

# 甜玉米芯多酚的超声提取工艺优化

赖富饶, 李臻, 吴晖, 李晓凤

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 通过单因素、正交实验及其方差分析探索超声波辅助提取甜玉米芯多酚的最优条件。采用 Folin-Ciocalteu 法测定提取液的总酚浓度。结果表明, 各种因素对提取率影响的顺序为: 其中对总酚的提取有显著影响。最佳提取工艺为: 固液比 1:15 (g/mL), 乙醇浓度 80%, 提取温度 40 °C, 超声功率 200 W, 提取时间 45 min, 在最佳工艺条件下多酚提取率达(2.61±0.09)%, 提取液 DPPH 自由基清除率为(70.05±0.17)%。

**关键词:** 甜玉米芯; 多酚; 超声提取

**文章编号:** 1673-9078(2012)1-52-55

## Optimization of Ultrasonic Extraction Process of Polyphenols from Sweet Corncobs

LAI Fu-rao, LI Zhen, WU Hui, LI Xiao-feng

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Single factor and orthogonal array design experiments were used to optimize the ultrasonic extraction conditions of polyphenol from sweet corncobs. The total polyphenol content was determined by the Folin-Ciocalteu assay. Results showed that the optimum extraction conditions were as follows: 45 min ultrasonic treatment at 200W power for extracting the raw material with a 15-fold volume of 80% aqueous ethanol solution at 40 °C. The yield of polyphenol was (2.61±0.09)%, under the optimum condition, and DPPH radical scavenging activity under this condition reached (70.05±0.17)%.

**Key words:** sweet corncob; polyphenol; ultrasonic extraction

甜玉米, 又称蔬菜玉米, 禾本科, 玉米属。甜玉米又称蔬菜玉米, 是欧美等发达国家的主要蔬菜之一。因其具有丰富的营养、甜、鲜、脆、嫩的特色而深受各阶层消费者青睐。全世界甜玉米产业在近 20 年稳步发展, 种植区域基本上遍布各大洲, 产量和面积大幅度提高。

目前, 我国年产玉米约 1.5 亿 t, 相应甜玉米芯的产量估计也在 4000 万 t 左右, 大量的甜玉米芯除了部分用作糠醛、木糖醇等产品的原料外, 很大一部分被作为农业废弃物, 直接燃烧处理, 造成资源的极大浪费<sup>[1]</sup>。广东省经济较发达, 气候优越, 甜玉米迅猛发展。2008 年, 广东省甜玉米面积 13.47 万 hm<sup>2</sup>, 产量 176.87 万 t, 面积和产量分别占全国的 51.31%、52%<sup>[2]</sup>。甜玉米芯在玉米生产区较为丰富, 除用于制取糠醛外, 大部分被作柴草烧掉, 实为可惜。

多酚是一类广泛存在于植物体内的多元酚化合物, 属于一种非营养性生物剂, 在保护人体不受自由

收稿日期: 2011-10-29

基金项目: 中央高校基本科研业务费资助项目 (2011ZB0012)

作者简介: 赖富饶 (1981-), 男, 博士, 研究方向: 天然产物化学

基所致的氧化损伤方面有十分重要的重用, 可直接影响到蛋白质、脂质、碳水化合物和 DNA。

超声辅助提取是多酚提取方法的一种, 超声波辅助提取的强化动力来源于其空化作用, 空化作用引起了湍动效应、微扰效应、界面效应和聚能效应等<sup>[4]</sup>。超声波被多个研究证明能够显著地减少提取时间并增加提取率从而促进许多植物原材料活性成分的提取<sup>[5]</sup>。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

甜玉米购于五山好当家购物广场。蒸煮后去除玉米粒, 将所剩甜玉米芯烘干, 粉碎, 过 60 目筛备用。

#### 1.2 仪器与试剂

KQ-250DE 型数控超声波清洗器, Spectrumlab 752S 紫外可见分光光度计, DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), 福林酚试剂(Folin-Ciocalteu), 没食子酸、无水乙醇、甲醇、无水碳酸钠(试剂均为分析纯)。

### 2 实验方法

### 2.1 标准曲线的绘制<sup>[6]</sup>

准确称取没食子酸试剂 0.1 g, 用 50% 甲醇溶解定容至刻度。分别取 0.6 mL、1.2 mL、1.8 mL、2.4 mL、3.0 mL、3.6 mL 于 6 个 100 mL 容量瓶, 以 50% 甲醇定容, 配制成浓度为 6、12、18、24、30、36  $\mu\text{g/mL}$  的标准液。吸取 0.5 mL 不同浓度的标准液于 10 mL 试管中, 加入 Folin-Ciocalteu 试剂 0.2 mL, 放置 10 min, 再加入 7% 的碳酸钠溶液 2 mL, 摇匀, 放置 15 min。于波长 750 nm 处测定其吸光度 A。以没食子酸浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

