

响应面优化金柑多酚的提取工艺

杨聪颖¹, 骆亚丽¹, 郭时印², 肖航², 饶力群¹, 唐忠海²

(1. 湖南农业大学生物科学技术学院, 湖南长沙 410128)(2. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128)

摘要: 以金柑为实验材料, 对金柑中多酚提取的最佳工艺条件进行研究。在单因素(提取时间、提取液浓度和液料比等)实验考察的基础上, 以多酚含量为响应值, 通过响应面法对金柑中游离态多酚以及结合态多酚的提取条件进行优化。实验结果表明, 所得到的金柑游离态多酚及结合态多酚的工艺回归模型显著, 拟合性好, 均可用于预测游离态多酚以及结合态多酚含量。优化后的游离态多酚提取条件如下: 丙酮浓度 77%, 液料比 33 mL/g, 提取时间 48 min, 此条件下的游离态多酚平均含量为 11.03 mg/g DW; 优化后的结合态多酚提取条件为: NaOH 浓度 6.5 mol/L, 液料比 10 mL/g, 提取时间 18 h, 此条件下的结合态多酚平均含量为 1.79 mg/g DW。最优条件下的游离态多酚以及结合态多酚含量与模型预测值相符, 表明优化的金柑多酚提取工艺合理。

关键词: 金柑; 多酚; 游离态多酚; 结合态多酚; 响应面

文章编号: 1673-9078(2018)05-174-181

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.05.025

Optimization of Extraction Process of Polyphenols from Kumquat by Response Surface Methodology

YANG Cong-ying¹, LUO Ya-li¹, GUO Shi-yin², XIAO Hang², RAO Li-qun¹, TANG Zhong-hai²

(1. College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

(2. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: The optimum extraction process of polyphenols from Kumquat was investigated. Based on single factor experiments (extract time, extract concentration, ratio of liquid to material, etc.), the extraction conditions of free polyphenols and bound polyphenols in kumquat were optimized by response surface methodology using polyphenol content as response value. The results showed that the established regression models of the free polyphenols and bound polyphenols of kumquat were significant and it could be used to predict the yield of free polyphenols and bound polyphenols. The optimum extraction conditions of free polyphenols were as follows: the acetone concentration of 77%, the liquid to material ratio of 33 mL/g; the extraction time of 48 min. The average free polyphenol content under this condition was 11.03 mg/g DW. The optimum extraction conditions of bound polyphenols were as follows: the NaOH concentration of 6.5 mol/L; the liquid to material ratio of 10 mL/g; the extraction time was 18 h. Under these optimized conditions, the yield of bound polyphenols reached 1.79 mg/g DW. The content of free polyphenols and bound polyphenols under optimal conditions were well matched with the model predicted yield, indicating that the optimized extraction process of free and bound polyphenols from kumquat was reasonable.

Key words: kumquat; polyphenol; free polyphenol; bound polyphenol; response surface methodology

金柑, 又名金桔、金枣, 属芸香科金柑属植物。其果实较小, 形状呈椭圆^[1], 果皮可与果肉可以一起食用, 主要用于鲜食和作为蜜饯的原料。金柑有良好的抗氧化作用, 同时还有抑菌、抗炎等活性。干金桔也常作为中药材, 具有消食和化痰等功效, 用于治疗

呼吸道炎症^[2]。

多酚是由植物产生的一类次生代谢产物, 在植物体内通常跟抵抗紫外辐射以及病原体的入侵等功能相关, 因其化学结构的多样性和复杂性, 具有丰富的生物活性。大量研究表明, 多酚具有抗菌、降脂、降血糖、降血脂和抗衰老等多种生理和药理活性^[3-5]。长期摄入富含植物多酚的膳食能够对癌症、心血管疾病、糖尿病、骨质疏松症和神经退行性疾病起到一定的预防作用^[6-8]。植物多酚根据其化学结构可分为酚酸类、黄酮类、木脂素类和芪类等。根据其存在形式分为游离态和结合态多酚, 游离态多酚指游离于细胞质中的多酚, 其游离形态表现出了良好的溶解性, 易溶

收稿日期: 2017-12-10

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31671858); 湖南省教育厅青年基金项目(14B088)

作者简介: 杨聪颖(1993-), 男, 硕士, 研究方向: 天然产物的综合开发利用

通讯作者: 唐忠海(1979-), 男, 副教授, 研究方向: 天然产物的综合开发利用

于水或有机溶剂；而结合态多酚指与细胞壁中纤维素等结合而不能直接用溶剂萃取得到，需经过酶解或强酸强碱溶液消化后才能得到的多酚^[9]。植物中多酚的总含量，即总酚含量。以往大多数测定多酚含量的方法是采用简单溶剂直接萃取后进行分析。此类方法只能测定游离态多酚的含量，对于结合态多酚则无法测定。因此，测定结果往往低于其实际含量，导致总酚含量偏低^[10,11]。

