

微波辅助提取资木瓜多酚化合物工艺优化

何冬兰¹,薛芷筠¹,张泽文¹,王怡¹,程国军¹,李晓华¹,田贞环²

(1 中南民族大学 湖北省微生物资源与利用工程技术研究中心 武汉 430074;2 宜昌银泽源农业科技有限公司 宜昌 443500)

摘要 采用单因素实验和正交法,考察了微波处理功率、微波处理时间、提取溶剂乙醇浓度和料液比等对资木瓜多酚含量的影响,确定了资木瓜多酚的最佳微波提取工艺。结果表明 4 种影响资木瓜多酚含量的因素依次为:乙醇浓度>微波功率>料液比>微波时间,乙醇浓度对资木瓜多酚提取影响较为明显。最佳提取工艺为:微波功率 700 W,微波时间 90s,乙醇浓度 40% 料液比为 1:25(g/mL)。提取物资木瓜多酚的含量为 47.27 mg/g。

关键词 资木瓜;工艺优化;微波;多酚

中图分类号 TQ460.6;R284.2 文献标识码 A 文章编号 1672-4321(2018)01-0054-04

Microwave-assisted Extraction of Polyphenols from *Chaenomeles speciosa*

He Donglan¹,Xue Zhijun¹,Zhang Zewen¹,Wang Yi¹,Cheng Guojun¹,Li Xiaohua,Tian Zhenhuan²

(1 Hubei Engineering and Technological Research Center for Microbial Resources and Utilization South-Central University for Nationalities,Wuhan 430074,China;2 Yichang Yinzeyuan Agricultural Science and Technology Co Ltd,Yichang 443500,China)

Abstract To optimize the extraction condition of polyphenols from *Chaenomeles speciosa*, effects of microwave power, extraction time, ethanol concentration and material-solution ratio were studied by using the content of total phenolic acids as the index on the basis of the single-factor test with orthogonal test. The optimal extraction conditions was as follows: 700 W microwave power, extraction time 90, 40% ethanol, material-solution ratio 1:25. The extraction of polyphenols content was 47.27 mg/g under the optimal extraction conditions.

Keywords *Chaenomeles speciosa*;extraction technology;microwave;polyphenols

资木瓜 [*Chaenomeles Speciosa* (sweet) Nakai] 为湖北省长阳资丘特产的皱皮木瓜,又名贴梗海棠,是蔷薇科(Rosaceae)木瓜属(*Chaenomeles*)的成熟果实^[1],是一种药食价值兼具的水果,民间更有“杏一益,梨二益,木瓜百益”之说,为湖北省的十大地药材之一。资木瓜主要含有有机酸、多酚类化合物、三萜酸、糖、维生素等成分^[2-5]。其中多酚化合物是一类具有独特药效和生理活性的天然产物^[6],大量研究结果表明植物多酚具有抑菌、抗氧化、抗肿瘤、防治肺动脉高压等作用^[7-12],在美容、制药、医疗等行业极具开发前景,但有关资木瓜多酚的研究以及微波提取工艺的研究目前尚鲜有报道^[3],本实验拟采用微波辅助乙醇提取资木瓜多酚类化合物,在

单因素实验结果的基础上采用正交设计,确定资木瓜多酚的最佳提取方法,为资木瓜的深度开发提供依据。

1 实验材料与仪器

1.1 实验材料

资木瓜(产地湖北省宜昌市长阳县榔坪镇),没食子酸标准品(上海源叶生物科技有限公司,纯度 98%),无水乙醇、钨酸钠、钼酸钠、85%磷酸、浓盐酸、硫酸锂、液溴、碳酸钠均为分析纯。

1.2 实验仪器

FW250 中药粉碎机(郑州科丰公司),MAS-II PLUS 常压微波萃取反应工作站(上海新仪公司),

收稿日期 2017-12-26

作者简介 何冬兰(1964-),女,教授,研究方向:微生物资源学,E-mail:hdl@mail.scuec.edu.cn

基金项目 湖北省科技惠民计划项目(2017)

