

文章编号:1671-1513(2012)01-0026-04

响应面法优化微波辅助提取紫苏中迷迭香酸

徐春明, 李丹

(北京工商大学食品学院/食品添加剂与配料北京高校工程研究中心/
北京市食品风味化学重点实验室, 北京 100048)

摘要:采用微波辅助提取紫苏叶中迷迭香酸,通过响应面分析对提取工艺进行优化,得出较优工艺条件为微波功率560 W,处理时间为4.5 min,料液比为1:33(每33 mL溶液中含有1 g物料),迷迭香酸产率为2.55 g/mg。通过对微波辅助提取和常规提取工艺的比较,可以得出利用微波辅助提取紫苏叶中迷迭香酸的工艺是可行的。

关键词:紫苏;微波辅助提取;响应面;迷迭香酸

中图分类号:TS255.5

文献标志码:A

紫苏(*perilla frutescens*)系唇形科一年生草本植物,我国已有2000多年的栽培历史,在我国范围内广泛栽培^[1-2]。主要用于药用、油用、香料、食用等方面^[3],近些年来,紫苏因其特有的活性物质及营养成分,成为一种倍受世界关注的多用途植物,经济价值很高^[4]。紫苏是卫生部颁布的药食同源目录中的植物之一^[5-6],具有解毒、散热、镇咳、抗菌等功能^[7]。现代科学研究证明,紫苏是一种极具开发价值的保健资源^[8-9]。紫苏中含有多种植物多酚类化合物,迷迭香酸是其中的一种,一些实验研究证明迷迭香酸具有抗氧化活性,可以清除自由基,且具有抗菌作用^[10-11],可用于植物源防腐剂,化妆品功能性添加剂,对人类美容养颜、减缓衰老和强身健体都起着重要的作用^[12-13]。本文利用响应面优化设计结合微波辅助提取紫苏叶中迷迭香酸活性成分,为进一步开发紫苏资源提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

紫苏叶来自甘肃泾源县,60℃干燥至恒重,粉碎过40目筛后备用。乙醇、NaAc、FeSO₄购自北京汇海科仪科技有限公司,均为化学纯。迷迭香酸标准品购自中国食品药品检定研究院。

1.2 提取方法

利用微波辅助提取,取精确称重的粉碎后紫苏叶,添加30 mL 70%乙醇为提取溶剂,根据实验设计

要求,设定相关参数,在CEM-MARS微波消解仪中,提取紫苏叶中的迷迭香酸。通过单因素试验研究不同微波功率、提取时间和料液比对迷迭香酸提取率的影响。每组试验重复三次。在单因素试验的基础上通过响应面优化设计实验确定最佳提取工艺。迷迭香酸的产率按照式(1)计算。

$$\text{迷迭香酸产率}(\text{mg/g}) = \frac{\text{提取液中迷迭香酸浓度}(\text{mg/mL}) \times \text{提取液体积}(\text{mL})}{\text{紫苏叶的质量}(\text{g})} \quad (1)$$

1.3 迷迭香酸的测定方法^[14]

利用分光光度法,配制迷迭香酸标准溶液,浓度分别为0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 mg/mL,按照下面的方法绘制标准曲线。5 mL反应体系中含有4 mL 0.1 mol·L⁻¹ pH值为6.0的NaAc缓冲液,30 μL 0.2 mol·L⁻¹ FeSO₄溶液,0.2 mL样品溶液,0.77 mL蒸馏水。混匀后暗处放置5 min,568 nm下测定吸光度,无水乙醇作为空白对照。

2 结论与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 不同微波功率对迷迭香酸产率的影响

选取70%乙醇为提取溶剂,提取时间为3 min,料液比为1:30(每30 mL溶液中含有1 g物料,下同),研究微波功率对迷迭香酸提取率的影响,结果见图1。

图1 微波功率对迷迭香酸产率的影响

Fig.1 Effect of microwave power on rosmarinic acid content

微波射线到达细胞内部后,细胞内的温度升高,高温使细胞内压力增加,细胞破裂,胞内物质流出,溶解至周围溶剂中.在这个过程中微波的功率显著影响物质释放的效率.随着微波功率的提高,迷迭香酸的产率提高,当微波功率达到450 W时,得率达到最大值,见图1.微波功率大于450 W时,迷迭香酸的产率反而下降,其原因可能是由于随着微波功率的加大,破坏了迷迭香酸的结构和稳定性,从而导致产率下降,因此可以选择450 W作为微波提取的最佳功率.

