

酶解-超声组合提取蒲公英中 绿原酸的工艺优化

徐树来^{1,2},金慧荣^{1,2},任红波³,王 丽⁴,张 静^{1,2},陈井权⁵,温 暖^{1,*}

(1.哈尔滨商业大学食品工程学院,黑龙江哈尔滨 150076;

2.黑龙江省普通高校食品科学与工程重点实验室,黑龙江哈尔滨 150076;

3.黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所,黑龙江哈尔滨 150086;

4.哈尔滨商业大学校医院,黑龙江哈尔滨 150076;

5.海伦野泰食品加工有限公司,黑龙江绥化 152000)

摘 要:目的:以干蒲公英茎叶为原料,优化其绿原酸提取工艺。方法:采用酶解超声组合法,以绿原酸得率为指标,在单因素实验的基础上,确定酶添加量、酶解时间、超声功率和超声时间为主要影响因素及其水平值,采用 Box-Behnken 法设计四因素三水平实验进行响应面优化,并建立二次多项数学模型。结果:蒲公英中绿原酸的最佳提取工艺条件:纤维素酶添加量 0.3% (占干料的百分比)、酶解时间 1.0 h、酶解温度 50 ℃、酶解 pH4、超声功率 163 W、超声时间 1.7 h、料液比 1:20 g/mL。在此条件下,绿原酸平均得率为 2.14% ± 0.02%,与模型预测值(2.12%)相近。结论:酶解超声组合方法较适合提取蒲公英中的绿原酸,响应面分析法较好地优化了提取工艺。

关键词:蒲公英,绿原酸,纤维素酶,超声波,提取

The process optimization of the chlorogenic acid extraction from dandelion by the method of enzymatic ultrasonic combination

XU Shu-lai^{1,2}, JIN Hui-rong^{1,2}, REN Hong-bo³, WANG Li⁴, ZHANG Jing^{1,2}, CHEN Jing-quan⁵, WEN Nuan^{1,*}

(1.College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

2.Key Laboratory of Food Science and Engineering of Heilongjiang Province, Harbin 150076, China;

3.Institute of Quality and Safety of Agricultural Products, Heilongjiang
Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China;

4.University Hospital, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

5.Hailun Yetai Food Processing Co., Ltd. Suihua, Heilongjiang 152000, China)

Abstract: Objective: To optimize the technology of extracting chlorogenic acid from the stem and leaf of dandelion. Method: Using the method of enzymatic ultrasonic combination, cellulase additive amount, enzymolysis time, ultrasonic power and ultrasonic time were chose as the main factors. Based on the single experiments, the extracting processing parameters of chlorogenic acid in dandelion were optimized by response surface method, and the multivariate two regression model was established by the index of the chlorogenic acid yield. Results: The optimum extracting parameters were determined as follows: Cellulase additive amount 0.3% (percentage of dry material), enzymolysis time 1.0 h, enzymolysis temperature 50 ℃, enzymolysis pH4, ultrasonic power 163 W, ultrasonic time 1.7 h, solid-liquid ratio 1:20 g/mL. On this extracting condition, the yield of chlorogenic acid was 2.14% ± 0.02%, it was similar to the model predictive value 2.12%. Conclusions: The method of enzymatic ultrasonic combination is suitable to extract chlorogenic acid from dandelion, and the extracting technology can be well optimized by response surface method.

Key words: dandelion; chlorogenic acid; cellulose; ultrasonic; extracting process

中图分类号: TS209

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2018)08-0160-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.08.029

引文格式: 徐树来, 金慧荣, 任红波, 等. 酶解-超声组合提取蒲公英中绿原酸的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(8): 160-166.

收稿日期: 2017-08-25

作者简介: 徐树来(1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: xushulai@sina.com。

* 通讯作者: 温暖(1994-), 女, 本科生, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: 644487353@qq.com。

基金项目: 国家级大学生创新创业项目(201610240002); 横向课题——蒲公英系列食品开发(130185)。

蒲公英是一种药食同源的草本植物,具有广阔的开发前景和较高的综合利用价值^[1-2]。其活性成分绿原酸在蒲公英中的含量为 18.4038~25.9445 mg/g^[3],绿原酸亦称咖啡鞣酸^[4],是由咖啡酸与奎尼酸组成的羧酚酸^[5],分子式为 C₁₆H₁₈O₉^[6],具有清除自由基^[7]、抗氧化^[8]、降脂^[9]、提高果汁的稳定性^[10]等作用。

目前常见的提取绿原酸的方法有水提法^[11]、醇提法^[12]、微波提取法^[13]、酶解-超声组合法等。水提法和醇提法提取工艺虽然简单,但提取率较低,杂质较多,不利于后期纯化。微波提取法是一种新型节能的辅助提取方法,热量可直接作用于分子的加热过程,虽提取速率增加,但绿原酸为热敏物质,极易造成绿原酸结构的破坏,用于绿原酸的提取具有一定的局限性。本研究采用酶解超声组合使用,具有条件温和,操作便捷,提取率高,提取物结构不被破坏等优点。