在单因素实验的基础上，选取金柑为原料，通过响应面设计对其游离态多酚以及结合态多酚的提取工艺进行进一步优化，以确定最佳提取工艺条件，为金柑的综合开发与利用提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

材料：金柑，为市售湖南浏阳产的成熟金柑。

试剂：2N 福林酚试剂、没食子酸标准品购自美国 sigma 公司；甲醇、丙酮、无水乙醇、乙酸乙酯、无水碳酸钠和氢氧化钠等（分析纯）试剂均购自广州化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

KQ-500DE 数控型超声波清洗器，昆山超声仪器有限公司；FD-1PF 冷冻干燥机，北京德天佑科技发展有限公司；R204B3 旋转蒸发器，上海申顺生物科技有限公司；ML204 电子天平，上海梅特勒-托利多仪器有限公司；DK-S24 恒温水浴锅，上海森信实验仪器有限公司；EnSpire 多功能酶标仪，珀金埃尔默仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 金柑多酚提取

1.3.1.1 游离酚的提取

金柑经切片后，真空冷冻干燥处理，然后称重、粉碎，过 60 目筛后，于 -20 °C 保存；取 0.10 g 金柑冻干粉与一定体积分数的有机溶液按一定液料比混合，在一定超声功率下提取一定时间。将混合物离心(5000 r/min, 10 min)后取上清液，将提取一定次数的上清液转入 25 mL 容量瓶并定容，用于测定样品中多酚含量。残渣冷冻干燥、称重并保存于 -20 °C 用于后续提取结合酚。

1.3.1.2 结合酚的提取

称取 1.3.1.1 中提取游离酚后得到的残渣 0.10 g，与一定浓度的 NaOH 溶液按一定液料比混合，在室温

下提取一定时间。然后用 6 mol/L HCl 将溶液 pH 调节到 2，再用等体积的乙酸乙酯萃取 3 次，然后合并乙酸乙酯相并浓缩，定容于 25 mL 容量瓶^[12]，用于样品多酚含量测定。

1.3.2 单因素试验

设置影响因素为提取溶剂（乙醇、甲醇、丙酮）、提取次数（1、2、3 次）、超声功率（100、150、200、250、300 W 次）、提取时间（10、20、30、40、50、60 min）、丙酮浓度（50、60、70、80、90、100%）、液料比（10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1 mL/mg），分别测定各因素不同水平对金柑游离酚含量的影响。除非特殊说明，否则所有提取条件固定为液料比 25:1、提取时间 30 min、提取次数 2 次、超声功率 200 W、溶剂 80% 丙酮。

设置影响因素为液料比（5:1、10:1、15:1、20:1、25:1 mL/g）、NaOH 浓度（2、4、6、8、10 mol/L）、提取时间（10、12、14、16、18、20 h），分别测定各因素不同水平对金柑结合酚含量的影响。除非特殊说明，否则所有提取条件固定为液料比 10:1 mL/g、NaOH 浓度 6 mol/L、提取时间 16 h。

1.3.3 金柑多酚含量测定

参照 Zou 等^[13]方法，并作适当修改。将 25 μ L 蒸馏水、样品稀释液以及没食子酸标准溶液（20、40、60、80、100 μ g/mL）分别加入 96 孔板中，再在各孔中加入 125 μ L 0.1 N 福林酚试剂，室温下 10 min 后，加入 125 μ L 7.5% Na₂CO₃ 溶液并稍微震荡，避光反应 1 h。通过多功能酶标仪测定各样品在 765 nm 处的吸光值。计算得到没食子酸标准曲线为： $y=8.5767x+0.0456(R^2=0.9969)$ ，用于多酚含量测定。其浓度在 20~100 μ g/mL 范围内呈现良好的线性关系。多酚含量通过每克金柑干重所含有的没食子酸当量 (mg GAE/g DW) 来表示。

1.3.4 响应面优化金柑多酚提取工艺

在单因素试验基础上，根据 Box-Behnken 中心组合设计原理，以多酚含量为响应值，分别选取对游离酚和结合酚含量影响较优的因素和水平，通过响应面分析法对工艺条件进行优化^[14,15]。

