

脉冲电场强化生姜姜酚提取及工艺优化

李晓娟¹, 钟梨², 彭开锋¹, 尹军¹, 曾新安^{2,3}, 刘志伟^{4*}, 韩忠^{2*}

(1. 株洲千金药业股份有限公司, 湖南株洲 412000) (2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (3. 佛山科技学院广东省食品智能制造重点实验室, 广东佛山 528225) (4. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128)

摘要: 脉冲电场 (PEF) 作为一种新型的物理场非热加工技术, 其在流体食品的杀菌、灭酶等方面已开展大量的应用研究。近年来, 基于 PEF “电穿孔” 对细胞优越的破壁效果, 其在细胞的穿孔、强化胞内功能性成分的提取已逐渐成为研究热点。该文以生姜为对象, 首先对比了不同提取工艺 [传统溶剂浸提法 (TET)、超声辅助提取法 (UET)、索氏提取法 (SET)、脉冲电场辅助提取法 (PEF)] 对生姜姜酚提取量的影响, 然后利用响应面法优化了 PEF 强化生姜姜酚的提取参数。结果表明, 与 TET、UET、SET 相比, PEF 处理对生姜姜酚提取量最高, 达 13.36 mg/g·DW。进一步通过单因素和响应面试验设计, 获得的最佳工艺参数为电场强度: 2.0 kV/cm, 脉冲次数: 22 个, 脉冲宽度: 19 μ s。此优化条件下, 姜酚提取量为 14.69 mg/g·DW, 比传统溶剂浸提法的 9.81 mg/g·DW, 提高了 49.75%。该研究表明 PEF 在强化生姜姜酚提取优于其它提取工艺, 且具有良好的应用前景。

关键词: 脉冲电场; 生姜; 姜酚; 提取

文章编号: 1673-9078(2024)09-270-277

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.9.1042

Enhanced Extraction of Ingerol from Ginger Using Pulsed Electric Fields and Process Optimization

LI Xiaojuan¹, ZHONG Li², PENG Kaifeng¹, YIN Jun¹, ZENG Xin'an^{2,3}, LIU Zhiwei^{4*}, HAN Zhong^{2*}

(1. Qianjin Pharmaceutical Co. Ltd., Zhuzhou 412000, China) (2. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China) (3. Guangdong Key Laboratory of Food Intelligent Manufacturing, Foshan University, Foshan 528225, China) (4. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Pulsed electric field (PEF) is a novel non-thermal physical field processing technology used in the sterilization and enzyme inactivation of fluid foods, presenting a substantial amount of research on its applications. In recent years, the superior cell wall-breaking capability of PEF, known as “electroporation,” has attracted increasing attention, and its ability to enhance wall-breaking and intracellular functional component extraction has gradually become a popular research topic. The extraction rates of ingerol from ginger were compared by different extraction processes (traditional solvent extraction technique [TET], ultrasonic-

引文格式:

李晓娟, 钟梨, 彭开锋, 等. 脉冲电场强化生姜姜酚提取及工艺优化[J]. 现代食品科技, 2024, 40(9): 270-277.

LI Xiaojuan, ZHONG Li, PENG Kaifeng, et al. Enhanced extraction of ingerol from ginger using pulsed electric fields and process optimization[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 270-277.

收稿日期: 2023-09-02

基金项目: 湖南省高新技术产业科技创新引领计划项目 (2022GK4014); 湖湘青年英才 (2020RC3097)

作者简介: 李晓娟 (1989-), 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 中药衍生产品开发, E-mail: jaunlee@163.com

通讯作者: 刘志伟 (1985-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品非热加工技术, E-mail: zwliu@hunau.edu.cn; 共同通讯作者: 韩忠 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品科学与工程研究, E-mail: fezhonghan@scut.edu.cn

assisted extraction technique [UET], soxhlet extraction technique [SET], and pulsed electric field assisted extraction [PEF]). The parameters for the PEF method of extracting gingerol was then optimized by the response surface method. Results indicated that compared to TET, UET, and SET, the PEF method produced the highest extraction yield of gingerol, reaching 13.36 mg/g·DW. Further steps were taken based on single factor and response surface experiment design, and the optimal process parameters for extracting gingerol from ginger by PEF were obtained as follows: electric field intensity: 2.0 kV/cm, pulse frequency: 22, and pulse width: 19 μ s, Under this optimal condition, the extracted amount of gingerol was mg/g·DW, an increase of 49.75% compared to the traditional solvent extraction method (9.81 mg/g·DW). This study shows that PEF is the superior extraction methods in enhancing gingerol extraction from ginger and with great application prospects.

