食品工业科技 半月刊
SCIENCE AND TECHNOLOGY OF FOOD INDUSTRY
权威 · 核心 · 领先 · 实用 · 全面
美国《化学文摘》CA
日本科学技术振兴机构数据库JST
北大核心期刊
中国生物医学文献系统SinoMed收录期刊
中国精品科技期刊
英国《食品科技文摘》FSTA
中国科技核心期刊CSTPCD
RCCSE中国核心学术期刊
中国农林核心期刊A

超声辅助低共熔溶剂提取新疆红枣中环磷酸腺苷的工艺优化

张　雪，刘　娅，刘秀敏，单春会

Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate from Xinjiang Jujube by Deep Eutectic Solvent

ZHANG Xue, LIU Ya, LIU Xiumin, and SHAN Chunhui

在线阅读 View online: https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021100308

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

超声波辅助低共熔溶剂提取野菊花总黄酮的工艺研究

Ultrasound-assisted Deep Eutectic Solvent Extraction of Total Flavonoids from *Chrysanthemum indicum*

食品工业科技. 2020, 41(20): 147-152

超声辅助低共熔溶剂萃取法在活性成分提取与食品分析预处理中应用的研究进展

Research Progress on Extraction of Active Ingredients and Pretreatment of Food Analysis by Ultrasound-Assisted Deep Eutectic Solvent Method

食品工业科技. 2021, 42(7): 399-407

超声辅助低共熔溶剂提取苹果叶中的总黄酮

Ultrasonic-assisted Deep Eutectic Solvents Extraction of Total Flavonoids from Apple Leaves

食品工业科技. 2020, 41(14): 134-139,147

环磷酸腺苷颗粒剂的制备

Preparation of Cyclic Adenosine Monophosphate Granules

食品工业科技. 2018, 39(14): 152-158,164

基于低共熔溶剂法超声辅助蒸馏提取胡椒叶精油的工艺优化及其GC-MS分析

Optimization and GC-MS Analysis of Extracting Pepper Leaves Essential Oil by Ultrasonic Assisted Distillation Based on Deep Eutectic Solvents

食品工业科技. 2020, 41(20): 135-141

微波辅助低共熔溶剂提取鹰嘴豆中黄酮及其抗氧化活性的研究

Extraction of Flavonoids from Chickpeas by Microwave-assisted Eutectic Solvent and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2020, 41(14): 120-128

关注微信公众号，获得更多资讯信息

张雪, 刘娅, 刘秀敏, 等. 超声辅助低共熔溶剂提取新疆红枣中环磷酸腺苷的工艺优化 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(14): 243−250. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100308
ZHANG Xue, LIU Ya, LIU Xiumin, et al. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate from Xinjiang Jujube by Deep Eutectic Solvent[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(14): 243−250. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100308

· 工艺技术 ·

超声辅助低共熔溶剂提取新疆红枣中环磷酸腺苷的工艺优化

张　雪[1], 刘　娅[1], 刘秀敏[1], 单春会[1,2,*]
（1.石河子大学食品学院, 新疆石河子 832000;
2.新疆特色果蔬贮藏加工教育部工程研究中心, 新疆石河子 832000）

摘　要: 针对新疆红枣，采用绿色、高效的低共熔溶剂（Deep Eutectic Solvent，DES）为提取剂，通过超声波辅助技术提取其中的功能性成分——环磷酸腺苷（cyclic adenosine 3',5'-monophosphate，cAMP）。研究低共熔溶剂的摩尔比、含水量以及料液比、超声时间、超声温度与 cAMP 提取量的关系，通过单因素实验和响应面优化试验，得出新疆红枣中 cAMP 提取的最佳条件为：氯化胆碱与丙三醇摩尔比为 1∶3，DES 体系含水量为 44%，红枣粉末与 DES 的料液比为 1∶35 g/mL，超声时间为 45 min，超声温度为 45 ℃，此时与同等超声条件下的水提法和醇提法相比，低共熔溶剂法提取 cAMP 的含量最高为（284.15±0.06）μg/g。因此，选用超声波辅助低共熔溶剂提取新疆红枣中的 cAMP 是获得较高提取量的一种新型、高效和安全的方法。

关键词: 新疆红枣, 环磷酸腺苷, 低共熔溶剂, 超声波辅助, 高效液相色谱法
中图分类号: TS255　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2022)14−0243−08
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100308
本文网刊:

Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate from Xinjiang Jujube by Deep Eutectic Solvent

ZHANG Xue[1], LIU Ya[1], LIU Xiumin[1], SHAN Chunhui[1,2,*]
（1.College of Food Science, Shihezi University, Shihezi 832000, China;
2.Engineering Research Center of Xinjiang Ministry of Education for Fruit and Vegetable Storage and Processing, Shihezi 832000, China）

Abstract: Using green and highly efficient deep eutectic solvent (DES) as the extraction agent, this study extracted the functional ingredient—cyclic adenosine 3',5'-monophosphate (cAMP) from Xinjiang jujube through ultrasound-assisted technology. The relationships between the molar ratio of deep eutectic solvent, water content of deep eutectic solvent, solid-liquid ratio, ultrasonic time, ultrasonic temperature and extraction amount of cAMP were studied. Through single factor experimentas and response surface optimization experiment, the optimal conditions for cAMP extraction from Xinjiang jujube were as follows: The molar ratio of choline chloride to glycerol was 1∶3, the water content of DES system was 44%, the solid-liquid ratio of jujube powder to DES was 1∶35 g/mL, the ultrasonic time was 45 min, and the ultrasonic temperature was 45 ℃. At this time, compared with water extraction and alcohol extraction under the same ultrasonic conditions, the highest content of cAMP extracted by deep eutectic solvent was (284.15±0.06) μg/g. Therefore, ultrasonic-assisted deep eutectic solvent extraction of cAMP in Xinjiang jujube was a new, efficient and safe method to obtain a higher extraction amount.