1.4 数据分析

采用 Excel 2003 对实验数据进行整理后，采用 SPSS 17.0 软件对单因素试验数据进行方差分析以及差异显著性分析， $p<0.05$ 表示差异显著。采用 Expert-Design 8.0.6 统计软件进行响应面优化分析。

2 结果与分析

2.1 金柑游离酚单因素实验

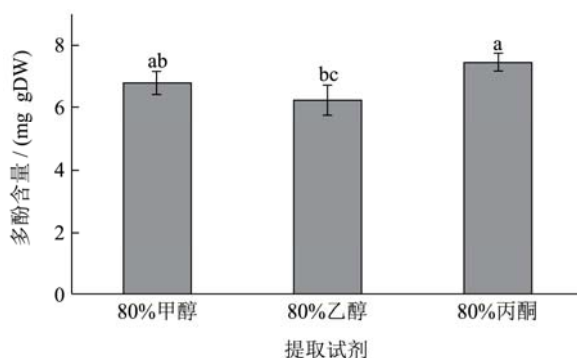


图1 提取试剂对金柑游离酚含量的影响

Fig.1 Effects of extraction solvent on the yield of free polyphenols in kumquat

注: 不同小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$), 下同。

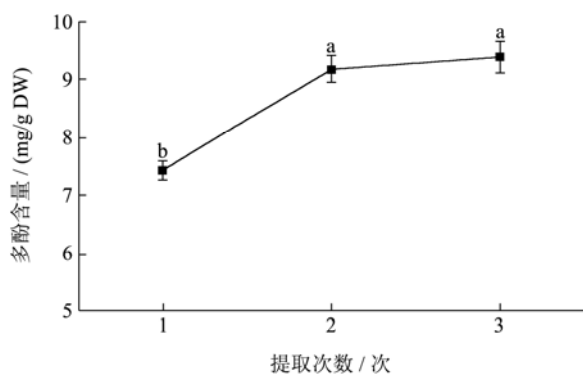


图2 提取次数对金柑游离酚含量的影响

Fig.2 Effects of extraction times on the yield of free polyphenols in kumquat

以游离酚含量为指标, 比较不同提取试剂的效果 (图1), 实验结果表明不同提取溶剂类型对游离酚含量有一定影响。Su 等^[16]详细地比较了不同提取剂对游离酚含量, 类型, 以及活性的影响, 发现丙酮提取效果最佳。因此后续实验均采用丙酮溶液作为提取试剂。

由图2可知, 当提取次数大于2次之后, 游离酚含量趋于平稳, 考虑到试剂及时间等的消耗, 固定提取次数为2次。

如图3所示, 随超声功率的增加, 游离酚含量呈现上升趋势, 当超声功率达到200 W时, 游离酚含量最高, 之后呈现平稳趋势。考虑到超声功率过高, 可能会破坏结合多酚的结构, 将结合多酚也释放出来。因此, 将超声功率固定为200 W, 尽量提高多酚的提取量; 由图4可知, 0~40 min, 随提取时间增加, 游离酚含量呈现上升趋势。40 min之后, 含量有所下降, 可能是因为超声时间太长, 金柑游离酚中部分成分氧化降解或被破坏, 导致多酚含量降低^[17]。因此, 选择超声时间为30、40、50 min进行下一步优化; 由图5

可知, 当丙酮浓度为50~80%, 游离酚含量随丙酮浓度增加而上升, 当丙酮浓度大于80%时, 游离酚含量反而下降, 这可能是由于溶剂体积分数过高时小极性脂溶性物质增多, 游离酚含量下降^[18], 因此选取丙酮浓度为70%、80%和90%三个水平进行响应面优化试验; 如图6所示, 随液料比增加, 游离酚含量逐渐上升, 当液料比大于30:1 mL/g后, 游离酚含量趋于平稳。因此, 选取液料比25:1、30:1、35:1 mL/g进行下一步优化。

