

酸枣水提物不同提取工艺优化及 抗氧化活性研究

Optimization of different extraction processes of sour jujube juice and study on its antioxidant activity

施利奇¹ 张彦青¹ 戚务勤¹ 王 轻¹ 解军波²

SHI Li-qi¹ ZHANG Yan-qing¹ QI Wu-qin¹ WANG Qing¹ XIE Jun-bo²

(1. 天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134; 2. 天津中医药大学中药学院, 天津 301617)

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

2. Tianjin School of Chinese Medicine, University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

摘要:以酸枣为研究对象,优化超声法、酶解法、超声辅助酶解法 3 种提取方法工艺参数,并比较 3 种提取方法提取物总酚、总糖含量及抗氧化活性。采用响应面法优化提取工艺,利用 ABTS 自由基、DPPH 自由基和羟自由基清除试验评价酸枣汁的抗氧化活性。结果表明,在最佳提取工艺条件下超声法提取率为 67.37%;酶解法提取率为 69.47%;超声辅助酶解法提取率为 74.49%。其中超声辅助酶解法的最佳提取工艺参数为:液料比 13:1 (mL/g),加酶量 2.1% (以果肉粉末总重计),酶解时间 1.2 h,超声时间 29 min,超声功率 146 W。不同提取方法对酸枣汁中的总酚含量没有显著影响,与超声法、酶解法相比,超声辅助酶解法可以显著提高酸枣汁中总糖含量。体外抗氧化试验表明酸枣汁具有较高的抗氧化活性,并且超声辅助酶解法提取的酸枣汁抗氧化能力高于其他两种方法,表明超声辅助酶解法可以作为一种对酸枣果肉水溶性物质高效提取的方法。

关键词:酸枣;水提物;超声法;酶解法;超声辅助酶解法;提取;抗氧化

Abstract: The effect of three different methods, including ultrasonic extraction, enzymatic extraction and ultrasound-assisted enzymatic extraction, and the extraction of sour jujube juice was optimized. Moreover, the total phenol, total sugar content and antioxidant activity of the extracts were compared. The response

surface method was used to optimize the extraction process, and the antioxidant activity of jujube juice was evaluated by ABTS scavenging, DPPH scavenging and hydroxyl radical scavenging test. The results demonstrated that under the control of the optimal conditions, the extraction rates of ultrasonic method, enzymatic method and ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis were 67.37%, 69.47% and 74.49%. The optimal ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis extraction technology was: liquid-solid ratio 13:1 (mL/g), enzyme amount 2.1% (based on the total weight of pulp powder), enzymolysis time 1.2 h, ultrasonic time 29 min, and ultrasonic power 146 W. Different extraction methods had no significant effect on the total phenolic content in jujube juice. Compared with ultrasonic and enzymatic methods, ultrasonic assisted enzymatic method could significantly increase the total sugar content in jujube juice. The antioxidant test showed that the jujube juices of different extraction methods had high antioxidant activity, and the antioxidant capacity of the jujube juice extracted by ultrasound-assisted enzymatic method was higher than the other two ones. This indicated that the ultrasonic assisted enzymatic hydrolysis method could be used as a method for efficiently extracting water-soluble substances from jujube pulp.

Keywords: jujube; water extract; ultrasonic method; enzymatic hydrolysis; ultrasound-assisted enzymatic extraction method; extraction; antioxidant activity

基金项目:2017 年天津市“131”创新型人才培养工程第一层次人才计划项目(编号:31101235);国家自然科学基金资助项目(编号:31000749);天津市一二三产业融合发展科技示范工程(编号:17ZXYENC00190)

作者简介:施利奇,女,天津商业大学在读硕士研究生。

通信作者:张彦青(1976—),女,天津商业大学教授,博士。

E-mail: zhyqing@tjcu.edu.cn

收稿日期:2019-05-06

酸枣是中国华北地区的传统野生药用植物^[1],具有非常好的药用以及营养价值^[2],是制作天然保健饮品的优质原料^[3]。现代研究表明,酸枣果肉中营养物质主要包括多糖、有机酸、多种维生素以及矿物质等^[4-5],具有镇静催眠、抗氧化以及增强肠道屏障的作用^[6-8]。目前,市场上酸枣饮料产品主要有酸枣汁^[9]、酸枣果醋^[10]、酸枣

果酒^[11]等,其中酸枣汁是最主要的品种。

酸枣果肉中通常含有大量的果胶和纤维物质,传统的枣汁生产主要采用热水浸提或打浆法,可溶物提取效率低,提取时间长等缺点^[12-13]。近年来,众多研究学者^[14-17]针对枣汁生产开发了多种提取方法,如超声法、微波法、酶解法等,与传统方法相比,这些方法可以使细胞内溶物更好地溶出,提取率明显提高。但迄今为止,采用超声联合酶解法提取酸枣汁,尤其是不同方法对酸枣可溶性物提取率及其抗氧化活性的影响研究还未见报道。

试验拟采用超声法、酶解法、超声辅助酶解法3种方法提取酸枣汁,以酸枣可溶性物提取率为指标,利用 Box-Behnken 响应面设计优化提取工艺,并考察不同工艺提取物的抗氧化活性,为深入开发酸枣资源、提高酸枣汁产品加工水平提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

酸枣果肉:干制品,产地天津蓟县;

果胶酶(最适 pH 4.0,温度 50 ℃,酶活 10 万 U/g):河南万邦实业有限公司;

纤维素酶(最适 pH 4.0,温度 50 ℃,酶活 5 万 U/g):宁夏和氏璧生物技术有限公司;