### 2.2 供试品溶液的制备及测定<sup>[7]</sup>

在不同条件下超声波辅助提取, 过滤, 得到提取液, 稀释十倍。用移液管量取 0.5 mL 稀释后的提取液至 10 mL 试管, 加入 Folin-Ciocalteu 试剂 0.2 mL, 放置 10 min, 再加入 7% 的碳酸钠溶液 2 mL, 摇匀, 放置 15 min。于波长 750 nm 处测定其吸光度 A。并用标准曲线的回归方程计算总酚含量。

### 2.3 DPPH 自由基清除能力测定<sup>[8]</sup>

将甜玉米芯多酚提取液稀释十倍, 以蒸馏水为空白对照组, 分别吸取 1 mL 蒸馏水和 1 mL 提取液于不同试管, 再加入 50  $\mu\text{g/mL}$  的 DPPH 甲醇溶液 1 mL, 在黑暗中放置 20 min。以蒸馏水调零, 并于 517 nm 处测其吸光度。多酚的 DPPH 自由基清除率按如下公式计算:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = [(A_0 - A_x) / A_0] \times 100\%$$

式中:  $A_0$  为蒸馏水对照组的吸光度,  $A_x$  为甜玉米芯多酚提取液的吸光度。

## 3 结果与分析

### 3.1 标准曲线的实验

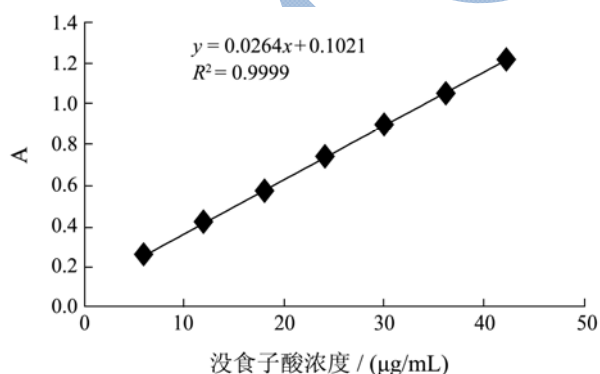


图1 没食子酸标准曲线

Fig.1 Standard curve of gallic acid

根据 2.1 的实验结果, 以吸光度 A 与没食子酸浓度 C( $\mu\text{g/mL}$ ) 作标准曲线, 得回归方程,  $A=0.0264C+0.1021$ ,  $R^2=0.9999$ 。

### 3.2 单因素实验

#### 3.2.1 提取时间对提取率的影响

分别称取五份甜玉米芯粉末 5.0 g, 按固液比 1:15 加 80% 的乙醇溶解后, 置于水温为 35  $^{\circ}\text{C}$  超声清洗器中, 200 W 功率下分别超声 15、30、45、60、75 min, 过滤, 取滤液, 稀释十倍。用移液管量取 0.5 mL 稀释后的提取液至 10 mL 试管, 加入 Folin-Ciocalteu 试剂 0.2 mL, 放置 10 min, 再加入 7% 的碳酸钠溶液 2 mL, 摇匀, 放置 15 min。于波长 750 nm 处测定其吸光度 A。并依照 2.3 的方法分别测量提取液 DPPH 自由基清除率。以提取时间为横坐标, 提取率与 DPPH 自由基清除率为纵坐标, 结果如图 2 所示。

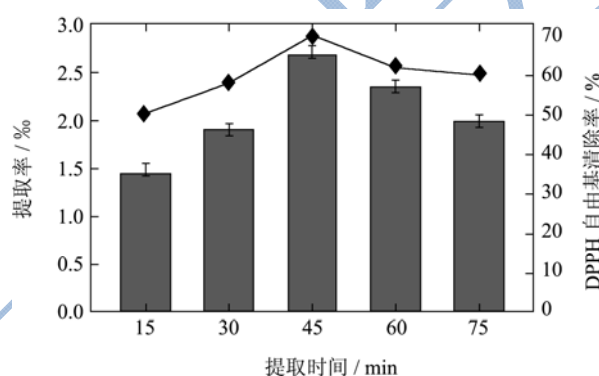


图2 不同提取时间对甜玉米芯多酚提取效果的影响

Fig.2 Effects of extraction time on extraction efficiency of polyphenols from sweet corn cobs

