

丁香抗氧化活性物质超声波-微波协同提取技术*

刘常金^{1,2} 赵锦^{1,2} 江慎华³ 王焯⁴ 廖亮³ 张小谷³

(1. 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457;

2. 天津科技大学食品营养与安全教育部重点实验室, 天津 300457;

3. 九江学院生命科学学院, 九江 332000; 4. 九江学院图书馆, 九江 332005)

摘要: 采用超声波-微波协同技术对丁香抗氧化活性物质提取工艺进行了优化,并对该技术高效提取机理进行了分析。结果表明,丁香抗氧化活性物质超声波-微波协同提取最佳工艺条件为:50%乙醇、液料比 30 mL/g、超声波功率 50 W、微波功率 100 W、协同提取时间 12 min。通过对比分析发现,超声波-微波协同对丁香抗氧化活性物质的提取效率显著高于水浴振荡提取($P < 0.01$);协同提取技术优势在于超声波和微波的协同作用,实现优势互补,从而对原料细胞结构破坏更严重,作用更充分,提高了提取效率。

关键词: 丁香 抗氧化活性物质 超声波-微波协同提取 扫描电镜

中图分类号: TS201.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)11-0223-07

引言

丁香,为桃金娘科植物丁香(*Eugenia caryophylla* Thunb.)的干燥花蕾,属于国家公布的药食两用植物^[1]。在我国种植广泛、产量大,但利用率却不高^[2]。研究表明,丁香具有抗氧化^[3]、抑制低密度脂蛋白氧化修饰^[4]、抗菌^[5]、抗炎、止痛^[6]、麻醉^[7]等活性,可制作兴奋剂、镇痉剂、驱风剂等^[8]。

超声波辅助提取因其空化作用而产生高强度机械效应和热效应^[9],具有细胞破碎、增加穿透性与加速质量传递等优势^[10]。微波辅助提取通过产生高效内热和电介质热而提高提取效率、减少提取时间并降低料液消耗^[9,11]。因此,超声波和微波辅助在天然产物有效成分提取领域中得到广泛应用^[9]。尽管以上两种提取技术具有各自优点,但是,超声波辅助提取热效应不强,在提取过程中难以达到足够高的提取温度;而微波辅助提取存在加热不均等问题,这些缺点限制了这2种方法的应用和推广^[11-12]。而将2种提取技术进行结合实现超声波、微波同时协同提取可以实现优势互补,超声波产生的振荡和搅拌作用能有效弥补微波传热、传质不均等缺陷,而微波极佳的热效应能有效地弥补超声波产热不足的问题^[9-10]。国内外很多学者采用超声

波和微波同时协同提取各自原料功能因子,均发现比传统方法(如热回流、水浴振荡或索氏抽提等)提取时间更短、得率更高、效率更好^[13-14]。

国家对可用于功能食品的原料种类和数量有严格的规定^[15],为了筛选出更好的功能食品原料,实验室前期对国家公布的药食两用原料进行了筛选,结果发现丁香抗氧化活性最强^[16],并对水浴振荡^[1]和超声波-微波协同技术提取效率进行了分析和比较^[17]。结果发现,相比于传统的提取方法(水浴振荡、超声波辅助和微波辅助),超声波、微波同时协同提取丁香抗氧化活性物质得率更高、时间更短、效果更好^[17]。但是,采用这种协同提取技术对丁香抗氧化活性物质最优提取工艺仍不明确,相比于水浴振荡最优提取工艺,协同提取最优工艺效率未见相关报道,协同提取产生高效的原因也不清楚。

扫描电子显微镜是利用具有一定能量的电子束轰击固体样品,使电子和样品互相作用,产生一系列有用信息,再借助特制的探测器分别进行收集、处理并成像,然后直观地认识样品的超微结构^[18]。扫描电镜普遍应用于观察物质的微观结构^[19-20]。