2.1.2 不同提取时间对迷迭香酸产率的影响

选取微波功率为450 W,乙醇浓度为70%,料液比为1:30,研究提取时间对迷迭香酸产率的影响,结果见图2.

图2 提取时间对迷迭香酸产率的影响

Fig.2 Effect of extraction time on rosmarinic acid content

提取时间显著影响迷迭香酸的产率,从图2可以看出,随着提取时间的增加,迷迭香酸的产率在增加,并且在提取时间为4 min时达到最大值.从迷迭香酸产率的变化趋势分析,提取时间过短迷迭香酸不能完全溶出,而提取时间过长可能破坏迷迭香酸的结构,导致产率下降.因此4 min为最佳提取时间.

2.1.3 不同料液比对迷迭香酸产率的影响

选取微波功率为450 W,乙醇浓度为70%,提取时间为4 min,研究料液比对迷迭香酸产率的影响,结果见图3.

从图3中可以看出,随着料液比的提高,迷迭香酸的产率在增大,当料液比为1:40时,产率和料液

图3 料液比对迷迭香酸产率的影响

Fig.3 Effect of solid/liquid on rosmarinic acid content

比为1:50时差别不大,因此从成本考虑,选择料液比为1:40可以降低提取溶剂的使用量.

2.2 响应面优化实验

2.2.1 响应面设计因素和水平

根据单因素实验的结果,选取微波功率、提取时间和料液比三因素,具体试验设计见表1.

表1 响应面设计因素和水平

Tab.1 Factors and levels of response surface design

水平	因素		
	X_1 微波功率/W	X_2 提取时间/min	X_3 料液比/(g·mL ⁻¹)
-1	300	3	1/30
0	450	4	1/40
1	600	5	1/50

2.2.2 回归模型的建立

根据所设计的试验方案进行响应面试验,试验结果如表2.

表2 Box-Behnken设计和结果

Tab.2 Box-Behnken design and results

试验号	微波功率	提取时间	料液比	迷迭香酸产率/(mg·g ⁻¹)
1	-1	-1	0	2.07
2	1	-1	0	1.96
3	-1	1	0	2.14
4	1	1	0	2.36
5	-1	0	-1	2.02
6	1	0	-1	1.95
7	-1	0	1	1.92
8	1	0	1	2.63
9	0	-1	-1	2.01
10	0	1	-1	2.17
11	0	-1	1	2.14
12	0	1	1	2.29
13	0	0	0	2.37
14	0	0	0	2.6
15	0	0	0	2.41
16	0	0	0	2.54
17	0	0	0	2.5

利用统计分析软件,对表2数据进行二次回归拟合,得到回归方程 $Y = 2.48 + 0.094X_1 + 0.098X_2 + 0.1X_3 + 0.082X_1X_2 + 0.2X_1X_3 - 0.0025X_2X_3 - 0.19X_1^2 - 0.16X_2^2 - 0.17X_3^2$.

如表3所示,通过方差分析,回归模型极显著,除了 X_1X_2 和 X_2X_3 交互项之外,其他各项对结果的影响均达到显著水平,失拟值不显著,模型的 $R^2 = 0.9054$ 说明模型与实际的试验结果的拟合程度较好^[15],可以用此模型对迷迭香酸提取试验进行预测.

2.2.3 响应面分析

根据回归方程,可做出响应面和等高线图,从图4中可以看出不同交互作用的等高线图结合表3的显著性检验结果,可以得出微波功率和处理时间的交互作用不显著,处理时间和料液比的交互作用不显著,其等高线图近圆形.而微波功率和料液比的