Key words: Xinjiang jujube; cyclic adenosine monophosphate; deep eutectic solvent; ultrasonic assisted; high performance liquid chromatography

收稿日期: 2021−11−01
基金项目: 新疆生产建设兵团重点领域创新团队建设计划项目（2017CB012）; 新疆生产建设兵团南疆重点产业创新发展支撑计划项目（2018DB002）。
作者简介: 张雪（1997−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品化学与营养学, E-mail: 1103020650@qq.com。
*** 通信作者:** 单春会（1978−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 果蔬加工与贮藏, E-mail: 972338194@qq.com。

红枣(*Zizyphus jujube* Mill)作为一种药食同源食物,因其中富含膳食纤维、多糖、多酚和环磷酸腺苷(cyclic adenosine 3',5'-monophosphate, cAMP)[1−2]等多种营养和功效成分而广受消费者青睐。已有研究表明,红枣中 cAMP 具有第二信使作用,是生物界普遍存在的一种生物活性成分,广泛调节生物体生理生化过程,人类至少有 40 多种疾病(包括心肌梗塞、冠心病、心源性休克、高血压等重大疾病)与 cAMP 的代谢调控相关[3−4]。

目前,cAMP 常见的生产方法有:化学合成法、微生物发酵法及天然产物提取法。微生物发酵法存在培养周期长、产量低等缺点;化学合成法的不足之处是化学试剂残留,易污染环境[5];而天然产物提取法中的水提法和醇提法存在耗时长,所需条件较高等问题。低共熔溶剂(Deep Eutectic Solvent, DES)作为一种新型、绿色的高效溶剂,主要是由氢键受体和氢键供体组成[6],相比于传统的有机溶剂,DES 不仅环保、无毒、可生物降解,而且还具有生产成本低、可回收和易于生产的特点[7−8]。已有研究用于总黄酮、多酚、多糖等多种功效成分的提取[9],Chen 等[10]利用超声辅助 DES 从东茜草和茜草的果实中提取出总黄酮;Gao 等[11]通过微波辅助 DES 从桑叶中提取出酚类物质;Chen 等[12]研究发现氯化胆碱/乙二醇型 DES 可同时快速高效萃取出卷丹茎中的酚酸和多糖,但是使用 DES 提取 cAMP 的文章未见报道。本文研究从超声波辅助不同类型的 DES 中选择出一种 DES 能够从新疆红枣中提取出最多的 cAMP,结合单因素实验和响应面优化试验获得最佳提取条件,旨在提升新疆红枣附加值,促进新疆红枣产业经济增长和可持续发展。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红枣片　新疆石河子市金马市场;氯化胆碱(分析纯)、磷酸二氢钾(色谱纯)　上海源叶生物科技有限公司;丙三醇、乙二醇　分析纯,天津市富宇精细化工有限公司;尿素　分析纯,天津市光复科技发展有限公司;果糖、葡萄糖　分析纯,福晨(天津)化学试剂有限公司;超纯水　屈臣氏桶装水;甲醇　色谱纯,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;环磷酸腺苷标准品(cAMP)　纯度≥99%,上海麦克林生化科技有限公司。

LC-20AT 高效液相色谱仪　日本岛津制作所;78-1 磁力加热搅拌器　常州普天仪器制造有限公司;JPGL-20G-Ⅱ高速离心机　赛默飞世尔科技(中国)有限公司;JP-1000B-2 高速多功能粉碎机　永康市永久工贸有限公司;SK5200BT 超声清洗器　上海科导超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1　低共熔溶剂的制备与筛选　以氯化胆碱为氢键受体,按 1:2 的摩尔比,含水量 30% 分别与 5 种氢键供体丙三醇、乙二醇、尿素、果糖、葡萄糖配制 DES,使用磁力搅拌器加热、搅拌至澄清透明状态,冷却至室温保存备用[13−14]。使用 5 种 DES 以相同的提取条件进行新疆红枣中 cAMP 的提取,选择提取量较高的 DES 做以下研究。

1.2.2　红枣中 cAMP 的提取　红枣片烘干、粉碎、过 0.25 mm 筛网,4 ℃ 保存。将红枣粉与 DES 按一定料液比混合均匀,使用 200 W 超声功率和 35 kHz 超声频率的超声清洗仪在 55 ℃ 下进行提取,3000 r/min 离心 15 min,上清液即为红枣中 cAMP 提取液。

1.2.3　cAMP 含量的测定及标准曲线的绘制　采用 HPLC 法测定 cAMP 含量[15]。色谱柱为 C_{18}(4.6×250 nm, 5 μm);检测器为紫外检测器;流动相为 V(甲醇):V(0.05 mol/L 磷酸二氢钾)=20:80 等度洗脱,流速 1.0 mL/min,柱温 25 ℃,进样量 20 μL,在 254 nm 波长下测定[16−17]。

配制浓度为 1、5、10、15、20、25、30、35、40、45 和 50 μg/mL 的 cAMP 标准品溶液,按照上述的色谱条件测定,并记录峰面积。

cAMP 提取量(μg)=提取液中 cAMP 质量(μg)/红枣粉质量(g)

1.2.4　单因素实验　氯化胆碱为氢键受体,丙三醇为氢键供体组成的 DES,以 DES 摩尔比分别为 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5,DES 含水量分别为 30%、40%、50%、60%、70%、80%,料液比分别为 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 g/mL,超声时间分别为 15、30、45、60、75、90 min,超声温度分别为 25、35、45、55、65 ℃ 的条件,按照 1.2.2 的提取方法,研究 DES 摩尔比、DES 含水量、料液比、超声时间和超声温度五个因素对新疆红枣中 cAMP 提取量的影响。

