

藕节多酚超声波辅助提取工艺优化 及其抗油脂氧化能力研究

王占一¹, 葛笑昆¹, 周婉梅¹, 孙晓梅¹, 邹晓彤¹, 向 兰²

(1. 枣庄学院 食品科学与制药工程学院, 山东 枣庄 277160; 2. 山东大学 药学院, 济南 250012)

摘要:以藕节多酚得率为评价指标, 超声时间、超声温度、料液比和乙醇体积分数为影响因素, 通过单因素试验和 Box - Behnken (BBD) 试验设计优化藕节多酚的提取工艺条件, 同时采用恒温箱热贮藏试验法研究藕节多酚的抗油脂氧化能力。结果表明: 藕节多酚的最佳提取条件为超声时间 34 min、超声温度 50 ℃、料液比 1:20、乙醇体积分数 70%, 在此条件下藕节多酚得率为 $(7.11 \pm 0.14)\%$; 藕节多酚能够明显减缓油脂过氧化值的升高趋势, 对动植物油脂的自氧化均有明显的抑制作用, 且具有一定的浓度依赖性。

关键词:藕节; 多酚; 超声波; Box - Behnken 试验设计; 抗油脂氧化能力

中图分类号: TS229; TS202.3 文献标识码: A 文章编号: 1003 - 7969 (2020) 04 - 0051 - 05

Optimization of ultrasound - assisted extraction of polyphenols from lotus rhizome node and its antioxidation ability on oils and fats

WANG Zhanyi¹, GE Xiaokun¹, ZHOU Wanmei¹,
SUN Xiaomei¹, ZOU Xiaotong¹, XIANG Lan²

(1. College of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Zaozhuang University, Zaozhuang 277160, Shandong, China; 2. School of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract: The yield of polyphenols was used as an index, and the ultrasonic time, ultrasonic temperature, ratio of solid to liquid and volume fraction of ethanol were used as the influence factors, the single factor experiment and Box - Behnken (BBD) design were employed to optimize the extraction process of polyphenols from lotus rhizome node. In addition, the antioxidation ability on oils and fats of polyphenols obtained was studied by thermostat storage method. The results showed that the optimal extraction conditions were obtained as follows: ultrasonic time 34 min, ultrasonic temperature 50 ℃, ratio of solid to liquid 1:20, volume fraction of ethanol 70%. Under the optimal conditions, the yield of polyphenols was $(7.11 \pm 0.14)\%$. The polyphenols from lotus rhizome node could significantly slow down the increasing trend of peroxide value in oil and it had obvious inhibitory effect on the auto - oxidation of animal and vegetable oils, and the effect was kind of concentration - dependent.

Key words: lotus rhizome node; polyphenols; ultrasound; Box - Behnken design; anti oxidation ability on oils and fats

收稿日期: 2019 - 06 - 13; 修回日期: 2019 - 11 - 05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51809228); 中医药公共卫生服务补助专项“全国中药资源普查项目” (财社 [2018] 43 号)

作者简介: 王占一 (1980), 男, 副教授, 硕士, 研究方向为天然活性成分提取、分离与功效分析 (E-mail) zhyiwang@126.com。

莲 (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), 是睡莲科莲属水生植物, 在我国南北各地均有栽培。藕为莲的根茎, 是一种在我国种植历史悠久、产量巨大的传统水生蔬菜^[1]。藕节为藕干燥的茎节部分, 是一种传统的中药材, 早在唐朝甄权所著《药性论》中就有记载, 称其具有收敛止血、化瘀之功效。藕节也是《中国

药典》(2015 版) 所载的中药品种, 用于治疗肺结核咯血、胃出血、鼻出血、吐血、便血等病症^[2]。藕节质地坚硬, 食用困难, 因此多数情况下常作为废物遗弃, 造成资源浪费。近年来, 国内外学者研究发现, 藕节中含有多种生物活性物质, 如多糖、生物碱、多酚等。多酚已成为人们研究的热点, 周玮靖等^[3]对提取纯化的藕节多酚类成分进行体外抗氧化活性分析, 发现藕节中多酚类成分含量高, 抗氧化活性较好。