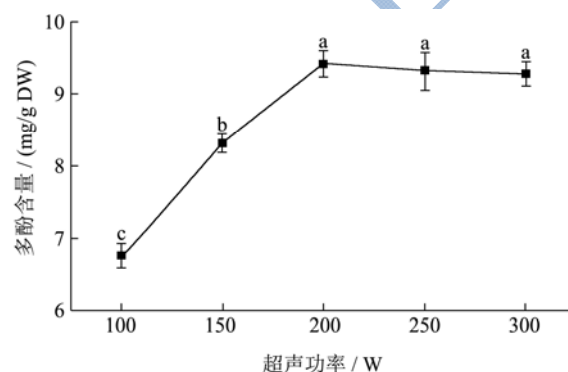


图3 超声功率对金柑游离酚含量的影响

Fig.3 Effects of ultrasonic power on the yield of free polyphenols in kumquat

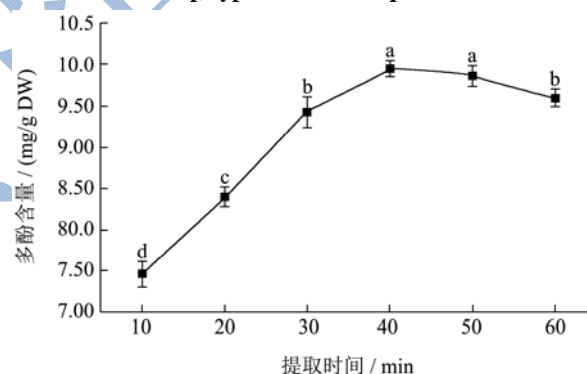


图4 提取时间对金柑游离酚含量的影响

Fig.4 Effects of extraction time on the yield of free polyphenols in kumquat

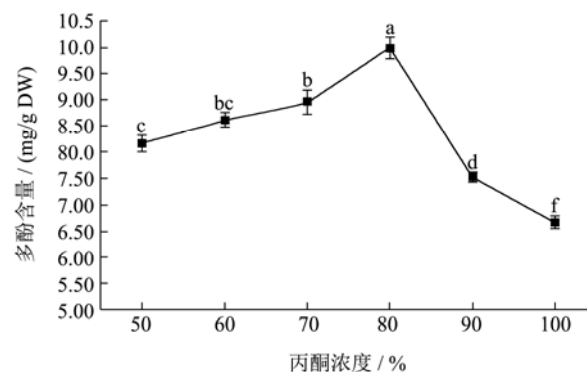


图5 丙酮浓度对金柑游离酚含量的影响

Fig.5 Effects of acetone concentration on the yield of free polyphenols in kumquat

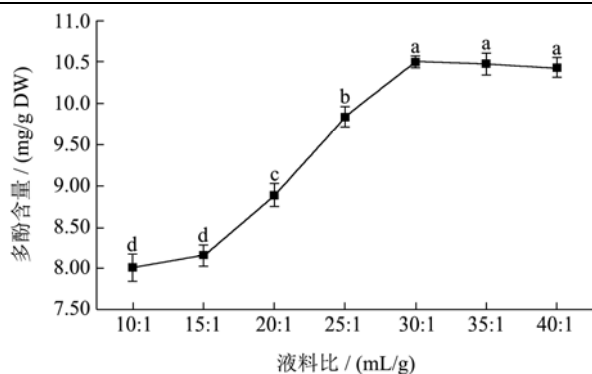


图6 液料比对金柑游离酚含量的影响

Fig.6 Effects of the ratio of liquid to material on the yield of free polyphenols in kumquat

2.2 金柑游离酚响应面法优化

2.2.1 响应面实验设计与结果

响应面分析法,是一种实验条件寻优的方法,适宜于解决非线性数据处理的相关问题,包含了试验设计、建模、模型合适性检验和寻求最佳组合条件等众多试验与统计技术^[19];它通过实验数据建立拟合多项式方程,运用图形技术将这种函数关系显示出来,并能找出预测的响应最优值以及相应的实验条件。其试验次数少、精确度高的特点使工作量大量减少,节省了人力资源、物质资源,且在一定程度上缩短了实验周期^[20]。在单因素的基础上,固定提取溶剂为丙酮、提取次数为2次、超声功率为200 W,以提取时间(A)、丙酮浓度(B)、液料比(C)为考察因素,以游离酚含量(Y)为响应值,根据 Box-Behnken 组合实验设计原理,设计3因素3水平响应面实验,实验因素和水平见表1,实验结果如表2所示。

表1 金柑游离酚响应面设计水平和编码

Table 1 Levels and code of variables in RSM of free polyphenols

因素	水平		
	-1	0	1
a 提取时间/h	14	16	18
b NaOH 浓度/(mol/L)	4	6	8
c 液料比/(mL/g)	5:1	10:1	15:1

表3 金柑游离酚回归模型与方差分析

Table 3 The regression model and variance analysis of free polyphenols in kumquat

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	20.6845	9	2.2983	61.9650	<0.0001	**
A 提取时间	0.3121	1	0.3121	8.4133	0.0230	*
B 丙酮浓度	6.4441	1	6.4441	173.7409	<0.0001	**
C 液料比	1.1401	1	1.1401	30.7374	0.0009	**