1.2.5　响应面优化试验　根据单因素实验结果,以 DES 含水量、料液比、超声时间和超声温度为自变量,cAMP 提取量(Y)为响应值,利用 Box-Behnken 设计四因素三水平的响应面优化试验,试验因素与水平见表 1。

表 1　Box-Behnken 响应面因素水平设计

Table 1　Box-Behnken response surface factor horizontal design

水平	因素			
	A含水量(%)	B料液比(g/mL)	C超声时间(min)	D超声温度(℃)
−1	30	1:25	30	45
0	40	1:30	45	55
1	50	1:35	60	65

1.2.6　对照试验　分别以报道较多的水提法和醇提法为对照,进行新疆红枣中 cAMP 的提取。按照 1.2.2 中的提取方法,以相同的提取条件,不同的提取溶剂提取新疆红枣中的 cAMP,按照 1.2.3 的色谱条件进行测定,计算 cAMP 提取量。

1.3 数据处理

采用 Origin 8.5 和 Design-Expert 8.0.6 软件进

行数据分析，每组试验重复 3 次，采用单因素方差分析，不同字母代表差异显著（P<0.05）。

2　结果与分析

2.1　cAMP 标准曲线及样品 cAMP 的定性

以 cAMP 浓度为横坐标，以色谱峰面积为纵坐标进行线性回归分析，得到的回归方程为：y=44824x−3538.1，R^2=0.9992，表明 cAMP 标准品浓度与色谱峰面积有良好的线性关系。如图 1 和图 2 所示，在 HPLC 条件下，cAMP 分离度良好，表明样品与标品保留时间一致，说明 DES 法能够提取出新疆红枣中的 cAMP[18]。

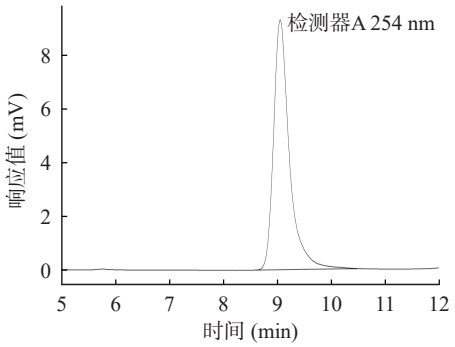


图 1　cAMP 标准品色谱图（5 μg·mL^{-1}）

Fig.1　Chromatogram of cAMP standard substance (5 μg·mL^{-1})

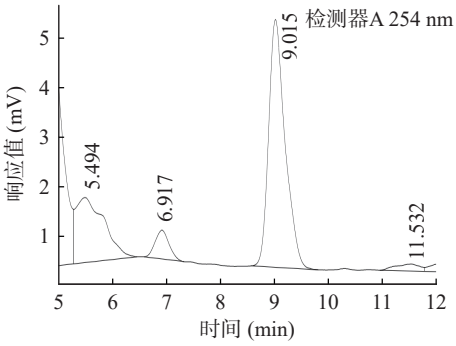


图 2　DES 提取 cAMP 色谱图

Fig.2　cAMP chromatogram extracted by DES

2.2　低共熔溶剂体系筛选试验

如图 3 所示，以氯化胆碱为氢键受体，丙三醇、乙二醇、尿素、果糖、葡萄糖分别作为氢键供体构成的不同 DES 体系提取新疆红枣中的 cAMP，得到的提取量分别是(256.02±0.07)、(227.76±0.08)、(226.56±0.12)、(219.28±0.16)、(188.16±0.06) μg/g。氯化胆碱-丙三醇是这 5 种 DES 中提取 cAMP 含量最高的。这可能是因为 cAMP 溶液本身呈酸性，氯化胆碱-丙三醇中含有羟基比较多，并且黏度相对于氯化胆碱-果糖和氯化胆碱-葡萄糖体系较小，有利于 cAMP 的溶出，因此选用氯化胆碱-丙三醇构成的 DES 体系提取新疆红枣中的 cAMP。