超声波辅助溶剂提取法借助于超声波的空化作用、机械振动破壁效应破坏植物细胞壁, 使植物细胞内的天然产物能够在短时间内释放, 从而使天然产物不被氧化变质, 保持原有的生物活性^[4-6]。目前, 超声波辅助溶剂提取法在天然产物提取领域中已被广泛应用。张雪春等^[7]采用超声波辅助溶剂提取法提取文冠果壳中多酚类成分, 并对其体外抗氧化能力进行分析。蒋边等^[8]采用响应面法优化了超声波辅助溶剂提取杨桃中多酚类成分。而采用超声波辅助溶剂提取法提取藕节中多酚类成分的试验研究, 国内外鲜有文献报道。

食用油脂在储运期间由于受光照、温度及湿度等影响, 容易氧化酸败, 产生对人体有害的过氧化物、自由基等^[9]。目前, 食用油脂中常添加的抗氧化剂有丁基羟基茴香醚(BHA)、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)和特丁基对苯二酚(TBHQ)等, 长期食用这些人工合成的抗氧化剂是否会对人体健康产生影响, 一直存在争论。因此, 积极寻找天然、可食用、高效的油脂抗氧化剂具有重要意义。植物多酚是天然的抗氧化剂, 食用油脂中加入植物多酚类成分, 能显著减缓油脂氧化进程^[10]。因此, 本试验以微山湖产藕节为原料, 采用响应面法优化其多酚类成分的提取工艺, 并将纯化多酚用于抗油脂氧化活性分析, 以期为藕节的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

藕, 采自微山湖, 手工取其根茎节部, 经枣庄学院闫志佩教授鉴定为正品藕节。藕节在 50℃ 下干燥 48 h 后粉碎, 过 24 目筛, 备用。

没食子酸对照品(纯度 > 99%, 批号为 110831-201204), 由中国食品药品检定研究院提供; 福林酚(分析纯), 美国 Sigma 公司; 抗坏血酸(分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; 猪油、新榨花生油(未加入抗氧化剂), 市购; 硫代硫酸钠、无水乙醇、D-101 大孔吸附树脂、碳酸钠、碘化钾等均为分析纯, 天津

风船化学试剂科技有限公司; 超纯水, 由 UPW-P 型超纯水系统制备。

1.1.2 仪器与设备

UV-2000 型紫外可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; B-26 型旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; FA1104 型电子分析天平, 上海越平科学仪器有限公司; 800Y 型高速多功能粉碎机, 永康市铂欧五金制品有限公司; SHZ-DIII 型循环水式真空泵, 巩义市予华仪器有限公司; HN-CQY 型低温超声波萃取仪(功率 100~1500 W, 连续可调, 频率 25 kHz), 上海汗诺仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 藕节多酚的提取

准确称取藕节粉 3.0 g, 置于 250 mL 烧杯中, 加入一定体积分数的乙醇, 用保鲜膜、橡皮筋封口, 置于超声波萃取仪中, 设置超声波输出功率 350 W、超声频率 25 kHz, 在一定温度下提取一定时间后, 抽滤, 滤液定容至 100 mL, 用 D-101 大孔吸附树脂静态吸附, 70% 乙醇洗脱后, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 减压蒸干得到藕节多酚。

1.2.2 多酚含量的测定

参照文献[11]的方法, 略有改动。将没食子酸对照品恒温干燥至恒重后, 精密称取 50 mg, 置于 100 mL 烧杯中, 用无水乙醇溶解并定容至 50 mL 容量瓶中, 即得质量浓度为 1 mg/mL 没食子酸对照品溶液。分别移取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 没食子酸对照品溶液, 置于 25 mL 具塞刻度试管中, 依次加入 10% 福林酚试剂 12.5 mL、7.5% Na₂CO₃ 溶液 10 mL, 充分摇匀并用蒸馏水定容至 25 mL, 于 25℃ 下避光反应 2 h, 在 760 nm 波长处测定吸光度(A)。以吸光度(A)为纵坐标, 没食子酸质量浓度(C)为横坐标, 得到标准曲线回归方程 $A = 0.017C - 0.0021$ ($r = 0.9995$), 没食子酸质量浓度在 8~48 μg/mL 范围内线性关系良好。