因此,本文在实验室前期研究基础上,对协同提取工艺进行优化,通过对比、相互作用方式分析和电镜扫描,为丁香抗氧化活性物质高效提取方法、解析

收稿日期: 2013-11-16 修回日期: 2014-01-21

* 国家自然科学基金资助项目(31360371)、江西省自然科学基金资助项目(20132BAB204030)、江西省教育厅科技资助项目(GJJ12620)、江西省科技支撑计划资助项目(20123BBF60150)和江西省卫生计生厅中医药科研计划资助项目(2013A017)

作者简介: 刘常金,副教授,主要从事农产品加工及贮藏工程研究,E-mail: cjliu@tust.edu.cn

通讯作者: 江慎华,副教授,主要从事天然产物研究与开发、食品营养学和功能性食品研究,E-mail: jiangshenhua66@163.com

协同高效作用机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

丁香,购自江西黄庆仁棧华氏大药房九江总店,江西樟树天齐堂中药饮片有限公司分装,产地广西。药材购后立即粉碎,过60目筛后置冰箱中备用。三吡啶三吡嗪(Tripyridyl triazine, TPTZ)购自阿法埃莎(天津)化学有限公司,其余化学试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器设备

CW-2000型超声波-微波协同萃取仪,上海新拓分析仪器科技有限公司;UNIC 7200型可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司;VEGA(II) LSU型扫描电子显微镜,捷克(TESCAN)泰思肯公司;DFY-300型摇摆式高速万能粉碎机,温岭市林大机械有限公司;101-1AB型电热鼓风干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司;SHA-B型恒温振荡器,常州国华电器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 丁香提取液抗氧化活性测定

(1) 总多酚含量

采用江慎华等^[17]、沈勇根等^[21]和 Abu Bakar 等^[22]方法,将 Folin 试剂原液用蒸馏水稀释 10 倍,取稀释液 2.25 mL 加入到 0.1 mL 样液中,然后加入

2.25 mL 质量分数 6% 的碳酸钠溶液,振荡均匀,35℃水浴中静置 90 min 后于波长 765 nm 处读数。将没食子酸配成质量浓度为 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100、150 μg/mL 8 个样液制作标准曲线。

(2) FRAP 法抗氧化活性

采用江慎华等^[17]、沈勇根等^[21]和 Jeong 等^[23]方法,取 100 μL 样液同 1.0 mL FRAP 工作液混合均匀,37℃水浴中反应 40 min 后,于波长 593 nm 测定吸光度,吸光度越高抗氧化能力越强。FRAP 工作液配制方法:由 0.3 mol/L pH 值 3.6 的乙酸钠缓冲液、10 mmol/L TPTZ 溶液和 20 mmol/L 三氯化铁以体积比 10:1:1 混匀,现用现配。pH 值 3.6 的乙酸钠缓冲液配制方法:3.1 g 三水乙酸钠和 16 mL 冰乙酸溶于 1 000 mL 蒸馏水中即得;TPTZ 溶液配制方法:采用 40 mmol/L 优级纯 HCl 为溶剂溶解定容。将 FeSO₄·7H₂O 配成浓度为 100、200、400、600、1 000 μmol/L 的样液制作标准曲线。

1.3.2 单因素试验

称取 7.000 g 丁香粉末,进行单因素试验(表 1),提取次数均为 3 次,提取液合并、定容成统一体积 500 mL,稀释 60 倍后测定 FRAP 值评价提取率。其中,液料比是指提取溶剂体积与丁香粉质量的比值。

表 1 超声波-微波协同提取丁香抗氧化活性物质单因素试验设计

Tab.1 Univariate experiments of UMAE for extracting antioxidants from clove

提取因素	因素水平	抗氧化活性物质提取条件
提取时间/min	3, 6, 9, 12, 15, 18	液料比 20 mL/g, 60% 乙醇、微波功率 100 W
微波功率/W	50, 75, 100, 125, 150, 175, 200	液料比 20 mL/g, 60% 乙醇、提取时间 9 min
液料比/(mL·g ⁻¹)	10, 15, 20, 25, 30	60% 乙醇、提取时间 9 min、微波功率 100 W
乙醇体积分数/%	30, 40, 50, 60, 70, 80, 90	液料比 20 mL/g、提取时间 9 min、微波功率 100 W

