

酶-微波法协同提取莜麦酚类物质工艺的研究

任志龙¹, 吕俊丽^{2*}, 王 涵¹, 王海峰¹

(1. 包头轻工职业技术学院食品药品工程学院, 内蒙古 包头 014035; 2. 内蒙古科技大学生命科学与技术学院, 内蒙古 包头 014010)

摘 要: 莜麦是内蒙古地区特色作物之一, 具有降血糖、降血脂等生理功能。为了最大程度提取莜麦中的多酚, 拟采用酶-微波法协同提取莜麦中的酚类物质。试验以多酚得率为依据, 莜麦经复合酶预处理后, 利用单因素及正交试验对酶-微波法协同提取工艺进行优化, 结果表明: 当复合酶用量 0.8%, 酶解时间 80 min, 酶解温度 55℃, pH 值 5.0 时, 莜麦多酚最佳提取工艺为: 乙醇浓度 80%, 提取温度 60℃, 微波功率 700 W。此时莜麦酚类物质得率为 2.01 mg/g。同时, 酶-微波法提取的酚类物质得率比酶法、微波法分别提高 42% 和 85%, 表明酶-微波法可作为一种高效提取莜麦酚类物质的方法。

关键词: 莜麦; 多酚; 酶; 微波

中图分类号: TS210.4

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2019)04-0089-05

Studies on the Enzyme-Microwave Extraction Method of Poly-Phenols from Naked Oat

REN Zhilong¹, LYU Junli^{2*}, WANG Han¹, WANG Haifeng¹

(1. School of Food and Drug, Baotou Light Industry Vocational Technical College, Baotou 014035; 2. School of Life Science and Technology, Inner Mongolia University of Science & Technology, Baotou 014010, China)

Abstract: Naked oats is one of the characteristics crops in Inner Mongolia. It has such physiological functions as lower blood sugar and blood lipid. In order to extract the polyphenols of naked oats to the maximum extent, this study was conducted with enzyme-microwave assisted extraction of phenolic compounds from naked oats. On the basis of polyphenols yields, naked oats was pretreated by compound enzyme firstly, then single factor and orthogonal experiments were conducted to determine the optimum extraction technology of oats polyphenol. The results showed that when 0.8% compound enzyme dosage, enzymolysis time 80 min, enzymolysis temperature 55℃, pH 5.0 was used, the best extraction conditions were: 80% of ethanol, extract temperature 60℃, microwave power 700 W, phenolics extraction yield 2.01 mg/g. Also, when compared with the enzyme and microwave extraction method, the enzyme-microwave extraction method can improve 42% and 85% yield of phenolic compounds, respectively. It suggested that enzyme-microwave extraction process is an effective method to extract polyphenols of oats.

Key words: Naked oats; Phenolic substance; Enzyme; Microwave

莜麦(*Avena sativa* L.)属于禾本科植物, 是内蒙古地区特色作物之一, 其营养价值高且具有多种生理功能, 如抗氧化、抗衰老、降血压和降血糖等^[1-3]。目前, 关于莜麦的研究主要集中在蛋白质、油脂及膳食纤维方面^[4], 而莜麦多酚由于其具有较强的抗氧化性而逐渐受到了人们的重视。目

前, 关于莜麦多酚提取的研究大多停留在游离酚的层面, 这部分多酚含量较少, 使得多酚的利用受到限制。莜麦中绝大部分的多酚类化合物与多糖及细胞壁成分以结合态的方式存在^[5], 难以被有机溶剂直接萃取。如何有效提取莜麦中包括结合酚在内的酚类物质成为本试验的研究重点。

近年来, 为了增加多酚的提取量, 除了溶剂提取法^[6]外, 出现了超声波法^[7]、微波法^[8]、酶法^[9]等。后面三种方法可以看成是溶剂提取法的辅助改进方法, 能够使溶剂浸提法中周期长、浸提率较低等缺点大大改善^[10]。超声波法提取效率高, 能大

收稿日期: 2018-12-25

基金项目: 包头轻工职业技术学院科学研究项目(QY2018-1-1-3); 内蒙古自治区自然科学基金项目(2018MS03065)

