DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250725012
引用格式: 虞朝航, 周楠青, 胡黔闽, 等. 鲜豆腐柴榨汁工艺优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(2): 281–291.
YU CH, ZHOU NQ, HU QM, *et al*. Optimization of fresh *Premna microphylla* juice extraction process [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(2): 281–291. (in Chinese with English abstract).

鲜豆腐柴榨汁工艺优化

虞朝航, 周楠青, 胡黔闽, 黄 燕, 李文彬, 吴胜财, 袁 庆, 林陈文毅, 汪小美, 汪文伦*

(茅台学院食品工程院, 仁怀 564507)

摘 要: 目的 优化豆腐柴鲜榨汁工艺, 并评价其抗氧化性、酶活抑制性。**方法** 以新鲜豆腐柴叶为原料, 采用单因素、响应面优化得到豆腐柴鲜榨汁提取工艺条件; 并对所获得的鲜榨汁进行自由基清除能力、总抗氧化能力测定, 同时以 *α*-淀粉酶及 *α*-葡萄糖苷酶为对象构建体外酶活抑制体系, 测定其对 *α*-淀粉酶及 *α* 葡萄糖苷酶活性抑制作用。**结果** 豆腐柴鲜榨汁最佳工艺条件为漂烫温度 61 ℃、漂烫时间 56 s、叶水比 1:3 (*m*:*V*), 在该条件下豆腐柴鲜榨汁中总黄酮含量为(15.030±0.039) mg/g、总蛋白含量为(78.000±0.032) mg/mL、果胶含量为(2.070±0.007) μmol/g; 鲜榨汁对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸自由基清除的半抑制率分别为 270.70 mg/mL、219.30 mg/mL, 总抗氧化能力可高达 0.572 mmol/g, 鲜榨汁对 *α*-淀粉酶及 *α*-葡萄糖苷酶活性抑制率分别为 4.09%、5.01%。**结论** 优化后的豆腐柴鲜榨汁工艺显著提升了活性成分含量, 并展现出优异的抗氧化与降血糖潜能, 为后续豆腐柴特色食品以及豆腐柴作为食品添加物的研发提供了一定的基础。

关键词: 豆腐柴; 黄酮; 果胶; 响应面; 抗氧化

Optimization of fresh *Premna microphylla* juice extraction process

YU Chao-Hang, ZHOU Nan-Qing, HU Qian-Min, HUANG Yan, LI Wen-Bin, WU Sheng-Cai, YUAN Qing, LIN Chen-Wen-Yi, WANG Xiao-Mei, WANG Wen-Lun*

(*School of Food Engineering*, *Moutai University*, *Renhuai* 564507, *China*)

ABSTRACT: Objective To optimize the fresh juice extraction process of *Premna microphylla* and evaluate its antioxidant and enzyme inhibitory activities. **Methods** Used fresh *Premna microphylla* leaves as raw material, the extraction conditions were optimized through single-factor tests and response surface methodology. The free radical scavenging ability and total antioxidant capacity of the obtained freshly squeezed juice were determined. An *in vitro*

收稿日期: 2025-07-25
基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2024]一般 659, 黔科合支撑[2019]2370); 贵州省教育厅高等学校自然科学研究项目(青年科技人才成长项目)(黔教科[2024]262 号); 中央引导地方科技发展专项资金项目(黔科中引地[2019]4006); 贵州省高等学校工程研究中心项目(黔教合 KY 字[2020]022); 茅台学院高层次人才科研启动经费项目(mygccrc[2022]087, mygccrc[2022]079, mygccrc[2022]097, mygccrc[2023]011); 大学生创新创业训练计划项目(2024146250706, 2024146250704, S2024146251781)
第一作者: 虞朝航(2002—), 男, 主要研究方向为食品质量与安全、微生物学。E-mail: 3336282894@qq.com
***通信作者:** 汪文伦(1988—), 男, 博士, 讲师, 主要研究方向为植物学、动物学、微生物学。E-mail: 1019159335@qq.com

enzyme inhibition system was established using *α*-amylase and *α*-glucosidase to determine the inhibitory effects of the juice on these enzymes. **Results** The optimal extraction conditions were blanching temperature 61 °C, blanching time 56 s and leaf-to-water ratio 1:3 (*m*:*V*). Under these conditions, the content of total flavonoids, total protein and pectin in the juice were (15.030±0.039) mg/g, (78.000±0.032) mg/mL and (2.070±0.007) μmol/g, respectively. The half maximal inhibitory concentration values for scavenging 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and 2,2'-biazo-bis-3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid radical scavenging were 270.70 mg/mL and 219.30 mg/mL, respectively, while the total antioxidant capacity reached 0.572 mmol/g. The inhibition rates on *α*-amylase and *α*-glucosidase activities were 4.09% and 5.01%, respectively. **Conclusion** The optimized process significantly enhance the content of active compounds in *Premna microphylla* fresh juice, demonstrating excellent antioxidant and hypoglycemic potential, providing a foundation for the development of *Premna microphylla* specialty foods and its use as a food additive.

KEY WORDS: *Premna microphylla*; flavonoids; pectin; response surface; antioxidant

0 引 言

豆腐柴(*Premna microphylla*), 又称观音草、腐婢, 是马鞭草科多年生落叶灌木, 广泛分布于华东、华南、华中、四川及贵州等地。作为一种药食同源的植物, 其叶片富含果胶(20%~30%)、蛋白质(13.48%)、粗纤维(9.87%)和粗脂肪(3.79%)等多种营养成分, 并含有丰富的矿质元素[1]。现代研究证明, 豆腐柴叶具有清热解毒、消肿止血等功效, 可用于治疗毒蛇咬伤、创伤出血, 并表现出显著的抗炎和抗氧化作用, 其抗氧化能力在多种天然植物提取物中尤为突出[2–3]。目前豆腐柴提取物已被应用于酸奶[4]、奶茶[5]、豆腐[6]、挂面[7]、果冻[8]、保健品[9]及功能性饮料[10]等多种特色食品中。然而, 作为这些产品原料的豆腐柴非浓缩还原汁[非浓缩还原(not from concentrate, NFC)鲜榨汁]的制备工艺尚未得到系统研究, 其抗氧化活性和酶抑制功能也未引起足够重视。因此, 基于豆腐柴独特的资源特性, 深入开展其鲜榨汁加工工艺及功能活性研究, 对推进该资源的高值化开发利用具有重要意义[10]。

研究表明, 豆腐柴因含有黄酮、蛋白质、果胶、果糖、*D*-甘露糖等[11–12], 可直接或间接参与生物体多种代谢活动, 从而表现出具有抗氧化、降血脂、消炎、抗菌、抗肿瘤、降血糖、清洗消化道增加肠道益生菌及减轻阿尔兹海默症等作用[13–16]。基于此, 有研究将豆腐柴叶直接磨浆后制作各种代餐食品[17–18], 以保证其潜在的生物学功能。因此, 导致关于豆腐柴的研究都集中在特色食品的开发上, 而忽略了豆腐柴鲜榨液作为鲜榨汁果汁类原材料的利用价值[11]。

综上, 本研究以鲜豆腐柴叶为原料, 采用单因素和响应面试验优化豆腐柴鲜榨汁工艺条件, 并探索豆腐柴鲜榨汁 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(2,2'-biazo-bis-3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid, ABTS)阳离子自由基清除率、总抗氧化能力的测定, 及体外抑制 *α*-淀粉酶活性及 *α*-葡萄糖苷酶活性等生物学功能。研究结果可为豆腐柴鲜榨汁工业化、生物学功能探索及功能性饮料的研究提供一定的参考[17–18]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