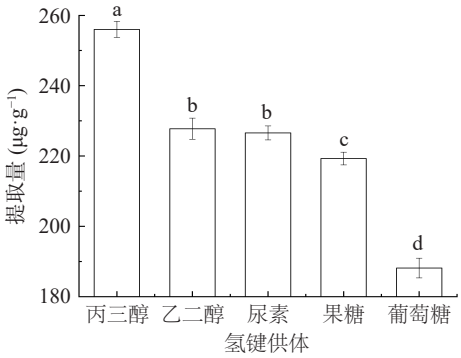


图 3　不同低共熔溶剂对 cAMP 提取量的影响

Fig.3　Effect of different DES on cAMP extraction amount

注：不同字母表示差异显著（P<0.05）；图 4~图 8、图 10 同。

2.3　单因素实验结果

2.3.1　DES 摩尔比对 cAMP 提取量的影响　以氯化胆碱与丙三醇构建 DES 体系，考察二者摩尔比对 cAMP 提取量的影响见图 4。

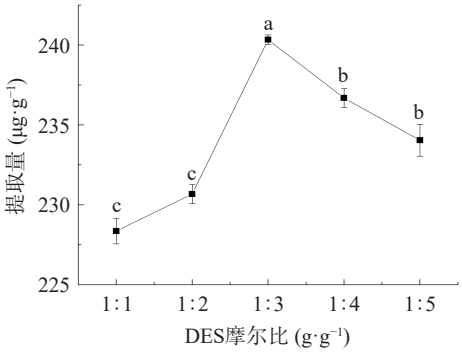


图 4　摩尔比对 cAMP 提取量的影响

Fig.4　Effect of molar ratio on cAMP extraction amount

由图 4 可知，DES 体系中氢键受体-氯化胆碱与氢键供体-丙三醇的摩尔比从 1∶1 至 1∶3 时，cAMP 提取量呈上升趋势；摩尔比为 1∶3 时达到 cAMP 的最大提取量，为（240.33±0.13）μg/g；二者摩尔比从 1∶3 至 1∶5 时，cAMP 提取量呈下降趋势。这可能是因为 cAMP 为极性大分子，而氯化胆碱与丙三醇 DES 体系的极性也较大，根据相似相溶原理，cAMP 会在氯化胆碱与丙三醇 DES 体系中溶解进而释出[19−20]，也可能是因为不同的摩尔比使 DES 体系的黏度和表面张力不同，过高或者过低的摩尔比会弱化溶剂与 cAMP 的相互作用，而 1∶3 的摩尔比可能恰好达到使 cAMP 容易扩散的 DES 体系[21]。所以，氯化胆碱与丙三醇的摩尔比以 1∶3 为宜。由于不同 DES 摩尔比提取出的 cAMP 含量相差较小，最大值与最小值相差 12 μg/g，所以不选择 DES 摩尔比作为响应面优化条件[22]。

2.3.2　DES 含水量对 cAMP 提取量的影响　以氯化胆碱与丙三醇构建 DES 体系，考察 DES 含水量对 cAMP 提取量的影响见图 5。

由图 5 可知，DES 含水量从 30%~40% 时，cAMP 提取量逐渐增加；当 DES 含水量达到 40% 时，cAMP 提取量最大值为（257.89±0.09）μg/g；DES 含水量从 40%~80% 时，cAMP 提取量反而逐渐下降。这主要是因为低含水量的 DES 体系黏度太大，渗透性弱[23]。随着含水量的增加，DES 体系黏度降低增加了溶剂的传质效率。然而过高的含水量会增加混合物的极

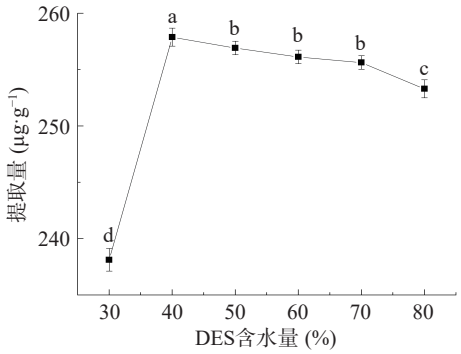


图 5 DES 含水量对 cAMP 提取量的影响

Fig.5 Effect of DES water content on cAMP extraction amount

性, 极性过大会引起分子间氢键的断裂[24]。

2.3.3 料液比对 cAMP 提取量的影响 以氯化胆碱与丙三醇构建 DES 体系, 考察料液比对 cAMP 提取量的影响见图 6。

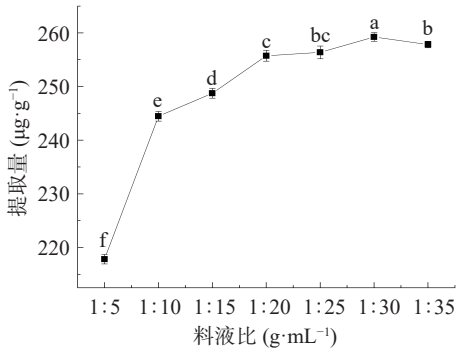


图 6 料液比对 cAMP 提取量的影响

Fig.6 Effect of solid-liquid ratio on cAMP extraction amount

由图 6 可知, 随着料液比的减小, cAMP 提取量逐渐增加, 当料液比 1∶30 g/mL 时, cAMP 提取量达到最大值(259.25±0.10) μg/g, 随后 cAMP 提取量开始下降。这可能是因为溶剂量逐渐增加时, 红枣粉与溶剂的接触面积会大大增加, 有利于 cAMP 的析出; 而 cAMP 提取量的下降可能是由于 cAMP 在溶剂中溶解达到饱和[25], 或者过多的溶剂起到了稀释作用。所以, 料液比选择 1∶30 g/mL。

2.3.4 超声时间对 cAMP 提取量的影响 以氯化胆碱与丙三醇构建 DES 体系, 考察超声时间对 cAMP 提取量的影响见图 7。

由图 7 可知, 超声时间从 15~45 min 时, cAMP 提取量不断增加, 当达到 45 min 时, 提取量达到最大值(263.94±0.04) μg/g, 之后随时间的延长, cAMP 提取量逐渐减少。这种现象可能是因为随着超声时间的延长, 超声波产生的能量在溶液中形成的空化效应和机械效应越来越强[26], 加强了对红枣细胞壁的破坏, 使 cAMP 充分扩散, 所以 cAMP 提取量越来越高。但是随着超声时间的延长, 体系处于超声辐射和热效应的作用下, 可能会溶出其他物质干扰 cAMP 的释出[27], 导致了 cAMP 提取量的下降。所以, 超声时间以 45 min 为宜。

