

李 洁, 王沂雯, 郑涵予, 等. 余甘子多酚微波-热水浸提工艺的优化及其 pH 稳定性[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(3): 733-742.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.03.028

余甘子多酚微波-热水浸提工艺的优化及其 pH 稳定性

李 洁, 王沂雯, 郑涵予, 钟 焱, 刘兴艳, 陈安均
(四川农业大学食品学院, 四川 雅安市 625000)

摘要: 以余甘子鲜果为原料, 采用微波-热水浸提法提取余甘子多酚, 通过单因素与正交试验优化最佳提取工艺, 同时探究 pH 对提取液中多酚稳定性的影响。结果表明, 余甘子多酚的最佳提取工艺为: 微波功率 640 W 处理 3 min, 料液比 1: 20(质量体积比), 浸提温度 50 ℃, 浸提时间 6 min, 与传统的热水浸提相比, 总酚提取量、黄酮提取量、DPPH 自由基清除能力及 FRAP 铁还原能力分别提高了 50.26%、21.41%、38.36%、18.38%。相关性分析结果表明, 余甘子提取液中总酚、黄酮含量与 DPPH 自由基清除能力、FRAP 铁还原能力之间有显著相关性 ($P < 0.05$)。pH 稳定性研究结果表明, 随着 pH 的增加, 余甘子提取液中总酚含量、FRAP 铁还原能力和 DPPH 自由基清除能力均先升高后降低, 而黄酮含量在不同 pH 下差异不显著 ($P > 0.05$)。HPLC 分析结果表明, 不同酚类物质在不同的 pH 条件下稳定性不同, 大多在酸性或弱酸性条件下较稳定。

关键词: 余甘子; 多酚; 微波-热水浸提; 正交优化; pH 稳定性

中图分类号: TS255.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)03-0733-10

Optimization of microwave-hot water extraction process of polyphenols from *Phyllanthus emblica* L. and its pH stability

LI Jie, WANG Yi-wen, ZHENG Han-yu, ZHONG Yan, LIU Xing-yan, CHEN An-jun
(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625000, China)

Abstract: The polyphenols were extracted from fresh *Phyllanthus emblica* L. by microwave-hot water extraction method. The optimal extraction process was optimized by single-factor and orthogonal experiments, and the effects of pH on the stability of polyphenols in the extraction solution were investigated. The results showed that the optimal extraction conditions of polyphenols were as follows: microwave power 640 W treatment for three minutes, solid-liquid ratio 1: 20, extraction temperature 50 ℃, extraction time six minutes. Compared with those under the traditional hot water extraction conditions, extraction amount of total phenol, extraction amount of flavonoids, DPPH free radical scavenging capacity and FRAP iron reducing capacity under the optional extraction conditions were increased by 50.26%, 21.41%, 38.36% and 18.38%, respectively. The results of correlation analysis showed that the contents of total phenols and flavonoids in the extraction solution were significantly correlated with DPPH free radical scavenging capacity and FRAP iron reducing capacity ($P < 0.05$). The results of pH stability indicated that with the increase of pH, the total phenol content, FRAP iron reducing capacity and DPPH free radical scavenging capacity increased first and then decreased, while the flavonoids contents

showed no significant difference at different pH values ($P > 0.05$). HPLC analysis results showed that different phenols had different stability to pH, and most of them were stable under acidic or weakly acidic conditions.

Key words: *Phyllanthus emblica* L.; polyphenols;

收稿日期: 2019-12-09

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2017YFC0505106)

作者简介: 李 洁(1994-), 女, 贵州遵义人, 硕士研究生, 主要从事果蔬加工研究。(E-mail) 1161964605@qq.com

microwave-hot water extraction; orthogonal optimization; pH stability

余甘子(*Phyllanthus emblica* L.)系大戟科的中小型落叶乔木,果实呈球形,浅绿色,光滑而坚硬^[1],主要生长在热带、亚热带地区,印度和中国的产量最高^[2]。余甘子营养丰富,含有对人体有益的生物活性物质,具有抗氧化和清除自由基的能力,被称为三大高营养水果之一^[3]。余甘子产量大,仅少量用来制药^[4]或加工成果冻^[5]和果酒^[6]等,其余大多并未得到合理的利用。若将余甘子加工成饮料既有利于余甘子资源的合理开发,还能丰富余甘子产品的多样性。目前关于余甘子饮料的研究则主要集中在其出汁率^[7]、稳定性^[8]、功能性^[9]和饮料复配^[10]等方面,尚未见浸提工艺对余甘子饮料中多酚影响的报道。

多酚传统的浸提主要采用热水浸提法^[3],该方法存在耗时长、溶剂用量大、提取效率低的缺点。近年来,微波辅助浸提作为一种高新技术得到了广泛地应用,其原理是利用微波场的偶极旋转导致溶剂温度迅速上升,化合物的溶解度增加,从而浸提出食品材料壁内的结合物,具有选择性、高效性和稳定性的特点^[11-12],目前已在杏仁黄酮^[13]、植物酚类物质^[14]、西红柿酚类物质^[15]的提取中成功应用,但在余甘子多酚提取方面少有报道。饮料在加工过程中常常涉及酸碱度的调节,这将影响饮料的口感和消费者的接受度,同时也会影响余甘子多酚的含量。为了使余甘子多酚在饮料加工中得到最大限度的保留,需要研究在余甘子浸提过程中多酚含量和种类的变化。本研究采用微波-热水浸提工艺优化余甘子多酚的提取,研究不同 pH 对提取液酚类物质含量及抗氧化活性的影响,以期余甘子饮料的生产加工提供理论依据,促进余甘子饮料的生产,增加余甘子产品的多样性。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料与试剂

余甘子购自凉山州盐源县金河乡。1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH)购自源叶生物公司;2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ)购自都莱生物公司;槲皮素、绿原酸、山奈酚、柯里拉京、没食子酸、河黎勒酸、芦丁标准品购自上海安谱实验科技股份有限公司;甲醇、乙腈为色谱纯,亚硝酸钠、硝酸铝、抗坏血酸、没食子酸等均为分析纯,购自成都市科隆化学品有限公司。

