

DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2024.10.023

# 索氏抽提法制备裂果枣红色素 及其理化性质分析

任瑞珍, 薛建娥

(吕梁学院 生物与食品工程系, 山西 吕梁 033001)

**摘要:** 以裂果枣粉为原料, 采用索氏抽提法对裂果枣红色素进行提取, 分别采用单因素试验和响应面试验进行提取条件的优化, 并对裂果枣红色素进行理化性质研究(抗氧化活性及色素稳定性)。结果表明: 索氏抽提法提取最佳条件为裂果枣粉添加量 2.0 g/100 mL、乙醇体积分数 69%、加热温度 89 °C、浸提时间 26 min、抽提时间 1.5 h, 裂果枣红色素提取率 4.540 mg/g, 裂果枣红色素提取率较高。通过研究裂果枣红色素对 DPPH 自由基,  $\cdot\text{NO}_2^-$  和  $\text{ABTS}^+$  自由基的清除能力, 结果显示裂果枣红色素浓度达到 1.2 mg/mL 时, DPPH 自由基清除率可达 67.8%, 当裂果枣红色素浓度达到 2.0 mg/mL 时,  $\text{NO}_2^-$  清除率为 69.4%, 当裂果枣红色素浓度达到 1.5 mg/mL 时,  $\text{ABTS}^+$  自由基清除率达到了 63.5%。裂果枣红色素稳定性试验结果表明, 索氏抽提法提取的裂果枣红色素具有良好的热稳定性, 光照对其稳定性有一定的影响, pH 值对裂果枣红色素稳定性的影响较大。

**关键词:** 裂果枣红色素; 索氏抽提法; 理化性质; 抗氧化活性; 稳定性

## Preparation of Red Pigment from Cracked Jujube by Soxhlet Extraction Method and Its Physicochemical Properties

REN Ruizhen, XUE Jian'e

(Department of Biology and Food Engineering, Lyuliang University, Lüliang 033001, Shanxi, China)

**Abstract:** The red pigment in cracked jujube was extracted by Soxhlet extraction method with cracked jujube powder as the raw material. Single factor test and response surface test were used to optimize the extraction process conditions, respectively, and the physicochemical properties (antioxidant activity and pigment stability) of the red pigment in cracked jujube were studied. The results showed that the optimal extraction conditions of Soxhlet extraction method were as follows: the addition amount of cracked jujube powder was 2.0 g/100 mL; the volume fraction of ethanol was 69.00%; the heating temperature was 89 °C; the leaching time was 26 min; the extraction time was 1.5 h; and the extraction rate of red pigment in cracked jujube was the highest (4.540 mg/g). Free radical scavenging activities of red pigment in cracked jujube on DPPH $\cdot$ ,  $\text{NO}_2^-$  and  $\text{ABTS}^+$  were studied, the results showed that when the concentration of red pigment in cracked jujube reached 1.2 mg/mL, the DPPH free radical scavenging rate could reach 67.8%; when the concentration of red pigment in cracked jujube reached 2.00 mg/mL, the  $\text{NO}_2^-$  scavenging rate was 69.4%; when the concentration of red pigment in cracked jujube reached 1.5 mg/mL, the  $\text{ABTS}^+$  free radical scavenging rate reached 63.5%. The stability test of red pigment in cracked jujube showed that the red pigment extracted from cracked jujube by Soxhlet extraction had good thermal stability, light had a certain influence on its stability, and pH had a greater influence on the stability of red pigment.

**Key words:** red pigment in cracked jujube; Soxhlet extraction method; physicochemical properties; antioxidant activity; stability

引文格式:

任瑞珍, 薛建娥. 索氏抽提法制备裂果枣红色素及其理化性质分析[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(10): 171-180.

REN Ruizhen, XUE Jian'e. Preparation of Red Pigment from Cracked Jujube by Soxhlet Extraction Method and Its Physicochemical Properties[J]. Food Research and Development, 2024, 45(10): 171-180.

基金项目: 吕梁市科技计划项目(2023NYFF15)

作者简介: 任瑞珍(1990—), 女(汉), 助理实验师, 硕士, 研究方向: 农产品加工与贮藏。

山西为红枣种植大省,吕梁临县有专门的红枣种植区,临县红枣的种类主要有母枣、骏枣、牙枣和梨枣。山西省临县枣区属暖温带大陆性气候,常年干旱少雨,气温偏高,然而到秋季收获时容易受到阴雨季节的影响,连日下雨,使果面纵向裂开,果肉稍外露,随之裂果腐烂变酸,不可食用<sup>[1]</sup>。红枣中含有丰富的多糖、矿物质、维生素、多酚和皂苷等,枣皮有高浓度的色素和非色素酚类化合物<sup>[2]</sup>。裂果枣不可食用,秋季采摘时,只能任其在田地里腐烂。

红色素是从红枣中提取的一种天然色素,关于其提取工艺已有研究报道,然而在索氏加热回流提取法方面的研究鲜有报道。国内外采用索氏抽提法提取酚类化合物和黄酮类化合物的研究较为成熟,以乙醇为提取溶剂,利用溶剂反复回流对色素进行抽提,是一种绿色高效的提取方法<sup>[3-4]</sup>,为了充分开发和利用裂果枣,提高裂果枣附加值,本研究采用索氏抽提法对裂果枣红色素进行提取,以期对裂果枣的综合利用提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

裂果红枣:临县三交红枣种植区;红枣色素(食品级):郑州奇华顿化工产品有限公司;无水乙醇、乙酸乙酯、氢氧化钠、盐酸、亚硝酸钠、对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺(均为分析纯):国药集团化学试剂有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)(分析纯):合肥博美生物科技有限责任公司;抗坏血酸(分析纯):福晨(天津)化学试剂有限公司;二丁基羟基甲苯(butylated hydroxytoluene, BHT)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS](均为分析纯):阿拉丁试剂(上海)有限公司;过硫酸钾(分析纯):中山诚泰化工科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

HH-6型数显恒温水浴锅:常州天瑞仪器有限公司;SOX406索氏抽提测定仪:济南海能仪器股份有限公司;101-2A型电热鼓风干燥箱:北京中兴伟业仪器有限公司;BS323S电子天平:赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;DZF6216型真空干燥箱:上海一恒科学仪器有限公司;UV1600型紫外可见分光光度计:上海美谱达仪器有限公司;RE52AA旋转蒸发仪:上海亚荣生化仪器厂。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 裂果枣粉的制备

将裂果枣进行清洗处理,去枣核,去除裂果枣腐敗损坏部分后倒入沸水中漂烫1 min,捞出后35℃温水中浸泡12 h,于电热鼓风干燥箱中干燥,干燥后粉碎处

理,得到裂果枣粉<sup>[5]</sup>。

#### 1.3.2 单因素试验

以裂果枣粉为试验原料,固定乙醇溶液添加量为50 mL,分别在不同裂果枣粉添加量(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 g/100 mL)、不同乙醇体积分数(40%、50%、60%、70%、80%、90%)、不同加热温度(70、75、80、85、90、95℃)、不同浸提时间(10、20、30、40、50、60 min)、不同抽提时间(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h)的条件下,采用索氏抽提测定仪进行裂果枣红色素的提取。

