

高 晗, 南海娟, 孔 瑾, 等. 响应面法优化苦杏仁中黄酮提取工艺[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(10): 231–233.

# 响应面法优化苦杏仁中黄酮提取工艺

高 晗, 南海娟, 孔 瑾, 曹 晨

(河南科技学院食品学院, 河南新乡 453003)

**摘要:**为确定苦杏仁中总黄酮的最佳提取工艺, 选取乙醇体积分数、提取时间、提取温度、料液比 4 个影响提取效果的因素进行单因素试验, 并利用 Design-Expert 7.1.6 进行响应面分析。结果表明, 苦杏仁中总黄酮的最佳提取工艺条件为乙醇体积分数 81%, 提取温度 74 ℃, 提取时间 60 min, 料液比 1 g : 15 mL, 在该条件下黄酮提取量为 1.41 mg/g。

**关键词:**杏仁; 黄酮; 响应面分析; 工艺优化

**中图分类号:**R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)10-0231-03

杏仁为蔷薇科植物山杏、西伯利亚杏以及东北杏的干燥成熟种子, 含有丰富的蛋白质、不饱和脂肪酸、维生素、矿物质等, 具有化痰、止咳、润肺、清热、通便、益寿延年等功效<sup>[1]</sup>。苦杏仁对降低血清胆固醇及预防癌症、心脏病和动脉粥样硬化的显著作用已经在科学研究中得到证明。杏仁作为一种很好的药用植物及植物蛋白源物质, 在食品工业、化妆品工业及医学等很多领域有较好的应用前景, 可用于功能性食品的研究。然而, 目前市场上苦杏仁的加工产品多为杏仁露、罐头等, 杏仁的研究则主要集中在杏仁油和杏仁蛋白方面<sup>[2]</sup>, 对苦杏仁中黄酮含量的研究很少。为了充分挖掘苦杏仁的保健功能, 有必要对其主成分及内含物进行深入研究<sup>[3]</sup>。本试验以苦杏仁为原料, 采用有机溶剂提取黄酮抗氧化物质, 以总黄酮提取量为指标, 采用响应面法优化苦杏仁黄酮的提取工艺条件, 既可为开发新型天然抗氧化剂提供可靠的研究数据, 又可提高苦杏仁的经济价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和仪器

材料: 苦杏仁, 购于河南省新乡市佐今明药店。

药品: 芸香苷、95% 乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等均为分析纯。

仪器: WFJ7200 型可见分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司]; HH-4 恒温水浴锅(江苏省金坛市杰瑞尔电器有限公司); SHZ-D(Ⅲ) 循环水式真空泵(河南省巩义市予华仪器有限责任公司); HZT-A500 电子天平(福建省福州华志科学仪器有限公司)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 标准品溶液的制备** 精确量取在 120 ℃ 干燥至恒重的芸香苷标准品 20 mg, 加一定量的 60% (体积分数) 乙醇溶

解, 冷却, 完全转入 100 mL 容量瓶中, 用 60% 乙醇定容至刻度, 即得 0.2 mg/mL 的标准品溶液<sup>[4-5]</sup>。

**1.2.2 芸香苷标准曲线的制作** 精确量取“1.2.1”节中的标准品溶液 0、2、4、6、8、10、12 mL, 分别置于 50 mL 比色管中, 加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min; 加 10% 硝酸铝溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min; 加 4% 氢氧化钠试液 10 mL, 再加 60% 乙醇至 25 mL 刻度, 摇匀, 放置 15 min, 于 510 nm 处比色测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 芸香苷含量为横坐标作标准曲线<sup>[6]</sup>, 标准曲线方程为  $y = 0.3349x + 0.0028$  (图 1)。

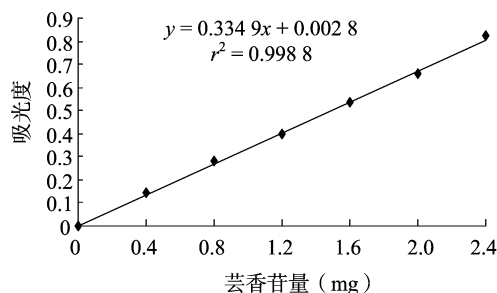


图1 芸香苷标准曲线

**1.2.3 苦杏仁中总黄酮含量的测定** 苦杏仁经清洗、去杂、烘干、粉碎后备用。准确称取一定量粉碎过的样品, 用索氏提取法, 以无水乙醚为提取剂提取 6 h, 脱去苦杏仁粉的脂肪, 干燥至恒重后称量。

准确称量 1.00 g 脱脂后的苦杏仁粉末, 置于锥形瓶中, 在一定温度下用乙醇提取一段时间后, 抽滤; 将滤液用 60% 乙醇定容至 100 mL 容量瓶中, 摇匀, 作为待测液; 取 2.50 mL 待测液, 按“1.2.2”节所述方法测定吸光度。根据回归方程, 由吸光度计算出被测液中黄酮含量  $C$ , 然后由  $C$  计算出苦杏仁黄酮的提取量<sup>[7]</sup>。