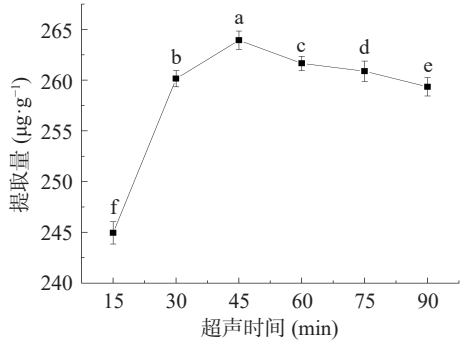


图 7 超声时间对 cAMP 提取量的影响

Fig.7 Effect of ultrasonic time on cAMP extraction amount

2.3.5 超声温度对 cAMP 提取量的影响 以氯化胆碱与丙三醇构建 DES 体系, 考察超声温度对 cAMP 提取量的影响见图 8。

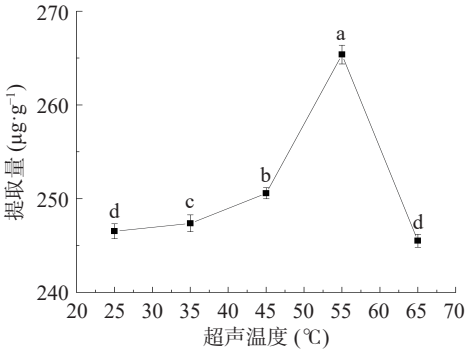


图 8 超声温度对 cAMP 提取量的影响

Fig.8 Effect of ultrasonic temperature on cAMP extraction amount

由图 8 可知, 随着超声温度的不断升高, cAMP 的提取量也在不断增加, 当超声温度为 55 ℃ 时, 达到 cAMP 最大提取量(265.38±0.05) μg/g, 之后随着温度继续升高, cAMP 提取量呈下降趋势。这可能是由于适当升高温度导致 DES 表面张力降低, 黏度下降, 有利于红枣粉与 DES 的接触, 增强了 cAMP 在溶剂中的溶解; 然而温度过高可能会导致热敏感物质降解和溶剂的挥发[28]。所以, 55℃ 为 cAMP 提取的适宜温度。

2.4 响应面试验

2.4.1 响应面试验结果及方差分析 响应面试验结果见表 2。回归模型方差分析见表 3。

对模型数据进行回归拟合, 得到自变量含水量(A)、料液比(B)、超声时间(C)、超声温度(D)与 cAMP 提取量(Y)的二次多元回归方程: $Y=276.03+1.03A+5.93B+1.00C-4.05D+4.56AB+2.23AC-8.06AD-3.02BC-11.90BD-1.78CD-18.88A^2-8.76B^2-15.73C^2-6.49D^2$

从表 3 可以看出, 回归模型 $P<0.0001$, 说明模型拟合程度良好; 失拟项不显著, 说明未知因素对试验结果干扰小[29]。方程复相关系数的平方 $R^2=0.9901$, 说明该方程拟合度较高, 可用该模型对 cAMP 得率

表 2　响应面试验结果

Table 2　Response surface test results

实验号	A	B	C	D	Y cAMP提取量(μg/g)
1	0	−1	0	1	261.34
2	0	1	1	0	253.60
3	0	−1	1	0	250.36
4	1	0	1	0	244.37
5	1	0	0	1	239.32
6	0	0	0	0	274.22
7	0	0	0	0	275.92
8	−1	0	1	0	241.50
9	0	1	0	−1	284.82
10	0	0	0	0	276.81
11	1	−1	0	0	240.12
12	0	1	0	1	251.59
13	0	1	−1	0	257.62
14	1	1	0	0	261.46
15	1	0	0	−1	264.18
16	0	0	0	0	277.78
17	0	0	1	−1	259.69
18	0	0	1	1	250.02
19	−1	−1	0	0	244.76
20	0	0	−1	1	251.82
21	−1	0	0	−1	244.76
22	0	−1	−1	0	242.32
23	−1	0	−1	0	243.70
24	1	0	−1	0	237.67
25	−1	0	0	1	252.13
26	0	0	−1	−1	254.37
27	0	0	0	0	275.44
28	−1	1	0	0	247.88
29	0	−1	0	−1	246.96

进行分析和预测。模型 R^2=0.9803，说明试验稳定性较高[30]。一次项 B、D 对响应值影响极显著(P<0.01)；交互项 AB、AD、BC、BD 对响应值影响极显著(P<0.01)，AC 对响应值影响显著(P<0.05)；二次项 A^2、B^2、C^2、D^2 对响应值影响极显著(P<0.01)。根据 F 值可知各因素对 cAMP 提取量影响程度的大小顺序为：料液比>超声温度>含水量>超声时间。

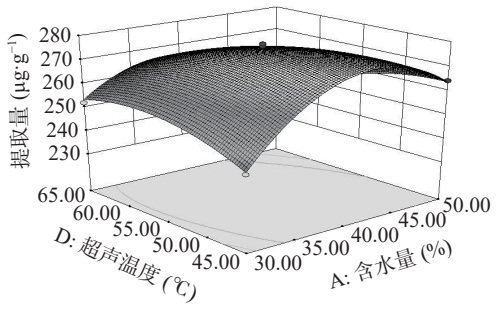
表 3　回归模型方差分析

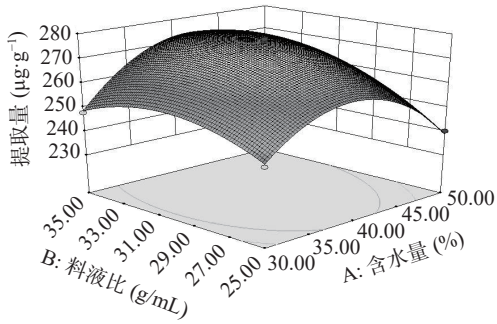
Table 3　Regression model variance analysis

