

# 枣核中多酚物质提取条件的初步研究

郝会芳<sup>1,2</sup>, 王艳辉<sup>2</sup>, 苗笑阳<sup>2,3</sup>, 董金皋<sup>2</sup>

(1. 青岛市崂山区第一中学, 山东 青岛 266100; 2. 河北农业大学 生命科学学院, 河北 保定 071001;  
3. 沧州沛然世纪发展总公司, 河北 沧州 061001)

**摘要:**以金丝小枣枣核为原料, 研究了枣核多酚的提取条件, 确定了邻苯二酚为枣核多酚的标准对照。采用酒石酸铁比色法测定多酚含量, 通过单因素试验、正交试验对影响枣核中多酚提取效果的各因素进行了研究。结果表明, 各因素对枣核多酚提取效果的影响程度从高到低依次为料液比> pH 值> 浸提温度> 浸提时间。综合考虑提取效果与生产成本, 对提取条件进行了优化, 确定了适宜的提取条件为: 料液比 1:30, pH 3, 80% 乙醇、浸提温度 50℃、浸提时间 12 h, 枣核中多酚的含量大约为 9 770 mg/g。本研究为开发和利用枣产品加工中的副产品提供了一个有效的途径。

**关键词:** 枣; 多酚; 酒石酸铁法; 正交试验; 提取工艺

中图分类号: S665.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)增刊-0048-05

## Study on the Extraction of Polyphenols in Chinese *Jujube* Core

HAO Huifang<sup>1,2</sup>, WANG Yanyan<sup>2</sup>, MIAO Xiaoyang<sup>2,3</sup>, DONG Jingao<sup>2</sup>

(1. Qingdao Laoshan No. 1 Middle School, Qingdao 266100, China;  
2. College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China;  
3. Peiran's Century Nutritional Foods Co. Ltd, Cangzhou 061001, China)

**Abstract:** A new extracting technique for polyphenol from Chinese *jujube* was conducted using core of Gold mini *jujube* as raw material and catechol as standard sample. The content of polyphenol in core of Gold mini *jujube* had been measured by tartrate-Fe method. To optimize the conditions for the extraction of polyphenols from core of Gold mini *jujube*, extraction was studied by single factor and orthogonal experiment. Results showed that the successive order of factors affecting extraction was solid/liquid ratio> pH> extraction temperature> extraction time. Thus, the feasible conditions for extraction of Gold mini *jujube* core polyphenol were determined to be alcohol concentration 80% of pH 3 at 50℃ for 12 h and the ratio of solid to liquid as 1:30. The content of Gold mini *jujube* core polyphenol is 9.770 mg/g. This study provided a good way for the exploitation and using of the by product of the Chinese *jujube*.

**Key words:** Chinese *jujube*; Polyphenol; Tartrate-Fe method; Orthogonal experiment; Extraction process

多酚类物质是植物的次生代谢产物, 广泛存在于植物中。研究表明, 多食用水果、蔬菜与癌症、心脏病、炎症、免疫系统衰竭等疾病的发生率呈负相关<sup>[1]</sup>。国内外学者研究发现植物多酚类物质可以清除体内自由基、抑制低密度脂蛋白 LDL 的氧化、抗病毒、抗炎症、预防心血管疾病、防癌、抗辐射等生物活性功能<sup>[2-4]</sup>。现已从大豆、荞麦、花生、茶叶、葡萄、苹果等果蔬中获取了类黄酮物质、儿茶素类、白藜芦醇、酚酸类等多种酚类物质<sup>[3,5]</sup>。我国是世界

上最大的枣及加工产品的生产国。现代药理学研究表明, 枣具有抗变态、镇静、保肝、降血压、补血、抗癌、抗炎、抗衰老等多方面的药理作用。枣果中除含有大量的糖分及人体所需的 17~18 种氨基酸和维生素 A、B、B<sub>1</sub>、C、E、P 外, 还含有环磷酸腺苷、儿茶酚等多酚类物质。Jyong-Chyul Cyong 等枣和酸枣的果肉和种仁中分离出了 cAMP(环磷酸腺苷), 并指出枣和酸枣成熟果肉的 cAMP 含量是当时已测高等植物中最高的。之后, 刘孟军等<sup>[6]</sup>也对枣和酸枣等 14 种