本文选用酶解超声联用提取蒲公英茎叶中绿原酸,运用单因素实验筛选提取因素及水平范围,最终确定纤维素酶添加量、酶解时间、超声时间和超声功率为主要影响因素,并进行响应面优化,从而研究酶解-超声组合提取蒲公英绿原酸的最佳工艺条件,以期对蒲公英的精深加工及综合利用提供有益的探究及参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

野生干蒲公英茎叶 海伦野泰食品加工有限公司;绿原酸标准品(纯度 98%,NO.17030620)、葡萄糖标准液(纯度 98%,NO.20170106) 中国食品药品鉴定研究院;无水乙醇、盐酸、氢氧化钠、正己烷、3,5-二硝基水杨酸、酒石酸钠、无水亚硝酸钠、羧甲基纤维素钠、乙酸、乙酸钠均为分析纯、硅藻土 天津市天力化学试剂有限公司;纤维素酶 固体,酶活:100 U/mg,和氏璧生物科技有限公司。

DHG-9123A 型电热恒温鼓风干燥箱 上海恒科科技有限公司;DEF-500 型摇摆式高速万能粉碎机 温岭市林大机械有限公司;HC-7P11-5 型架盘药物天平 上海精科科技有限公司;HH-4 水浴锅 金坛市天瑞仪器有限公司;FA2004B 型电子天平 上海越平科学仪器有限公司;KQ-500VDED 双频数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;TDL-4A 离心机 上海菲恰尔分析仪器有限公司;UV-5200 紫外可见分光光度计 上海元析仪器有限公司;pH 计测试仪 上海仪电科学仪器股份有限公司;85-2 恒温磁力搅拌器 金坛市城东新瑞仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 提取方法 精确称取过 80 目筛的蒲公英干粉 2.00 g,采用正己烷脱脂(热回流法,条件为料液比 1:10,脱脂温度 50 ℃,脱脂时间 0.5 h),脱脂样品置于 100 mL 的烧杯中,加入体积分数 70% 的乙醇水溶液(通过预实验确定乙醇浓度为 70%),添加纤维素酶,调节 pH^[14],调节温度,酶解一定时间后,沸水浴 5 min 灭酶,然后进行超声处理,旋转蒸发至约为提取液体积的 1/3,向溶液中加入 2 g 硅藻土(吸附大

分子蛋白质和糖),置于磁力搅拌器上搅拌 5 min,8000 r/min 离心 10 min,取清液,即得蒲公英绿原酸提取液。

1.2.2 单因素实验 按照 1.2.1 的实验步骤,通过预实验设定因素固定水平:乙醇浓度 70%、纤维素酶用量 0.3% (占干料的百分比)、酶解时间 1.0 h、pH4、酶解温度 50 ℃、超声功率 150 W、超声时间 1.5 h、料液比 1:20 (g/mL)。根据预实验结果,酶解温度、酶解 pH、料液比对绿原酸提取率影响不大,固不作为后续实验的考察因素。分别考察各单因素对绿原酸得率的影响:纤维素酶用量 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%;酶解时间 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h;超声功率 50、100、150、200、250 W;超声时间 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h。

1.2.3 响应面优化实验 选取纤维素酶添加量、纤维素酶解时间、超声功率、超声时间为主要影响因素,根据单因素实验确定的水平值,以绿原酸得率为考察指标,进行响应面优化,参阅文献方法进行实验设计^[15],因素水平表见表 1。

表 1 Box-Behnken 实验设计因素水平
Table 1 Factors and levels of
Box-Behnken experiment design

水平	因素			
	A 酶添加量 (%)	B 酶解时间 (h)	C 超声功率 (W)	D 超声时间 (h)
-1	0.2	0.5	100	1.0
0	0.3	1.0	150	1.5
1	0.4	1.5	200	2.0

1.3 检测方法

1.3.1 纤维素酶活性的测定 采用 3,5-二硝基水杨酸法^[16],测定纤维素酶样品活性,并测定提取条件下 70% 乙醇^[17]溶液中的活性。1 mg 酶每分钟水解生成 1 微克葡萄糖的量定义为一个活力单位 U。

1.3.1.1 标准曲线绘制 取 6 只 25 mL 比色管,分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 的葡萄糖于 6 支试管中,均用蒸馏水稀释至 1 mL,加 3,5-二硝基水杨酸显色剂 3 mL,在沸水浴中煮沸显色 10 min,冷却,定容至 25 mL。在 550 nm 处比色测其 OD 值。以光密度为纵坐标 A,以葡萄糖微克数为横坐标 m,绘出标准曲线。得到方程: A = 0.5867m - 0.0096。