作者简介: 任志龙(1981-), 男, 讲师, 硕士, 主要从事食品生物工程方面的研究。

大缩短提取时间。微波辅助法能使物料内部快速升温,细胞短时破碎,有效提高多酚得率。酶法提取是在传统溶剂提取方法的基础上,根据植物细胞壁的构成,选择相应的酶,将细胞壁的组成成分水解或降解,使结合态多酚有效暴露出来并溶解于溶剂中,从而提高提取效率^[11],该法是一种高效、绿色提取技术,已被越来越广泛地应用于食品有效成分的提取中^[12-13]。除此之外,也有学者将以上方法联用,从而进一步提高多酚得率。如利用复合酶-微波法提取茶多酚^[14]、复合酶-超声波法提取核桃青皮多酚^[15]、超声波-酶法提取红松树皮多酚等^[16],目前,仅有夏甜天^[17]利用超声波-微波协同提取苡麦多酚,而关于酶-微波法协同提取苡麦多酚的研究还未见报道。

基于以上原因,本研究以内蒙古特产苡麦为原料,拟采用复合酶(淀粉酶和纤维素酶)结合微波法提取苡麦中的多酚。通过酶类的水解作用,可以水解苡麦粉中的淀粉与纤维素,有助于与淀粉和纤维素结合的部分多酚释放,提高酚类物质的浸出。本研究拟通过单因素和正交试验优化酶-微波法协同浸提苡麦多酚工艺,旨在为多酚的研究和利用提供理论依据,进而带动地域经济发展。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

苡麦种子:呼和浩特市蒙田种苗有限公司。
没食子酸:上海金惠生物科技有限公司;福林酚:上海荔达生物科技有限公司;纤维素酶:酶活力10万U/g(江苏锐阳生物科技有限公司); α -淀粉酶:酶活力4万U/g(无锡市博立生物制品有限公司);无水乙醇、碳酸钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氢氧化钠均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SQP型万分之一天平:赛多利斯科学仪器有限公司;3102型电子分析天平:上海跃平科学仪器有限公司;UV-7504TC紫外-可见分光光度计:上海欣茂仪器有限公司;SHW微波提取仪:无锡市尚德干燥设备有限公司;R20BC台式高速冷冻离心机:湖南凯达实验有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 没食子酸标准曲线的绘制

分别精确吸取0.1 mg/mL的没食子酸标准溶液0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 mL于10 mL容量瓶中,然后加入1 mL Folin-Ciocalteu试剂,摇匀后依次加入2 mL 15% Na_2CO_3 溶液,定容到10 mL,室

温下避光反应2 h后于760 nm测定吸光度。以溶液浓度(mg/L)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标绘制标准曲线。

1.3.2 苡麦中酚类物质的提取

苡麦中多酚物质的提取工艺如下:
苡麦→粉碎→过筛(425 μm)→复合酶(纤维素酶: α -淀粉酶=1:1)预处理→微波辅助乙醇提取→离心→多酚提取液

基于课题组之前已对酶解水溶剂法提取酚类物质的工艺进行优化,得出最佳提取工艺为:复合酶用量0.8%,酶解时间80 min,酶解温度55 $^{\circ}\text{C}$,pH值5.0。因此本试验复合酶预处理苡麦时采用此最优条件^[18]。

1.3.3 苡麦中酚类物质的测定

精确移取待测提取液1 mL于10 mL容量瓶中,依次加入1 mL Folin-Ciocalteu显色剂,摇匀后加入2 mL 15% Na_2CO_3 溶液定容到10 mL,室温下避光反应2 h后,于波长760 nm处测定吸光值,根据标准曲线计算总酚浓度,进而计算多酚得率,计算公式如下:

多酚得率(mg/g) =
$$\frac{\text{提取液中总酚质量浓度}(\text{mg/L}) \times \text{样液体积}(\text{L})}{\text{取样质量}(\text{g})}$$

