

# 芒果皮渣多酚的提取分离及抗氧化活性分析

胡会刚<sup>1</sup>, 赵巧丽<sup>2</sup>

(1. 中国热带农业科学院亚热带作物研究所, 农业部热带果树生物学重点实验室, 广东湛江 524091)

(2. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

**摘要:** 以芒果皮渣为原料, 通过单因素实验优选粗多酚的提取方法和工艺参数; 采用不同极性有机溶剂萃取粗多酚, 筛选多酚含量最高的组分, 并通过 HPD100 型大孔树脂分离纯化; 进一步, 采用 LC-Q-TOF-MS 法对纯化组分初步定性并比较了不同溶剂萃取相和纯化组分的体外抗氧化活性。结果表明, 超声辅助法对芒果皮渣多酚的提取效果较好, 最佳提取条件为: 乙醇浓度 80%、浸提时间 1.5 h、浸提温度 60 °C、超声功率 250 W、液料比 30:1 mL/g, 在此条件下, 多酚得率为 9.68%; 乙酸乙酯相所得多酚含量最高, 达到 254.41 mg/g; 从树脂纯化组分中共鉴定出 17 种化合物, 主要包括黄酮、黄酮醇、酚酸和鞣质等, 具有优异的抗氧化活性, 其清除 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup> 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基的 IC<sub>50</sub> 值分别为 0.191×10<sup>-3</sup> mg/mL、0.081 mg/mL、0.43 mg/mL 和 0.63 mg/mL。表明乙酸乙酯相中的纯化组分是深入挖掘芒果皮渣抗氧化功效的物质基础。

**关键词:** 芒果皮渣; 多酚; 提取; 分离纯化; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2020)02-53-62

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.2.009

## Extraction, Separation and Antioxidant Activity of Polyphenols from Mango Pomace

HU Hui-gang<sup>1</sup>, ZHAO Qiao-li<sup>2</sup>

(1. South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang 524091, China)(2. Food College, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** Using mango pomace as the raw material, the extraction method and process conditions of crude polyphenols were determined by single factor experiments. Crude polyphenols were extracted with organic solvents of different polarities to screen the components with the highest contents. These screened components were separated and purified by HPD100 macroporous resin. Furthermore, the purified components were qualitatively analyzed by LC-Q-TOF-MS, and comparison was made on the *in vitro* antioxidant activities of the extraction phases obtained by different solvents and the purified components. The results showed that ultrasonic-assisted extraction was more effective, with the optimal extraction conditions as: ethanol concentration 80%, extraction time was 1.5 h, extraction temperature was 60 °C, ultrasonic power was 250 W, and the liquid-to-material ratio 30:1 (V/W). Under these conditions, the yield of polyphenols was 9.68%. The content of polyphenols extracted by ethyl acetate was the highest (254.41 mg/g). A total of 17 compounds were identified from the purified components obtained by resin, which mainly included flavones, flavonols, phenolic acids and tannins, and had excellent antioxidant activities. The IC<sub>50</sub> values for the DPPH, ABTS<sup>+</sup>, hydroxyl and superoxide anion radical scavenging assays were 0.191×10<sup>-3</sup>, 0.081, 0.43 and 0.63 mg/mL, respectively. These results indicated that the purified components in the ethyl acetate phase were the material basis for the antioxidant activities of mango pomace.

**Key words:** mango pomace; polyphenols; extraction; separation and purification; antioxidant activity

芒果, 又名闷果, 含有丰富的蛋白质、糖类、类胡萝卜素等营养成分, 素有“热带水果之王”之美誉<sup>[1]</sup>。据统计, 我国热带亚热带地区芒果种植面积达

收稿日期: 2019-08-09

基金项目: 公益性行业(农业)科研经费项目(201503142-13)

作者简介: 胡会刚(1980-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 园艺产品采后保鲜

通讯作者: 赵巧丽(1990-), 女, 博士生, 研究方向: 功能成分提取分离及功效评价, 油脂与植物蛋白工程

8600 hm<sup>2</sup>, 总产量达几十万 t<sup>[2]</sup>。芒果不易储存, 除少量鲜销外, 大部分用于果汁、果脯等的生产加工, 在加工过程中会产生数百万吨的果皮、果核等副产物, 由于加工技术和相关研究匮乏, 导致大量皮渣被直接丢弃或填埋, 造成了严重的环境污染和资源浪费<sup>[1]</sup>。芒果皮占鲜果重的 15%~20%<sup>[3]</sup>, 研究表明, 其富含多酚(已报道的有芒果苷、没食子酸、间双没食子酸、槲皮素、异槲皮素、没食子鞣质等)、膳食纤维、果胶等活性成分<sup>[4-7]</sup>, 具有抗氧化、抗癌、抑菌、清除机体

内自由基、延缓机体衰老等功效<sup>[8-11]</sup>。因此,研究芒果皮渣的深加工及利用,对于延长芒果产业链,提高芒果的经济价值意义重大。

多酚是芳环上含有一个或多个羟基的化合物,性质活泼,具有抗氧化、抗癌、抗肿瘤、调节免疫和预防心血管疾病等功效。目前,有关芒果皮渣多酚的研究主要集中在粗多酚的提取工艺探索,抑菌和抗氧化活性评价等方面。杨郑州等<sup>[12]</sup>通过超声辅助法提取芒果皮多酚,所得多酚含量为 10.41~11.52 mg/g,其对·OH 和 DPPH·均具有较强的清除作用。刘焕云等<sup>[13]</sup>采用微波辅助法提取芒果皮多酚,发现以 60%乙醇做提取剂,控制液料比为 30:1 mL/g,经 160 W 微波处理 30 s 后于 60 °C 浸提 30 min,多酚得率可达 6.24%,其对 DPPH·具有较强的清除作用,对卵黄脂蛋白脂质过氧化具有一定的抑制作用。为深入研究芒果皮渣的主要抗氧化活性成分,本文采用有机溶剂萃取和大孔树脂分离法对芒果皮渣粗多酚进一步分离纯化,利用 LC-Q-TOF-MS 法对纯化组分进行初步鉴定,并通过清除 DPPH·、ABTS<sup>+</sup>·、·OH 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup>·法分析不同萃取相和纯化组分的体外抗氧化活性,以期对芒果皮渣抗氧化活性成分的深入探究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜芒果果实,采自国家热带果树种质资源圃芒果圃,蒸馏水清洗干净后取果皮,切成 1 cm×1 cm 小片,50 °C 恒温干燥 36 h,粉碎后过 60 目筛,置于干燥器中储藏备用。

1, 1-二苯基-2-苦肼基 (DPPH), 美国西格玛奥德里奇公司; 2, 2-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸二铵盐 (ABTS), 德国柯蕾贝尔公司; 抗坏血酸 (Vc), 广东光华化学试剂厂; 没食子酸、福林酚、无水碳酸钠、乙酸铵、水杨酸、双氧水、铁氰化钾、无水乙醇、甲醇、乙酸乙酯、石油醚、冰乙酸等, 国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

DFY-200C 型高速万能粉碎机, 上海利闻科学仪器有限公司; UV-1200 型紫外分光光度计, 上海美普达仪器有限公司; GL-20G-II 型高速冷冻离心机, 美国 Thermo 公司; RE-3000B 型旋转蒸发器, 德国海道尔夫公司; SHZ-D (III) 型循环水式多用真空泵, 巩义市英峪高科仪器; FD-1C-50 型真空冷冻干燥机, 上海乔跃电子有限公司; 1200 高效液相色谱仪 (连接有

