

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2020.05.023

响应面优化水-乙醇法提取云南咖啡生豆绿原酸工艺研究

杨剀舟¹, 翟晓娜², 栾霞¹, 郭咪咪¹, 李秀娟¹, 段章群¹✉

(1. 国家粮食和物资储备局科学研究院, 北京 100037;

2. 农业部规划设计研究院, 北京 100121)

摘要: 以云南卡蒂姆咖啡生豆为原料, 采用水-乙醇法对 9 种绿原酸异构体进行提取。通过单因素实验对物料目数、液料比、水提温度、提取时间、醇浓度和醇提温度进行研究, 并采用响应面设计优化水醇提取工艺。结果表明, 水-乙醇法提取率 (5.21%) 显著高于水提法 (4.29%); 醇浓度和液料比对绿原酸提取率具有显著性影响 ($P \leq 0.01$), 单因素和响应面优化得到的水-乙醇法提取绿原酸的最佳工艺条件为: 醇提温度 60 °C, 提取时间 11.67 min, 物料目数 60 目, 液料比 16.07, 醇浓度 20.16%, 绿原酸提取率为 5.31%。

关键词: 绿原酸; 水-乙醇法; 云南咖啡生豆; 响应面

中图分类号: TS202 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2020)05-0156-07

Study on the Optimization of Water-alcohol Extraction Process of Chlorogenic Acids from Yunnan Green Coffee Beans by Response Surface Methodology

YANG Kai-zhou¹, ZHAI Xiao-na², LUAN Xia¹, GUO Mi-mi¹, LI Xiu-juan¹, DUAN Zhang-qun¹✉

(1. Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China;

2. Chinese Academy of Agricultural Engineering, Beijing 100121, China)

Abstract: Nine chlorogenic acid isomers were extracted from Yunnan Catimor green coffee beans by water-alcohol extraction method. Single factor experiments were carried out to study the material number, ratio of liquid to material, water extraction temperature, extraction time, alcohol concentration and alcohol extraction temperature, and response surface design was used to optimize the water alcohol extraction process. The results showed that the extraction rate of water-alcohol extraction method (5.21%) was significantly higher than that of water extraction method (4.29%); The alcohol concentration and the ratio of liquid to material had significant influence on the extraction rate of chlorogenic acids ($P \leq 0.01$). The optimum extraction conditions of chlorogenic acids isomers by water-alcohol method optimized by single factor and response surface were: alcohol extraction temperature of 60 °C, extraction time of 11.67 min, material mesh of 60, liquid to material ratio of 16.07, alcohol concentration of 20.16%, the extraction rate of chlorogenic acid isomers were of 5.31%.

Key words: chlorogenic acids; water-alcohol extraction; Yunnan green coffee beans; response surface methodology

收稿日期: 2019-12-17

基金项目: 中央级公益性科研院所基本业务费专项 (ZX1706-YQ)

作者简介: 杨剀舟, 男, 1986 年出生, 博士, 助理研究员, 研究方向为油脂化学。

通讯作者: 段章群, 男, 1981 年出生, 博士, 副研究员, 研究方向为油脂化学。

绿原酸是由肉桂酸(咖啡酸、阿魏酸以及香豆酸)和奎宁酸酯化所形成的一类酚酸类化合物,是植物在有氧呼吸过程中经桂皮酸途径所产生的一类苯丙素类化合物^[1],具有良好的生理活性,有抗氧化、抗菌抗炎、抗高血压、保护心血管和调节糖脂代谢等生理功能^[2-6]。绿原酸在自然界中广泛存在,其中在咖啡、金银花和杜仲中含量相对较高,绿原酸在阿拉比卡和罗布斯塔咖啡生豆中含量分别为 3.4%~4.8%和 7.9%~14.4%^[7]。云南作为我国咖啡的主产区,其种植和产量占全国的 98%以上^[8],从云南咖啡豆提取绿原酸不仅原料来源丰富,而且可以大大提高咖啡豆的附加值,对于国内咖啡产业提质增效具有重要意义。