1.2 试验仪器与设备

微波科学实验炉(ORW08S-3H)购自南京澳润微波科技有限公司,高效液相色谱(LC-20AD)购自日本岛津公司,全波段酶标仪(3001-2207)购自赛默飞世尔科技有限公司,九阳料理机(JYL-C022E)购自九阳股份有限公司,电热恒温水浴锅(DZKW-5-4)购自北京市永光明医疗仪器有限公司。

1.3 单因素试验

按一定料液比称取余甘子鲜果,与纯净水匀浆后置于微波中处理一定时间,然后在固定温度的水浴锅中浸提一定时间取出过滤备用。设定料液比(质量体积比)为:1:5、1:10、1:15、1:20、1:25、1:30,浸提时间为:2 min、4 min、6 min、8 min、10 min,浸提温度为:30℃、40℃、50℃、60℃、70℃,微波处理时间为:1 min、2 min、3 min、4 min、5 min,微波功率为:160 W、320 W、480 W、640 W、800 W。

1.4 指标的测定

总酚的测定参考郭炳春^[16]的方法,以没食子酸(GAE)当量表示,黄酮的测定参考 Saini 等^[17]的方法,以芦丁(RE)当量表示。DPPH 自由基清除能力的测定参考 Ibrahim 等^[18]的方法,FRAP 铁还原能力的测定参考 Aljadi 等^[19]的方法,均以抗坏血酸(Vc)当量表示。单酚组分的测定参考 NY/T 2795-2015《苹果中主要酚类物质的测定 高效液相色谱法》^[20]的方法。色谱柱:Ultimate Plus-C₁₈,4.6 mm×50.0 mm,粒径 5 μm;流动相:A 为 0.2%的磷酸水溶液;B 为乙腈,使用前用 0.22 μm 滤膜过滤,脱气。采用梯度洗脱的方式,流动相比(体积比)随时间变化如表 1 所示,检测波长和柱温分别设定为 270 nm 和 25℃,进样量 5 μl。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Mobile phase gradient elution procedure

流动相	时间(min)									
	0	3.0	10.0	16.0	25.0	30.0	35.0	35.1	47.0	
流动相 A(%)	95	95	82	72	40	5	5	95	95	
流动相 B(%)	5	5	18	28	60	95	95	5	5	

1.5 统计分析

采用 Excel、SPSS 进行数据处理,方差分析

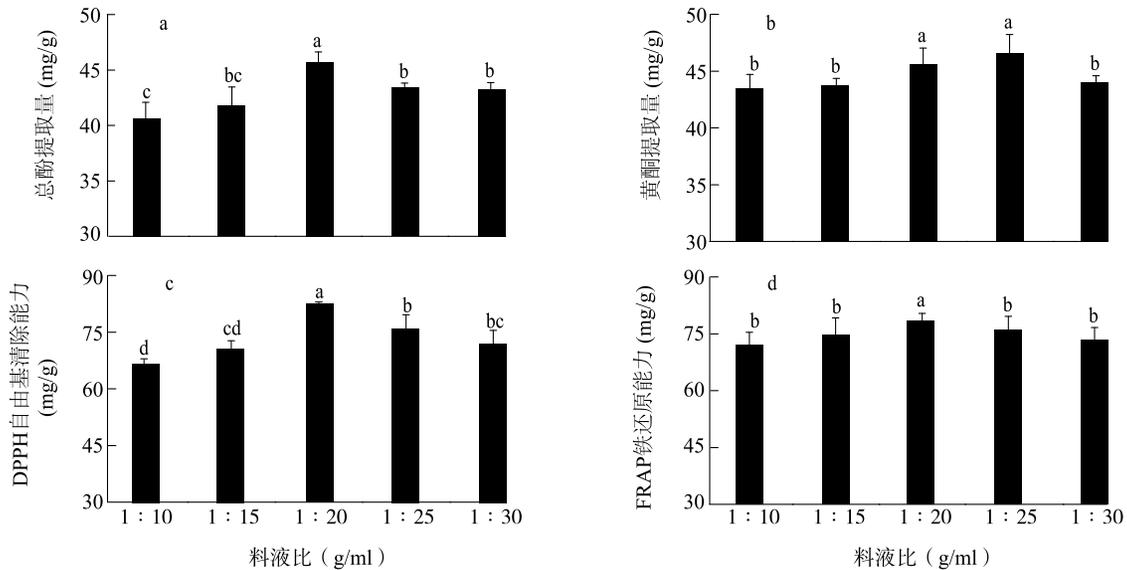
(ANOVA)通过 SPSS 20.0.0 完成,采用 Duncan's 多元回归方法进行相关性分析,运用 Origin 8.5 作图。试验重复 3 次,以均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 料液比对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响

料液比是影响植物基质中多酚物质溶出的重要因素,最大限度地减少溶剂的利用并使产量最大化是工业生产过程中的一个重要因素^[21]。在浸提温度 50 ℃、浸提时间 6 min、微波功率 480 W 和微波处理时间 2 min 条件下,探讨不同料液比对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响。由图 1 可知,总酚提取量、DPPH 自由基清除能力和 FRAP 铁还原能

力均随着料液比的增加先上升后下降,在料液比为 1:20(质量体积比)时达到各自最大值,且均显著高于其他各个水平($P<0.05$)。黄酮提取量表现出相似的趋势,在料液比 1:25(质量体积比)时达到最大值,但与料液比 1:20(质量体积比)时差异不显著($P>0.05$)。孔维宝等^[22]利用微波辅助提取橄榄果渣多酚的结果表明,1:20(质量体积比)为最佳料液比,与本研究结果一致。根据 Alara 等^[23]的研究结果,过高的溶剂与固体比率可能导致能量不足,无法促进细胞壁的破裂,无法将酚类化合物有效浸出,另外料液比增加需要扩散和溶解的驱动力增加^[24]。综合考虑,选取料液比 1:15、1:20、1:25(质量体积比)进行正交优化。



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

图 1 料液比对余甘子总酚提取量(a)、黄酮提取量(b)、DPPH 自由基清除能力(c)和 FRAP 铁还原能力(d)的影响

Fig.1 Effects of solid-liquid ratio on total phenols extraction amount (a), flavonoids extraction amount (b), DPPH free radical scavenging capacity (c) and FRAP iron reducing capacity (d) of *Phyllanthus emblica* L.