二元泵、微型真空脱气机、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、G6540A MS Q-TOF 质谱检测器), 美国安捷伦公司; PS-30ALD 型超声波清洗仪, 深圳洁康洗净电器有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 芒果皮渣多酚的提取及多酚含量的测定

多酚含量的测定: 以没食子酸为标准品, 采用福林酚比色法测定多酚含量。准确吸取 0.2 mL 待测溶液, 依次加入 1.0 mL 10% 福林酚溶液和 2.8 mL 7.5% 碳酸钠溶液, 摇匀, 静置 30 min, 于 765 nm 波长处测定吸光度。以没食子酸溶液浓度为横坐标 ( $x$ ,  $\mu\text{g/mL}$ ), 吸光度为纵坐标 ( $y$ ), 绘制标准曲线, 得到回归方程为:  $y=0.0046x+0.0054$ ,  $R^2=0.9996$ 。

粗多酚的提取: 准确称取 1.0 g 芒果皮渣干粉, 加入适量提取剂, 置于一定温度和功率的超声波清洗仪中提取, 抽滤, 收集滤液, 滤渣重复提取一次。合并滤液, 蒸馏水定容至 100 mL 后参照上述方法测定多酚含量, 并根据式 (1) 计算多酚得率。

$$\text{多酚得率} = \frac{v_1 \times c}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $v_1$  为提取液定容体积, mL;  $c$  为多酚含量, mg/mL;  $m$  为芒果皮渣粉末质量, g。

#### 1.3.2 芒果皮渣多酚提取条件优选

##### 1.3.2.1 提取溶剂的筛选

准确称取芒果皮渣干粉 1.0 g, 固定浸提温度 60 °C、浸提时间 1 h、液料比 30:1 mL/g, 考察不同提取溶剂 (丙酮、乙酸乙酯、正丁醇、蒸馏水、甲醇和乙醇) 对多酚得率的影响。

##### 1.3.2.2 提取方法的确定

准确称取芒果皮渣干粉 1.0 g, 以乙醇做提取溶剂, 分别采用热水法、超声辅助法、超声-热水间歇式提取法和超声辅助酶法提取芒果皮渣多酚, 考察不同提取方法对多酚得率的影响。其中, 各提取方法的工艺参数设置如下:

(1) 热水法: 浸提温度 60 °C、浸提时间 1 h、液料比 30:1 mL/g。

(2) 超声辅助法: 超声功率 200 W, 其他参数同方法 (1)。

(3) 超声-热水间歇式提取法: 超声功率 200 W, 30 min 超声处理+30 min 水浴浸提, 其他参数同方法 (1)。

(4) 超声辅助酶法: 酶解温度 55 °C、酶解时间 1 h、纤维素酶用量 3%、pH 值 6.5、液料比 30:1 mL/g、超声功率 200 W。

### 1.3.2.3 工艺参数的优选

#### (1) 乙醇浓度的选择

准确称取芒果皮渣干粉 1.0 g, 固定浸提温度 60 °C、浸提时间 1 h、液料比 30:1 mL/g、超声功率 200 W, 考察不同乙醇浓度 (20%、40%、60%、80%、100%) 对多酚得率的影响。

#### (2) 浸提时间的选择

准确称取芒果皮渣干粉 1.0 g, 固定浸提温度 60 °C、液料比 30:1 mL/g、超声功率 200 W、乙醇浓度 80%, 考察不同浸提时间 (0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h) 对多酚得率的影响。

#### (3) 浸提温度的选择

准确称取芒果皮渣干粉 1.0 g, 固定乙醇浓度 80%、浸提时间 1.5 h、液料比 30:1 mL/g、超声功率 200 W, 考察不同浸提温度 (40、50、60、70、80 °C) 对多酚得率的影响。

#### (4) 超声功率的选择

准确称取芒果皮渣干粉 1.0 g, 固定乙醇浓度 80%、浸提时间 1.5 h、液料比 30:1 mL/g、浸提温度 60 °C, 考察不同超声功率 (100、150、200、250、300 W) 对多酚得率的影响。

#### (5) 液料比的选择

准确称取芒果皮渣干粉 1.0 g, 固定乙醇体积分数 80%、浸提时间 1.5 h、超声功率 250 W、浸提温度 60 °C, 考察不同液料比 (10、20、30、40、50 mL/g) 对多酚得率的影响。

## 1.3.3 芒果皮渣多酚的分离纯化

### 1.3.3.1 有机溶剂萃取

准确称取 30.0 g 芒果皮渣干粉, 按照上述最佳提取条件提取粗多酚。提取液减压浓缩至 100 mL, 依次用 100 mL 石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 每种溶剂萃取 3 次, 合并各项萃取液, 浓缩后冻干得到不同极性溶剂萃取相。称重后计算各萃取相得率, 并参照 1.3.1 的方法测定多酚含量。

### 1.3.3.2 HPD100 大孔树脂分离

将乙酸乙酯相冻干粉末配制成 3.0 mg/mL, pH 4.0 的溶液, 过滤除去不溶物。将已处理后的 HPD100 型大孔树脂湿法装柱, 去离子水平衡过夜, 以 1.0 mL/min 流速上样, 共上样 450 mL。待大孔树脂吸附完全后, 采用 70% 乙醇以 1.5 mL/min 流速洗脱, 分管收集, 每管 10 mL。参照 1.3.1 的方法测定各管多酚含量, 收集合并多酚含量较高的洗脱峰, 浓缩后冻干, 即得芒果皮渣精制多酚。

## 1.3.4 LC-Q-TOF-MS 分析

### 1.3.4.1 色谱分析条件

色谱柱: Agilent Zorbax C18 (210 mm×5.0 mm, 1.8 μm); 流动相: A 为 5 mmol/L 乙酸铵水溶液, B 为乙腈; 梯度洗脱: 0~0.5 min, 15% B; 0.5~4 min, 15%~90% B; 4~6 min, 15% B; 进样量 2 μL; 柱温 35 °C; 流速 0.4 mL/min。

### 1.3.4.2 质谱分析条件

采用电喷雾离子源 (Dual AJS ESI) 正、负离子模式分析鉴别, 雾化器为高纯氮气; 正离子模式下雾化器压力 0.276 MPa; 干燥气温度 320 °C; 干燥气流速 10 L/min; 鞘气温度 350 °C; 鞘气流速 11 L/min; 破碎电压 80 eV; 离子扫描范围 50~1700 *m/z*; 参比离子 *m/z* 121.0509, 922.0098; 负离子模式下其他参数同正离子模式, 参比离子 *m/z* 112.9856, 1033.9881; 二级质谱碰撞能量 10~40 eV。

## 1.3.5 抗氧化性能测定

### 1.3.5.1 DPPH 自由基 (DPPH·) 清除能力测定

参照 Fang 等<sup>[14]</sup>的方法并稍作修改。配制系列质量浓度梯度样品溶液, 取 2 mL 于具塞试管中, 分别加入 2 mL 0.2 mmol/L DPPH 溶液, 摇匀, 室温避光反应 30 min, 于 517 nm 处测定吸光度  $A_i$ 。以无水乙醇代替 DPPH 溶液测定吸光度  $A_j$ , 以蒸馏水代替样品溶液测定吸光度  $A_0$ 。以 Vc 作阳性对照。按照式 (2) 计算 DPPH·清除率。

