10^{-4} mol/L DPPH 溶液 (95% 乙醇配制) 25℃ 水浴反应 30min, 测定 517nm 处吸光度 (用蒸馏水作参比)。另用去离子水配制与 TDF 溶液等浓度的 V_c 溶液, 做阳性对照实验, 重复 3 次 (下同)。

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_x - A_{A_0}}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A_x 为 4.0mL DPPH 溶液 + 1.0mL 样品溶液; A_{A_0} 为 4.0mL 95% 乙醇 + 1.0mL 样品溶液; A_0 为 4.0mL DPPH 溶液 + 1.0mL 蒸馏水。

1.2.5.2 对 $O_2 \cdot$ 的清除作用 采用邻苯三酚自氧化法测定^[15]。在试管中加入 4.5mL 0.05mmol/L Tris-HCl

缓冲液 (pH8.2)、1.0mL TDF 溶液、0.4mL 45mmol/L 的邻苯三酚溶液 (0.01mmol/L HCl 配制) 摇匀, 25℃ 反应 5min 后加入 0.1mL 8mmol/L HCl 溶液终止反应, 测定 325nm 处吸光度 (用蒸馏水作参比)。

$$O_2 \cdot \text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_x - A_{A_0}}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A_x 为 4.5mL 缓冲液 + 1.0mL 样品溶液 + 0.4mL 邻苯三酚溶液; A_{A_0} 为 4.5mL 缓冲液 + 1.0mL 样品溶液 + 0.4mL 0.01mol/L HCl 溶液; A_0 为 4.5mL 缓冲液 + 1.0mL 蒸馏水 + 0.4mL 邻苯三酚溶液。

1.2.5.3 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用 采用 Fenton 反应体系模型测定^[12]。在试管中加入 1.0mL 9mmol/L 水杨酸-乙醇溶液、1.0mL TDF 溶液、1.0mL 9mmol/L FeSO_4 溶液, 最后加入 1.0mL 8.8mmol/L H_2O_2 溶液启动反应, 于 37℃ 保温 30min 后, 测定 510nm 处吸光度 (用蒸馏水作参比)。

$$\cdot\text{OH 清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_x - A_{A_0}}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A_x 为 1.0mL 水杨酸-乙醇溶液 + 1.0mL 样品溶液 + 1.0mL FeSO_4 溶液 + 1.0mL H_2O_2 溶液; A_{A_0} 为 1.0mL 水杨酸-乙醇溶液 + 1.0mL 样品溶液 + 1.0mL FeSO_4 溶液 + 1.0mL 蒸馏水; A_0 为 1.0mL 水杨酸-乙醇溶液 + 1.0mL 蒸馏水 + 1.0mL FeSO_4 溶液 + 1.0mL H_2O_2 溶液。

2 结果与分析

2.1 中性蛋白酶提取香椿叶 TDF 的单因素实验结果

2.1.1 酶解 pH 对香椿叶 TDF 得率的影响 由图 1 可知, 脱脂干燥后的香椿叶粉添加 0.2% 的中性蛋白酶, 在 60℃ 下酶解 60min, 香椿叶 TDF 得率随 pH 升高而增加, pH6.0 时, TDF 得率最高可达 71.69%; pH 高于 6.0 时, TDF 得率下降。这是因为 pH 过高, 酶活性中心的构象甚至整个酶分子结构发生改变, 酶蛋白变性、失活, 从而导致原料水解不完全^[16]。故酶解 pH 为 6.0 较合适。

