

莲藕皮多酚的提取及抗氧化性能研究



LIU Huan-yun

刘焕云, 刘月英, 陈延峰, 孙立桐

(河北经贸大学生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050061)

摘 要: 运用正交试验对莲藕皮中多酚类物质提取工艺条件进行了优化, 并通过提取物对油脂过氧化的抑制作用检测其抗氧化性能。结果表明较佳工艺是: 按 1:10 (g:mL) 料液比加入 60% 乙醇溶液, 于 80 °C 水浴中浸提 2.5 h, 重复提取 2 次。在此条件下多酚粗提物得率为 2.374%, 多酚纯度为 52.99%。莲藕皮粗提物对油脂过氧化具有明显抑制作用, 延长了油脂贮藏期。

关键词: 莲藕皮; 多酚; 提取; 抗氧化

中图分类号: TQ351.0; TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2011)02-0087-04

Extraction of Polyphenol from *Lotus rhizome* Peel and Its Antioxidant Activities

LIU Huan-yun, LIU Yue-ying, CHEN Yan-feng, SUN Li-tong

(College of Biology Science and Engineering, Hebei University of Economics and Business, Shijiazhuang 050061, China)

Abstract: The extraction condition of polyphenol from *Lotus rhizome* peel was optimized by orthogonal experiment, and the antioxidant activity was investigated by measuring its inhibitory effect on peroxide value (POV) of oil. The results show that the optimum conditions are as follows: *L. rhizome* (1 g) extracted with 10 mL of 60% ethanol at 80 °C water bath extract 2.5 h, repeated extraction twice. Under this optimum extraction condition, the yield and purity of polyphenols are 2.374% and 52.99% respectively. The *L. rhizome* peel extracts possess significant inhibitory effect on POV of oil. Thus, the oil storage period was extended.

Key words: *Lotus rhizome* peel; polyphenol; extraction; antioxidation

植物多酚是一类广泛存在于植物体内的次生代谢物质, 具有多元酚结构。主要存在于植物皮、根、叶、果中, 在植物中的含量仅次于纤维素、半纤维素和木质素^[1]。研究表明, 植物多酚类物质具有清除体内自由基^[2]、抗脂质氧化^[3]、延缓衰老^[4]、预防心血管疾病^[5]、防癌^[6]、抗辐射^[7]等多种生物活性功能, 已在食品、药品、化妆品工业中得到广泛的应用。莲藕为我国南方一种重要水生蔬菜, 其藕皮及藕节中含有大量的酚类物质, 在食用及加工中经常被大量废弃, 造成环境污染和资源浪费, 利用藕皮和藕节提取多酚类物质, 可以变废为宝, 具有良好的生态效益和经济效益。本研究以莲藕皮为原料, 采用单因素试验及正交试验, 对提取莲藕皮多酚的最佳提取工艺条件加以研究, 并检测其抗氧化活性, 希望能为莲藕的综合利用和抗氧化剂的生产提供技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

原料: 市售新鲜、无腐烂莲藕的皮, 洗净、自然晾干后粉碎至粒径 0.028~0.045 mm, 避光保存; 猪油, 市售正常猪板油煎制。

SP-2120UV 型紫外可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司; RE52-AAB 型旋转蒸发器, 温州奥利生物医学仪器厂; 电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; 烘箱, 上海一恒科技有限公司; 电热恒温水浴锅, 江苏金坛市医疗仪器厂; 粉碎机, 温岭市大德中药机械有限公司。

1.2 试剂

没食子酸标准品(中检所)、无水乙醇、丙酮、乙酸乙酯、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、硫酸亚铁、酒石酸

收稿日期: 2010-09-06

基金项目: 河北省教育厅科学研究计划项目(Z2009422)

作者简介: 刘焕云(1968-), 女, 河北衡水人, 教授, 硕士, 主要从事天然产物的提取及分析检测工作; E-mail: huanyunliu@163.com。

钾钠、硫代硫酸钠、三氯甲烷、冰乙酸、可溶性淀粉等试剂均为分析纯,配制用水为二次蒸馏水。

1.3 莲藕皮多酚提取条件的研究

1.3.1 浸提溶剂的选择 称取莲藕皮粉末 0.5 g(准确至 0.000 1 g),分别加入 5 mL 蒸馏水、95 % 乙醇、50 % 乙醇、丙酮、乙酸乙酯中,在 70 °C 水浴浸提 2 h,趁热过滤,将滤液定容至 25.00 mL,摇匀。吸取 1.00 mL,显色测定吸光度,平行测定 3 次,计算多酚浸出率。