收稿日期: 2007-05-28

作者简介: 郝会芳(1979-), 女, 河北正定人, 硕士, 主要从事天然产物化学方面的研究工作

通讯作者: 董金皋(1963-), 男, 河北邢台人, 教授, 博士后, 博士生导师, 主要从事植物活性物质的分离、功能分析与药物开发等研究。

园艺植物 cAMP 含量进行测定也得出相同的结论。但对枣产品加工过程中的废料—枣核中的儿茶酚等多酚类物质进行分离提取还未见报道。本研究拟以乙醇-水为提取溶剂,通过单因素试验和正交试验确定提取枣核多酚的适宜条件,并测定枣核中多酚的含量,以期为枣的综合利用、加工等提供技术指导,同时对枣核中多酚的研究与开发、保健食品及生物制药工业的发展起到积极作用。

# 1 材料和方法

## 1.1 材料与仪器

金丝小枣的枣核采自于沧州崔尔庄金丝小枣基地(白熟期)。主要供试试剂有无水乙醇、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、硫酸亚铁、酒石酸钾钠(以上均为分析纯),邻苯二酚(国产分析纯试剂经再次提纯)。试验所用主要仪器主要有 723 型可见分光光度计、UV-2802PC 型紫外可见分光光度计、KDF-2115 型多功能食品搅拌机、RE-52AA 型旋转蒸发器、5804R 型高速冷冻离心机等。

## 1.2 枣核多酚的定量

枣核多酚对照品的选择:分别取邻苯二酚(浓度 0.8 mg/mL)和枣核提取液(以蒸馏水为参照),用 1 cm 比色皿,于紫外可见光区进行波长扫描(图 1 和图 2),发现邻苯二酚和枣核提取液在紫外光区最大吸收波长分别为 276 和 277 nm,二者基本相同,因此选邻苯二酚作为枣核多酚的对照品。

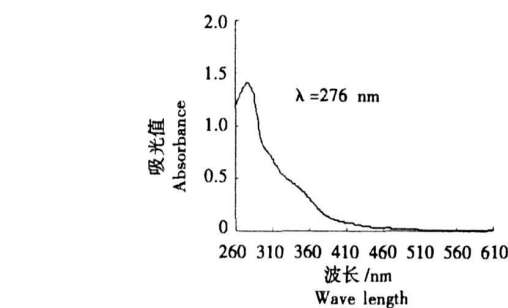


图 1 邻苯二酚紫外吸收

Fig. 1 UV absorbance of catechol

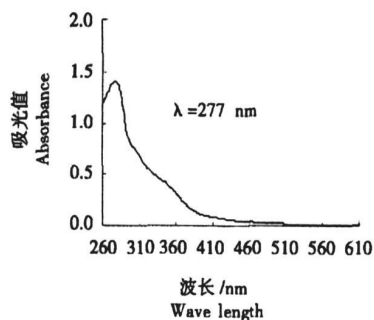


图 2 枣核紫外吸收

Fig. 2 UV absorbance of core of Chinese jujube

枣核多酚含量的测定<sup>[7]</sup>:准确吸取 8 mL 样品液,移至 25 mL 具塞刻度试管中,然后加入酒石酸铁溶液 5 mL,充分混合,最后用 pH 7.5 的磷酸缓冲溶液定容至 25 mL,用 1 cm 比色皿,以蒸馏水代替样品加入同样的显色试剂做参比,波长 540 nm 处,测定吸光值。

标准曲线的绘制:准确称取 2.000 g 邻苯二酚用蒸馏水定容于 100 mL 容量瓶中,作为储备液,浓度为 20 mg/mL。吸取储备液 4.00 mL 定容于 100 mL 容量瓶作为使用液,浓度为 0.8 mg/mL。准确吸取使用液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0 mL 分别置于 25 mL 具塞试管中,然后定容到 8.0 mL,依枣核多酚含量测定方法显色测吸光值,做标准曲线(图 3)。根据标准曲线回归方程定量枣核提取液多酚的浓度。

枣核多酚含量按下式计算:

$$W = \frac{c \times v}{m}$$

式中:W:多酚含量(μg/g);c:枣核提取液多酚浓度(μg/mL);

v:提取液体积(mL);m:枣核质量(g)