2.2 浸提时间对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响

在浸提温度 50 ℃、微波功率 480 W、微波处理时间 2 min 和料液比 1:20(质量体积比)条件下,探讨不同浸提时间对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响。由图 2 可知,浸提时间对总酚提取量、黄酮提取量、DPPH 自由基清除能力及 FRAP 铁还原能力有一定的影响。随着浸提时间的延长,总酚提取量、黄酮提取量、DPPH 自由基清除能力和 FRAP 铁

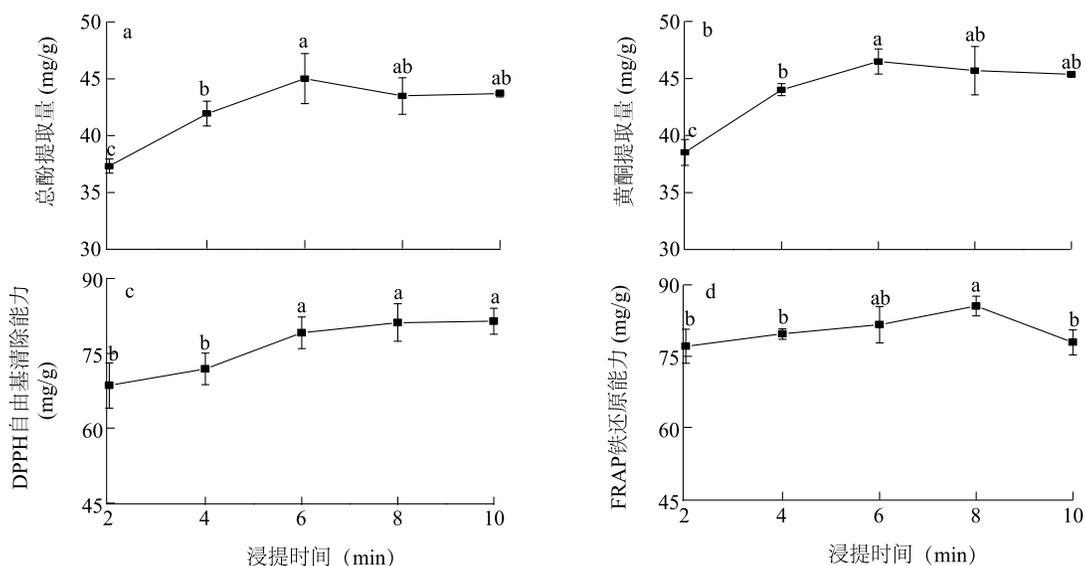
还原能力均呈上升趋势,总酚和黄酮提取量在 6 min 时达到最大值,而 DPPH 自由基清除能力和 FRAP 铁还原能力在 8 min 时达到最大值,随着浸提时间的进一步延长,总酚提取量、黄酮提取量和 DPPH 自由基清除能力均趋于平缓,而 FRAP 铁还原能力在 10 min 时出现显著下降($P<0.05$)。综合考虑,其随着浸提时间的延长,至 6 min 时,多酚提取量及其抗氧化活性基本达到最大,且考虑到实际应用,故不对浸提时间进行进一步优化,选取浸提时间 6 min

为最佳浸提时间。

2.3 浸提温度对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响

在浸提时间 6 min、微波功率 480 W、微波处理时间 2 min 和料液比 1:20(质量体积比)条件下,探讨不同浸提温度对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响。提高温度可以增强溶剂向植物样品内部的移动,从而提高提取物的提取率。基于爱因斯坦方程,溶剂黏度随温度升高而下降,导致高的扩散速

率^[25]。如图 3 所示,随着温度的升高,多酚提取量及其抗氧化活性均呈先上升后下降的趋势,总酚提取量及 DPPH 自由基清除能力均在 40 °C 时达到最大值,显著高于其他水平($P < 0.05$),黄酮提取量及 FRAP 铁还原能力在 40~70 °C 时有所下降,但下降不显著($P > 0.05$),这可能是较高的温度导致总酚的降解^[21],而黄酮的热稳定性较好,40 °C 已经完全溶出,增加温度不会造成黄酮的分解。综合考虑,选取浸提温度 30 °C、40 °C、50 °C 进行正交优化。



不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图 2 浸提时间对余甘子总酚提取量(a)、黄酮提取量(b)、DPPH 自由基清除能力(c)和 FRAP 铁还原能力(d)的影响

Fig.2 Effects of extraction time on total phenols extraction amount (a), flavonoids extraction amount (b), DPPH free radical scavenging capacity (c) and FRAP iron reducing capacity (d) of *Phyllanthus emblica* L.

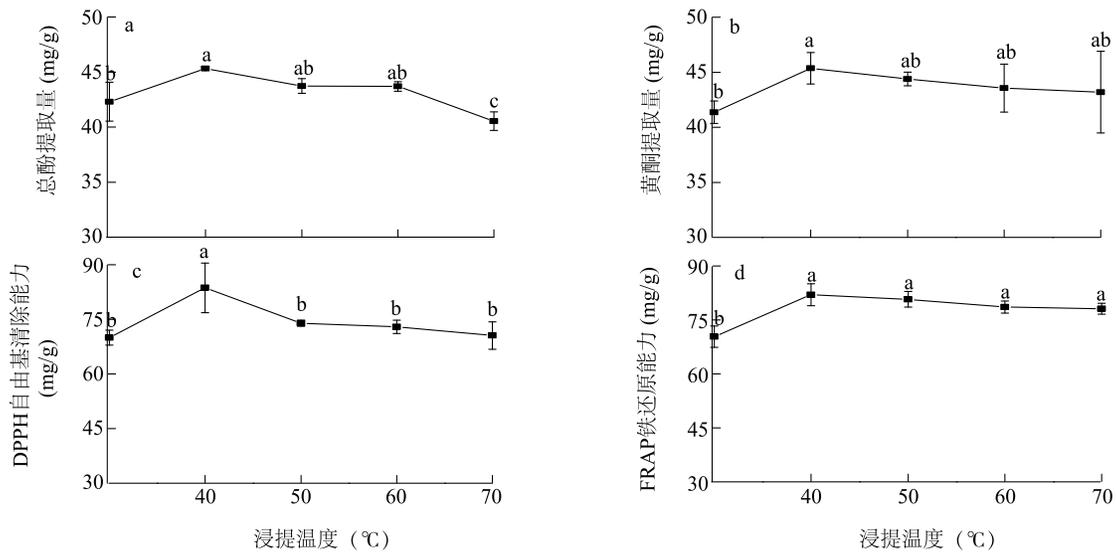
2.4 微波处理时间对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响