常见的绿原酸单体主要包括 6 种咖啡酰奎宁酸,分别是 3-咖啡酰奎宁酸(3-CQA)、4-咖啡酰奎宁酸(4-CQA)、5-咖啡酰奎宁酸(5-CQA)、3,4-双咖啡酰奎宁酸(3,4-DICQA)、3,5-双咖啡酰奎宁酸(3,5-DICQA)和 4,5-双咖啡酰奎宁酸(4,5-DICQA),以及 3 种阿魏酰奎宁酸,分别是 3-阿魏酰奎宁酸(3-FQA)、4-阿魏酰奎宁酸(4-FQA)与 5-阿魏酰奎宁酸(5-FQA)^[7]。单咖啡(阿魏)酰奎宁酸(CQA 和 FQA)易溶于水、醇和丙酮等试剂,而双咖啡酰奎宁酸(DICQA)则易溶于乙醚、三氯甲烷等非极性溶剂中^[9],因此提取溶剂的选择较为重要。目前国内外对于绿原酸的提取研究大多集中在水提法^[10]、醇提法^[11]、水-乙醇法^[12]、超声法^[13]、微波法^[14]、酶法^[15]、超高压法^[16]等,但是从实际生产操作来看,超声法、微波法、酶法以及超高压法等提取方法存在着设备投入大、应用成本较高以及大多仍处于实验室阶段等问题。水提法和醇提法由于单溶剂体系溶剂极性的限制,并不能将 9 种绿原酸单体完全有效的萃取出来;此外目前报道中大多只研究单一绿原酸单体(5-CQA)的提取^[17-18],忽视了其余 8 种绿原酸异构体提取变化规律,从而造成了物料的浪费和成本的提升。

基于上述原因本文选用云南卡蒂姆咖啡生豆为原料,以高效液相色谱对 9 种绿原酸异构体进行分析,首先采用水-乙醇法对绿原酸的提取工艺进行研究,并结合水提法进行对比,然后采用响应面法优化水-乙醇法咖啡生豆提取工艺,目的是

获得水-乙醇法提取咖啡生豆绿原酸的最佳工艺,为云南咖啡豆的综合开发利用和咖啡产业提质增效提供一条重要途径。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

卡蒂姆咖啡豆,品种阿拉比卡:购买于云南普洱;绿原酸标准品 5-CQA ($\geq 98\%$):美国 Sigma-Aldrich 公司;3-CQA、4-CQA、3-FQA、4-FQA、5-FQA、3,4-DICQA、3,5-DICQA、4,5-DICQA ($\geq 98\%$):成都普瑞法科技开发有限公司;亚铁氰化钾($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$)、二水合乙酸锌($CH_3COO)_2Zn \cdot 2H_2O$):国药集团化学试剂有限公司;甲酸,乙醇,乙腈等试剂为色谱纯。

1.2 仪器与设备

R220 咖啡研磨机:日本皇家富士;LC-20AT 高效液相色谱仪:日本岛津;自动进样器:日本岛津 SIL-20AC;TGL-20M 高速离心机:长沙平凡仪器仪表有限公司;超纯水制备机器:美国 Milli-Q;恒温水浴锅:电热鼓风干燥箱:上海一恒科学仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 单因素实验

1.3.1.1 物料目数对绿原酸提取率的影响 称取物料目数分别为 20、40、60、80、100 目下的咖啡粉 10.0 g 按照液料比 20:1 加入超纯水,在 90 °C 水浴中提取 15 min,考察不同物料目数对绿原酸提取率的影响。

1.3.1.2 液料比对绿原酸提取率的影响 称取物料目数为 60 目的咖啡粉 10.0 g,分别按液料比为 10:1、15:1、20:1、25:1、30:1 加入去离子水,在 90 °C 水浴中提取 15 min,考察液料比对绿原酸提取率的影响。

1.3.1.3 水提温度对绿原酸提取率的影响 称取物料目数为 60 目的咖啡粉 10.0 g,按照液料比 20:1 加入去离子水,分别在 60、70、80、85、90、95、100 °C 下提取咖啡豆中绿原酸 15 min,考察水提温度对绿原酸提取率的影响。

1.3.1.4 提取时间对绿原酸提取率的影响 称取物料目数为 60 目的咖啡粉 10.0 g,按照液料比 20:1 加入去离子水,在 90 °C 下分别提取咖啡豆

中绿原酸 5、10、15、20、25 min, 考察提取时间对绿原酸提取率的影响。

1.3.1.5 醇浓度对绿原酸提取率的影响 根据文献报道乙醇-水的混合溶剂最佳提取温度为 60 °C。称取物料目数为 60 目的咖啡粉 10.0 g, 在液料比 1 : 20, 在 60 °C 下以混合溶剂中醇浓度分别为 0%、20%、40%、60%、80%、100% 对咖啡豆中绿原酸进行提取 15 min, 考察不同乙醇浓度对绿原酸提取率的影响。

1.3.2 响应面实验设计

1.3.3 绿原酸分析检测

1.3.3.1 绿原酸待测液的制备 按照上述条件来制备咖啡提取液, 在 5 000 rpm 下离心 5 min; 取上层滤液 4 mL, 加入 100 μ L Carrez I 试剂 (亚铁氰化钾, 250 mmol/L), 100 μ L Carrez II 试剂 (二水合乙酸锌, 1 mmol/L), 800 μ L 甲醇, 充分震荡混匀, 静置 10 min 以沉淀蛋白; 最后 5 000 rpm, 10 min 离心取上层液过膜置于 4 °C 冰箱备用^[19]。