准确称取藕节多酚 5.0 g, 用体积分数为 70% 的乙醇定容至 25 mL, 作为样品溶液, 按上述方法测定吸光度, 根据标准曲线回归方程计算样品溶液中多酚的质量浓度, 按下式计算多酚纯度及得率。

纯度 = (样品溶液中多酚的质量浓度 × 样品溶液体积) / 藕节多酚质量 × 100%

得率 = (藕节多酚的质量 × 纯度) / 藕节质量 × 100%

1.2.3 藕节多酚抗油脂氧化能力测试

精密称取藕节多酚 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mg, 抗坏血酸 1.5 mg, 并以空白油样作对照, 分别置于

100 mL 烧杯中,依次加入 5.0 mL 重蒸馏水、50 g 猪油或 50 mL 花生油,搅拌均匀后,放入 $(60 \pm 1)^\circ\text{C}$ 恒温干燥箱中储存,分别在 0、2、4、6、8、10、12、14、16 d 取样 2 g 测定过氧化值(POV)。过氧化值的测定参照 GB 5009.227—2016。

2 结果与分析

2.1 藕节多酚提取单因素试验

2.1.1 超声时间对藕节多酚得率的影响

在超声温度 50°C 、料液比 1:20、乙醇体积分数 70% 条件下,考察超声时间对藕节多酚得率的影响,结果见图 1。

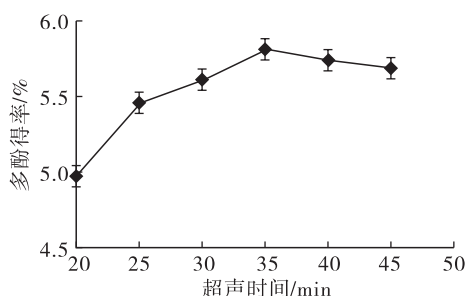


图 1 超声时间对藕节多酚得率的影响

由图 1 可见,随着超声时间的延长,藕节多酚得率逐渐增大,在超声时间为 35 min 时达到最大值,之后随着超声时间的延长,藕节多酚得率呈下降趋势,这可能是由于多酚类成分长时间接触空气,其自身被氧化,从而导致多酚得率下降。因此,确定超声时间在 35 min 左右。

2.1.2 超声温度对藕节多酚得率的影响

在超声时间 35 min、料液比 1:20、乙醇体积分数 70% 条件下,考察超声温度对藕节多酚得率的影响,结果见图 2。

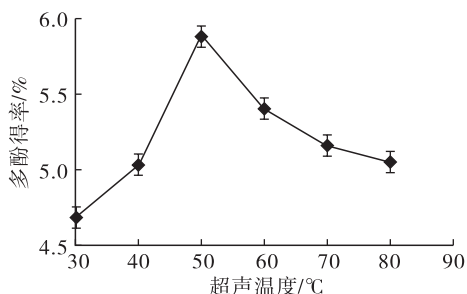


图 2 超声温度对藕节多酚得率的影响

由图 2 可见,随着超声温度的升高,藕节多酚得率呈上升趋势,在 50°C 时达到最大值,之后随着超声温度的升高,藕节多酚得率呈下降趋势,这可能是由于高温使藕节多酚结构被破坏,从而导致其得率下降。因此,确定超声温度在 50°C 左右。