#### 1.3.3 响应面试验

响应面试验因素与水平见表1。

表1 响应面试验因素与水平

Table 1 Experimental factors and levels of response surface

水平	A 裂果枣粉添加量/ (g/100 mL)	B 乙醇体积分数/%	C 加热温度/℃	D 浸提时间/min	E 抽提时间/h
-1	1.0	50	80	20	1.0
0	1.5	60	85	30	1.5
1	2.0	70	90	40	2.0

#### 1.3.4 索氏抽提法提取裂果枣红色素

向抽提杯中放入50 mL一定体积分数的乙醇溶液,将裂果枣粉放入自制的滤纸框中,将抽提杯和滤纸框全部放入索氏抽提测定仪后,压下扳手,使得套筒紧紧套牢抽提杯,完全密封。而后打开仪器,设置仪器加热的温度、校准传感器温度、加热时间(加热时间为浸提时间与抽提时间的总和)。加热开始后移动滑珠,使滤纸框没入抽提杯的乙醇溶液中,进行浸提处理,待浸提时间结束后,移动滑珠将滤纸框悬到半空,使回流的乙醇溶液滴入滤纸筒中,对滤纸筒的裂果枣粉粉末进一步抽提。待抽提时间结束后,关闭阀门,回收乙醇溶液。待液面不再上升便可拉起扳手,取出抽提杯进行后续处理。

乙酸乙酯的萃取:参考卢小草等<sup>[6]</sup>的方法并略加改进,将抽提杯中的样液置于萃取器中,按照裂果枣样液与乙酸乙酯体积比1:2,加入乙酸乙酯进行萃取,乙酸乙酯相中的下层清液为裂果枣红色素。

#### 1.3.5 裂果枣红色素提取率的计算

参考游凤<sup>[7]</sup>的研究方法,略作改进,将红枣色素用去离子水稀释为不同浓度(0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mg/mL),用紫外可见分光光度计测定其在410~510 nm范围内的吸光度,以选定色素含量测定的特征波长,并绘图得到线性回归方程。

准确吸取1 mL裂果枣红色素样液于20 mL容量瓶中,用去离子水定容,同时取1 mL提取剂用去离子水稀释相同倍数作空白样品,在选定波长处测定色素溶液的吸光度 $A_1$ ,由标准曲线得到裂果枣红色素的浓度 $c$ ,根据公式(1)计算裂果枣红色素的提取率( $R$ , mg/g)。

$$R = \frac{c \times 20 \times V}{m} \quad (1)$$

式中: $c$ 为裂果枣色素的浓度,mg/mL;20为稀释倍数; $V$ 为提取剂的体积,mL; $m$ 为添加裂果枣粉的质量,g。

### 1.3.6 裂果枣红色素抗氧化活性和稳定性测定

#### 1.3.6.1 裂果枣红色素对 DPPH 自由基清除能力的测定

参考孟迪等<sup>[8]</sup>的方法并略加修改,将裂果枣红色素用 60% 乙醇稀释至 2 mg/mL。分别吸取 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 置于 10 mL 比色管中,用蒸馏水定容,加 2.0 mL 0.2 mmol/L DPPH 乙醇溶液,室温静置 30 min,在 517 nm 波长处测定吸光度( $A_1$ )。以无水乙醇代替 DPPH 乙醇溶液测定的吸光度( $A_2$ ),以蒸馏水代替裂果枣红色素待测样液测吸光度( $A_0$ ),以  $V_c$  和 BHT 为对照,按公式(2)计算裂果枣红色素对 DPPH·清除率( $D, \%$ )。

$$D = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

#### 1.3.6.2 裂果枣红色素对亚硝酸根( $\text{NO}_2^-$ )清除能力的测定

参考张灵帮等<sup>[9]</sup>的方法并略作改进,裂果枣红色素的浓度分别为 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50 mg/mL,吸取裂果枣色素样液 2 mL,添加 2 mL 5.0  $\mu\text{g/mL}$  的  $\text{NaNO}_2$  溶液,室温静置 30 min,加入 2 mg/mL 盐酸萘乙二胺溶液 1 mL,用蒸馏水定容至 25 mL,于 538 nm 处测定吸光度( $A_1$ )。以蒸馏水代替裂果枣红色素待测样液测吸光度( $A_0$ ),没有加入盐酸萘乙二胺溶液的吸光度( $A_2$ ), $V_c$ 为阳性对照,按公式(3)计算  $\text{NO}_2^-$ 清除率( $N, \%$ )。

$$N = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

#### 1.3.6.3 裂果枣红色素对 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 清除能力的测定

参照陈佳乐等<sup>[10]</sup>的方法并稍作修改,裂果枣红色素的浓度分别为 0.1、0.2、0.3、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/mL,将 1 mL 样品溶液与 4 mL 现配的 ABTS 工作液混合,振荡均匀,常温避光反应 6 min,在 734 nm 处测定吸光度( $A_1$ ),以蒸馏水代替裂果枣红色素待测样液测吸光度( $A_0$ ),将 ABTS 溶液替换为等量蒸馏水测吸光度( $A_2$ )。 $V_c$ 作为阳性对照,按公式(4)计算  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 清除率( $T, \%$ )。

$$T = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100 \quad (4)$$

#### 1.3.6.4 光照对裂果枣红色素稳定性的影响

参考王钊等<sup>[11]</sup>的方法并略作修改,将裂果枣红色素溶液分别取 10 mL 于 3 支试管中,将试管分别置于暗光、自然光和强光下,并在 0、1、2、3、4、5 h 测定其 460 nm 处的吸光度。

#### 1.3.6.5 温度对裂果枣红色素稳定性的影响

参考李昊等<sup>[12]</sup>的方法并略作修改,将裂果枣红色素溶液分别取 10 mL 于 6 支试管中,将试管分别在 0、10、20、40、60、80  $^{\circ}\text{C}$  下恒温保存,并在 0、1、2、3、4、5、6 h 测定其 460 nm 处的吸光度。

#### 1.3.6.6 pH 值对裂果枣红色素稳定性的影响

参考王钊等<sup>[11]</sup>的方法略作修改,将裂果枣红色素溶液分别取 10 mL 于 7 支试管中,其中 1 支不作处理作为空白对照,另外 6 支试管中以 HCl 溶液、NaOH 溶液调节 pH 值分别为 2.0~12.0,并在 0、1、2、3、4、5 h 测定其 460 nm 处的吸光度。

## 1.4 数据处理

所有试验重复 3 次,采用 SPSS 20.0 进行单因素方差分析, $P < 0.05$  为差异显著。采用 Origin 软件进行绘图处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 裂果枣红色素最大吸收波长和标准曲线的确定

