



孟欣欣,马智慧,陈凤真.牡丹花多酚超声辅助提取工艺优化[J].黑龙江农业科学,2019(9):100-103.

# 牡丹花多酚超声辅助提取工艺优化

孟欣欣,马智慧,陈凤真

(菏泽学院 农业与生物工程学院,山东 菏泽 274000)

**摘要:**为促进牡丹花资源的合理利用,以新鲜牡丹花为试验材料,乙醇为提取剂,在超声波辅助法的基础上,先通过对影响牡丹花多酚物质提取的4个因素提取温度、料液比、超声波时间和乙醇浓度进行单因素试验,再通过正交试验,确定牡丹花多酚物质提取的最佳工艺参数。结果表明:在超声功率600 W时,料液比为1:40、提取温度60℃、乙醇浓度60%、超声波提取时间30 min时为最优的提取条件;对牡丹花多酚的提取效果影响由大到小为提取温度、超声波提取时间、料液比、乙醇浓度;在最佳条件下,牡丹花多酚的提取含量达15.10%。

**关键词:**牡丹花;多酚;超声波

牡丹(*Paeonia suffruticosa*)古称木芍药、富贵花、洛阳红等<sup>[1]</sup>,象征富贵吉祥<sup>[2]</sup>。牡丹除了具有重要的观赏功能外,还可食用和药用<sup>[3]</sup>。现代研究表明,牡丹花中富含多酚、蛋白质和微量元素等<sup>[4]</sup>。多酚可以与其他抗氧化剂起到协同作用,如延长维生素E、维生素C的作用时间<sup>[5]</sup>;此外多酚还具有抗癌、抗诱变、抗肿瘤、与清除人体自由基、抑菌抑酶等作用<sup>[6-11]</sup>。牡丹开花比较集中,花期较短<sup>[12]</sup>,且牡丹在我国栽培面积大,尤其是菏泽地区,以牡丹花的观赏、成品加工、食用和销售鲜花为主。安佰义等<sup>[13]</sup>对不同类型牡丹花进行了多酚的含量的测定,郭传琦等<sup>[1]</sup>研究了浅色系牡丹花多酚的含量与生物活性,朱素英<sup>[14]</sup>优化了牡丹花多酚提取工艺。随着人们生活水平的提高,越来越追求生活质量的人们将不再仅限于食用牡丹花制品,对于牡丹花多酚的需求将大大增加,牡丹花的开发前景十分广阔。因此,本研究以牡丹花多酚为研究对象,利用超声波辅助技术采用乙醇提取,降低了试验过程中试剂对人体造成的危害和对环境的污染,同时也提高了多酚的提取率。通过单因素条件优化和正交实验,明确最佳工艺条件,为进一步抗氧化研究和研制复合抗氧化剂奠定基础,同时为牡丹花的开发利用开辟一条新的途径,可以促进天然资源的合理利用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试新鲜牡丹花品种为乌金耀辉,于4月23日采自菏泽当地农田;供试试剂为无水乙醇(分析纯,东莞市政欣化工有限公司)、福林酚试剂( $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,上海展云化工有限公司)、没食子酸(纯度大于98%,隆邦化工服务有限公司)、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (分析纯,沧州诚恒化工产品有限公司)。

主要仪器设备有低速台式离心机(TDL-5型,上海麦尚科学仪器有限公司)、分析天平(FA124型,上海棱普仪器仪表有限公司)、紫外可见分光光度计(723型,上海棱光技术有限公司)、超声波清洗仪(YQ-620C型,上海易净超声波仪器有限公司)、数显恒温水浴锅(HH-4型,常州市国华仪器厂)。

### 1.2 方法

**1.2.1 标准曲线的绘制方法** 精确称取5.0 mg没食子酸标准品,用60%的乙醇完全溶解,转移并定容至50 mL,得到 $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品储备液。标准曲线的绘制参考文献<sup>[14]</sup>,稍作改动,详见表1。把编号为0的溶液作为标准比色溶液,在765 nm下测定各浓度的吸光值。