Key words: pulsed electric field; ginger; gingerol; extraction

生姜是一种药食同源的植物，具有抗炎、抗菌、缓解风湿性疾病的作用，由于其特殊风味和辛辣性，不仅被用作调味品和香料，而且也被用作中药成分^[1]。据报道已被鉴定的生姜活性成分包含 400 多种化合物，其中姜酚已被确定为主要的生物活性成分，具有解热、止吐、抗炎症和抗癌等作用^[2]。姜酚 (Gingerols, GRs) 又称姜辣素是含 3- 甲氧基 -4- 羟基苯基官能团的酚类化合物的统称，主要包括 6- 姜酚、8- 姜酚和 10- 姜酚三种^[3]。

脉冲电场 (PEF) 作为一种新型的物理场非热加工技术，其利用高强度、窄脉宽的高频电脉冲作用于细胞，在细胞膜上产生感应电势差，当感应电势差超过细胞膜电穿孔的极限电压，造成细胞膜“电穿孔”，导致细胞破裂，死亡，从而起到杀灭微生物和细胞破壁强化提取的效果^[4-7]。研究表明不同细胞其电穿孔的极限电压与细胞的大小呈反比，细胞越大其电穿孔电压越小，从而，PEF 针对植物细胞 (细胞大小达 100 μ m 左右) 的破壁效果远好于微生物细胞 (10 μ m 左右)^[8]，因此，PEF 破壁辅助植物功能性成分提取具有短时、高效、绿色环保等优点，从而使该技术在植物细胞破壁、强化胞内功能性成分的提取方面已成为研究热点^[9]。

在本研究以云南黄姜为原料，液相色谱测定的生姜提取物中姜酚提取量通过 6- 姜酚、8- 姜酚和 10- 姜酚三者的量之和来衡量。首先对比研究了不同提取方法对生姜姜酚提取量的影响，然后通过单因素和响应面 (Box-Behnken) 优化了 PEF 辅助姜酚提取工艺参数。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

云南黄姜，产于云南红河；6- 姜酚，8- 姜酚，

10- 姜酚标准品 ($\geq 98\%$)，成都克洛玛生物科技有限公司；乙醇 (AR)，天津大茂化学试剂厂；甲醇 (色谱纯)，上海源叶生物科技有限公司；乙腈 (色谱纯)，上海麦克林生化科技有限公司；乙酸 (色谱纯)，上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

EX-1900 脉冲电场处理仪，广州心安食品科技有限公司自主研发；Agilent-1260 高效液相色谱仪，美国 Agilent Technologies 公司；PL1170-6830 液相色谱柱，美国 Agilent Technologies 公司；SHZ-D 循环型水式真空泵，广州星烁仪器有限公司；XD52CS-1 旋转蒸发器，上海德贤实验仪器有限公司；SB-5200DT 超声提取机，宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 姜粉制备

新鲜、完整的黄姜，洗净、去皮，切厚度约 2 mm 片，均匀的置于托盘，烘箱 60 $^{\circ}$ C 干燥 24 h。烘干后的姜片用超微粉碎机粉碎，过 30 目，获得姜粉、保存于自封袋中备用。

1.3.2 不同提取方法对生姜姜酚提取量影响

准确称取姜粉 2 g，置于 250 mL 锥形瓶中，加入 100 mL 的乙醇溶液 80% (V/V)，涡旋充分混合制备姜粉溶液；(1) 传统溶剂浸提法 (TET)：将装有姜粉溶液的锥形瓶置于水浴振荡器中，60 $^{\circ}$ C 振荡浸提 4 h；然后利用布氏漏斗进行抽滤，渣液分离获的粗提液；(2) 超声辅助提取法 (UET)：将装有姜粉溶液的锥形瓶置于超声提取机中，超声功率设置为 600 W，25 $^{\circ}$ C，超声 1 h；利用布氏漏斗进行抽滤，渣液分离获得粗提液。(3) 脉冲电场辅助提取 (PEF)：PEF 处理参照李坚^[10]的方法，由广州心

安食品科技有限公司自主研制 EX-1900 PEF 设备进行处理,具体操作为:将姜粉溶液于置于 PEF 提取设备的处理室中,在电场强度为 2 kV/cm、脉冲宽度为 20 μ s 和脉冲次数为 20 次的条件下进行处理;然后利用布氏漏斗进行抽滤,渣液分离获得粗提液。

(4) 索氏提取法 (SET):称取 2 g 姜粉,用脱脂滤纸包裹,置于索氏提取管中,取 100 mL 的 80% 无水乙醇 (V/V) 于提取瓶内,加热至 90 $^{\circ}$ C,回流提取 6 h;最后利用布氏漏斗进行抽滤,渣液分离得姜酚粗提液。