1.3.2 浸提方法及处理条件的研究 称取莲藕皮粉末 0.5 g(准确至 0.000 1 g),分别加入 50 % 乙醇 5.00 mL,在常温下提取 24 h 和 70 °C 水浴下提取 2 h,其他条件同上,计算多酚浸出率,以确定浸提方法。

分别对加热提取的浸提剂体积分数、料液比、提取时间、温度、提取次数等进行单因素试验,然后设计正交试验 $L_9(3^4)$ 进行优化,确定较佳提取的工艺条件,每一条件平行测定 3 次。按较佳提取工艺条件大量提取莲藕皮多酚,并将滤液 60 °C 减压浓缩,60 °C 恒温水浴中挥干溶剂,即得莲藕皮多酚粗提物。

1.4 莲藕皮多酚的测定方法

采用酒石酸亚铁法^[8]。具体如下:吸取 1.00 mL 试液至 25.00 mL 比色管中,加蒸馏水 4.00 mL 和酒石酸亚铁溶液 5.00 mL,充分混合,再加 pH 值 7.5 的磷酸盐缓冲液定容至刻度。用 1 cm 比色皿,在波长 540 nm 处,以试剂空白溶液作参比,测定吸光度值。由没食子酸标准曲线计算莲藕多酚物质的含量,然后推算出多酚质量,计算原料中多酚类物质浸出率(以没食子酸计),计算公式如下:

$$w = cV/m \times 100 \%$$

式中: w —多酚类物质浸出率,% ; c —莲藕皮多酚的质量浓度,g/mL; V —提取液的体积,mL; m —莲藕皮粉的质量,g。

1.5 莲藕皮多酚抗氧化活性的测定

称取猪油 50.00 g 于棕色碘量瓶中,2 份,1 份作空白,另 1 份加入油质量 0.02 % 的莲藕皮多酚粗提物,搅拌均匀后置于 (60 ± 1) °C 的干燥箱保存。每 12 h 搅拌 1 次,于 1、4、7、10 d 按 GB/T 5009.37 - 2003 测定其过氧化值(POV),每个样品平行测定 3 次,按下式计算抑制率^[9]:

$$\text{抑制率} = (\text{空白 POV} - \text{加粗提物 POV}) / \text{空白 POV} \times 100 \%$$

1.6 莲藕皮提取物的定性解析

将提取液适当稀释后,以 50 % 乙醇溶液为参比,1 cm 比色皿,用 SP-2120UV 型紫外可见分光光度计在 200~780 nm 范围内进行吸光度扫描测试,并与没食子酸标准品的扫描谱图进行对照分析。

2 结果与分析

2.1 莲藕皮提取液的定性解析

按莲藕皮提取物的定性解析方法分别对没食子酸标准品和莲藕皮提取液进行紫外扫描得到特征谱图(图 1),由图 1(a)可见没食子酸标准品在 200~780 nm 范围内存在 1 个主要的特征吸收峰,在 250 nm 左右;而莲藕皮提取液扫描的特征谱图产生 2 个吸收带,见图 1(b),其中吸收带 II (240~252 nm) 与没食子酸标准品吸收带位置基本一致,吸收带 I 位于 320~350 nm 之间,且较强。根据光谱学的一般规律^[10],可初步判定藕皮提取物中主要含有酚酸类及黄酮(醇)类抗氧化物质。

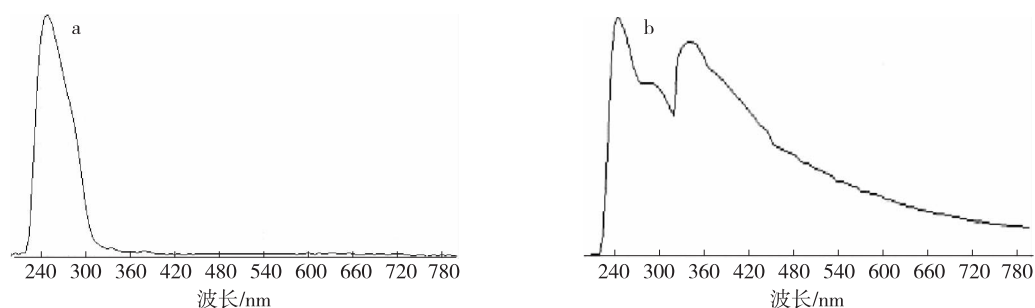


图 1 没食子酸标准品(a)及莲藕皮提取液(b)紫外可见光谱图

Fig. 1 UV-Vis spectra of standard gallic acid(a) and extracts from *Lotus rhizome peel*(b)