豆腐柴叶(贵州遵义仁怀)。

植物 RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术有限公司); DPPH 自由基清除能力检测试剂盒、总抗氧化能力检测试剂盒、ABTS 阳离子自由基清除能力检测试剂盒、总果胶含量检测试剂盒、总黄酮含量测定试剂盒(北京盒子生工科技有限公司); 4-硝基苯基-*α*-*D*-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl-*α*-*D*-glucopyranoside, PNPG)、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitro salicylic acid, DNS)、阿卡波糖、玉米淀粉、*α*-淀粉酶(2000 U/mg)、*α*-葡萄糖苷酶(2000 U/mg)(北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

BGG-9140A 鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); FA2204N 电子天平(精度 0.1 mg, 上海菁海仪器有限公司); TDZ5-WS 离心机(长沙湘仪离心仪器有限公司); 1530 酶标仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; KQ2200DE 数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司); 800Y 粉碎机(永康市铂欧五金制品有限公司); L12-P127 九阳榨汁机(九阳股份有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 总蛋白浓度检测

按照碧云天生物技术有限公司植物 RIPA 裂解液(强)

的说明书提取豆腐柴鲜榨汁液的总蛋白后, 根据 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白质量浓度(mg/mL)。

1.3.2　总果胶及总黄酮含量检测

按照北京盒子生工科技有限公司生产的总果胶含量检测及总黄酮含量测定试剂盒说明书, 首先进行豆腐柴鲜榨汁液的总果胶及黄酮含量的提取, 随后根据相关的说明书进行总果胶含量(μmol/g)及总黄酮含量(mg/g)的检测。

1.3.3　自由基清除能力及抗氧化能力检测

按照北京盒子生工科技有限公司生产的 DPPH 自由基清除能力检测试剂盒、总抗氧化能力检测试剂盒、ABTS 阳离子自由基清除能力检测试剂盒的说明书进行自由基清除能力及抗氧化能力的检测。

1.3.4　*α*-淀粉酶活性抑制作用的检测

参照 DNS 比色法[18], 稍作修改。将豆腐柴鲜叶放入热水中进行漂烫, 漂烫结束后, 将叶片放入纱布袋中, 加入少量水, 用力挤压、捶打或拧绞纱布袋, 使汁液通过纱布滤出。将提取出来的豆腐柴鲜榨汁液(0.2 mL)与 6 U/mL *α*-淀粉酶(0.2 mL)混合摇匀, 于 37 ℃水浴 5 min 后, 加入 0.15 mL 1%淀粉溶液反应 5 min, 最后加入 0.2 mL DNS 溶液终止反应, 沸水浴 5 min, 取出避光冷去后, 用纯水定容至 1 mL, 并取 0.1 mL 在 540 nm 波长处测定吸光值($A_{样品}$); 同样的处理条件下, 获得样品组空白对照组(不含淀粉酶)的吸光值为 $A_{空白}$。同样品组处理条件, 以阿卡波糖(100 mg/mL, 0.2 mL)作为阳性对照, 将样品组中的豆腐柴液换成阿卡波糖, 重复其操作, 获得吸光值 $B_{阳性}$; 而空白组(不含淀粉酶)吸光值为 $B_{空白}$。随后根据公式(1)计算 *α*-淀粉酶抑制率。

$$抑制率/\%=\frac{1-(A_{样品}-A_{空白})}{B_{阳性}-B_{空白}}\times 100\% \quad (1)$$

1.3.5　*α*-葡萄糖苷酶活性抑制作用的检测

参照潘玥等[19]的研究方法稍作修改。取豆腐柴液(0.2 mL)与 3 U/mL *α*-葡萄糖苷酶(0.2 mL)混合摇匀, 于 37 ℃ 水浴 10 min 后, 加入 0.2 mL 6 mmol/L PNPG 混合均匀, 于 37 ℃水浴 30 min 后, 加入 0.4 mL 1 mol/L Na_2CO_3 溶液终止反应, 400 nm 处测定吸光值 $A'_{样品}$。同样的条件下, 获取样品组空白对照组 (不含葡萄糖苷酶) 的吸光值为 $A'_{空白}$。另外, 以阿卡波糖(100 mg/mL, 0.2 mL)作为阳性对照, 即将样品组中的豆腐柴液换成阿卡波糖, 重复样品组的操作(与样品处理条件相同), 获得吸光值 $B'_{阳性}$; 空白组(不含葡萄糖苷酶)吸光值为 $B'_{空白}$。随后根据公式(2)计算 *α*-葡萄糖苷酶抑制率。

$$抑制率/\%=\frac{1-(A'_{样品}-A'_{空白})}{B'_{阳性}-B'_{空白}}\times 100\% \quad (2)$$

1.3.6　单因素试验

将漂烫温度 60 ℃、漂烫时间 50 s、叶水比 1:3 (*m*:*V*) 设置为豆腐柴叶榨汁的基础条件, 以总黄酮、蛋白质和总果胶含量为综合考察指标, 测定以上 3 个因素对总黄酮、蛋白质和总果胶含量的影响。各个单因素设计的梯度如表 1 所示。

表 1　单因素设计因子水平

Table 1　Factor levels in single-factor design

因素	提取条件
A: 漂烫温度/℃	50、60、70、80、90
B: 漂烫时间/s	40、50、60、70、80
C: 叶水比(*m*:*V*)	1:2、1:3、1:4、1:5、1:6

1.3.7　响应面实验设计

根据参考文献[20]及单因素实验分析结果, 以总黄酮、蛋白质和总果胶含量作为响应值, 对漂烫温度、漂烫时间和叶水比 3 个因素进行研究, 采用 Design Expert 13 软件进行响应面设计, 对豆腐柴叶鲜榨汁工艺条件进行优化。因素水平详见表 2。

表 2　响应面实验因素水平

Table 2　Factors and levels of response surface experimental

因素	水平				
	–1.682	–1	0	1	1.682
A: 漂烫温度/℃	53.18	60	70	80	86.81
B: 漂烫时间/s	43.81	50	60	70	76.81
C: 叶水比(*m*:*V*)	33:200	1:4	1:3	1:2	117:200

1.4　数据处理

所有数据均采用 Design Expert 13、GraphPad Prism 9 和 Excel(2019)软件进行数据处理和图形的可视化, 实验结果以均数±标准偏差表示。单因素实验样本进行标准误差分析; 显著性分析采用 Design Expert 13 内部功能, $P<0.05$ 表示有显著性差异。

2　结果与分析

2.1　漂烫温度对豆腐柴鲜榨汁营养物质的影响

由图 1 可知, 总黄酮、总蛋白质和总果胶含量均随着漂烫温度升高呈先上升后下降趋势, 这可能的原因是源于温度对生物大分子结构的双重影响: 适度加热促进提取, 而过度加热导致降解[21]。温度逐渐升高会导致蛋白质、总黄酮及果胶的结构、溶解性等功能的破坏或降解, 进而影响豆腐柴鲜榨汁中总黄酮、蛋白质和总果胶的含量。当漂烫温度为 70 ℃时, 总黄酮、总蛋白质和果胶含量最高, 分别为 7.51、71.47 及 3.45 μmol/g。因此, 为进一步优化豆腐柴鲜榨汁工艺, 选择 70 ℃用于响应面实验设计。