1.3.4 酶-微波法协同提取苡麦酚类物质的单因素试验

精确称取2.00 g苡麦粉5份于锥形瓶中,加入0.8%的复合酶(纤维素酶: α -淀粉酶=1:1),调节pH 5.0,55 $^{\circ}\text{C}$ 下预处理80 min后,设定不同水平考察乙醇浓度、微波功率、提取温度等单因素对多酚得率的影响。

1.3.5 酶-微波法协同提取苡麦酚类物质的正交试验

在单因素试验的基础上,选取A(微波功率)、B(乙醇浓度)、C(提取温度)三个因素,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,以酚类物质的得率为依据进行试

表1 正交试验因素水平表

水平	因素		
	A	B	C
	微波功率(W)	乙醇浓度(%)	提取温度($^{\circ}\text{C}$)
1	500	70	40
2	600	80	50
3	700	90	60

验。正交试验的因素水平见表1。

1.4 数据处理与分析

采用 Graphpad prism 软件制图,利用 SPSS 软件对数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 没食子酸标准曲线

没食子酸标准曲线如图 1 所示,回归方程为 y

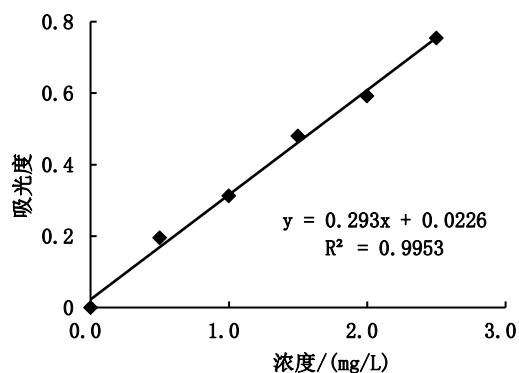


图1 没食子酸标准曲线

$=0.2930x+0.0226$, $R^2=0.9953$ 。

2.2 乙醇浓度对苡麦酚类物质得率的影响

由图 2 可以看出,随着乙醇浓度的增加,苡麦中酚类物质得率呈先升高后降低的趋势,在乙醇浓度为 80% 时,多酚得率显著增加 ($P<0.05$) 并达到峰值。因为乙醇浓度的高低直接影响有机溶剂的极性,而多酚类物质含有酚羟基,具有一定的极性,因此溶液的极性会影响多酚类物质的溶解性^[19]。结果表明 80% 的乙醇可能与苡麦酚类物质的极性最接近,这也与付晓燕等^[9]的研究结果一

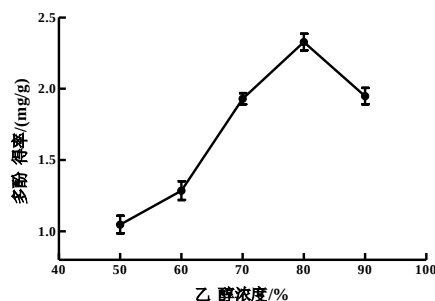


图2 乙醇浓度对苡麦多酚得率的影响

致,所以本试验选择 80% 的乙醇进行提取。

2.3 微波功率对苡麦中酚类物质得率的影响

由图 3 可以看出,当微波功率 ≤ 500 W 时,多酚得率的变化趋势比较平缓。当微波功率 600 W 时,多酚得率显著增大 ($P<0.05$) 并达到峰值,随后得率降低。这是因为功率升高有助于燕麦总多酚类物质溶出,当功率大于 600 W 时微波功率过高,会聚集大量热量,可能会导致苡麦中的多酚受热