2.1.3 料液比对藕节多酚得率的影响

在超声时间 35 min、超声温度 50°C 、乙醇体积分数 70% 条件下,考察料液比对藕节多酚得率的影响,结果见图 3。

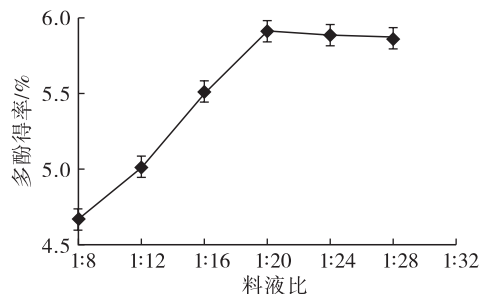


图 3 料液比对藕节多酚得率的影响

由图 3 可见,随着溶剂用量的增加,藕节多酚得率呈上升趋势,这是由于增大溶剂用量,有利于多酚类成分由原料内部向溶剂中扩散。当料液比大于 1:20 时,随着溶剂用量的增加,多酚得率基本保持不变。从节约资源角度考虑,确定料液比在 1:20 左右。

2.1.4 乙醇体积分数对藕节多酚得率的影响

在超声时间 35 min、超声温度 50°C 、料液比 1:20 条件下,考察乙醇体积分数对藕节多酚得率的影响,结果见图 4。

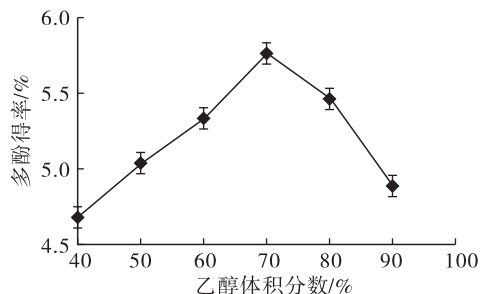


图 4 乙醇体积分数对藕节多酚得率的影响

由图 4 可见,随着乙醇体积分数的增加,藕节多酚得率呈现先增加后降低的趋势,当乙醇体积分数为 70% 时,藕节多酚得率最高,这是由于多酚类成分属于极性较弱的物质,随着乙醇体积分数的增加,溶剂极性与藕节多酚极性之间的差异较小,使藕节多酚得率逐渐增大,但当乙醇体积分数超过 70% 时,藕节多酚得率开始下降,可能是溶剂极性与藕节多酚极性之间的差异增大导致的。因此,确定乙醇体积分数在 70% 左右。

2.2 藕节多酚提取响应面优化试验

根据单因素试验结果,选取超声时间(X_1)、超声温度(X_2)、料液比(X_3)和乙醇体积分数(X_4)作为 Box - Behnken 响应面试验设计的 4 个自变量,以多酚得率(Y)为响应值,通过响应面试验优化超声

波辅助提取藕节多酚的工艺条件。响应面因素水平见表1,响应面设计及其结果见表2。

表1 响应面因素水平

水平	X_1/min	$X_2/^\circ\text{C}$	X_3	$X_4/\%$
-1	30	40	1:16	60
0	35	50	1:20	70
1	40	60	1:24	80

表2 响应面设计及其结果

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	$Y/\%$
1	0	1	-1	0	6.34
2	0	0	0	0	7.10
3	0	0	0	0	7.18
4	0	-1	0	1	6.41
5	-1	-1	0	0	6.48
6	1	1	0	0	6.35
7	0	0	1	1	6.31
8	0	-1	0	-1	6.53
9	0	1	0	-1	6.31
10	0	1	1	0	6.39
11	0	0	-1	1	6.67
12	0	0	1	-1	6.41
13	-1	0	1	0	6.55
14	0	0	-1	-1	6.49
15	0	-1	1	0	6.35
16	1	0	0	-1	6.59
17	-1	1	0	0	6.72
18	-1	0	0	1	6.93
19	0	0	0	0	7.11
20	0	0	0	0	7.05
21	1	0	1	0	6.23
22	1	-1	0	0	6.27
23	-1	0	0	-1	6.79
24	0	1	0	1	6.27
25	0	-1	-1	0	6.39
26	-1	0	-1	0	6.53
27	1	0	0	1	6.54
28	0	0	0	0	7.05
29	1	0	-1	0	6.52