在浸提时间 6 min、微波功率 480 W、浸提温度 40 °C 和料液比 1:20(质量体积比)条件下,探讨不同微波处理时间对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响。随着微波处理时间的延长,多酚提取量及其抗氧化活性均呈先上升后下降的趋势,各指标均在微波处理时间 3 min 时达到最大(图 4)。根据 Veggiep 等^[26]的描述,微波提取过程分为 3 个不同的步骤:平衡阶段,主要为溶解和分配现象;扩散阶段,对流和扩散传质占优势;最后阶段,萃取速率较低,溶质必须克服与基体的相互作用扩散到萃取溶剂中。提取期间植物细胞吸收微波能量后破裂,有效成分流出溶解在溶剂中,从而提高了酚类物质提取量,继续延长微波处理时间,酚类化合物在微波场中暴露时间过长,发生降

解^[27],因此随着微波处理时间的延长,各指标均显著下降($P < 0.05$)。Ruth 等^[28]在木芙蓉花萼总酚提取的研究报告中指出,3 min 是最佳的微波处理时间,与本研究结果一致。综合考虑,选取微波处理时间 2 min、3 min、4 min 进行正交优化。

2.5 微波功率对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响

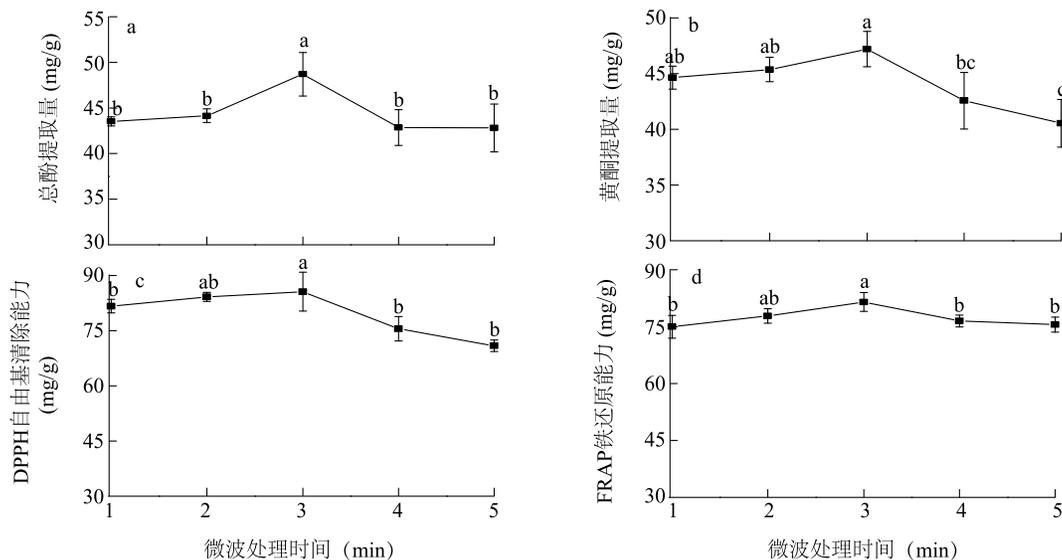
在浸提时间 6 min、微波处理时间 3 min、浸提温度 40 °C 和料液比 1:2(质量体积比)条件下,探讨不同微波功率对余甘子多酚提取及其抗氧化活性的影响。结果(图 5)表明,随着微波功率的增加,多酚提取量及其抗氧化活性均呈现上升趋势,且均在 640 W 时达到最大值,继续增加微波功率,总酚提取量、DPPH 自由基清除能力趋于平缓,黄酮提取量与 FRAP 铁还原能力略微下降。综合考虑,选择微波



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 3 浸提温度对余甘子总酚提取量 (a)、黄酮提取量 (b)、DPPH 自由基清除能力 (c) 和 FRAP 铁还原能力 (d) 的影响

Fig.3 Effects of extraction temperature on total phenols extraction amount (a), flavonoids extraction amount (b), DPPH free radical scavenging capacity (c) and FRAP iron reducing capacity (d) of *Phyllanthus emblica* L.



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 4 微波处理时间对余甘子总酚提取量 (a)、黄酮提取量 (b)、DPPH 自由基清除能力 (c) 和 FRAP 铁还原能力 (d) 的影响

Fig.4 Effects of microwave treatment time on total phenols extraction amount (a), flavonoids extraction amount (b), DPPH free radical scavenging capacity (c) and FRAP iron reducing capacity (d) of *Phyllanthus emblica* L.