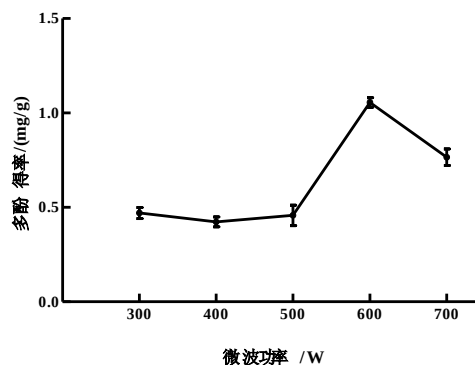


图3 微波功率对苡麦多酚得率的影响

分解,从而导致得率降低^[20]。

2.4 提取温度对苡麦中酚类物质得率的影响

由图 4 可以看出,提取温度 $<50^{\circ}\text{C}$ 时,随着温度的升高多酚得率呈逐渐增大的趋势,这可能是因为温度升高,分子的运动速度加快,有利于酚类物质的溶出。当继续升高温度,多酚得率无显著变化 ($P<0.05$)。考虑到温度过高,酚类物质长时间高温可能会发生分解,导致多酚结构中羟基基团构型发生改变,进而影响其抗氧化活性^[21];同时过高的温度使乙醇挥发,乙醇体积分数降低,从而降低酚类物质的提取效果^[22],所以本试验选

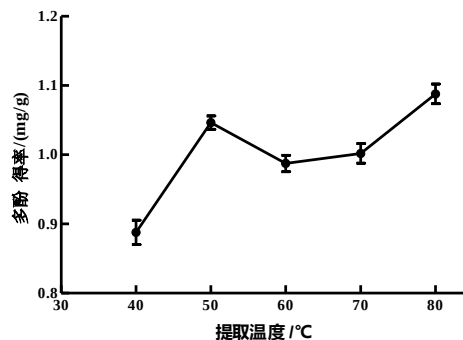


图4 提取温度对苡麦多酚得率的影响

取选择 50°C 进行提取。

2.5 酶-微波法协同提取苡麦酚类物质工艺的优化

从表 2 可以看出,影响苡麦中酚类物质得率的三个因素按影响程度依次为:乙醇浓度 $>$ 提取温度 $>$ 微波功率;其中最优工艺参数组合为 $A_3B_2C_3$,即微波功率 700 W,乙醇浓度 80%,提取温度 60°C 。由于该组合不在正交试验设计范围内,故需要通过验证试验来验证。

表 3 的方差分析结果表明,乙醇浓度、提取温度和微波功率对多酚的得率均有显著影响。并且,根据表中 F 值可以看出,影响苡麦中酚类物质得率的主次顺序依次为:乙醇浓度 $>$ 提取温度 $>$ 微

波功率,这与表2极差分析得出的结果一致。将最优组合进行验证,经验证此条件下得出 莜麦酚类物质的得率为:2.01 mg/g,其得率大于正交试验中任一组合,证明正交设计可行。并且此

表 2 L₉(3⁴) 正交试验设计及试验结果

试验序号	A 微波功率(W)	B 乙醇浓度(%)	C 提取温度(℃)	得率/(mg/g)
1	500	70	40	0.92
2	500	80	50	1.33
3	500	90	60	1.65
4	600	70	50	1.25
5	600	80	60	1.30
6	600	90	40	1.44
7	700	70	60	1.31
8	700	80	40	1.73
9	700	90	50	1.22
K1	1.30	1.16	1.36	
K2	1.33	1.45	1.27	
K3	1.42	1.44	1.42	
R(极差)	0.12	0.29	0.15	

表 3 正交试验结果方差分析表

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	Sig.
微波功率	0.02	2	0.01	3.90	*
乙醇浓度	0.16	2	0.08	6.89	**
提取温度	0.04	2	0.02	4.10	*
误差	0.24	2	0.12		

注: **,P<0.01, 差异极显著; *,P<0.05, 差异显著

结果高于刘仙俊等^[23]人的研究结果(1.667 mg/g)。

2.6 不同莜麦多酚提取方法的比较

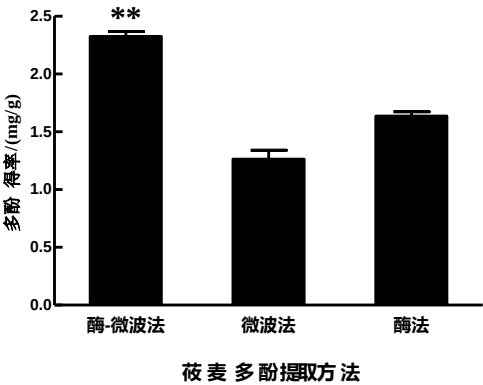
试验组之前已分别对酶法^[18]、微波辅助^[24]有机溶剂提取工艺进行了优化。本试验比较了这三种方法在最优条件下酚类物质的得率,其结果如图5所示。结果显示酶-微波法提取的酚类物质得率显著高于其它方法所得(P<0.01),比酶法、微波法分别提高了42%和85%。这可能由于莜麦经