表2 金柑游离酚响应面分析实验设计及实验结果

Table 2 RSM design and results of free polyphenols

实验号	X ₁	X ₂	X ₃	Y/(mg/g DW)
1	-1	0	-1	9.87
2	0	0	0	10.91
3	0	1	-1	7.64
4	0	-1	1	10.05
5	0	0	0	10.92
6	1	0	-1	9.92
7	-1	0	1	10.28
8	1	1	0	8.18
9	1	-1	0	10.32
10	0	0	0	10.55
11	0	-1	-1	9.01
12	-1	-1	0	9.72
13	0	0	0	10.88
14	0	1	1	8.32
15	0	0	0	10.78
16	1	0	1	10.81
17	-1	1	0	7.78

2.2.2 模型、方差及响应面分析

采用 Design Expert 8.0.6 版本软件对所得数据进行分析,可得到金柑游离酚含量的回归模型:

$$Y(\text{mg/g DW}) = 10.81 + 0.20A - 0.90B + 0.38C - 0.050AB + 0.12AC - 0.090BC - 0.17A^2 - 1.64B^2 - 0.42C^2$$

由表3可知,方程的显著性分析得 $F=61.9650$,相应的概率值 $p<0.01$,表明该方程模型极显著; $R^2=0.9876$, $R^2_{\text{adj}}=0.9717$,说明该模型与实验数据拟合程度较好,实验误差小,可以用于不同变量条件下的响应值预测。方差分析结果显示,因素 B、C、 B^2 、 C^2 对金柑游离酚含量影响极显著($p<0.01$),因素 A 对金柑游离酚含量影响显著($p<0.05$),说明各因素对金柑游离酚含量的影响不是简单的线性关系。各因素对响应值显著性的排序依次是 $B>C>A$ 。AB、AC、BC 的 p 值均大于 0.05,说明 A 提取时间、B 丙酮浓度、C 液料比两两之间交互作用不显著。

接上页

AB	0.0100	1	0.0100	0.2696	0.6196	
AC	0.0576	1	0.0576	1.5530	0.2528	
BC	0.0324	1	0.0324	0.8736	0.3811	
A ²	0.1238	1	0.1238	3.3389	0.1104	
B ²	11.2763	1	11.2763	304.0266	< 0.0001	**
C ²	0.7304	1	0.7304	19.6929	0.0030	**
残差	0.2596	7	0.0371			
失拟	0.1642	3	0.0547	2.2923	0.2200	
误差	0.0955	4	0.0239			
总和	20.9442	16				
R ² =0.9876			R _{Adj} ² =0.9717			

注: *差异显著($p < 0.05$); **差异极显著($p < 0.01$)。

2.2.3 最佳工艺条件的确定及验证实验

利用 Design Expert 软件对实验模型进行典型性分析, 得到金柑游离酚的最优提取条件: 丙酮浓度 76.96%, 液料比 33.03 mL/g, 提取时间 48.32 min, 金柑游离酚含量预测值为 11.14%。为了验证响应面法的可行性, 采用获得的最佳提取工艺条件, 考虑到实际操作, 按照丙酮浓度为 77%, 液料比 33 mL/g, 提取时间 48 min, 进行金柑游离酚的提取实验, 重复三次, 求平均含量为 11.03%, 与预测值接近, 验证了此模型的有效性, 说明回归方程可以反映各因素对金柑游离酚含量的影响。

2.3 金柑结合酚单因素实验

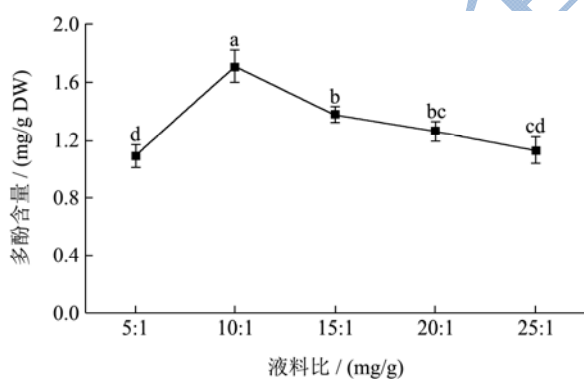


图7 液料比对金柑结合酚含量的影响

Fig.7 Effects of the ratio of liquid to material on the yield of bound polyphenols in kumquat

如图 7 所示, 液料比为 5:1~10:1 mL/g 时, 金柑结合酚含量随液料比的增加逐渐上升, 当液料比大于 10:1 mL/g 时, 金柑结合酚含量反而呈现下降趋势, 可能是因为多酚在 NaOH 溶液中分散度过大, 对多酚的结构破坏加剧, 导致结合酚含量变低。因此, 选取液料比 5:1、10:1、15:1 mL/g 进行下一步优化; 由图 8 可知, 金柑结合酚含量随 NaOH 浓度的增加呈先增加