1.3.1.2 样品测定 取 1 mL 酶液(0.05 mg/mL),沸水浴 5 min,冷却后加 3 mL 0.5% CMC 作为空白,取三支比色管,分别加入 0.5% CMC 3 mL,酶液 1 mL,混匀后与空白管一起于 50 ℃ 水浴锅中水浴 30 min,取出,立即于沸水浴中煮沸 10 min 使酶失活,冷却加入 3 mL 显色液,再沸水浴 10 min,冷却后加蒸馏水定容至 25 mL,混匀,于 550 nm 处测 OD 值。按照下式计算酶活力。

$$\text{酶活力计算公式 } X = \frac{N \cdot m}{t}$$

式中:X:酶活力(U/mg);N:试样溶液反应前的总稀释倍数;m:OD 值对应的葡萄糖量;t:反应时间。

1.3.2 绿原酸得率的测定

1.3.2.1 测定波长的选择 精密称取绿原酸 42.5 mg, 无水乙醇溶液溶解, 并定容于 1000 mL 的容量瓶中, 摇匀, 得到 42.5 mg/L 的绿原酸标准液。取适量绿原酸标准液于 500~200 nm 范围内扫描, 以无水乙醇溶液作参比, 得到绿原酸在 329 nm 处有最大吸收峰, 故选择于 329 nm 处测量绿原酸的吸光度^[18]。

准确称取绿原酸标准品 5 mg, 用无水乙醇溶解并稀释至标准液浓度分别为 2.00、4.00、8.00、12.00、16.00、20.00、24.00 $\mu\text{g/mL}$ 。以无水乙醇做参比液, 在 329 nm 处测定各标准品溶液的紫外吸光度 OD。以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制绿原酸标准曲线^[4]。得到方程: $A = 0.0566C - 0.0096$, $R^2 = 0.9986$ 。

1.3.2.2 样品的测定 取蒲公英绿原酸提取液, 用相应的提取浓度的乙醇溶液定容至 100 mL, 得到待测溶液。以无水乙醇做参比液, 用紫外分光光度计在 329 nm 处测定样品溶液的吸光度 OD。

绿原酸得率计算公式为^[4]:

$$Y(\%) = \frac{V \cdot X \cdot F}{m} \times 100$$

式中: Y: 绿原酸得率(%); V: 待测试样液的体积(mL); X: 待测试样液的浓度($\mu\text{g/mL}$); F: 稀释倍数; m: 蒲公英样品质量(μg)。

1.4 数据统计分析

实验操作重复三次取平均值, 计算标准误差并制图分析。选用 Design-Expert 8.0 软件进行响应面分析处理, 建立多元回归数学模型。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 纤维素酶添加量对绿原酸得率的影响 纤维素酶添加量对绿原酸得率的影响如图 1 所示。酶添加量为 0.1%~0.5%, 添加酶时各个浓度下酶的活性相同均为 99.996 U/mg, 70% 乙醇酶解后不同酶添加量下酶活性的平均值为 (99.985 ± 0.005) U/mg。由图 1 可以看出, 在纤维素酶添加量为 0.1%~0.3% 时, 绿原酸得率上升, 在 0.3%~0.5% 时绿原酸得率开始下降。由于纤维素酶破坏了植物细胞壁, 使包裹在细胞内的绿原酸释放出来^[17], 但随纤维素酶浓度的增加, 细胞壁破坏加剧, 胞内其他干扰性物质也随之释出, 可能通过影响提取过程而降低绿原酸的得率。

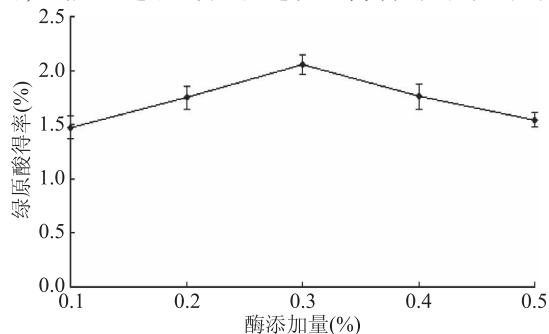


图1 纤维素酶添加量对绿原酸得率的影响

Fig.1 Effect of cellulase addition on the yield of chlorogenic acid

所以选择酶添加量 0.2%~0.4% (占干料的百分比) 为响应曲面实验参数范围。

2.1.2 酶解时间对绿原酸得率的影响 酶解时间对绿原酸得率的影响如图 2 所示。添加酶时酶的活性为 99.996 U/mg, 70% 乙醇酶解后不同酶解时间下酶活性的平均值为 (99.984 ± 0.008) U/mg。由图 2 可以看出, 蒲公英中绿原酸的得率呈先上升后下降的趋势, 在酶解时间为 1 h 时, 蒲公英绿原酸得率最高。分析原因是, 酶解时间不足, 绿原酸得不到有效释出; 但酶解时间延长, 酶活性得到充分利用, 酶促反应完全, 时间过长可能会引起绿原酸的氧化分解^[19], 绿原酸得率反而下降。酶解时间的变化, 对绿原酸的得率有较大的影响。因此, 选取酶解时间 0.5~1.5 h 为响应曲面实验参数范围。

