

文章编号: 1673-1689(2011)04-0565-06

甘薯废弃物中多酚物质的提取及抗氧化活性

张宽朝, 李冬磊

(安徽农业大学 生命科学学院, 安徽 合肥 230036)

摘 要: 植物源多酚类化合物具有广泛的生理活性。采用传统生物化学方法对存在于甘薯工业加工后固形废弃物中多酚物质进行提取分离, 并探索其相关用途, 以提高甘薯的资源利用率。在设计溶剂对比试验基础上, 对溶剂体积分数、提取温度、时间、料液质量体积比 4 个单因素进行正交试验, 然后采用酒石酸亚铁分光光度法测定了总酚含量。结果表明, 甘薯工业加工后固形废弃物中多酚物质提取的适宜工艺条件为乙醇体积分数 55%, 温度 50 ℃, 时间 70 min, 料液质量体积比 1 g: 20 mL, 该类甘薯渣多酚粗提液具有对 H₂O₂ 的清除能力及还原能力, 为一类有开发价值的天然抗氧化剂。

关键词: 甘薯; 废弃物; 多酚类物质; 抗氧化性

中图分类号: TS 201.2

文献标识码: A

Extraction and Antioxidant Activity of Polyphenols from Waste of Processed *Ipomoea batatas* Lam.

ZHANG Kuan-chao, LI Dong-lei

(School of Life Science, Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China)

Abstract: In order to increase the utilization rate of resources, the process parameters for extracting the polyphenol from solid waste of processed *Ipomoea batatas* Lam. was studied using single factor experiment and the orthogonal tests in this manuscript. The optimum extraction process conditions determined and listed as follows: ethanol 55%, temperature 50 ℃, extraction time of 70 min, and ratio of materials and solution was 1: 20(W: V). The results also showed that the polyphenolic extract had the ability to clear away H₂O₂ and the deoxidizing ability, and is a promising natural antioxidant.

Key words: *Ipomoea batatas* Lam., waste, polyphenol substance, antioxidant activity

甘薯(*Ipomoea batatas* Lam.), 俗称番薯、地瓜、红芋、白薯、红苕等, 因地区不同而有不同的名称, 在我国栽培较广, 主要产区有华东、东北、华北、西南等地^[1-2]。《本草纲目》、《本草纲目拾遗》等古代文献记载, 红薯有“煮食补脾胃, 益气力, 御风寒, 益颜色”等作用, 除具有多种食疗保健及药用价值外, 还有“补虚乏, 益气力, 健脾胃, 强肾阳”的功效,

使人“长寿少疾”^[1-2]。但长期以来, 仅限于从甘薯块根中直接提取淀粉, 我国甘薯的深加工产品较少, 产品附加值较低。甘薯淀粉的生产过程中所产生大量甘薯工业加工后固形废弃物和废液, 不仅浪费资源, 也污染环境^[3]。

植物中多酚类化合物是植物体内最重要的次生代谢产物, 是一类具有多个酚羟基化合物的总

收稿日期: 2010-08-15

作者简介: 张宽朝(1981-), 男, 安徽涡阳人, 实验师, 主要从事生物化学研究。Email: zhangkch1980@126.com

称,因具有广泛的生理活性(如抗氧化及抗自由基、抑菌、抗病毒、抗衰老、预防心脑血管疾病、抗癌、促进肠胃消化、降血糖、降低血脂、增加身体抵抗力等)而逐渐成为当前人们研究的热点与重点^[4-5]。

作者以安徽省舒城县等地甘薯加工厂的大量加工后固形废弃物为材料,采用生物和化学方法,对其中多酚类物质进行提取,探索开发途径,以促进甘薯中活性成分的开发,为从农副产品废弃物中提取多酚类物质提供参考,促进甘薯资源利用率的提升。

1 材料与 方法

1.1 材料

甘薯工业固形废弃物:安徽省舒城县甘薯加工厂提供;焦性没食子酸、酒石酸钾钠、硫酸亚铁、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、甲醇、乙醇、丙酮等均为国产分析纯试剂。