后减少的趋势, 在 NaOH 浓度为 6 mol/L 时, 含量最高。先升高可能是因为过低浓度的 NaOH 无法完全打断结合酚与纤维等各种大分子之间的化学键, 之后减少, 可能是因为随 NaOH 浓度的逐渐增大, 溶液 pH 值增大, 对结合酚的破坏也更大, 使含量降低。因此, 选取 NaOH 浓度为 4、6、8 mol/L 三个水平进行响应面优化试验。

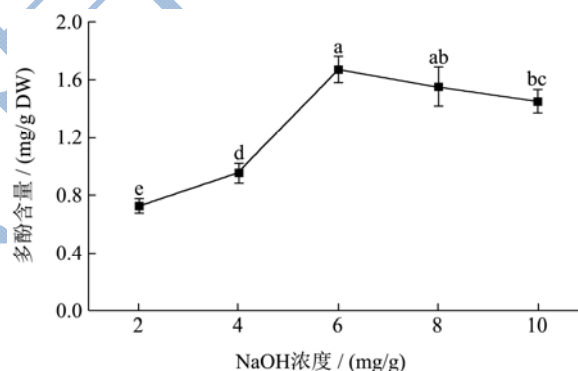


图8 NaOH 浓度对金柑结合酚含量的影响

Fig.8 Effects of NaOH concentration on the yield of bound polyphenols in kumquat

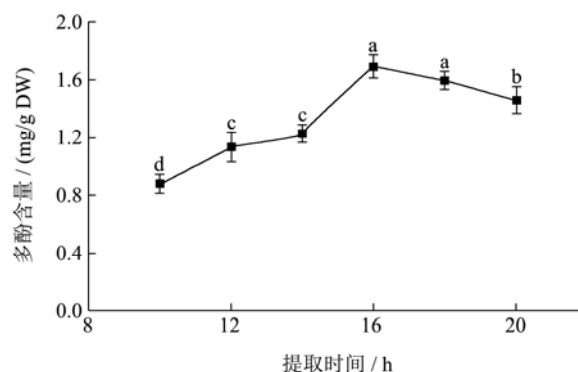


图9 提取时间对金柑结合酚含量的影响

Fig.9 Effects of extraction time on the yield of bound polyphenols in kumquat

由图 9 可知, 提取时间为 10~16 h 时, 金柑结合

酚含量随提取时间的增加而增加,当提取时间大于 16 h 后,金柑结合酚含量呈下降趋势。因此,选择 14、16、18 h 三个水平进行响应面优化试验。

2.4 金柑结合酚响应面法优化

2.4.1 响应面实验设计与结果

在单因素的基础上,以提取时间(a)、NaOH 浓度(b)、液料比(c)为考察因素,以结合酚含量(y)为响应值,根据 Box-Behnken 组合实验设计原理,设计 3 因素 3 水平响应面实验,实验因素和水平见表 4,实验结果如表 5 所示。

表 4 金柑结合酚响应面设计水平和编码

Table 4 Levels and code of variables in RSM of bound polyphenols

因素	水平	
	-1	-1
a 提取时间/h	14	a 提取时间 /h 14
b NaOH 浓度 /mol/L	4	b NaOH 浓度 /mol/L 4
c 液料比 /mL/g	5:1	c 液料比 /mL/g 5:1

2.4.2 模型、方差及响应面分析

采用 Design Expert 8.0.6 版本软件对所得数据进行分析,可得到金柑结合酚含量的回归模型:

$$Y(\text{mg/gDW})=1.80+0.098a+0.11b+0.084c-0.030ab-0.075ac-0.023bc-0.043a^2-0.23b^2-0.27c^2。$$

由表 6 可知,方程的显著性分析得 $F=43.8576$,

表 6 金柑结合酚回归模型与方差分析

Table 6 The regression model and variance analysis of bound polyphenols in kumquat

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	0.8117	9	0.0902	43.8576	< 0.0001	**
a 提取时间	0.0761	1	0.0761	36.9816	0.0005	**
b NaOH 浓度	0.0903	1	0.0903	43.9172	0.0003	**
c 液料比	0.0561	1	0.0561	27.2864	0.0012	**
ab	0.0036	1	0.0036	1.7506	0.2274	
ac	0.0225	1	0.0225	10.9413	0.0130	*
bc	0.0020	1	0.0020	0.9847	0.3541	
a ²	0.0079	1	0.0079	3.8300	0.0912	
b ²	0.2146	1	0.2146	104.3466	< 0.0001	**
c ²	0.2974	1	0.2974	144.6003	< 0.0001	**
残差	0.0144	7	0.0021			
失拟	0.0107	3	0.0036	3.8262	0.1138	