裂果枣红色素不同波长下的吸光度见图 1。

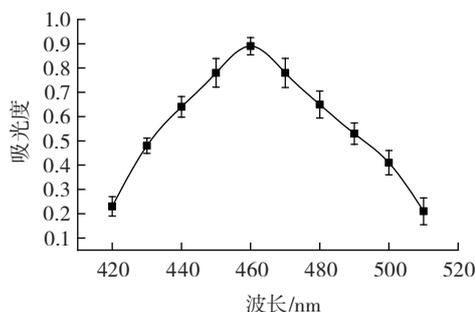


图 1 裂果枣红色素不同波长下的吸光度

Fig.1 Absorbance values of red pigment in cracked jujube at different wavelengths

由图 1 可知,裂果枣红色素在 460 nm 处吸光度最大,因此,确定在 460 nm 处测定裂果枣红色素的吸光度,这与翟龙飞<sup>[13]</sup>的结果相一致。

裂果枣红色素的标准曲线见图 2。

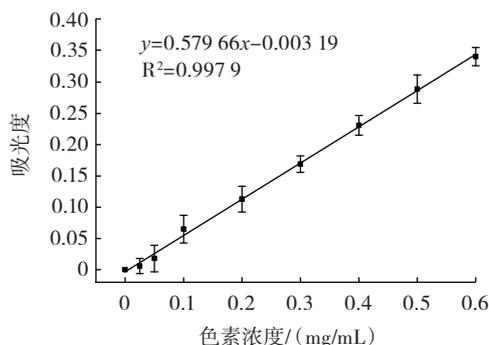


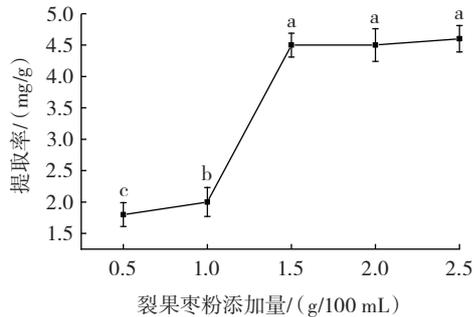
图 2 裂果枣红色素的标准曲线

Fig.2 Standard curve of red pigment in cracked jujube

由图2可知,  $R^2 > 0.99$ , 说明回归线与实际数据拟合度高。

### 2.1.2 裂果枣粉添加量对裂果枣红色素提取率的影响

裂果枣粉添加量对裂果枣红色素提取率的影响见图3。



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

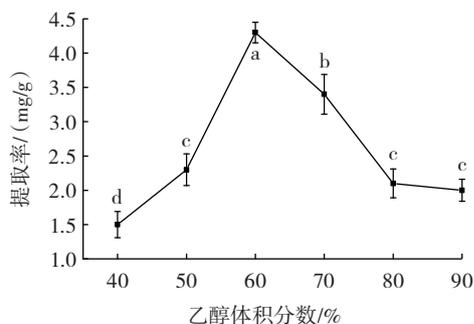
图3 裂果枣粉添加量对裂果枣红色素提取率的影响

Fig.3 Effect of added amount of cracked jujube powder on the extraction rate of red pigment in cracked jujube

由图3可知, 随着裂果枣粉添加量的增加, 裂果枣红色素的提取率显著增加, 当裂果枣粉添加量为1.5 g/100 mL时, 裂果枣红色素提取率达到较高水平, 再进一步提高裂果枣粉添加量, 裂果枣红色素提取率基本稳定, 因为乙醇溶液相对较少, 无法充分润湿裂果枣粉内部, 导致裂果枣红色素提取率不再增加<sup>[14]</sup>。因此, 选择裂果枣粉添加量为1.0、1.5、2.0 g/100 mL进行后续响应面试验。

### 2.1.3 乙醇体积分数对裂果枣红色素提取率的影响

乙醇体积分数对裂果枣红色素提取率的影响见图4。



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

图4 乙醇体积分数对裂果枣红色素提取率的影响

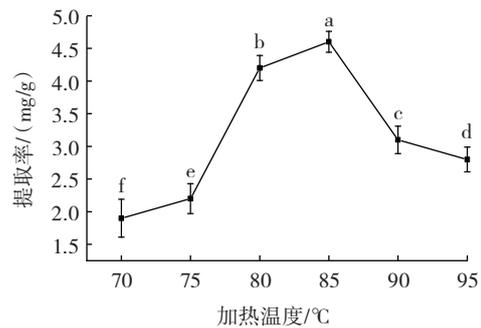
Fig.4 Effect of the volume fraction of ethanol on the extraction rate of red pigment in cracked jujube

传统的试剂提取可食用色素, 可能对人体有害, 因此利用清洁型提取剂已成为研究热点<sup>[14]</sup>。由图4可知, 随着乙醇体积分数的增加, 裂果枣红色素的提取率先上升后下降, Miranda等<sup>[15]</sup>研究发现乙醇具有极性的官能团, 与样品混合后可增加色素的极性, 促进裂果枣

红色素的提取。乙醇体积分数60%时, 裂果枣红色素提取率最高, 而后随着乙醇体积分数的增加, 裂果枣红色素提取率下降。Jain等<sup>[16]</sup>发现溶剂的极性强度会影响色素提取的效率。Sharmila等<sup>[17]</sup>研究发现, 水和有机溶剂的结合可以更好地萃取溶于水和有机溶剂的色素。根据相似相溶原理, 水的极性最大, 乙醇极性小, 所以乙醇-水溶液中, 乙醇的浓度越大, 极性越小, 只有在特定极性条件下, 裂果枣红色素才最容易被溶解提取。因此, 选择乙醇体积分数为50%、60%、70%进行后续响应面试验。

### 2.1.4 加热温度对裂果枣红色素提取率的影响

加热温度对裂果枣红色素提取率的影响见图5。



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

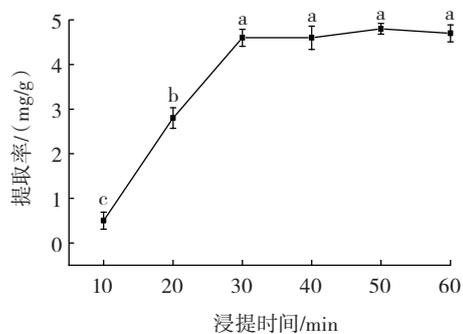
图5 加热温度对裂果枣红色素提取率的影响

Fig.5 Effect of heating temperature on the extraction rate of red pigment in cracked jujube

由图5可知, 随着加热温度的升高, 裂果枣红色素的提取率升高, 当加热温度达到85°C时, 提取率达到最高值。而后随着加热温度升高, 提取率降低, 这主要是因为适当提高加热温度可提高色素的溶解度, 促进溶剂的扩散, 降低体系的黏度<sup>[18]</sup>。然而, 加热温度过高, 会导致色素的分解和聚合反应。因此, 选择加热温度为80、85、90°C进行后续响应面试验。