1.2 试验方法

1.2.1 原料预处理 将甘薯加工厂固形废弃物于 50℃烘干后粉碎,避光保存,备用。

1.2.2 单因素试验

1) 溶剂种类的选择 在料液质量体积比 1 g: 10 mL,固定的提取温度为 30℃和提取时间为 60 min 的条件下,分别用体积分数 60% 甲醇、60% 乙醇和蒸馏水提取,比较不同溶剂对提取液中甘薯工业加工后固形废弃物中多酚含量的影响,选择适合于甘薯多酚物质提取的溶剂。

2) 溶剂体积分数对多酚提取的影响 固定提取温度为 30℃、料液质量体积比 1 g: 10 mL、提取时间 60 min,分别用体积分数 20%、40%、60%、80%、100% 的乙醇对甘薯渣多酚物质进行提取,分析乙醇体积分数对甘薯渣多酚物质提取效果的影响。

3) 提取时间对多酚提取的影响 以体积分数 60% 的乙醇为溶剂,提取温度 30℃,料液质量体积比 1 g: 10 mL 的条件下,选择 20、40、60、80、100 min 的时间进行提取,分析提取时间对甘薯渣多酚物质提取效果的影响。

4) 提取温度对多酚提取的影响 在料液质量体积比 1 g: 10 mL 和提取时间为 60 min、乙醇体积分数为 60% 的条件下,分别选择 20、30、40、50、60、70℃对甘薯工业加工后固形废弃物多酚进行提取,分析提取温度对甘薯渣多酚物质提取效果的影响。

5) 料液质量体积比对多酚提取的影响 在提取温度为 30℃和提取时间为 60 min、乙醇体积分数为 60% 的条件下,分别以 1 g: 5 mL~ 1 g: 30

mL 比对甘薯工业加工后固形废弃物多酚进行提取,分析料液质量体积比对甘薯渣多酚物质提取效果的影响。

1.2.3 正交试验设计 根据单因素试验确定的范围,将乙醇体积分数、提取温度、提取时间、料液质量体积比作为考察因素,以总多酚质量分数为指标,用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验。

1.2.4 多酚含量的测定 以焦性没食子酸为标准品,采用酒石酸亚铁分光光度法测定总酚含量^[6]。

1) 标准曲线的绘制 分别准确移取 0.2 mg/mL 焦性没食子酸标准储备液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 6 支试管中,依次加入体积分数 60% 丙酮水溶液至试管总体积均为 1.0 mL,然后再依次向其中加入 1.0 mL 显色剂,用缓冲溶液定容,摇匀,放置 20 min,540 nm 处测定吸光度,以焦性没食子酸含量(μg)为横坐标,以对应的 $A_{540\text{ nm}}$ 为纵坐标,制作标准曲线为: $y = 0.0034x - 0.0084$, $R^2 = 0.9896$ 。

2) 甘薯工业加工后固形废弃物多酚类物质得率的测定 在一定实验条件下对原料进行多酚物质提取,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即得多酚粗提液。按 1.2.4.1 方法,测定提取液吸光度,计算甘薯工业加工后固形废弃物中多酚类物质的得率($\mu\text{g/g}$)。

3) 多酚提取率计算

多酚提取率计算式如下:

$$W = \frac{C \cdot n \cdot V}{m}$$

式中: W 为多酚提取率, $\mu\text{g/g}$; C 为酒石酸亚铁分光光度法测定的提取液多酚质量, μg ; n 为酒石酸亚铁分光光度法测定时提取液稀释倍数; V 为提取液体积, mL; m 为提取时甘薯工业加工后固形废弃物质量, g。

1.2.5 多酚抗氧化能力测定

1) 清除 H_2O_2 能力的测定^[7] 取 2.5 mL 用 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液配制的 10 mmol/L H_2O_2 ,加入不同浓度的测试液 2.5 mL,混合均匀后 230 nm 处测吸光度,此吸光度记为 A_1 ,以不加试样液的 H_2O_2 吸光度为 A_0 ,以不加 H_2O_2 的试样溶液吸光度为 A_2 。

$$\text{H}_2\text{O}_2\text{清除率}(\%) = \frac{(A_0 - (A_1 - A_2))}{A_0} \times 100\%$$