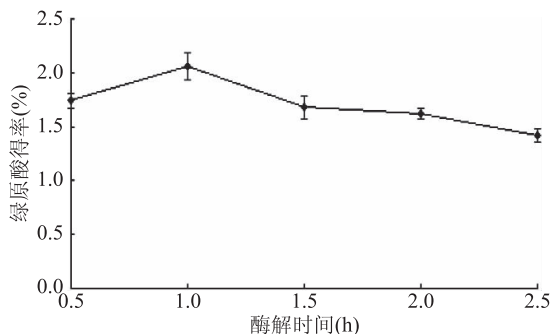


图2 酶解时间对绿原酸得率的影响

Fig.2 Effect of enzymolysis time on the yield of chlorogenic acid

2.1.3 超声功率对绿原酸得率的影响 超声功率对绿原酸得率的影响如图 3 所示, 可以看出, 当功率 50~150 W, 绿原酸得率增加; 在 150~250 W 时, 绿原酸得率逐渐下降。这是因为超声功率越大, 质点的振动速度越大, 物料内部的传质更为剧烈^[20-21], 而使细胞壁遭到破坏^[22], 有效成分容易渗出, 从而使得率明显提高; 但随超声功率的增大, 绿原酸得率降低。所以选取适宜的超声功率范围为 100~200 W 为响应曲面实验参数范围。

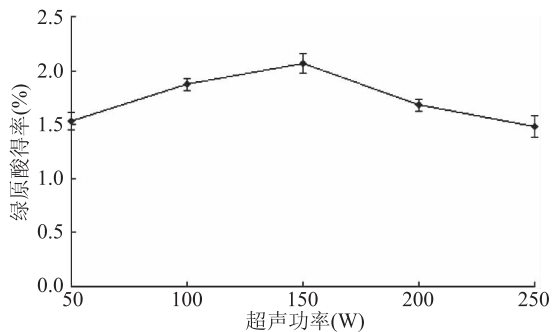


图3 超声功率对绿原酸得率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic power on the yield of chlorogenic acid

2.1.4 超声时间对绿原酸得率的影响 超声时间对绿原酸得率的影响如图 4 所示, 可以看出, 绿原酸得率随超声时间延长, 呈现先上升后又有所下降的趋势, 这是因为超声波对植物细胞壁有破坏作用, 随超声时间增加, 对细胞壁的破坏程度加大, 绿原酸类物

质易于溶出^[23];随着超声时间的继续延长,细胞壁被完全破坏,细胞内其他干扰性物质溶出,可能通过影响提取过程而使绿原酸得率下降。所以选取适宜超声时间范围 1~2 h 为响应曲面实验参数范围。

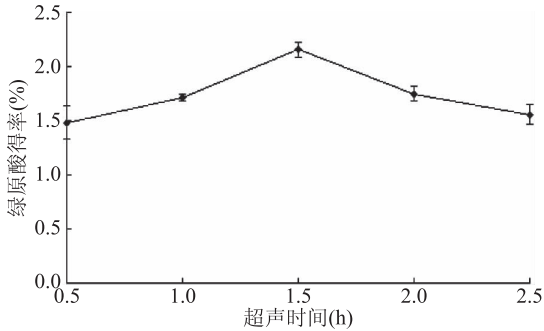


图 4 超声时间对绿原酸得率的影响
Fig.4 Effect of ultrasonic time on the yield of chlorogenic acid

2.2 响应面实验

2.2.1 响应面实验结果 在单因素实验结果的基础上,根据 Box-Behnken 实验设计因素水平(表 1),进行了四因素三水平共 29 个实验点的绿原酸提取实验,实验安排及结果见表 2。

利用 Design-Expert 8.0 软件对表 2 中绿原酸得率数据进行回归拟合分析,得到回归方程: $Y = 2.09 - 0.59A - 0.073B + 0.081C + 0.082D - 0.22AB + 0.095AC - 0.032AD + 0.045BC + 0.020BD + 0.087CD - 0.11A^2 - 0.16B^2 - 0.19C^2 - 0.17D^2$

根据表 3 可以看出,实验模型决定系数 $R^2 = 0.9203$,说明绿原酸得率的结果与模型预测结果有着良好的一致性,实验模型调整决定系数 $R^2_{adj} = 0.8406$,实验结果有 84.06% 受实验因素的影响,因此,结果可靠,模型能充分拟合实验数据。模型的 p 值 < 0.0001 (远超过 $p < 0.01$ 的标准),故差异极显著;失拟项为 0.1134, $p > 0.05$,不显著,说明回归模型拟合程度较好,由表 3 可知,一次项的酶解时间 B、超声功率 C 和超声时间 D 对实验结果影响极显著 ($p < 0.01$),酶添加量 A 对实验结果影响显著 ($p < 0.05$);二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对实验结果影响极显著 ($p < 0.01$);交互项 AB 对实验结果影响极显著 ($p < 0.01$),AC、CD 对实验结果影响显著 ($p < 0.05$),AD、BC、BD 对实验结果影响不显著。说明二次项响应值对实验结果影响很大,影响程度主次顺序为:超声时间 > 超声功率 > 酶解时间 > 酶添加量。

