

# 响应面法优化超声波辅助提取玉米须多酚工艺的研究

李 静, 李顺峰, 刘丽娜, 杨 慧, 王安建, 田广瑞

(河南省农业科学院 农副产品加工研究所, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 为了优化玉米须多酚的提取工艺, 以玉米须多酚提取量为指标, 在单因素试验基础上, 采用响应面法考察液料比、超声温度和时间对玉米须多酚提取量的影响, 并对其进行优化。结果表明, 超声波辅助提取玉米须多酚的最佳工艺条件为液料比 34 : 1、温度 75 °C、时间 50 min, 在此条件下, 玉米须多酚的提取量为 174.07 mg/g。

**关键词:** 玉米须; 多酚; 响应面分析; 超声波

**中图分类号:** TS210.9    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1004-3268(2013)07-0153-05

## Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction of Polyphenols from Corn Silk by Response Surface Methodology

LI Jing, LI Shun-feng, LIU Li-na, YANG Hui, WANG An-jian, TIAN Guang-rui

(Institute of Agricultural Products Processing, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** In order to optimize the technology for the extraction of polyphenols from corn silk, the extraction amount of polyphenols was taken as index to analyze the effects of solvent-to-solid ratio, ultrasonic extraction temperature and time on the extraction amount of polyphenols. Moreover, on the basis of single-factor test, response surface methodology was used to optimize the technology for the ultrasonic-assisted extraction of polyphenols from corn silk. The results showed that the optimum ultrasonic-assisted extraction condition was solvent-to-solid ratio of 34 : 1, extraction temperature of 75 °C, and extraction time of 50 min. The yield of corn silk polyphenols was 174.07 mg/g under the optimum extraction condition.

**Key words:** corn silk; polyphenols; response surface analysis; ultrasonic

玉米是我国传统的粮食作物之一, 全国各地均广泛栽培。玉米须是玉米加工过程中的主要副产物之一, 长期以来, 对玉米须的开发利用非常有限, 除了少量入药外, 大部分被废弃<sup>[1]</sup>。玉米须富含多酚、多糖、蛋白质等多种有益于人体的化学成分<sup>[2-4]</sup>。有研究表明, 玉米须具有显著的利尿、降血糖、抑菌、降压、增强免疫、抗癌等功效<sup>[3-5]</sup>。因此, 充分利用玉米须并开发其有益成分多酚具有重要意义。

超声波辅助提取法具有快速、方便、安全、易于

工业化等特点, 已广泛应用于天然产物活性成分的提取分离<sup>[6-9]</sup>。响应面分析法是一种有效的工艺优化方法, 采用多元二次回归方程来拟合各因子与响应值之间的函数关系, 进而获得最优工艺参数。近年来, 响应面分析法已越来越多地应用于工业生产中<sup>[10-13]</sup>。迄今为止, 未见关于响应面法优化超声波辅助提取玉米须多酚工艺的研究。鉴于此, 以玉米须多酚提取量为响应值, 在单因素试验基础上, 利用响应面法对玉米须多酚的超声波辅助提取工艺进行

收稿日期: 2013-01-17

基金项目: 超级产粮大省奖励资金扶持农业科研项目

作者简介: 李 静(1981-), 女, 河南南阳人, 助理研究员, 博士, 主要从事农产品贮藏保鲜及加工方面的研究。

E-mail: ruochenjl@163.com

优化,以提高玉米须多酚的提取效率,为玉米须多酚的开发提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

玉米须来自郑单 958(河南省农业科学院试验基地),去除杂质后经恒温干燥至恒质量,过 0.45 mm 筛,备用;没食子酸、无水乙醇、石油醚、碳酸钠(国药集团化学试剂有限公司),福林酚(北京索莱宝科技有限公司)。

仪器:UV/VIS 2802 型分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司)、ANANTI J-E 高速离心机(美国 Beckman Coulter 有限公司)、KQ-300DE 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)、GZX-9140MBE 数显鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)。