2) 还原能力的测定^[8] pH 6.6 的磷酸盐缓冲液 2.5 mL 中分别加入不同浓度的试样液 2.5 mL、质量分数 1% 铁氰化钾溶液 2.5 mL,混合均匀,50℃恒温 20 min,加入质量分数 10% 三氯乙酸溶液 2.5 mL,3 000 r/min 离心 10 min。取上层清液 2.5

mL 加蒸馏水 2.5 mL 和质量分数 0.1% FeCl₃ 溶液 0.5 mL, 700 nm 处测定吸光度, 吸光度越高, 还原能力越强。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

鉴于多酚类物质极性较大, 易溶于极性溶剂。实验中采用乙醇、甲醇两种常规有机溶剂以及蒸馏水研究甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取的效果(图 1)。图 1 表明, 3 种不同溶剂的提取效果存在一定差异, 其中以体积分数 60% 乙醇的提取效果最好, 而 60% 甲醇和蒸馏水的提取效果差异不大。因此, 作者采用乙醇、水混合体系作为提取溶剂。

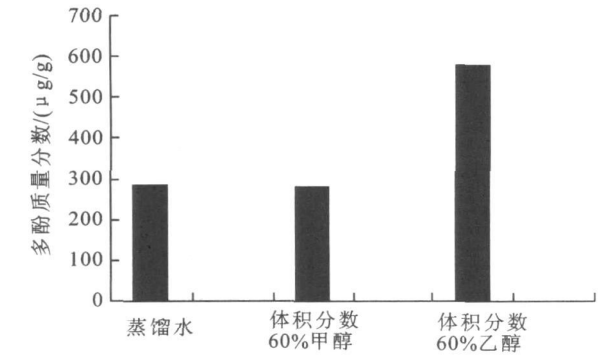


图 1 不同溶剂对甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取效果的影响

Fig. 1 Effect of different solvents on the extracting result of polyphenols from solid waste of processed *Ipomoea batatas* Lam.

2.2 乙醇体积分数对多酚提取效果的影响

表 1 表明, 乙醇体积分数在 20% ~ 60% 之间时, 甘薯工业加工后固形废弃物多酚的提取量随乙醇体积分数上升迅速增加, 在乙醇体积分数为 60% 时达到峰值。

表 1 乙醇体积分数对甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取效果的影响

Tab. 1 Effect of different ethanol concentration on the extracting result of polyphenols from solid waste of processed *Ipomoea batatas* Lam.

乙醇体积分数/%	多酚体积分数/(μg/g)
20	105.59
40	165.38
60	495.30
80	测定体系有明显絮状沉淀
100	测定体系有明显絮状沉淀

2.3 提取时间对甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取效果的影响

图 2 表明, 甘薯工业加工后固形废弃物中多酚的提取量随提取时间的增加呈现先增加后下降的趋势, 在 60 min 时达到峰值, 60 min 后随着时间的增加多酚提取量出现下降。

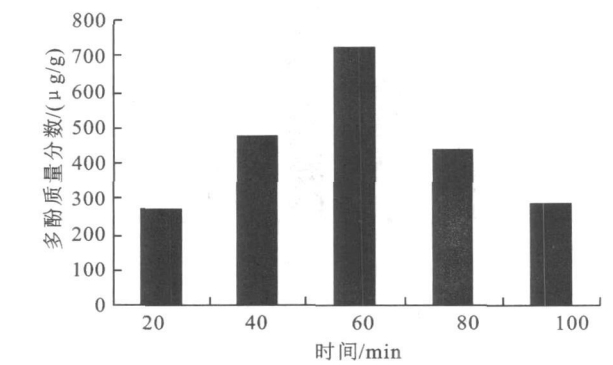


图 2 不同提取时间对甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取效果的影响

Fig. 2 Effect of extracting time on the extracting result of polyphenols from solid waste of processed *Ipomoea batatas* Lam.