**1.2.2 多酚的提取与测定** 将采回的新鲜牡丹花去除花托、花萼等部位,将花瓣用清水洗净,擦干。准确称取0.500 0 g,剪碎研磨,根据试验设计,按照不同料液比和不同乙醇浓度加入适量乙醇,根据不同的提取温度进行超声波处理,将离心机转速设为 $4\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 对提取液进行离心10 min,将上清液倒入并用相应乙醇定容至50 mL。采用福林酚试剂显色法测定多酚<sup>[15-16]</sup>的含量。根据线性回归方程算出多酚的浓度。

收稿日期:2019-04-11

基金项目:高等学校国家级大学生创新创业训练计划(201710455143);菏泽学院博士基金(XYJJKJ-9)。

第一作者简介:孟欣欣(1995-),女,在读学士,专业为食品科学与工程。E-mail:2572155285@qq.com。

通讯作者:陈凤真(1980-),女,博士,副教授,从事植物生理活性物质研究。E-mail:duoduo12008@163.com。

表 1 福林酚比色法标准没食子酸溶液数据  
Table 1 Standard gallic acid solution  
data of folinol colorimetry

编号 No.	标准没食子酸溶液 Standard gallic acid solution/mL	乙醇 Ethanol/ mL	福林酚试剂 Folin- ciocalteu/mL	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 溶液 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> solution/mL
0	0	12.5	2.5	10.0
1	0.5	12.0	2.5	10.0
2	1.0	11.5	2.5	10.0
3	1.5	11.0	2.5	10.0
4	2.0	10.5	2.5	10.0
5	2.5	10.0	2.5	10.0
6	3.0	9.5	2.5	10.0

1.2.3 计算 按照公式(1)计算。

牡丹花瓣多酚提取率(%)= $\frac{C \times V}{m} \times 100$  (1)

式中:C为牡丹花总多酚的浓度(g·L<sup>-1</sup>);V为提取液定容后的体积(V);m为牡丹花的质量(g)。

1.2.4 单因素实验设计 以牡丹花中多酚的提取量为指标,考察4个因素对于提取效果的影响。一是料液比的确定。准确称取新鲜牡丹花瓣0.500 0 g,剪碎研磨后,超声功率为600 W,提取剂为60%乙醇,改变料液比,分别为1:10、1:20、1:30、1:40、1:50,在50℃条件下超声波处理30 min,然后将浸提液倒入离心管,在4 000 r·min<sup>-1</sup>的条件下离心10 min,取上清液定容至50 mL。吸取1 mL,按照1.3.1的方法依次加入2.5 mL福林酚试剂和10 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液,混合均匀后测定多酚的吸光度。二是乙醇浓度的确定。准确称取新鲜牡丹花瓣0.500 0 g,剪碎研磨后,其他条件不变,料液比确定为1:30,改变乙醇的浓度为30%、40%、50%、60%、70%,测定吸光度。三是提取温度的确定。准确称取新鲜牡丹花瓣0.500 0 g,剪碎研磨后,其他条件不变,乙醇浓度为50%,改变提取的温度:30、40、50、60和70℃,测定吸光度。四是超声波提取时间的确定。准确称取新鲜牡丹花瓣0.500 0 g,剪碎研磨后,其他条件不变,提取温度为50℃,把超声处理的时间设置为:10、20、30、40和50 min,测定吸光度。

1.2.5 数据分析 采用Excel 2010处理数据和制作图表。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

根据表1所得到的数据,以不同浓度的没食子酸(mg·mL<sup>-1</sup>)为横坐标绘制标准曲线,以波长

为765 nm处测得浓度不同的没食子酸溶液的吸光值为纵坐标绘制标准曲线。得到标准曲线方程(图1): $y = 0.5016x + 0.1869$ ;  $R^2$  (相关系数)=0.991 7。 $R^2$ 为0.991 7说明线性关系良好,标准曲线方程切实可用。