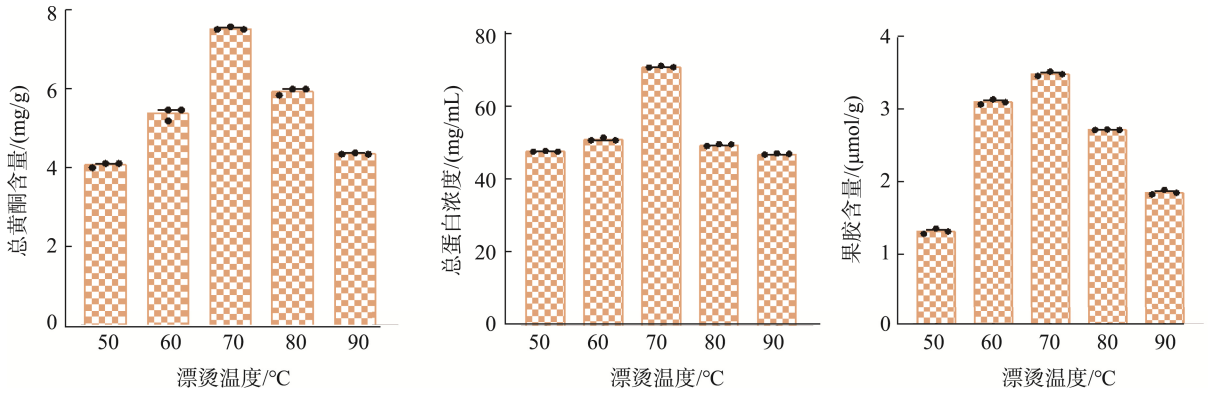


图 1 漂烫温度对豆腐柴鲜榨汁中总黄酮、蛋白质和总果胶含量的影响

Fig.1 Effects of blanching temperature on total flavonoids, protein and total pectin content in freshly squeezed *Premna microphylla* juice

2.2 漂烫时间对豆腐柴鲜榨汁营养物质的分析

由图 2 可知，总黄酮、蛋白质和总果胶含量变化趋势呈倒 U 形变化。这可能的原因是当提取时间到达一定时间后，黄酮发生氧化导致含量下架、果胶结构解聚导致含量下降[22–23]。即在漂烫时间为 60 s 时，总黄酮、蛋白质和总果胶含量最高，分别为 7.69 mg/g、72.42 mg/mL 及 4.55 μmol/g。为进一步优化豆腐柴鲜榨汁工艺，选择 60 s 用于响应面实验设计。

2.3 不同叶水比对豆腐柴鲜榨汁营养物质的分析

由图 3 可知，总黄酮、蛋白质和果胶含量随着叶水比逐渐降低呈下降趋势，这可能的原因是随着水分含量逐渐增加，导致蛋白质、总黄酮及果胶等浓度被稀释，从而引起浓度的逐渐下降，进而影响豆腐柴鲜榨汁中总黄酮、蛋白质和总果胶的含量[24–25]。当叶水比为 1:3 (*m*:*V*，下同)时，总黄酮、蛋白质和果胶含量最高，分别为 9.31、90.21 及 82.3 μmol/g。但是，此时的豆腐柴榨汁液比较浓稠难以过滤，而陈磊等[26]的研究表明，当叶水比为 1:3，豆腐柴成分的溶解度比较好，可以提升豆腐柴叶出汁率。因此，为进一步优化豆腐柴鲜榨汁工艺，选择叶水比为 1:3 用于响应面实验设计。

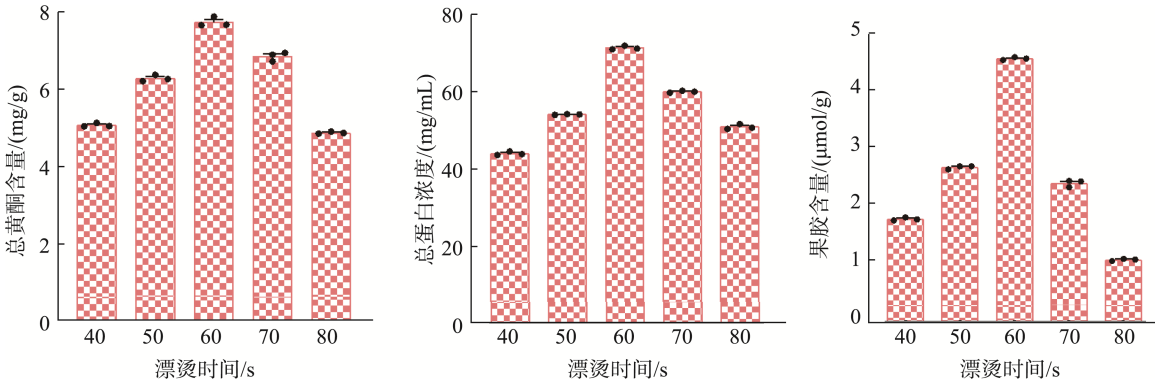


图 2 漂烫时间对豆腐柴鲜榨汁中总黄酮、蛋白质和总果胶含量的影响

Fig.2 Effects of blanching time on total flavonoids, protein and total pectin content in freshly squeezed *Premna microphylla* juice

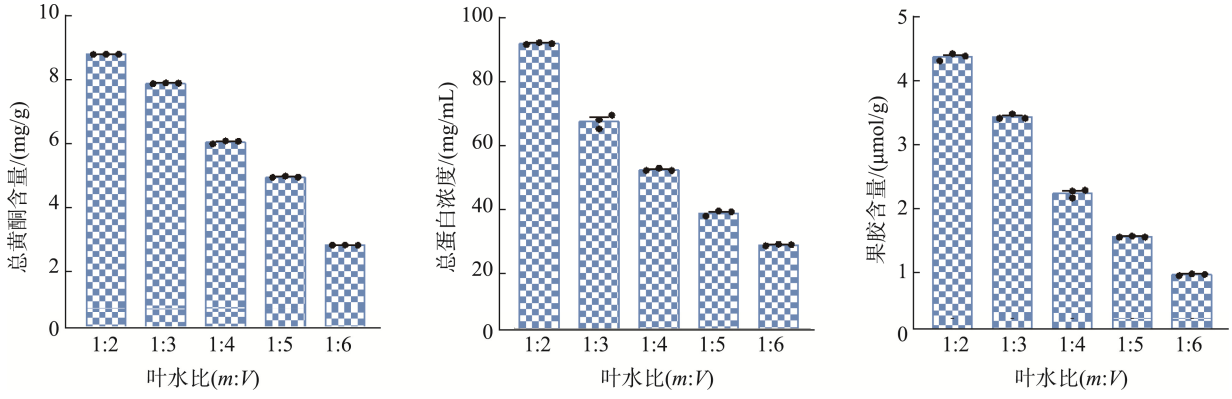


图 3 叶水比对豆腐柴鲜榨汁中总黄酮、蛋白质和总果胶浓度的影响

Fig.3 Effects of leaf-to-water ratio on total flavonoids, protein and total pectin concentration in freshly squeezed *Premna microphylla* juice

2.4　响应面实验结果与分析

在单因素实验基础上, 采用响应面法优化豆腐柴鲜榨汁工艺条件, 以漂烫温度、漂烫时间、叶水比为自变量, 将总黄酮、蛋白及果胶含量作为因变量 *Y*, 响应面设计与结果见表 3。

使用 Design Expert 13.0 软件对表 3 中的数据的响应值总黄酮含量、蛋白含量及果胶含量进行多元回归拟合分析。结果显示实验模型达到显著水平(P<0.0001), 响应值总黄酮、蛋白、果胶浓度的变异性可以用编码因子表示的最终方程来解释, 对该模型进行回归分析可得以下回归方程:

$Y_{\text{黄酮浓度}}$/(mg/g)=18.21−0.47A+0.68B−0.59C−0.89AB+0.74AC−1.45BC−2.85A^2−2.81B^2−1.89C^2 (R^2=0.9809)

$Y_{\text{蛋白质量浓度}}$/(mg/mL)=96.40−2.01A+3.57B+3.08C−4.21AB+3.22AC+7.52BC−14.85A^2−14.46B^2−10.55C^2 (R^2=0.9899)

$Y_{\text{果胶浓度}}$/(μmol/g)=2.69−0.042A+0.045B+0.054C−0.048AB−0.045AC+0.193BC−0.496A^2−0.416B^2−0.280C^2 (R^2=0.9884)

回归模型方程方差分析和显著性检验结果见表 4~6。回归方程中一次项 A、B、C, 交互项 AB、AC、BC, 二次项 A^2、B^2、C^2 分别对豆腐柴鲜榨汁中总黄酮、蛋白质和果胶浓度影响显著(P<0.05)。且总黄酮(表 4)、蛋白质(表 5)和果胶(表 6)浓度模型的 F 分别为 56.98 (P<0.001)、108.84 (P<0.001)、239.67 (P<0.001), 说明响应值对模型的影响极显著。失拟项的 F 分别为 2.88 (P=0.1349>0.05)、1.17 (P=0.4335>0.05)、0.4176 (P=0.8201>0.05), 表明失拟项差异不显著, 结合模型的相关系数 R^2 分别达到 0.9809、0.9899、0.9984, 说明结果与模型预测有着良好的一致性, 建立的回归模型与实验拟合程度较好, 可用于豆腐柴鲜榨汁中总黄酮、蛋白质和果胶浓度的分析和预测。综合分析各因素的 P 和 F 可知, 结合 Design Expert 13.0 软件分析各因素对于豆腐柴鲜榨汁中总黄酮和蛋白质浓度影响大小由主到次为: 漂烫时间、叶水比、漂烫温度, 而对于果胶浓度的影响大小由主到次则为: 叶水比、漂烫时间、漂烫温度。

由图 4 可知, 当漂烫温度、漂烫时间、叶水比在一定的范围内, 总黄酮浓度呈先上升后下降的趋势, 这可能是因为黄酮在一定的温度范围之内会随着时间的延长而增加其在鲜榨汁中的溶解度, 这一结果与李善姬等[27]的研究结果类似。相较于漂烫时间而言, 叶水比和漂烫温度对黄酮的含量的影响较不明显, 响应面曲线比较平坦, 等高线相对密度比较低。结合表 4 数据显示, 这可能的原因是黄酮类化合物因结构类型及存在状态不同而导致其溶解度的不同[28], 如一些游离黄酮类不易溶于水, 而易溶于甲醇、乙醇、乙醚等有机溶剂中; 黄酮苷类易溶于水、甲醇、乙醇等溶剂中[29]。当叶水比一定时, 漂烫温度和漂烫时间交互作用对黄酮的含量影响较为显著。结合表 4 数据显示, 这可能的原因是黄酮类化合物易于氧化, 在提取的过程中导致部分黄酮发生氧化, 黄酮含量降低。当漂烫温度一定时, 漂烫温度和叶水比交互作用对黄酮的含量影响较为显著。

表 3　响应面实验结果

Table 3　Results of response of surface experiment

实验号	*A*: 漂烫温度/℃	*B*: 漂烫时间/s	*C*: 叶水比(*m*:*V*)	*Y*: 黄酮浓度/(mg/g)	*Y*: 蛋白质量浓度/(mg/mL)	*Y*: 果胶浓度/(μmol/g)
1	1	1	1	13.41	69.24	1.65
2	1.682	0	0	9.19	51.64	1.24
3	0	1.682	0	10.15	57.96	1.61
4	0	–1.682	0	9.82	52.56	1.46
5	0	0	0	17.24	91.64	2.69
6	0	0	1.682	13.55	71.72	1.98
7	–1	1	1	14.54	75.12	1.92
8	0	0	–1.682	11.63	60.96	1.86
9	1	–1	1	9.95	51.88	1.27
10	–1.682	0	0	10.56	56.68	1.38
11	0	0	0	18.44	98.32	2.62
12	–1	1	–1	12.11	61.36	1.31
13	–1	–1	1	7.87	42.60	1.35
14	0	0	0	18.72	99.16	2.81
15	1	1	–1	7.66	40.92	1.22
16	0	0	0	18.42	97.12	2.67
17	0	0	0	18.48	96.84	2.69
18	–1	–1	–1	10.89	57.21	1.51
19	0	0	0	18.03	95.40	2.65
20	1	–1	–1	10.34	55.32	1.61

表 4 总黄酮的回归模型方差分析结果

Table 4 Analysis of variance results of the regression model for total flavonoids

来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	279.38	9	31.04	56.98	<0.0001	***
A	2.96	1	2.96	5.43	0.0421	*
B	6.23	1	6.23	11.44	0.0070	**
C	4.69	1	4.69	8.60	0.0150	*
AB	6.32	1	6.32	11.6	0.0067	**
AC	4.43	1	4.43	8.12	0.0172	*
BC	16.79	1	16.79	30.82	0.0002	**
A^2	117.05	1	117.05	214.86	<0.0001	***
B^2	113.88	1	113.88	209.03	<0.0001	***
C^2	51.48	1	51.48	94.50	<0.0001	***
残差	5.45	10	0.5448			
失拟	4.05	5	0.8091	2.88	0.1349	NC
纯误差	1.40	5	0.2805			
校正总平方和	284.83	19				
R^2	0.9809					
R^2_{Adj}	0.9673					
R^2_{pred}	0.8848					

注: ***表示差异强极显著, P<0.001; **表示差异极显著, P<0.01; *表示差异显著, P<0.05; NC 表示差不显著, P≥0.05, 表 5~6 同。

表 5 总蛋白回归模型方差分析结果

Table 5 Analysis of variance results of the regression model for total protein

来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	7584.44	9	842.72	108.84	<0.0001	***
A	55.00	1	55.00	7.10	0.0237	*
B	173.75	1	173.75	22.44	0.0008	***
C	129.94	1	129.94	16.78	0.0022	**
AB	142.05	1	142.05	18.35	0.0016	**
AC	82.75	1	82.75	10.69	0.0084	**
BC	451.95	1	451.95	58.37	<0.0001	***
A^2	3178.62	1	3178.62	410.52	<0.0001	***
B^2	3014.32	1	3014.32	389.30	<0.0001	***
C^2	1602.53	1	1602.53	206.97	<0.0001	***
残差	77.43	10	7.74			
失拟	41.76	5	8.35	1.17	0.4335	NC
纯误差	35.67	5	7.13			
校正总平方和	7661.87	19				
R^2	0.9899					
R^2_{Adj}	0.9808					
R^2_{pred}	0.9516					

图 5 表明, 蛋白浓度随漂温度、时间、叶水比等的逐渐增加呈现先上升后急速下降的趋势。漂烫温度、漂烫时间及叶水比的响应面曲线更为陡峭, 等高线也相对密集, 对蛋白的影响更为显著。而在漂烫时间及叶水比的交互项中, 虽然响应面比较陡峭, 但等高线的密度比较稀疏且趋于圆形, 结合表 5 数据显示, 其对总蛋白含量较显著, 可能原因是, 在叶水比或时间一定的条件下, 蛋白质随着温度的上升, 出现蛋白变性、蛋白质聚集、蛋白质降解及氨基酸失活等, 从而引起蛋白质含量的下降[30–31]。