### 1.2 多酚标准曲线的绘制

分别取 0.1 mL 质量浓度为 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 g/L 的没食子酸标准溶液,加入 4.9 mL 已经稀释 10 倍的福林酚试剂,混匀,静置 8 min,加入 1.5 mL 200 g/L 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液,摇匀,按上述同样方法配制空白试剂,在最大吸收波长 760 nm 处测定吸光度。以吸光度( $y$ )为纵坐标,没食子酸质量浓度( $x$ )为横坐标,绘制标准曲线。

### 1.3 多酚含量的测定

精确称取 1.0 g 玉米须粉末放入锥形瓶中,按照一定的液料比加入体积分数为 50% 的乙醇,摇匀,在超声功率 300 W、一定的超声温度下浸提一段时间,离心,过滤后定容至 50 mL,即得玉米须多酚提取液。采用福林酚法<sup>[14]</sup>按照 1.2 中的方法测定样品多酚含量。

### 1.4 超声波辅助提取玉米须多酚的单因素试验

1.4.1 液料比 分别按液料比 10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1 加入 50% 乙醇,然后在超声温度 60 °C 条件下处理 30 min,测定样品多酚含量。

1.4.2 超声温度 按最佳液料比加入体积分数为 50% 的乙醇溶液,然后分别在超声温度 30、40、50、60、70、80 °C 条件下处理 30 min,测定样品多酚含量。

1.4.3 超声时间 按最佳液料比加入体积分数为 50% 的乙醇溶液,然后在最佳超声温度下分别处理 15、30、45、60、75 min,测定样品多酚含量。

### 1.5 超声波辅助提取玉米须多酚的响应面试验

在单因素试验结果的基础上,根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理<sup>[15]</sup>,以液料比( $A$ )、超声温度( $B$ )和时间( $C$ )3 个因素为自变量,进行三因素三水平的响应面分析试验,响应面分析因素及水平见表 1。

表 1 超声波辅助提取玉米须多酚的响应面分析因素与水平

水平	因素		
	液料比( $A$ )	超声温度( $B$ )/°C	超声时间( $C$ )/min
-1	10:1	40	30
0	25:1	60	45
1	40:1	80	60

### 1.6 数据处理

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对数据进行回归分析。

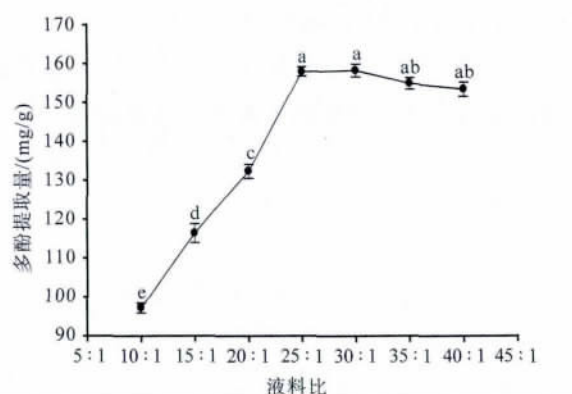
## 2 结果与分析

### 2.1 多酚标准曲线

没食子酸质量( $x$ )与吸光度( $y$ )之间的关系为  $y=0.0973x-0.006$ ,  $R^2=0.9998$ ,相关性良好。根据此方程,可通过测定玉米须多酚提取液的吸光度而得知其提取量。

### 2.2 超声波辅助提取玉米须多酚的单因素试验结果

2.2.1 液料比对玉米须多酚提取量的影响 由图 1 可知,当液料比介于 10:1~25:1 时,随着液料比的增加,玉米须多酚提取量不断提高,在液料比为 25:1 时,多酚提取量达到最大,为 157.91 mg/g;当液料比大于 25:1 时,提取量开始下降,但与 25:1 时的提取量无显著差异。这说明随着液料比的增大,溶出的多酚增多,但是当多酚几乎完全溶出时,再增加液料比对其提取量影响不大。综合考虑,液料比以 25:1 为佳。