1.3.3 姜酚浓度的测定

1.3.3.1 6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚标准曲线的绘制

分别称取 10 mg 的 6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚标准品置于 10 mL 容量瓶,用甲醇溶解,定容,制备 1 mg/mL 混标工作液。根据文献^[2,3]测定姜酚的方法并进行改进,流动相:0.2% 的乙酸水溶液 (A) 和乙腈 (B);洗脱程序:0~1 min, 0~45% B; 1~13 min, 45%~65% B; 13~19 min, 65%~80% B; 19~30 min, 80% B。洗脱速量为 1 mL/min;检测波长:280 nm;柱温:25 $^{\circ}$ C;进样量分别为 2、4、6、8、10、20 μ L。以峰面积为纵坐标,姜酚浓度为横坐标绘制的标准曲线分别为:

$$6\text{-姜酚} (y=4\ 972.1x+38.146, R^2=0.999\ 9)$$

$$8\text{-姜酚} (y=4\ 778.0x+34.382, R^2=0.999\ 9)$$

$$10\text{-姜酚} (y=4\ 876.4x-10.908, R^2=0.999\ 8)$$

1.3.3.2 姜酚提取量的计算

取姜酚提取液于旋转蒸发器中旋蒸浓缩 30 min (50 $^{\circ}$ C),氮吹至吹干,加 1 mL 的甲醇 (色谱级)溶解制得姜酚浓缩液;过 0.22 μ m 的水相膜,装入 2 mL 的棕色液相瓶中待测。测定姜酚浓缩液中 6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚的含量,而姜酚提取量 C_g 按照下列公式计算:

$$C_g=C_6+C_8+C_{10} \quad (1)$$

式中:

C_g —姜酚提取量, mg/g·DW;

C_6 —6-姜酚含量, mg/g·DW;

C_8 —8-姜酚含量, mg/g·DW;

C_{10} —10-姜酚含量, mg/g·DW。

1.3.4 PEF辅助提取的单因素实验设计

1.3.4.1 乙醇浓度对姜酚提取的影响

称取 2 g 姜粉,置于 250 mL 的锥形瓶,分别加入 100 mL 的 50%、60%、70%、80%、90%、100% (V/V) 乙醇溶液,涡旋振荡 10 s,制备姜粉

溶液;PEF 处理参数为电场强度:2 kV/cm、脉冲宽度:20 μ s 和脉冲次数:20 次;处理后用布氏漏斗进行抽滤,渣液分离,获得姜酚粗提液。

1.3.4.2 电场强度、脉冲次数和脉冲宽度对姜酚提取的影响

称取 2 g 姜粉,置于 250 mL 的锥形瓶,加入 100 mL 的 80% (V/V) 的乙醇溶液,涡旋振荡,制备姜粉溶液;调节 PEF 处理参数 (电场强度、脉冲次数和脉冲宽度) 对姜粉溶液进行处理;处理后用布氏漏斗进行抽滤,渣液分离,获得姜酚粗提液。

1.3.5 响应面实验设计

本研究采用 Box-Behnken 试验进行响应面试验设计。基于单因素实验结果,选取 A:脉冲次数、B:电场强度 (kV/cm)、C:脉冲宽度 (μ s) 三个指标,设计了三因素三水平的 Box-Behnken 试验,并以姜酚提取量 (Y) 作为指标,确定脉冲电场辅助生姜姜酚提取的最佳工艺。试验设计的具体因数水平参数及编码见表 1。

表 1 Box-Behnken 试验设计因素水平

Table 1 Factors and levels of Box-Behnken experiment design

水平	因素		
	A 脉冲次数	B 电场强度/(kV/cm)	C 脉冲宽度/ μ s
-1	10	1.5	15
0	20	2.0	20
1	30	2.5	25

1.3.6 统计分析

所有数据采用单因素方差分析法 (ANOVA) 进行显著性分析,并以平均 \pm 标准差表示,用 Origin 2019 进行作图。

2 结果与分析

2.1 不同方法提取生姜姜酚的对比研究

本研究对比了不同提取方法对生姜姜酚提取量的影响,结果如表 2 所示,根据姜酚提取量的大小对不同提取方法进行排序,得出 PEF > UET > SET > TET; 其中,PEF 辅助提取量最高,达到 13.36 mg/g·DW,另外,针对生姜姜酚中的 6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚的提取量 PEF 辅助提取量也是最高的。与传统溶剂浸提法相比,PEF 处理对总姜酚提取量提高了 36.19%,而对 6-姜酚、8-姜酚和 10-姜酚的提取量分别提高了 28.12%、51.21%