图2可以看出, 在固液比、乙醇浓度、超声功率、提取温度相同的情况下, 随着超声时间的延长, 甜玉米芯多酚的提取率有明显变化。随着超声时间的延长, 提取率与 DPPH 自由基清除率均逐渐提高, 在微波作用 45 min 时提取率为最佳, 此时提取液 DPPH 自由基清除率亦达最优值, 45 min 后提取率与 DPPH 自由基清除率均逐渐降低。

#### 3.2.2 超声功率对提取率的影响

分别称取五份甜玉米芯粉末 5.0 g, 按固液比 1:15 加 80% 的乙醇溶解后, 置于水温为 35  $^{\circ}\text{C}$  超声清洗器中, 分别在 150、175、200、225、250 W 功率下超声 45 min, 过滤, 取滤液, 稀释十倍。用移液管量取 0.5 mL 稀释后的提取液至 10 mL 试管, 加入 Folin-Ciocalteu 试剂 0.2 mL, 放置 10 min, 再加入 7% 的碳酸钠溶液 2 mL, 摇匀, 放置 15 min。于波长 750 nm 处测定其吸光度 A。并依照 2.3 的方法分别测量提取液 DPPH 自由基清除率。以超声功率为横坐标, 提取率与 DPPH 自由基清除率为纵坐标, 结果如图 3 所示。

从图3可以看出, 在固液比、乙醇浓度、超声时间、提取温度相同的条件下, 随着超声功率的增大, 甜玉米芯总酚提取率有明显变化, 在功率 200 W 时提

取率达到最高, 此时提取液 DPPH 自由基清除率亦为最佳值。

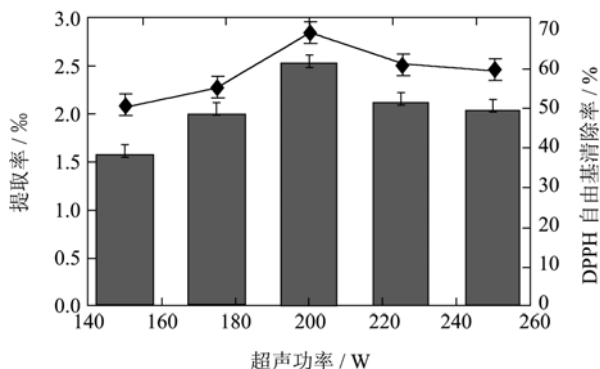


图3 不同超声功率对甜玉米芯多酚提取效果的影响

Fig.3 Effects of ultrasonic power on extraction efficiency of polyphenols from sweet corn cobs

### 3.2.3 固液比对提取率的影响

分别称取五份甜玉米芯粉末 5.0 g, 分别按固液比 (g/mL) 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25 加 80% 的乙醇溶解后, 置于水温为 35 °C 超声清洗器中, 在 200 W 功率下超声 45 min, 过滤, 取滤液, 稀释十倍。用移液管量取 0.5 mL 稀释后的提取液至 10 mL 试管, 加入 Folin-Ciocalteu 试剂 0.2 mL, 放置 10 min, 再加入 7% 的碳酸钠溶液 2 mL, 摇匀, 放置 15 min。于波长 750 nm 处测定其吸光度 A。并依照 2.3 的方法分别测量提取液 DPPH 自由基清除率。以固液比为横坐标, 提取率与 DPPH 自由基清除率为纵坐标, 结果如图 4 所示。

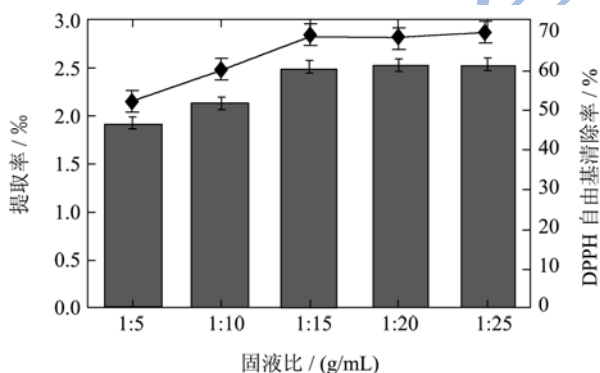


图4 不同料液比对甜玉米芯多酚提取效果的影响

Fig.4 Effects of solid-liquid ratios on extraction efficiency of polyphenols from sweet corn cobs

根据图 4 可以看出, 在超声功率、超声时间、乙醇浓度、提取温度相同的条件下, 随着固液比的增大, 甜玉米芯多酚的提取率逐渐增大, 当料液比为超过 1:15 后, 提取率的增加比较缓慢, 提取液 DPPH 自由基清除率亦趋于稳定。