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率} = \left[ 1 - \frac{A_i - A_j}{A_0} \right] \times 100\% \quad (2)$$

式中:  $A_i$  为不同质量浓度样品吸光度;  $A_j$  为不同质量浓度样品本底吸光度;  $A_0$  为空白对照吸光度。

### 1.3.5.2 ABTS 自由基 (ABTS<sup>+</sup>) 清除能力测定

参照 Ozgen 等<sup>[15]</sup>的方法并略作调整。取 50 μL 不同浓度样品溶液, 分别加入 4 mL ABTS<sup>+</sup> 反应液, 混匀, 避光反应 6 min, 在 732 nm 处测定吸光度  $A_x$ , 以甲醇作空白对照测定吸光度  $A_0$ 。以 Vc 作阳性对照。按照式 (3) 计算 ABTS<sup>+</sup>·清除率。

$$\text{ABTS}^+\cdot\text{清除率} = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100\% \quad (3)$$

### 1.3.5.3 羟自由基 (·OH) 清除能力测定

参照张莉等<sup>[2]</sup>的方法, 取 1 mL 不同浓度样品溶液, 依次加入 0.5 mL 9 mmol/L 水杨酸, 0.5 mL 9 mmol/L FeSO<sub>4</sub> 溶液, 5 mL 8.8 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液, 混匀, 室温静置 30 min, 于 510 nm 处测定吸光度  $A_i$ , 用蒸馏水代替 FeSO<sub>4</sub> 测定不同浓度样品溶液吸光度  $A_j$ , 用蒸馏水代替样品测定吸光度  $A_0$ 。以 Vc 作阳性对照。按照式 (4) 计算·OH 清除率。

$$\cdot\text{OH清除率} = \left[ 1 - \frac{A_i - A_j}{A_0} \right] \times 100\% \quad (4)$$

式中:  $A_i$  为不同浓度下样品的吸收度;  $A_j$  为不同样品溶液本底吸光度;  $A_0$  为空白对照吸光度。

### 1.3.5.4 超氧阴离子自由基 ( $O_2^{\cdot-}$ ) 清除能力测定

参照 Ling 等<sup>[16]</sup>的方法并略作调整。取 1 mL 不同浓度样品溶液, 加入 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液 (pH 8.2), 混匀, 再分别加入 0.4 mL 25 mmol/L 邻苯三酚溶液, 混匀, 5 min 后加入 10 mol/L HCl 终止反应, 于 325 nm 处测定吸光度值  $A_m$ ; 同法, 用蒸馏水代替邻苯三酚溶液, 测吸光值为  $A_n$ ; 用蒸馏水代替样品溶液, 测吸光值为  $A_q$ 。以 Vc 作阳性对照。按照式 (5) 计算  $O_2^{\cdot-}$  清除率。

$$O_2^{\cdot-} \text{清除率} = [1 - \frac{A_m - A_n}{A_q}] \times 100\% \quad (5)$$

### 1.3.5.5 还原力测定

参照张莉等<sup>[2]</sup>的方法, 取 2.5 mL 不同浓度样品溶液, 依次加入 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH 6.6)、2.5 mL 1%  $K_3Fe(CN)_6$  溶液, 混匀, 50 °C 水浴 20 min, 快速冷却, 加入 2.5 mL 10% TCA 终止反应。取 2.5 mL 反应上清液, 依次加入 2.5 mL 蒸馏水、0.5 mL 0.1%  $FeCl_3$  溶液, 混匀, 10 min 后于 700 nm 下比色, 以 Vc 作阳性对照。

## 1.4 数据处理

采用 Excel 2010 软件处理数据并作图, 所有实验均重复 3 次, 通过 SPSS 20.0 软件进行显著性分析, 置信区间取 95%。

## 2 结果与分析

### 2.1 芒果皮渣多酚提取工艺参数的优选

#### 2.1.1 提取溶剂的筛选

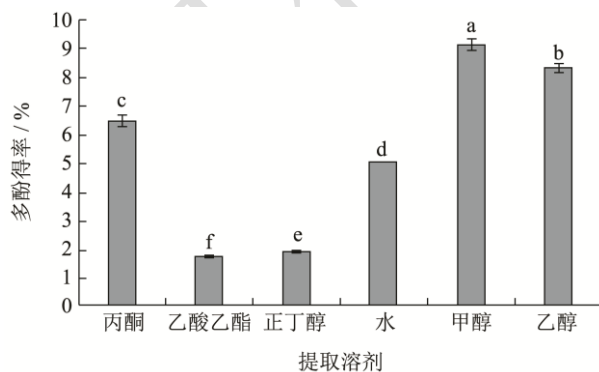


图 1 不同提取溶剂对多酚得率的影响

Fig.1 Effects of different extraction solvents on the yield rate of polyphenols

注: 标有不同字母表示组间显著性差异 ( $p < 0.05$ ), 相同字母表示组间差异不显著 ( $p > 0.05$ )。图 2 同。

由图 1 可知, 芒果皮渣多酚在乙酸乙酯和正丁醇中的溶解性较低, 得率仅为 1.77% 和 1.93%, 在蒸馏水的溶解性稍有改善, 得率达到为 5.06%, 而在甲醇和乙醇中溶解性较好, 得率分别达到 9.13% 和 8.31%。甲醇对芒果皮渣多酚的溶出量虽显著高于乙醇 ( $p < 0.05$ ), 但其毒性较大, 价格昂贵, 考虑到后续实验的安全性, 本研究选择乙醇作为最佳提取溶剂。

#### 2.1.2 提取方法的确定

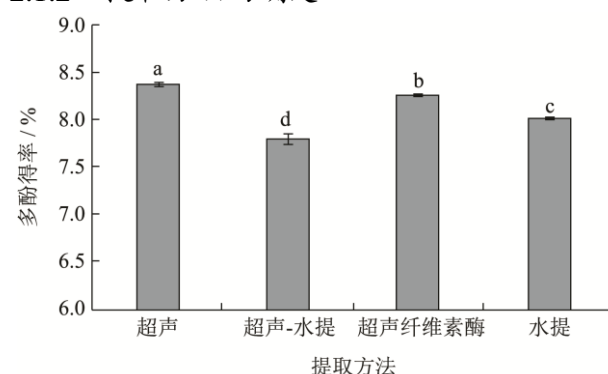


图 2 不同提取方法对多酚得率的影响

Fig.2 Effects of different extraction methods on the yield rate of polyphenols

由图 2 可知, 超声-热水间歇式提取法所得芒果皮渣多酚得率较低, 仅为 7.80%, 水提法和超声辅助纤维素酶法次之, 分别为 8.00% 和 8.25%, 而超声辅助法所得芒果皮渣多酚得率较高, 达到 8.35%。这可能是由于超声波产生的机械效应、热效应、空化效应、击碎效应等使细胞壁的破碎速度增加, 有效促进了细胞外部溶剂向细胞内部扩散, 进而使细胞内的有效成分充分溶出, 提高了浸提效率<sup>[17]</sup>。此外, 与超声辅助纤维素酶法比, 直接超声处理降低了提取成本, 因此, 后续实验选择超声辅助法进行芒果皮渣多酚的提取。