2.4 料液质量体积比对多酚提取量的影响

图 3 表明, 随着料液质量体积比的增加, 甘薯工业加工后固形废弃物多酚的提取量略有增加, 料液质量体积比达到 1 g : 10 mL 时, 多酚提取量达到最大, 其后, 多酚提取率随料液比的继续增加而逐渐降低。

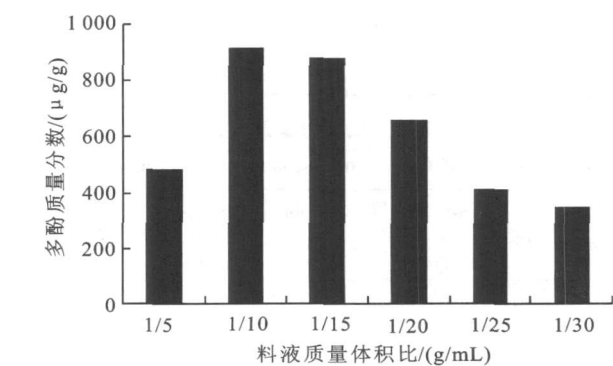


图 3 不同料液质量体积比对甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取效果的影响

Fig. 3 Effect of different solid-liquid ratios on the extracting result of polyphenols from solid waste of processed *Ipomoea batatas* Lam.

2.5 提取温度对多酚提取量的影响

图 4 表明, 随着提取温度的升高, 多酚提取量增加, 当提取温度为 40 ℃ 时, 多酚提取量达到最大, 再增加提取温度, 多酚提取量逐渐下降。

2.6 甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取工艺条件的优化

根据以上单因素试验结果, 设计四因素 3 水平

的正交试验 $L_9(3^4)$, 对影响甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取率的 4 个主要影响因素乙醇体积分数、提取时间、料液质量体积比、提取温度进行研究, 以便进一步优化多酚提取条件。

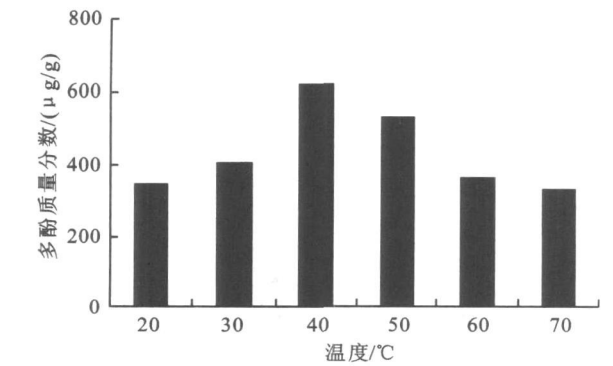


图 4 不同提取温度对甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取效果的影响

Fig. 4 Effect of different extracting temperature on the extracting result of polyphenols from solid waste of processed *Ipomoea batatas* Lam.

表 2 因素水平表
Tab. 2 Factors and levels

水平	因素			
	乙醇体积 分数 A / %	温度 B / °C	时间 C / min	料液比质量 体积 / (g / mL)
1	55	30	50	1 / 10
2	60	40	60	1 / 15
3	65	50	70	1 / 20

表 3 试验方案及结果
Tab. 3 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test and range analysis

试验号	乙醇体积 分数 A / %	温度 B / °C	时间 C / min	料液质量 体积比 D / (g / mL)	多酚 提取率 / (mg / g)
1	1(55)	1(30)	1(50)	1(1 / 10)	0. 21
2	1(55)	2(40)	2(60)	2(1 / 15)	0. 48
3	1(55)	3(50)	3(70)	3(1 / 20)	0. 69
4	2(60)	1(30)	3(70)	2(1 / 15)	0. 40
5	2(60)	2(40)	1(50)	3(1 / 20)	0. 28
6	2(60)	3(50)	2(60)	1(1 / 10)	0. 61
7	3(65)	1(30)	2(60)	3(1 / 20)	0. 62
8	3(65)	2(40)	3(70)	1(1 / 10)	0. 68
9	3(65)	3(50)	1(50)	2(1 / 15)	0. 60
K_1	1. 38	1. 24	1. 09	1. 49	
K_2	1. 29	1. 44	1. 71	1. 49	