柠檬酸:天津市光复科技发展有限公司;

DPPH、ABTS:美国 Sigma 公司;

其他试剂:分析纯,天津市化学试剂供销公司。

1.1.2 主要仪器设备

电热恒温鼓风干燥箱:DH-101 型,天津市中环实验电炉有限公司;

高速万能粉碎机:FW100 型,北京中兴伟业仪器有限公司;

电子天平:ME204 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

pH 计:FE20 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

恒温水浴锅:TDA-8002 型,天津市中环实验电炉有限公司;

数控超声波清洗器:KQ-500B 型,昆山市超声仪器有限公司;

离心机:Heraeus Megafuge 8R 型,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;

折射计:PAL-1 型,ATAGO(爱拓)中国分公司;

多功能读板机:SpectraMax-M5 型,美国 Molecular Devices 公司。

1.2 方法

1.2.1 原料预处理 称取干燥酸枣果肉 2.0 g 于 50 mL 离心管中,加入一定量的水,60 ℃浸泡 1 h,酶解法和超声

辅助酶解法需要用柠檬酸和 pH 计调节 pH 为 4 左右。

1.2.2 超声法提取工艺的优化

(1) 超声时间对提取率的影响:固定液料比 7:1 (mL/g),超声温度 50 ℃,超声功率 100 W。分别在超声时间为 10,20,30,40,50 min 时提取酸枣果肉,考察超声时间对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(2) 超声功率对提取率的影响:固定液料比 7:1 (mL/g),超声温度 50 ℃,超声时 30 min。分别在超声功率为 100,120,140,160,180 W 时提取酸枣果肉,考察超声功率对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(3) 超声温度对提取率的影响:固定液料比 7:1 (mL/g),超声时间 30 min,超声功率 100 W。分别在超声温度为 40,50,60,70,80 ℃时提取酸枣果肉,考察超声温度对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(4) 液料比对提取率的影响:固定超声温度 50 ℃,超声时间 30 min,超声功率 100 W。分别在液料比为 5:1,7:1,9:1,11:1,13:1 (mL/g) 时提取酸枣果肉,考察液料比对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(5) 响应面试验设计:在单因素试验基础上,选择有显著影响的 4 个因素,以酸枣果肉可溶性物提取率为响应值,根据 Box-Behnken 试验设计原理,对酸枣果肉超声法提取工艺参数进行响应面试验优化。

1.2.3 酶解法提取工艺的优化

(1) 酶比对提取率的影响:固定酶解温度 50 ℃,加酶量 2.1%,酶解时间 1.5 h。分别在酶配比方式水(A)、果胶酶(B)、纤维素酶(C)、果胶酶:纤维素酶=1:1(D)、果胶酶:纤维素酶=1:2(E)、果胶酶:纤维素酶=2:1(F)时提取酸枣果肉,考察不同酶比对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(2) 液料比对提取率的影响:固定酶解温度 50 ℃,酶解时间 1 h,加酶量 1.5%。分别在液料比为 5:1,7:1,9:1,11:1,13:1 (mL/g) 时提取酸枣果肉,考察液料比对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(3) 酶解温度对提取率的影响:固定液料比 7:1 (mL/g),酶解时间 1 h,加酶量 1.5%。分别在酶解温度为 40,45,50,55,60 ℃时提取酸枣果肉,考察酶解温度对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(4) 酶解时间对提取率的影响:固定液料比 7:1 (mL/g),酶解温度 50 ℃,加酶量 1.5%。分别在酶解时间为 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 h 时提取酸枣果肉,考察酶解时间对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(5) 加酶量对提取率的影响:固定液料比 7:1 (mL/g),酶解温度 50 ℃,酶解时间 1 h。分别在加酶量为 0.9%,1.5%,2.1%,2.7%,3.3% 时提取酸枣果肉,考察加酶量对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(6) 响应面试验设计:在单因素试验基础上,选择有显著影响的 4 个因素,以酸枣果肉可溶性物提取率为响

应值,根据 Box-Behnken 试验设计原理,对酸枣果肉酶解法提取工艺参数进行响应面优化。

1.2.4 超声辅助酶解法提取工艺的优化

(1) 液料比对提取率的影响:固定酶解温度和超声温度均为 50 ℃、加酶量 1.5%、酶解时间 1 h、超声时间 30 min、超声功率 120 W。分别在液料比为 7:1,9:1,11:1,13:1,15:1 (mL/g) 时提取酸枣果肉,考察液料比对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(2) 加酶量对提取率的影响:固定酶解温度和超声温度均为 50 ℃,液料比 9:1 (mL/g),酶解时间 1 h,超声时间 30 min,超声功率 120 W。分别在加酶量为 0.9%,1.5%,2.1%,2.7%,3.3% 时提取酸枣果肉,考察液料比对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(3) 酶解时间对提取率的影响:固定酶解温度和超声温度均为 50 ℃,液料比 9:1 (mL/g),加酶量 1.5%,超声时间 30 min,超声功率 120 W。分别在酶解时间为 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 h 时提取酸枣果肉,考察酶解时间对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(4) 超声时间对提取率的影响:固定酶解温度和超声温度均为 50 ℃,液料比 9:1 (mL/g),加酶量 1.5%,酶解时间 1 h,超声功率 120 W。分别在超声时间为 10,20,30,40,50 min 时提取酸枣果肉,考察超声时间对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(5) 超声功率对提取率的影响:固定酶解温度和超声温度均为 50 ℃,液料比 9:1 (mL/g),加酶量 1.5%,酶解时间 1 h,超声时间 30 min。分别在超声功率为 100,120,140,160,180 W 时提取酸枣果肉,考察超声功率对酸枣果肉可溶性物提取率的影响。