#### 2.1.3 工艺参数的优选

乙醇浓度 (a)、浸提时间 (b)、浸提温度 (c)、超声功率 (d) 和液料比 (e) 对芒果皮渣多酚得率的影响见图 3 所示。

由图 3a 可知, 芒果皮渣多酚得率随着乙醇浓度的增加逐渐增大, 当乙醇浓度为 80% 时, 多酚得率达到最大值 8.42%, 此后继续增大乙醇浓度, 多酚得率开始降低。唐诗等<sup>[18]</sup>在提取猕猴桃皮渣多酚时也发现类似结果。这可能是由于芒果皮渣中弱极性的酚类物质含量较高, 随着乙醇浓度的增大, 酚类物质与乙醇的结合作用逐渐增强, 导致其溶出量逐渐增加, 当乙醇浓度高于 80% 后, 由于提取溶剂的极性降低, 使得水溶性多酚的溶解能力下降, 进而导致多酚得率降低<sup>[19]</sup>。因此, 乙醇浓度应选择 80% 为宜。

由图 3b 可知, 随着浸提时间的延长, 芒果皮渣多

酚得率逐渐升高,并在浸提时间为 1.5 h 时达到最大值 9.14%,此后继续延长浸提时间,多酚得率逐渐降低。这可能是由于浸提 1.5 h 时,多酚已充分浸出,继续延长浸提时间可能会加速多酚氧化分解,并增加提取成本。因此,浸提时间应选择 1.5 h 为宜。

由图 3c 可知,芒果皮渣多酚得率随着浸提温度的升高逐渐增大,这可能是由于适当的高温可以加快酚类物质的扩散速度,使其更易于从原料中浸出,当浸提温度为 60 °C 时,多酚得率达到最大值 9.63%;此后继续升高浸提温度,多酚得率开始降低,这可能是由于温度过高导致多酚发生降解或提取溶剂损失较多所致<sup>[17]</sup>。因此,最佳浸提时间选择 60 °C。

由图 3d 可知,随着超声功率的增加,芒果皮渣多酚得率呈先增大后减小趋势,并在超声功率为 250 W 时,达到最大值 9.40%。随着超声功率的增加,超声波产生的机械效应和空化效应随之增强,加速了介质分子的运动、扩散和传播速度,使得酚类物质更易于溶出;但过大的超声功率产生的空化效应易破坏目标产物,且局部高温易使多酚氧化分解,进而降低多酚得率<sup>[20]</sup>。因此,最适超声功率应选择 250 W。

由图 3e 可知,随着液料比的增大,芒果皮渣多酚得率逐渐增大,当液料比为 30:1 mL/g 时,多酚得率达到 9.68%,此后继续增大液料比,多酚得率基本保持不变。适当加大液料比有利于酚类物质的充分溶出,但过大的液料比会造成溶剂浪费,增加生产成本,增大后续浓缩工艺的操作难度。因此,最适液料比应选择 30:1 mL/g。

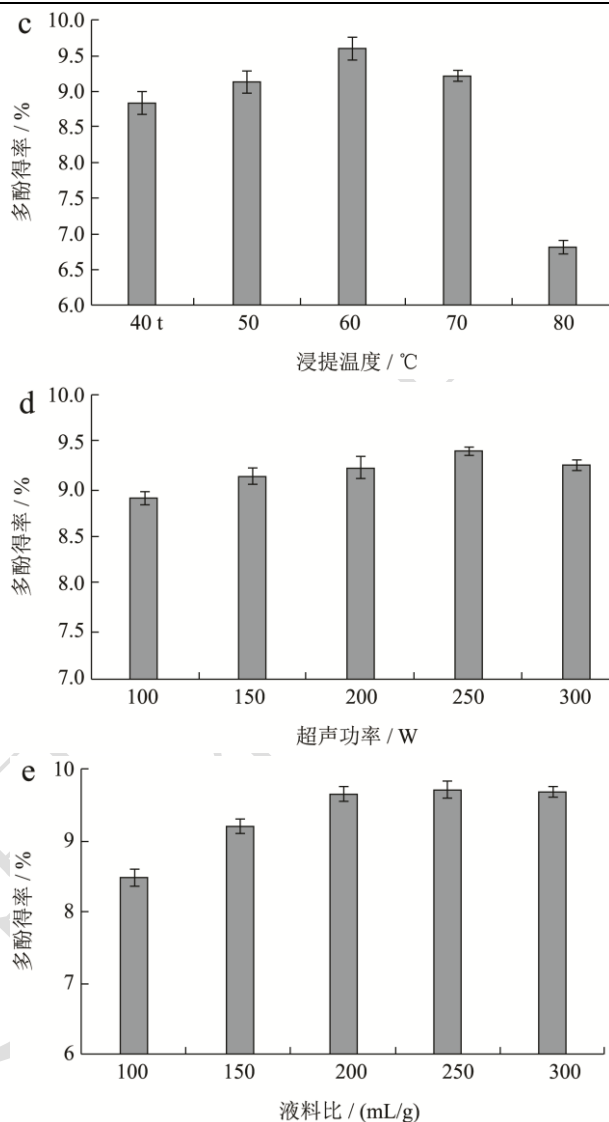
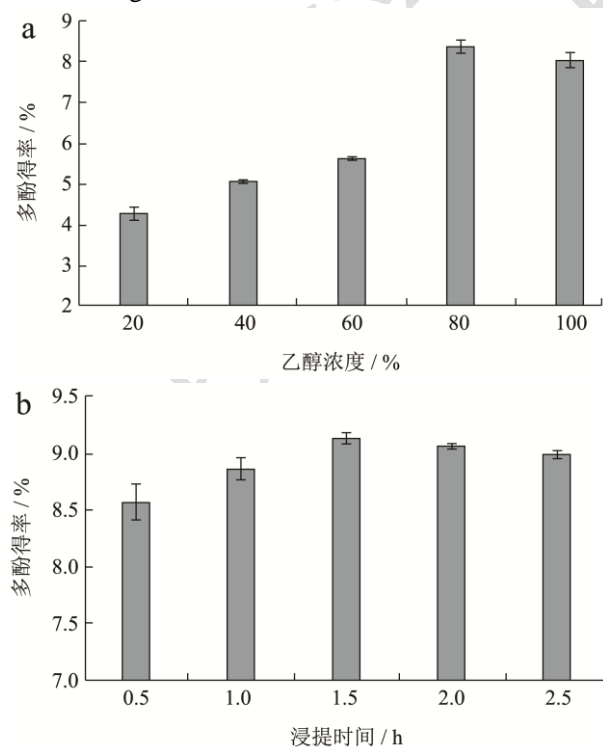


图 3 不同提取条件对多酚得率的影响

Fig.3 Effects of different extraction conditions on the yield rate of polyphenols

注: a: 乙醇浓度; b: 浸提时间; c: 浸提温度; d: 超声功率; e: 液料比。

综上所述,超声辅助法为芒果皮渣多酚的最适提取方法,最优工艺参数为:乙醇浓度 80%,浸提时间 1.5 h,浸提温度 60 °C,超声功率 250 W,液料比 30:1 mL/g,在此条件下,芒果皮渣多酚得率为 9.68%。