### 3.2.4 乙醇浓度对提取率的影响

分别称取五份甜玉米芯粉末 5.0 g, 分别按固液比 1:15 加 60%、70%、80%、90%、100% 的乙醇溶解后,

置于水温为 35 °C 超声清洗器中, 在 200 W 功率下超声 45 min, 过滤, 取滤液, 稀释十倍。用移液管量取 0.5 mL 稀释后的提取液至 10 mL 试管, 加入 Folin-Ciocalteu 试剂 0.2 mL, 放置 10 min, 再加入 7% 的碳酸钠溶液 2 mL, 摇匀, 放置 15 min。于波长 750 nm 处测定其吸光度 A。并依照 2.3 的方法分别测量提取液 DPPH 自由基清除率。以乙醇浓度为横坐标, 提取率与 DPPH 自由基清除率为纵坐标, 结果如图 5 所示。

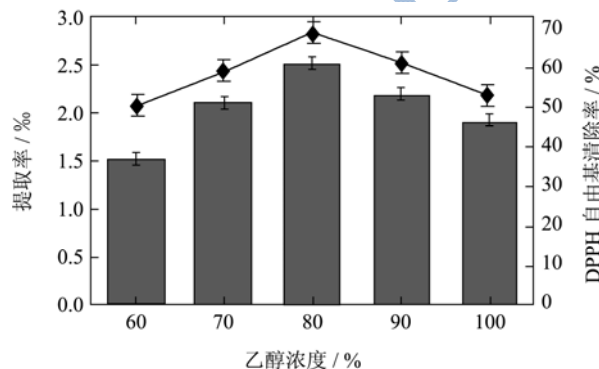


图5 不同乙醇浓度对甜玉米芯多酚提取效果的影响

Fig.5 Effects of ethanol concentrations on extraction efficiency of polyphenols from sweet corn cobs

从图 5 可以看出, 在固液比、超声功率、超声时间、提取温度相同的条件下, 随着乙醇浓度的增大, 对甜玉米芯多酚的提取率有较大影响, 以乙醇浓度 80% 为最佳, 此浓度下提取液 DPPH 自由基清除率亦达最大值。

### 3.2.5 提取温度对提取率的影响

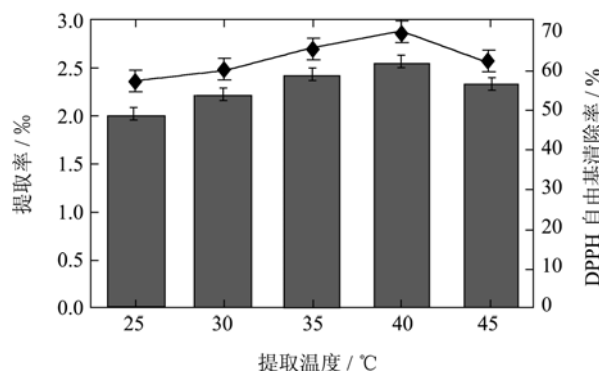


图6 不同提取温度对甜玉米芯多酚提取效果的影响

Fig.6 Effects of extraction temperatures on extraction efficiency of polyphenols from sweet corn cobs

分别称取五份甜玉米芯粉末 5.0 g, 按固液比 1:15 加 80% 的乙醇溶解后, 分别置于水温为 25、30、35、40、45 °C 超声清洗器中, 在 200 W 功率下超声 45 min, 过滤, 取滤液, 稀释十倍。用移液管量取 0.5 mL 稀释后的提取液至 10 mL 试管, 加入 Folin-Ciocalteu 试剂 0.2 mL, 放置 10 min, 再加入 7% 的碳酸钠溶液 2 mL,



摇匀,放置 15 min。于波长 750 nm 处测定其吸光度 A。并依照 2.3 的方法分别测量提取液 DPPH 自由基清除率。以提取温度为横坐标,提取率与 DPPH 自由基清除率为纵坐标,结果如图 6 所示。

从图 6 可以看出,在固液比、超声功率、超声时间、乙醇浓度相同的条件下,随着提取温度的增大,对甜玉米芯多酚的提取率有较大影响,以提取温度 35 °C 为最佳,此条件下提取液 DPPH 自由基清除率亦为最佳值。