1.3.3 正交试验

以单因素试验结果为参考,设计四因素三水平 L₉(3⁴) 的正交试验,其因素水平如表 2 所示,以 FRAP 值衡量提取效率。

表 2 超声波-微波协同提取丁香抗氧化活性物质正交试验设计

Tab.2 Orthogonal experiments of UMAE for extracting antioxidants from clove

水平	提取时间/ min	微波功率/ W	液料比/ (mL·g ⁻¹)	乙醇体积分 数/%
1	6	50	20	40
2	9	75	25	50
3	12	100	30	60

1.3.4 超声波-微波协同提取丁香抗氧化活性物质高效率作用分析

1.3.4.1 与水浴振荡提取最佳工艺比较

实验室前期已经确定了丁香抗氧化活性物质水浴振荡提取最优提取工艺^[1]。将两种工艺进行了比较,具体对比参数设置如表 3 所示。

表 3 丁香抗氧化活性物质超声波-微波协同提取最佳工艺与水浴振荡提取最佳工艺比较

Tab.3 Comparison between UMAE and WBOE for extracting antioxidants from clove

提取方法	抗氧化活性物质提取条件
超声波-微波协同	提取时间 12 min、液料比 30 mL/g、乙醇体积分 50%、微波功率 100 W、超声开
水浴振荡	提取时间 40 min、液料比 20 mL/g、乙醇体积分 60%、提取温度 60℃

1.3.4.2 相互作用方式分析

为了分析超声波-微波协同提取高效的原因,本文将协同提取与单独超声波辅助、单独微波辅助提取进行了比较,通过比较提取效率来分析协同提取产生高效的原因。具体参数设置如表 4 所示。

表 4 丁香抗氧化活性物质超声波-微波协同提取相互作用分析

Tab.4 Interaction analysis of UMAE for extracting antioxidants from clove

提取方法	抗氧化活性物质提取条件
超声波-微波协同	提取时间 12 min、液料比 30 mL/g、乙醇体积分数 50%、微波功率 100 W、超声开
单独微波辅助	提取时间 12 min、液料比 30 mL/g、乙醇体积分数 50%、微波功率 100 W、超声关
单独超声波辅助	提取时间 12 min、液料比 30 mL/g、乙醇体积分数 50%、微波功率 0 W、超声开

所有测定均 3 次重复,测定结果以平均值 \pm 标准偏差表示。

1.3.4.3 提取所得丁香粉末扫描电镜分析

将超声波-微波协同提取、单独超声波提取、单独微波提取和水浴振荡提取后获得的残渣置于干燥箱中 60℃ 干燥,取干燥后的 4 种丁香粉末少量在离子溅射仪中完成真空喷镀后采用扫描电子显微镜进行微观分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

(1) 超声波-微波协同提取时间单因素试验结果如图 1 所示。从该图可以发现,在 3~9 min 范围内,提取液 FRAP 值随着时间的增加逐渐增大。9 min 以后随着时间的延长反而逐渐降低。这可能是随着时间的延长,丁香所含的一些对温度敏感的成分在 100 W 功率微波产生的较高温度环境中逐渐失去活性的缘故。选定提取时间 6、9、12 min 做正交试验。

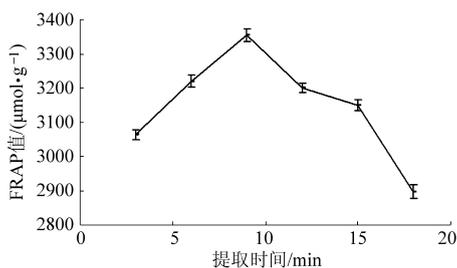


图 1 超声波-微波协同提取时间单因素试验结果

Fig.1 Results of extraction time experiment by UMAE

(2) 超声波-微波协同提取微波功率单因素试验结果如图 2 所示。从该图可以发现,在微波功率 50~75 W 范围内,提取液 FRAP 值随着微波功率的

增大逐渐增加。当提取功率大于 75 W 以后,FRAP 值随着时间的增加逐渐降低。其原因可能是随着微波功率的增加,产生的热效应更强,造成提取液温度更高。随着温度的升高,可能使其中热敏性有效成分受到破坏而造成提取率下降。选定提取功率 50、75、100 W 做正交试验。