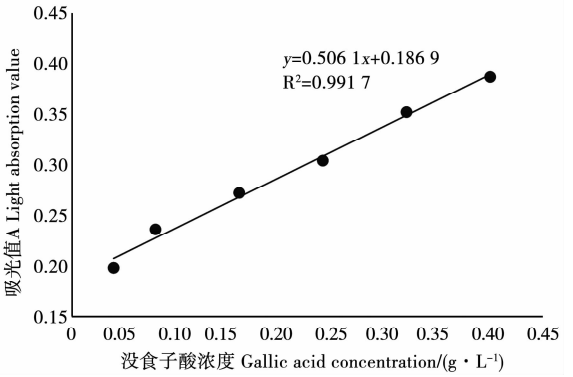


图 1 没食子酸标准曲线  
Fig. 1 Standard curve of gallic acid

2.2 单因素试验

2.2.1 料液比的确定 由图2可知,多酚的提取率随料液比的降低先上升后下降,当料液比为1:30时,多酚提取率最高为13.6%。其原因是多酚通常以氢键的形式与植物中多糖等物质形成化合物,而乙醇具有裂解氢键的作用,随着乙醇用量的增加,裂解作用增强<sup>[17]</sup>;随着料液比的继续降低,多酚提取率下降,这是由于乙醇的浓度过大,使得牡丹花中的各种成分相继溶出,从而限制了多酚的充分溶解。如果再继续增大提取剂用量,只会造成试剂的浪费。因此,乙醇浓度为60%,将温度设定在50℃,使用超声波处理30 min,料液比为1:30(g·mL<sup>-1</sup>)时牡丹花多酚的提取效果最好。

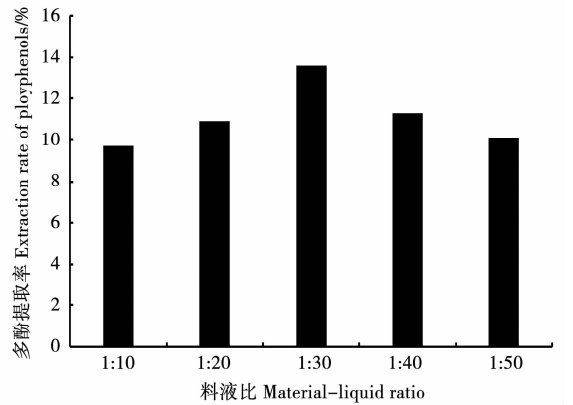


图 2 不同料液比对提取牡丹花多酚的影响  
Fig. 2 Effects of different ratio of material to liquid on extraction of polyphenols from peony flowers

2.2.2 乙醇浓度的确定 由图 3 可知,随着乙醇溶液浓度的增大,牡丹花多酚的提取率先随之增加,但当乙醇浓度超过 50%时,牡丹花多酚的提取率稍有下降,这是因为乙醇浓度过大,从而抑制了某些多酚的溶出,因此,为了避免试剂不必要的浪费,最适乙醇浓度确定为 50%。

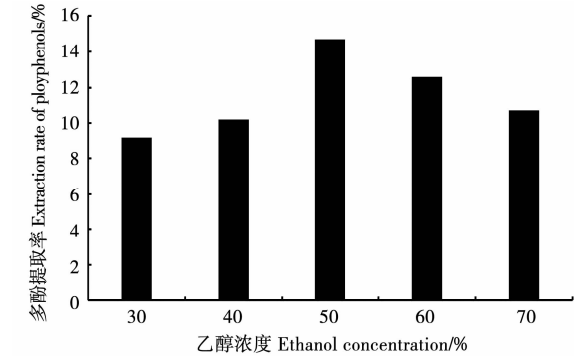


图 3 不同乙醇浓度对提取牡丹花多酚的影响  
Fig. 3 Effects of different ethanol concentrations on extraction of polyphenols from peony flowers

2.2.3 提取温度的确定 由图 4 可知,随着温度的增加,牡丹花多酚的提取率也随之增加,但当温度超过 50℃之后,牡丹花多酚的提取率随着温度的增大而下降,这是因为多酚遇热易分解,所以确定最佳提取温度为 50℃。