表 6　果胶回归模型方差分析结果

Table 6　Analysis of variance results of the regression model for pectin

来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	6.5100	9	0.7231	239.67	<0.0001	***
A	0.0242	1	0.0242	8.04	0.0177	*
B	0.0274	1	0.0274	9.10	0.0130	*
C	0.0403	1	0.0403	13.36	0.0044	**
AB	0.0180	1	0.0180	5.98	0.0345	*
AC	0.0162	1	0.0162	5.37	0.0430	*
BC	0.2965	1	0.2965	98.26	<0.0001	**
A^2	3.5500	1	3.5500	1175.54	<0.0001	***
B^2	2.5000	1	2.5000	828.77	<0.0001	***
C^2	1.1300	1	1.1300	375.62	<0.0001	***
残差	0.0302	10	0.0030			
失拟	0.0089	5	0.0018	0.4176	0.8201	NC
纯误差	0.0213	5	0.0043			
校正总平方和	6.54	19				
R^2	0.9954					
R^2_{Adj}	0.9912					
R^2_{pred}	0.9850					

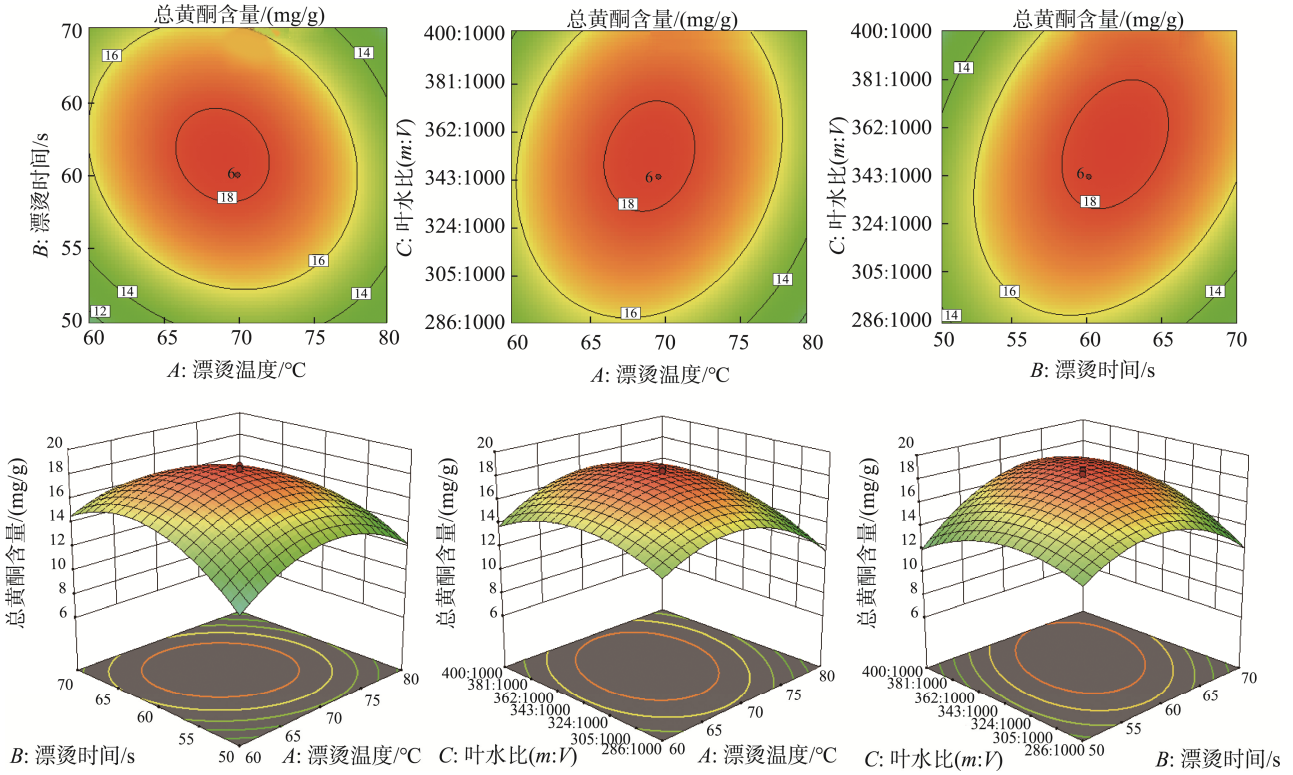


图 4　不同条件下黄酮浓度的响应面和等高线图

Fig.4　Response surfaces and contour maps of flavonoid concentration under different conditions

图 6 显示，果胶浓度呈现上升趋势而后下降的变化。进一步分析发现漂烫温度、漂烫时间及叶水比的响应面曲线更为陡峭，等高线也相对密集，对果胶含量有显著的影响。而在漂烫时间及漂烫温度的交互项中，响应面较陡峭，等高线的密度比较稀疏且趋于圆形，结合表 6 数据显示，其对果胶含量较显著，可能原因是，果胶随着温度及时间的上升，果胶的分子结构会被破坏而影响其在水中的溶解度，甚至导致果胶聚集沉淀等，从而引起其含量的下降[32–34]。

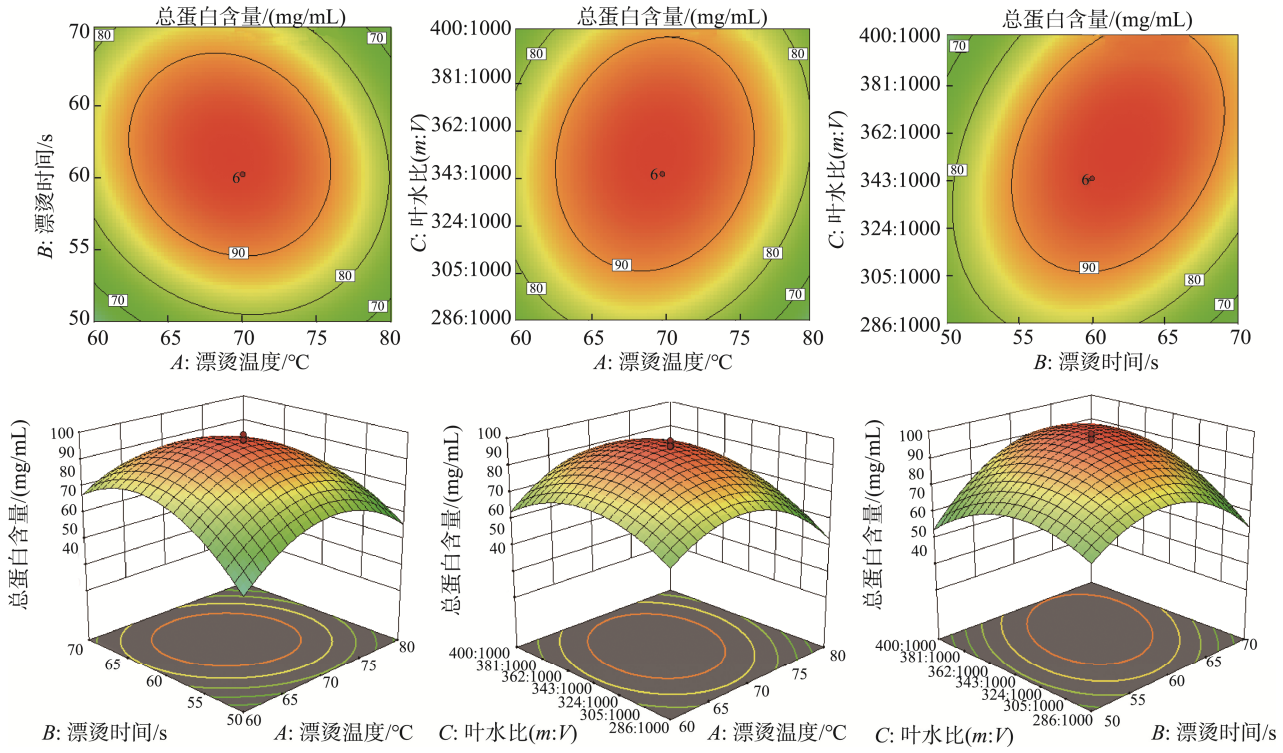


图 5 不同条件下总蛋白含量的响应面和等高线图

Fig.5 Response surfaces and contour maps of total protein concentration under different conditions.