将表2中的数据进行多元回归拟合,得到各因素与响应值的二次多项式方程: $Y = 7.10 - 0.12X_1 - 0.0042X_2 - 0.058X_3 + 0.0008X_4 - 0.040X_1X_2 - 0.077X_1X_3 - 0.047X_1X_4 + 0.022X_2X_3 + 0.020X_2X_4 - 0.070X_3X_4 - 0.21X_1^2 - 0.42X_2^2 - 0.38X_3^2 - 0.24X_4^2$ 。

对回归模型进行方差分析,结果见表3。由表3可知,该模型的 p 值小于0.01,模型极显著,失拟项大于0.05,失拟误差不显著,模型的 R^2 为0.9244,说明该方程能够较准确地反映试验因素对响应值的

影响,可用于对藕节多酚得率的预测和分析。由回归模型显著性可知, X_1 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2 对藕节多酚得率有极显著的影响。各因素对藕节多酚得率的影响由大到小依次为 X_1 (超声时间) $> X_3$ (料液比) $> X_2$ (超声温度) $> X_4$ (乙醇体积分数)。

表3 回归模型的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	p
模型	2.15	14	0.15	12.22	<0.0001**
X_1	0.19	1	0.19	14.89	0.0017**
X_2	0.0002	1	0.0002	0.0017	0.8995
X_3	0.041	1	0.041	3.24	0.0933
X_4	<0.0001	1	<0.0001	0.0006	0.9798
X_1X_2	0.0064	1	0.0064	0.51	0.4876
X_1X_3	0.024	1	0.024	1.91	0.1889
X_1X_4	0.009	1	0.009	0.72	0.4115
X_2X_3	0.002	1	0.002	0.16	0.6945
X_2X_4	0.0016	1	0.0016	0.13	0.7268
X_3X_4	0.02	1	0.02	1.56	0.2327
X_1^2	0.29	1	0.29	22.77	0.0003**
X_2^2	1.15	1	1.15	91.51	<0.0001**
X_3^2	0.91	1	0.91	72.53	<0.0001**
X_4^2	0.38	1	0.38	30.04	<0.0001**
残差	0.18	14	0.013		
失拟项	0.16	10	0.016	5.74	0.0533
误差项	0.011	4	0.0029		
总离差	2.33	28			

注:**表示差异极显著($p < 0.01$); *表示差异显著($p < 0.05$); 模型的 $R^2 = 0.9244$ 。

通过 Design Expert 8.0.6 统计分析,得到超声波辅助提取藕节多酚最佳工艺条件:超声时间 33.54 min,超声温度 50.08 $^\circ\text{C}$,料液比 1:19.8,乙醇体积分数 70.38%。在最佳工艺条件下,藕节多酚得率预测值为 7.12%。因上述试验条件在实际操作中无法实现,因此将试验条件修正为超声时间 34 min、超声温度 50 $^\circ\text{C}$ 、料液比 1:20、乙醇体积分数 70%。在最佳工艺条件下进行 3 次平行试验,藕节多酚平均得率为(7.11 \pm 0.14)%,与模型预测值相当,说明模型能较好地预测藕节多酚得率。经测定,藕节多酚的纯度为 79.8%。

2.3 藕节多酚抗油脂氧化能力

2.3.1 藕节多酚抗动物油脂氧化能力(见图5)

由图5可见,动物油脂在恒温箱中高温诱导后,发生了自氧化反应,随着诱导时间的延长,空白对照组的过氧化值逐渐增大,表明高温能使动物油脂的自氧化反应加剧。动物油脂中添加藕节多酚后,5

组不同添加量的油样,与空白对照组比较,其过氧化值增加趋势明显减缓,且随着藕节多酚添加量的增加,其抗动物油脂氧化能力明显增强,量效对应关系比较显著。藕节多酚添加量达到2.5 mg时,其抗氧化能力接近1.5 mg的抗坏血酸所达到的效果,其作用机制可能是藕节多酚分子中含有酚羟基,可提供活泼的氢质子,能够有效地清除氧自由基,从而可以预防脂质过氧化的启动;其次,酚羟基和过氧化自由基结合生成稳定的化合物,进一步阻止了氧化过程中链锁反应的传播。