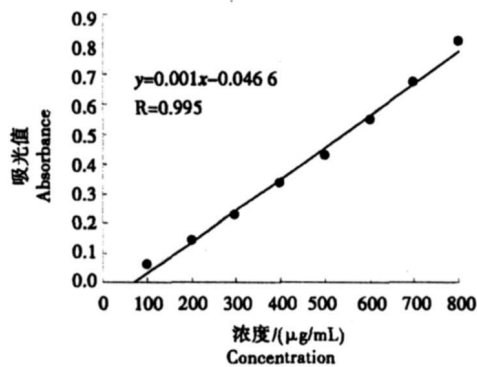


图 3 邻苯二酚的标准曲线

Fig. 3 Standard curve of catechol

## 1.3 枣核多酚的提取

定量称取粉碎的枣核装于三角瓶中,加入乙醇水溶液(浓度和 pH 值恒定),用膜封口,水浴浸提一定时间(期间摇动数次),浸提 2 次,合并浸提液,旋转蒸发,残余物离心后,上清液用蒸馏水定容至 100 mL。

## 1.4 单因素试验

浸提时间:在恒定料液比为 1:10,浸提温度为 30℃,pH 2 的 80% 乙醇溶液条件下,分别在 12、24、48、72 h 下浸提,确定浸提时间对枣核多酚浸提的影响。

料液比:浸提温度恒定为 30℃,使用 pH 2 的 80% 乙醇溶液,在前面确定适宜浸提时间的基础上,分别在料液比为 1:10、1:20、1:30 下浸提,确定料液比对浸提的影响。

浸提溶剂 pH 值: 在确定其他适宜因素的前提下, 浸提温度为 30℃, 分别在 pH 为 2, 3, 7 下浸提, 确定 pH 对枣核多酚浸提的影响。

浸提温度: 在前面确定的条件下考虑温度对浸提效果的影响, 分别在 30, 50, 60, 70℃下浸提, 确定温度对枣核多酚浸提的影响。

### 1.5 正交试验

在单因素试验的基础上, 以浸提溶剂 pH(A)、浸提时间(B)、浸提温度(C)、料液比(D) 作为考察的 4 个因素, 每因素 3 水平, 以总多酚含量为指标, 采用  $L_9(3^4)$  正交设计表设计试验, 得到适宜的浸提条件。

## 2 结果与分析

### 2.1 浸提时间对提取效果的影响

由图 4 可看出, 当浸提时间在 24 h 内, 枣核中多酚的提取量随时间的延长而急剧上升; 24 h 时达到最大值; 当浸提时间超过 24 h 后枣核多酚提取量迅速下降。可能是由于在一定时间范围内, 浸提时间越长, 浸提溶剂与多酚作用时间越长, 有利于多酚物质的释放。但时间过长可能多酚物质被氧化破坏, 从而使枣核多酚的含量下降, 同时杂质溶出也多。因此选择浸提时间为 24 h。

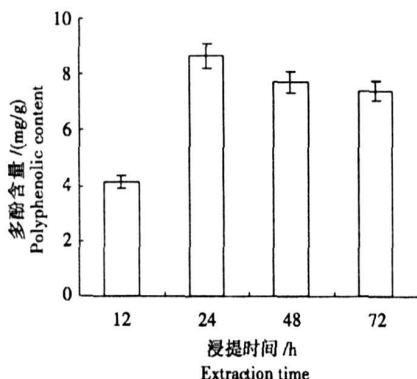


图 4 不同浸提时间对枣核多酚浸提量的影响

Fig. 4 Effects of extraction time on the polyphenol from core of Chinese jujube

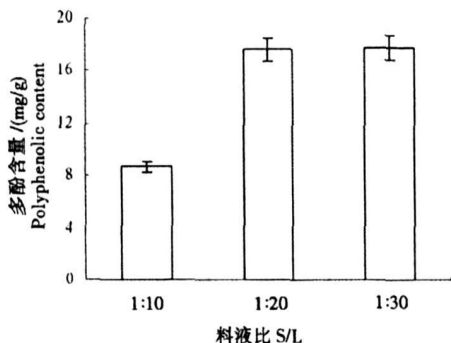


图 5 不同料液比对枣核多酚浸提量的影响

Fig. 5 Effects of S/L on the polyphenol from core of Chinese jujube

### 2.2 料液比对浸提效果的影响

料液比对浸提效果的影响(图 5), 随着料液比的减少, 多酚浸提量增加, 当料液比达到 1:20 时趋向稳定, 即溶剂量增到一定浓度后, 由于枣核中的多酚已被提取出来, 再增大溶剂量, 提取率基本不变。溶剂的用量增加会大大增加浓缩的负担, 能量消耗较大。本试验认为适宜料液比为 1:20。