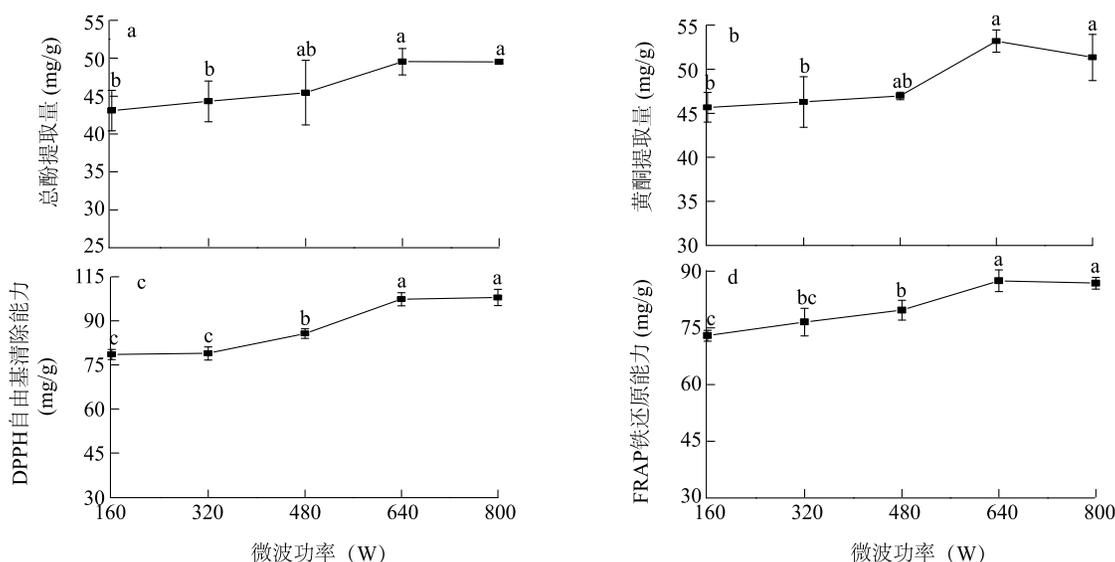
功率 480 W、640 W、800 W 进行正交优化。

2.6 正交试验设计及结果分析

根据单因素试验结果,选择料液比(1:15、1:20、1:25,质量体积比)、微波功率(480 W、640 W、800 W)、微波处理时间(2 min、3 min、4 min)和浸提温度(30 °C、40 °C、50 °C)4 个主要影响因素在浸提

时间 6 min 条件下进行 $L_9(3^4)$ 正交优化。试验水平见表 2,试验结果见表 3。

由表 3 可知,对于总酚提取量和 DPPH 自由基清除能力来说,最佳的工艺条件为:A2B2C2D3,即微波功率 640 W、微波处理时间 3 min、料液比 1:20(质量体积比)、浸提温度 50 °C;就黄酮提取量



不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图5 微波功率对余甘子(a)总酚含量、(b)黄酮含量、(c)DPPH自由基清除能力和(d)FRAP铁还原能力的影响

Fig.5 Effects of microwave power on total phenols extraction amount (a), flavonoids extraction amount (b), DPPH free radical scavenging capacity (c) and FRAP iron reducing capacity (d) of *Phyllanthus emblica* L.

和FRAP铁还原能力而言,最佳工艺条件为微波功率640 W、微波处理时间3 min、料液比1:25(质量体积比)、浸提温度50℃。因料液比对黄酮提取量的影响较小,选择1:20(质量体积比)为最佳的料液比。极差分析结果表明,各因素对余甘子多酚物质提取及其抗氧化活性的影响存在差异,料液比对总酚提取量影响最大;温度对黄酮提取量、DPPH自由基清除能力、FRAP铁还原能力影响最大。以上结果表明,在微波-热水浸提过程中应该严格控制料液比及浸提温度。综合考虑,最佳的工艺条件为:在料液比为1:20(质量体积比),微波功率640 W条件下微波处理时间3 min后在50℃下浸提6 min。

表2 微波-热水浸提正交因素水平表

Table 2 Orthogonal factor level of microwave-hot water extraction

试验号	因素			
	A(g/ml)	B(W)	C(min)	D(℃)
1	1:15	480	2	30
2	1:20	640	3	40
3	1:25	800	4	50

A:料液比;B:微波功率;C:微波处理时间;D:浸提温度。

2.7 验证试验

将最佳组合进行验证试验且将最佳料液比、浸

提温度、浸提时间用于传统的热热水浸提中,得到微波-热水浸提的总酚提取量为49.93 mg/g,黄酮提取量为54.66 mg/g, DPPH自由基清除能力及FRAP铁还原能力分别为99.62 mg/g、93.47 mg/g,均高于正交优化试验各组合,比使用传统热水浸提的总酚提取量、黄酮提取量、DPPH自由基清除能力及FRAP铁还原能力分别提高了50.26%、21.41%、38.36%、18.38%,表明使用微波前处理可以大大地促进酚类物质溶入溶剂中。

2.8 多酚与抗氧化活性的相关性分析

为进一步分析余甘子提取液中多酚含量与抗氧化活性之间的关系,将总酚含量、黄酮含量、DPPH自由基清除能力及FRAP铁还原能力进行相关性分析,其决定系数(R^2)见表4。

由表4可知,总酚含量与DPPH自由基清除能力($R^2 = 0.815$)、FRAP铁还原能力($R^2 = 0.551$)之间均极显著相关($P < 0.01$),与总酚含量相关性强弱为DPPH自由基清除能力>FRAP铁还原能力;黄酮含量与DPPH自由基清除能力的相关性($R^2 = 0.837$)大于与FRAP铁还原能力($R^2 = 0.742$)的相关性。由此说明余甘子的抗氧化活性主要与总酚和黄酮含量有关,与陈冠林等^[29]、孙丹等^[30]的结论一致,多酚物质在DPPH自由基清除、FRAP铁还原能力中起着重要的作用。

表 3 余甘子微波-热水浸提正交试验结果

Table 3 Orthogonal experiment results of microwave-hot water extraction of *Phyllanthus emblica* L.

试验号	A	B	C	D	总酚提取量 (mg/g)	黄酮提取量 (mg/g)	DPPH 自由基清除 能力 (mg/g)	FRAP 铁还原 能力 (mg/g)
1	1	1	1	1	42.05	41.72	76.20	76.71
2	1	2	2	2	48.12	48.41	82.27	79.75
3	1	3	3	3	49.00	50.33	85.61	84.70
4	2	1	2	3	47.32	49.74	95.32	85.90
5	2	2	3	1	45.47	44.24	84.18	83.69
6	2	3	1	2	49.20	45.09	81.10	80.66
7	3	1	3	2	39.67	44.63	75.45	81.19
8	3	2	1	3	44.22	53.65	87.98	92.82
9	3	3	2	1	40.11	46.57	86.64	85.52
k_1	46.39	43.01	45.16	43.16				
k_2	47.33	46.55	45.18	45.66				
k_3	41.33	46.10	44.71	46.85				
R	6.00	3.54	0.47	3.69				
k_1	46.82	45.36	46.82	44.18				
k_2	46.36	48.77	48.24	46.04				
k_3	48.28	47.33	46.40	51.24				
R	1.93	3.40	1.84	7.06				
k_1	81.36	82.32	81.76	82.34				
k_2	86.87	84.81	88.08	79.61				
k_3	83.36	84.45	81.75	89.64				
R	5.51	2.49	6.33	10.03				
k_1	80.39	81.27	83.40	83.40				
k_2	83.42	85.42	83.72	80.53				
k_3	86.51	83.63	83.19	87.81				
R	6.12	4.15	0.53	7.27				