不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著,下同

图 1 液料比对玉米须多酚提取量的影响

2.2.2 超声温度对玉米须多酚提取量的影响 如图2所示,当超声温度低于70℃时,玉米须多酚的提取量随温度的增加迅速提高;当温度为70℃时,多酚提取量最高,达到164.70 mg/g;当温度大于70℃时,多酚提取量降低。这是由于温度升高,既促进了有效成分的溶解,又加强了超声的空化效应和机械效应。因此,在玉米须多酚提取过程中,适当升高温度有利于提高多酚提取量。然而当温度超过70℃时,提取量反而略有下降。这说明温度过高不利于多酚的提取,主要是因为高温会造成溶剂气化,使浸出过程难以进行<sup>[6,8]</sup>。从图2可以看出,60℃和70℃条件下,玉米须多酚提取量无显著差异。因此,超声温度以60℃为宜。

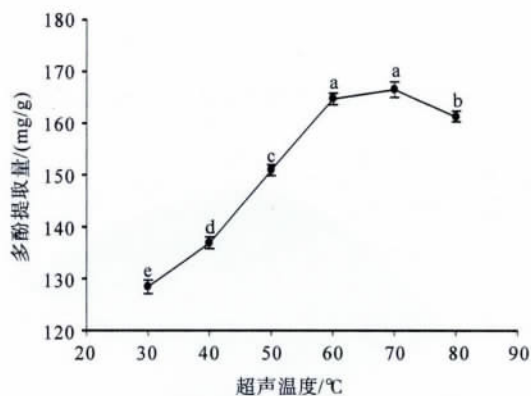


图2 超声温度对玉米须多酚提取量的影响

2.2.3 超声时间对玉米须多酚提取量的影响 如图3所示,随着超声时间的延长,玉米须多酚提取量逐渐提高,当提取时间为75 min时,多酚提取量最高,达到171.52 mg/g,但是与60 min时的提取量(170.78 mg/g)并无显著差异。与传统的有机溶剂提取相比,超声波通过机械和空化作用增大分子运动的频率及速度,从而增强溶剂穿透能力,提高多酚类物质的溶出速率和数量。但是随着超声时间的延长,其机械和空化作用可能会破坏玉米须多酚类物质。因此,超声时间以60 min为佳。

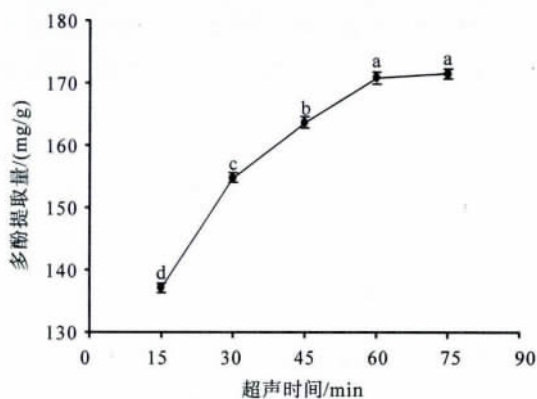


图3 超声时间对玉米须多酚提取量的影响

## 2.3 超声波辅助提取玉米须多酚的响应面试验结果

2.3.1 响应面试验设计及结果 利用 Design-Expert 8.0.6 软件对响应面试验结果(表2)进行二次多元回归拟合,得到玉米须多酚提取量(Y)与液料比(A)、超声温度(B)和时间(C)各因素间的多元回归方程为: $Y = 161.94 + 13.71A + 18.32B + 9.65C + 3.09AB - 4.70AC - 1.52BC - 12.27A^2 - 12.76B^2 - 6.90C^2$ 。