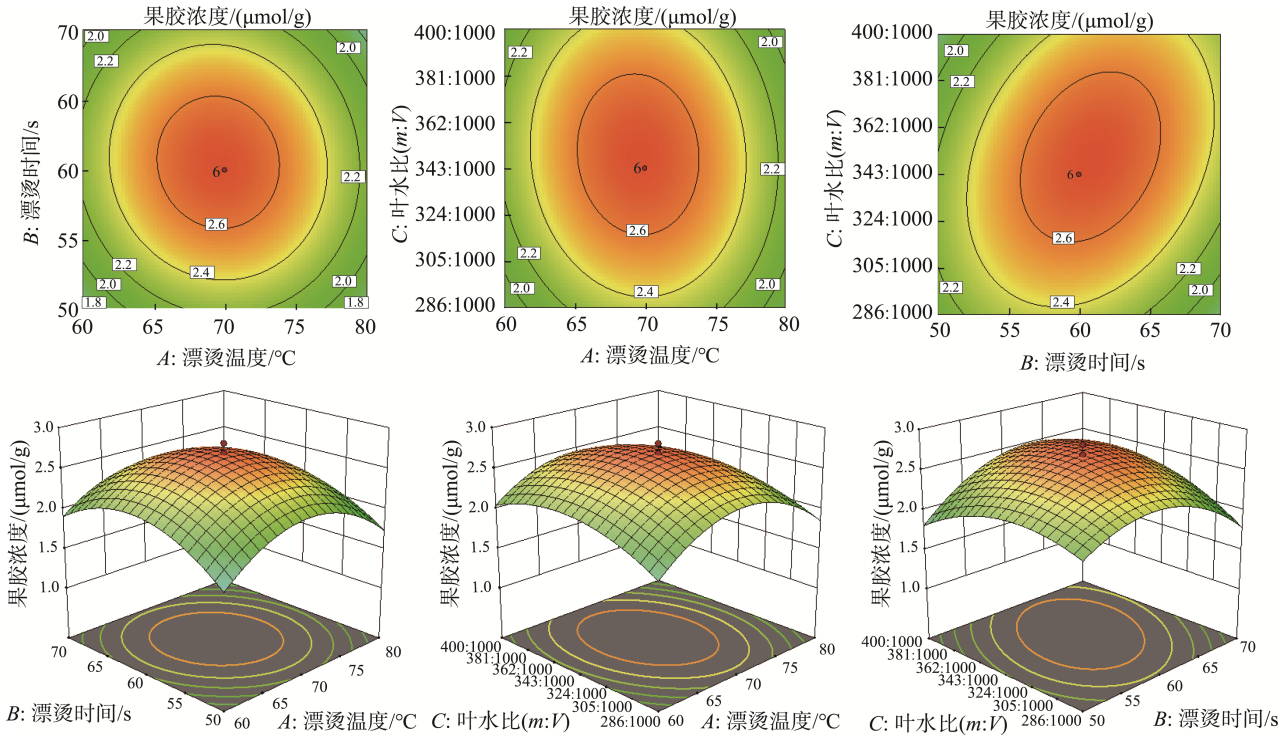


图 6 不同条件下果胶含量的响应面和等高线图

Fig.6 Response surfaces and contour maps of pectin concentration under different conditions

图 4~6 分析结果说明在本研究中漂烫温度、漂烫时间及叶水比是最为重要的影响因素，且各因素之间的交互作用不是简单的线性关系，在优化豆腐柴鲜榨汁工艺中以总黄酮、蛋白、果胶浓度为响应值时，需要考虑各因素之间的交互作用，以获得更好的提取效果。

综合响应面实验结果与分析，为了获得豆腐柴榨汁液中总黄酮、总蛋白及果胶含量的最优工艺，再一次利用 Design Expert 13.0 软件对以上回归方程进行最值求解，得

到模型极值点。预测结果显示: 即当漂烫为 60.531 ℃、漂烫时间为 56.300 s、叶水比为 318:1000 (*m*:*V*)时, 总黄酮含量为 15.201 mg/g、总蛋白含量为 79.261 mg/mL、果胶含量为 2.124 μmol/g。

2.5　预测结果的验证

利用Design Expert 13.0软件分别对豆腐柴榨汁液中总黄酮、总蛋白及果胶含量的最佳工艺条件进行预测, 以及所有相应因子进行组合预测, 在模型的拟合范围内进行模拟预测推演, 得到的提取最优方案及预测结果见表 7。对响应面实验的可靠性进行验证, 考虑到理论数值与实际操作的差异性, 将软件预测的最优工艺条件取整改良, 改良后方案见表 4, 并在此条件下进行验证。组合预测的最优条件下验证的总黄酮、总蛋白及果胶含量分别为: (15.030±0.039) mg/g、(78.000±0.032) mg/mL、(2.070±0.007) μmol/g。验证值与预测值接近, 说明回归方程能有效反应各因素对豆腐柴鲜榨汁中总黄酮、总蛋白及果胶含量的影响, 可以用于预测豆腐柴榨鲜榨汁总黄酮、总蛋白及果胶含量变化。

2.6　豆腐柴鲜榨汁的理化性质

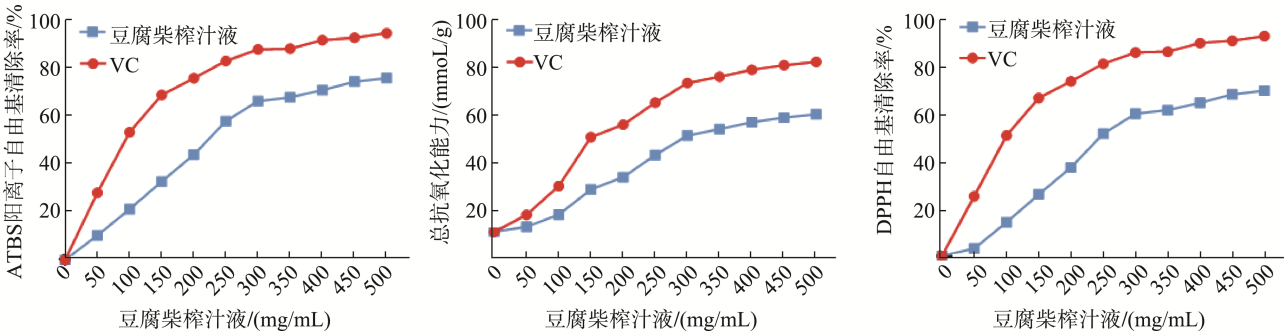
2.6.1　豆腐柴鲜榨汁自由基清除率分析

如图 7 所示, 豆腐柴鲜榨汁展现出显著的浓度依赖性抗氧化活性。其对 ABTS 阳离子自由基的清除能力(IC_{50}=219.3 mg/mL± 6.2 mg/mL)优于对 DPPH 自由基的清除能力(IC_{50}=270.70 mg/mL±9.21 mg/mL), 提示其抗氧化成分(如多酚、黄酮及蛋白质)可能对水溶性自由基体系具有更高亲和力或反应效率。当榨汁液质量浓度达到 350 mg/mL 时, 总抗氧化能力增至 0.572 mmol/g, 达到峰值, 此后可能因活性成分溶解平衡或分子间相互作用而趋于稳定。豆腐柴榨汁液与石榴、茶叶、核桃、草莓、沙棘等鲜榨汁都具有相当的抗氧化能力[34–36], 说明其具有较好的抗氧化能力。