和 47.86%。此外,对比不同方法的提取时间和提取温度可以发现,PEF 提取时间最短,有效处理时间仅为 0.38 ms,提取温度最低(25 °C),提取所需的外界条件最易达到,是一种较为理想、绿色、低成本高效的提取技术^[11]。Darra 等^[12]对比研究了超声波电场、中度热处理和 PEF 处理对赤霞珠葡萄酚类物质提取率的影响,结果表明,中等(0.8 kV/cm)和高(5 kV/cm)强度的 PEF 预处理效果最好,PEF 处理后酚类物质提高了 51% 和 62%。其内在原因为:PEF 处理导致葡萄细胞的细胞膜上产生感应电势差,当感应电势差超过细胞膜电穿孔的极限电压,而造成细胞膜“电穿孔”,从而增加细胞膜的通透性,加速胞内酚类物质的释放^[13]。通过对比研究的结果,最终选取 PEF 进一步开展针对生姜姜酚的提取工艺优化研究。

2.2 单因素试验结果与分析

2.2.1 乙醇体积分数对生姜姜酚提取量的影响

在 PEF 电场强度为 2 kV/cm、脉冲宽度为 20 μ s 和脉冲次数为 20 次的条件下,探究不同乙醇体积分数对姜酚提取量的影响,结果如图 1 所示;不同乙醇体积分数对生姜姜酚的提取量不同,以 80% 乙醇体积分数为界限,姜酚的提取量呈现先增大后减少的趋势。乙醇体积分数为 80% 时,姜酚提取量最大,达到 14.56 mg/g·DW。姜酚属于脂溶性物质,乙醇体积分数占比增大,姜酚与乙醇接触机率增大,有利于姜酚从植物组织细胞中溶出^[14];但乙醇浓度过高时,姜酚的提取量下降,骆海林^[15]也报道类似的结果,其内在原因是由于姜粉植物细胞中色素、油脂、其他杂质等醇溶性物质与姜酚竞争溶出,从而造成姜酚提取率降低。考虑到提取成本以及后期回收成本,选择 80% 乙醇体积分数为较佳提取条件。

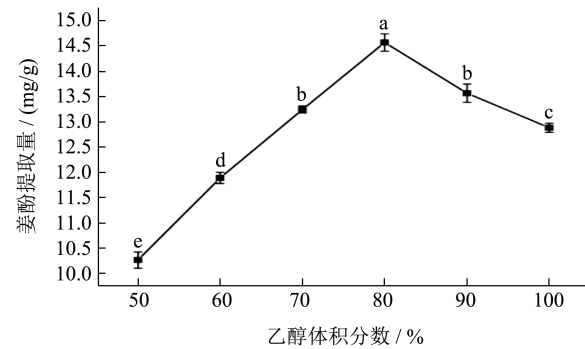


图 1 乙醇体积分数对姜酚提取量的影响

Fig.1 Effects of ethanol concentration on the extraction of gingerols

2.2.2 脉冲宽度对生姜姜酚提取量的影响

在 PEF 电场强度为 2 kV/cm、脉冲次数为 20 次和乙醇体积分数为 80% 的条件下,探究不同脉冲宽度对姜酚提取量的影响,结果如图 2 所示,随着脉冲宽度的增加(由 5 μ s 增加至 25 μ s),姜酚的提取量呈现出先增加后减小的趋势,并在 20 μ s 时,姜酚提取量达到最大(14.48 mg/g)。一般而言,在脉冲数一定的条件下,PEF 处理电脉冲的脉宽越大,表示有效处理时间越长,在实际应用过程中有效处理时间增加能显著增加杀菌和强化动植物细胞胞内功能性物质提取的效果。但过大的脉宽使单个电脉冲空占比减小,导致 PEF 处理产生的热量来不及消散而积累,从而使体系温度显著升高,过高的温度使目标功能活性成分分解而降低提取量^[16]。Salda 等^[12]研究了 PEF 处理对葡萄酿造的影响,结果表明在葡萄榨汁过程中经 PEF 处理可以极有效的提高葡萄酒中多酚含量,与未经 PEF 处理相比,PEF 处理的葡萄酒多酚提取量提高 40%,且发现在相同时间的 PEF 处理,利用较大脉宽的电脉冲,其多酚含量最高,葡萄酒品质最佳。因此本实验,选取 20 μ s 进行姜酚提取。

表 2 不同提取方法对姜酚提取量影响 (mg/g)

Table 2 Effects of different extraction methods on the yield of gingerols from ginger

提取方法	提取时间	提取温度/°C	6-姜酚	8-姜酚	10-姜酚	姜酚
TET	240 min	60	6.01 ± 0.27 ^c	1.23 ± 0.04 ^c	2.57 ± 0.09 ^d	9.81 ± 0.22 ^d
SET	360 min	90	6.23 ± 0.17 ^c	1.32 ± 0.06 ^c	2.75 ± 0.08 ^c	10.30 ± 0.11 ^c
UET	60 min	25	6.66 ± 0.26 ^b	1.47 ± 0.09 ^b	3.02 ± 0.12 ^b	11.15 ± 0.2 ^b
PEF	0.38 ms	25	7.70 ± 0.19 ^a	1.86 ± 0.1 ^a	3.80 ± 0.18 ^a	13.36 ± 0.19 ^a