1.3.3.2 液相色谱条件 色谱柱为 C₁₈ 反相柱 (250 mm \times 4.6 mm, 4 μ m, 孔径 80 Å), 流动相 A 为超纯水, 流动相 B 为 1% 甲酸-乙腈, 紫外检测波长 325 nm, 柱温 25 °C, 流速 1.0 mL/min; 梯度洗脱程序: 0 min 时, 流动相 A 和 B 比例 95:5; 线性增加到 60 min 时, 流动相 A 和 B 比例 75:25; 自动进样器设置为 4 °C, 进样量 10 μ L^[20]。咖啡生豆绿原酸组成液相色谱图如图 1 所示。

绿原酸提取率 (%) 计算公式如下所示:

绿原酸提取率 (%) =

$$\frac{[\text{提取液中绿原酸含量}(\text{mg}/\text{mL}) \times \text{提取液体积}(\text{mL})]}{\text{咖啡粉质量}(\text{g})} \times 100$$

1.3.3.3 绿原酸标准曲线的绘制 称取绿原酸 (5-CQA) 标品 1.000 g 置于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 得到 10 mg/mL 的标品储备液。吸取储备液 0、100、200、300、400、500、1 000、1 500、2 000、2 500、3 000 μ L 分别置于 7 个 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容混匀, 配成 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/mL 的 11 个不同浓度的标准溶液, 按照 1.3.3.2 中的色谱条件依次进样 10 μ L 测定峰面积。以峰面积为纵坐标, 绿原酸标品溶液的浓度为横坐标绘制

标准曲线。计算得线性回归方程为: $y = 33\,275\,600x - 12\,342$ ($R^2 = 0.999\,8$)。结果表明, 在 0.1 ~ 3.0 mg/mL 范围内, 峰面积与浓度线性关系良好 (如图 2 所示)。

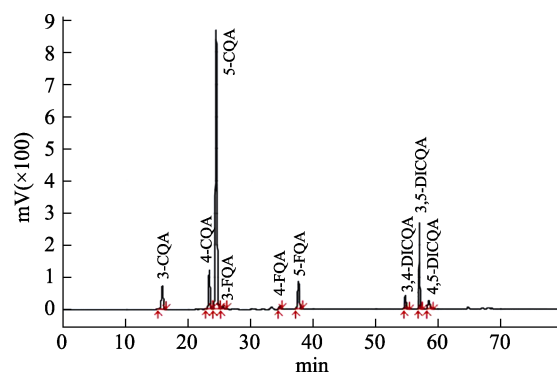


图 1 咖啡豆绿原酸液相色谱图

备注: 3-CQA, 保留时间: 15.879 min; 4-CQA, 保留时间: 23.122 min; 5-CQA, 保留时间: 24.437 min; 3-FQA, 保留时间: 25.994 min; 4-FQA, 保留时间: 34.476 min; 5-FQA, 保留时间: 37.682 min; 3,4-DICQA, 保留时间: 52.701 min; 3,5-DICQA, 保留时间: 57.105 min; 4,5-DICQA, 保留时间: 58.483 min。

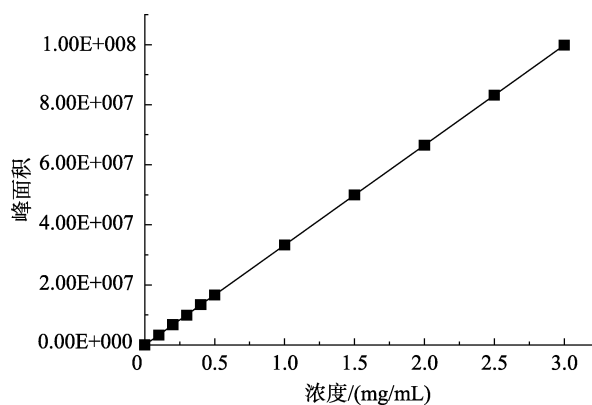


图 2 绿原酸标准曲线

1.3.4 数据分析

所有实验平行测定 3 次, 采用 SPSS (Vision 22.0, IBM) 和 Design-Expert 8.05 软件对数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 物料目数

由图 3 中可以看出, 随着物料目数的增加, 咖啡生豆的绿原酸提取率呈现先线性增加后基本不变的趋势, 在 60 目时提取率基本达到平衡, 约为 4.0%, 主要原因是在 20~60 目过程中, 在提取传质过程中与水接触比表面积越大, 绿原酸越易