续表 3

试验号	乙醇体积 分数 A / %	温度 B / °C	时间 C / min	料液质量 体积比 D / (g / mL)	多酚 提取率 / (mg / g)
K_3	1. 91	1. 90	1. 77	1. 59	$G= 4. 57$
k_1	0. 46	0. 41	0. 36	0. 50	$CT= 2. 32$
k_2	0. 43	0. 48	0. 57	0. 50	
k_3	0. 64	0. 63	0. 59	0. 53	
R	2. 397	2. 400	2. 418	2. 325	
SS	0. 077	0. 080	0. 098	0. 005	

注: K 为各因素某一水平结果之和; k 为各因素某一水平结果之和平均值; 角号 1~ 3 为各因素实验水平; G 为所设计 9 组实验得率结果之和; 表中 $R= (K_{12}+ K_{22}+ K_{32}) / 3$; $CT= G^2 / 9$; 偏差平方和 $SS= R- CT$ 。

由表 3 结果可知, 影响甘薯工业加工后固形废弃物中多酚物质提取量 4 个因素主次顺序为: $C > B > A > D$, 即提取时间 > 温度 > 乙醇体积分数 > 料液质量体积比, 表明提取时间对甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取影响最大, 其次为提取温度和乙醇体积分数, 料液比影响较小。

2 7 甘薯渣多酚对 H_2O_2 的清除率

过氧化氢(H_2O_2) 是生物细胞产生的常见活性氧之一, 具有类似氧自由基的损伤作用。因此, 清除 H_2O_2 对抗氧化防御有十分重要的意义。图 5 表明, 随着粗提液多酚浓度的递增, 提取物对过氧化氢的清除率也随之增高。

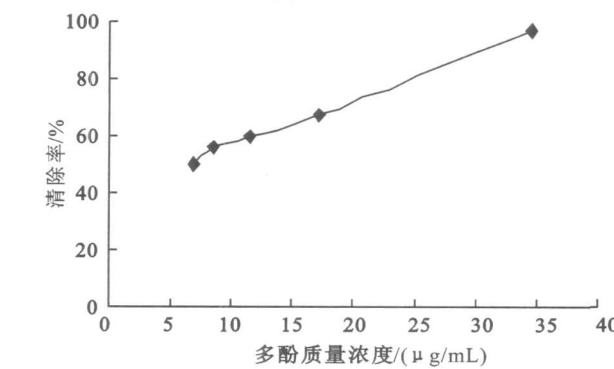


图 5 不同质量浓度多酚粗提液过氧化氢(H_2O_2) 清除能力

Fig. 5 H_2O_2 scavenging abilities of polyphenols extracted

2 8 多酚还原能力的测定

对于抗氧化剂来说, 其抗氧化活性和还原能力之间有着直接的联系。抗氧化剂还原能力越强, 表明其抗氧化活性越强, 故可通过测定样品的还原能力来说明其抗氧化活性的大小。图 6 表明, 在实验浓度范围内, 多酚粗提液具有较好的还原能力, 是良好的电子供应者, 且多酚质量分数越高还原能力