### 2.1.5 浸提时间对裂果枣红色素提取率的影响

浸提时间对裂果枣红色素提取率的影响见图6。



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

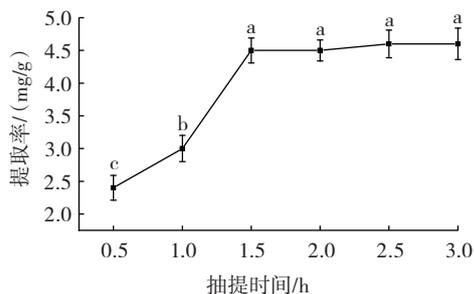
图6 浸提时间对裂果枣红色素提取率的影响

Fig.6 Effect of leaching time on the extraction rate of red pigment in cracked jujube

由图6可知,浸提前30 min,随着浸提时间的延长,裂果枣红色素提取率增加,浸提30 min后,裂果枣红色素不再明显上升,裂果枣粉浸提阶段,乙醇溶液需要一定时间才能将裂果枣粉浸透,因此,浸提初期,提取率会不断上升。而30 min以后,提取率不再增加,说明乙醇溶液中红色素溶出已经达到饱和,再延长浸提时间,只会导致浸提成本的增加<sup>[19]</sup>。因此,选择浸提时间为20、30、40 min进行后续响应面试验。

### 2.1.6 抽提时间对裂果枣红色素提取率的影响

抽提时间对裂果枣红色素提取率的影响见图7。



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

图7 抽提时间对裂果枣红色素提取率的影响

Fig.7 Effect of extraction time on the extraction rate of red pigment in cracked jujube

由图7可知,随着抽提时间的延长,提取率不断增加,抽提时间为1.5 h时,提取率较高。裂果枣经过了浸提和抽提两个阶段,浸提阶段对裂果枣粉进行了初步提取,抽提阶段主要是通过挥发后冷凝的乙醇溶液对裂果枣进行第二次提取,使得裂果枣红色素被充分溶出,1.5 h后提取率不再明显增加,说明裂果枣红色素基本全部溶出<sup>[20]</sup>。因此,选择抽提时间为1.0、1.5、2.0 h进行后续响应面试验。

## 2.2 响应面法优化

### 2.2.1 响应面试验结果

裂果枣红色素的响应面试验以裂果枣红色素提取率为指标,在单因素试验的基础上以A裂果枣粉添加量、B乙醇体积分数、C加热温度、D浸提时间、E抽提时间为影响因素,设计五因素三水平共46个点的试验方案,试验结果如表2所示。

由响应面软件对试验结果进行数据分析得出模型回归方程为  $Y = 4.57 + 0.19A + 0.18B + 0.27C + 0.12D + 0.29E + 0.28AB + 0.08AC - 0.13AD - 0.33AE - 0.05BC - 0.28BD - 0.1BE - 0.05CD + 0.05CE - 0.13DE - 0.38A^2 - 0.33B^2 - 0.24C^2 - 0.29D^2 - 0.32E^2$ 。

方差分析结果见表3。

从表3可以看出,模型极显著( $P < 0.01$ ),失拟项不显著( $P > 0.05$ ),表明二次回归方程(模型)显著且可靠性高,可用该模型预测裂果枣粉的最佳索氏提取条件。决定系数  $R^2_{adj} = 0.8533$ 、相关系数  $R^2 = 0.9185$ ,表明模

表2 响应面试验结果

Table 2 Experimental results of response surface

序号	A 裂果枣粉添加量/(g/100 mL)	B 乙醇体积分数/%	C 加热温度/ $^{\circ}C$	D 浸提时间/min	E 抽提时间/h	Y 裂果枣红色素提取率/(mg/g)
1	1.5	60	80	40	1.5	3.8
2	1.5	60	90	30	1.0	4.0
3	1.0	60	85	30	1.0	3.1
4	1.0	60	90	30	1.5	4.1
5	2.0	60	90	30	1.5	4.5
6	1.5	70	85	30	2.0	4.3
7	1.5	60	90	40	1.5	4.2
8	1.0	60	85	30	2.0	4.2
9	1.5	60	85	30	1.5	4.3
10	1.5	70	80	30	1.5	4.0
11	2.0	60	80	30	1.5	3.7
12	1.5	60	90	20	1.5	4.1
13	1.5	60	90	30	2.0	4.5
14	2.0	60	85	40	1.5	4.0
15	1.5	60	85	30	1.5	4.6
16	2.0	70	85	30	1.5	4.4
17	1.5	60	85	20	1.0	3.3
18	1.5	70	85	40	1.5	4.1
19	1.5	60	85	30	1.5	4.7
20	1.5	60	85	20	2.0	4.2
21	1.0	50	85	30	1.5	3.6
22	1.0	60	85	40	1.5	3.9
23	1.5	60	80	30	2.0	3.9
24	1.5	70	90	30	1.5	4.4
25	2.0	60	85	20	1.5	4.2
26	1.5	60	85	40	2.0	4.4
27	1.5	50	85	20	1.5	3.4
28	1.5	60	85	30	1.5	4.6
29	1.0	60	80	30	1.5	3.6
30	1.5	50	85	40	1.5	4.2
31	2.0	60	85	30	2.0	4.1
32	1.0	70	85	30	1.5	3.5
33	1.5	60	80	20	1.5	3.5
34	2.0	50	85	30	1.5	3.4
35	1.5	60	80	30	1.0	3.6
36	1.5	50	90	30	1.5	4.3
37	1.5	70	85	20	1.5	4.4
38	2.0	60	85	30	1.0	4.3
39	1.0	60	85	20	1.5	3.6
40	1.5	60	85	40	1.0	4.0
41	1.5	50	85	30	2.0	4.2
42	1.5	60	85	30	1.5	4.6
43	1.5	60	85	30	1.5	4.6
44	1.5	50	85	30	1.0	3.2
45	1.5	50	80	30	1.5	3.7
46	1.5	70	85	30	1.0	3.7