对回归方程进行方差分析,结果见表3。模型的 $F = 106.15 > F_{0.01}(9, 4) = 14.66$ ,  $P < 0.0001 < 0.01$ ,表明该模型具有高度显著性;失拟项 $P = 0.1685 > 0.05$ ,表明失拟性检验结果不显著; $R^2 = 0.9927$ ,  $R^2_{Adj} = 0.9834$ ,表明该模型拟合程度好,试验误差小,可以用该模型来分析和预测超声波辅助提取玉米须多酚的结果。各因素一次项(A、B、C)、二次项( $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ )及交互项(AC)对多酚提取量的影响均极显著。这说明玉米须多酚的提取量受到液料比、超声温度 and 时间的显著影响。根据庄恒扬等<sup>[16]</sup>的因素重要性分析方法进行分析发现,在各影响因素中,对玉米须多酚提取量影响最大的是超声温度(B),其次是液料比(A),最后是超声时间(C)。

表2 超声波辅助提取玉米须多酚的响应面分析试验结果

试验号	因素			提取量/(mg/g)
	A	B	C	
1	0	-1	-1	114.11
2	1	-1	0	130.11
3	0	0	0	164.48
4	0	0	0	160.71
5	0	1	1	167.39
6	1	0	1	163.07
7	-1	1	0	137.51
8	0	0	0	160.25
9	-1	-1	0	108.28
10	-1	0	1	145.63
11	1	1	0	171.71
12	1	0	-1	149.30
13	-1	0	-1	113.05
14	0	1	-1	155.02
15	0	0	0	160.56
16	0	0	0	163.68
17	0	-1	1	132.58

表3 回归方程方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	6 753.87	9	750.43	106.15	<0.000 1
A	1 504.60	1	1 504.60	212.83	<0.000 1
B	2 684.30	1	2 684.30	379.71	<0.000 1
C	744.93	1	744.93	105.38	<0.000 1
AB	38.22	1	38.22	5.41	0.053 0
AC	88.43	1	88.43	12.51	0.009 5

续表 3 回归方程方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
BC	9.27	1	9.27	1.31	0.289 8
A <sup>2</sup>	634.10	1	634.10	89.70	<0.000 1
B <sup>2</sup>	685.63	1	685.63	96.99	<0.000 1
C <sup>2</sup>	200.47	1	200.47	28.36	0.001 1
残差	49.49	7	7.07		
失拟项	33.73	3	11.24	2.85	0.168 5
净误差	15.75	4	3.94		
总和	6 803.35	16			

$R^2=0.992\ 7$   $R_{adj}^2=0.983\ 4$

2.3.2 提取工艺的响应曲面分析 为了直观地考察几个影响因子的交互作用对玉米须多酚提取量的影响,固定 1 个因素在零水平上,研究另 2 个因素间的交互作用。图 4 表明,随着液料比和超声温度的升高,玉米须多酚的提取量增加,但当液料比和超声温度过高时,提取量略有下降。图 5 表明,随着超声时间的延长和液料比的增加,玉米须多酚的提取量增多,但是当液料比大于 25 : 1 时,提取量变化不大,无显著差异。图 6 表明,随着超声时间的延长和温度的升高,玉米须多酚的提取量增加,但是温度过高时,提取量反而下降。综上所述,液料比和超声时间、液料比和超声温度之间的交互作用显著,其中液料比和超声温度对玉米须多酚提取量的影响最大,随着液料比和超声温度的增加,多酚提取量也不断提高。