越强。

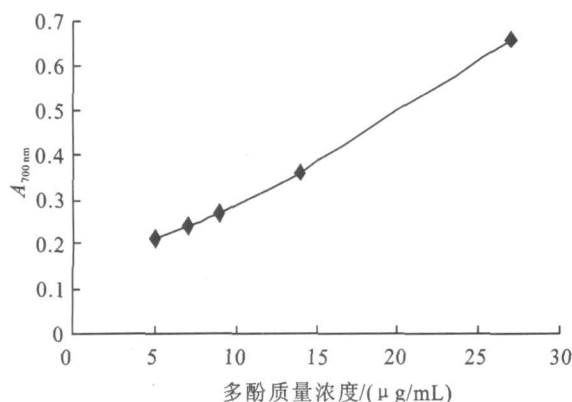


图6 不同质量浓度多酚粗提液还原能力

Fig. 6 The deoxidizing ability of polyphenols extracted

3 讨论

3.1 有机溶剂法提取多酚物质

多酚是多羟基化合物,易溶或可溶于水、醇类、醚类、酮类、酯类等,所以,溶剂萃取法因其工艺简便、成本低、纯度高而成为目前国内使用最广泛的多酚提取方法之一。在溶剂萃取法提取多酚过程中,溶剂的作用就是最大限度地削弱生物分子间的作用力,尽可能地增加目的分子与溶剂分子间的相互作用力^{[9][10]}。因此,实验中乙醇、甲醇、蒸馏水对甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取的效果差异可能与3种提取剂的极性大小有关,也可能与甘薯工业加工后固形废弃物细胞膜的通透性有关,或者可能与植物组织中蛋白质、生物碱、花色苷等物质键的缔合方式有关。

作为极性有机溶剂,既有亲水基团又有疏水基团,从广义上说,也是一种表面活性剂^[9]。在生物物质的提取过程中,受到提取剂浓度、pH、提取时间、提取液体积、温度等各种外界条件的影响。实验发现,随着提取剂乙醇体积分数的增大,多酚提取量逐渐增大。但当乙醇体积分数达到80%以上时,无法使用酒石酸亚铁分光光度法来测量多酚体积分数,推测可能由于提取液中除多酚外的杂质逐渐增多,或因为提取溶剂中水分的挥发减少引起反应体系通透性变差,造成多酚含量测定体系中具明显的絮状沉淀。随着提取时间的增加,多酚物质的溶解程度逐渐增强,多酚提取量逐渐增加,但当多酚溶解达到平衡后,提取时间的增加对多酚提取量的贡献程度降低,且因析出的多酚受光、热、多酚氧化酶等各种外界因素的影响,极易被氧化,因此,随着时间的增加多酚提取量反而出现下降的情况。溶剂萃取法提取多酚时,增加提取液的用量,提高

料液比,可以增加被提取物质与溶剂的接触率,提高生物物质的提取效果,提升多酚物质的提取量,但是,料液质量体积比过大导致的过量提取液,会使多酚物质的浓度降低,减少有效提取效率。温度过高或过低均影响多酚物质的提取。一般来说,温度升高则导致互溶的程度增加,也可以增大分子的扩散速度,提高多酚物质的提取率,但温度的继续增加,多酚提取量开始下降,可能与多酚的热稳定性有关。

3.2 植物多酚的抗氧化活性

植物多酚作为一类储量丰富、具有生物活性的天然化合物,能够有效清除人体内的过剩自由基^[11]。自由基是具有未配对价电子的原子、原子团、分子和离子^[11]。生物机体自由基的生成、代谢与机体健康密切相关,正常生命过程中产生的自由基是维持生命所必需的,但过量自由基的产生会对机体脂质、核酸、蛋白质和糖类生命分子造成损害,引发癌症等多种疾病^[12]。多酚通过还原反应降低环境中氧含量,同时作为氢供体,能提供质子,与环境中的自由基结合,清除自由基,且对自由基诱发的生物大分子损伤起到保护作用^[5]。实验发现,随着甘薯工业加工后固形废弃物粗提液多酚浓度的递增,提取物对过氧化氢的清除率也随之增高,而且,多酚粗提液具有较好的还原能力,是良好的电子供应者。

4 结语

通过对乙醇法提取甘薯工业加工后固形废弃物多酚正交试验结果分析可知,提取时间对甘薯工业加工后固形废弃物多酚提取影响最大,其次为提取温度和乙醇体积分数,料液质量体积比影响较小。在以后的研究中应该重点研究提取时间和提取温度对多酚提取的影响。作者优化得出了从甘薯工业加工后固形废弃物中提取多酚的最佳条件:提取温度50℃、乙醇体积分数55%、提取时间70 min、料液质量体积比1 g:20 mL。

研究中发现,随着粗提液多酚质量分数的增加其清除 H_2O_2 的能力及还原能力相应增加,表明甘薯渣多酚具有良好的抗氧化性能,是一种有效的外源性天然抗氧化剂。

作者采用的原料是甘薯加工厂在甘薯块根中提取淀粉后的固体废渣,其多酚含量虽已有一定损失,但实验发现其中仍含有较高的多酚含量,这为进一步促进甘薯工业废弃物中多酚等有效成分的综合利用,提高甘薯资源的附加值提供了一定的依据。