## 2.2 芒果皮渣多酚的分离纯化

### 2.2.1 有机溶剂萃取

为进一步探究芒果皮渣中的主要多酚组分,采用不同极性有机溶剂萃取粗多酚。由表 1 可知,水相得率最高,达 30.90%,乙酸乙酯相次之,为 27.15%,石油醚相和正丁醇相得率较低,仅为 11.35%和 10.24%;四种萃取相中,乙酸乙酯相多酚含量最高,达到 254.41 mg/g,分别比石油醚相和正丁醇相高

24.13%和 45.26%，而水相多酚含量最低，仅为 19.48 mg/g。云成悦等<sup>[21]</sup>在研究头花蓼多酚不同极性溶剂萃取物抗氧化活性时发现，乙酸乙酯萃取相多酚含量显著高于石油醚、氯仿和正丁醇萃取相，该结论与本研究结果一致。

表 1 不同有机溶剂萃取相得率及多酚含量

Table 1 Yield and polyphenol content of different organic

solvent extraction phases		
萃取相	得率/%	多酚含量/(mg/g)
石油醚相	11.35±0.28 <sup>c</sup>	193.03±3.64 <sup>b</sup>
乙酸乙酯相	27.15±0.33 <sup>b</sup>	254.41±3.13 <sup>a</sup>
正丁醇相	10.24±0.41 <sup>d</sup>	139.26±0.47 <sup>c</sup>
水相	30.90±0.37 <sup>a</sup>	19.48±0.18 <sup>d</sup>

注：同一列中标有不同字母表示组间显著性差异 ( $p < 0.05$ )，标有相同字母表示组间差异不显著 ( $p > 0.05$ )。

### 2.2.2 HPD100 型大孔树脂分离

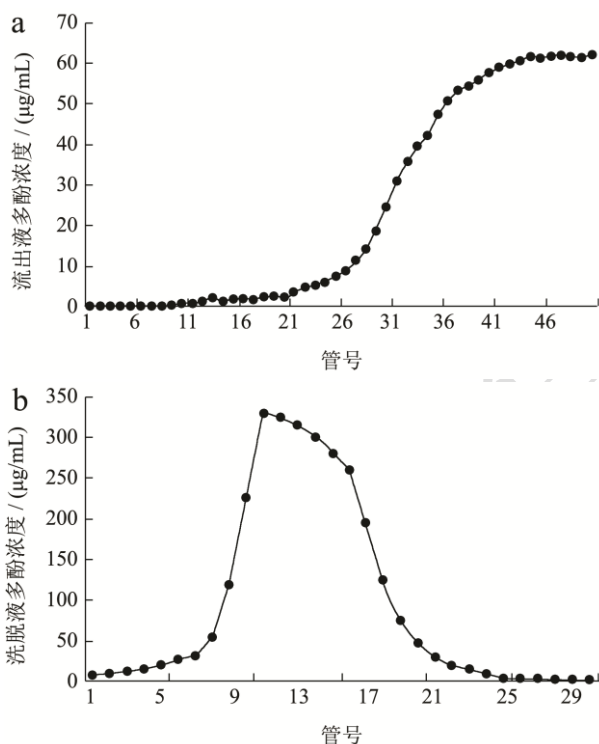


图 4 HPD100 型大孔树脂的动态吸附和洗脱曲线

Fig.4 Dynamic absorption and desorption curves of HPD100 type macroporous resin

由图 4a 可知，芒果皮渣多酚的动态吸附曲线呈“S”型，为理想动态吸附曲线。当进样量低于 200 mL 时，随着进样量的增加，流出液多酚含量维持在基线水平；当进样量超过 200 mL 后，流出液多酚含量迅速增加，并在进样量为 450 mL 时达到 61.78 µg/mL，接近上样液总多酚质量浓度的 1/10 (678 µg/mL)，表明 HPD100 型大孔树脂已吸附饱和。因此，芒果皮渣多酚粗提物的进样量应选择 450 mL 为宜。由图 4b 可知，动态洗脱时，大孔树脂上吸附的芒果皮渣多酚极易被 70% 乙醇洗脱下来，洗脱峰为单峰，主要集中在 7~25 管；当洗脱体积达到 100~160 mL 时，洗脱液多酚含量较高，并在 110 mL 时达到最大值 330.57 µg/mL；当洗脱体积为 250 mL 时，多酚基本被洗脱完全，流出液多酚浓度仅为 0.038 µg/mL。收集合并洗脱液，减压浓缩后冻干得到精制多酚。

### 2.3 LC-Q-TOF-MS 分析

采用 LC-Q-TOF-MS 法对 HPD100 型大孔树脂分离所得精制多酚中的主要化学成分进行初步鉴定，结果见表 2 所示。由表 2 可知，从精制多酚样品总离子流图中共检出 17 个色谱峰的相对分子质量与已知化合物的数据相符，其中正离子模式下 3 种，分别为槐角苷、畜苷、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷，负离子模式下 14 种，分别为 6-O-没食子酰葡萄糖、没食子酸、原儿茶素、槲皮素、异槲皮苷、间双没食子酸、1,3,6-三没食子酰葡萄糖、3,5-二-O-没食子酰基-4-O-二没食子酰基奎宁酸、2,3-二-O-没食子酰基-D-葡萄糖、(-)-表儿茶素、1,2,3,4,6-O-五没食子酰基葡萄糖、儿茶素没食子酸酯、荭草素、没食子酸乙酯。被鉴定出的化合物主要包括类黄酮、黄酮、黄酮醇、酚酸、鞣质及其他类型化合物，其出峰时间主要集中在 0~2 min。在所鉴定的化合物中，类黄酮类可降低毛细血管的通透性、止泻、抗病毒、抗癌；酚酸类化合物可抗炎、抗突变、抗氧化；黄酮类化合物可抗氧化、改善心血管疾病；表明所鉴别出的化合物能够很好地表征芒果皮渣多酚的化学物质和生物活性基础，可为芒果皮渣的深入研究和开发利用提供参考。

表 2 芒果皮渣精制多酚化学成分分析

Table 2 Analysis of chemical constituents of purified polyphenols from mango pomace

编号	保留时间/min	M±X	实际荷质比(m/z)	参考荷质比(m/z)	误差/( $\times 10^{-6}$ )	分子式	化合物名称
1	1.372	M+H	432.1060	432.1056	0.84	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	槐角苷
2	1.447	M+H	434.0852	434.0849	0.66	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	畜苷
3	1.647	M+H	478.1116	478.1111	1.647	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷

转下页

接上页

4	0.319	M-H	332.0744	332.0743	0.07	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	6-O-没食子酰葡萄糖
5	0.325	M-H	170.0218	170.0215	1.34	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	没食子酸
6	0.337	M-H	154.0267	154.0266	0.52	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	原儿茶素
7	0.349	M-H	322.0329	322.0325	1.22	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>9</sub>	间双没食子酸
8	0.350	M-H	636.0960	636.0963	0.35	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	1,3,6-三没食子酰葡萄糖
9	0.393	M-H	484.0854	484.0853	0.23	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	2,3-二-O-没食子酰基-D-葡萄糖
10	0.432	M-H	800.1072	800.1072	-0.09	C <sub>35</sub> H <sub>28</sub> O <sub>22</sub>	3,5-二-O-没食子酰基-4-O-二没食子酰基奎宁酸
11	0.651	M-H	290.0790	290.0790	-0.16	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	(-)-表儿茶素
12	1.387	M-H	464.0954	464.0955	-0.13	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	异槲皮苷
13	1.436	M-H	940.1182	940.1182	0.04	C <sub>41</sub> H <sub>32</sub> O <sub>26</sub>	1,2,3,4,6-O-五没食子酰基葡萄糖
14	1.461	M-H	442.0898	442.0900	-0.49	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	儿茶素没食子酸酯
15	1.485	M-H	448.1005	448.1006	-0.21	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	荭草素
16	1.731	M-H	302.0427	302.0427	0.10	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	槲皮素
17	3.235	M-H	198.0529	198.0528	0.23	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	没食子酸乙酯