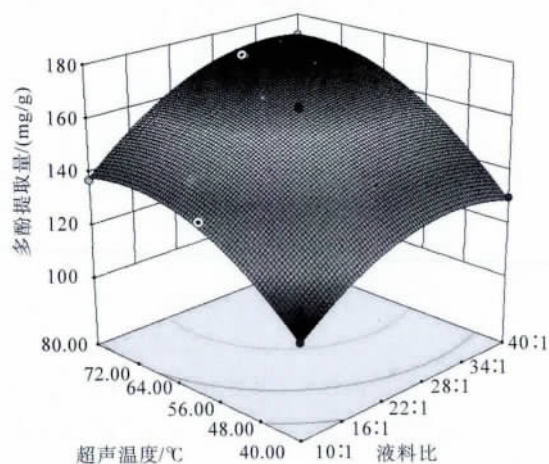


图 4 超声温度和液料比对玉米须多酚提取量的影响

2.3.3 最佳工艺条件及验证结果 通过所得回归模型对提取工艺进行优化,得出最佳提取工艺条件:液料比 33.61 : 1、超声温度 75.25 °C、超声时间 51.27 min,此条件下,多酚提取量为 174.88 mg/g。根据实际情况,确定液料比为 34 : 1、超声温度为 75 °C、超声时间为 50 min,对此优化结果进行验证试验,重复 3 次,获得多酚平均提取量为 174.07 mg/g,

与预测值 174.88 mg/g 基本一致,进一步验证了回归模型的正确性,充分说明了该模型能较好地模拟和预测玉米须多酚提取量。

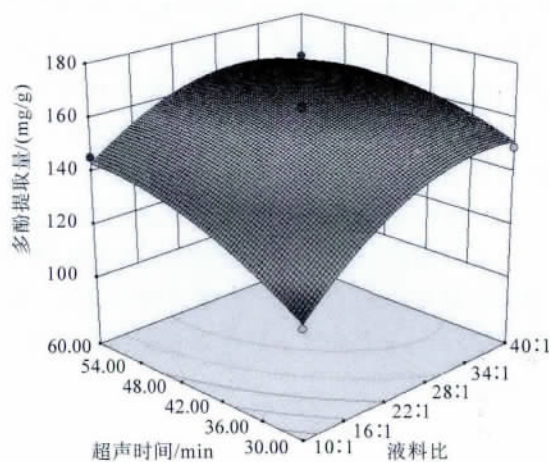


图 5 超声时间和液料比对玉米须多酚提取量的影响

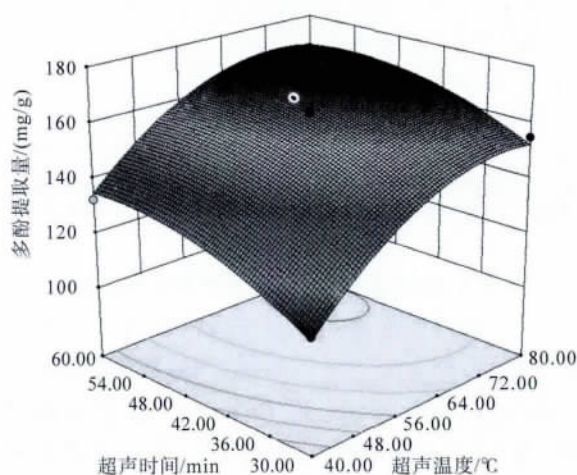


图 6 超声时间和温度对多酚提取量的影响

### 3 结论

本研究采用超声波辅助提取玉米须多酚类物质,通过单因素和响应面试验,确定各因素对玉米须多酚提取量影响的主次顺序为超声温度 > 液料比 > 超声时间;多酚提取的最佳工艺条件为液料比 34 : 1、超声温度 75 °C、超声时间 50 min,在此条件下,玉米须多酚的提取量为 174.07 mg/g。采用响应面法优化得到的超声波辅助提取玉米须多酚的条件参数准确、可靠,具有较好的参考价值,是一种较为理想的提取新工艺。

#### 参考文献:

- [1] 鲁晓翔,连喜军,唐津忠,等. 玉米加工副产物高附加值利用研究进展[J]. 粮油加工,2007(4):84-87.