注:每个值以三组重复的平均值 ± 标准偏差的方式表示;每一行字母不同代表存在显著差异 ($P < 0.05$)。

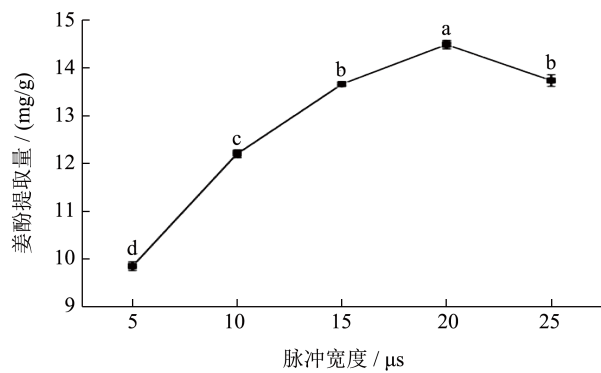


图2 脉冲宽度对姜酚提取量的影响

Fig.2 Effects of pulse width on the extraction of gingerols

2.2.3 脉冲次数对生姜姜酚提取量的影响

在 PEF 电场强度为 2 kV/cm、脉冲宽度为 20 μs 和乙醇体积分数为 80% 的条件下, 探究不同脉冲次数对姜酚提取量的影响, 结果如图 3 所示。PEF 作用下, 姜酚的提取量随着脉冲数的增加呈现先迅速增加后趋于平稳并缓慢减少的趋势, 本研究中脉冲次数达到 20 次时, 姜酚提取量达到最大 14.53 mg/g·DW。有研究表明在 PEF 作用下, 随着脉冲次数的增加, 姜粉组织的细胞膜持续受到电击作用, 组织结构裂解加剧, 姜酚溶出阻力减少, 从而有利于姜酚的提取, 但脉冲数达到一定值时, 组织裂解程度达到饱和而趋于不变^[17]。过度的 PEF 处理可能会使胞内盐离子溶出, 这反而会降低细胞内外跨膜电位, 不利于植物组织细胞的进一步裂解^[18]; 另外, 随着脉冲数持续增加姜酚提取量出现减小的情况其可能的原因为 PEF 处理过程中产生少量的活性自由基, 该自由基作用于活性物质而使其部分氧化^[19], 因此当脉冲次数超过 20 次时, 姜酚提取量反而有所下降。

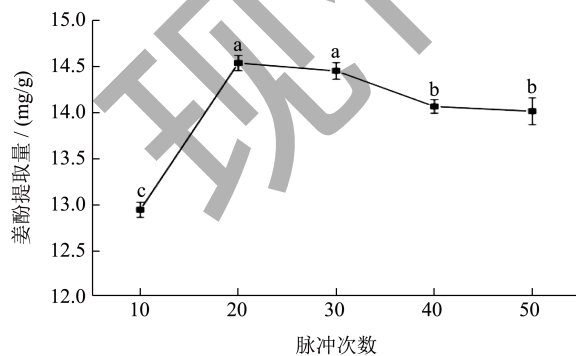


图3 脉冲次数对姜酚提取的影响

Fig.3 Effects of pulse times on the extraction of gingerols

2.2.4 电场强度对生姜姜酚提取量的影响

在脉冲宽度为 10 μs 、脉冲次数为 20 次和乙醇体积分数为 80% 的条件下, 探究不同电场强度对姜

酚提取量的影响。结果见图 4, 随着电场强度增加姜酚提取量呈现先迅速增加, 而后趋于稳定的趋势。当电场强度为 2.0 kV/cm, 姜酚的提取量达到最大, 持续增加电场强度对姜酚提取量无显著影响。研究表明电场强度作为影响 PEF 处理效果的关键因素, 其作用效果决定于细胞电穿孔的阈值, 该阈值由细胞大小和特性决定, 细胞越大电穿孔的阈值越低。一般而言, 植物细胞大小远大于微生物细胞, 因此植物细胞电穿孔阈值远低于微生物细胞, 从而引起植物细胞电穿孔所需的电场强度远低于微生物细胞。本研究中在较低的电场强度下 (<2.0 kV/cm), 电场强度的增加使细胞电穿孔的程度持续增加而有利于姜酚的溶出, 这是因为电场强度增大, 植物细胞内外两侧电势差增大, 脉冲击穿力度增大, 加速植物组织细胞裂解, 胞内活性物质溶出; 当电场强度高于 2.0 kV/cm, 达到细胞电穿孔的阈值而使电场强度的影响降低^[20]。因此选择 2.0 kV/cm 作为较佳电场处理强度。李思伦^[21]利用 PEF 对柚皮粉进行处理, 研究发现在 4 kV/cm 条件下, 细胞膜出现不可逆破损, PEF 辅助柚皮苷的提取效果最佳。许多研究都证实 PEF 处理对植物细胞有较强破坏作用, 但由于植物组织材料、结构等差异, 最佳的电场处理条件存在差异^[22]。