## 2.4 芒果皮渣多酚不同溶剂萃取相及精制多

### 酚的抗氧化活性分析

#### 2.4.1 DPPH·清除能力比较

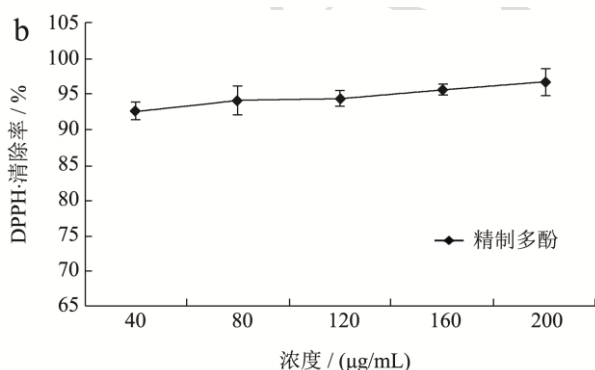
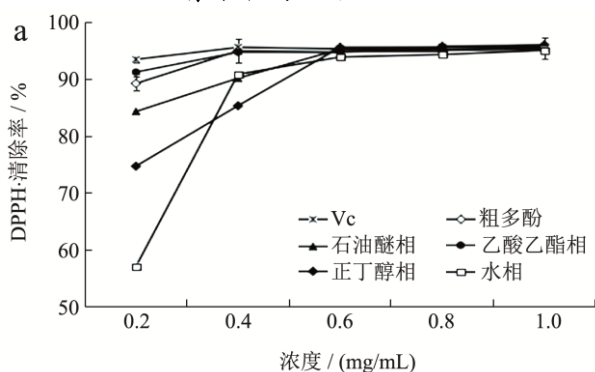


图5 芒果皮渣多酚不同极性组分及精制多酚对DPPH·的清除作用

Fig.5 DPPH· scavenging capacity of different polar fractions of polyphenols and purified polyphenol from mango pomace

由图5可知,不同抗氧化剂对DPPH·均具有较强的清除能力,且清除率与样品浓度呈剂量依赖性,当

浓度为0.2 mg/mL时,Vc、粗多酚、石油醚相、乙酸乙酯相、正丁醇相和水相的清除率分别为93.22%、89.00%、84.08%、91.00%、74.50%和56.91%,当浓度为0.6 mg/mL时,各组样品的清除率均接近96%;此外,精制多酚对DPPH·也呈现出较强的清除能力,在浓度为80 μg/mL时,清除率即达93.84%。由曲线增长阶段分别拟合线性公式计算IC<sub>50</sub>值,得到各组样品抗氧化能力IC<sub>50</sub>值的大小顺序依次为:精制多酚(0.191×10<sup>-3</sup>)>Vc(0.0004)>乙酸乙酯相(0.001)>粗多酚(0.005)>石油醚相(0.033)>正丁醇相(0.097)>水相(0.160),表明芒果皮渣多酚经纯化处理后对DPPH·的清除效果更好。

#### 2.4.2 ABTS<sup>+</sup>清除能力比较

不同极性溶剂萃取相及精制多酚对ABTS自由基的清除能力见图6所示。由图6可知,不同抗氧化剂对ABTS<sup>+</sup>的清除能力各有不同。精制多酚对ABTS<sup>+</sup>自由基的清除作用最强,且清除率与浓度呈现良好的线性关系,在浓度为200 μg/mL时,清除率即达到96.70%。此外,Vc和各萃取相对ABTS<sup>+</sup>也具有较好的清除作用,且清除率与浓度呈正相关,在浓度为0.6 mg/mL时,乙酸乙酯相、Vc和石油醚相的清除率分别为99.30%、99.19%和98.16%;在浓度为0.8 mg/mL时,粗多酚和正丁醇相的清除率分别为99.35%和99.60%;相对而言,水相对ABTS<sup>+</sup>的清除能力较弱,在浓度为1.0 mg/mL时,清除率仅为31.89%。各组样品抗氧化能力IC<sub>50</sub>值的大小顺序依次为:精制多酚(0.081)>乙酸乙酯相(0.11)>Vc(0.13)>石油醚相(0.22)>正丁醇相(0.26)>粗多酚(0.27)>水相(7.75),表明纯化组分对ABTS<sup>+</sup>的清除效果更好。

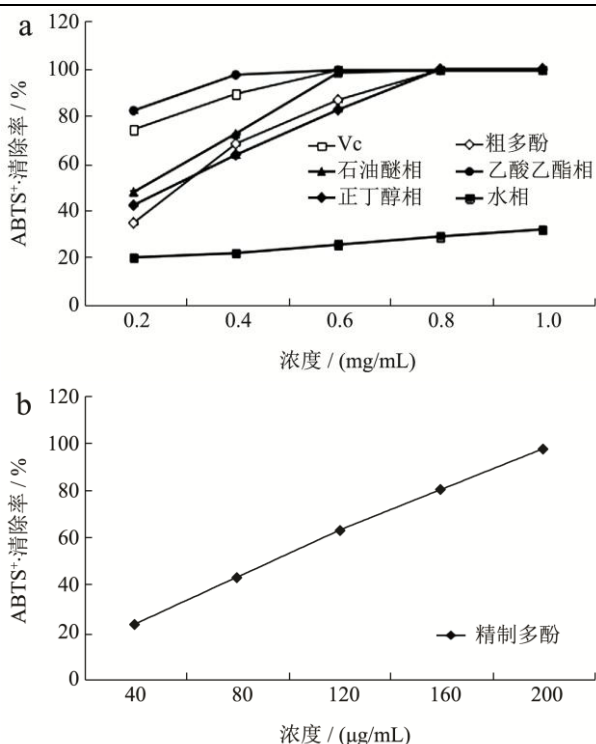


图6 芒果皮渣多酚不同极性组分及精制多酚对 ABTS<sup>+</sup> 的清除作用

Fig.6 ABTS<sup>+</sup> scavenging capacity of different polar fractions of polyphenols and purified polyphenol from mango pomace

### 2.4.3 ·OH 清除能力比较

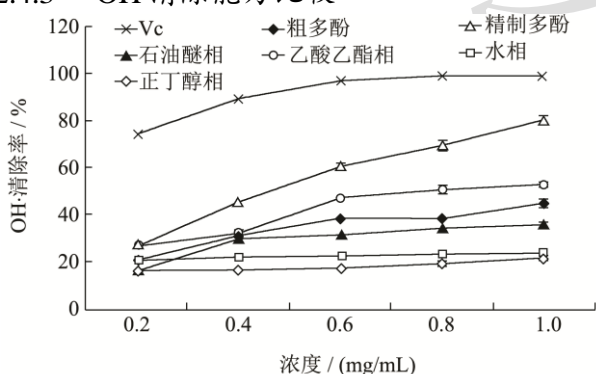


图7 芒果皮渣多酚不同极性组分及精制多酚对 ·OH 的清除作用

Fig.7 ·OH scavenging capacity of different polar fractions of polyphenols and purified polyphenol from mango pomace