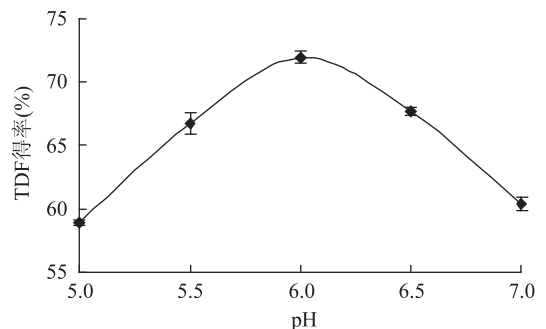


图 1 pH 对香椿叶 TDF 得率的影响

Fig.1 Effect of pH on the yield of TDF from *Toona Sinensis* leaves

2.1.2 酶解温度对香椿叶 TDF 得率的影响 由图 2 可知, 脱脂干燥后的香椿叶粉添加 0.2% 的中性蛋白酶, 在 pH6.0 酶解 60min, 香椿叶 TDF 得率随酶解温度升高, 呈现先升高后下降的趋势。尤以 60℃ 时 TDF 得率最高, 可达 71.75%; 70℃ 时, TDF 得率降为

60.59%。这主要是由于温度过低不利于酶与底物接触,温度过高易引起酶失活所致。故酶解温度以60℃为宜。

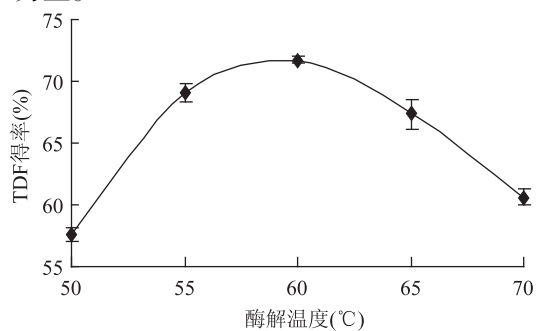


图2 酶解温度对香椿叶 TDF 得率的影响

Fig.2 Effect of enzymolysis temperature on the yield of TDF from *Toona Sinensis* leaves

2.1.3 酶解时间对香椿叶 TDF 得率的影响 由图3可知,脱脂干燥后的香椿叶粉添加0.2%的中性蛋白酶,在pH6.0、60℃下酶解,香椿叶 TDF 得率随酶解时间的延长呈现钟形变化曲线。以酶解60min时,TDF得率最高可达71.60%。由于随酶解时间的增加,部分可溶性膳食纤维溶解损失,降低了TDF得率^[17]。故酶解60min为宜。

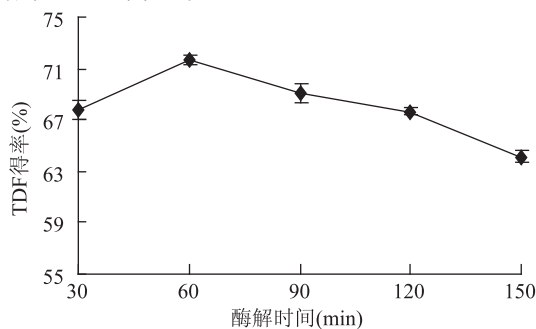


图3 酶解时间对香椿叶 TDF 得率的影响

Fig.3 Effect of enzymolysis time on the yield of TDF from *Toona Sinensis* leaves

2.1.4 酶添加量对香椿叶 TDF 得率的影响 由图4可知,脱脂干燥后的香椿叶粉添加中性蛋白酶在pH6.0、60℃下酶解60min,香椿叶 TDF 得率在酶添加量0.2%时,最高可达71.57%;随加酶量的继续增加,TDF得率反而下降。因为样品中残留的蛋白质随着

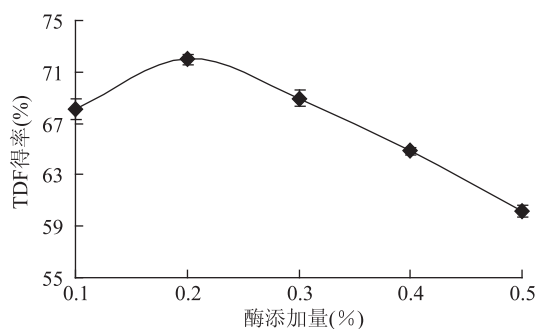


图4 酶添加量对香椿叶 TDF 得率的影响

Fig.4 Effect of enzyme concentration on the yield of TDF from *Toona Sinensis* leaves