溶解出来；当溶剂和溶质传质达到平衡时，绿原酸就不再渗透溶解出来，因此提取率基本不再变化。Rohit Upadhyay 等^[14]采用物料目数大于 25 目 ($< 720 \mu\text{m}$) 的罗布斯塔咖啡生豆粉在微波功率 800 W、提取温度 50 °C、微波时间 10 min 下的绿原酸提取率为 6.35%，主要原因是作者采用醋酸铅沉降法测定绿原酸含量会造成测定结果偏高，此外罗布斯塔豆绿原酸含量相对高于阿拉比卡豆。综合考虑，选择物料目数 60 目进行绿原酸提取率的下一步研究。

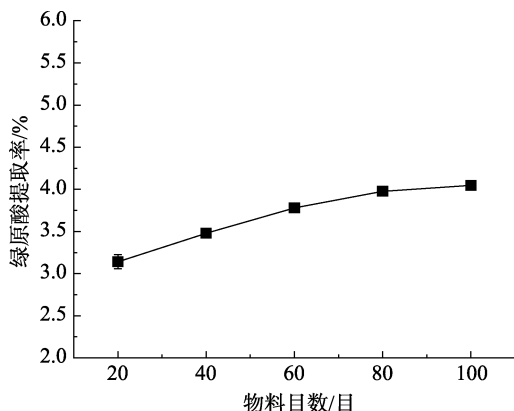


图 3 物料目数对咖啡生豆绿原酸提取率的影响

2.1.2 液料比

由图 4 中可以看出，随着液料比的逐渐增加，咖啡生豆的绿原酸提取率呈现先增加后基本不变的趋势，在液料比 20 : 1 时提取率基本达到平衡，与饶建平等^[10]报道的结论一致。酚类物质的提取在一定程度上与溶剂和溶质的比例有关，当传质平衡时溶解到溶剂中的溶质不再变化，进一步提高传质效率还要考虑溶剂的类型，一般来讲极性和非极性共存的混合溶剂提取效率更高，后续我

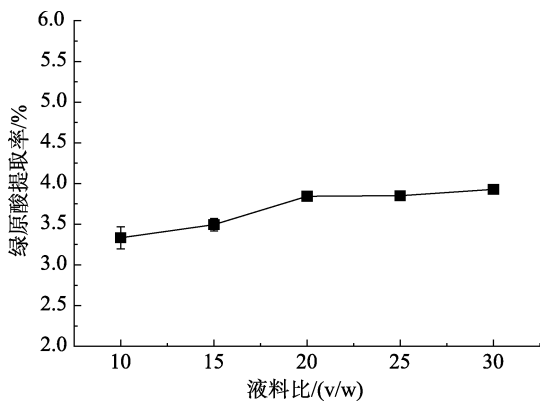


图 4 液料比对咖啡生豆绿原酸提取率的影响

们将会对醇浓度对于提取率的影响进行研究。综合考虑，选择液料比 20 : 1 进行绿原酸提取率的下一步研究。

2.1.3 水提温度

由图 5 中可以看出，随着水提温度的逐渐增加，咖啡生豆的绿原酸提取率呈现先增加后下降的趋势，在 95 °C 时达到最大，约为 4.30%。在绿原酸提取过程中，随着温度的增加，传质扩散系数急剧增加，绿原酸大量从咖啡细胞中溶出，使得绿原酸提取率直线增加；当温度达到 100 °C 时，绿原酸由于存在大量的酯键、双键和酚羟基基团，在长时间处于高温下时易发生分解、氧化和异构化等变化，导致提取率降低。有研究报道^[10]当温度 90 °C 时，绿原酸提取率就开始降低，与我们的研究结果一致，但我们的研究在 95 °C 时绿原酸的提取率又出现了升高，这可能的原因是 1 个双咖啡酰奎宁酸的降解成 2 个单咖啡酰奎宁酸，增加了绿原酸的整体含量。综合考虑，选择水提温度 95 °C 进行绿原酸提取率的下一步研究。