表3 二次多项式回归方程的方差分析

Table 3 Variance analysis of quadratic polynomial regression equation

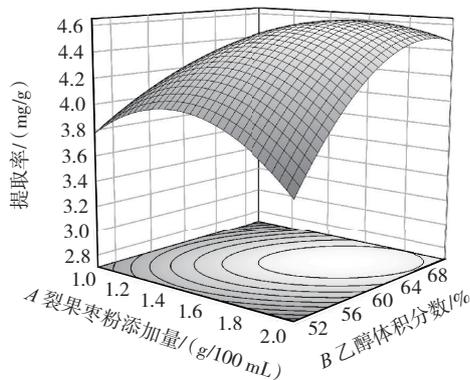
来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	7.18	20	0.36	14.09	<0.000 1	**
A	0.56	1	0.56	22.07	<0.000 1	**
B	0.49	1	0.49	19.23	0.000 2	**
C	1.16	1	1.16	45.35	<0.000 1	**
D	0.23	1	0.23	8.85	0.006 4	**
E	1.32	1	1.32	51.90	<0.000 1	**
AB	0.30	1	0.30	11.87	0.002 0	**
AC	0.02	1	0.02	0.89	0.356 4	
AD	0.063	1	0.06	2.45	0.129 9	
AE	0.42	1	0.42	16.58	0.000 4	**
BC	0.010	1	0.010	0.39	0.536 7	
BD	0.30	1	0.30	11.87	0.002 0	**
BE	0.040	1	0.040	1.57	0.221 8	
CD	0.01	1	0.01	0.39	0.536 7	
CE	0.010	1	0.010	0.39	0.536 7	
DE	0.063	1	0.063	2.45	0.129 9	
A <sup>2</sup>	1.28	1	1.28	50.32	<0.000 1	**
B <sup>2</sup>	0.97	1	0.97	38.05	<0.000 1	**
C <sup>2</sup>	0.51	1	0.51	20.00	0.000 1	**
D <sup>2</sup>	0.74	1	0.74	29.13	<0.000 1	**
E <sup>2</sup>	0.88	1	0.88	34.34	<0.000 1	**
残差	0.64	25	0.026			
失拟项	0.54	20	0.027	1.46	0.360 9	
纯误差	0.093	5	0.019			

注:\*\*表示影响极显著, $P<0.01$ 。

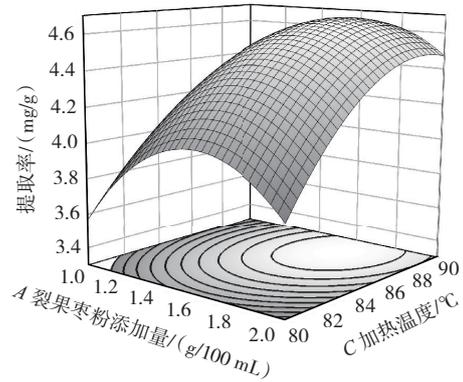
模型能较好地拟合出真实曲面,模型的相关系数较高,说明模型反映出来的预测值与真实值之间的相关性高,误差小,二次回归方程能够拟合真实的试验效果<sup>[21]</sup>。方差分析表中P值及F值可反映各影响因素的主次因素<sup>[22]</sup>。各因素对裂果枣红色素提取率的影响先后顺序为浸提时间<乙醇体积分数<裂果枣粉添加量<加热温度<抽提时间。

### 2.2.2 响应面因素间的交互关系

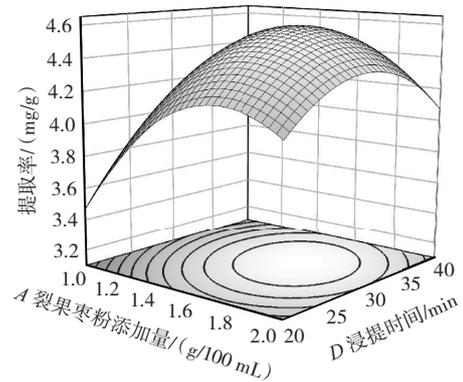
各因素交互作用对裂果枣红色素提取率影响的响应曲面见图8。



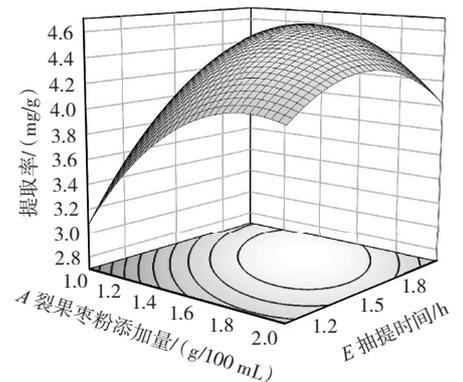
a 乙醇体积分数与裂果枣粉添加量交互作用



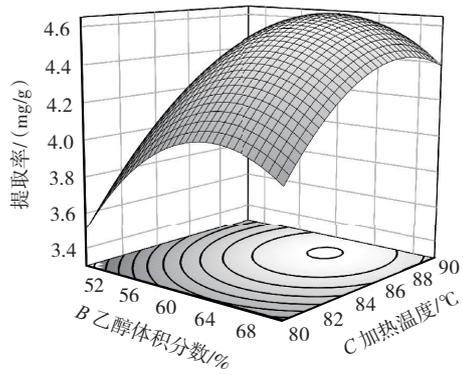
b 加热温度与裂果枣粉添加量交互作用



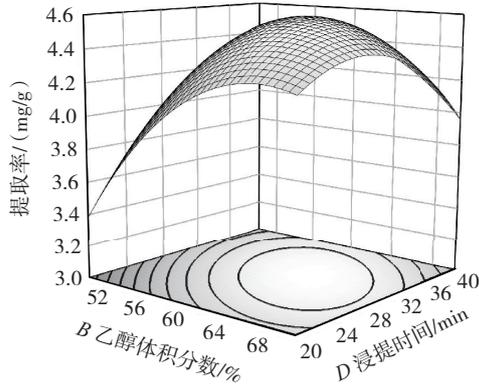
c 浸提时间与裂果枣粉添加量交互作用



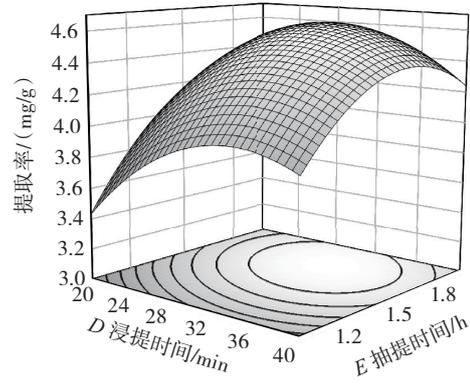
d 抽提时间与裂果枣粉添加量交互作用



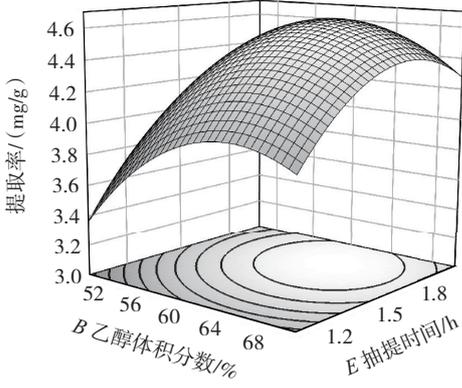
e 加热温度与乙醇体积分数交互作用



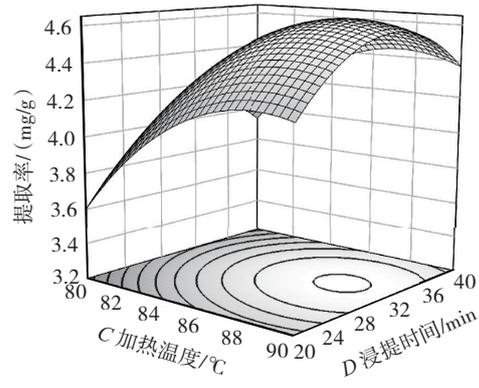
f 浸提时间与乙醇体积分数交互作用



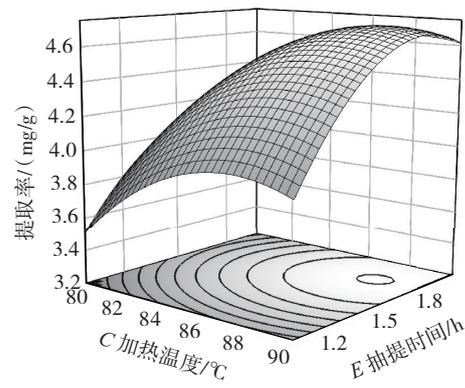
j 抽提时间与浸提时间交互作用



g 抽提时间与乙醇体积分数交互作用



h 浸提时间与加热温度交互作用



i 抽提时间与加热温度交互作用

图8 各因素交互作用对裂果枣红色素提取率影响的响应曲面  
Fig.8 Response surface diagram of effect of the interaction of various factors on the extraction rate of red pigment in cracked jujube