纤维素酶和淀粉酶预处理后,可使结合态阿魏酸和包裹在淀粉颗粒网状结构中的香草酸和咖啡酸等单体酚酸得到有效释放^[25-26]。在此基础上,结合微波辅助有机溶剂萃取,进一步瞬时破碎细胞,从而大大提高了多酚得率。由此表明,酶-微波协同提取法优于其它两种方法,可有效提高酚类物质的得率,具有很好的应用前景,这与舒红英等^[27]的研究结果一致。

3 结 论

莜麦经复合酶预处理后(复合酶用量0.8%,酶解时间80 min,酶解温度55℃,pH值5.0),利用单因素及正交试验确定出影响酶-微波协同提取法提取莜麦中酚类物质的各因素顺序为:乙醇浓度>提取温度>微波功率;其最优工艺为:乙醇浓度80%,提取温度60℃,微波功率700 W。以此条件得出莜麦酚类物质的得率为2.01 mg/g。

与酶法和微波法相比,酶-微波协同提取法可有效提高莜麦酚类物质的得率,可作为一种快速、高效的提取方法,具有很好的应用价值。



注: **表示在0.01水平下有显著差异

图5 不同提取方法多酚得率的比较

参考文献:

- [1] PETERSON D M. Oat antioxidants [J]. Journal of Cereal Science, 2010, 33(2): 115-129.
- [2] MARIA S. Phenolic compounds in oats [D]. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 2008.
- [3] Kilci A, Gocmen D. Phenolic Acid Composition, Antioxidant Activity and Phenolic Content of Tarhana Supplemented with Oat Flour[J]. Food Chemistry, 2014, 151: 547-553.
- [4] 陕方, 田志芳, 马晓凤, 等. 燕麦高纤食品基料加工技术及生理活性研究[J]. 食品科技, 2004(5): 82-85.
- [5] Peterson D M, Emmons C L, Hibbs A H. Phenolic Antioxidants and Antioxidant Activity in Pearling Fractions of Oat Groats[J]. Journal of Cereal Science, 2001, 33(1): 97-103.
- [6] 李巨秀, 李利霞, 曾王旻, 等. 燕麦多酚化合物提取工艺及抗氧化活性的研究[J]. 中国食品学报, 2010, 10(5): 14-21.
- [7] 杨玲娥, 康永锋, 马晨晨, 等. 超声波辅助提取番木瓜提取液抗氧化活性研究[J]. 吉林农业科学, 2013, 38(1): 75, 79.
- [8] Galan A M, Calinescu I, Trifan A, et al. New Insights into the Role of Selective and Volumetric Heating during Microwave Extraction: Investigation of the Extraction of Polyphenolic Compounds from Sea Buckthorn Leaves Using Microwave-Assisted Extraction and Conventional Solvent Extraction[J]. Chemical Engineering & Processing Process Intensification, 2017, 116: 29-39.
- [9] 付晓燕, 吴茜, 胡正浩, 等. 传统溶剂提取与酶辅助提取燕麦多酚工艺的优化与比较[J]. 食品工业科技, 2012, 33(24): 277-281.
- [10] 李刚凤, 汪辉喜, 陈仕学, 等. 微波法浸提低档绿茶多酚工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2015, 28(1): 60-62.
- [11] 王敏, 陆兆新, 吕凤霞, 等. 响应曲面法优化酶法提取银杏叶总黄酮[J]. 食品科学, 2007, 28(3): 117-121.
- [12] 欧阳辉, 田启建, 余估, 等. 酶法辅助提取绞股蓝中总黄酮工艺优化[J]. 中草药, 2011, 42(5): 886-889.
- [13] Pan X J, Niu G G, Liu H Z. Microwave-Assisted Extraction of Tea Polyphenols and Tea Caffeine from Green Tea Leaves [J]. Chem Eng Proc, 2003, 42(2): 129-133.
- [14] 喻世涛, 熊国玺, 程书锋, 等. 复合酶辅助微波技术提取茶叶中茶多酚的工艺优化[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(9): 2130-2132.
- [15] 贾淑平, 燕子红, 买买提吐尔逊. 响应面法优化核桃青皮多酚复合酶-超声波提取工艺[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2016, 37(6): 75-80.
- [16] 包怡红, 王硕, 王文琼, 等. 超声波酶法提取红松树皮中多酚类化合物的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(3): 232-236.
- [17] 夏甜天. 不同加工方式对燕麦多酚活性的影响及其营养粉的创制[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2018.
- [18] 吕俊丽, 游新勇, 任志龙, 等. 酶解水溶剂法提取莠麦多酚的工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(11): 123-127.
- [19] 郝会芳, 王艳辉, 苗笑阳, 等. 枣核中多酚物质提取条件的初步研究[J]. 华北农学报, 2007, 22(增刊): 48-51.
- [20] 夏甜天, 曹龙奎. 几种不同提取方法对燕麦总多酚含量的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(20): 183-189.
- [21] 付晓燕, 隋勇, 谢笔钧, 等. 不同方法提取发芽燕麦酚类物质的含量、组成和抗氧化活性比较[J]. 食品工业科技, 2014, 35(15): 54-57.
- [22] 王华斌, 王珊, 傅力. 酶法提取石榴皮多酚工艺研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(6): 56-65.
- [23] 刘仙俊, 范向前, 史起鹏, 等. 燕麦总多酚的微波辅助提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(17): 55-58.
- [24] 吕俊丽, 任志龙, 游新勇, 等. 微波辅助提取莠麦酚类物质工艺的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2017(4): 26-29.
- [25] 陈东方. 酶解提高燕麦粉抗氧化活性的作用机制[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [26] Adom K K, Liu R H. Antioxidant activity of grains [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(21): 6182-6187.
- [27] 舒红英, 罗旭彪, 王永珍. 绿茶中茶多酚的复合酶-微波法提取工艺研究[J]. 中草药, 2011, 42(7): 1309-1312.