(6) 响应面优化设计:在单因素试验基础上,选择有显著影响的 4 个因素,以酸枣果肉可溶性物提取率为响应值,根据 Box-Behnken 试验设计原理,对酸枣果肉提取工艺参数进行响应面优化。

1.2.5 可溶性物提取率的测定 酸枣果肉提取后,离心(8 000 r/min,8 min),得澄清酸枣汁,利用 PAL-1 型折光仪测定可溶性固形物含量,并按式(1)计算可溶性物质提取率。

$$c = \frac{s \times m}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——可溶性物质提取率,%;

s ——枣汁中的可溶性固形物含量,%;

m ——酸枣汁质量,g;

M ——酸枣果肉质量,g。

1.2.6 总酚含量的测定 采用福林酚法^[18],以没食子酸绘制标准曲线(曲线方程为 $y = 0.002x + 0.076$, $R^2 = 0.999\ 0$),按式(2)计算总酚含量。

$$R_1 = \frac{C \times V}{Y \times V} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R_1 ——酸枣汁中总酚含量,mg/g;

C ——待测液总酚质量浓度,mg/mL;

V ——澄清酸枣汁体积,mL;

Y ——可溶性固形物含量,%。

1.2.7 总糖含量的测定 采用苯酚硫酸法^[19],以葡萄糖绘制标准曲线(曲线方程为 $y = 0.003\ 2x + 0.151\ 9$, $R^2 = 0.995\ 7$),按式(3)计算总糖含量。

$$R_2 = \frac{C \times V}{Y \times V} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

R_2 ——酸枣汁中总糖含量,mg/g;

C ——待测液总糖质量浓度,mg/mL;

V ——澄清酸枣汁体积,mL;

Y ——可溶性固形物含量,%。

1.2.8 体外氧化活性测定 取 3 种方法所制备澄清酸枣汁,测定可溶性固形物含量,将酸枣汁稀释至浓度为 6 mg/mL,进行体外抗氧化试验。分别测定其 ABTS 清除活性^[20]、DPPH 清除活性^[21]以及羟自由基清除活性^[22]。清除能力以每克可溶性固形物的 V_c 微摩尔当量表示($\mu\text{mol } V_c/\text{g}$)。

1.3 数据处理

每个试验重复 3 次,采用 Design Expert 8.0.6 软件进行响应面分析,利用 Prism 软件、SPSS 统计软件进行绘图和数据分析。

2 结果与分析

2.1 超声法提取工艺优化

如图 1 所示,最佳超声时间为 40 min,最佳超声功率为 140 W,最佳超声温度为 70 ℃,最佳液料比为 11:1 (mL/g)。因此,确定超声法响应面优化试验的因素及水平取值见表 1,试验设计及结果见表 2。

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 2 中的数据进行多元回归拟合分析,建立提取工艺的二次多项回归方程:

$$Y = 66.41 - 0.025A + 0.47B + 0.37C + 1.61D - 0.53AB + 0.37AC - 0.43AD - 1.18BC + 0.12BD - 2.50CD - 1.46A^2 - 1.10B^2 - 1.07C^2 - 2.34D^2. \quad (4)$$

由表 3 可知,B、C、D 均对酸枣水溶性物质提取率具

表 1 超声法 Box-Behnken 试验因素和水平表

Table 1 Box-Behnken test factors and level tables by ultrasonic method

编号	A 超声时间/min	B 超声功率/W	C 超声温度/℃	D 液料比(mL/g)
-1	30	120	60	9:1
0	40	140	70	11:1
1	50	160	80	15:1

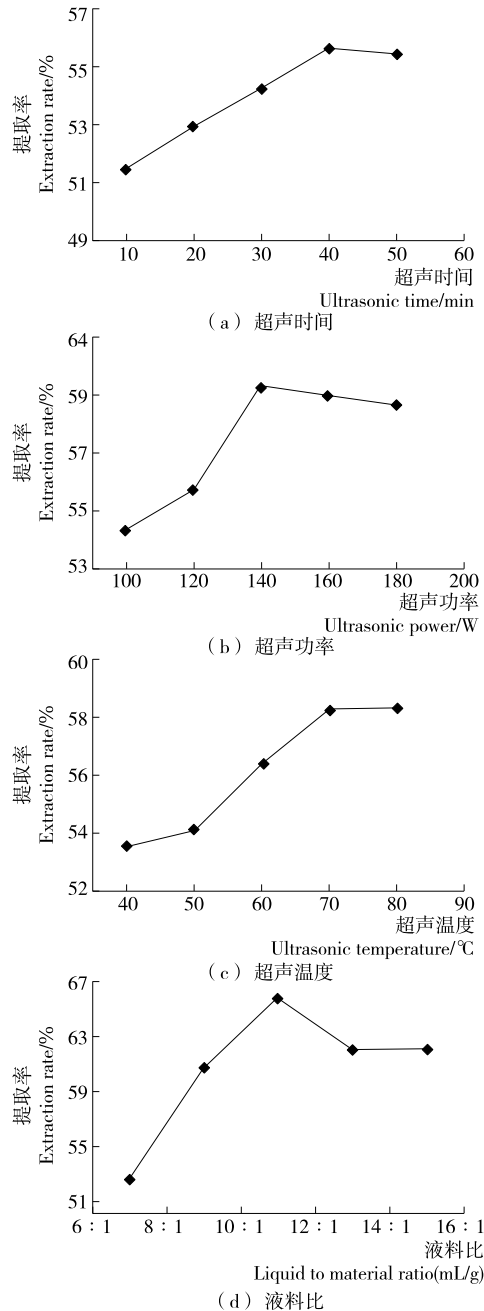


图1 超声法各单因素对酸枣可溶性物质提取率的影响
Figure 1 Effect of single factor on the extraction rate of sour jujube juice by ultrasonic method