参考文献(References):

- [1] 赵秀玲. 甘薯的营养成分与保健作用[J]. 中国食物与营养, 2008, (10): 58– 60.
ZHAO Xiu-ling. Nutrient component and hygienic function of sweet potato[J]. **Food and Nutrition in China**, 2008, (10): 58– 60. (in Chinese)
- [2] 夏春丽, 于永利, 张小燕. 甘薯的营养保健作用及开发利用[J]. 食品工程, 2008, (3): 28– 31.
XIA Chun-li, YU Yong-li, ZHANG Xiao-yan. Nutrition and utilization of sweet potato[J]. **Food Engineering**, 2008, (3): 28– 31. (in Chinese)
- [3] 张余, 李敏, 贾小丽, 等. 甘薯资源的综合利用[J]. 粮食与食品工业, 2009, 16(1): 22– 25.
ZHANG Cuan, LI Min, JIA Xiao-li, et al. Comprehensive utilization of sweet potato resources[J]. **Cereal and Food Industry**, 2009, 16(1): 22– 25. (in Chinese)
- [4] 彭功波, 郑先波, 冀爱青, 等. 果树多酚类物质生理功能及应用研究进展[J]. 中国农学通报, 2010, 26(11): 157– 163.
PENG Gong-bo, ZHENG Xian-bo, JI Ai-qing, et al. The Advances of Study and Applications on Physiological Functions of Fruit Polyphenols[J]. **Chinese Agricultural Science Bulletin**, 2010, 26(11): 157– 163. (in Chinese)
- [5] 李健, 杨昌鹏, 李群梅, 等. 植物多酚的应用研究进展[J]. 广西轻工业, 2008, (12): 1– 3, 9.
LI Jian, YANG Chang-peng, LI Qun-mei. Advances in study of plant polyphenols' application[J]. **Guangxi Journal of Light Industry**, 2008, (12): 1– 3, 9. (in Chinese)
- [6] 李志洲, 刘军海. 回归正交实验设计优化提子中多酚类物质的提取工艺[J]. 食品工业科技, 2009, 30(3): 240– 243.
LI Zhi-zhou, LIU Jun-hai. Optimization of extract processing of polyphenol in kyohogrape by orthogonal regression design [J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2009, 30(3): 240– 243. (in Chinese)
- [7] 王静, 刘大川. 紫(白) 苏叶黄酮类化合物抗氧化性能的研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(3): 33– 36.
WANG Jing, LIU Da-Chuan. Antioxidative activity of flavonoids from folium perillae(purple & green leaves) [J]. **China Oils and Fats**, 2004, 29(3): 33– 36. (in Chinese)
- [8] 颜栋美, 姚艾东. 金花茶多酚抗氧化性能的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2009, 30(2): 42– 45.
YAN Dong-mei, YAO Ai-dong. Study on anti-oxidation of tea-polyphenols in *Camellia chryscath*[J]. **Journal of Henan University of Technology Natural Science Edition**, 2009, 30(2): 42– 45. (in Chinese)
- [9] 蒋立科, 罗曼. 生物化学实验设计与实践[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.
- [10] 蒋立科, 罗曼. 生物化学过程工程学[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [11] 黄优生, 谢明勇, 聂少平, 等. 山楂提取物的抗氧化活性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(2): 189– 192.
HUANG You-sheng, XIE Ming-yong, NIE Shao-ping, et al. Anti-oxidative activity of extracts from hawthorn[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2010, 29(2): 189– 192. (in Chinese)
- [12] 林樱姬, 赵萍, 王雅. 植物多酚的提取方法和生物活性研究进展[J]. 陕西农业科学, 2009, (6): 105– 107.
LIN Ying-ji, ZHAO Ping, WANG Ya. The progress of study on extracting methods and biological activity of plant polyphenols[J]. **Shaanxi Journal of Agricultural Sciences**, 2009, (6): 105– 107. (in Chinese)