2.2.2 响应面交互作用分析 软件分析得到各因素对应的响应面和等高线图,见图 5~图 10。响应面图是响应值对各实验因素所构成的三维空间曲面图,可直观的反应各因素的交互作用^[24-25]。由图 5 和表 3 可知,交互作用项纤维素酶添加量和酶解时间的等高线图为椭圆形,且 $p < 0.0001$,说明纤维素酶添加量和纤维素酶酶解时间交互作用极显著。由图 6、图 10 和表 3 可知,交互作用项纤维素酶添加量和超声功率的等高线图,超声功率和超声时间的等高线图均为椭圆形,且 $p < 0.05$,说明两组交互作用项的交互作

表 2 Box-Behnken 实验设计及结果
Table 2 Results of response surface test

实验号	A	B	C	D	Y:绿原酸得率 (%)
1	0	0	0	0	2.12
2	0	-1	0	-1	1.77
3	0	0	-1	-1	1.67
4	-1	0	1	0	1.97
5	0	0	-1	1	1.69
6	1	0	-1	0	1.40
7	0	1	1	0	1.80
8	1	0	1	0	1.87
9	1	1	0	0	1.47
10	1	0	0	1	1.87
11	-1	-1	0	0	1.72
12	0	0	0	0	2.01
13	0	0	1	-1	1.59
14	0	0	0	0	2.10
15	-1	0	-1	0	1.88
16	0	1	-1	0	1.60
17	1	0	0	-1	1.76
18	0	-1	-1	0	1.80
19	-1	0	0	-1	1.70
20	0	-1	1	0	1.82
21	0	1	0	-1	1.59
22	0	0	0	0	2.12
23	0	0	0	0	2.10
24	-1	1	0	0	1.96
25	0	1	0	1	1.75
26	1	-1	0	0	2.09
27	0	-1	0	1	1.85
28	-1	0	0	1	1.94
29	0	0	1	1	1.96

用均显著。由图 7、图 8、图 9 和表 3 可知,交互作用项的等高线图趋近圆形,且 $p > 0.05$,说明交互作用效果不显著。

2.3 验证实验

利用软件对工艺参数进行优化,最佳提取条件:酶添加量为 0.29%,酶解时长为 0.95 h,超声功率 162.51 W,超声时间 1.65 h,在此条件下绿原酸的得率最高,达到了 2.12%。但为了验证模型的有效性,并结合实际情况,将最佳工艺条件调整为:纤维素酶添加量 0.3% (占干料的百分比),酶解时间为 1.0 h,超声功率为 163 W,超声时间为 1.7 h,在此工艺条件下进行三次验证性实验并取其平均值,最终绿原酸得率为 $2.14\% \pm 0.02\%$,与模型预测值 (2.12%) 相近。

通过 Box-Behnken 实验设计建立了提取蒲公英中绿原酸的优化回归方程模型,经过分析该模型拟合度良好。与传统的提取方法相比,提取率明显的提高,李立顺^[26]采用传统的超声波方法提取蒲公英

表 3 回归方程的方差分析
Table 3 Variance analysis of regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方和	F 值	p 值	显著性
模型	0.97	14	0.070	11.55	<0.0001	**
A	0.042	1	0.042	6.97	0.0194	*
B	0.065	1	0.065	10.71	0.0056	**
C	0.078	1	0.078	13.01	0.0029	**
D	0.080	1	0.080	13.28	0.0027	**
AB	0.18	1	0.18	30.68	<0.0001	**
AC	0.036	1	0.036	5.99	0.0282	*
AD	4.225E-003	1	4.225E-003	0.70	0.4165	
BC	8.100E-003	1	8.100E-003	1.34	0.2657	
BD	1.600E-003	1	1.600E-003	0.27	0.6144	
CD	0.031	1	0.031	5.08	0.0407	*
A ²	0.083	1	0.083	13.72	0.0024	**
B ²	0.17	1	0.17	29.01	<0.0001	**
C ²	0.22	1	0.22	37.00	<0.0001	**
D ²	0.20	1	0.20	32.65	<0.0001	**
残差	0.084	14	6.027E-003			
失拟误差	0.076	10	7.597E-003	3.62	0.1134	
纯误差	8.400E-003	4	2.100E-003			
总离差	1.06	28				
模型决定系数				$R^2 = 0.9203$		
模型调整决定系数				$R^2_{adj} = 0.8406$		

注：**:表示极显著($p < 0.01$);*:表示显著($p < 0.05$)。

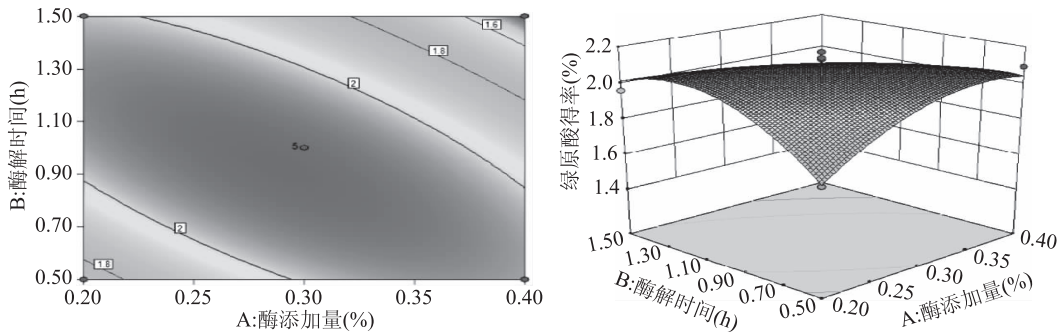


图 5 纤维素酶添加量和酶解时间的交互作用对绿原酸得率的影响

Fig.5 Effect of the interaction of cellulase addition and enzymolysis time on the yield of chlorogenic acid