有显著影响,各因素的影响大小为 $D>B>C>A$ 。该模型具有极显著性($P<0.01$),失拟项 P 值不显著($P>0.05$),模型的相关系数 $R^2=0.9691$,表明该模型拟合程度好,试验误差较小,该模型可用于预测试验结果。最佳条件为超声时间 36 min,超声功率 155 W,超声温度 60 °C,液料比 13:1 (mL/g),按此条件进行验证实验,酸枣可溶性物质提取率为 67.37%,与预测值(67.63%)相比,误差较小,能较好地反映出各因素与酸枣可溶性物质提取率之间关系。

表2 超声法响应面试验设计与结果

Table 2 Response surface design and results by ultrasonic method

序号	A	B	C	D	提取率/%
1	-1	-1	0	0	62.46
2	1	-1	0	0	64.04
3	-1	1	0	0	64.64
4	1	1	0	0	64.10
5	0	0	-1	-1	58.48
6	0	0	1	-1	64.49
7	0	0	-1	1	66.44
8	0	0	1	1	62.44
9	-1	0	0	-1	60.72
10	1	0	0	-1	61.07
11	-1	0	0	1	64.82
12	1	0	0	1	63.47
13	0	-1	-1	0	62.91
14	0	1	-1	0	65.25
15	0	-1	1	0	65.42
16	0	1	1	0	63.05
17	-1	0	-1	0	63.92
18	1	0	-1	0	63.02
19	-1	0	1	0	64.22
20	1	0	1	0	64.79
21	0	-1	0	-1	60.60
22	0	1	0	-1	62.07
23	0	-1	0	1	63.84
24	0	1	0	1	65.78
25	0	0	0	0	66.55
26	0	0	0	0	65.93
27	0	0	0	0	66.73

2.2 酶解法提取工艺优化

如图 2 所示,最佳酶配比为果胶酶与纤维素酶 1:2,最佳液料比为 9:1 (mg/mL),最佳加酶量为 2.1%,最佳酶解时间为 1.5 h,最佳酶解温度为 50 °C。果胶酶和纤维素酶可以使酸枣细胞壁中的果胶和纤维素水解^[23-24]组织结构松散,溶解出更多的可溶性物,从而提高提取率^[25]。而且试验发现,胶酶:纤维素酶为 1:2 时酸枣可溶性物质提取率显著高于其他试验组。因此,酶解法和超声辅助酶解法均选择果胶酶:纤维素酶为 1:2。确定酶解法响应面优化试验的因素及水平取值见表 4,试验设计及结果见表 5。

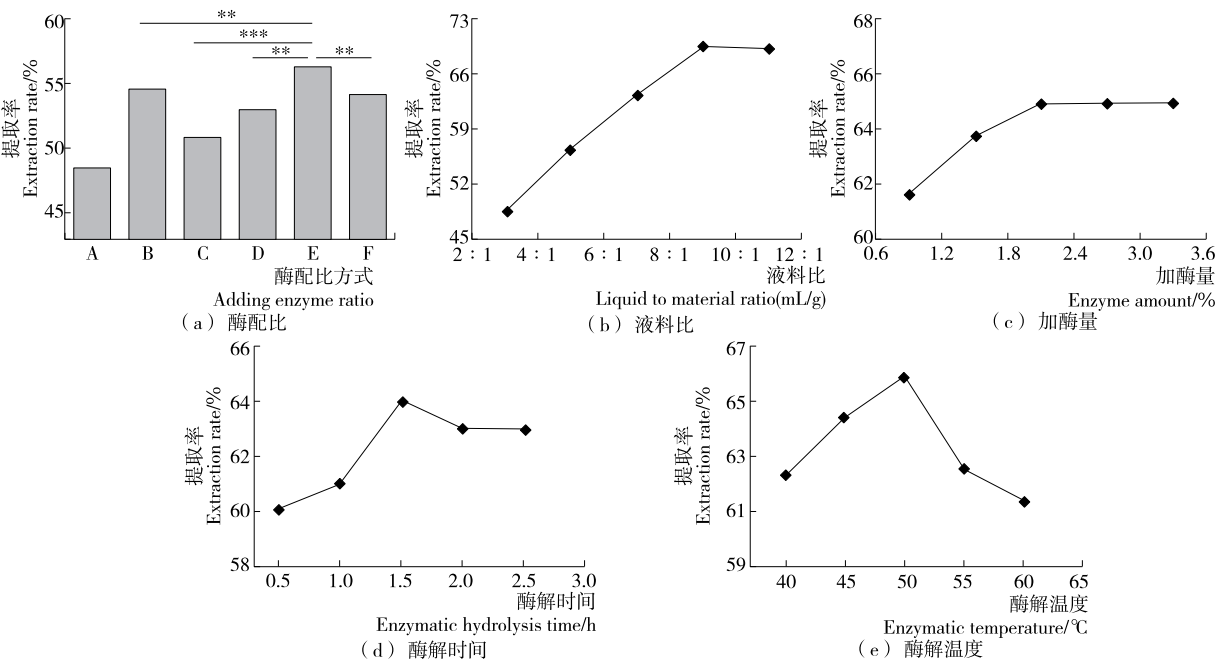
采用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 5 中的数据进行多元回归拟合分析,建立提取工艺的二次多项回归方程:

$$Y = 69.91 + 1.48A + 0.94B - 0.17C + 0.24D + 0.010AB + 0.100AC - 0.63AD + 0.67BC - 0.31BD - 0.37CD - 3.00A^2 - 0.85B^2 - 1.58C^2 - 0.52D^2. \quad (5)$$