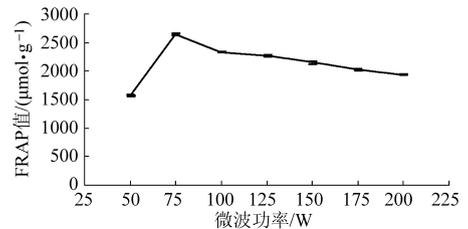


图 2 超声波-微波协同提取微波功率单因素试验结果

Fig.2 Results of microwave power experiment by UMAE

(3) 超声波-微波协同提取液料比单因素试验结果如图 3 所示。如该图所示,随着提取液料比的增大 FRAP 值逐渐增加。但是,随着液料比的增加,所花费的成本也会大幅度增加。综合提取率和成本考虑,选定液料比 20、25、30 mL/g 做正交试验。

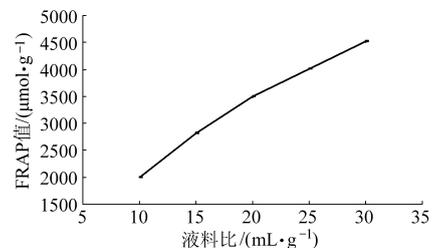


图 3 超声波-微波协同提取液料比单因素试验结果

Fig.3 Results of solvent to solid ratio experiment by UMAE

(4) 超声波-微波协同提取乙醇体积分数单因素试验结果如图 4 所示。由该图可以看出,在 30%~50% 范围内,FRAP 值随着乙醇体积分数的增大而快速上升,在 50%~60% 范围内下降较快,但在 60%~80% 范围内下降幅度趋缓。选定乙醇体积分数 40%、50%、60% 做正交试验。

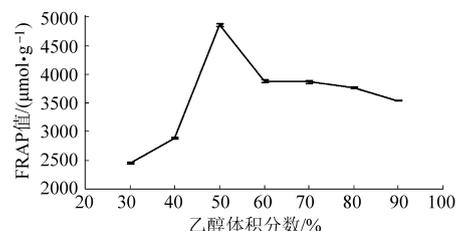


图 4 超声波-微波协同提取乙醇体积分数单因素试验结果

Fig.4 Results of ethanol concentration experiment by UMAE

2.2 正交试验结果

根据单因素试验确定的四因素三水平正交试验结果如表 5 所示,表中 A、B、C、D 分别表示提取时间、微波功率、液料比、乙醇体积分数的水平值。由该表可以看出,对超声波-微波协同提取丁香抗氧化

活性物质提取率的因素影响从大到小排序依次为液料比、乙醇体积分数、提取时间、微波功率,其中,前3种因素影响达显著性水平($P < 0.05$),如表6所示。最佳提取工艺为 A_3 、 B_3 、 C_3 和 D_2 ,即提取时间12 min、微波功率100 W、超声波功率50 W、液料比30 mL/g和乙醇体积分数50%。

表5 超声波-微波协同提取丁香抗氧化活性物质正交试验结果

Tab.5 Orthogonal experiments for extracting antioxidants from clove by UMAE

试验序号	A	B	C	D	FRAP值/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	1	1	1	1	4 999.16 \pm 7.56
2	1	2	2	2	6 511.56 \pm 7.28
3	1	3	3	3	6 425.59 \pm 4.37
4	2	1	2	3	5 478.99 \pm 9.63
5	2	2	3	1	6 337.36 \pm 3.78
6	2	3	1	2	5 317.65 \pm 5.82
7	3	1	3	2	7 760.37 \pm 8.73
8	3	2	1	3	5 183.19 \pm 4.37
9	3	3	2	1	6 636.56 \pm 5.46
k_1	5 978.77	6 079.51	5 166.67	5 991.03	
k_2	5 711.33	6 010.70	6 209.03	6 529.86	
k_3	6 526.71	6 126.60	6 841.11	5 695.93	
极差 R	815.37	115.89	1674.44	833.93	
因素主次	C > D > A > B				
优方案	A_3	B_3	C_3	D_2	