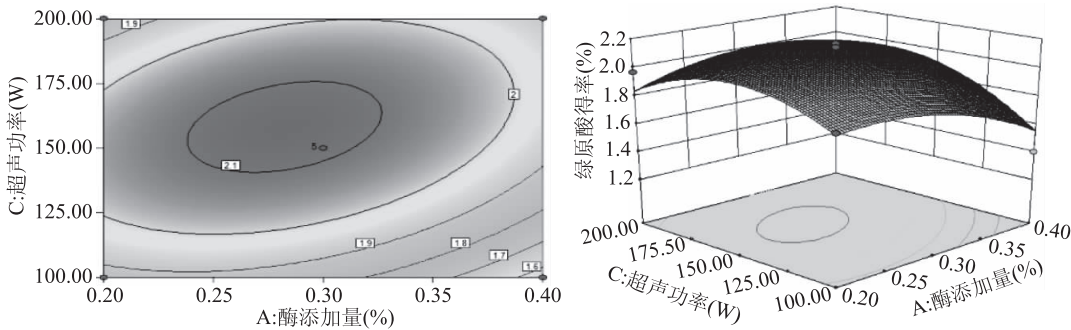


图 6 纤维素酶添加量和超声功率的交互作用对绿原酸得率的影响

Fig.6 Effect of the interaction of cellulase addition and ultrasonic power on the yield of chlorogenic acid

中绿原酸,单纯的使用超声波方法,细胞壁破坏不完全,绿原酸不能大部分释放出,使其得率仅为0.25%,相比之下,本实验结果增加了1.89%。倪悦^[27]采用酶法提取蒲公英中绿原酸,酶解时间过长,

在提取过程中容易导致酶失活性,而影响绿原酸的析出,其得率为0.53%,相比之下本实验结果增加了1.61%。本文采用酶解和超声联用的方法,先让酶作用后,细胞壁上的纤维素有部分降解,甚至有些细胞

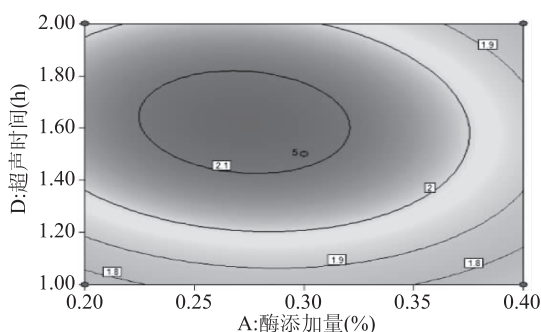


图7 纤维素酶添加量和超声时间的交互作用对绿原酸得率的影响

Fig.7 Effect of the interaction of cellulase addition and ultrasound time on the yield of chlorogenic acid

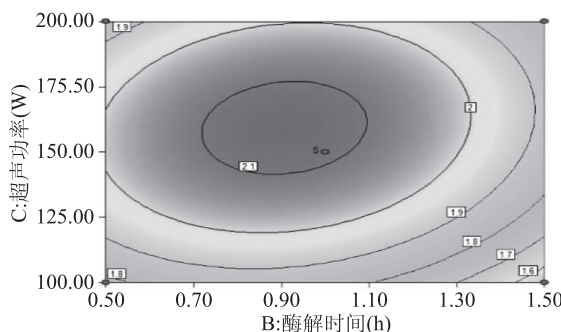


图8 酶解时间和超声功率的交互作用对绿原酸得率的影响

Fig.8 Effect of interaction enzymolysis time and ultrasonic power on the yield of chlorogenic acid

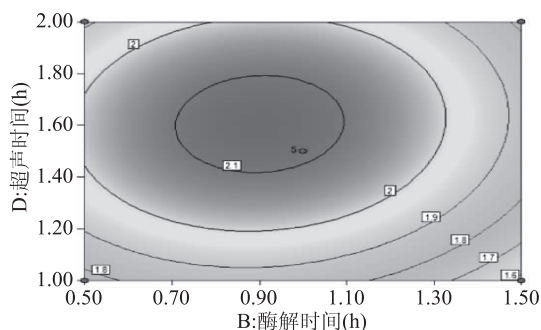


图9 酶解时间和超声时间的交互作用对绿原酸得率的影响

Fig.9 Effect of enzymatic hydrolysis time and ultrasound time on the yield of chlorogenic acid