表 3 超声法方差分析结果[†]
Table 3 Response variance analysis results by ultrasonic method

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	100.84	14	7.20	26.89	<0.000 1	* * *
A	7.52E-003	1	7.52E-003	2.80E-002	0.869 7	
B	2.63	1	2.63	9.83	0.008 6	* *
C	1.60	1	1.60	5.98	0.030 9	*
D	31.25	1	31.25	116.64	<0.000 1	* * *
AB	1.12	1	1.12	4.17	0.063 7	
AC	0.54	1	0.54	2.00	0.182 8	
AD	0.72	1	0.72	2.70	0.126 0	
BC	5.56	1	5.56	20.74	0.000 7	* * *
BD	5.80E-002	1	5.80E-002	0.22	0.650 3	
CD	25.07	1	25.07	93.56	<0.000 1	* * *
A ²	11.41	1	11.41	42.58	<0.000 1	* * *
B ²	6.46	1	6.46	24.12	0.000 4	* * *
C ²	6.08	1	6.08	22.70	0.000 5	* * *
D ²	29.32	1	29.32	109.44	<0.000 1	* * *
残差	3.21	12	0.27			
失拟项	2.86	10	0.29	1.63	0.440 1	
纯误差	0.35	2	0.18			
总和	104.06	26				

† * 表示有显著差异(P<0.05); * * 表示有非常显著差异(P<0.01); * * * 表示有极显著差异(P<0.001)。



*, 显著差异(P<0.05) **, 非常显著差异(P<0.01) ***, 极显著差异(P<0.001)

图 2 酶解法各因素对酸枣可溶性物质提取率的影响

Figure 2 Effect of single factor on the extraction rate of sour jujube juice by enzymatic hydrolysis method

表 4 酶解法 Box-Behnken 试验因素和水平表
Table 4 Box-Behnken test factors and level tables
by enzymatic hydrolysis method

编号	A 液料比 (mL/g)	B 加酶 量/%	C 酶解时 间/h	D 酶解温 度/℃
-1	7 : 1	1.5	1.0	45
0	9 : 1	2.1	1.5	50
1	11 : 1	2.7	2.0	55

由表 6 可知,A、B 对酸枣可溶性物质提取率具有显著影响,各因素的影响大小为 $A>B>D>C$ 。该模型具有极显著性($P<0.01$),失拟项 P 值不显著($P>0.05$),模型的相关系数 $R^2=0.968\ 3$,表明该模型拟合程度好,试验误差较小,该模型可用于预测试验结果。最佳条件为液料比 11 : 1 (mL/g),酶解温度 47 ℃,酶解时间 1.6 h,加酶量 2.5%,按此条件进行验证实验,酸枣可溶性物质提取率为 69.47%,与预测值(69.38%)相比,误差较小,能较好反映出各因素与酸枣可溶性物质提取率之间关系。

2.3 超声辅助酶解法提取工艺优化

如图 3 所示,最佳液料比为 13 : 1 (mL/g),最佳酶解时间为 1 h,最佳超声时间为 30 min,最佳超声功率为 140 W,最佳加酶量为 2.1%。由于加酶量对提取率的影响变化较小,固定加酶量为 2.1%。因此,确定超声法响应面优化试验的因素及水平取值见表 7,试验设计及结果见表 8。

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 8 中的数据进行多元回归拟合分析,建立提取工艺的二次多项回归方程:

表 5 酶解法响应面试验设计与结果
Table 5 Response surface design and results by
enzymatic hydrolysis method

序号	A	B	C	D	提取率/%
1	-1	-1	0	0	63.56
2	1	-1	0	0	66.80
3	-1	1	0	0	65.12
4	1	1	0	0	68.41
5	0	0	-1	-1	67.52
6	0	0	1	-1	67.34
7	0	0	-1	1	68.86
8	0	0	1	1	67.20
9	-1	0	0	-1	64.60
10	1	0	0	-1	68.19
11	-1	0	0	1	66.12
12	1	0	0	1	67.20
13	0	-1	-1	0	66.72
14	0	1	-1	0	67.96
15	0	-1	1	0	65.96
16	0	1	1	0	69.86
17	-1	0	-1	0	64.07
18	1	0	-1	0	67.17
19	-1	0	1	0	63.18
20	1	0	1	0	66.69
21	0	-1	0	-1	67.13
22	0	1	0	-1	69.26
23	0	-1	0	1	68.33
24	0	1	0	1	69.20
25	0	0	0	0	70.30
26	0	0	0	0	69.75
27	0	0	0	0	69.70

表 6 酶解法方差分析结果[†]
Table 6 Response variance analysis results by enzymatic hydrolysis method