蛋白酶用量的增加而降解;也可能是膳食纤维中的碳氮键被过量的蛋白酶降解,加之部分水溶性膳食纤维流失,造成TDF得率降低^[18]。故中性蛋白酶添加量宜选择0.2%。

2.2 香椿叶 TDF 提取工艺条件的优化

2.2.1 模型的建立 利用 Design Expert 8.0.7.1 软件的中心组合设计(Box-Behnken)选项,可获得香椿叶 TDF 提取的四因素三水平实验设计,实验方案及结果见表2。

表2 响应面实验设计方案及结果

Table 2 Experimental design and results for response surface experiments

实验号	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y (%)
1	0	-1	0	1	68.96
2	1	0	-1	0	67.18
3	0	0	0	0	71.86
4	-1	0	0	-1	70.92
5	-1	0	0	1	70.57
6	0	0	1	-1	69.40
7	0	1	-1	0	70.97
8	0	1	0	-1	70.94
9	1	0	1	0	66.16
10	1	0	1	0	69.95
11	0	1	1	0	69.97
12	0	0	-1	-1	69.96
13	0	0	-1	1	71.09
14	0	0	0	0	72.27
15	0	1	0	1	69.88
16	1	0	0	-1	66.99
17	0	-1	0	-1	69.38
18	1	1	0	0	69.45
19	-1	-1	0	0	69.77
20	-1	0	-1	0	71.34
21	0	-1	0	0	66.35
22	0	-1	-1	0	70.81
23	-1	1	0	0	69.98
24	0	0	1	1	69.16
25	0	0	0	0	72.25
26	0	0	0	0	71.59
27	0	-1	1	0	69.53
28	1	0	0	1	66.21
29	0	0	0	0	72.19

利用 Design Expert 软件对表2的实验结果进行分析,得到各因素与TDF得率之间的回归方程:

$$Y = 72.03 - 1.68X_1 + 0.53X_2 - 0.6X_3 - 0.14X_4 + 0.72X_1X_2 + 0.092X_1X_3 - 0.11X_1X_4 + 0.07X_2X_3 - 0.16X_2X_4 - 0.34X_3X_4 - 2.28X_1^2 - 0.89X_2^2 - 0.95X_3^2 - 1.2X_4^2$$

对回归模型进行方差分析的结果(表3)表明:回归模型极显著($p < 0.01$),而失拟项差异不显著($p > 0.05$),说明回归模型与实测值能较好地拟合;一次项(X_1 、 X_2 、 X_3)与二次项(X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2)对TDF得率影响极显著($p < 0.01$),交互项(X_1X_2)影响显著

表3 响应面回归模型方差分析
Table 3 Variance analysis for the built regression model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	84.02	14	6.00	15.70	<0.0001	**
X ₁	33.97	1	33.97	88.86	<0.0001	**
X ₂	3.40	1	3.40	8.90	0.0099	**
X ₃	4.31	1	4.31	11.27	0.0047	**
X ₄	0.25	1	0.25	0.65	0.4328	
X ₁ X ₂	2.09	1	2.09	5.46	0.0348	*
X ₁ X ₃	0.034	1	0.034	0.090	0.7692	
X ₁ X ₄	0.046	1	0.046	0.12	0.7332	
X ₂ X ₃	0.020	1	0.020	0.051	0.8241	
X ₂ X ₄	0.10	1	0.10	0.27	0.6128	
X ₃ X ₄	0.46	1	0.46	1.21	0.2900	
X ₁ ²	33.7	1	33.7	88.16	<0.0001	**
X ₂ ²	5.13	1	5.13	13.42	0.0026	**
X ₃ ²	5.82	1	5.82	15.21	0.0016	**
X ₄ ²	9.41	1	9.41	24.61	0.0002	**
残差	5.35	14	0.38			
失拟项	5.00	10	0.50	5.65	0.0549	
纯误差	0.35	4	0.089			
总误差	89.38	28				