由图7可知,不同抗氧化剂对·OH的清除能力各有不同。其中正丁醇相和水相的清除作用最弱,在浓度为1.0 mg/mL时清除率仅为20.61%和23.48%,石油醚相和粗多酚次之,清除率分别达到36.64%和44.20%;精制多酚和乙酸乙酯相对·OH的清除能力较强,且呈一定的剂量依赖性,当浓度为1.0 mg/mL时清除率分别达到79.74%和52.70%,但均显著低于同浓度Vc溶液(98.85%)的清除率( $p < 0.05$ )。此外,

各组样品抗氧化能力 IC<sub>50</sub> 值的大小顺序依次为: Vc (0.13) > 精制多酚 (0.43) > 乙酸乙酯相 (0.82) > 粗多酚 (1.38) > 石油醚相 (2.20) > 正丁醇相 (1469.58) > 水相 (13647.32)。表明芒果皮渣多酚经纯化处理后对·OH的清除能力增强。

### 2.4.4 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 清除能力比较

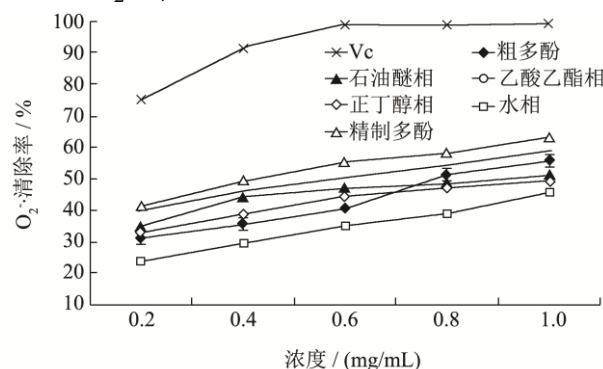


图8 芒果皮渣多酚不同极性组分及精制多酚对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除作用

Fig.8 O<sub>2</sub><sup>-</sup> scavenging capacity of different polar fractions of polyphenols and purified polyphenol from mango pomace

由图8可知,在0.2~1.0 mg/mL的浓度范围内,不同抗氧化剂对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除能力均随着浓度的增加而增强,但均显著低于系列浓度Vc的清除率。当浓度由0.2 mg/mL增至1.0 mg/mL时,精制多酚对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除率由40.87%增至67.72%,乙酸乙酯相对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除率由39.43%增至58.75%,石油醚相对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除率由34.39%增至50.88%,正丁醇相对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除率由32.78%增至49.35%,粗多酚对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除率由30.36%增至55.23%,而水相对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除率较低,仅从23.83%增至45.12%。此外,各组样品抗氧化能力 IC<sub>50</sub> 值的大小顺序依次为: Vc (0.12) > 乙酸乙酯相 (0.54) > 精制多酚 (0.63) > 粗多酚 (0.84) > 石油醚相 (0.88) > 正丁醇相 (1.05) > 水相 (1.62)。表明芒果皮渣多酚经过纯化处理后对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除能力有所增强。

### 2.4.5 还原力

由图9可知,乙酸乙酯相和精制多酚的还原力较强,在浓度为0.2 mg/mL时,还原力即分别达到2.91和3.00;粗多酚、石油醚相和正丁醇相的还原力随着浓度的增加逐渐增大,并在浓度为0.6 mg/mL时分别达到2.69、2.87和2.78,显著高于同浓度Vc(2.32)的还原力( $p < 0.05$ ),此后继续增大各样品的浓度,还原力仍保持该变化趋势。相对而言,水相的还原力较低,当浓度增至1.0 mg/mL时,还原力仅为0.65。表明芒果皮渣多酚经纯化处理后还原能力增强。



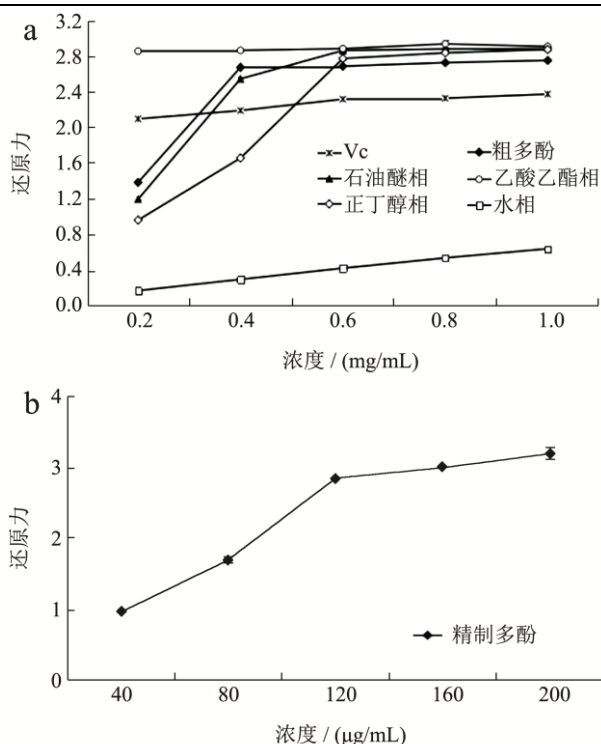


图9 芒果皮渣多酚不同极性组分及精制多酚的还原力

Fig.9 The reducing power of different polar fractions of polyphenols and purified polyphenol from mango pomace

表3 芒果皮渣多酚不同极性组分及精制多酚的抗氧化活性 IC<sub>50</sub> 值

Table 3 The IC<sub>50</sub> value of different polar fractions of polyphenols and purified polyphenol from mango pomace

待测样品	IC <sub>50</sub> /(mg/mL)			
	DPPH·	ABTS <sup>+</sup> ·	·OH	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ·
Vc	0.0004 <sup>d</sup>	0.13 <sup>d</sup>	0.13 <sup>e</sup>	0.12 <sup>f</sup>
粗多酚	0.005 <sup>d</sup>	0.27 <sup>b</sup>	1.38 <sup>cd</sup>	0.84 <sup>c</sup>
石油醚相	0.033 <sup>c</sup>	0.22 <sup>c</sup>	2.20 <sup>c</sup>	0.88 <sup>c</sup>
乙酸乙酯相	0.001 <sup>d</sup>	0.11 <sup>d</sup>	0.82 <sup>de</sup>	0.54 <sup>c</sup>
正丁醇相	0.097 <sup>b</sup>	0.26 <sup>b</sup>	1469.58 <sup>b</sup>	1.05 <sup>b</sup>
水相	0.160 <sup>a</sup>	7.75 <sup>a</sup>	13647.32 <sup>a</sup>	1.62 <sup>a</sup>
精制多酚	0.191×10 <sup>-3c</sup>	0.081 <sup>e</sup>	0.43 <sup>e</sup>	0.63 <sup>d</sup>