表6 超声波-微波协同提取丁香抗氧化活性物质正交试验方差分析

Tab.6 Analysis of orthogonal experiments

来源	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	0.083	2	20.750	19.000	*
B	0.004	2	1.000	19.000	
C	0.090	2	22.500	19.000	*
D	0.092	2	23.000	19.000	*
误差	0	2			

注: *表示在0.05水平上显著。

超声波-微波协同提取最佳工艺($A_3B_3C_3D_2$)与正交试验中FRAP值最高的一组($A_3B_1C_3D_2$)进行

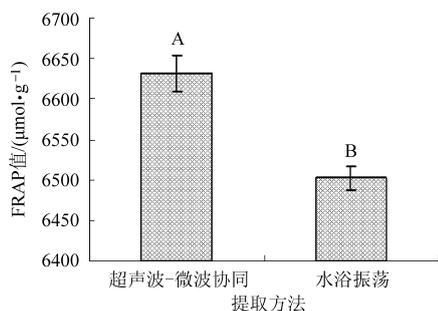


图5 超声波-微波协同、水浴振荡最佳工艺提取效率的比较

Fig.5 Extraction efficiency comparison between UMAE and WBOE

验证试验,结果证明协同最佳工艺提取液FRAP值显著性高于正交试验中FRAP值最高组($P < 0.001$)。由此证明该最优提取工艺较为可靠,可以考虑作为后续扩大工艺的提取条件。

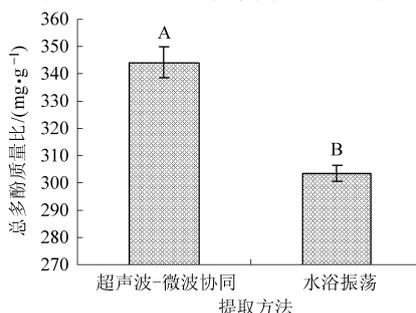
2.3 超声波-微波协同提取丁香抗氧化活性物质高效率作用分析

2.3.1 与水浴振荡提取效率的比较

为了评价超声波-微波协同提取效率,本文以实验室前期确定的水浴振荡提取最佳工艺^[1]与之进行了比较,这2种技术最佳提取工艺所得提取液FRAP值比较结果如图5所示。由图5可见,协同提取最佳工艺所得提取液FRAP值显著高于水浴振荡最佳工艺所得提取液($P < 0.01$),其FRAP值为协同提取液的98.06%。同时由图5得到,协同最佳工艺所得提取液总多酚含量也显著高于水浴振荡最佳工艺所得提取液($P < 0.001$),其总多酚含量仅为协同提取液的88.19%。对比结果说明,协同提取法优于传统水浴振荡提取方法。Chen等^[10]从纤孔菌属中提取多糖时通过比较超声波-微波协同法和水浴振荡法,也得出了相似的结论。

2.3.2 相互作用方式分析

超声波-微波协同提取具有很多优势,被广泛用于天然产物功能因子提取^[17]。但是,其产生高效提取的原因却鲜有报道。为了说明超声波、微波辅助在协同提取中所产生的作用,以提取液FRAP值和总多酚含量为评价指标,本文将协同提取方式与单独超声波、单独微波辅助提取方式进行比较,其测定结果如图6所示。从图6可以看出,协同提取液FRAP值显著高于超声波或微波单独提取液($P < 0.001$),单独微波及单独超声波提取液FRAP值分别为协同提取液的98.23%和93.29%。同时由图6得到,协同提取液总多酚含量也显著高于超声波或微波单独提取液($P < 0.01$),单独微波及单独超声波提取液总多酚含量仅为协同提取液的93.67%和78.36%。由此可以得出,超声波-微波协同提取丁香抗氧化活性物质高效的原因是超声波和微波2种