注: * .p < 0.05, 差异显著; ** .p < 0.01, 差异极显著。

($p < 0.05$), 其他项影响不显著($p > 0.05$)。由 F 值的大小可以推断, 在所选实验范围内, 各因素对香椿叶 TDF 得率的影响顺次为: 酶解 pH > 酶解时间 > 酶解温度 > 酶添加量。

2.2.2 响应面分析 利用 Design Expert 软件得到二次回归方程的响应面, 酶解 pH 和酶解温度对 TDF 得率的影响见图 5。由图 5 可知, 酶解时间和酶添加量保持不变时, 随着酶解 pH 和酶解温度的延长, TDF 得率呈先增加后降低的趋势; 等高线呈椭圆形说明酶解 pH 与酶解温度的交互作用显著, 这与方差分析结果一致。

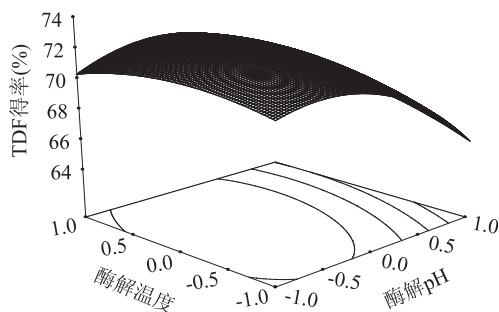


图5 酶解 pH 和酶解温度对 TDF 得率影响的响应面图

Fig.5 Response surface of enzymolysis pH and temperature on the yield of TDF

2.2.3 最佳提取条件的确定与验证 应用 Design Expert 软件, 得到香椿叶 TDF 最佳提取工艺为 pH5.82、酶解温度 60.72℃、酶解时间 50.2min、酶量添加 0.2%。结合实际可操作性, 选取最优提取条件为 pH5.8、酶解温度 61℃、酶解时间 50min、酶添加量 0.2%, 并在此条件下进行验证, TDF 得率为 72.45%,

这与模型预测值 (72.47%) 非常接近, 这表明该模型可用于中性蛋白酶提取香椿叶 TDF 的得率预测。

2.3 组成成分分析

由表 4 可知, 所得产品中 TDF 含量为 72.69%, 高于样品中的含量; 除灰分外, 各种杂质成分含量较低, 说明除杂效果较好。

表 4 样品及产品主要成分 (%)

Table 4 The main composition of sample and product (%)

样品	水分	灰分	蛋白质	淀粉	脂肪	TDF
香椿叶粉	8.12a	15.50b	0.84a	1.24a	7.32a	65.14b
产品 TDF	2.86b	18.78a	0.49b	0.045b	1.43b	72.69a

注: 表中小写字母表示 t 测验在 0.05 水平上的差异显著性。

2.4 香椿叶 TDF 对 DPPH· 的清除作用

由图 6 可知, 香椿叶 TDF 对 DPPH· 具有清除作用。TDF 浓度在 2~10mg/mL 时, 对 DPPH· 清除作用随浓度增大而加强, 且清除率与 TDF 浓度呈现一定的相关性。利用 Microsoft Excel 2003 的 CORREL 函数^[19], 对 TDF 浓度与 DPPH· 清除率进行相关性分析, 得二者相关系数为 0.9906; 应用 FORECAST 函数^[20] 计算清除 50% DPPH· 所需 TDF 浓度 IC₅₀ = 3.26mg/mL。以 V_c 作标准抗氧化剂, 在相同浓度下对 DPPH· 清除率均大于 98%, 这说明香椿叶 TDF 对 DPPH· 清除能力弱于 V_c。