### 2.3 浸提溶剂 pH 值对提取效果的影响

不同 pH 浸提溶剂对枣核中多酚浸提量的影响(图 6)。在 pH 2~7 范围内, 随着 pH 的增加, 枣核多酚的浸提量下降, 当 pH 2 时, 由于浸提溶剂的酸度增加了植物组织细胞通透性, 破坏了对多酚复合物中的氢键、盐键、疏水作用力等, 使多酚容易释放出来, 从而提高枣核多酚的浸提量, 说明一定范围内, 酸度的增强有利于枣核多酚的提取。因此本试验确定最佳浸提溶剂的 pH 值为 2。

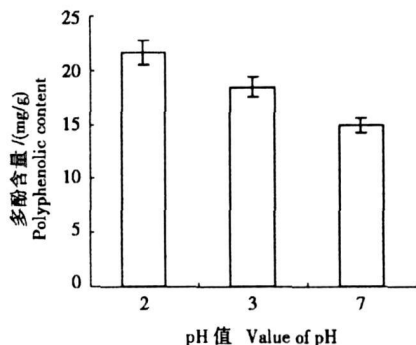


图 6 不同 pH 条件下对枣核多酚浸提量的影响

Fig. 6 Different percentages of extraction polyphenol from core of Chinese jujube under various pH

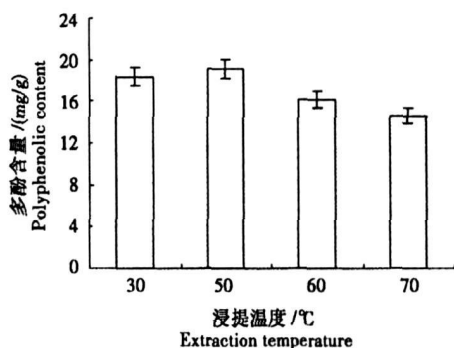


图 7 不同温度对枣核多酚浸提量的影响

Fig. 7 Effects of extraction temperature on the polyphenol from core of Chinese jujube

### 2.4 浸提温度对提取效果的影响

不同浸提温度试验结果(图 7)表明, 浸提温度 < 50℃时, 随着提取温度的升高, 分子间运动加剧, 枣核浸提液中多酚含量随温度的升高而增强; 50℃时枣核浸提量最大, 浸提温度 > 50℃后, 随温度的上升浸提量迅速减少。这可能是由于随着温度的进一

步升高多酚类物质很容易被氧化,从而测定的多酚含量减小;可能是随着温度升高加速活性成分的分解和破坏,尤其是对于具有还原性多酚类的物质来说,同时从节约能源方面考虑,选择浸提温度为50℃时最佳。

表 1 枣核多酚提取的因素水平

Tab. 1 Factor and level of extraction on the polyphenol from core of Chinese <i>jujube</i>					
试验号 NO.	因素 Factor				多酚含量/( mg/ g) Polyphenolic content
	A	B	C	D	
1	A <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>1</sub>	5. 691
2	A <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>2</sub>	7. 865
3	A <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>3</sub>	8. 863
4	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	9. 770
5	A <sub>2</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	5. 161
6	A <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	7. 041
7	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>2</sub>	4. 419
8	A <sub>3</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>3</sub>	7. 512
9	A <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>1</sub>	4. 554
K1	22. 420	22. 128	20. 244	15. 661	
K2	22. 227	20. 793	22. 189	21. 573	
K3	18. 733	20. 459	20. 947	26. 146	
k1	7. 473	7. 376	6. 748	5. 135	
k2	7. 409	6. 846	7. 396	7. 191	
k3	6. 244	6. 819	6. 897	8. 715	
R	1. 229	0. 557	0. 648	3. 580	

表 2 枣核多酚提取的正交 试验结果

Tab. 2 Data analysis of polyphenol extract from core of Chinese <i>jujube</i> by orthogonal design				
水平 Level	因素 Factor			
	pH 值 pH A	浸提时间 /h Time B	温度/℃ Temperature C	料液比 / ( g/ mL) Ratio D
1	2	12	30	1: 10
2	3	24	50	1: 20
3	7	48	60	1: 30

通过正交试验表观分析(表2)表明,各因素对枣核多酚提取效果影响的程度从高到低依次为 D> A> C> B, 即料液比> pH 值> 浸提温度> 浸提时间。即料液比对多酚浸提效果影响最大,其次为 pH 值和浸提温度,浸提时间影响较小。因此枣核多酚适宜的提取条件为 pH 3. 0 的 80% 乙醇溶液,料液比为 1: 30,每次浸提时间为 12 h,在 50℃下连续浸提 2 次。