苦杏仁总黄酮提取量 (mg/g) =  $(40 \times C \times 10^{-3} / \text{苦杏仁重量}) \times 100\%$ 。

### 1.3 单因素试验

**1.3.1 乙醇体积分数对黄酮提取量的影响** 准确称取 1.00 g 脱脂后的杏仁粉 5 份, 分别置于 100 mL 圆底烧瓶中, 分别加入体积分数为 20%、40%、60%、80%、95% 的乙醇溶液, 料液比为 1 g : 15 mL, 80 ℃ 条件下回流提取 120 min。

收稿日期: 2013-02-28

基金项目: 河南省教育厅自然科学基金 (编号: 2007550005); 河南科技学院骨干教师资助项目 (编号: 200708)。

作者简介: 高 晗 (1968—), 男, 河南杞县人, 硕士, 教授, 硕士生导师, 主要从事果蔬加工及贮藏工程、野生资源利用研究。E-mail: hangao888@sohu.com。

1.3.2 提取时间对黄酮提取量的影响 准确称取 1.00 g 脱脂后的苦杏仁粉 5 份,分别置于 100 mL 圆底烧瓶中,加入 80% 乙醇,料液比为 1 g : 15 mL,于 80 ℃ 条件下分别提取 30、60、90、120、150 min。

1.3.3 料液比对黄酮提取量的影响 准确称取 1.00 g 脱脂后的苦杏仁粉 5 份,分别置于 100 mL 圆底烧瓶中,加入料液比为 1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25 (g : mL) 的 80% 乙醇,80 ℃ 条件下回流提取 60 min。

1.3.4 提取温度对黄酮提取量的影响 准确称取 1.00 g 脱脂后的苦杏仁粉 5 份,分别置于 100 mL 圆底烧瓶中,料液比为 1 g : 15 mL,用体积分数 80% 的乙醇分别在 40、50、60、70、80 ℃ 条件下提取 60 min。

1.3.5 响应面法优化试验 采用 Design - Expert 7. 1. 6 软件中的中心组合试验 (central composite design, CCD) 设计原理设计响应面试验。根据单因素试验结果,选取乙醇体积分数 (A)、提取温度 (B) 和料液比 (C) 3 个因素,以黄酮提取量为响应值,响应面试验的因素及水平见表 1。

表 1 苦杏仁中黄酮提取响应面试验的因素与水平

水平	因素		
	A:乙醇体积分数 (%)	B:提取温度 (℃)	C:料液比 (g : mL)
-1	60	60	1 : 10
0	80	70	1 : 15
1	95	80	1 : 20

2 结果与分析

2.1 乙醇体积分数对黄酮提取量的影响

由图 2 可知,随着乙醇体积分数增加,黄酮的提取量逐渐增大,当乙醇体积分数达到 80% 时,黄酮的提取量最高,超过该体积分数后,黄酮的提取量反而下降,因此选择乙醇体积分数 80% 左右比较适宜。

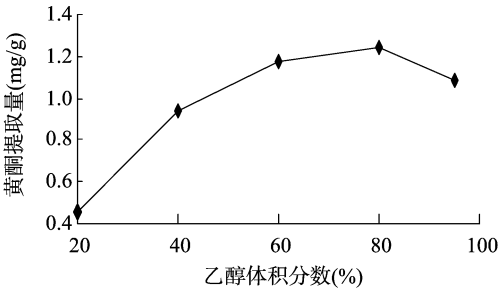


图2 乙醇体积分数对黄酮提取量的影响

2.2 提取时间对黄酮提取量的影响

由图 3 可知,提取时间为 60 min 时黄酮提取量达到最大,超过 60 min 后呈现下降趋势,故 60 min 为最佳提取时间。

2.3 料液比对黄酮提取量的影响

由图 4 可知,在一定范围内,黄酮提取量随乙醇用量的增大而增加,但乙醇用量增大到一定程度后,黄酮提取量逐渐趋于饱和,因此选择料液比 1 g : 15 mL 比较适宜。