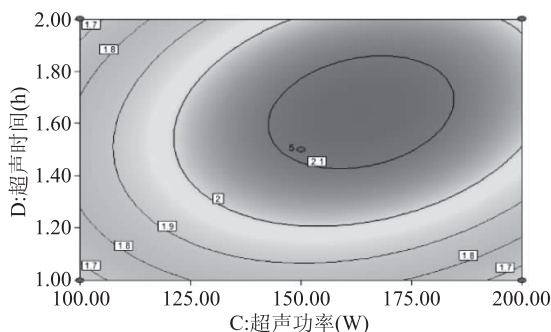


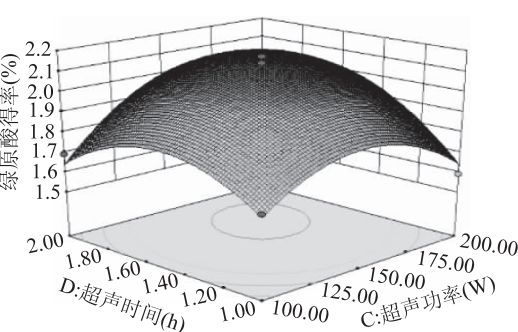
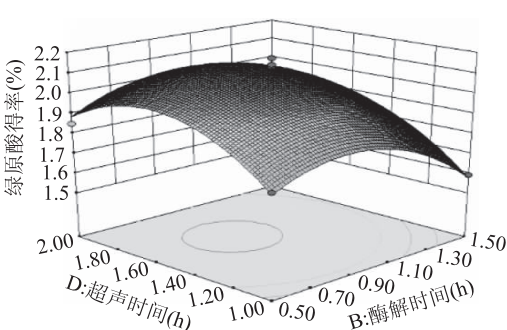
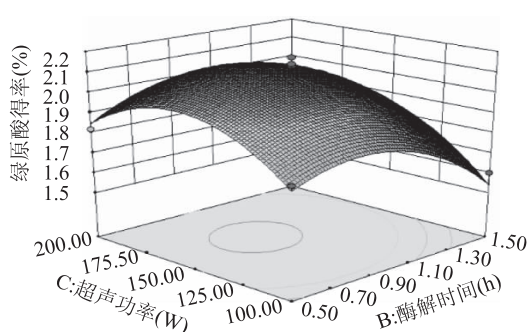
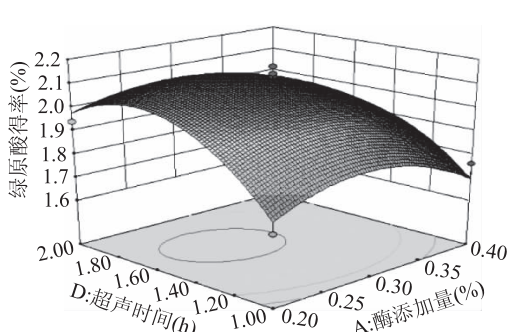
图10 超声功率和超声时间的交互作用对绿原酸得率的影响

Fig.10 Effect of ultrasonic power and ultrasonic time on the yield of chlorogenic acid

会破裂,有利于超声波的进一步分解,促进绿原酸的释放,而先用超声波时,细胞壁由于纤维素的保护作用,超声波的破碎作用有限,故选用先酶解后超声波提取方法。

3 结论

本文采用酶解-超声组合方法提取蒲公英中绿



原酸。通过单因素实验及响应面优化,获得蒲公英中绿原酸提取的最优工艺条件为:乙醇浓度70%,纤维素加酶量0.3%,酶解时间为1.0h,酶解pH为4,酶解温度50℃,超声功率163W,超声时间1.7h,料液比1:20g/mL,在此条件下,绿原酸得率为2.14%。研究结果表明:酶解超声组合方法较适合提取蒲公英

[12] 林雅敏, 饶建平, 张远志, 等. 咖啡生豆醇提绿原酸工艺研究[J]. 漳州职业技术学院学报, 2016, 18(3): 22-28.

[13] 刘振春, 钱月. 响应面优化超声波微波辅助提取葵花籽绿原酸工艺[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2016, 44(10): 157-164.

[14] 尹青, 张华. 超声波法提取蒲公英中的绿原酸[J]. 食品研究与开发, 2009(5): 23-27.

[15] 饶建平, 王文成, 李国辉, 等. 响应面优化咖啡豆水提绿原酸工艺研究[J]. 食品工业科技, 2015(22): 298-301.

[16] 杨传强, 龙德树. 纤维素酶的活性测定及其影响因素[J]. 天津纺织工学院学报, 1999(4): 31-35.

[17] 石奇.金银花绿原酸的酶解工艺及抗氧化活性研究[J].应用化工,2015,44(9):1643-1646.

[18] 林春梅,周鸣谦.正交实验优化纤维素酶法提取牛蒡根皮中绿原酸工艺[J].食品科学,2013(6)64-67.

[19]胡清平,徐建国,李琦,等.酶法提取元宝枫叶绿原酸的新工艺研究[J].食品科学,2006(7):161-162.