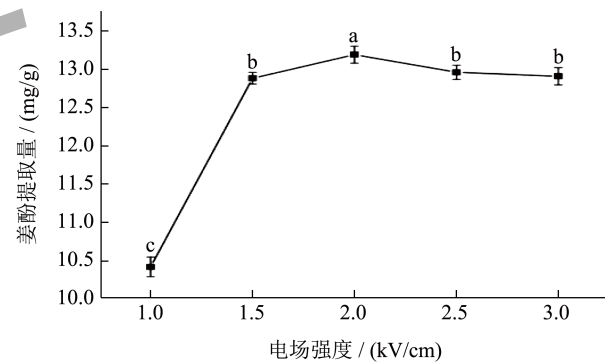


图4 电场强度对姜酚提取量的影响

Fig.4 Effects of electric field intensity on the extraction of gingerols

2.3 响应面实验结果与分析

2.3.1 PEF辅助生姜姜酚提取的响应面模型分析

根据单因素试验结果选取脉冲次数 (A)、电场强度 [B/(kV/cm)]、脉冲宽度 (C/ μs) 三个因素进行响应面试验设计, 对 PEF 辅助生姜姜酚提取工艺进行优化。试验参数及结果见表 3, 利用 Design-Expert 分析试验结果, 获得实际影响因素表示的模

型 (2), 模型的 R^2 和 R^2_{adj} 分别为 0.976 9 和 0.947 2, 说明模型拟合良好, 具有高度的相关性。

$$Y = -35.39 + 1.95X_1 + 1.06X_2 + 21.06X_3 - 0.011X_1X_2 + 0.47X_1X_3 - 0.228X_2X_3 - 0.0439X_1^2 - 0.01X_2^2 - 4.7X_3^2 \quad (2)$$

式中:

Y —姜酚提取量;

X_1 —脉冲宽度;

X_2 —脉冲次数;

X_3 —电场强度。

表 3 响应面设计方案及结果

Table 3 Experimental design and results of RSM analysis

试验号	A: X_1	B: X_2	C: X_3	Y
	脉冲宽度 / μs	脉冲次数 / 个	电场强度 / (kV/cm)	姜酚量 / (mg/g-DW)
1	20	10	1.5	12.06
2	20	30	1.5	14.08
3	20	30	2.5	10.65
4	20	10	2.5	13.19
5	15	20	1.5	12.83
6	15	30	2.0	12.56
7	15	20	2.5	11.02
8	15	10	2.0	12.39
9	25	30	2.0	11.6
10	25	20	1.5	13.44
11	25	20	2.5	12.22
12	25	10	2.0	13.74
13	20	20	2.0	14.64
14	20	20	2.0	14.75
15	20	20	2.0	14.77
16	20	20	2.0	14.56

2.3.2 响应面模型方差分析

进一步对模型进行方差分析 (ANOVA), 结果如表 4, 模型的显著性和拟合优度分析结果表明, 模型呈现极显著性 ($P < 0.01$) 而失拟项不显著 ($P > 0.05$), 表明模型和数据拟合度高^[6], 因此该模型可以用于预测脉冲宽度 (X_1)、脉冲次数 (X_2)、电场强度 (X_3) 和姜酚提取量 (Y) 的相关性。且模型系数 A、B、C 以及二次项系数 AB、BC、 A^2 、 B^2 、 C^2 的 P 值均小于 0.05, 影响显著, 表明各因素与姜酚提取量的关系并不是简单的线性关系^[23]; 表中的 F 值反映了三种指标对响应值的影响程度, $F_C > F_B > F_A$ 表示三种因素主效应关系依次排序为: 电场强度 > 脉冲次数 > 脉冲宽度; $F_{BC} > F_{AB} > F_{AC}$ 说

明电场强度和脉冲次数的交互作用是最强^[24]。

表 4 回归模型的方差分析

Table 4 Analysis variance of regression model variance

方差来源	方差	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
总模型	28.70	9	3.19	32.90	<0.001	**
A	0.67	1	0.67	6.94	0.033 7	*
B	0.78	1	0.78	7.99	0.025 5	*
C	3.71	1	3.71	38.30	0.000 5	**
AB	1.33	1	1.33	13.76	0.007 6	**
AC	0.055	1	0.055	0.57	0.475 0	
BC	5.20	1	5.20	53.63	0.000 2	**
A^2	5.07	1	5.07	52.32	0.000 2	**
B^2	4.30	1	4.30	44.31	0.000 3	**
C^2	5.81	1	5.81	59.97	0.000 1	**
残差	0.68	7	0.097	—	—	—
失拟项	0.65	3	0.22	29.87	0.082 4	—
纯误差	0.029	4	0.007 25	—	—	—
总和	29.38	16	—	—	—	—