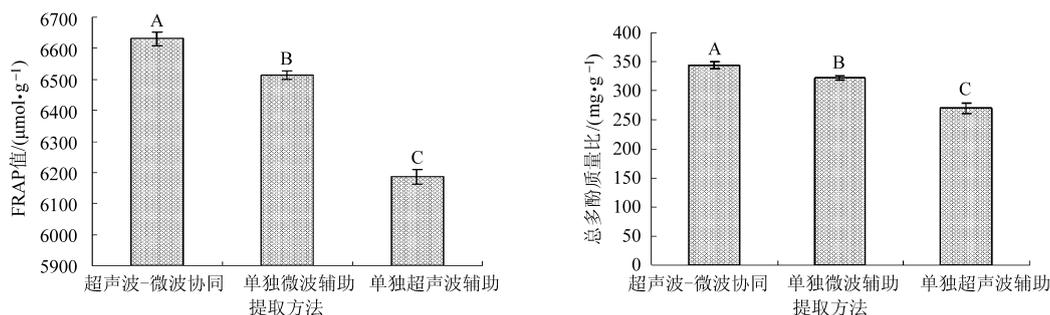


图 6 单独超声波、单独微波和超声波-微波协同提取法比较

Fig. 6 Comparison among UAE, MAE and UMAE

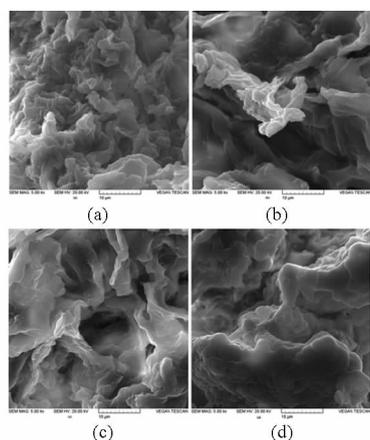


图 7 丁香粉末扫描电镜照片

Fig. 7 Scanning electron microscope pictures of clove

(a) 超声波-微波协同提取 (b) 水浴振荡 (c) 微波 (d) 超声波

方法优势互补、相互协同所产生的结果,从而提高了提取效率。

2.3.3 丁香粉末扫描电镜分析

为了进一步分析协同提取高效的原因,在对比分析、相互作用分析的基础上,采用扫描电镜对协同、水浴振荡、单独微波和单独超声波提取后所得粉末的微观结构进行了观察和分析,其结果如图 7 所示。由图 7 可见,相同的丁香粉末经过超声波-微波协同作用、单独超声波或单独微波作用 12 min 及水浴振荡提取 40 min 后,其组织结构均遭到不同程度的破坏。但是,经过超声波-微波协同作用 12 min 后,丁香细胞无法识别,微观结构遭到更严重破坏,

损坏程度比其他 3 种方法都高。其中主要原因可能是超声波产生的撞击和空穴效应导致细胞壁破裂。同时,细胞中的水分子以其高偶极矩剧烈吸收微波产生的热量,使微波能更高效地加热样品;细胞内部自由水分子和微波的选择性相互作用导致细胞内部急剧升温 and 膨胀,也使细胞壁遭受严重破坏。超声波和微波同时协同作用而产生一系列剧烈反应使细胞内活性物质迅速、充分地迁移出来。而单独超声波、单独微波辅助或水浴振荡仅能受到上述一种或几种效应的作用,无法同时受到超声波、微波同时协同所产生的全部效应的作用,最终使得超声波-微波协同提取效率显著高于其他 3 种提取方法^[10]。Luo 等^[19]研究超声波-微波协同和水浴振荡提取牛蒡中富含多酚的膳食纤维时,也从电镜图像中观察到了类似的结果。

3 结论

(1)通过单因素试验和正交试验,确定了丁香抗氧化活性物质超声波-微波协同提取法的最佳提取工艺,其可靠性由方差分析和验证试验得到确认。

(2)通过对比、相互作用方式和扫描电镜分析后发现,超声波-微波协同提取最佳工艺效率高于水浴振荡提取最佳工艺;超声波和微波 2 种方法优势互补、相互协同,并使原料粉末微观结构产生更严重的破坏,使丁香抗氧化活性物质迅速、充分溶出而提取效率显著提高。