2.4 提取温度对黄酮提取量的影响

由图 5 可知,随着浸提温度升高,黄酮提取量逐渐增加,当浸提温度为 70 ℃ 时达到最大值,随后呈下降趋势,因此选

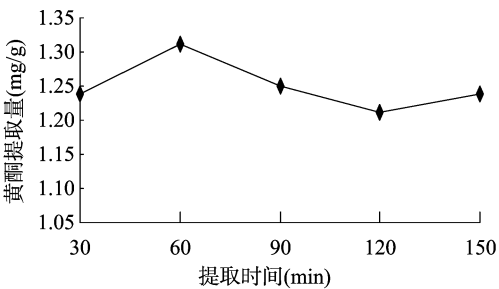


图3 提取时间对黄酮提取量的影响

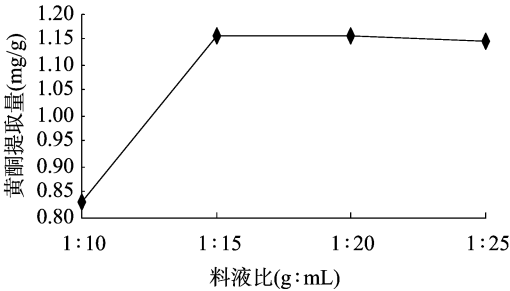


图4 料液比对黄酮提取量的影响

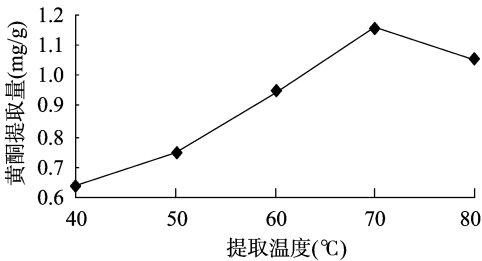


图5 提取温度对黄酮提取量的影响

择提取温度 70 ℃ 左右比较适宜。

2.5 杏仁黄酮提取工艺响应面法优化分析

响应面试验共有 17 个试验点,其中 12 个析因点,5 个中心点,设计及结果见表 2。采用响应面分析法分析试验结果,得到以黄酮提取量为响应值的回归方程:

黄酮提取量 = 1.38 + 0.052A + 0.16B + 0.010C - 0.028AB + 0.017AC + 2.5 × 10<sup>-3</sup>BC - 0.36A<sup>2</sup> - 0.21B<sup>2</sup> - 0.19C<sup>2</sup>。

由表 3 可知,以黄酮提取量为响应值时,模型  $P < 0.0001$ ,表明该二次方程模型显著。 $B$ 、 $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  为极显著的模型项, $A$  为显著的模型项,失拟项不显著 ( $P > 0.10$ ),回归方程拟合度和可信度较高,试验误差较小,说明该模型可以用于指导苦杏仁黄酮提取试验设计。各因素对黄酮提取量的影响由大到小依次为提取温度 > 乙醇体积分数 > 料液比。响应面分析法的图形是特定的响应值对应的各因素构成的一个三维空间,可以直观地反映各因素对响应值的影响,从试验所得的响应面分析图上可以分析出各因素之间的相互作用。各因素间交互作用的响应面图见图 6。

由图 6 可以看出,乙醇体积分数与提取温度的交互作用、乙醇体积分数与料液比的交互作用对黄酮提取量有显著影响;提取温度与料液比之间的交互作用对黄酮提取量影响不显著。

经过 Design - Expert 7. 1. 6 软件的分析,可以得出苦杏仁

表 2 苦杏仁中黄酮提取的响应面试验设计及结果

试验号	因素			黄酮提取量 (mg/g)
	A	B	C	
1	0	0	0	1.35
2	0	1	1	1.13
3	1	1	0	0.98
4	1	0	-1	0.83
5	0	-1	1	0.79
6	-1	0	-1	0.75
7	1	0	1	0.94
8	1	-1	0	0.72
9	0	0	0	1.35
10	0	0	0	1.39
11	0	0	0	1.35
12	-1	0	1	0.79
13	0	0	0	1.46
14	-1	-1	0	0.57
15	-1	1	0	0.94
16	0	1	-1	1.16
17	0	-1	-1	0.83

表 3 苦杏仁中总黄酮提取的方差分析

方差来源	平方和	自由度	方差	F 值	P 值	显著性
模型	1.23	9	0.14	61.18	<0.000 1	**
A	0.022	1	0.022	9.86	0.016 4	*
B	0.21	1	0.21	94.49	<0.000 1	**
C	$8 \times 10^{-4}$	1	$8 \times 10^{-4}$	0.36	0.568 6	
AB	$3.025 \times 10^{-3}$	1	$3.025 \times 10^{-3}$	1.35	0.282 9	
AC	$1.225 \times 10^{-3}$	1	$1.225 \times 10^{-3}$	0.55	0.483 3	
BC	$2.5 \times 10^{-5}$	1	$2.5 \times 10^{-5}$	0.01	0.918 8	
A <sup>2</sup>	0.56	1	0.56	249.19	<0.000 1	**
B <sup>2</sup>	0.19	1	0.19	86.05	<0.000 1	**
C <sup>2</sup>	0.15	1	0.15	67.10	<0.000 1	**
失拟项	$6.45 \times 10^{-3}$	3	$2.150 \times 10^{-3}$	0.93	0.503 8	