UV-3100BPC 分光光度计(上海美谱达公司),HH-2 恒温水浴锅(金坛市科兴仪器厂),HR/T16MT 台式高速冷冻离心机(湖南赫西公司),RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),SHB-3 循环水式真空泵(郑州杜甫仪器厂)。

2 实验方法

2.1 没食子酸标准曲线的绘制

精确称取 0.010 g 没食子酸标准品置于烧杯中,加水溶解,转移溶液至 100 mL 容量瓶,定容至刻度线。分别吸取 0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 mL 上述标准液加入到 10 mL 的具塞比色管中,添加 1 mL 制备好的 Folin-ciocalteu 试剂^[13],充分混匀后,加入 2 mL 15%Na₂CO₃溶液,用蒸馏水定容至刻度。室温静置反应 2 h,于 765 nm 处测定吸光度。以没食子酸质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线^[14]。

2.2 资木瓜多酚的提取与测定

准确称取资木瓜干粉 100.00 g,按照料液比 1:10 加入 95%乙醇,回流 2 h,抽滤除去乙醇后,烘干,除去部分色素和脂溶性物质^[14]。准确称取 1.0 g 脱脂资木瓜干粉,按照一定料液比加入一定体积的乙醇溶液后,一定功率的微波处理一定时间后,提取液在 4 ℃、7000 r/min 离心 10 min 后,保留上清液,加入相同体积的乙醇溶液洗涤沉淀,再次离心后合并上清液,减压浓缩,收集残留物,用蒸馏水定容至 20 mL。吸取 0.1 mL 多酚粗提液于 10 mL 比色管中,加入 Folin-ciocalteu 试剂 1 mL、15%Na₂CO₃溶液 2 mL,用蒸馏水定容至 10 mL,充分混匀后,静置反应 2 h,稀释两倍,于 765 nm 处测定吸光度,根据标准曲线计算多酚含量。

2.3 单因素实验

微波法提取木瓜过程中,影响多酚最终提取率的因素颇多,本研究着力从微波功率、微波时间、乙醇浓度以及料液比 4 个方面优化多酚提取工艺,利

用单因素实验观察以上 4 个因素对多酚提取的影响。

2.3.1 微波功率对资木瓜多酚得率的影响

称取 1.0 g 脱脂木瓜干粉,按照料液比 1:25、乙醇浓度 60%、微波时间 60 s,分别采用 300、500、700、900 W 的微波功率提取多酚,测定多酚含量。

2.3.2 微波时间对资木瓜多酚得率的影响

称取 1.0 g 脱脂木瓜干粉,按照料液比 1:25、乙醇浓度 60%、微波功率 700 W,分别采用 30、60、90、120 s 的微波时间提取多酚,测定多酚含量。

2.3.3 乙醇浓度对资木瓜多酚得率的影响

称取 1.0 g 脱脂木瓜干粉,按照料液比 1:25、微波功率 500 W、微波时间 60 s,分别采用 40%、50%、60%、70% 的乙醇浓度提取多酚,测定多酚含量。

2.3.4 料液比对皱皮木瓜多酚得率的影响

称取 1.0 g 脱脂木瓜干粉,按照微波功率 500 W、微波时间 60 s、乙醇浓度 50%,分别采用 1:15、1:20、1:25、1:30 的料液比提取多酚,测定多酚含量。

2.4 正交试验设计

在单因素实验结果的基础上,每个因素取 3 个水平,按照 L₉(3⁴) 设计正交试验,通过标准曲线方法测定多酚含量,并进行方差分析,确定最优提取方案。

2.5 数据处理及统计分析

利用 IBM SPSS Statistics 软件进行正交设计和分析,利用 OriginPro 8 进行统计分析和绘图。

3 结果与分析

3.1 标准曲线的绘制

标准曲线方程为: $y = 103.11x - 0.2679$, $R^2 = 0.9987$,式中 x 为没食子酸质量浓度 (mg/mL), y 为吸光度值。各浓度及其对应的 OD 值见表 1。