### 3.3 正交实验

单因素实验对上述不同提取工艺参数进行了初步的筛选,为了分析参数影响主次因素,得到最佳的提取工艺,进行正交实验。参照单因素实验结果,以影响甜玉米芯总酚提取率最为显著的超声功率、超声时间、乙醇浓度、提取温度为四个影响因素,取各自不同水平进行正交实验,实验设计如表 1 所示<sup>[9]</sup>。

表 1 正交实验因素及水平

Table 1 Factors and levels in orthogonal array design

水平	因素			
	A(乙醇浓度/%)	B(提取温度/°C)	C(超声功率/W)	D(提取时间/min)
1	70	35	175	30
2	80	40	200	45
3	90	45	225	60

表 2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交实验设计及结果

Table 2 Orthogonal array design matrix and experimental results

试验号	A	B	C	D	多酚得率/%	DPPH 自由基清除率/%
1	1	1	1	1	1.62	50.03
2	1	2	2	2	2.05	58.47
3	1	3	3	3	1.86	54.22
4	2	1	2	3	2.34	64.10
5	2	2	3	1	2.58	69.01
6	2	3	1	2	2.41	67.14
7	3	1	3	2	1.86	52.78
8	3	2	1	3	2.12	59.94
9	3	3	2	1	1.97	57.33
k <sub>1</sub>	1.84	1.94	2.05	2.06		
k <sub>2</sub>	2.44	2.25	2.12	2.11		
k <sub>3</sub>	1.98	2.08	2.10	2.11		
R	0.60	0.31	0.07	0.05		

按照表 1 中数据进行 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交实验,所得结果见表 2、表 3。

从表 2 正交实验数据及计算结果可知,因素影响

的大小顺序:乙醇浓度>提取温度>超声功率>提取时间,理论最佳工艺条件为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即乙醇浓度为 80%,提取温度为 40 °C,超声功率为 200 W,提取时间 45 min。

对于影响因素最小的超声时间,即把 D 项以之作为误差项处理,进行方差分析,结果见表 3。

表 3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance of orthogonal array design

experimental results					
方差来源	离差平方和	自由度	F 值	F <sub>临界</sub>	显著性
A	0.591	2	118.20	19.00	*
B	0.145	2	29.00	19.00	*
C	0.008	2	1.60	19.00	
D	0.005	2	1.00	19.00	
误差	0.01	2			

最佳工艺验证实验:按最优方案提取甜玉米芯多酚,总酚提取率为(2.61±0.09)%,DPPH 自由基清除率为(70.05±0.17)%,优于正交实验及单因素中的任何一组实验,因此可以确认该方案为最优。

## 4 结论

由正交实验结果的极差分析以及方差分析可以看出,超声辅助提取甜玉米芯多酚实验的影响因素的主次顺序是乙醇浓度>提取温度>超声功率>提取时间,对提取工艺有显著影响的因素是乙醇浓度,提取温度,理论最佳工艺条件为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即固液比(g/mL)为 1:15,乙醇浓度为 80%,提取温度为 40 °C,超声功率为 200 W,提取时间 45 min。通过验证实验发现,此条件下所得提取液的总酚提取率为(2.61±0.09)%,DPPH 自由基清除率为(70.05±0.17)%,该工艺优于正交实验及单因素中的任何一组实验,因此可以确认该方案为最优。

## 参考文献

- [1] 徐淑芬.浅谈甜玉米芯的综合利用[J].科技情报开发与经济,2011,21(17):174-175
- [2] 潘艺,张禄祥,万忠,等.2009 年广东甜玉米产业发展现状分析[J].广东农业科学,2010,3:236-238
- [3] 屠幼英.茶叶抗癌及降脂作用机理研究现状[J].中草药,1991,22(9):419
- [4] 姚瑞祺.植物多酚提取分离方法研究进展[J].农产品加工学刊,2011,5(5):84-85
- [5] 温玲蓉,林恋竹,赵谋明.溪黄草常压回流提取物与减压回流提取物抗氧化性的比较[J].现代食品科技,2010,26(1):71-75

- [6] EMMONS C L, PETERSON D M. Antioxidant activity and phenolic content of Oat as affected by cultivar and location [J]. Crop Science, 2001,41(6):1676-1681
- [7] LEE H A, WICKER L. Anthocyanin pigments in the skin of lychee fruit [J]. Journal of Food Science, 1991, 56(2): 466-468
- [8] KUSKOSKI E M, ASUERO A G, MORALES M T, et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas [J]. Ciência Rural, 2006, 36(4): 1283-1287
- [9] 黄琼, 田玉红, 刘玉梅. 穿心莲总黄酮微波辅助提取工艺的研究[J]. 现代食品科技, 2011, 27(11): 1372-1374

现代食品科技