注: * 差异显著, $P < 0.05$; ** 差异极显著, $P < 0.01$ 。

2.3.3 各因素交互对姜酚提取量的响应面分析

关于脉冲次数、电场强度和脉冲宽度三个因素对姜酚提取量的影响进行了响应面分析, 其关系如图 5a、5b 所示; 左图为平面图, 可以反映自变量交互作用, 右图为 3D 立体图形, 展示因素对响应值的影响强度。等高线的形状越接近于椭圆, 则说明两个因素交互作用越强, 对比三个图, 电场强度和脉冲次数交互作用越强。曲面坡度越大, 说明该因素对响应值影响越大, 三个图都较为陡, 说明三个因素及其两两交互对姜酚提取量影响都较为显著; 将三个图对比分析, 发现脉冲强度对姜酚提取量影响最大^[23]; 综上分析得到三个因素对姜酚提取量影响度排序: 电场强度 > 脉冲次数 > 脉冲宽度, 电场强度与脉冲宽度交互作用最强。图 5a 和图 5b 说明脉冲宽度与姜酚提取量的关系, 随着脉冲宽度的增加, 姜酚提取量先增加后减少, 在脉冲宽度为 20 μs 左右取得最大值; 图 5b 和图 5c 展现电场强度对姜酚提取量的影响, 1.9 kV/cm 为最佳条件; 图 5a 和 5c 指出脉冲次数与姜酚提取量的关系, 脉冲次数的增加促进姜酚的浸出, 但超过 20 脉冲数时, 姜酚浸出率不再增加; 上述说明改变脉冲处理各个参数: 脉冲宽度、脉冲次数和电场强度, 可以极大影响姜酚提取量。

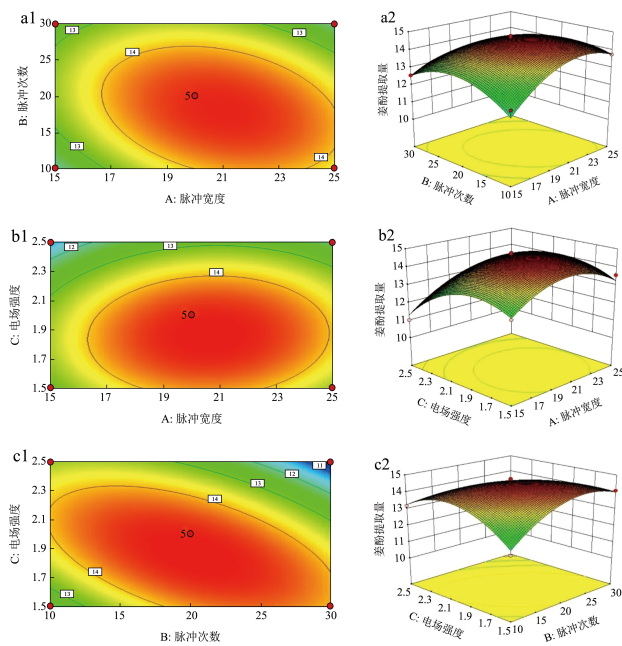


图5 提取因素对姜酚提取量的交互影响

Fig.5 Interaction effects of pulse width, pulse number and electric field strength on the yield of gingerols from ginger

2.3.4 模型的验证

由模型获得 PEF 辅助生姜姜酚提取的最佳工艺参数为, 电场强度: 1.91 kV/cm, 脉冲次数: 21.82, 脉冲宽度: 19.06 μs , 在此条件下 PEF 辅助姜酚提取量的预测值为 14.78 mg/g·DW; 根据试验的操作性及可行性, 对最佳工艺参数进行适当调整后其参数: 电场强度为 2.0 kV/cm, 脉冲次数为 22, 脉冲宽度为 19 μs ; 由此参数进行三次重复试验, 获得姜酚提取量为 14.69 mg/g·DW, 与预测值相差 0.61%, 实际值与预测值基本一致。表明本研究设计响应面模型对实验预测性高, 且具有实际指导意义。另外, 与传统溶剂浸提法相比 (9.81 mg/g·DW), 姜酚提取量提高了 49.75%。