表 1 标准曲线测量结果

Tab. 1 Standard curve measurement results

没食子酸浓度/(mg/mL)	0.003	0.004	0.005	0.006	0.007	0.008	0.009
OD ₇₆₅	0.051	0.129	0.252	0.351	0.457	0.552	0.663

3.2 单因素实验结果与分析

3.2.1 微波功率对资木瓜多酚得率的影响

由图 1 可知,微波功率对多酚提取效果影响较大,吸光度随着微波功率的变化而变化,当微波功率在 300~700 W 时,随着多酚浓度提高吸光度呈现上

升趋势,在 700 W 时达到最大值 0.8555。微波功率在 700~900 W 时,多酚浓度降低。其原因可能是当微波功率大于 700 W 时,微波产生的热量过多,破坏了部分多酚的结构,吸光度下降^[15](以下吸光度值均为稀释两倍后测得)。

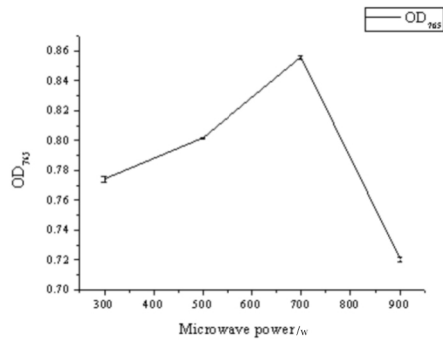


图 1 微波功率对多酚得率的影响

Fig.1 Effect of microwave power on the yield of polyphenols

3.2.2 微波时间对资木瓜多酚得率的影响

微波时间在 30~60 s 时,随着微波作用时间的延长,多酚不断溶解,吸光度呈明显上升趋势,在 60 s 时达到最大值 0.917(图 2)。当微波时间大于 60 s 时,多酚浓度下降,吸光度几乎呈直线下降趋势,原因可能是微波作用时间过长致使热量过高,从而破坏了多酚的结构,导致多酚含量下降。

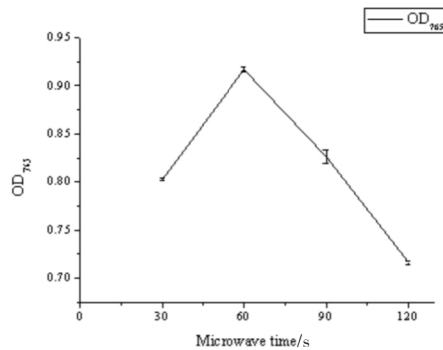


图 2 微波时间对多酚得率的影响

Fig.2 Effect of microwave time on the yield of polyphenols

3.2.3 乙醇浓度对资木瓜多酚得率的影响

由图 3 可以看出,随着乙醇浓度的增加,吸光度先增大后逐渐减小,在乙醇体积分数为 50% 时,吸光度值达到最大值 0.989。多酚类物质在植物中常以氢键和疏水链的形式与蛋白质、多糖结合形成稳定的复合物。当乙醇的体积分数过低时,不足以与多酚类物质形成氢键同原有氢键竞争,导致最终提取的多酚含量不高^[16];乙醇的体积分数过高时,溶剂极性降低,导致多酚得率下降,脂溶性物质溶出增多^[17]。

3.2.4 料液比对资木瓜多酚得率的影响

料液比为 1:25 时,吸光度值最大为 0.743(图 4)。料液比在 1:25 的基础上,增加或减少,多酚浓度均呈现下降趋势,吸光度值减小,原因可能是增加溶剂有利于多酚的溶出^[18],但是当料液比高于 1:

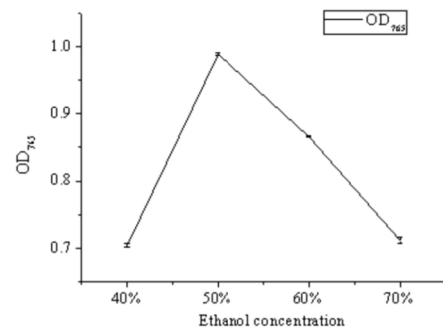


图 3 乙醇浓度对多酚得率的影响

Fig.3 Effect of ethanol concentration on the yield of polyphenols

25 后,由于溶剂过多,同样的微波条件下的热量不足以促使更多多酚溶出,因而多酚含量下降。

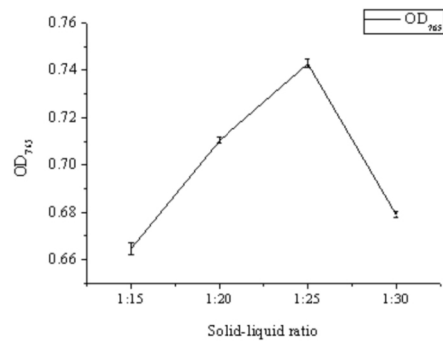


图 4 料液比对多酚得率的影响

Fig.4 Effect of liquid ratio on the yield of polyphenols

3.3 正交试验

根据单因素实验结果,确定微波提取资木瓜多酚的最佳工艺条件分别为:微波功率 700 W,微波时间 60 s,乙醇浓度 50%,料液比 1:25。以上条件作为参考,对微波功率、微波时间、乙醇浓度、料液比进行 4 因素 3 水平正交试验设计。因素与水平见表 2,正交方案及结果分析见表 3。

表 2 正交试验因素及水平设计

Tab.2 Orthogonal L₉(3⁴) factors and levels

因素	A 微波功率	B 微波时间	C 乙醇浓度	D 料液比
水平	/W	/s	/%	
1	500	30	40	1:20
2	700	60	50	1:25
3	900	90	60	1:30

由表 3 可见微波法提取资木瓜多酚正交试验各处理条件下的多酚含量,对该结果进行极差分析可知,在微波提取过程中,各因素对多酚得率的影响次序为:C(乙醇浓度)>A(微波功率)>D(料液比)>B(微波时间),为实现多酚得率最大化,应采用 A₁B₃C₁D₂组合条件进行资木瓜多酚的微波提取,也即微波功率 500 W,微波时间 90 s,乙醇浓度 40%,料液

比 1 : 25.

表 3 正交方案及结果

Tab.3 Design and results of $L_9(3^4)$ Orthogonal test

序号	A	B	C	D	多酚含量 mg/g
1	1	1	1	1	41.3112
2	1	2	2	2	43.0181
3	1	3	3	3	41.6604
4	2	1	2	3	39.9534
5	2	2	3	1	37.6452
6	2	3	1	2	47.2660
7	3	1	3	2	35.2982
8	3	2	1	3	41.0397
9	3	3	2	1	37.0633
K1	41.9966	38.8543	43.2056	38.6733	
K2	41.6216	40.5677	40.0116	41.8608	
K3	37.8004	41.9966	38.2013	40.8845	
R	4.1962	3.1423	5.0044	3.1875	

3.4 验证实验

根据正交试验的优化结果进行验证实验,称取 4 份 1.0 g 脱脂木瓜干粉,每份按照上述最优提取条件进行 3 组平行试验,所提取的多酚含量分别为 44.99 mg/g、45.11 mg/g、45.42 mg/g、45.81 mg/g,平均含量为 45.34 mg/g,与正交试验第 6 组条件($A_2B_3C_1D_2$)的提取结果相近,且两组提取条件的差别也仅限于微波功率,因此正交试验结果所得到的提取条件是可靠的,为实现提取效率最大化,将最优提取条件定为 $A_2B_3C_1D_2$,也即微波功率 700 W,微波时间 90 s,乙醇浓度 40%,料液比 1 : 25.