A: 料液比, A1、A2、A3 分别表示料液比为 1:15、1:20、1:25 (质量体积比); B: 微波功率, B1、B2、B3 分别表示微波功率为 480 W、640 W、800 W; C: 微波处理时间, C1、C2、C3 分别表示微波处理时间为 2 min、3 min、4 min; D: 浸提温度, D1、D2、D3 分别表示浸提温度 30 °C、40 °C、50 °C。

表 4 余甘子提取液中总酚含量、黄酮含量与 DPPH 自由基清除能力和 FRAP 铁还原能力的相关性

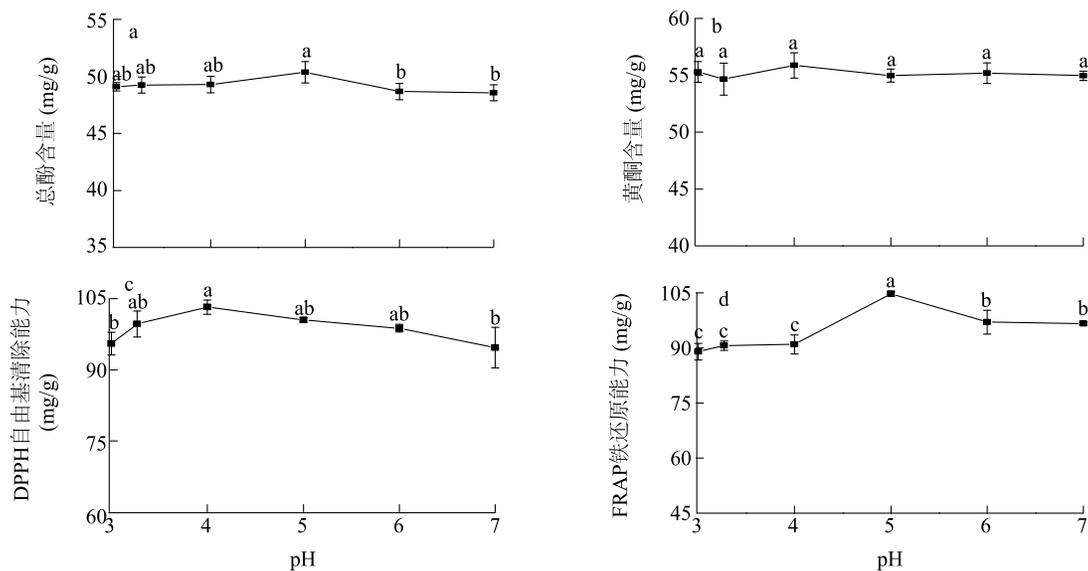
Table 4 Correlation of total phenols and flavonoids contents with DPPH free radical scavenging capacity and FRAP iron reducing capacity in *Phyllanthus emblica* L. extraction solution

项目	总酚	黄酮	DPPH 自由基 清除能力	FRAP 铁 还原能力
总酚	1.000			
黄酮	0.751**	1.000		
DPPH 自由基清除能力	0.815**	0.837**	1.000	
FRAP 铁还原能力	0.551**	0.742**	0.741**	1.000

** 表示极显著相关 ($P < 0.01$); * 表示显著相关 ($P < 0.05$)。

2.9 pH 对余甘子提取液稳定性的影响

对余甘子提取液进行 pH 值调节, 探究不同 pH 值对余甘子提取液酚类物质含量的影响(图 6)。黄酮含量在不同 pH 下差异不显著 ($P > 0.05$), 总酚含量、DPPH 自由基清除能力和 FRAP 铁还原能力随着 pH 的升高呈先增加后降低的趋势, 其中 DPPH 自由基清除能力在 pH 为 4 时达到最大值, 总酚含量和 FRAP 铁还原能力在 pH 为 5 时达到最大值, 且 pH 对 FRAP 铁还原能力影响较大, pH 为 5 时 FRAP 铁还原能力显著高于其他 pH 值时 FRAP 铁还原能力 ($P < 0.05$)。



不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

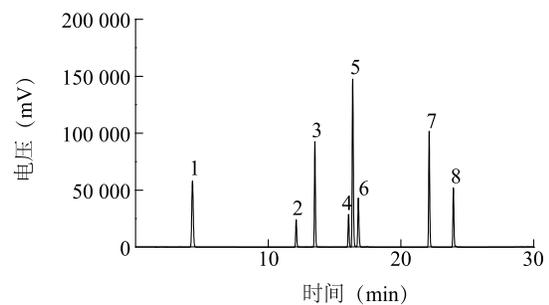
图6 pH值对余甘子提取液中总酚含量(a)、黄酮含量(b)、DPPH自由基清除能力(c)和FRAP铁还原能力(d)的影响

Fig.6 Effects of pH values on total phenols content (a), flavonoids content (b), DPPH free radical scavenging capacity (c) and FRAP iron reducing capacity (d) of *Phyllanthus emblica* L.

对余甘子中常见的多酚物质进行 HPLC 分析,混合标准品的出峰时间如图 7 所示。各种多酚物质在不同 pH 条件下的含量见表 5。没食子酸、柯里拉京含量随着 pH 的升高呈先上升后下降的趋势,均在 pH=4 时达到最大值,继续增加 pH,含量下降,至 pH 为 7 时没有检出,这是因为没食子酸、柯里拉京在酸性条件下较稳定,在中性及碱性条件下易降解,吴雪钗等^[31]研究发现,没食子酸在 pH 值为 7~10 时降解迅速,3 h 已完全降解;绿原酸含量随着 pH 的升高迅速下降,当 pH 为 7 时,余甘子提取液中未检出绿原酸,表明绿原酸对酸碱的敏感性较强,这可能与绿原酸在 pH 逐渐升高的过程中碱催化水解有关^[32];芦丁含量在 pH 为 4 时含量最高,显著高于其他 pH 时的含量($P < 0.05$);鞣花酸含量随着 pH 的增加而逐渐增加,在 pH 为 7 时含量最高,显著高于其他 pH 时的含量($P < 0.05$),说明在中性条件下,鞣花酸更加稳定;槲皮素含量在 pH 3~6 时均比较稳定,而在 pH 为 7 时显著降低($P < 0.05$);诃黎勒酸含量随 pH 的增加先上升后下降, pH 为 6 时,诃黎勒酸含量最高($P < 0.05$),说明其在弱酸及中性条件下较为稳定。山奈酚在各个 pH 条件下均未检出。