表3 回归模型的方差分析

Tab.3 ANOVA of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	0.834 755	9	0.092 751	7.441 732	0.007 4
X_1	0.070 313	1	0.070 313	5.641 441	0.049 2
X_2	0.076 05	1	0.076 05	6.101 782	0.042 8
X_3	0.086 113	1	0.086 113	6.909 135	0.034 0
X_1X_2	0.027 225	1	0.027 225	2.184 366	0.182 9
X_1X_3	0.152 1	1	0.152 1	12.203 56	0.010 1
X_2X_3	0.000 025	1	0.000 025	0.002 006	0.965 5
X_1^2	0.147 238	1	0.147 238	11.813 46	0.010 9
X_2^2	0.113 938	1	0.113 938	9.141 673	0.019 3
X_3^2	0.117 427	1	0.117 427	9.421 647	0.018 1
残差	0.087 245	7	0.012 464		
失拟值	0.051 925	3	0.017 308	1.960 174	0.262 0
纯误差	0.035 32	4	0.008 83		
总差	0.922	16			

图4 各因素交互作用的响应面和等高线图

Fig.4 Response surface and contour line figure of interaction

交互作用比较显著,其等高线图呈椭圆形^[16]。

2.2.4 回归模型的验证试验

根据回归方程及上述分析,响应面存在最大值,解方程可得紫苏叶中迷迭香酸的最佳提取工艺为微波功率 561 W,处理时间为 4.48 min,料液比为 1:32.6,理论最大包合率为 2.58 g/mg。考虑实际操作,取微波功率 560 W,处理时间为 4.5 min,料液比为 1:33,三次重复试验结果平均值为 2.55 g/mg。基本与预测值相符,因此,本模型可以较好地反映紫苏叶中迷迭香酸的最佳提取工艺。

2.3 微波辅助提取和常规提取比较

微波辅助提取和常规溶剂浸提对紫苏叶中迷迭香酸产率的比较见表 4,从表 4 中可以看出,微波辅助提取缩短了提取时间,提高了迷迭香酸的产率。因此利用微波辅助提取紫苏叶中迷迭香酸的工艺是可行的。

表 4 微波辅助提取和常规提取比较

Tab.4 Difference in microwave-assisted extraction and conventional extraction

提取方法	溶剂	提取时间	迷迭香酸产率/ (mg·g ⁻¹)
微波辅助	70% 乙醇	4.5 min	2.55
溶剂浸提	70% 乙醇	24 h	2.27

3 结 论

采用微波辅助提取紫苏叶中迷迭香酸,通过单因素试验和 Box-Behnken 试验设计以及响应面分析对提取工艺进行优化,得出较优工艺条件为微波功率 560 W,处理时间为 4.5 min,料液比为 1:33,三次重复试验结果平均值为 2.55 g/mg。并得到迷迭香酸产率与提取条件各因素变量的二次方程模型,该模型回归极显著,对试验结果拟合良好,可应用于实际预测。

通过对微波辅助提取和常规提取工艺的比较,可以得出利用微波辅助提取紫苏叶中迷迭香酸的工艺是可行的。

参考文献:

[1] 张燕平,戴志远,陈肖毅. 紫苏提取物体外清除自由基能力研究[J]. 食品工业科技, 2003,24:67-70.
 [2] Lee J H, Baek I Y, Kang N S, et al. Optimization of extraction conditions and comparison of rosmarinic and caffeic acids from leaves of *Perilla frutescens* varieties [J].

Food Science and Biotechnology, 2009, 18: 793-798.