2.5 香椿叶 TDF 对 O₂⁻· 的清除作用

由图 7 可知, 香椿叶 TDF 对 O₂⁻· 具有清除作用。TDF 浓度在 2~10mg/mL 时, 对 O₂⁻· 清除作用随浓度增大而加强, 表现出良好的剂量依赖关系; TDF 浓度为 10mg/mL 时, 清除率为 35.13%; 而 V_c 对 O₂⁻· 清除

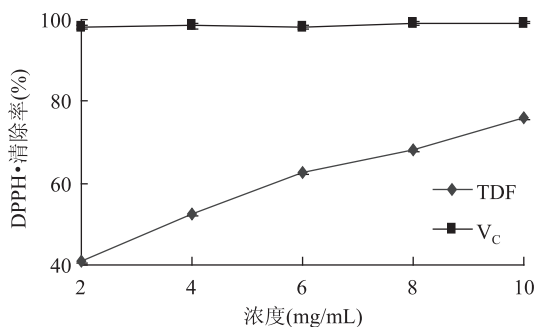
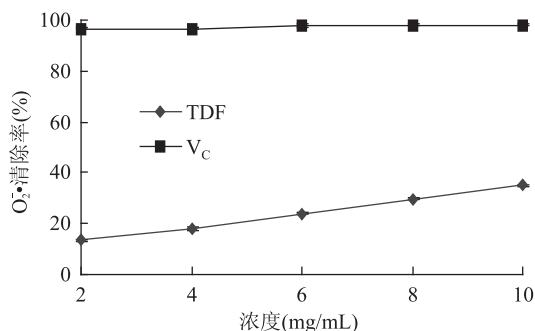


图6 香椿叶 TDF 对 DPPH· 的清除能力

Fig6 Scavenging capacity of TDF from *Toona Sinensis* against DPPH·

率均大于96%,这说明香椿叶 TDF 对 O_2^- ·清除能力弱于 V_c 。

图7 香椿叶 TDF 对 O_2^- ·的清除能力Fig7 Scavenging capacity of TDF from *Toona Sinensis* against O_2^- ·

2.6 香椿叶 TDF 对·OH 的清除作用

由图8可知,香椿叶 TDF 对·OH 具有清除作用。TDF 浓度在 2~6mg/mL 时,对·OH 的清除率随浓度的增加而增强;TDF 浓度高于 6mg/mL 时,对·OH 清除率增加缓慢,10mg/mL 时,清除率为 27.38%。相同浓度下, V_c 对·OH 清除率在 95%~97% 之间,这说明香椿叶 TDF 对·OH 清除能力弱于 V_c 。

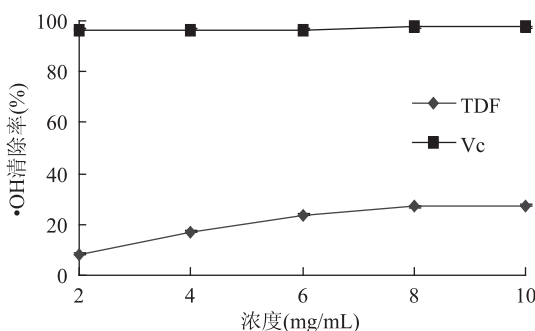


图8 香椿叶 TDF 对·OH 的清除能力

Fig8 Scavenging capacity of TDF from *Toona Sinensis* against ·OH

3 结论

在单因素实验基础上,采用 Box-Behnken 中心组合设计以中性蛋白酶酶解 pH、酶解温度、酶解时间、酶添加量为自变量,以香椿叶 TDF 得率为响应值,得到四元二次数学回归模型。应用 Design expert

软件对所得模型进行分析,得到中性蛋白酶提取 TDF 的最佳工艺条件为酶解 pH5.8、酶解温度 61℃、酶解时间 50min、酶添加量 0.2%,香椿叶 TDF 得率可达 72.45%。