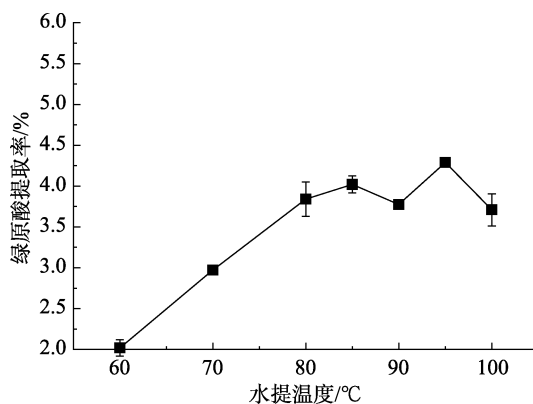


图 5 水提温度对咖啡生豆绿原酸提取率的影响

2.1.4 提取时间

由图 6 中可以看出，随着提取时间的逐渐增加，咖啡生豆的绿原酸提取率在 5~15 min 内随着时间的增加而增加，而在 15~30 min 内随着时间增加则呈现缓慢下降的趋势。主要原因是绿原酸在咖啡细胞中和水溶液中的传质在 15 min 达到平衡以及长时间的高温提取导致绿原酸的氧化分解，因此在高温下的提取时间不宜过长。综合考虑，选择提取时间 15 min 进行绿原酸提取率的下一步研究。

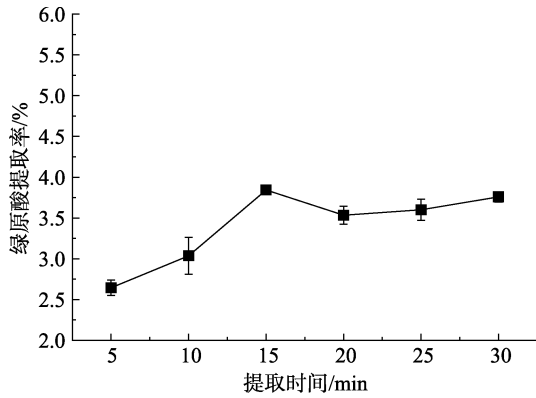


图 6 提取时间对咖啡生豆绿原酸提取率的影响

综上所述，在纯水体系下，绿原酸提取率的较佳工艺为物料目数 60 目，液料比 20 : 1，水提温度 95 °C，提取时间 15 min，绿原酸提取率为 4.29%。

2.1.5 醇浓度

根据文献报道，提取溶剂中含有一定比例的乙醇可能会提高绿原酸的提取率，但是对于最佳绿原酸提取率的醇浓度比例并不一致^[11-12,17-18]；同时乙醇-水的混合溶剂最佳提取温度大约在 60 °C^[11,17]左右，因此我们在醇提温度 60 °C，物料目数 60 目，液料比 20 : 1，提取时间 15 min 下对不同醇浓度对于绿原酸提取率进行了研究，结果如图 7 所示。

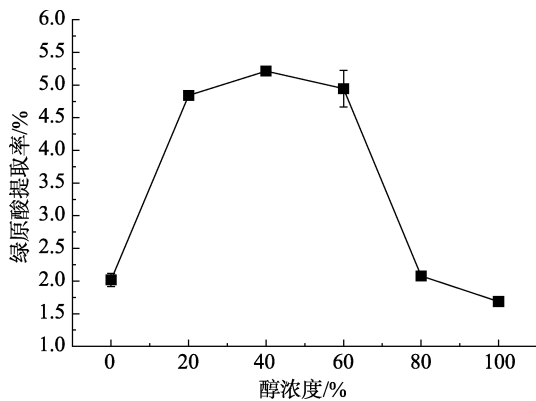


图 7 醇浓度对咖啡生豆绿原酸提取率的影响

从图中可以看出，从纯水到纯乙醇，绿原酸的提取率出现先增加后减少的趋势，其中醇浓度在 20%~60%范围内提取率相差不大，40%时相对较高，为 5.21%，比纯水溶剂体系下提取率高约 21%，比文献报道中的纯水体系和聚乙二醇体系（60 °C，40%醇浓度）下^[11,17]的提取率高 60%和 280%，主要原因在于报道中只研究了 5-CQA 的提取率，此外纯水体系难以把弱极性的双咖啡酰

奎宁酸萃取出来^[20]；而在 80%和 100%高醇浓度时，绿原酸提取率只有 2%和 1.5%左右，与同温度下的纯水体系基本一致，并没有起到提高传质效率的目的，主要原因是混合溶剂的极性，作为绿原酸主要单体的 5-CQA 易溶于水，极性较大，而乙醇的极性小于水，在高醇体系下对于 5-CQA 的萃取量降低，从而造成提取率降低。