[20] 宣寒, 谢发之. 响应面法优化金银花中绿原酸的超声提取工艺[J]. 应用化工, 2010, 39(10): 1475-1501.

[21] 阳元娥, 谭伟. 超声提取葵粕绿原酸研究[J]. 声学技术, 2008(1): 53-57.

[22]李延辉,塔长青,刘超,等.葵花籽仁中绿原酸的提取工艺[J].食品研究与开发,2014(23):42-46.

[23] 吴燕芬, 刘常坤, 李晶. 超声波法提取鱼腥草中的绿原酸[J]. 化学与生物工程, 2004(4): 19-20.

[24] Cui T, Wang C, Shan C, et al. Optimization of the Extraction Technology of Chlorogenic Acid in Honeysuckle Response Surface Method[J]. Oalib Journal, 2014, 01 (6) :1-9.

[25] Jabbar S, Abid M, Wu T, et al. Ultrasound – Assisted Extraction of Bioactive Compounds and Antioxidants from Carrot Pomace: A Response Surface Approach [J]. Journal of Food Processing & Preservation, 2015, 39(6): 1878–1888.

[26] 李立顺, 时维静, 方婷, 等. 多种提取方法比较野生与栽培蒲公英绿原酸含量[J]. 中兽医医药杂志, 2007(6): 24-26.

[27]倪悦,徐达,孙强,等.蒲公英绿原酸的酶法提取及其在卷烟中的应用[J].安徽农业科学,2016,(17):107-110.

[1] 谢沈阳, 杨晓源, 丁章贵, 等. 蒲公英的化学成份及其药理作用[J]. 天然产物研究与开发, 2012(S1): 141-151.

[2]熊富良,吴珊珊,李心愿,等.蒲公英抗肿瘤活性的研究进展[J].中国药师,2016,19(7):1363-1366.

[3] 黄小梅, 邓祥, 吴狄, 等. 金银花中绿原酸的超声波提取工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2015(2): 41-44.

[4] Kasai H, Fukada S, Yamaizumi Z, et al. Action of chlorogenic acid in vegetables and fruits as an inhibitor of 8-hydroxydeoxyguanosine formation *in vitro* and in a rat carcinogenesis model[J]. Food & Chem Toxicol, 2000, 38(5): 467-471.

[5]陈娜,王冬雪,王雪娟,等.蒲公英中绿原酸提取及抑菌活性研究[J].海峡药学,2016(12):16-19.

[6]王辉,田呈瑞,马守磊,等.绿原酸的研究进展[J].食品工业科技,2009(5):341-345.

[7] Ohrishi M, Morishita H, Iwahashi H, et al. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis [J]. *phytochemistry*, 1994, 36(3): 576-583.

[8] Kono Y, Kobayashi K, Tagawa S, et al. Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1335 (3) : 335–346.

[9] Shimoda H, Seki E, Aitani M. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice [J]. BMC Complement Altern Med, 2006, 17:9.

[10] Jadwiga WJ, Anna K. Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation – influence on the colour of strawberry and chokeberry juices [J]. *Z Lebensm Unters Forsch*, 1996, 203: 38–42.

[11] 潘雪峰,李明.山银花叶中绿原酸水提工艺研究[J].中国

(上接第 159 页)

effects on textural properties and starch degradation [J]. Food Chemistry, 2004, 86:189-193.

[16] 赵凯, 许鹏举, 谷广烨. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 534-536.

[17]徐雪娣,徐志祥,杜方岭,等.适合糖尿病患者食用的高粱馒头配方的研究[J].中国食物与营养,2017,23(7):29-33.

[18]汪磊,李飞,朱波,等.莜麦馒头配方研究[J].中国粮油学报,2013,28(1):27-30.

[19]周灿,周鹏程,徐同成,等.马铃薯鲜薯馒头的研制[J].食品科技,2017,42(4):134-138.

[20]徐雪娣,徐志祥,杜方岭,等.适合糖尿病患者食用的高粱馒头改良剂的研究[J].食品科技,2017,42(6):251-255.

[21] 李昌文, 闫敏敏. 加水量对冷冻面团馒头品质影响的研

究[J].粮食加工,2009,34(04):71-73.

[22] 温纪平, 王大一, 卞科. 响应面法优化酵母老面馒头生产工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(03): 118-123.

[23] 衣杰荣,姚惠源.低血糖指数食品的研究进展[J].粮食与饲料工业,20014(13):41-44.

[24] Li H, Long Q, Shao C, et al. Effect of short-term low-protein diet supplemented with keto acids on hyperphosphatemia in maintenance hemodialysis patients [J]. Blood purification, 2010, 31(1-3):33-40.

[25] 刘一鸣,徐同成,邱斌,等.糖尿病肾病患者饮食治疗研究进展[J].中国食物与营养,2014,20(11):87-89.

[26] 关倩倩, 宗爱珍, 祁瑜婷, 等. 基于主成分分析的糖尿病专用山药品种筛选[J]. 食品工业科技, 39(4): 38-43.