参 考 文 献

- 江慎华,王书源,马海乐,等.丁香活性物质提取工艺优化与抗氧化活性研究[J].农业机械学报,2010,41(1):132-138.
Jiang Shenhua, Wang Shuyuan, Ma Haile, et al. Extracting technology and antioxidant activity of bioactive components from clove [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(1): 132-138. (in Chinese)
- Huang B, Ban X Q, He J S, et al. Comparative analysis of essential oil components and antioxidant activity of extracts of *Nelumbo nucifera* from various areas of China[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(1): 441-448.
- Gülçin İ, Elmastaş M, Aboul-Enein H Y. Antioxidant activity of clove oil—a powerful antioxidant source[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2012, 5(4): 489-499.
- 江慎华,肖敏,江春霞,等.生物活性追踪法对丁香抗低密度脂蛋白氧化修饰的研究[J].现代食品科技,2013,29(9):2063-2067,2151.

- Jiang Shenhua, Xiao Min, Jiang Chunxia, et al. Oxidation modification of clove anti-low-density-lipoprotein by bio-assay guided method[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(9):2063–2067, 2151. (in Chinese)
- 5 Anwer M K, Jamil S, Ibnouf E O, et al. Enhanced antibacterial effects of clove essential oil by nanoemulsion[J]. *Journal of Oleo Science*, 2014, 63(4):347–354.
- 6 Singh J, Baghotia A, Goel S P. *Eugenia caryophyllata* Thunberg (Family Myrtaceae): a review[J]. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2012, 3(4):1469–1475.
- 7 张宁, 马庆男, 苏胜彦, 等. 丁香油和乙醇混合液对福瑞鲤的麻醉效果[J]. *广东海洋大学学报*, 2012, 32(1):92–96.
Zhang Ning, Ma Qingnan, Su Shengyan, et al. Anesthetic effect of clove oil and alcohol mixture on furui carp[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2012, 32(1):92–96. (in Chinese)
- 8 Anand K S, Sunil S D, Mohammed A, et al. Anti-stress activity of hydro-alcoholic extract of *Eugenia caryophyllus* Buds (clove) [J]. *Indian Journal of Pharmacology*, 2009, 41(1):28–31.
- 9 Cristina L, Timothy J M. Microwave and ultrasonic processing: now a realistic option for industry[J]. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 2010, 49(9):885–900.
- 10 Chen Y Y, Gu X H, Huang S Q, et al. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2010, 46(4):429–435.
- 11 Zhang L F, Liu Z L. Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2008, 15(5):731–737.
- 12 Chan C H, Yusoff R, Ngoh G C, et al. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants—a review [J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(37):6213–6225.
- 13 Azmir J, Zaidul I S M, Rahman M M, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials; a review[J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 117(4):426–436.
- 14 Liu Ruilin, Song Shuanghong, Wu Mei, et al. Rapid analysis of fatty acid profiles in raw nuts and seeds by microwave-ultrasonic synergistic in situ extraction-derivatization and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(4):4269–4277.
- 15 Guo M R. 功能性食品学[M]. 于国萍, 程建军, 等, 译. 北京: 中国轻工业出版社, 2011.
- 16 Jiang S H, Li Hanquan, Ma H L, et al. Antioxidant activities of selected Chinese medicinal and edible plants[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2011, 62(5):441–444.
- 17 江慎华, 蔡志鹏, 廖亮, 等. 丁香抗氧化活性物质提取及人工胃肠液对其活性的影响[J]. *农业机械学报*, 2012, 43(7):149–155.
Jiang Shenhua, Cai Zhipeng, Liao Liang, et al. Extraction of antioxidants from clove and effect of artificial gastrointestinal juice immersion on its antioxidant properties[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2012, 43(7):149–155. (in Chinese)
- 18 张大同. 扫描电镜与能谱仪分析技术[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2009.
- 19 Lou Z X, Wang H X, Wang D X, et al. Preparation of inulin and phenols-rich dietary fibre powder from burdock root[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 78(4):666–671.
- 20 Zhang H F, Yang X H, Wang Y. Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: current status and future directions[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2011, 22(12):672–688.
- 21 沈勇根, 蔡志鹏, 江慎华, 等. 丁香非挥发性成分抗氧化活性[J]. *农业机械学报*, 2012, 43(10):131–137.
Shen Yonggen, Cai Zhipeng, Jiang Shenhua, et al. Antioxidant activity of non-volatiles from clove[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2012, 43(10):131–137. (in Chinese)
- 22 Abu Bakar M F A, Mohamed M, Rahmat A, et al. Phytochemicals and antioxidant activity of different parts of bambangan (*Mangifera pajang*) and tarap (*Artocarpus odoratissimus*) [J]. *Food Chemistry*, 2009, 113(2):479–483.
- 23 Jeong C H, Choi G N, Kim J H, et al. Antioxidant activities from the aerial parts of *Platycodon grandiflorum* [J]. *Food Chemistry*, 2010, 118(2):278–282.