香椿叶 TDF 具有一定的抗氧化活性。香椿叶 TDF 浓度在 2~10mg/mL 时,对 DPPH·具有较强的清除能力,IC₅₀ 为 3.26mg/mL;对 O_2^- ·、·OH 最高清除率分别为 35.13% 和 27.38%,但其清除三种自由基的能力均弱于 V_c 。

参考文献

- [1] Schneeman B O. Dietary fiber and gastrointestinal function [J]. Nutrition Research, 1998, 18(4): 625-632.
- [2] Aldoori W H, Giovannucci E L, Rockett HRH, et al. A prospective study of dietary fiber types and symptomatic diverticular disease in men [J]. The Journal of Nutrition, 1998, 128(4): 714-719.
- [3] 周小理, 钱韵芳, 周一鸣, 等. 植物性膳食纤维抗氧化活性的研究与应用 [J]. 食品与机械, 2010, 26(3): 158-160.
- [4] 李湘利, 刘静, 朱九滨, 等. 香椿苹果复合酒的生产工艺及澄清技术研究 [J]. 食品科技, 2011, 36(12): 87-91.
- [5] Wang K J, Yang C R, Zhang Y J. Phenolic antioxidants from Chinese toon [J]. Food Chemistry, 2007, 101(1): 365-371.
- [6] Miller N J, Rice Evans C A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink [J]. Food Chemistry, 1997, 60(3): 331-337.
- [7] 张京芳, 王冬梅, 周丽, 等. 香椿叶提取物不同极性部位体外抗氧化活性研究 [J]. 中国食品学报, 2007, 7(5): 12-17.
- [8] Hseu Y C, Chung WH, Chen C S, et al. Antioxidant activities of *Toona sinensis* leaves extracts using different antioxidant models [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(1): 105-114.
- [9] 田迪英, 杨荣. 香椿的抗菌作用研究 [J]. 食品工业科技, 2002, 23(11): 21-22.
- [10] 王昌禄, 江慎华, 陈志强, 等. 香椿老叶中活性物质提取及其抗氧化活性的研究 [J]. 农业工程学报, 2007, 23(10): 229-234.
- [11] 朱宏, 陈敏, 孙恬, 等. 不同加工方式对香椿多酚抗氧化活性的影响 [J]. 中国农业大学学报, 2010, 15(4): 111-114.
- [12] 李燮昕, 蒲彪. 锦橙皮膳食纤维抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2010, 31(3): 166-168.
- [13] 陈钧辉, 陶力, 李俊, 等. 生物化学实验 [M]. 北京: 科学出版社, 2003, 63-64.
- [14] 陈丛瑾, 黄克瀛, 李德良, 等. 香椿叶提取物清除 DPPH 自由基能力的测定方法 [J]. 林产化学与工业, 2006, 26(3): 69-72.
- [15] 王光亚. 保健食品功效成分检测方法 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002, 126-129.
- [16] 王顺民, 郑锐. 正交实验优化酶法提取菜籽皮不溶性膳食纤维工艺 [J]. 食品科学, 2013, 34(8): 100-103.
- [17] 苗敬芝, 吕兆启, 曹泽虹, 等. 酶法提取豆粕中总膳食纤维的研究 [J]. 中国食品添加剂, 2009(5): 120-124.
- [18] 陈永胜, 李志光, 钟慧敏, 等. 葵花脱脂粕膳食纤维提取

落叶松树皮多酚纯化工艺研究

张智¹, 于震¹, 王振宇^{1,2,*}, 邓心蕊¹, 刘冉¹, 张巧俏¹

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040;

2. 哈尔滨工业大学食品科学与工程学院, 黑龙江哈尔滨 150090)