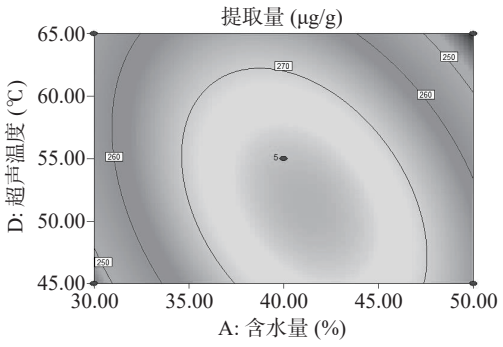
方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	5003.75	14	357.41	100.39	<0.0001	**
A	12.80	1	12.80	3.60	0.0788	
B	421.38	1	421.38	118.35	<0.0001	**
C	12.10	1	12.10	3.40	0.0865	
D	196.49	1	196.49	55.19	<0.0001	**
AB	82.99	1	82.99	23.31	0.0003	**
AC	19.83	1	19.83	5.57	0.0333	*
AD	259.81	1	259.81	72.97	<0.0001	**
BC	36.39	1	36.39	10.22	0.0065	**
BD	566.65	1	566.65	159.15	<0.0001	**
CD	12.67	1	12.67	3.56	0.0802	
A^2	2312.91	1	2312.91	649.62	<0.0001	**
B^2	497.80	1	497.80	139.82	<0.0001	**
C^2	1605.35	1	1605.35	450.89	<0.0001	**
D^2	273.24	1	273.24	76.74	<0.0001	**
残差	49.85	14	3.56			
失拟项	42.53	10	4.25	2.33	0.2160	
纯误差	7.32	4	1.83			
总误差	5053.59	28				
			决定系数R^2=0.9901			

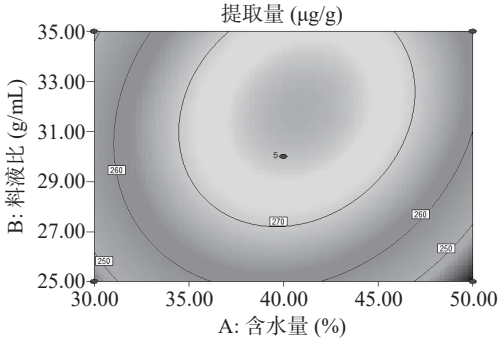
注：**差异极显著(P<0.01)；*差异显著(P<0.05)。

2.4.2　响应面分析　3D 响应面图的曲线越陡峭，说明该因素对 cAMP 提取量的影响越大。椭圆形的等高线说明两因素的交互作用较强，等高线越密集，表明因素对响应值的影响越显著[31]。由图 9 可以看出 AB、AD、BC、BD 的交互作用曲面坡度较大，等高线密集，说明其对 cAMP 提取量影响显著(P<0.01)。由等高线图的密集程度可知，料液比对提取量的影响比超声温度、超声时间、含水量影响显著；超声温度对提取量的影响比含水量影响显著。









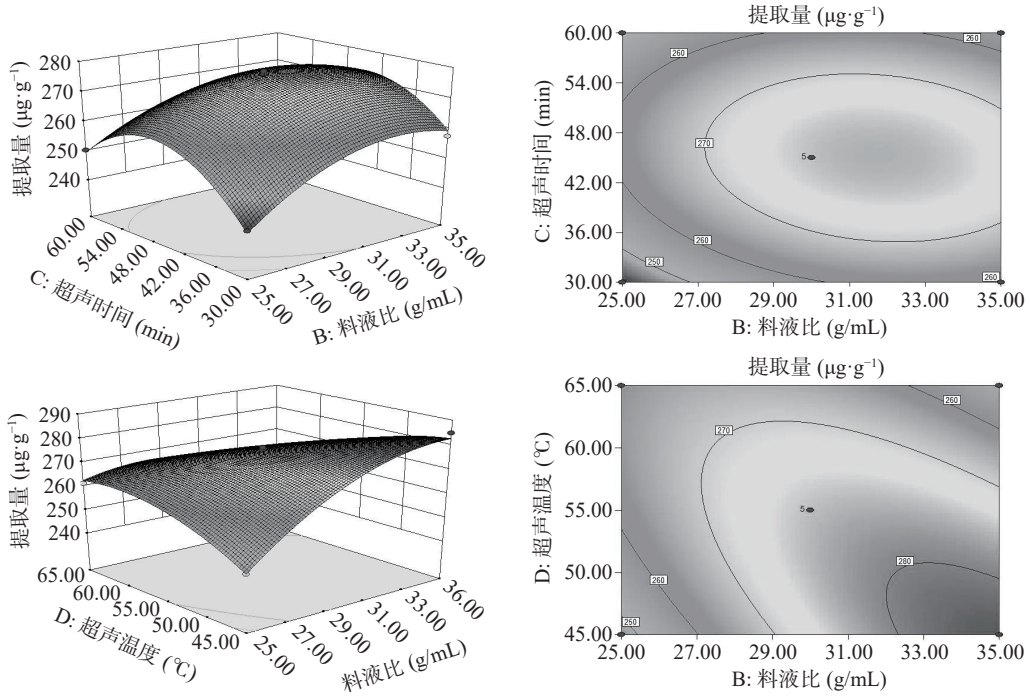


图 9　各因素交互作用的响应面图

Fig.9　Response surface diagram of interaction of various factors

2.4.3　验证试验　响应面优化后的提取条件为: 含水量 44.21%, 料液比 1∶35 g/mL, 超声时间 44.83 min, 超声温度 45.34 ℃, 预测 cAMP 提取量为 293.35 μg/g。结合实际操作可行性, 以含水量 44%, 料液比 1∶35 g/mL, 超声时间 45 min, 超声温度 45 ℃ 的提取条件提取新疆红枣中的 cAMP, 得到实际 cAMP 提取量为(284.15±0.06) μg/g。实际提取量达到预测值的 96.9%, 验证了响应面法优化新疆红枣中 cAMP 的提取工艺可行, 得到的回归模型可靠。