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	95.20	14	6.80	26.17	<0.000 1	* * *
A	26.43	1	26.43	101.72	<0.000 1	* * *
B	10.67	1	10.67	41.06	<0.000 1	* * *
C	0.36	1	0.36	1.40	0.259 9	
D	0.69	1	0.69	2.65	0.129 5	
AB	4.33E-004	1	4.33E-004	1.67E-003	0.968 1	
AC	4.00E-002	1	4.00E-002	0.15	0.702 1	
AD	1.58	1	1.58	6.07	0.029 8	*
BC	1.77	1	1.77	6.82	0.022 8	*
BD	0.39	1	0.39	1.51	0.242 2	
CD	0.55	1	0.55	2.12	0.171 0	
A ²	48.09	1	48.09	185.06	<0.000 1	* *
B ²	3.90	1	3.90	14.99	0.002 2	* *
C ²	13.24	1	13.24	50.96	<0.000 1	* *
D ²	1.47	1	1.47	5.65	0.035 0	*
残差	3.12	12	0.26			
失拟项	2.90	10	0.29	2.61	0.308 9	
纯误差	0.22	2	0.11			
总和	98.32	26				

[†] * 表示有显著差异($P<0.05$); * * 表示有非常显著差异($P<0.01$); * * * 表示有极显著差异($P<0.001$)。

表 7 超声辅助酶解法 Box-Behnken 试验因素和水平表
Table 7 Box-Behnken test factors and level tables by ultrasound-assisted enzymatic extraction method

编号	A 液料比 (mL/g)	B 酶解时 间/h	C 超声时 间/min	D 超声功 率/W
-1	11 : 1	0.5	20	120
0	13 : 1	1.0	30	140
1	15 : 1	1.5	40	160

$$Y = 74.62 + 0.37A + 0.76B + 0.016C + 0.39D + 0.092AB - 0.36AC + 0.049AD - 0.64BC - 0.39BD + 0.099CD - 1.20A^2 - 0.62B^2 - 1.39C^2 - 0.26D^2。$$
 (6)

由表 9 可知,A、B、D 均对酸枣可溶性物质提取率影响显著,各因素的影响大小为 B>D>A>C。该模型具有极显著性(P<0.01),失拟项 P 值不显著(P>0.05),模型的相关系数 R²=0.965 8,表明该模型拟合程度好,试验误差较小,该模型可用于预测试验结果。最佳条件为液料比 13 : 1 (mL/g),加酶量 2.1%,酶解时间 1.2 h,超声时间 29 min,超声功率 146 W,按此条件进行验证实验,酸枣可溶性物质提取率为 74.82%,与预测值(74.49%)相比,误差较小,能较好反映出各因素与酸枣可溶性物质提取率之间关系。

目前已报道酸枣汁提取方法主要为酶解法。毛丽衡^[3]和杜琨^[26]均采用果胶酶对酸枣进行提取,提取率分别为 66.10% 和 67.23%。试验中 3 种方法的提取率(67.74%,69.38%,74.49%)均高于已报道酸枣提取率,与超声法和酶解法相比,超声辅助酶解法提取率明显提高,表明超声辅助酶解法是一种更加高效、方便的提取方法。

表 8 超声辅助酶解法响应面设计试验设计与结果
Table 8 Response surface design and results by ultrasound-assisted enzymatic extraction method

序号	A	B	C	D	提取率/%
1	-1	-1	0	0	71.87
2	1	-1	0	0	72.23
3	-1	1	0	0	73.01
4	1	1	0	0	73.73
5	0	0	-1	-1	72.43
6	0	0	1	-1	72.66
7	0	0	-1	1	72.89
8	0	0	1	1	73.52
9	-1	0	0	-1	72.47
10	1	0	0	-1	73.27
11	-1	0	0	1	72.93
12	1	0	0	1	73.92
13	0	-1	-1	0	71.34
14	0	1	-1	0	73.93
15	0	-1	1	0	72.55
16	0	1	1	0	72.57
17	-1	0	-1	0	71.50
18	1	0	-1	0	72.99
19	-1	0	1	0	71.96
20	1	0	1	0	72.02
21	0	-1	0	-1	71.90
22	0	1	0	-1	74.61
23	0	-1	0	1	73.82
24	0	1	0	1	74.98
25	0	0	0	0	74.65
26	0	0	0	0	74.80
27	0	0	0	0	74.42