图8可以直观看出,各响应面最大值所对应的因素水平,也可以由响应曲面的曲率反映各因素交互作用的强弱,曲率越大因素交互影响越大。等高线越密集,代表各因素对结果的影响越显著,等高线比较稀疏,则表示该因素对结果的影响较小<sup>[23-24]</sup>。由图8可知,所有曲面均为凸型面,即所选范围响应值存在最大值。在本试验中,对裂果枣红色素提取率的影响关系为抽提时间大于加热温度、加热温度大于裂果枣粉添加量、裂果枣粉添加量大于乙醇体积分数、乙醇体积分数大于浸提时间,这与表3结果相一致。

### 2.2.3 验证试验

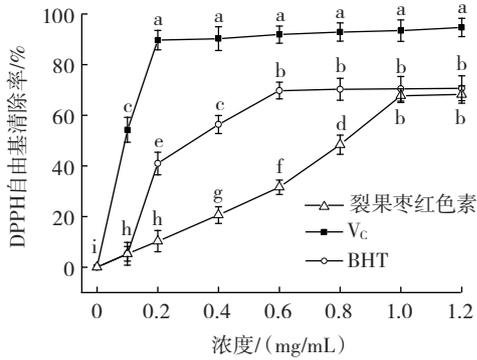
根据响应面试验结果,得到本试验的最佳工艺条件为裂果枣粉添加量 2.00 g/100 mL、乙醇体积分数 68.150%、加热温度 88.332 °C、浸提时间 25.570 min、抽提时间 1.476 h,预测裂果枣红色素提取率为 4.671 mg/g。考虑到试验的可操作性,将最佳工艺条件调整为裂果枣粉添加量 2.0 g/100 mL、乙醇体积分数 69%、加热温度 89 °C、浸提时间 26 min、抽提时间 1.5 h,为验证模型的可靠性,在调整后的最优工艺条件下进行3组平行试验,得到平均裂果枣红色素提取率为 4.540 mg/g,与预测的提取率 3.548 mg/g 相对偏差 2.78%,小于5%。两者吻合度较高,说明模型能很好预测裂果枣红色素提取率,优化后的工艺参数条件可靠,能够为裂果枣的综合开发利用提供技术参考。

## 2.3 裂果枣红色素抗氧化活性结果

### 2.3.1 裂果枣红色素对 DPPH 自由基的清除能力

不同裂果枣红色素浓度对 DPPH 自由基清除率的影响见图9。

由图9可知,与 V<sub>c</sub> 和 BHT 相比,裂果枣红色素清除 DPPH 自由基所需的浓度比较高,且清除率较 V<sub>c</sub> 差,然而当裂果枣红色素浓度达到 1.2 mg/mL 时,其清



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

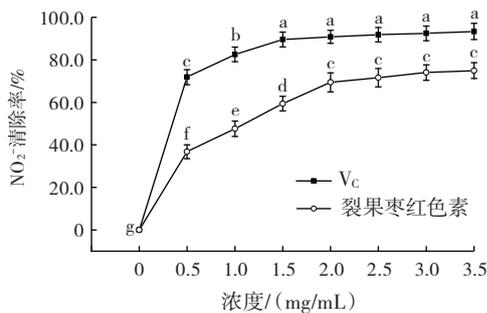
图9 不同裂果枣红色素浓度对DPPH自由基清除率的影响

Fig.9 Effect of different concentrations of red pigment in cracked jujube on DPPH free radical scavenging activity

除DPPH自由基的能力与BHT几乎一致,清除率可达67.8%,研究结果与文献[5、24]相一致。王宁博<sup>[25]</sup>研究发现,黑果枸杞多酚在1 mg/mL时,对DPPH自由基清除率为61.37%,裂果枣红色素的DPPH自由基清除能力稍强于黑果枸杞多酚。Rajaei等<sup>[26]</sup>研究表明,红枣种子提取物DPPH自由基清除率低于枣果肉提取物。裂果枣红色素中富含多酚黄酮类物质,本研究中只对裂果枣果肉果皮的活性物质进行探究,红枣果肉、果皮及红枣种子的活性物质差异有待进一步研究。

### 2.3.2 裂果枣红色素对亚硝酸根( $\text{NO}_2^-$ )的清除能力

不同裂果枣红色素浓度对 $\text{NO}_2^-$ 清除率的影响见图10。



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

图10 不同裂果枣红色素浓度对 $\text{NO}_2^-$ 清除率的影响

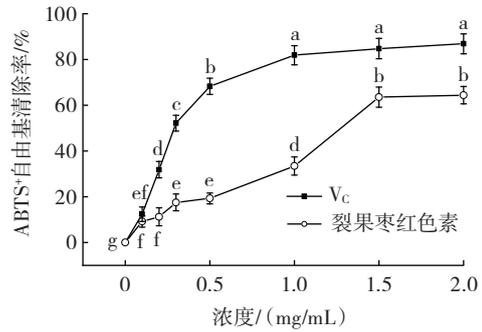
Fig.10 Effect of different concentrations of red pigment in cracked jujube on  $\text{NO}_2^-$  scavenging activity

由图10可知,与Vc的清除能力相比,裂果枣红色素清除 $\text{NO}_2^-$ 所需的浓度较高,且清除率较Vc低,然而当裂果枣红色素浓度达到2.0 mg/mL时, $\text{NO}_2^-$ 清除率可达69.4%。谢三都等<sup>[27]</sup>研究发现,当柿子黄色素浓度达到3.0 mg/mL时,其对亚硝酸根离子的清除率分别为96.73%。裂果枣红色素的 $\text{NO}_2^-$ 清除能力较柿子黄色素弱。