2.5　对照试验

将 DES 提取法与传统水提法、醇提法进行比较, 如图 10 所示。DES 提取 cAMP 得到的提取量最高(284.15±0.06) μg/g, 优于水提法(266.25±0.12) μg/g 与醇提法(270.14±0.10) μg/g。李辉等[32] 对北方红枣中 cAMP 提取一次得到的 cAMP 含量约为 240 μg/g, 袁辉等[33] 从 50 批次不同产品和品种的新疆红枣中测定 cAMP 的平均含量为 190.68 μg/g, 本次试验提取的 cAMP 含量高于已有的研究结果。这可能是因为氯化胆碱-丙三醇这种 DES 可以活化改性红枣中的木质素和分离木质纤维材料的组分[34], 使 cAMP 更容易溶出。

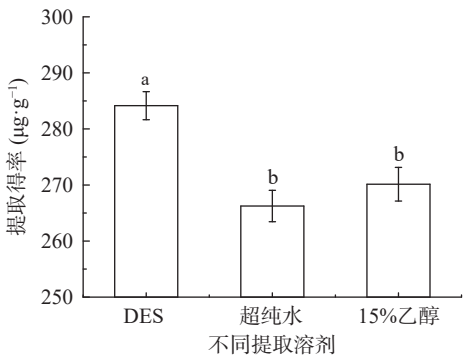


图 10　不同提取溶剂下的 cAMP 提取量

Fig.10　cAMP extraction amount under different extraction solvents

3　结论

试验以新疆红枣为原料, 以氯化胆碱-丙三醇为提取溶剂, 利用超声波辅助技术进行 cAMP 的提取, 确定了 cAMP 的最佳提取条件: DES 体系含水量 44%, 料液比 1∶35 g/mL, 超声时间 45 min, 超声温度 45 ℃, 此时的 cAMP 提取量为(284.15±0.06) μg/g, 比同等条件下的水提法和醇提法得到的 cAMP 提取量分别高出 6.7% 和 5.2%。综合考虑天然 cAMP 的含量和实际应用价值, 说明了超声波辅助 DES 提取 cAMP 的可行性和高效性。本文研究打破传统的 cAMP 提取方法, 选用超声波辅助新型、绿色的 DES 提取方法, 开拓了 DES 的使用领域, 也增加了新疆红枣的附加值, 拉动新疆枣业经济发展, 为今后的 cAMP 提取研究提供了参考意义。

参考文献

[1] WOJDYLO A, FIGIEL A, LEGUA P, et al. Chemical composition, antioxidant capacity, and sensory quality of dried *Jujube* fruits as affected by cultivar and drying method[J]. Food Chemistry, 2016, 207: 170−179.

[2] 刘丹. 南疆不同品种红枣环磷酸腺苷的差异性及浓缩产品的制备 [D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2016. [LIU D. The diversity of cAMP in Southern Xinjiang *Jujube* cultivars and preparation of concentrated product[D]. Alaer: Tarim University, 2016.]

[3] BERGANTIN L B. Diabetes and inflammatory diseases: An overview from the perspective of Ca2+/3'-5'-cyclic adenosine mono-

phosphate signaling[J]. World Journal of Diabetes, 2021, 12(6): 767.

[4] DONG J, FU X M, WANG P F, et al. Construction of industrial baker's yeast with high level of cAMP[J]. Journal of Food Biochemistry, 2019, 43(7): 1−7.

[5] 张义军. 红枣中环磷酸腺苷的提取及成型工艺研究 [D]. 石河子: 石河子大学, 2018. [ZHANG Y J. Study on the extraction process and forming process for cAMP from *Ziziphus jujube* mill[D]. Shihezi: Shihezi University, 2018.]

[6] ABBOTT A P, CAPPER G, DAVIES D L, et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures[J]. Chemical Communications, 2003(1): 70−71.

[7] CUNHA S C, FERNANDES J O. Extraction techniques with deep eutectic solvents[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2018, 105: 225−239.

[8] 唐兰芳, 王锋, 苏小军, 等. 低共熔溶剂提取对黄精多糖性质及抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(11): 151−157. [TANG L F, WANG F, SU X J, et al. Effects of deep eutectic solvents on the properties and antioxidant activity of polysaccharides from *Polygonatum cyrtonema* Hua[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(11): 151−157.]

[9] 刘金铭, 王辉, 张欢, 等. 超声辅助低共熔溶剂萃取法在活性成分提取与食品分析预处理中应用的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 399−407. [LIU J M, WANG H, ZHANG H, et al. Research progress on extraction of active ingredients and pretreatment of food analysis by ultrasound-assisted deep eutectic solvent method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(7): 399−407.]

[10] CHEN X Q, LI Z H, LIU L L, et al. Green extraction using deep eutectic solvents and antioxidant activities of flavonoids from two fruits of *Rubia* species[J]. LWT, 2021, 148: 111−708.

[11] GAO M Z, CUI Q, WANG L T, et al. A green and integrated strategy for enhanced phenolic compounds extraction from mulberry (*Morus alba* L.) leaves by deep eutectic solvent[J]. Microchemical Journal, 2020, 154: 104598.

[12] CHEN L, YANG Y Y, ZHOU R R, et al. The extraction of phenolic acids and polysaccharides from *Lilium lancifolium* Thunb. using a deep eutectic solvent[J]. Analytical Methods, 2021, 13(10): 1226−1231.

[13] XU M, RAN L, CHEN N, et al. Polarity-dependent extraction of flavonoids from citrus peel waste using a tailor-made deep eutectic solvent[J]. Food Chemistry, 2019, 297: 124−136.

[14] 孙悦, 刘晓冰, 苏卓文, 等. 微波辅助低共熔溶剂提取鹰嘴豆中黄酮及其抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 120−128. [SUN Y, LIU X B, SU Z W, et al. Extraction of flavonoids from Chickpea by microwave assisted eutectic solvent and its antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(14): 120−128.]