我们同时对文献报道中^[11,17]的最佳醇提温度进行验证，结果如图 8 所示。研究发现与文献报道一致，在 60 °C时绿原酸提取率达到最高。

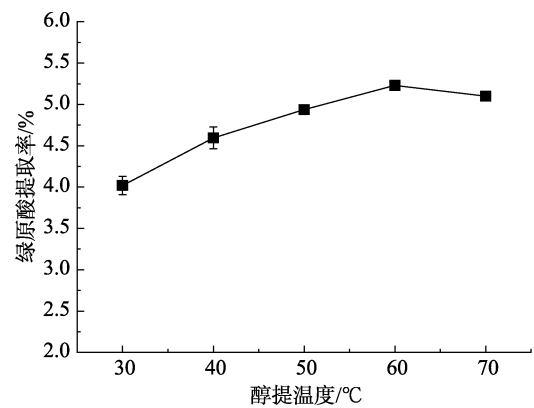


图 8 醇提温度对咖啡生豆绿原酸提取率的影响

综上所述，在单因素实验中，绿原酸较佳的提取工艺条件为：醇提温度 60 °C，醇比例 40%，物料目数 60 目，液料比 20 : 1，提取时间 15 min，绿原酸提取量为 5.21%。

2.2 响应面实验

2.2.1 响应面设计及结果

在单因素实验的基础上，采用 Design-Expert 8.05 软件进行响应面设计，根据 Box-Behnken (BBD) 中心组合设计原理，选取提取时间 A、液料比 B 和醇浓度 C 三个对绿原酸提取率影响显著的因素作为自变量，以绿原酸提取率为响应值，设计 3 因素 3 水平的响应面实验，研究提取时间、液料比和醇浓度对生豆中绿原酸提取率的影响。实验因素水平表与实验结果如表 1~2 所示。

表 1 响应面设计因素水平表

| 因子 | 水平 | | |
|------------|--------|--------|--------|
| | -1 | 0 | 1 |
| 提取时间 A/min | 10 | 15 | 20 |
| 液料比 B | 15 : 1 | 20 : 1 | 25 : 1 |
| 醇浓度 C/% | 20 | 40 | 60 |

表 2 绿原酸提取响应面实验设计及实验结果

| 实验号 | A | B | C | Y/% |
|-----|----|----|----|-----------|
| 1 | -1 | 1 | 0 | 4.54±0.05 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 5.22±0.02 |
| 3 | -1 | 0 | -1 | 5.17±0.15 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 5.25±0.03 |
| 5 | 0 | 1 | 1 | 4.43±0.10 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 5.23±0.12 |
| 7 | 0 | -1 | -1 | 5.10±0.07 |
| 8 | -1 | 0 | 1 | 3.77±0.10 |
| 9 | 1 | 0 | -1 | 4.45±0.04 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 5.19±0.07 |
| 11 | 0 | -1 | 1 | 4.45±0.02 |
| 12 | -1 | -1 | 0 | 4.72±0.05 |
| 13 | 0 | 1 | -1 | 4.44±0.02 |
| 14 | 1 | -1 | 0 | 4.67±0.03 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 5.21±0.10 |
| 16 | 1 | 1 | 0 | 4.27±0.06 |
| 17 | 1 | 0 | 1 | 4.45±0.01 |

采用 Design-Expert 8.05 软件对表 2 中绿原酸提取率的实验数据进行多元回归拟合，得到绿原酸提取率对自变量 A、B、C 的二次多项式回归方程：

$$Y=5.22-0.045A-0.16B-0.26C-0.055AB+0.35A^2C+0.16BC-0.41A^2-0.26B^2-0.35C^2$$

回归方程方差分析和回归方程系数显著性检验见表 3。由表 3 可知，绿原酸提取率模型的判

表 3 生豆绿原酸提取率回归方程方差分析表

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | Prob>F | 显著性 |
|----------------|------------|-----|------------|-------|-----------|-----|
| 模型 | 3.04 | 9 | 0.34 | 31.20 | < 0.000 1 | *** |
| A | 8.450E-003 | 1 | 8.450E-003 | 0.78 | 0.406 2 | |
| B | 0.20 | 1 | 0.20 | 18.34 | 0.003 6 | ** |
| C | 0.53 | 1 | 0.53 | 49.02 | 0.000 2 | *** |
| AB | 0.026 | 1 | 0.026 | 2.37 | 0.167 9 | |
| AC | 0.49 | 1 | 0.49 | 45.28 | 0.000 3 | *** |
| BC | 0.10 | 1 | 0.10 | 9.46 | 0.017 9 | * |
| A ² | 0.70 | 1 | 0.70 | 64.61 | < 0.000 1 | *** |
| B ² | 0.29 | 1 | 0.29 | 26.81 | 0.001 3 | ** |
| C ² | 0.52 | 1 | 0.52 | 48.35 | 0.000 2 | *** |
| 残差 | 0.076 | 7 | 0.011 | | | |
| 失拟项 | 0.074 | 3 | 0.025 | 49.17 | 0.0513 | |
| 纯差 | 2.000E-003 | 4 | 5.000E-004 | | | |
| 总变异 | 3.11 | 16 | | | | |