注：同一列中标有不同字母表示组间差异显著 (p<0.05)，标有相同字母表示组间差异不显著 (p>0.05)。

### 3 结论

本文以芒果皮渣为原料，优选超声辅助法提取粗多酚，最佳提取条件为：乙醇浓度 80%、浸提时间 1.5 h、浸提温度 60 °C、超声功率 250 W、液料比 30:1 mL/g，在此条件下，芒果皮渣多酚得率为 9.68%。通过有机溶剂萃取和 HPD100 型大孔树脂分离纯化，得到乙酸乙酯相中的主要纯化组分。通过 LC-Q-TOF-MS 正、负离子模式质谱分析，发现精制多酚中存在 17

种化合物，主要包括类黄酮、黄酮、黄酮醇、酚酸、鞣质等。通过比较 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基的清除能力与还原力，发现精制多酚具有较强的抗氧化活性，其清除 DPPH·、ABTS<sup>+</sup>·、·OH 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup>·的 IC<sub>50</sub> 值分别为 0.191×10<sup>-3</sup> mg/mL、0.081 mg/mL、0.43 mg/mL 和 0.63 mg/mL。表明芒果皮渣有望作为天然抗氧化剂和功能性食品基料加以开发利用。

### 参考文献

- [1] 赵巧丽,刘玉革,林丽静,等.芒果皮渣多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J].保鲜与加工,2019,19(1):102-110  
ZHAO Qiao-li, LIU Yu-ge, LIN Li-jing, et al. Optimization of extraction technique of polysaccharides from mango pomace and its antioxidant activities [J]. Storage and Process, 2019, 19(1): 102-110
- [2] 张莉,赵巧丽,刘翠芳,等.芒果皮渣多糖的超声波辅助提取及其抗氧化活性研究[J].热带农业科学,2017,37(10):72-78  
ZHANG Li, ZHAO Qiao-li, LIU Cui-fang, et al. Analysis of antioxidant activities of polysaccharides extracted from mango peels by ultrasonic extraction process [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2017, 37(10): 72-78
- [3] Beerh O P, Raghuramaiah B, Krishnamurthy G V, et al. Utilization of mango waste: recovery of juice from waste pulp and peel [J]. Journal Food Science and Technology, 1976, 13, 138-141
- [4] Romeo R, Juan C, Contreras-Esquivel M T, et al. Mango peel as source of antioxidants and pectin: Microwave assisted extraction [J]. Waste and Biomass Valorization, 2015, 6(6): 1095-1102
- [5] 张国治,薛慧.芒果皮中多酚提取工艺的优化[J].河南工业大学学报(自然科学版),2011,32(3):35-40  
ZHANG Guo-zhi, XUE Hui. Optimization of extraction technology of polyphenols from mango peel [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2011, 32(3): 35-40
- [6] Debasis B, Manashi B, Sidney J S, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention [J]. Toxicology, 2000, 148(2): 187-197
- [7] Ajila C M, Bhat S G, Rao U J S P. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties [J]. Food Chemistry, 2007, 102(4): 1006-1011
- [8] Wang Z Y, Li Q B, Yang C X, et al. Polyphenol contents in eight fruits and their antioxidant activities [J]. Natural Product

- Research & Development, 2007, 19(6): 1040-1043
- [9] Berardini N, KnDler M, Schieber A, et al. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2005, 6(4): 448-452
- [10] Rastrelli L, Villa D G, Selles A J N. Mango polyphenols and its protective effects on diseases associated to oxidative stress [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2015, 16(3): 272-280
- [11] 陈彩萍,陆翔,郭文利,等.芒果多酚对人乳腺癌细胞 MCF10DCIS.com 裸鼠移植瘤的抑制作用及其对 mTOR 通路的影响[J].中国中医药科技,2017,24(6):729-732  
CHEN Cai-ping, LU Xiang, GUO Wen-li, et al. Research on inhibitory effect of mango polyphenols on human breast cancer cell line MCF10DCIS.com in nude mice and influences on mTOR pathway [J]. Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology, 2017, 24(6): 729-732
- [12] 杨郑州,陆雪梅,谢晓娜.芒果多酚含量及抗氧化能力的测定[J].安徽农学通报,2017,23(11):148-149,176  
YANG Zheng-zhou, LU Xue-mei, XIE Xiao-na. Determination of polyphenol content and antioxidant capability of mango [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2017, 23(11): 148-149, 176
- [13] 刘焕云,王艳哲,李敬,等.芒果皮多酚的微波辅助提取及体外抗氧化活性研究[J].中国调味品,2019, 44(3): 7-10  
LIU Huan-yun, WANG Yan-zhe, LI Jing, et al. Study on microwave-assisted extraction of polyphenols from mango peel and their antioxidant activities *in vitro* [J]. China Condiment, 2019, 44(3): 7-10
- [14] Fang C, Huang G L. Antioxidant activity of polysaccharides from different sources of ginseng [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 125: 906-908
- [15] Ozgen M, Reese R N, Tulio A Z, et al. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (abts) method to measure antioxidant capacity of Selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1 picrylhydrazyl (DPPH) methods [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(4): 1151-1157
- [16] Ling C, Huang G L. Extraction, characterization and antioxidant activities of pumpkin polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118: 770-774
- [17] 郝鑫,吕慧威,沈晓溪,等.响应面法优化超声波辅助提取金红苹果多酚工艺研究[J].食品工程,2019,2:6-12  
HAO Xin, LV Hui-wei, SHEN Xiao-xi, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polyphenols from Jinhong-apple by response surface methodology [J]. Food Engineering, 2019, 2: 6-12
- [18] 唐诗,周艳,张业芳,等.猕猴桃皮渣多酚的提取与成分分析[J].食品科技,2018,43(11): 233-239  
TANG Shi, ZHOU Yan, ZHANG Ye-fang, et al. Extraction and composition analysis of polyphenols from kiwi pomace [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(11): 233-239
- [19] 陈金玉,曾健,李春美.龙眼核多酚提取工艺的正交试验优化及其分离纯化与结构表征[J].食品科学,2015,36(16):31-37  
CHEN Jin-yu, ZENG Jian, LI Chun-mei. Separation and purification of phenols from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seeds and their structural analysis [J]. Food Science, 2015, 36(16): 31-37
- [20] 程瑞喜,王璐璐,陈德蓉,等.超声波辅助酶法提取葡萄皮渣多酚工艺优化[J].食品工业科技,2019,40(9):198-201  
CHEN Rui-xi, WANG Lu-lu, CHEN De-rong, et al. Process Optimization for ultrasonic-assisted enzymatic extraction of polyphenols from grape pomace [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(9): 198-201
- [21] 云成悦,李潇彬,郑奎玲,等.头花蓼多酚不同极性溶剂萃取物的抗氧化活性[J].食品工业科技,2018,39(3):61-66  
YUN Cheng-yue, LI Xiao-bin, ZHENG Kui-ling. Antioxidant activities of different polar solvent extracts from polyphenol of polygonum capitatum [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(3): 61-66

(上接第 24 页)

- [18] 靳亚妮,王海琳,侯大乔.STAT3 信号转导通路调控人宫颈癌 HeLa 细胞增殖、凋亡的机制[J].中国妇幼保健,2011(29): 112-115  
JIN Ya-ni, WANG Hai-lin, HOU Da-qiao. Mechanisms of STAT3 signaling pathway in proliferation and apoptosis of human cervical cancer hela cells [J]. China Maternal and Child Health Care, 2011 (29): 112-115