[15] TSJOKAJEV A, ROBERG-LARSEN H, WILSON S R, et al. Mass spectrometry-based measurements of cyclic adenosine monophosphate in cells, simplified using reversed phase liquid chromatography with a polar characterized stationary phase[J]. Journal of Chromatography B, 2020, 1160: 122−128.

[16] 岳盈肖, 王永霞, 赵彤, 等. 超声波辅助水浴法提取大枣中环磷酸腺苷工艺优化[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(9): 87−93. [YUE Y X, WANG Y X, ZHAO T, et al. Optimization of extraction process of adenosine cyclic phosphate from Chinese *Jujube* by ultrasound-assisted water bath[J]. China Food Additives, 2019, 30(9): 87−93.]

[17] TANG B, ZHANG H, ROW K H. Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples[J]. Journal of Separation Science, 2015, 38(6): 1053−1064.

[18] MANSUR A R, SONG N, JANG H W, et al. Optimizing the ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of flavonoids in common buckwheat sprouts[J]. Food Chemistry, 2019, 293: 438−445.

[19] 孙平, 董萍萍, 董丹华, 等. 超声波辅助低共熔溶剂提取野菊花总黄酮的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(20): 147−152. [SUN P, DONG P P, DONG D H, et al. Ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of total flavonoids from *Chrysanthemum indicum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(20): 147−152.]

[20] 张莹莹, 毛向红, 张建英. 不同方法对酸枣果实环磷酸腺苷提取效果的比较[J]. 食品科技, 2018, 43(3): 192−195. [ZHANG Y Y, MAO X H, ZHANG J Y. Effects of different extraction methods on cAMP from wild *Jujube*[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(3): 192−195.]

[21] CUI Q, PENG X, YAO X H, et al. Deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction of genistin, genistein and apigenin from *pigeon pea* roots[J]. Separation and Purification Technology, 2015, 150: 63−72.

[22] 张锦钰. 低共熔溶剂提取淮山多糖及其结构、生物活性研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2020. [ZHANG J Y. Study on structure and bioactivity of polysaccharides extracted from *Chinese Yam* using deep eutectic solvents[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2020.]

[23] 黄秀红, 刘丽辰, 阮怿航, 等. 响应面优化低共熔溶剂提取乌龙茶多糖的研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(11): 96−103. [HUANG X H, LIU L C, RUAN Y H, et al. Optimization of deep eutectic solvents extraction of polysaccharides from oolong tea by response surface methodology[J]. Food Research and Development, 2020, 41(11): 96−103.]

[24] DAI Y, WITKAMP G J, VERPOORTE R, et al. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications[J]. Food Chemistry, 2015, 187: 14−19.

[25] CONTAMINE R F, WILHELM A M, BERLAN J, et al. Power measurement in sonochemistry[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 1995, 2(1): 43−47.

[26] MENG Z R, ZHAO J, DUAN H X, et al. Green and efficient extraction of four bioactive flavonoids from *Pollen typhae* by ultrasound-assisted deep eutectic solvents extraction[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 161: 246−253.

[27] HSIEH Y H, LI Y B, PAN Z C, et al. Ultrasonication-assisted synthesis of alcohol-based deep eutectic solvents for extraction of active compounds from ginger[J]. Ultrasonics Sonochem-

istry, 2020, 63: 104−115.
[28] BUBALO M C, ĆURKO N, TOMAŠEVIĆ M, et al. Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents [J]. Food Chemistry, 2016, 200: 159−166.
[29] THU H N, VAN P N, MINH K N, et al. Optimization of extraction conditions of flavonoids from celery seed using response surface methodology[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2020, 52(22): 4215−4218.
[30] 孙悦, 何莲芝, 苏卓文, 等. 超声辅助低共熔溶剂提取甘草多糖的研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(2): 84−91. [SUN Y, HE L Z, SU Z W, et al. Ultrasonic-assisted eutectic solvent extraction of glycyrrhiza polysaccharide[J]. Food Research and Development, 2021, 42(2): 84−91.]
[31] 董嘉琪, 张晓松, 彭晓婷, 等. 响应面法优化红芪多糖的提取工艺 [J]. 动物医学进展, 2021, 42(4): 64−71. [DONG J Q, ZHANG X S, PENG X T, et al. Optimization of extraction process of *Radix hedysari* polysaccharide by response surface methodology [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2021, 42(4): 64−71.]
[32] 李辉, 赵亮, 李建贵, 等. 高效液相色谱法测定我国北方红枣中环磷酸腺苷的含量[J]. 分析测试技术与仪器, 2020, 26(1): 42−48. [LI H, ZHAO L, LI J G, et al. Determination of cAMP in *Jujube* from north of China by high performance liquid chromatography[J]. Analysis and Testing Technology and Instruments, 2020, 26(1): 42−48.]
[33] 袁辉, 张煌涛, 王建玲. HPLC 法测定新疆地区红枣中黄酮类物质的含量[J]. 食品工业, 2020, 41(8): 284−287. [YUAN H, ZHANG H T, WANG J L. Determination of flavonoids in *Jujube* from Xinjiang by HPLC[J]. Food Industry, 2020, 41(8): 284−287.]
[34] 李利芬, 胡英成, 吴志刚, 等. 杨木木粉在酸性氯化胆碱/丙三醇中的快速液化研究[J]. 西北林学院学报, 2019, 34(6): 172−177. [LI L F, HU Y C, WU Z G, et al. Rapid liquefaction of poplar wood in choline chloride/glycerol solvent[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2019, 34(6): 172−177.]