3 讨论

余甘子含水量少、难以用压榨法提取,因此采用



1: t_R (出峰时间) = 4.287, 没食子酸; 2: t_R = 12.103, 绿原酸; 3: t_R = 13.512, 柯里拉京; 4: t_R = 16.050, 芦丁; 5: t_R = 16.362, 鞣花酸; 6: t_R = 16.789, 诃黎勒酸; 7: t_R = 22.127, 槲皮素; 8: t_R = 23.954, 山奈酚。

图7 多酚混合标准品的 HPLC 图

Fig.7 HPLC chromatograms of standardized polyphenol mixture

浸提法提取,该过程影响原料活性物质提取率和饮料品质,是整个果汁制作过程中关键的一步。微波辐射属热辐射,因现有植物生物活性化学物质的多样性,不同植物的细胞组织对微波吸收能力不同,可能无法针对所有植物材料进行概括,因此必须根据所使用的基质来选择和优化加工条件^[33]。崔蕊静等^[34]采用微波预处理-热水浸提安梨皮渣中多酚类物质,结果表明微波辅助浸提可以显著提高提取率,缩短提取时间且不会对酚类物质的结构产生破坏。

表 5 pH 值对余甘子提取液中酚类物质含量的影响

Table 5 Effects of pH values on phenols content in the extraction solution of *Phyllanthus emblica* L.

单酚	pH=3	pH=3.27 (原液)	pH=4	pH=5	pH=6	pH=7
没食子酸(mg/g)	0.453 7±0.051 2a	0.455 0±0.021 3a	0.511 6±0.082 9a	0.353 1±0.020 1b	0.323 5±0.018 5b	ND
绿原酸(mg/g)	0.115 9±0.031 9a	0.114 1±0.019 1a	0.071 0±0.017 9b	0.053 4±0.006 0b	0.027 3±0.001 2c	ND
柯里拉京(mg/g)	0.001 0±0.000 1a	0.001 0±0.000 1a	0.001 1±0.000 1a	0.000 8±0b	0.000 6±0c	ND
芦丁(mg/g)	0.010 4±0.001 7b	0.009 8±0.000 1b	0.026 0±0.008 4a	0.012 9±0.000 5b	0.011 0±0.001 6b	0.009 2±0.000 2c
鞣花酸(mg/g)	0.053 9±0.004 0c	0.058 5±0.007 4c	0.071 3±0.021 5c	0.095 4±0.004 0c	0.315 0±0.038 1b	0.759 9±0.065 2a
诃黎鞣酸(mg/g)	0.009 3±0.000 8e	0.012 0±0.001 1d	0.011 3±0.001 4d	0.013 7±0.000 2c	0.043 9±0.000 5a	0.040 2±0.000 8b
槲皮素(mg/g)	0.006 0±0.000 1a	0.005 6±0.000 4a	0.005 6±0.000 1a	0.005 5±0.000 1a	0.005 4±0.000 1a	0.004 6±0.000 1b
山奈酚(mg/g)	ND	ND	ND	ND	ND	ND

同一列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。ND 表示未检出。

本试验采用微波-热水浸提新技术提取余甘子多酚,并对其抗氧化活性进行研究,结果表明该方法比传统的热热水提取总酚含量、黄酮含量、DPPH 自由基清除能力及 FRAP 铁还原能力分别提高了 50.26%、21.41%、38.36%、18.38%。该工艺的优势在于采用短时的微波处理破裂余甘子果肉细胞,通过热水浸提促进余甘子酚类物质溶解从而提高提取率,为余甘子饮料的开发提供了理论依据。

关于果实的抗氧化能力与果实中的活性物质的相关性,前人已有较多的研究。多数研究结果表明水果中酚类物质与水果的抗氧化活性有一定的相关性^[35-37]。刘文旭等^[38]研究结果表明总抗氧化能力与其总酚含量、黄酮含量存在明显的正相关关系。高帆等^[39]研究结果表明 5 种甜樱桃的总酚含量和黄酮含量与抗氧化活性显著相关。本研究对余甘子提取液中的总酚含量、黄酮含量与 DPPH 自由基清除能力、FRAP 铁还原能力进行相关性分析,结果表明酚类物质与抗氧化能力之间有显著相关性,且总酚含量对 DPPH 自由基清除能力的影响最大。以上结果表明余甘子具有很好的保健价值,可作为功能性食品的良好资源。

本研究结果表明,不同 pH 对余甘子提取液的总酚含量的影响显著,对黄酮含量的影响不显著;随着 pH 的升高,DPPH 自由基清除能力及 FRAP 铁还原能力呈现先上升后下降的趋势,pH 可使多酚物质的结构发生改变,从而影响其抗氧化活性及对自由基的清除作用^[40]。结果表明,余甘子饮料适合酸性条件生产,此时活性成分最高,抗氧化能力最佳。

多酚物质的稳定性主要是取决于其独特的化学

结构。没食子酸、柯里拉京及绿原酸在酸性条件下含量较高,鞣花酸、诃黎勒酸在中性条件下含量较高,芦丁则在弱酸条件下较稳定,槲皮素在各个 pH 条件下含量无显著变化($P<0.05$)。

参考文献:

- [1] POLTANOV E A, SHIKOV A N, DORMAN H J D, et al. Chemical and antioxidant evaluation of Indian gooseberry (*Emblica officinalis* Caern. syn. *Phyllanthus emblica* L.) supplements [J]. *Phytotherapy Research*, 2009, 23(9):1309-1315.
- [2] BARTHAKUR N N, ARNOLD N P. Chemical analysis of the emblic (*Phyllanthus emblica* L.) and its potential as a food source [J]. *Organometallics*, 1991, 40(6):111-124.
- [3] 张福平. 余甘子的营养价值 [J]. *中国食物与营养*, 2004(1):25-25.
- [4] 陈智毅,刘学铭,吴继军,等. 余甘子的药理研究和利用综述 [J]. *中国南方果树*, 2004, 33(1):58-61.
- [5] 熊 亚. 攀枝花野生余甘子果冻的研制 [J]. *广州化工*, 2015, 43(20):118-121,128.
- [6] 殷建忠,周建于,王 琦,等. 余甘子普洱茶复合发酵酒的研制 [J]. *现代食品科技*, 2011, 27(5):544-545.
- [7] 刘 冬. 余甘子清汁饮料加工工艺研究 [J]. *食品与机械*, 2007, 23(4):136-139.
- [8] 李剑华,潘育方,杨慧文,等. 余甘子饮料稳定剂的优化 [J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(10):52-55.
- [9] 黄清松,曾满红,李红枝,等. 余甘子果汁饮料抗疲劳及抗衰老功效研究 [J]. *南方农业学报*, 2014, 45(5):840-843.
- [10] 余小林,徐步前,曾贤强. 余甘子-椴柑复合果汁饮料加工工艺研究 [J]. *食品工业科技*, 2006, 27(2):139-141.
- [11] AHMAD J, LANGRISH T A G. Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the Maillard reaction [J]. *Journal of Food Engineering*, 2012, 109(1):162-174.
- [12] CHAN C H, YUSOFF R, NGOH G C, et al. Microwave-assisted

- extractions of active ingredients from plants [J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(37):6213-6225.
- [13] 于佳佳. 杏花总黄酮提取、分离、纯化和抗氧化研究 [D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2010.
- [14] PROESTO C, KOMAITIS M. Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2008, 41(4):652-659.
- [15] LI H, DENG Z, WU T, et al. Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes [J]. *Food Chemistry*, 2012, 130(4):928-936.
- [16] 郭炳春. 余甘子总多酚提取工艺优化研究 [J]. *热带作物学报*, 2013, 34(12):2479-2483.
- [17] SAINI R, DANGWAL K, SINGH H, et al. Antioxidant and anti-proliferative activities of phenolics isolated from fruits of Himalayan yellow raspberry (*Rubus ellipticus*) [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2014, 51(11):3369-3375.
- [18] IBRAHIM K, DURU M E, MEHMET Ö, et al. Antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia* [J]. *Food Chemistry*, 2009, 116(2):470-479.
- [19] ALJADI A M, KAMARUDDIN M Y. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys [J]. *Food Chemistry*, 2004, 85(4):513-518.
- [20] 中国农业科学院. 苹果中主要酚类物质的测定 高效液相色谱法:NY/T 2795-2015 [S]. 北京:中国标准出版社, 2015.
- [21] RUTH A O, HAMID A N, ISHMAEL U C, et al. Vernonia cinerea, leaves as the source of phenolic compounds, antioxidants, and anti-diabetic activity using microwave-assisted extraction technique [J]. *Industrial Crops and Products*, 2018, 122:533-544.
- [22] 孔维宝, 李阳, 白万明, 等. 微波辅助提取油橄榄果渣多酚 [J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(4):233-237.
- [23] ALARA O R, ABDURAHMAN N H, OLALERE O A. Optimization of microwave-assisted extraction of total flavonoids and antioxidants from *Vernonia amygdalina*, leaf using response surface methodology [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2017, 107:36-48.
- [24] PENG F, CHENG C, XIE Y, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic compounds from 'Anli' pear (*Pyrus ussuriensis Maxim*) [J]. *Food Science and Technology Research*, 2015, 21:463-471.
- [25] CAGEROGLU Z, KIRBASLAR I, SAHIN S, et al. Optimization and kinetic studies of ultrasound-assisted extraction on polyphenols from Satsuma Mandarin (*Citrus umshiu Marc.*) leaves [J]. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering-International English Edition*, 2017, 36(5):163-171.
- [26] VEGGIP C, MARTINEZ J, MEIRELES M A A. Fundamentals of microwave extraction [M]. New York: Springer Science Business Media, 2012:15-52.
- [27] SHAMS K A, ABDEL-AZIM N S, SALEH I A, et al. Green technology: economically and environmentally innovative methods for extraction of medicinal and aromatic plants (MAP) in Egypt [J]. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2015, 7(5):1050-1074.
- [28] RUTH A O, HAMID A N. Microwave-assisted extraction of phenolics from *Hibiscus sabdariffa* calyces: kinetic modelling and process intensification [J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 137:528-535.
- [29] 陈冠林, 陈松根, 赵颖莹, 等. 33种水果的总酚含量及其抗氧化能力研究 [J]. *食品工业*, 2014, 35(9):264-268.
- [30] 孙丹, 黄士淇, 蔡圣宝. 不同加工方式对苦苣菜中总酚、总黄酮及抗氧化性的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(1):141-147.
- [31] 吴雪钗, 于波涛, 侯艾林, 等. 没食子酸稳定性研究 [J]. *西南国防医药*, 2006, 16(5):484-485.
- [32] 陈钢, 侯世祥, 胡平, 等. 金银花提取物中绿原酸的稳定性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2003, 28(3):223-226.
- [33] PINELA, JOSE, PRIETO M A, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of hydrophilic and lipophilic antioxidants from a surplus tomato crop by response surface methodology [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2016, 98:283-298.
- [34] 崔蕊静, 赵玉华, 常学东. 微波辅助提取雪梨皮渣中多酚类物质工艺优化 [J]. *食品工业*, 2015, 36(9):16-19.
- [35] 丁建英, 王晓飞, 张丽, 等. 枇杷叶多酚超声波辅助提取工艺优化及其抗氧化性分析 [J]. *南方农业学报*, 2018, 49(2):340-347.
- [36] 雷小青, 王晓宇, 郑永政, 等. 冷冻浓缩技术对赤霞珠葡萄、葡萄汁及葡萄酒品质的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2019, 35(3):689-695.
- [37] 李芬芳, 马艳弘, 赵密珍, 等. 响应面优化提取草莓多酚及其抗氧化活性研究 [J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(1):141-145.
- [38] 刘文旭, 黄午阳, 曾晓雄, 等. 草莓、黑莓、蓝莓中多酚类物质及其抗氧化活性研究 [J]. *食品科学*, 2011, 32(23):137-140.
- [39] 高帆, 夏惠, 王秀, 等. 不同甜樱桃品种抗氧化物质及抗氧化活性分析 [J]. *浙江农业学报*, 2017, 29(6):926-932.
- [40] HUANG D, OU B, PRIOR R L. The chemistry behind antioxidant capacity assays [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(6):1841-1856.

(责任编辑:陈海霞)