4 结语

以资木瓜为原料采用微波辅助提取木瓜多酚,通过单因素试验以及正交设计优化出最佳提取方案:微波功率 700 W,微波时间 90 s,乙醇浓度 40%,料液比 1 : 25,利用该工艺提取所得的资木瓜多酚含量为:47.27 mg/g,得率为 4.73%. 该方法较常规浸提法具有提取时间短、提取效率高的优点,为提高资木瓜的经济效益奠定了初步的技术基础.

参 考 文 献

[1] 管兆国.我国木瓜种质资源[J].山西果树,2017(1):5-8.
 [2] 蔡娟,刘世尧,韦正鑫,等.皱皮木瓜皮渣齐墩果酸和熊果酸提取工艺优化研究[J].食品工业科技,2015,36(2):282-285;290.
 [3] 贾云莉,李世刚,柳蔚,等.资木瓜总苷对大鼠嗜碱

性白血病-2H3 肥大细胞脱颗粒的作用[J].医药导报,2016,35(8):819-822.

- [4] 田冰梅,谢晓梅,沈盼盼,等.分级醇沉宣木瓜多糖含量、分子量测定和活性初步研究[J].光谱学与光谱分析,2015,35(5):1331-1334.
 [5] Zhang S Y, Han L Y, Zhang H, et al. *Chaenomeles speciosa*: a review of chemistry and pharmacology [J]. Biomedical Reports, 2014, 2(1): 12-18.
 [6] 南楠.植物多酚的生物学功能及其在动物生产中的应用[J].饲料博览,2017(5):37-39,43.
 [7] 符莎露,吴甜甜,吴春华,等.植物多酚的抗氧化和抗菌机理及其在食品中的应用[J].食品工业,2016,37(6):242-246.
 [8] Kołodziejczyk K, Sójka M, Abadias M, et al. Polyphenol composition, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of the extracts obtained from industrial sour cherry pomace [J]. Ind Crops Prod, 2013(51): 279-288.
 [9] 严正强,张琴,杨远清.茶多酚对前列腺癌 PC-3M 细胞 CyclinD1 mRNA 和蛋白表达的影响[J].现代实用医学,2017,29(6):705-706,711.
 [10] 李峰,王延伟,俞力超,等.四角菱茎多酚的超声提取工艺优化及体外抗肿瘤活性研究[J].中国药房,2017,27(31):4414-4416.
 [11] Xie X F, Zou G L, Li C H. Antitumor and immunomodulatory activities of water-soluble polysaccharide from *Chaenomeles speciosa* [J]. Carbohydr Polym, 2015, 132(5): 323-329.
 [12] 孟涵燕,赵洁,李依玲,等.植物多酚防治肺动脉高压的研究进展[J].四川生理科学杂志,2017,39(3):156-158.
 [13] Yoo K S, Lee E J, Leskovaar D, et al. Development of an automated method for Folin - Ciocalteu total phenolic assay in artichoke extracts [J]. J Food Sci, 2012, 77(12): C1279-C1284.
 [14] 李芳,李世刚,唐永莉,等.资木瓜多糖的提取和含量测定[J].安徽农业科学,2012,40(29):14197-14198,14278.
 [15] 李育峰,刘美荣,张贺,杏仁皮多酚的微波提取工艺研究[J].贵州农业科学,2016,44(2):159-161.
 [16] 裘爱泳,刘军海,张海晖.植物多酚提取和应用[J].粮食与油脂,2003(6):10-11.
 [17] 张玉香,曲慧鸽,张润亚,等.响应面法优化蓝莓叶黄酮的微波提取工艺[J].食品科学,2010,31(16):33-37.
 [18] 王文昕,董全.响应面法优化超声辅助提取花生红衣多酚工艺[J].食品科学,2012,33(22):1-5.

(责任编辑 姚春娜)