(上接第4页)

- [10] 曾三省. 鲜食糯玉米的品种及其品质评价[J]. 上海农业科技, 2002(1): 55-56.
- [11] 王晨. 天津地区鲜食玉米品种的品尝鉴评试验[J]. 天津农林科技, 2018(1): 1-2.
- [12] 王国琴, 王鹏文, 辛德财, 等. 鲜食糯玉米新组合及其食味品质评价研究[J]. 天津农学院学报, 2009, 16(2): 5-8.
- [13] 宁德富, 李智海, 孔丽琼, 等. 不同施钾水平对西双版纳玉米小黄糯生长、产量及品质的影响[J]. 浙江农业科学, 2015, 56(10): 1538-1541.
- [14] 魏凤乐, 孙玲. 糯玉米的综合利用及栽培技术[J]. 吉林农业科学, 1994(4): 16-17.
- [15] 高若禹, 刘鑫, 邓昆鹏, 等. 12份玉米自交系主要农艺性状配合力及杂种优势分析[J]. 东北农业科学, 2016, 41(3): 14-17.
- [16] 高凡, 张建, 沈建荣, 等. 西双版纳糯玉米3414肥效试验研究[J]. 农业科技通讯, 2014(8): 146-149.
- [17] 杨跃华, 刘俊峰, 孔亮亮, 等. 从糯玉米育种目标探讨糯玉米自交系选育[J]. 玉米科学, 2007, 15(S1): 140-141, 145.
- [18] 刘礼超, 荣廷昭, 倪昔玉, 等. 玉米“三高”自交系48-2的选育研究[J]. 四川农业大学学报, 1993, 11(4): 495-501.
- [19] 傅同良, 刘先友. 贵州糯玉米育种现状、种质创新及发展方向[J]. 种子, 2008, 27(6): 77-81.
- [20] 朱协飞. 棉花复合杂交育成亲本主要产量性状的杂种优势及配合力分析[J]. 种子, 2017, 36(10): 69-72.