Extraction Technology of Antioxidants from Clove Based on Simultaneous Ultrasonic/Microwave Assisted Extraction

Liu Changjin^{1,2} Zhao Jin^{1,2} Jiang Shenhua³ Wang Huang⁴ Liao Liang³ Zhang Xiaogu³

(1. College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

2. Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China 3. College of Life Science, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China

4. Library, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China)

Abstract: The simultaneous ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) technology of extracting antioxidants from clove was optimized and the reason for high-efficiency of this method was analyzed. The results show that the optimal parameters of the UMAE technology were as follows, ethanol concentration was 50%, ratio of extracting solution to sample was 30 mL/g, ultrasonic power was 50 W, the microwave power was 100 W and the extracting time was 12 min. Comparative study show that the extraction ratio of antioxidants from clove by UMAE was significantly improved compared with water bath oscillator extraction (WBOE) in the same conditions. It was also found that the superiority of UMAE was simultaneously acted and mutually reinforced by ultrasonic and microwave through interaction analysis. A comparison of scanning electron microscopy images from the clove powders by UMAE, WBOE, microwave assisted extraction (MAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) indicated the extraction efficiency was higher by UMEA with the more serious disruption of cell structure and the more sufficient interaction.

Key words: Clove Antioxidants Simultaneous ultrasonic/microwave assisted extraction Scanning electron microscopy

(上接第 234 页)

Effects of Environmental Factors on Biofilm Formation by *Lactobacillus pentosus*

Ren Xiaopu¹ Tuo Yanfeng² Li Mingyang¹ Wang Lei¹ Yao Dongqin¹

(1. Production & Construction Group Key Laboratory of Special Agricultural Products Further Processing in Southern Xinjiang, Tarim University, Alar 843300, China

2. College of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116000, China)

Abstract: Lactic acid bacteria (LAB) are recognized as probiotics worldwide. The cell itself and all kinds of metabolites are essential parts of the human life processes. The bacterial biofilm has been described as sessile bacterial communities that attached to surfaces aggregating in a hydrated polymeric matrix of their own synthesis. LAB biofilm has broad perspective for their particularities. *Lactobacillus pentosus*, which isolated from the traditional dairy products of Xinjiang and had a strong positive biofilm formation, was taken as the research subjects. Semi-quantitative assay was performed to examine effects of different physical and chemical factors and several food additives on biofilm formation by *L. pentosus*. The results showed that the optimum physical and chemical conditions for biofilm formation of *L. pentosus* were inoculation volume at 1:200, incubation temperature at 37°C, culture period at 48 h, glucose concentration at 2%, pH value at 5.8~6.8, and so on. The addition of Ca²⁺ and lactic acid obviously inhibited biofilm formation by *L. pentosus* completely.

Key words: Lactic acid bacteria Biofilm Physical and chemical factors Food additives