(下转第 160 页)

但得率较低,提取时间较长。超声强化提取可缩短时间,但超声波容易破坏提取物有效成分,且提取时间需要 30 min 以上。本研究采用超高压提取法,通过加压破坏细胞,促进阿魏酸溶出。细胞在几分钟内即被破坏,提取时间大大缩短,且阿魏酸破坏小,得率也有所提高。

本研究得出超高压提取洋葱阿魏酸的最佳工艺条件为固液比 1:22、乙醇体积分数 75%、超高压压力 320 MPa、超高压时间 4.0 min,在此条件下阿魏酸得率可达 0.322%。此方法用时短、得率高,在提取洋葱阿魏酸方面具有很好的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] 张平真. 洋葱引入考[J]. 中国蔬菜, 2002(6): 56-57.
- [2] 郭詹菁. 洋葱类黄酮的提取及生物活性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2010.
- [3] 谭仁祥. 植物成分分析[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 486-495.
- [4] 梁红冬. 阿魏酸的合成及抗氧化性能的研究[J]. 化学与生物工程, 2012, 29(1): 60-63.
- [5] 黎乃维. 洋葱黄酮类化合物及其功能食品的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- [6] 陈佳. 洋葱皮黄酮酶法辅助提取、纯化及体外抗氧化研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
- [7] 王莹. 洋葱皮总黄酮提取与纯化工艺的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2007.
- [8] 赵志添, 马翠, 廖克俭. 微波法提取升麻中阿魏酸的工艺研究[J]. 化学与生物工程, 2011, 28(2): 52-54.
- [9] 张志清, 帅瑾, 周利茗, 等. 超声波辅助碱醇提取麦麸中阿魏酸工艺优化[J]. 食品科学, 2010, 31(12): 83-88.
- [10] 信维平, 孙建华, 张福娟. 新型食品抗氧化剂阿魏酸的提取及应用的研究[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(6): 125-126.
- (上接第 156 页)
- [2] 韩萍, 李海燕, 侯长希. 玉米须的化学成分及其应用研究进展[J]. 现代农业科技, 2009(18): 17-18, 21.
- [3] 朱旭, 邱智东. 玉米须的化学成分及药理作用研究[J]. 长春中医药大学学报, 2009, 25(2): 183-185.
- [4] El-Ghorab A, El-Massry K F, Shibamoto T. Chemical composition of the volatile extract and antioxidant activities of the volatile and nonvolatile extracts of Egyptian corn silk (*Zea mays* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(22): 9124-9127.
- [5] Ebrahimzadeh M A, Pourmorad F, Hafezi S. Antioxidant activities of Iranian corn silk [J]. Turkish Journal of Biology, 2008, 32: 43-49.
- [6] 毕良武, 赵振东, Vinatoru M, 等. 超声波技术在生物质资源加工领域的应用研究进展[J]. 林产化学与工业, 2007, 27(B10): 138-142.
- [7] 郑利琴, 张愨, 孙金才, 等. 微波与超声波提取杨梅汁多酚类物质的对比研究[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(4): 514-520.
- [8] 汝绍刚, 赵文英, 崔波, 等. 超声法提取石榴皮多酚的研究[J]. 化学与生物工程, 2011, 28(10): 43-46.
- [9] 尹志娜. 植物多酚分离提取方法和生物功能研究进展[J]. 生命科学仪器, 2010, 8(3): 43-49.
- [10] 任天宝, 马孝琴, 徐桂转, 等. 响应面法优化玉米秸秆蒸汽爆破预处理条件[J]. 农业工程学报, 2011, 27(9): 282-286.
- [11] 李顺峰, 刘兴华, 张丽华, 等. 真姬菇子实体多糖的提取工艺优化[J]. 农业工程学报, 2008, 24(2): 281-284.
- [12] 张黎骅, 张文, 吕珍珍, 等. 响应面法优化酒糟微波间歇干燥工艺[J]. 农业工程学报, 2011, 27(3): 369-374.
- [13] 孟祥敏, 殷金莲. 响应面法优化木瓜果实中齐墩果酸提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(1): 37-40.
- [14] Maksimović Z, Malenčić D, Kovačević N. Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts [J]. Bioresource Technology, 2005, 96(8): 873-877.
- [15] 李云雁, 胡传荣. 试验设计与数据处理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [16] 庄恒扬, 成敬生. 作物规范化栽培试验分析几个问题商榷[J]. 农业系统科学与综合研究, 1990(4): 42-46.