### 2.3.3 裂果枣红色素对ABTS<sup>+</sup>自由基的清除能力

不同裂果枣红色素浓度对ABTS<sup>+</sup>自由基清除率的

影响见图11。



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

图11 不同裂果枣红色素浓度对ABTS<sup>+</sup>自由基清除率的影响

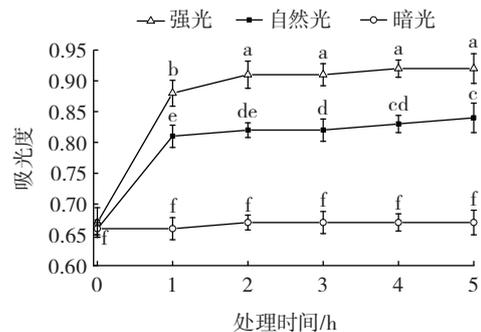
Fig.11 Effect of different concentrations of red pigment in cracked jujube on ABTS<sup>+</sup> free radical scavenging activity

由图11可知,与Vc的清除能力相比,裂果枣红色素ABTS<sup>+</sup>自由基清除率曲线增长较缓慢,清除率较Vc低,然而当裂果枣红色素浓度达到1.5 mg/mL时,ABTS<sup>+</sup>自由基清除率可达63.5%。施宝珠<sup>[28]</sup>研究发现,当柿皮色素浓度为0.5 mg/mL,ABTS<sup>+</sup>自由基清除率为61.23%,裂果枣红色素的ABTS<sup>+</sup>自由基清除力略高于柿皮色素。Vieira等<sup>[29]</sup>研究指出索氏抽提法提取的多酚类化合物比传统浸提法具有更高的抗氧化活性。

## 2.4 裂果枣红色素稳定性试验结果

### 2.4.1 光照对裂果枣红色素稳定性的影响

光照对裂果枣红色素的影响如图12所示。



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

图12 光照对裂果枣红色素稳定性的影响

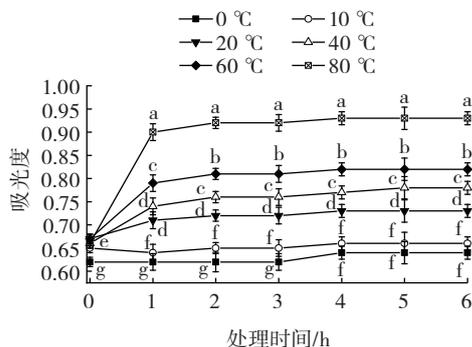
Fig.12 Effect of light on the stability of red pigment in cracked jujube

由图12可知,暗光贮藏时,裂果枣红色素吸光度基本无变化。在自然光及强光下贮藏时,随着处理时间的延长,裂果枣红色素吸光度在1 h内会有升高现象,后期逐渐趋向稳定,说明裂果枣红色素对光照的稳定性较高<sup>[11]</sup>。

### 2.4.2 温度对裂果枣红色素稳定性的影响

温度对裂果枣红色素的稳定性影响如图13所示。

由图13可知,温度在60℃以下时,裂果枣红色素的稳定性较好,温度达到80℃时,裂果枣红色素的吸



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

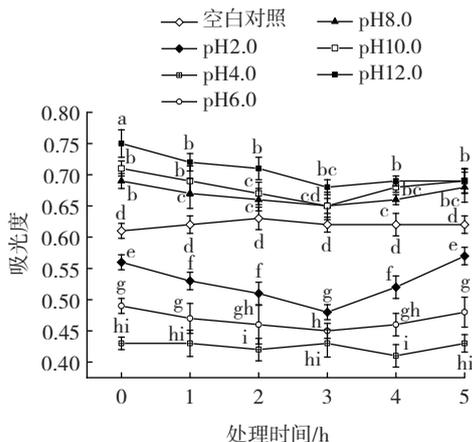
图 13 温度对裂果枣红色素稳定性的影响

Fig.13 Effect of temperature on the stability of red pigment in cracked jujube

光度在 1 h 内会迅速上升,而后稳定。综上,在 60 °C 以下贮藏时,裂果枣红色素的吸光度变化较小,稳定性较高<sup>[12]</sup>。

#### 2.4.3 pH 值对裂果枣红色素稳定性的影响

pH 值对裂果枣红色素的稳定性影响如图 14 所示。



不同小写字母表示存在显著差异,  $P < 0.05$ 。

图 14 pH 值对裂果枣红色素稳定性的影响

Fig.14 Effect of pH on the stability of red pigment in cracked jujube

由图 14 可知,裂果枣红色素在酸性条件下吸光度变化较大,pH 值在 2.0、4.0、6.0 时,裂果枣红色素溶液吸光度均较空白对照低,且整体呈现先下降后上升的变化趋势,pH 值为 4.0 时,吸光度最低,而在碱性环境时,裂果枣红色素的稳定性较好,与空白对照相比有一定的增色效应<sup>[11]</sup>。

### 3 结论

裂果枣红色素索氏抽提法的提取最佳工艺为裂果枣粉添加量 2.0 g/100 mL、乙醇体积分数 69%、加热温度 89 °C、浸提时间 26 min、抽提时间 1.5 h,裂果枣红色素提取率 4.540 mg/g。裂果枣红色素的抗氧化活性

试验结果表明,裂果枣红色素浓度达到 1.2 mg/mL 时,其 DPPH 自由基清除率可达 67.8%;当裂果枣红色素浓度达到 2.0 mg/mL 时,NO<sub>2</sub><sup>-</sup>清除率为 69.4%;当裂果枣红色素浓度达到 1.5 mg/mL 时,ABTS<sup>+</sup>自由基清除率达到 63.5%。光照、温度和 pH 值对裂果枣红色素稳定性影响试验结果表明,裂果枣红色素对光照和温度的敏感度较低,且在碱性环境中,裂果枣红色素处于稳定状态。