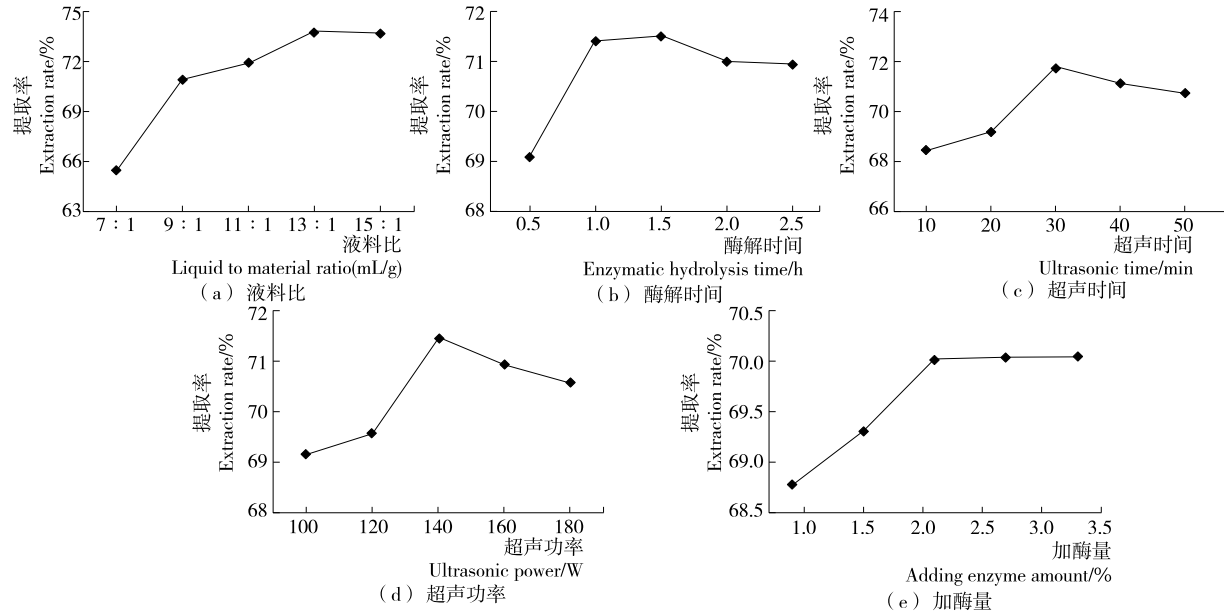


图 3 超声辅助酶解法各单因素对酸枣可溶性物质提取率的影响

Figure 3 Effect of single factor on the extraction rate of sour jujube juice by ultrasound-assisted enzymatic extraction method

表 9 超声辅助酶解法方差分析结果[†]

Table 9 Response variance analysis results by ultrasound-assisted enzymatic extraction method

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	27.88	14	1.99	24.19	<0.000 1	* * *
A	1.63	1	1.63	19.83	0.000 8	* * *
B	6.94	1	6.94	84.28	<0.000 1	* * *
C	3.06E-003	1	3.06E-003	3.70E-002	0.850 4	
D	1.86	1	1.86	22.56	0.000 5	* * *
AB	3.40E-002	1	3.40E-002	0.41	0.534 9	
AC	0.51	1	0.51	6.17	0.028 8	*
AD	9.60E-003	1	9.60E-003	0.12	0.738 6	
BC	1.65	1	1.65	20.00	0.000 8	* * *
BD	0.60	1	0.60	7.27	0.019 5	*
CD	0.04	1	0.04	0.48	0.501 5	
A ²	7.73	1	7.73	93.88	<0.000 1	* * *
B ²	2.07	1	2.07	25.17	0.000 3	* * *
C ²	10.36	1	10.36	125.89	<0.000 1	* * *
D ²	0.37	1	0.37	4.51	0.055 1	
残差	0.99	12	8.20E-002			
失拟项	0.91	10	9.10E-002	2.49	0.320 6	
纯误差	0.07	2	3.70E-002			
总和	28.87	26				

† * 表示有显著差异(P<0.05); ** 表示有非常显著差异(P<0.01); *** 表示有极显著差异(P<0.001)。

2.4 不同方法提取物总酚、总糖含量的比较

如表 10 所示,不同提取方法对酸枣汁中的总酚含量无显著影响,而对总糖含量影响显著;与超声法和酶解法相比,超声辅助酶解法可以显著提高酸枣汁中总糖含量。

2.5 酸枣汁抗氧化活性

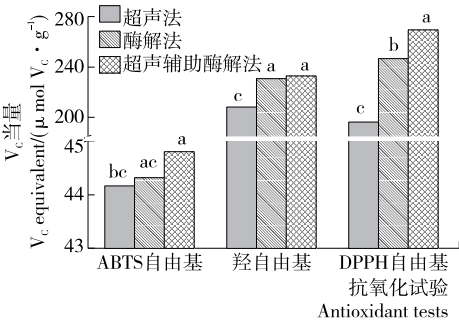
如图 4 所示,3 种方法提取的酸枣汁表现出较好的抗氧化活性。与超声法相比,酶解法可以显著提高酸枣汁清除羟自由基和 DPPH 自由基的能力,超声辅助酶解法显著提高酸枣汁清除 ABTS 自由基、羟自由基以及 DPPH 自由基的能力;超声辅助酶法酸枣汁 DPPH 自由基清除能力强于酶法(P<0.05)。由以上可知,超声辅助酶解法提取的酸枣汁抗氧化能力要优于其他两种方法,不同抗氧化能力可能与酸枣汁中总糖含量的差异有关。

表 10 酸枣汁中总酚和总糖含量测定[†]

Table 10 Determination of total phenol and total sugar in jujube juice

提取方法	总酚	总糖
超声法	13.20±0.11 ^a	604.20±1.58 ^c
酶解法	13.24±0.24 ^a	638.40±2.21 ^b
超声辅助酶解法	13.31±0.27 ^a	680.09±1.78 ^a

† 同列字母不同代表差异显著(P<0.05)。



字母不同代表差异显著(P<0.05)

图 4 不同方法提取酸枣汁的抗氧化能力

Figure 4 Antioxidant capacity of jujube juice extracted by different methods

3 结论

通过单因素试验和响应面法优化超声法、酶解法及超声辅助酶解法提取酸枣汁的工艺条件。结果表明,3 种方法的酸枣水溶物提取率均优于已报道文献^[3,26]的,其中超声辅助酶解法的提取效果最佳。酸枣汁具有明显的抗氧化能力,与其总酚、总糖含量密不可分,并且不同方法提取的酸枣汁抗氧化能力具有显著差异,可能与总糖含量的差异有关。与超声法和酶解法相比,超声辅助酶

解法不仅可以有效提高酸枣可溶物提取率和总糖含量,还可以显著提高其抗氧化能力,因此超声辅助酶解提取可以作为一种高效的酸枣汁提取方法。后续将进行体内试验以进一步验证不同方法提取酸枣汁的抗氧化能力。