2.2 莲藕皮多酚提取条件的确定

2.2.1 浸提溶剂的确定 按 1.3.1 节方法,用不同的溶剂从莲藕皮中提取多酚类物质。结果表明溶剂不同,其浸出率有较大差异,其中以 50% 乙醇的浸出率最高;其次为丙酮;蒸馏水、乙酸乙酯、95% 乙醇的浸出率较低。这是由于莲藕皮中所含多酚类物质主要为酚酸类、黄酮(醇)类分子等极性物质,所以极性较强的乙醇、丙酮提取物的浸提效果较好,纯的有机溶剂不足以破坏样品中多酚类物质与蛋白质、多糖等物质的连接,多酚的浸出率较低。故本试验选用乙醇溶液为浸提剂。

2.2.2 浸提方法的确定 按照 1.3.2 节方法,在相同料液比条件下加入 50% 乙醇进行浸提,比较水浴加热浸提法与常温浸提法对莲藕皮多酚浸出率的影响。结果表明:用水浴加热法提取莲藕皮多酚不仅可缩短提取时间,而且莲藕皮多酚浸出率较常温浸提法提高了 0.4%;这是由于水浴加热会造成分子间的碰撞与摩擦,而产生热能温度上升,增大扩散系数,同时碰撞和摩擦还会促使原料细胞破裂,使多酚渗出并溶解在溶剂中。故本试验采用水浴加热浸提的方法。

2.2.3 莲藕多酚提取的单因素试验 在确定了乙醇溶液为浸提剂后,按水浴加热浸提方法,以多酚浸出率为评价指标,对乙醇体积分数、料液比、浸提时间、浸提温度、浸提次数进行单因素试验,结果见表 1 所示。试验结果表明乙醇体积分数为 50% 时,多酚类物质处于游离状态,组织通透性好,多酚浸出率最高;料液比 1:10(g:mL,下同)时达到饱和,继续增大料液比,多酚浸出率无明显提高。提高提取温度和时间有利于多酚物质的溶出,70℃ 水浴下提取 2 h 后,多酚浸出率趋于平稳。按料液比 1:10 加入 50% 乙醇、70℃ 水浴下提取 2 h,滤渣重复提取,结果表明:莲藕多酚的浸出率随着提取次数的增加而增加,经 2 次提取其浸出率趋于定值。

2.2.4 正交试验 根据单因素试验结果,选择 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,以多酚浸出率为评价指标对莲藕皮多酚提取工艺条件进行优化。试验结果与分析见表 2 和表 3。

表 1 不同提取条件对多酚浸出率的影响

Table 1 Effects of extraction conditions on the yield of polyphenols

条件 conditions	多酚浸出率/% polyphenols yield	
乙醇体积分数/% EtOH volume fraction	30	0.78
	40	0.91
	50	1.19
	60	0.89
	70	0.71
提取时间/h extraction time	1.0	0.78
	1.5	0.84
	2.0	1.14
	2.5	1.19
	3.0	1.22
提取温度/℃ extraction temperature	50	0.89
	60	0.99
	70	1.21
	80	1.24
	90	1.26
料液比(g:mL) material: liquid	1:8	0.91
	1:9	1.19
	1:10	1.22
	1:11	1.24
	1:12	1.25

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal experiment and results

序号 No.	A	B	C	D	多酚浸出率/% polyphenols yield		平均值 average
	乙醇体积分数/% EtOH volume fraction	料液比(g:mL) material: liquid	提取时间/h extraction time	提取温度/℃ extraction temperture	w_1	w_2	
1	40	1:9	1.5	60	0.965	0.973	0.969
2	40	1:10	2.0	70	1.056	1.062	1.059
3	40	1:11	2.5	80	1.192	1.187	1.190
4	50	1:9	2.0	80	1.238	1.246	1.242
5	50	1:10	2.5	60	1.145	1.143	1.144
6	50	1:11	1.5	70	1.079	1.086	1.083
7	60	1:9	2.5	70	1.123	1.164	1.144
8	60	1:10	1.5	80	1.216	1.208	1.212
9	60	1:11	2.0	60	1.121	1.140	1.130
k_1	1.073	1.118	1.088	1.081			
k_2	1.156	1.138	1.144	1.095			
k_3	1.162	1.134	1.159	1.215			
R	0.089	0.020	0.071	0.134			