#### 参考文献:

- [1] 陈霞. 山西吕梁山区红枣产业发展现状及提质增效建议[J]. 山西林业科技, 2022, 51(3): 63-64.
- [2] CHEN Xia. Present situation and improving suggestions of jujube industry development in Lvliang Mountain Area of Shanxi Province [J]. Shanxi Forestry Science and Technology, 2022, 51(3): 63-64.
- [3] DOU J F, WU C E, FAN G J, et al. Insights into the pigment and non-pigment phenolic profile of polyphenol extracts of jujube peel and their antioxidant and lipid-lowering activities[J]. Food Bioscience, 2023, 52: 102493.
- [4] PALMIERI S, PELLEGRINI M, RICCI A, et al. Chemical composition and antioxidant activity of thyme, hemp and coriander extracts: A comparison study of maceration, soxhlet, UAE and RSLDE techniques[J]. Foods, 2020, 9(9): 1221.
- [5] NURALI N L, GÜRÜ M. *Berberis vulgaris* fruit: Determination of phenolic compounds in extracts obtained by supercritical CO<sub>2</sub> and soxhlet methods using HPLC[J]. Food Analytical Methods, 2022, 15 (4): 877-889.
- [6] LIU H X, WU J J, CAI Z E, et al. Extraction of red pigment from Chinese jujube peel and the antioxidant activity of the pigment extracts[J]. Open Chemistry, 2022, 20(1): 849-862.
- [7] 卢小草, 邱志鹏, 李敏, 等. 葡萄果皮花青素提取工艺优化研究[J]. 中国农学通报, 2019, 35(8): 114-121.
- [8] LU Xiaocao, QIU Zhipeng, LI Min, et al. Optimizing the extraction process of anthocyanin in grape peel[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2019, 35(8): 114-121.
- [9] 游凤. 红枣果皮功能成分提取、分离与纯化工艺的研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014.
- [10] YOU Feng. Study of extraction, separation and purification of functional components from *Ziziphus Jujuba* Mill. Peel[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2014.
- [11] 孟迪, 党斌, 杨希娟, 等. 青海黄蘑菇色素提取及相关性质研究[J]. 核农学报, 2024, 38(1): 110-121.
- [12] MENG Di, DANG Bin, YANG Xijuan, et al. Extraction and related properties of pigment from Qinghai *Armillaria luteo-virens*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2024, 38(1): 110-121.
- [13] 张灵帮, 邵玲, 胡隼, 等. 两种火龙果果皮红色素提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(5): 163-169, 175.
- [14] ZHANG Lingbang, SHAO Ling, HU Sun, et al. Optimization of extraction technology and antioxidant activity of red pigment from two different species of pitaya peel[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(5): 163-169, 175.
- [15] 陈佳乐, 任顺成. 琼北红米色素的精制及抗氧化性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2023, 44(2): 81-88.
- [16] CHEN Jiale, REN Shuncheng. Study on purification and antioxidation of Qiongbai red rice pigment[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2023, 44(2): 81-88.
- [17] 王钊, 李科举, 李玉江, 等. 超声辅助提取紫草红色素及其性质

- 研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(9): 34-41.
- WANG Zhao, LI Keju, LI Yujiang, et al. Ultrasound-assisted extraction of shikoin red pigments and its properties[J]. China Food Additives, 2023, 34(9): 34-41.
- [12] 李昊, 魏好程, 何传波, 等. 辣椒红色素稳定性研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2020, 29(6): 554-559.
- LI Hao, WEI Haocheng, HE Chuanbo, et al. A study of the stability of capsicum red pigment[J]. Journal of Yunnan Minzu University (Natural Sciences Edition), 2020, 29(6): 554-559.
- [13] 翟龙飞. 枣中黄酮类化合物及枣皮红色素的初步研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2014.
- ZHAI Longfei. Study on flavonoid contents and pigments of Chinese Jujube[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2014.
- [14] LEE S Y, LIANG Y N, STUCKEY D C, et al. Single-step extraction of bioactive compounds from cruciferous vegetable (kale) waste using natural deep eutectic solvents[J]. Separation and Purification Technology, 2023, 317: 123677.
- [15] MIRANDA P H S, DOS SANTOS A C, DE FREITAS B C B, et al. A scientific approach to extraction methods and stability of pigments from Amazonian fruits[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 113: 335-345.
- [16] JAIN A, BEHERA B, PARAMASIVAN B. Evaluation of physico-chemical procedures for pigment extraction from mixed microalgal consortium[J]. Bioresource Technology Reports, 2021, 15: 100775.
- [17] SHARMILA G, MUTHUKUMARAN C, SURIYA E, et al. Ultrasound aided extraction of yellow pigment from *Tecoma castanifolia* floral petals: Optimization by response surface method and evaluation of the antioxidant activity[J]. Industrial Crops and Products, 2019, 130: 467-477.
- [18] LAMA - MUÑOZ A, CONTRERAS M D M, ESPÍNOLA F, et al. Content of phenolic compounds and mannitol in olive leaves extracts from six Spanish cultivars: Extraction with the Soxhlet method and pressurized liquids[J]. Food Chemistry, 2020, 320: 126626.
- [19] GE X T, WAN Z J, SONG N Z, et al. Efficient methods for the extraction and microencapsulation of red pigments from a hybrid rose [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 94(1): 122-128.
- [20] SHARMA M, USMANI Z, GUPTA V K, et al. Valorization of fruits and vegetable wastes and by-products to produce natural pigments [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2021, 41(4): 535-563.
- [21] 高雅文, 李鸿梅, 郑鸿雁, 等. 响应面法优化熟酱稳定性工艺条件[J]. 食品科学, 2019, 40(24): 281-286.
- GAO Yawen, LI Hongmei, ZHENG Hongyan, et al. Optimization of emulsifier combinations to stabilize cooked dajiang, a fermented soybean paste in North China, by response surface methodology[J]. Food Science, 2019, 40(24): 281-286.
- [22] 张国文, 张桂美, 胡明明. 响应面法优化钙软胶囊的制备工艺[J]. 南昌大学学报(理科版), 2020, 44(3): 242-247.
- ZHANG Guowen, ZHANG Guimei, HU Mingming. Optimization of preparation process of Calcium soft capsule by response surface methodology[J]. Journal of Nanchang University (Natural Science), 2020, 44(3): 242-247.
- [23] 钟宜辰, 彭颖, 张珮珮, 等. 响应面优化‘不知火’柑橘果肉渣中结合酚的碱法提取工艺[J]. 华中农业大学学报, 2020, 39(2): 133-140.
- ZHONG Yichen, PENG Ying, ZHANG Peipei, et al. Optimization of alkaline extraction process for bound phenolics from ‘dekopon’ citrus pulp residue[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2020, 39(2): 133-140.
- [24] 胡顺爽, 邵海燕, 吴伟杰, 等. 响应面法优化草莓鲜榨汁紫外杀菌工艺[J]. 食品科学, 2018, 39(22): 227-234.
- HU Shunshuang, GAO Haiyan, WU Weijie, et al. Optimization of UV sterilization process of strawberry fresh juice by response surface methodology[J]. Food Science, 2018, 39(22): 227-234.
- [25] 王宁博. 黑果枸杞的多酚提取工艺、质量评价及其生物活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
- WANG Ningbo. Study on extraction technology, quality evaluation and biological activity of polyphenols from *Lycium barbarum* L[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2022.
- [26] RAJAEI A, SALARBASHI D, ASRARI N, et al. Antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activities of extracts from the seed and pulp of Jujube (*Ziziphus jujuba*) grown in Iran[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 9(2): 682-691.
- [27] 谢三都, 方豪, 郑宝东. 柿子黄色素稳定性及抗氧化活性的研究[J]. 中国调味品, 2016, 41(2): 128-133.
- XIE Sandu, FANG Hao, ZHENG Baodong. Study on the stability and antioxidant activities of yellow pigment from persimmon[J]. China Condiment, 2016, 41(2): 128-133.
- [28] 施宝珠. 柿皮色素成分鉴定与功能性评价[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- SHI Baozhu. Identification and functional evaluation of persimmon peel pigment components[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2018.
- [29] VIEIRA S F, FERREIRA H, NEVES N M. Antioxidant and anti-inflammatory activities of cytotocompatible *Salvia officinalis* extracts: A comparison between traditional and soxhlet extraction[J]. Antioxidants, 2020, 9(11): 1157.