相应的概率值 $p<0.01$, 表明该方程模型极显著; $R^2=0.9826$, $R_{Adj}^2=0.9602$, 说明该模型与实验数据拟合程度较好,实验误差小,可以用于不同变量条件下的响应值预测。方差分析结果显示,因素 a、b、c、b²、c² 对金柑游离酚含量影响极显著($p<0.01$),因素 ac 对金柑结合酚含量影响显著($p<0.05$),说明各因素对金柑结合酚含量的影响不是简单的线性关系。各因素对响应值显著性的排序依次是 $b>a>c$ 。

表 5 金柑结合酚响应面分析实验设计及实验结果

Table 5 RSM design and results of bound polyphenols in kumquat

实验号	kumquat			y/(mg/g DW)
	x ₁	x ₂	x ₃	
1	-1	0	-1	1.21
2	0	0	0	1.82
3	0	-1	-1	1.15
4	0	1	-1	1.37
5	-1	-1	0	1.28
6	-1	0	1	1.59
7	0	-1	1	1.30
8	1	0	1	1.63
9	0	1	1	1.43
10	1	-1	0	1.54
11	-1	1	0	1.59
12	1	0	-1	1.55
13	0	0	0	1.84
14	0	0	0	1.79
15	0	0	0	1.76
16	1	1	0	1.73
17	0	0	0	1.81

接上页

误差	0.0037	4	0.0009
总和	0.8261	16	
	$R^2=0.9826$		$R_{adj}^2=0.9602$

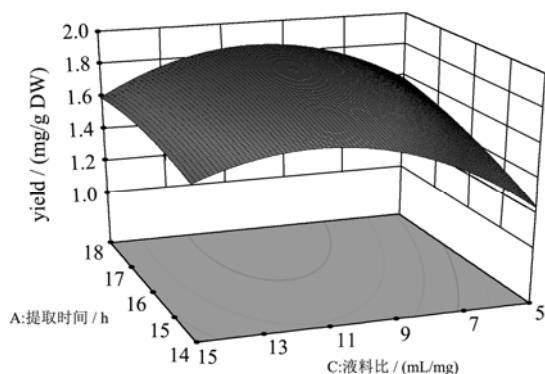
注: *差异显著($p<0.05$); **差异极显著($p<0.01$)。

图 10 提取时间和液料比交互作用对结合酚含量的响应面图

Fig.10 Response surface plot of the interaction of extraction time and liquid material ratio on yield of bound polyphenols

图 10 响应面图形是响应值结合酚含量对应于实验因素提取时间、液料比所构成的三维空间曲面图,可以直观反映实验因素之间的交互作用对结合酚含量的影响。由图可知,提取时间和液料比交互作用的响应面坡度较陡和等高线呈椭圆形,说明二者相互作用对金柑结合酚含量的影响显著,当提取时间较短时,含量随液料比的增大而增大,随着提取时间的增加,含量增加幅度减小甚至降低。说明在不同提取时间下,液料比对含量的影响不同。

2.4.3 最佳工艺条件的确定及验证实验

利用 Design Expert 8.0.6 软件对实验模型进行分析,得到金柑结合酚的最优提取条件: NaOH 浓度 6.34 mol/L, 液料比 10.04 mL/g, 提取时间 18 h, 金柑结合酚含量预测值为 1.86 mg/g DW。为了验证响应面法的可行性,采用获得的最佳提取工艺条件,考虑到实际操作,按照 NaOH 浓度 6.5 mol/L, 液料比 10 mL/g, 提取时间 18 h, 进行金柑结合酚的提取实验,重复三次,求平均含量为 1.79 mg/g DW, 与预测值接近,说明了此模型的有效性,说明回归方程可以反映各因素对金柑结合酚含量的影响。

3 结论

在单因素的基础上,根据 Box-Behnken 组合实验设计原理和响应面法对金柑中的游离态多酚和结合态多酚的提取条件进行优化,并建立多酚含量的回归模型,优化后,金柑游离酚最佳工艺条件分别为: 丙酮浓度 77%, 液料比 33 mL/g, 提取时间 48 min, 此条件下的游离酚平均含量为 11.03 mg/g DW; 优化后的