表3 正交试验的方差分析

Table 3 Variance analysis of orthogonal experiment

方差来源 variance sources	SS	df	MS	F 值 F value	显著性 significance
A	0.030	2	0.0150	115.332	**
B	0.001	2	0.0006	5.213	*
C	0.017	2	0.0085	64.631	**
D	0.064	2	0.0320	247.227	**
误差 error	0.001	9	0.00013		

方差分析表明,A、C、D 3 种因素对莲藕皮多酚浸出率有非常显著影响,B 因素对莲藕皮多酚浸出率有显著影响。4 种因素影响大小次序为:D > A > C > B。水浴加热提取莲藕皮多酚的较佳工艺条件组合为 A₃B₂C₃D₃,即按料液比 1:10 加入 60% 乙醇溶液,然后于 80 °C 水浴中提取 2.5 h。按较佳工艺条件进行 2 次大量验证实验,提取液中多酚浸出率平均为 1.258%。将提取液在真空旋转蒸发器中浓缩,干燥后粗提物得率为 2.374%,多酚纯度为 52.99%。

2.3 粗提物对油脂抗氧化效果的分析

将粗提取物以油质量的 0.02% 添加到 50 g 猪油中,按 1.5 节方法进行试验,结果见表 4。由表 4 可知新鲜猪油存放的时间越长,莲藕的抗氧化作用越明显,说明提取物对延长猪油的氧化时间有明显的延迟作用。添加莲藕提取物猪油 10 天后的 POV 值远小于出厂标准(即 POV ≤ 20 mmol/kg)。

表4 莲藕多酚粗提物对猪油的抗氧化效果

Table 4 Antioxidant effect of extracts from *Lotus rhizome* on lard

	POV/(mmol·kg ⁻¹)					抑制率 inhibition rate/%				
	0 d	1 d	4 d	7 d	10 d	0 d	1 d	4 d	7 d	10 d
空白 blank	6.42	7.80	14.11	26.90	43.87					
粗提物 extracts	6.42	7.04	9.52	11.96	14.84	0	9.74	32.53	55.54	66.17

3 结论

由试验结果得有机溶剂与水的复合体系较适合莲藕多酚的提取,较佳工艺条件为:按料液比 1:10 (g:mL) 加入 60% 乙醇溶液、80 °C 水浴提取 2.5 h,过滤,滤渣 2 次提取,提取液经真空浓缩干燥后粗提物得率为 2.374%,多酚纯度为 52.99%。莲藕粗提物对猪油的抗氧化性效果是明显的,10 天内抑制率最高可达 66.17%,延长了油脂贮藏期。紫外吸收光谱探知莲藕皮提取物主要含有酚酸类及黄酮(醇)类抗氧化物质。

参考文献:

- [1] 王旗,刘恩岐. 植物多酚的研究现状[J]. 山西农业科学,2009,37(1):92-94.
- [2] 王传现,钟进义. 葡多酚对活性氧自由基的清除作用研究[J]. 营养学报,2001,23(2):170-173.
- [3] 吕禹泽,宋钰,吴国宏,等. 莲藕多酚的抗氧化活性[J]. 食品科学,2006,27(12):213-216.
- [4] 谢文利,晋玉章,王宗明,等. 聚果多酚抗衰老作用的实验研究[J]. 食品科学,2009,30(9):207-209.
- [5] 刘波静. 茶多酚对动物血清血脂和载脂蛋白水平的影响和抗氧化作用[J]. 茶叶科学,2000,20(1):67-70.
- [6] 黎丹戎,唐东平,张丽生,等. 茶多酚对肝癌细胞生长及端粒酶活性抑制的研究[J]. 肿瘤防治研究,2001,12(5):338-341.
- [7] ZHU Ai-zhi. Study of tea polyphenol as a reversal agent for carcinoma cell lines' mutidrug resistance[J]. Nuclear Medicine and Biology,2001,(28):735-740.
- [8] 李凤英,崔蕊静,李春华. 从莲藕皮中提取多酚物质[J]. 食品与发酵工业,2005,31(4):147-149.
- [9] 李莉,田士林. 苹果多酚的抗氧化的测定[J]. 安徽农业科学,2006,34(21):56-59.
- [10] 曾鑫,刘忠松,龙桑,等. 芥菜型油菜黄黑种皮多酚差异的紫外-可见光谱研究[J]. 作物学报,2007,33(3):476-481.