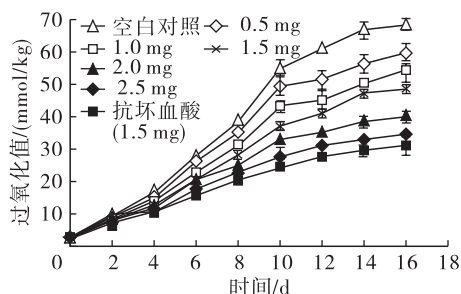


图5 藕节多酚抗动物油脂氧化能力

2.3.2 藕节多酚抗植物油脂氧化能力(见图6)

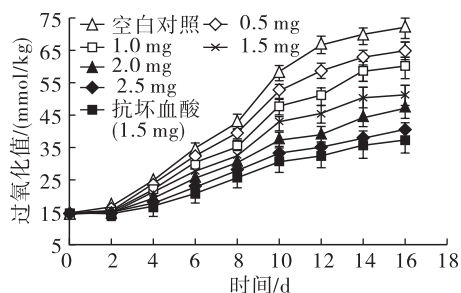


图6 藕节多酚抗植物油脂氧化能力

由图6可见,植物油脂在恒温箱中高温诱导后,同样加快了自身氧化进程,植物油脂中添加藕节多酚后,5组不同添加量的油样,与空白对照组比较,其过氧化值增加趋势明显减缓,且随着添加量的增加,其抗植物油脂氧化能力明显增强,量效对应关系比较显著。

3 结论

本试验以微山湖产藕节为原料,在单因素试验基础上,结合响应面设计优化得出超声波辅助

提取藕节多酚的最佳工艺条件为超声时间34 min、超声温度50℃、料液比1:20和乙醇体积分数70%,在此条件下藕节多酚得率为(7.11±0.14)%。藕节多酚能够有效减缓猪油和花生油的氧化酸败速率,并且随着多酚添加量的提高,其抗油脂氧化能力呈递增趋势。藕节多酚是很好的天然油脂抗氧化剂,具有一定的开发潜力。

参考文献:

- [1] 谢晋,韩迪,王靖,等. 中国莲藕产业发展现状及展望[J]. 农业展望, 2017, 13(12): 42-45.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015: 381.
- [3] 周玮婧,李书艺,王文娟. 莲藕节中多酚提取物体外抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2016, 41(12): 158-162.
- [4] BOTH S, CHEMAT F, STRUBE J. Extraction of polyphenols from black tea - conventional and ultrasound - assisted extraction[J]. Ultrason Sonochem, 2014, 21(3): 1030-1034.
- [5] GU X, CAI J, ZHU X, et al. Dynamic ultrasound - assisted extraction of polyphenols in tobacco[J]. J Sep Sci, 2015, 28(18): 2477-2481.
- [6] TAN N D, ZHANG Y L. Study on ultrasonic - assisted extraction technology of total polyphenol of persistent calyx from physalis calyx seu fructus[J]. Med Plant, 2012, 3(2): 61-64.
- [7] 张雪春,刘江,吴鑫,等. 响应面法优化提取文冠果壳中多酚类物质及其体外抗氧化能力分析[J]. 中国油脂, 2018, 43(5): 117-122.
- [8] 蒋边,潘进权,李恒,等. 响应面优化超声提取杨桃多酚的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(7): 248-251.
- [9] 王继强,龙强,李爱琴,等. 油脂氧化的因素、危害和预防措施[J]. 饲料广角, 2014, 30(5): 29-31.
- [10] 李春焕,王晓琴,曾秋梅. 植物油脂氧化过程及机理、检测技术以及影响因素研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(9): 277-284.
- [11] 钟益宁,吴诗云,张焱,等. 肉桂枝叶非挥发部分总多酚测定及其体外抗菌作用[J]. 中成药, 2016, 38(10): 2297-2300.



节能减排, 提质增效!

《中国油脂》宣