参考文献

- [1] 徐蕊,李祥,王慧,等.酸枣浓缩汁抗氧化和血脂调控的功能评价[J].食品研究与开发,2018,39(2):192-197.
 - [2] 杨冲,李宪松,刘孟军.酸枣的营养成分及开发利用研究进展[J].北方园艺,2017,41(5):184-188.
 - [3] 毛丽衡.酸枣果醋酿造工艺及其成分分析[D].保定:河北农业大学,2013:1-14.
 - [4] 赵爱玲,薛晓芳,王永康,等.枣和酸枣果实糖酸组分及含量特征分析[J].塔里木大学学报,2016,28(3):29-36.
 - [5] 翟宇鑫,陈军,李俦,等.ICP-AES法测定南酸枣及其提取物中矿物元素含量[J].光谱学与光谱分析,2015,35(4):1 052-1 055.
 - [6] GUO Sheng, TANG Yu-ping, DUAN Ji-nao, et al. Two new terpenoids from fruits of *Ziziphus jujuba* [J]. Chinese Chemical Letters, 2009, 20(2): 197-200.
 - [7] FENG Cui-jiao, WANG Bi-ni, ZHAO Ai-qing, et al. Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube pulp [J]. Food Chemistry, 2019, 277: 238-245.
 - [8] YUE Yuan, WU Shuang-chan, LI Zhi-ke. Wild jujube polysaccharides protect against experimental inflammatory bowel disease by enabling enhanced intestinal barrier function [J]. Food & Function, 2015, 6(8): 2 568-2 577.
 - [9] 武光路,王爱军.酸枣汁饮料——一种新型的东方食品[J].食品工业科技,1999,20(6):12-12.
 - [10] 卫拯友,党永,吴富强,等.酸枣醋饮料工艺研究[J].陕西农业科学,2010,56(1):31-34.
 - [11] 杨宜非.野酸枣果酒酿造工艺研究[D].保定:河北农业大学,2014:1-3.
 - [12] 孙巍,刘学铭.酶在果汁加工中的应用研究进展[J].食品研究与开发,2008,29(12):148-151.
 - [13] 张宝善,陈锦屏,李强,等.红枣汁的提取方法[J].食品与发酵工业,2003,29(12):67-71.
 - [14] 聂小伟.红枣粉加工工艺的研究[D].西安:陕西科技大学,2011:10-39.
 - [15] 姬晨.红枣浓缩汁加工关键技术研究及品质评价[D].咸阳:西北农林科技大学,2015:12-21.
 - [16] 张文杰.和田玉枣、花生固体蛋白饮料加工工艺研究[D].西安:陕西师范大学,2009:16-37.
 - [17] 王翠连.木枣钙果复合饮料研制及抗氧化性研究[D].太原:山西大学,2018:8-14.
 - [18] 张露,刘鹏飞,涂宗财,等.香榧不同部位提取物的抗氧化和酶抑制活性比较分析[J].食品科学,2018,39(10):78-83.
 - [19] 林婷婷,房雷雷,张亚新,等.响应面法优化酸枣仁多糖的脱色工艺[J].食品工业科技,2018,39(24):198-202,208.
 - [20] MA Yi-long, ZHU Dan-ye, THAKUR Kiran, et al. Antioxidant and antibacterial evaluation of polysaccharides sequentially extracted from onion (*Allium cepa* L.) [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 111: 92-101.
 - [21] JIAO Li-juan, YAN Chen-pu, ZHANG Kun-sheng, et al. Comprehensive determination of nine polyphenols in *Polygonum aviculare* herba with a new HPLC-DAD method and their correlation with the antioxidant activities [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2018, 12(3): 1 593-1 600.
 - [22] 罗磊,张冰洁,马丽苹,等.金银花叶黄酮体外抗氧化能力及对 H_2O_2 诱导 RAW264.7 巨噬细胞损伤的保护作用[J].食品科学,2018,39(11):139-145.
 - [23] 何佳,张宏森,张海宁,等.果浆酶和果胶酶对猕猴桃出汁率的影响[J].食品科学,2012,33(8):76-79.
 - [24] 贾东升,李荣乔,谢晓亮,等.响应面法优化果胶酶澄清酸枣汁工艺的研究[J].食品研究与开发,2016,37(10):91-95.
 - [25] 印建钢.红枣浓缩清汁生产工艺的探讨[J].食品与发酵工业,2012,38(9):90-93.
 - [26] 杜琨.陕北野生酸枣果醋的生产工艺研究[J].中国调味品,2009,34(9):87-89.
-
- (上接第 181 页)
- [20] 吴莹莹,鲍大鹏,王瑞娟,等.6种市售工厂化栽培金针菇的氨基酸组成及蛋白质营养评价[J].食品科学,2018,39(10):263-268.
 - [21] GUERRERO P, KERRY J P, DE L C K. FTIR characterization of protein-polysaccharide interactions in extruded blends [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 111(6): 598-605.
 - [22] 刘敏,孟艳丽,董士远,等.鲢鱼肽美拉德反应产物超滤组分的抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2015,31(6):219-223.
 - [23] 申彩红.海参肽的酶法制备及其抗氧化、抗疲劳活性研究[D].厦门:华侨大学,2015:42-43.
 - [24] 张会翠,唐琳,杨庆利,等.超滤法分离花生肽及其抗氧化活性的研究[J].花生学报,2012,41(1):1-5.
 - [25] OLAGUNJU A I, OMOBA O S, ENUIJUGH A V N, et al. Pigeon pea enzymatic protein hydrolysates and ultrafiltration peptide fractions as potential sources of antioxidant peptides: An in vitro study [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 97(7): 269-278.
 - [26] 郑晓吉,许程剑,牛博楠,等.新疆阿魏菇抗氧化肽分离纯化及抗氧化性质[J].食品与生物技术学报,2015(5):524-529.