摘要: 本文采用大孔树脂分离技术对落叶松树皮多酚进行纯化。通过吸附与解析实验筛选出适合进行纯化工艺的大孔树脂。以多酚回收率和纯度为响应值, 分别考察径长比、乙醇浓度、上样浓度、洗脱流速、进样体积和 pH 六个因素对多酚纯化效果的影响。利用 Design-expert8.05 软件设计 3 因素 3 水平响应面优化实验并处理数据, 结合实际操作需要, 确定了多酚纯化的最佳工艺条件为径长比 1:25、洗脱浓度 47%、上样浓度 2.5mg/mL、洗脱流速 5mL/min、进样体积为 42mL、pH6.85, 在此条件下多酚纯度的验证值为 75.66%, 验证实测值是 75.52%。通过高效液相色谱仪分析该纯化液, 发现落叶松树皮有 5 个单体酚, 分别是没食子酸、儿茶素、绿原酸、咖啡酸与芦丁, 其中儿茶素的含量最高。

关键词: 落叶松树皮多酚, 大孔树脂, 响应曲面, 高效液相色谱

Study on purification technology of polyphenols from larch barks

ZHANG Zhi¹, YU Zhen¹, WANG Zhen-yu^{1,2,*}, DENG Xin-rui¹, LIU Ran¹, ZHANG Qiao-qiao¹

(1. Department of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

2. Department of Food Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: Macroporous resin separation was established to purify the polyphenols from larch barks. Adsorption and desorption experiments were carried out to select the suitable macroporous resin for purification process. As the response to recovery and purity of polyphenols, 6 factors such as fineness ratio, elution concentration, sample concentration, eluting speed, sample volume, and pH, were used to evaluate purification effect of polyphenols. Response surface experiment was established about three independent variables with three levels by the tool of Design-expert8.05 and the data was manipulated with it. Combined with actual needs, the optimal technological purification conditions of polyphenols were as follows: fineness ratio 1:25, elution concentration 47%, sample concentration 2.5mg/mL, eluting speed 5mL/min, sample volume 42mL and pH6.85, in this process the verification value of purity of polyphenols was 75.66% and measured value of that was 75.52%. Analyzed through high performance liquid chromatograph, the purified liquid was discovered to contain 5 polyphenol monomers including gallic acid, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid and rutin, among of which the highest content of catechin was analyzed.

Key words: larch bark polyphenols; macroporous resin; response surface; HPLC

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2014)05-0187-05

植物多酚具有多元酚结构, 又称植物单宁, 在蔬菜、水果谷物豆类等植物中广泛分布, 是植物体内重要的次级代谢产物^[1]。多酚具有多种生理功能, 可以起到抗氧化、抗肿瘤、防治冠心病与中风等作用, 且有明显的护肝益肾功效^[2]。落叶松为松科落叶松属的落叶乔木, 广泛分布于我国东北、内蒙古地区, 资

源丰富。研究表明, 松科植物体内含有天然活性较高的大量多酚物质, 其含量是苹果的 13 倍以上^[3]。松多酚具有较强的抗氧化性, 在食品领域中可以作为天然的防腐剂与抗氧化剂, 与人工合成的添加剂相比有明显的优势^[4]。因此, 为最大限度发挥多酚物质的特点, 有必要对落叶松的多酚类物质进行优化。大孔树脂吸附法工艺流程比较简单, 操作容易, 安全高效, 是较理想的纯化方法^[5]。本文采用大孔树脂层析法纯化落叶松多酚, 并用响应面法优化纯化工艺, 为落叶松多酚的综合利用提供理论参考。

1 材料与amp;方法

收稿日期: 2013-07-15 * 通讯联系人

作者简介: 张智(1964-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物生物转化。

基金项目: 国家自然科学基金(31170510)。

工艺的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 211-215.

[19] 程珂伟, 许时婴, 王璋, 等. 甘薯淀粉生产废液中糖蛋白提取的超滤数学模型[J]. 无锡轻工大学学报, 2004, 23(6):

59-63.

[20] 张仁忠. Excel 中的统计函数在医学统计中的应用[J]. 中国卫生统计, 2001, 18(3): 183-185.