表 7　Design Expert 13.0 预测最优工艺条件及验证工艺条件统计表

Table 7　Statistical tables of the optimal process conditions from Design Expert 13.0 and verify process condition

工艺条件/因素	漂烫温度/℃	漂烫时间/s	叶水比(*m*:*V*)	总黄酮浓度/(mg/g)	总蛋白质量浓度/(mg/mL)	果胶浓度/(μmol/g)
软件预测	60.531	56.300	318:1000	15.201	79.261	2.124
实验验证	61	56	2:5	15.030±0.039	78.000±0.032	2.070±0.007



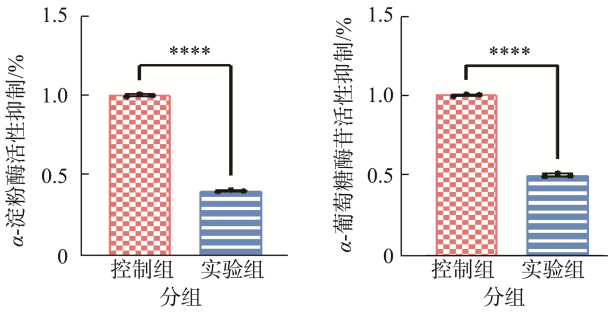
注: 维生素 C (vitamin C, VC)。

图 7　豆腐柴鲜榨汁的抗氧化能力

Fig.7　Antioxidant capacity of fresh juice from *Premna microphylla*

2.6.2　豆腐柴鲜榨汁对 α-淀粉酶及 α-葡萄糖苷酶活性的抑制

由图 8 可知, 豆腐柴鲜榨汁对 α-淀粉酶及 α-葡萄糖苷酶活性具有一定的抑制。相比较于阿卡波糖而言, 鲜榨汁对 α-淀粉酶及 α-葡萄糖苷酶活性抑制率分别为 4.09%、5.01%。本研究结果与刘焕举等[7]在豆腐柴果冻的结果类似。豆腐柴鲜榨汁具有抑制 α-淀粉酶及 α-葡萄糖苷酶活性可能与其含有果胶、黄酮、多酚类化合物等相关, 而果胶、黄酮类、多酚类等物质都具有降低血糖活性的作用[14–15], 可以在后续的应用中面向健身人群、运动员、糖尿病患者等开发特定食品。



注: ****代表差异超强极显著, P<0.0001。

图 8　豆腐柴鲜榨汁的酶活抑制作用

Fig.8　Enzyme activity inhibitory effect of *Premna microphylla*

3 结 论

本研究选豆腐柴叶为原料，以豆腐柴鲜榨汁中总黄酮、总蛋白及果胶含量为指标，采用单因素、响应面优化得到豆腐柴鲜榨汁过程的最佳工艺条件为：即当漂烫温度为 61 ℃、漂烫时间为 56 s、叶水比为 1:3 (*m*:*V*)时，总黄酮含量为 15.03 mg/g、总蛋白含量为 78.00 mg/mL、果胶含量为 2.07 μmol/g。所得豆腐柴鲜榨汁对 DPPH 自由基、ABTS 阳离子自由基有较强的清除能力，IC_{50} 分别为 (270.70±9.21) mg/mL、(219.3±6.2) mg/mL。当豆腐柴鲜榨汁质量浓度达到 350 mg/mL 时，总抗氧化能力可到 0.572 mmol/g；且对 *α*-淀粉酶及 *α*-葡萄糖苷酶活性有明显的抑制作用。说明在本研究所优化的工艺条件下获得的豆腐柴鲜榨汁可为后续的特色食品的开发和作为食品添加物的开发提供优良的原料。

参考文献

[1] 邵伟, 唐明, 熊泽, 等. 豆腐柴果冻加工工艺[J]. 食品科技, 2003, 28(9): 50–51.
SHAO W, TANG M, XIONG Z, *et al*. Processing technology of *Premna microphylla* Jelly [J]. Food Science and Technology, 2003, 28(9): 50–51.

[2] 赵宏伟. 豆腐柴叶发酵工艺的研究[J]. 现代食品, 2022, 28(6): 86–89.
ZHAO HW. Study on fermentation technology of *Premna microphylla* leaves [J]. Modern Food, 2022, 28(6): 86–89.

[3] 徐安书. 豆腐柴叶凝胶的影响因素研究[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(2): 172–175.
XU ANS. Study on influencing factors of gelation of *Premna microphylla* leaves [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2022, 50(2): 172–175.

[4] 李刚凤, 严红波, 杨丽娟, 等. 响应面法优化豆腐柴叶液态酸奶的发酵工艺[J]. 食品工业, 2020, 41(10): 27–32.
LI GF, YAN HB, YANG LJ, *et al*. Optimization of fermentation process for liquid yogurt with *Premna microphylla* leaves by response surface methodology [J]. Food Industry, 2020, 41(10): 27–32.

[5] 邓诺梅, 董帅, 付嘉艳, 等. 豆腐柴奶茶最优工艺[J]. 食品工业, 2022, 43(8): 75–78.
DENG NM, DONG S, FU JY, *et al*. Optimal process of *Premna microphylla* milk tea [J]. Food Industry, 2022, 43(8): 75–78.

[6] 罗东升, 余萍, 阚建全. 豆腐柴鲜叶豆腐的工艺条件优化[J]. 食品科学, 2013, 34(24): 313–317.
LUO DS, YU P, KAN JQ. Optimization of processing conditions for tofu made from fresh leaves of *Premna microphylla* [J]. Food Science, 2013, 34(24): 313–317.

[7] 刘焕举, 高月滢, 刘飞, 等. 豆腐柴果冻的制作工艺优化及其降血糖活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(10): 2463–2469.
LIU HJ, GAO YY, LIU F, *et al*. Optimization of preparation process and hypoglycemic activity of *Premna microphylla* Jelly [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(10): 2463–2469.

[8] 李宇, 孙钟雷, 闻凤, 等. 柚子黄酮、果胶的提取及保健饮料的研制[J]. 食品工业, 2012, 33(6): 58–61.
LI Y, SUN ZL, WEN F, *et al*. Extraction of flavonoids and pectin from pomelo and development of health beverage [J]. Food Industry, 2012, 33(6): 58–61.

[9] 李占明, 俞玥, 梁奕, 等. 体外模拟消化过程中果胶对竹叶黄酮生物可及性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(11): 43–49.
LI ZM, YU Y, LIANG Y, *et al*. Effect of pectin on the bioaccessibility of bamboo leaf flavonoids during *in vitro* simulated digestion [J]. Food Science, 2020, 41(11): 43–49.