金柑结合酚最佳工艺条件为: NaOH 浓度 6.5 mol/L, 液料比 10 mL/g, 提取时间 18 h, 此条件下的结合酚平均含量为 1.79 mg/g DW。最优条件下的游离酚和结合酚含量与模型预测值相近,验证了模型的可靠性。同时,游离酚和结合酚的含量也说明了在金柑果实中,游离态多酚的含量是远高于结合态多酚的含量的。为金柑功能成分的开发利用提供一定的参考价值。

参考文献

- [1] LOU S N, HO C T. Phenolic compounds and biological activities of small-size citrus: Kumquat and calamondin [J]. Journal of Food & Drug Analysis, 2017, 25(1): 162
- [2] 段宙位, 窦志浩, 何艾, 等. 青金桔皮中多酚的提取及其抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(10): 244-248
- [3] DUAN Zhou-wei, DOU Zhi-hao, HE Ai, et al. Extraction and antioxidant activity of polyphenols from green kumquat peel [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(10): 244-248
- [4] Jadeja R N, Thounaojam M C, Ramani U V, et al. Anti-obesity potential of Clerodendron glandulosum. Coleb leaf aqueous extract [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 135(2): 338-43
- [5] Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance [J]. Nutrition Reviews, 1998, 56(11): 317-333
- [6] Naczek M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis [J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2006, 41(5): 1523
- [7] Pandey K B, Rizvi S I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease [J]. Oxidative Medicine & Cellular Longevity, 2009, 2(5): 270
- [8] Graf B A, Milbury P E, Blumberg J B. Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence [J]. Journal of Medicinal Food, 2005, 8(3): 281
- [9] Arts I C, Hollman P C. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2005, 81(1 Suppl): 317S
- [10] Pérezjiménez J, Diazrubio M E, Sauracalixto F. Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: occurrence, metabolic fate and health effects [J]. Nutrition

- Research Reviews, 2013, 26(2): 118-129
- [10] Yan C, Fayin Y E, Zhao G. A review of studies on free and bound polyphenols in foods [J]. Food Science, 2015
- [11] Acosta-Estrada B A, Guti Rrez-Urbe J A, Serna-Sald Var S O. Bound phenolics in foods, a review [J]. Food Chemistry, 2014, 152(6): 46
- [12] Jung M Y, Jeon B S, Jin Y B. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids in white and red Korean ginsengs (*Panax ginseng* C.A. Meyer) [J]. Food Chemistry, 2002, 79(1): 105-111
- [13] Zou Y, Chang S K C, Gu Y, et al. Antioxidant Activity and Phenolic Compositions of Lentil (*Lens culinaris* var. Morton) Extract and Its Fractions [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2011, 59(6): 2268-2276
- [14] 蒋玉蓉,袁俊杰,孙雪婷,等.藜麦叶片多糖最佳提取工艺及抗氧化性研究[J].中国食品学报,2017,17(2):101-106
JIANG Yu-rong, YUAN Jun-jie, SUN Xue-ting, et al. The optimum extracting technology and anti-oxidation of polysaccharides from quinoa leaves [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(2): 101-106
- [15] 赵刚,顾佳丽,励建荣.Plackett-Burman 设计及响应面法优化芹菜中总黄酮的超声提取工艺[J].中国食品学报,2017, 17(8):147-155
ZHAO Gang, GU Jia-li, LI Jian-rong. Optimization of ultrasonic extraction conditions of total flavonoids from apium graveolens by Plackett-Burman design and response surface analysis [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(8): 147-155
- [16] Su D, Zhang R, Hou F, et al. Comparison of the free and bound phenolic profiles and cellular antioxidant activities of litchi pulp extracts from different solvents [M]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2014
- [17] Liu Y, Wei S, Liao M. Optimization of ultrasonic extraction of phenolic compounds from *Euryale ferox* seed shells using response surface methodology [J]. Industrial Crops and Products, 2013, 49(4): 837-43
- [18] 王彦平,杨会会,钱志伟,等.响应面法优化紫山药中原花青素超声提取工艺及抗氧化性研究[J].食品工业科技,2017, 38(13):181-185
WANG Yan-ping, YANG Hui-hui, QIAN Zhi-wei, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of procyanidins from purple yam by response surface methodology and antioxidant activity [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(13): 181-185
- [19] Bezerra M A, Santelli R E, Oliveira E P, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry [J]. Talanta, 2008, 76(5): 965-77
- [20] Lee A Y, Sun Kim H, Eun Jo J, et al. Optimization of extraction condition for major iridoid components in fruit of corni (*cornus officinalis*) by UPLC-PDA using response surface methodology [M]. Food Science & Biotechnology, 2012, 21(4): 1023-29