注：“\*”表示差异显著( $P < 0.05$ )；“\*\*”表示差异极显著( $P < 0.01$ )。

黄酮提取的最佳条件,结合试验验证,确定其最佳提取工艺条件为乙醇体积分数 81%、提取温度 74 ℃、提取时间 60 min、料液比 1 g : 15 mL,在该条件下黄酮提取量达到 1.41 mg/g。

### 3 结论

本研究首先通过单因素试验分别考察乙醇体积分数、浸提时间、浸提温度和料液比对苦杏仁黄酮提取量的影响,在此基础上,采用 Design - Expert 7.1.6 软件的中心组合设计方法设计响应面试验,建立了数学模型<sup>[8-10]</sup>,得到了较优的提取工艺条件。结合响应面分析得到的数学模型,预测更优的工艺条件,并进行验证试验,最后得到了黄酮的最佳提取工艺条件乙醇体积分数 81%、提取时间 60 min、提取温度 74 ℃、料液比 1 g : 15 mL,在该条件下黄酮提取量可达 1.41 mg/g。

### 参考文献:

[1] 肖朝霞,蒋萌蒙,王向军. 杏仁的功能性及其药理研究进展[J]. 农产品加工,2011(11):71-73.

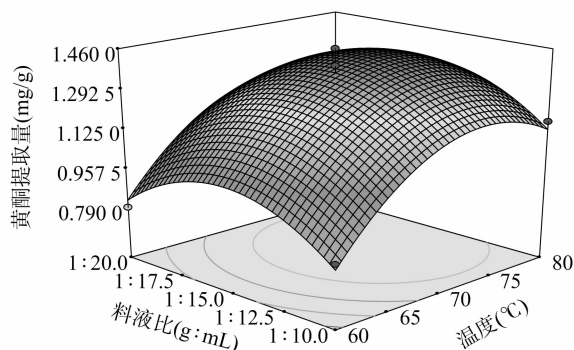
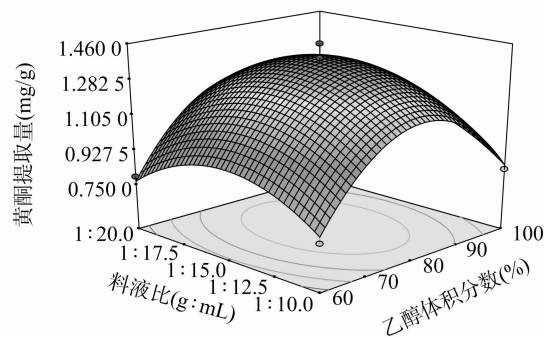
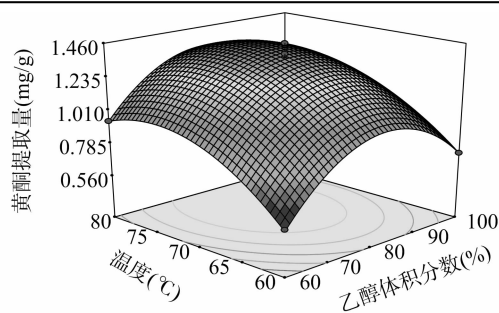


图 6 两两因素交互作用对黄酮提取量的影响

- [2] 杨晓宇,陈锦屏. 杏仁的营养保健功能及其在食品工业中的应用[J]. 食品科学,2005,26(9):629-631.
- [3] 文连君,张清安,张志琪. 响应曲面法优化苦杏仁皮总黄酮的微波提取工艺研究[J]. 南方农业学报 2011,42(1):74-78.
- [4] 姚 曦,岳永德,汤 锋. 响应面法优化竹叶黄酮萃取工艺及其抗氧化研究[J]. 食品工业科技,2012,33(21):223-226.
- [5] 周海旭,高 晗,曲良苗,等. 响应面法优化山楂叶中黄酮提取工艺[J]. 河南农业大学学报,2011,45(6):712-715.
- [6] 吴晓宁,张春椿. 乌蕨不同部位总黄酮和元素的分析[J]. 浙江中医药大学学报,2009,33(4):587-588.
- [7] 杨海涛,李志洲. 甜杏仁中黄酮化合物提取工艺的研究[J]. 光谱实验室,2007,24(3):513-515.
- [8] 朱兴一,陈 秀,谢 捷,等. 基于响应面法的闪式提取香菇多糖工艺优化[J]. 江苏农业科学,2012,40(5):243-245.
- [9] 邓 黎,周同永,皮 立,等. 用响应面法优化人工蛹虫草子实体中虫草素的超声提取工艺[J]. 江苏农业科学,2012,40(5):225-228.
- [10] 李芳亮,高 杨,王 锐,等. 响应面分析法优化黍米多糖水提工艺研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(4):263-266.