[3] Middleton E, Kandaswami C, Theoharides T C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammations, heart disease, and cancer [J]. *Pharmacology Reviews*, 2000, 52: 673-751.
 [4] 刘宁,仇农学,田玉霞. 超声辅助提取紫苏叶黄酮及其清除自由基作用研究[J]. 西北林学院学报, 2008, 23:158-161.
 [5] Nakazawa T, Ohsawa K. Metabolites of orally administered *Perilla frutescens* extract in rats and humans [J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2000, 23:122-127.
 [6] 李秀信,王荣花,李萍. 紫苏黄酮对食用油脂抗氧化作用的研究[J]. 中国粮油学报, 2007,22:63-65.
 [7] Saito K, Yamazaki Y. Biochemistry and molecular biology of the latestage of biosynthesis of anthocyanin; Lessons from *Perilla frutescens* as a model plant [J]. *New Phytologist*, 2002, 155: 9-23.
 [8] Kim E K, Lee S J, Lim B O, et al. Antioxidative and neuroprotective effects of enzymatic extracts from leaves of *Perilla frutescens* var. *japonica* [J]. *Food Science and Biotechnol*, 2008, 17: 279-286.
 [9] Choi H S, Min K C. Headspace analysis of *Perilla frutescens* var. *acuta* Kudo by solid-phase microextraction using diverse fibers [J]. *Food Science and Biotechnol*, 2003, 12: 409-414.
 [10] 李荣贵,腾大为,杜桂彩,等. 紫苏愈伤组织迷迭香酸的纯化及抗菌活性研究[J]. 微生物学通报, 2000,27:324-327.
 [11] 黄丹,钟世荣,严芳,等. 紫苏水提物抗氧化活性评价[J]. 中国食品添加剂, 2010, 3:190-193.
 [12] 肖翔,周立平,马新. 红曲发酵中添加紫苏叶提取物对其抗氧化活性的影响[J]. 中国酿造, 2011,7:50-53.
 [13] 张鑫,张志军,李会珍,等. 紫苏叶花青素的提取及测定[J]. 食品研究与开发, 2009,30:187-190.
 [14] 杜桂彩,王素君,杨宏. 分光光度法测定苏叶中的迷迭香酸含量[J]. 青岛大学学报, 2003, 18: 67-69.
 [15] 韩枫,李稳宏,李冬,等. 响应面优化超声波提取薯蓣皂素工艺研究[J]. 食品科学, 2007,28:96-100.
 [16] Jakobsen M, Bertelsen G. Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition [J]. *Meat Science*, 2000,54(1): 49-57.

Probiotic Properties of Two Self-chosen *Lactobacillus* Strains

LIN Xiao-zi^{1,2}, LIANG Zhang-cheng^{1,2}, HE Zhi-gang^{1,2}, LI Wei-xin^{1,2}, REN Xiang-yun^{1,2}

(1. Institute of Agricultural Engineering Technology, Fujian Academy Agricultural Sciences, Fujian Fuzhou 350003, China; 2. Agricultural Products Storage and Process Research Centre, Fujian Academy Agricultural Sciences, Fujian Fuzhou 350013, China)

Abstract: The probiotic properties of two self-chosen *lactobacillus* strains were studied to provide the theoretical foundation for the research and development of lactic acid fermentation beverage. The stress resistance of *lactobacillus plantarum* R23 and *lactobacillus casei* R35 were investigated in a simulated environment of gastric acidity and bile salts, the adhesion ability were determined such as their aggregation properties and cell-surface hydrophobicity. The antioxidation of the broth including the scavenging effects on superoxide radical and hydroxyl radical was evaluated in vitro. The results showed that the stress resistance of the both strains was superior to the control group *lactobacillus delbrueckii subsp* 6045. The tolerance of pH value was 2.5 and bile salt was 5 g·L⁻¹ for the *lactobacillus plantarum* R23, showing the strongest stress resistance. The adhesion of the *lactobacillus casei* R35 was the strongest in contrast with the control group, the hydrophobicity of the *lactobacillus paltarum* R23 was stronger, while its aggregation properties was weaker. The extracellular products of three strains had antioxidant capacity after 24 h culture, while *lactobacillus paltarum* R23 showed the best. Its scavenging rate to superoxide radical and hydroxyl radical was 77.8% and 80.94% respectively, which was 36.72% and 5.81% higher than the control group.

Key words: *lactobacillus plantarum*; *lactobacillus casei*; probiotic properties; antioxidation

(责任编辑:叶红波)

(上接第29页)

Response Surface Method for Microwave-Assisted Extraction of Rosmarinic Acid in *Perilla Frutescens* Leaves

XU Chun-ming, LI Dan

(School of Food and Chemical Engineering/Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients/Beijing Key Laboratory of Food Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: Microwave-assisted extraction of rosmarinic acid in *perilla frutescens* leaves was optimized by response surface method. The optimal process conditions were as follows, the microwave power 560 W, processing time 4.5 min, solid-liquid ratio 1:33 (1 g solid in 33 mL solvent). Under the optimal conditions, the rosmarinic acid yield reached 2.55 g/mg. Compared with conventional extraction process of rosmarinic acid in *perilla frutescens* leaves, microwave-assisted extraction process is feasible.

Key words: *perilla frutescens*; microwave-assisted extraction; response surface method; rosmarinic acid

(责任编辑:李 宁)