注：绿原酸提取率回归方程 $R^2=0.975 7$, $Adj-R^2=0.944 4$, 绝对平均偏差=4.74%。***差异极显著 ($P \leq 0.001$)；**差异高度显著 ($P \leq 0.01$)；*为差异显著 ($P < 0.05$)。

定系数 $R^2=0.975 7$, $P < 0.000 1$, 此模型高度显著, 绝对平均偏差 (4.74%) 也相对较低, 说明模型预测结果的重复性良好; 此外较高的调整判定系数 (0.944 4) 和失拟项不显著 (0.051 3) 也说明了不确定因素对实验结果的干扰较小, 模型拟合程度良好, 此模型能很好解释绿原酸提取率响应值的变化, 可以用于预测绿原酸提取过程中实际情况。模型回归方程系数显著性检验表明, 一次项系数 B 和 C 即液料比和醇浓度对生豆绿原酸提取率影响都显著, 交互项 AC、BC 和二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对生豆绿原酸提取率具有显著性影响。

2.2.2 响应面分析

图 9 表示的是固定液料比为 20 : 1 下, 提取时间和醇浓度及其交互作用对绿原酸提取率的影响。最大的绿原酸提取率出现在提取时间为 10~14 min 和醇浓度 20%~28% 范围内, 随着提取时间和醇浓度的增加, 绿原酸提取率出现先升高后下降的趋势, 这与陈魏^[22]等的研究结论相一致。

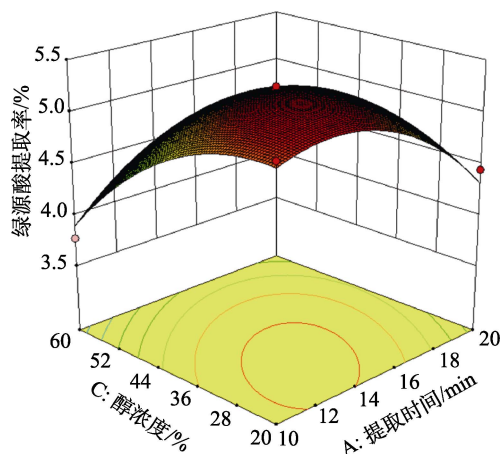


图 9 提取时间和醇浓度及其交互作用对绿原酸提取率的影响

图 10 表示的是提取时间为 15 min 下, 液料比和醇浓度及其交互作用对绿原酸提取率的影响。最大的绿原酸提取率出现在液料比为 15 : 1~19 : 1 和醇浓度 20%~28% 范围内, 随着液料比和醇浓度的增加, 绿原酸提取率出现先升高后下降的趋势, 液料比的增加不但会造成提取时间和醇浓度的增加, 还会造成绿原酸提取率的降低。这与唐薇^[23]和饶建平^[10]等的研究结论相一致, 主要原因可能是在水醇体系下, 随着液料比的增加, 体系中其他物质随之溶出, 与绿原酸产生了竞争性溶出现象; 而在高醇体系下由于混合溶剂的极

性降低,造成绿原酸主要单体的 5-CQA 溶解度降低,因此造成绿原酸得率降低。

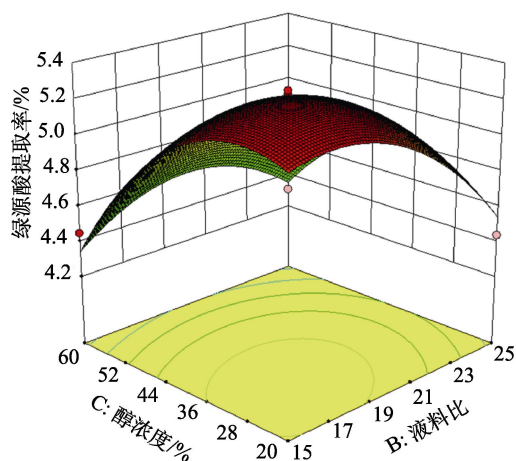


图 10 液料比和醇浓度及其交互作用对绿原酸提取率的影响

2.2.3 反应条件优化及模型验证

以绿原酸提取率作为响应值,通过响应面软件对水-乙醇法提取绿原酸实验数据最优化分析,考虑到实际生产中成本和溶剂损耗,最终得到最佳提取时间 11.67 min,液料比 16.07 : 1,醇浓度 20.16%,绿原酸提取率 5.27%。

对上述最优化条件进行 3 次平行验证实验,绿原酸提取率分别为 5.30%、5.35%和 5.29%,平均得率 5.31%。实验值和预测值具有良好的相关性,说明该响应面模型和最优化条件是有效的。

3 结论

以云南卡蒂姆咖啡豆为原料,采用水-乙醇法首次对 9 种绿原酸异构体进行提取研究。通过单因素和响应面优化得到的水-乙醇法提取绿原酸的最佳工艺条件为:醇提温度 60 °C,提取时间 11.67 min,物料目数 60 目,液料比 16.07 : 1,醇浓度 20.16%,绿原酸提取率 5.31%。本研究对 9 种绿原酸异构体的提取效果进行研究,相比较先前研究只对 5-CQA 提取率进行研究,更能全面反映绿原酸的提取效果,绿原酸得率也更高。

参考文献:

[1] UPADHYAY R, MOHAN R L J. An outlook on chlorogenic acids-occurrence, chemistry, technology, and biological activities[J]. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2013, 53(9): 968-984.