综合以上分析可以看出,枣核与乙醇水溶液比例恰当可以使枣核多酚浸提含量大大增加,同时采用酸性的乙醇水溶液有利于枣核多酚的提取,从而使温度和时间对枣核多酚的浸提含量影响变小。因此,从提取效率及经济的角度出发,确定适宜的浸提条件为 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,即为用 80% 乙醇 pH 3 的盐酸为浸提剂,每次浸提 12 h,在 50℃下连续浸提 2 次,料液比为 1: 30;多酚的提取量达到 9. 770 mg/ g。

2. 5 适宜提取条件的确定

枣核多酚提取量受 pH 值、浸提时间、浸提温度、料液比 4 个因素交叉影响,因此在单因素试验的基础上,采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交设计进行正交试验,正交试验各因素水平见表 1,试验方案及结果见表 2。

3 讨论

溶剂法浸提过程的传热传质速率,以及其经济性与溶剂的性质密切相关,多酚在植物体内通常与蛋白质、多糖以氢键和疏水键形式形成稳定的分子复合物,因此多酚的提取不仅要求供试溶剂对多酚有良好的溶解性,且具有断裂氢键作用。常用的丙酮水溶液浸提可使酚羟基与蛋白质、多糖等解聚<sup>[8]</sup>,效果较好,但由于丙酮毒性、挥发性较高,且产品中残留溶剂对人体有害,且浸提液色泽极深,脂溶性成分增加,给以后的处理工艺和生产都会带来麻烦。用甲醇提取也存在毒性且效率低于乙醇的问题<sup>[9]</sup>,经综合考虑,本试验选用乙醇-水溶液作提取溶剂,该溶液具有浸提率高、选择性好、渗透性强、无毒性、价廉、易于回收和去除,无环境污染等优点。

经正交试验结果显示,在影响浸提效果的 4 个因素中,料液比的影响最大,时间的影响最小。其影响浸提效果大小顺序为:料液比> pH> 浸提温度> 浸提时间。通过正交试验优化了提取条件的各项参数:pH 3 的 80% 乙醇-水浸提剂,每次浸提时间为 12 h,在 50℃下连续浸提 2 次,料液比为 1: 30,多酚的提取量最高。

多酚类物质具有清除生物体内自由基、抑制低密度脂蛋白 LDL 的氧化、抗病毒、抗炎症、预防心血管疾病、防癌、抗辐射等生物活性功能。其可作为食

品、保健品、酒的添加物,也可作抗菌抑菌药物。随着食品和医药等领域对抗氧化剂的需要,尤其对天然抗氧化剂需求的增加,本研究为多酚的提取提供了一个新的来源,同时为枣产品加工过程中的副产物枣核开发和利用提供了参考。利用枣副产品加工过程中的废料枣核作为提取多酚的原料,可将其变废为宝。并且该方法简单,价格低廉,容易实现产业化。同时也为枣核的综合利用提供了一个有效的途径。但对于枣核多酚的功能研究及组分分析还有待于进一步研究明确。

#### 参考文献:

- [1] Leong L P, Shui G. An investigation of antioxiation capacity of fruits in Singapore markets [J]. Food Chemistry, 2002, 76: 69–75.
- [2] Shon M Y, Choi S D, Khang G G, *et al.* Antimutagenic, ant

tioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions [J]. Food and Chemical Toxicology, 2004, 42: 659–666.

- [3] 郭新竹, 宁正祥. 天然酚类化合物及其保健作用[J]. 食品工业, 2002(3): 28–29.
- [4] 郑虎占, 董泽宏, 余靖. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1997: 350.
- [5] Valeria Nepote, Nelson R Grosso, Guzman G A. Extraction of antioxidant components from peanut skins [J]. Grasas y Aceites, 2002, 4: 391–395.
- [6] 刘孟军, 王永蕙. 枣和酸枣等 14 种园艺植物 cAMP 含量的研究[J]. 河北农业大学学报, 1991, 14(4): 20–23.
- [7] 何照范, 张迪清. 保健食品化学及其检测技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997: 107–108.
- [8] 石碧, 狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 30–123.
- [9] 李凤英. 葡萄皮籽多酚物质的提取技术研究[D]. 昌黎: 河北科技师范学院, 2004: 20–21.