3 结论

本研究利用 PEF 辅助生姜姜酚提取, 结论如下: 与 UET、SET 和 TET, PEF 获得的提取量最高, 达 13.36 mg/g·DW, 通过响应面法获得最佳工艺参数: 脉冲宽度为 19 μs ; 脉冲次数为 22 个, 电场强度为 2.0 kV/cm, 该参数下验证试验姜酚提取量为 14.69 mg/g·DW, 与传统溶剂浸提法相比 (9.81 mg/g·DW), 姜酚提取量提高了 49.75%。本研究表明 PEF 技术在细胞破壁强化胞内功能性成分提取方面展现出良好性能, 是一种较为理想、绿色、低成本高效的辅助提取技术。

参考文献

- [1] 陈梦霞, 汪妮, 孟凡强, 等. 生姜姜辣素的分离及对 HepG2 细胞胰岛素抵抗的预防作用 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(22): 387-395.
- [2] 崔秋兵, 张楠, 由耀辉, 等. 泡姜中 5 种姜辣素的 HPLC 含量测定 [J]. 食品与发酵科技, 2022, 58(4): 144-7.
- [3] 王亚晶, 申海燕, 刘杰, 等. 姜酚油提取工艺优化和 HPLC 特征图谱的建立 [J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(2): 67-72.
- [4] 张元元, 赵欢欢, 李国锋, 等. 高压脉冲电场对果胶杆菌的杀菌效果及其致死动力学研究 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(1): 162-71.
- [5] 郑志超, 蔡锦林, 曾新安. 脉冲电场预处理对冷浸渍发酵葡萄酒品质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(15): 72-76.
- [6] 李思伦, 曾新安, 牛德宝, 等. 响应面优化脉冲电场辅助提取沙田柚果皮中柚皮苷的工艺 [J]. 食品科技, 2020, 45(6): 261-266.
- [7] 曾新安, 周黎贞, 林松毅, 等. 脉冲电场处理对金桔质构影响及其机理研究 [J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2020, 48(11): 139-146.
- [8] LIU Z W, ZENG X A, SUN D W, et al. Effects of pulsed electric fields on the permeabilization of calcein-filled soybean lecithin vesicles [J]. Journal of Food Engineering, 2014, 131: 26-32.
- [9] LIU Z W, ZENG X A, NGADI M. Enhanced extraction of phenolic compounds from onion by pulsed electric field (PEF) [J]. 2018, 42(9): e13755.
- [10] 李坚. 脉冲电场协同低共熔试剂对诺丽果渣黄酮提取、转化及活性增强的机理研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- [11] ARSHAD R N, ABDUL-MALEK Z, ROOBAB U, et al. Pulsed electric field: a potential alternative towards a sustainable food processing [J]. Trends in Food Science Technology, 2021, 111: 43-54.
- [12] SALDAÑA G, CEBRIÁN G, ABENOZA M, et al. Assessing the efficacy of PEF treatments for improving polyphenol extraction during red wine vinifications [J]. Innovative Food Science Emerging Technologies, 2017, 39: 179-187.
- [13] RANJHA M M A, KANWAL R, SHAFIQUE B, et al. A critical review on pulsed electric field: A novel technology for the extraction of phytoconstituents [J]. Molecules, 2021, 26(16): 4893.
- [14] 李楠, 李雅萍. 基于响应面法的姜辣素提取工艺优化研究 [J]. 食品工程, 2016, 4: 33-37.
- [15] 骆海林. 生姜功效成分的提取分离及组分研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2010.
- [16] ARSHAD R N, ABDUL-MALEK Z, MUNIR A, et al. Electrical systems for pulsed electric field applications in the food industry: An engineering perspective [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 104: 1-13.

- [17] SEGOVIA F J, LUENGO E, CORRAL-PÉREZ J J, et al. Improvements in the aqueous extraction of polyphenols from borage (*Borago officinalis* L.) leaves by pulsed electric fields: Pulsed electric fields (PEF) applications [J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 65: 390-396.
- [18] 魏静妮. 脉冲电场辅助提取柚皮精油及其抑菌性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- [19] ODRIOZOLA-SERRANO I, AGUILÓ-AGUAYO I, SOLIVA-FORTUNY R, et al. Lycopene, vitamin C, and antioxidant capacity of tomato juice as affected by high-intensity pulsed electric fields critical parameters [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(22): 9036-9042.
- [20] 熊夏宇. 脉冲电场辅助提取油菜花粉中黄酮类物质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- [21] 李思伦. 脉冲电场辅助提取柚皮苷及其生物活性和金属络合研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- [22] SAULIS G. Electroporation of cell membranes: the fundamental effects of pulsed electric fields in food processing [J]. *Food Engineering Reviews*, 2010, 2(2): 52-73.
- [23] 黄明浩, 黄泰奇, 邓丽娟. 响应面法优化白英粗多糖提取工艺及其体外抗氧化活性的分析[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(22): 219-225.
- [24] 郭善才, 张琪, 林建原. 基于BP神经网络结合响应面法优化香芹菜叶总黄酮提取工艺及其应用[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(8): 263-273.

现代食品科技