[2] SATO Y, ITAGAKI S, KUROKAWA T, et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, 403(s 1-2): 136-8.

[3] ZAIXIANG L, HONGXIN W, SONG Z, et al. Antibacterial

activity and mechanism of action of chlorogenic acid[J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(6): M398-M403.

- [4] ZHAO Y, WANG J, BALLEVRE O, et al. Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids[J]. *Hypertension Research Official Journal of the Japanese Society of Hypertension*, 2012, 35(4): 370-4.
- [5] ANDUEZA S, PENA L M P D, CID C, et al. Caffeic acid decomposition products: antioxidants or pro-oxidants?[J]. *Food Research International*, 2009, 42(1): 51-5.
- [6] BUTT M S, SULTAN M T. Coffee and its consumption: benefits and risks[J]. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 2011, 51(4): 363-73.
- [7] KY C L, LOUARN J, DUSSERT S, et al. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions[J]. *Food chemistry*, 2001, 75(2): 223-230.
- [8] 张丰,董文江,王凯丽,等.云南不同地区烘焙咖啡豆挥发性成分的 HS-SPME/GC-MS 分析[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(11): 273-280.
- [9] CLARKE R J, MACRAE R. *Coffee: physiology* [M]. Springer Science & Business Media, 1988.
- [10] 饶建平,王文成,李国辉,等.响应面法优化咖啡生豆水提绿原酸工艺研究[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(22): 298-301.
- [11] 唐薇,孙飞龙,曹卓松,等.超声辅助表面活性剂提取咖啡生豆中绿原酸[J]. *现代食品*, 2018 (19): 52.
- [12] 王立志,田洪.绿咖啡豆中总绿原酸提取工艺优化[J]. *中国食品添加剂*, 2014 (7): 163-168.
- [13] ZHANG L, LIU J, ZHANG P, et al. Ionic liquid-based ultrasound-assisted extraction of chlorogenic acid from *Lonicera japonica* Thunb[J]. *Chromatographia*, 2011, 73(1-2): 129-133.
- [14] UPADHYAY R, RAMALAKSHMI K, RAO L J M. Microwave-assisted extraction of chlorogenic acids from green coffee beans[J]. *Food Chemistry*, 2012, 130(1): 184-188.
- [15] 韩建军,宁娜,郁建军,等.响应面优化微波协同酶法提取杜仲叶中绿原酸的工艺[J]. *贵州农业科学*, 2015, 43(8): 227-231.
- [16] 浦娜娜,王成忠,李东荣.响应面法优化超高压处理提取金银花绿原酸工艺[J]. *食品工业科技*, 2019(5): 33.
- [17] CHU Q, LIN M, YU X, et al. Study on extraction efficiency of natural antioxidant in coffee by capillary electrophoresis with amperometric detection[J]. *European Food Research and Technology*, 2008, 226(6): 1373-1378.
- [18] NAIDU M M, SULOCHANAMMA G, SAMPATHU S R, et al. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee[J]. *Food Chemistry*, 2008, 107(1): 377-384.
- [19] FARAH A, de PAULIS T, TRUGO L C, et al. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(5): 1505-1513.
- [20] ANGÉLIQUE S, WILLIAM M, CHIFUMI N, et al. On-line HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed, paper-filtered coffee[J]. *Braz. J. Plant Physiol.*, 2006, 18(1): 253-262.
- [21] 杨剖舟,翟晓娜,王佳良,等.绿原酸协同抗氧化机理的电化学和光谱-色谱学研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 36(8): 2405-2413.
- [22] 陈魏,李旒,黄雯,等.绿咖啡豆中低咖啡因绿原酸的提取分离研究[J]. *亚热带植物科学*, 2018, 47(4): 317-321.
- [23] 唐薇,孙飞龙,曹卓松,等.响应面优化提取咖啡生豆中绿原酸[J]. *饲料广角*, 2018, (8): 37-40. ㉞

备注:本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lspkj.ijournal.cn/ch/index.aspx>),中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。