[10] 石仕慧. 三种方法提取豆腐柴叶果胶抗氧化性比较研究[J]. 食品工业, 2017, 38(1): 65–68.
SHI SH. Comparative study on antioxidant activity of pectin extracted from *Premna microphylla* leaves by three methods [J]. Food Industry, 2017, 38(1): 65–68.

[11] CHEN J, LIANG RH, LIU W, *et al*. Extraction of pectin from *Premna microphylla* turcz leaves and its physicochemical properties [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 102: 376–384.

[12] WARDMAN JF, BAIN S. Carbohydrate-active enzymes (CAZymes) in the gut microbiome [J]. Nature Reviews Microbiology, 2022, 20(9): 542–556.

[13] SHI JAK, YEUNG D. Saponins from edible legumes: Chemistry, processing, and health benefits [J]. Journal of Medicinal Food, 2004, 7(1): 67–68.

[14] 马青, 唐民科. 线叶金雀花的研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2018, 20(6): 998–1003.
MA Q, TANG MK. Research progress on *Cyclopia genistoides* [J]. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology, 2018, 20(6): 998–1003.

[15] 黄修晴, 初众, 房一明, 等. 植物多酚降血糖机制的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(18): 461–469.
HUANG XQ, CHU Z, FANG YM, *et al*. Research progress on hypoglycemic mechanism of plant polyphenols [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(18): 461–469.

[16] 邱顺丽. 豆腐柴果胶的结构解析及在果冻中的应用[D]. 重庆: 重庆三峡学院, 2025.
QIU SL. Structural analysis of pectin from *Premna microphylla* and its application in jelly [D]. Chongqing: Chongqing Three Gorges University, 2025.

[17] 汪文伦, 虞朝航, 黄燕, 等. 豆腐柴果冻的制作工艺优化及其理化特性[J]. 现代食品科技, 2025, 41(5): 243–255.
WANG WL, YU CH, HUANG Y, *et al*. Optimization of production process and physicochemical properties of *Premna microphylla* Jelly [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(5): 243–255.

[18] 杜慧慧. 基于高通量测序分析不同品种柠檬鲜榨汁果汁的微生物多样性[J]. 食品科技, 2021, 46(3): 302–307.
DU HH. Analysis of microbial diversity in freshly squeezed juice of different lemon varieties based on high-throughput sequencing [J]. Food Science and Technology, 2021, 46(3): 302–307.

[19] 潘玥, 刘小莉, 王英, 等. 蓝莓叶多酚对*α*-淀粉酶和*α*-葡萄糖苷酶的体外抑制活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(4): 579–587.
PAN Y, LIU XL, WANG Y, *et al*. *In vitro* inhibitory activity of blueberry leaf polyphenols on *α*-amylase and *α*-glucosidase [J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34(4): 579–587.

[20] 邱燕华. 热蛋白质组学分析: 一种全面评估蛋白质状态的技术[J]. 生物工程学报, 2022, 38(10): 3628–3637.
QIU YH. Thermal proteome profiling: A technology for comprehensively

assessing protein states [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2022, 38(10): 3628–3637.

[21] WANG W, WU X, TAN J, *et al*. Using response surface methodology optimize culture conditions for human lactoferrin production in desert *Chlorella* [J]. Protein Expression and Purification, 2019, 155(2019): 130–135.

[22] 罗静红, 唐月明, 罗芳耀, 等. 漂烫温度和时间对鲜切马铃薯产品外观品质的影响[J]. 四川农业科技, 2025(1): 89–93.
LUO JH, TANG YM, LUO FY, *et al*. Effects of blanching temperature and time on appearance quality of fresh-cut potato products [J]. Sichuan Agricultural Science and Technology, 2025(1): 89–93.

[23] 马楠. 豆腐柴叶总黄酮提取、分离及抗氧化活性研究[D]. 成都: 西南科技大学, 2018.
MA N. Study on extraction, separation and antioxidant activity of total flavonoids from *Premna microphylla* leaves [D]. Chengdu: Southwest University of Science and Technology, 2018.

[24] 常建国, 王历靖, 高盈盈, 等. 柑橘果胶的酸法提取工艺及其理化性质与应用[Z]. 现代食品科技, 1–11.
CHANG JG, WANG LJ, GAO YY, *et al*. Acid extraction process, physicochemical properties and application of citrus pectin [Z]. Modern Food Science and Technology, 1–11.

[25] 郭慧, 王岩, 杨雨佳, 等. 北京菊黄酮提取条件优化[J]. 三明学院学报, 2024, 41(6): 25–34.
GUO H, WANG Y, YANG YJ, *et al*. Optimization of extraction conditions for flavonoids from *Chrysanthemum morifolium* ‘Beijing’ [J]. Journal of Sanming University, 2024, 41(6): 25–34.

[26] 陈磊, 周忠雨, 王晓琼, 等. 豆腐柴中功能性成分提取及产品开发的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(7): 209–214.
CHEN L, ZHOU ZY, WANG XQ, *et al*. Research progress on extraction of functional components and product development from *Premna microphylla* [J]. Food Research and Development, 2021, 42(7): 209–214.

[27] 李善姬. 野生桑黄总黄酮提取工艺及其抗氧化作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(20): 32–35.
LI SJ. Study on extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from wild sanghuang [J]. Food Research and Development, 2015, 36(20): 32–35.

[28] PANCH E. Flavonoids: An overview [J]. Journal of Nutritional Science, 2016, 5(2016): 47–61.

[29] MANDAVE P, KHADKE S, KARANDIKAR M, *et al*. Antidiabetic, lipid normalizing, and nephroprotective actions of the strawberry: A potent supplementary fruit [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(1): 124–145.

[30] LIAO ML, SOMERO GN, DONG YW. Comparing mutagenesis and simulations as tools for identifying functionally important sequence changes for protein thermal adaptation [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(2): 679–688.

[31] 张晶. 燕麦淀粉提取工艺优化及其相关特性研究[J]. 食品科技, 2019, 44(9): 295–302.
ZHANG J. Optimization of extraction process and study on related characteristics of oat starch [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(9): 295–302.

[32] XU J, FEI L, ZHAO J, *et al* . The preparation and potential bioactivities of modified pectins: A review [J]. Foods, 2023, 12(5): 1016–1048.

[33] MILLANLINARES MC. Pectins and olive pectins: From biotechnology to human health [J]. Biology-Basel, 2021, 10(9): 860–873.

[34] 李东香, 关荣发, 黄海智, 等. 3 种新疆沙棘黄酮的提取优化及抗氧化活性对比[J]. 中国食品学报, 2023, 23(4): 157–167.
LI DX, GUAN RF, HUANG HZ, *et al*. Comparison of extraction optimization and antioxidant activity of flavonoids from three species of Xinjiang sea buckthorn [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(4): 157–167.

[35] MARTIMIANAKI GEORGIA, ALICANDRO GIANFRANCO, PELUCCHI CLAUDIO, *et al*. Tea consumption and gastric cancer: A pooled analysis from the stomach cancer pooling (StoP) project consortium [J]. British Journal of Cancer, 2022, 127(4): 726–734.

[36] JIAN YJYLMLDKJ. A green tea-triggered genetic control system for treating diabetes in mice and monkeys [J]. Science Translational Medicine, 2019, 11(515): 8826–8839.

(责任编辑: 蔡世佳　安香玉)