2.2.4 超声波提取时间的确定 由图 5 可知,在料液比为 1:30、乙醇浓度为 50%、提取温度为 50℃的情况下,30 分钟内随着提取时间的增加,牡丹花多酚的提取率增大,但当时间超过 30 min 之后,牡丹花多酚的提取率稍有下降,这是因为提取时间过长,导致花瓣中某些成分可能抑制多酚类物质的溶出,因此,可以确定最佳提取时间为 30 min。

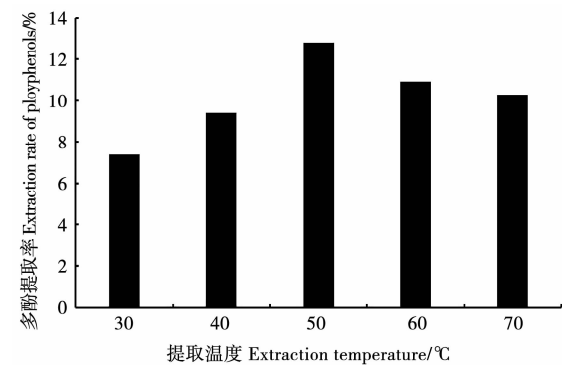


图 4 不同提取温度对提取牡丹花多酚的影响  
Fig. 4 Effects of different extraction temperatures on the extraction of polyphenols from peony flowers

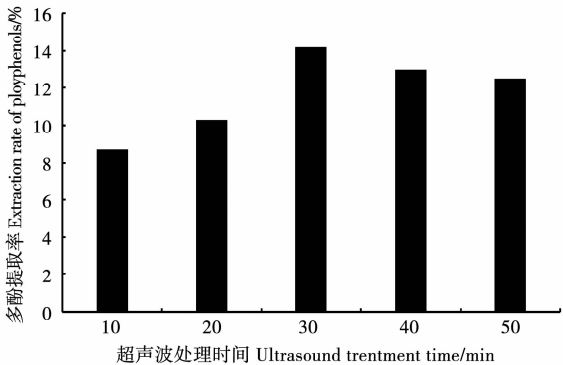


图 5 不同超声波处理时间对提取牡丹花多酚的影响  
Fig. 5 Effects of different ultrasound treatment time on extraction of polyphenols from peony flowers

2.3 正交试验设计

在单因素的试验基础上,为了综合考虑这 4 个因素,确定最佳提取工艺参数,以单因素实验确定的最佳条件为中心再选择 2 个水平,进行  $L_9(3^4)$  正交试验(表 2),计算牡丹花多酚的提取率。

表 2 牡丹花多酚提取因素及水平  
Table 2 Factors and levels of polyphenols extraction from peony flowers

因素 Factors	水平 Levels		
	1	2	3
A(料液比)	1:20	1:30	1:40
B(乙醇浓度)/%	40	50	60
C(提取温度)/°C	40	50	60
D(超声提取时间)/min	20	30	30

表 3 正交试验结果表明,提取温度对于牡丹花多酚的提取效果影响最大,其次为料液比,乙醇浓度对于牡丹花多酚的提取效果影响最小,即影响牡丹花多酚的提取因素主次顺序为  $C>A>D>B$ ;牡丹花多酚的最佳提取条件为  $A_3B_3C_3D_3$ ,即提取温度 60℃、料液比 1:40、超声波提取时间 30 min、乙醇浓度 60%。

2.4 验证试验

由表 3 中的正交试验结果可知多酚提取的最佳条件是  $A_3B_3C_3D_3$ ,即提取温度 60℃、料液比 1:40、超声波提取时间 30 min、乙醇浓度 60%。但此组配方没有出现在正交试验中,因此对该条件进行验证试验。取 3 份相同的样品进行平行试验,测得的平均值为 15.10%。因此,由  $A_3B_3C_3D_3$  这个组合的条件较为可行,具有一定的实际操作参考价值。

表 3 正交试验结果  
Table 3 Orthogonal test results

编号 No.	A	B	C	D	多酚提取率 Extraction rate of polyphenols/%
1	1	1	1	1	10.05
2	1	2	2	2	14.30
3	1	3	3	3	14.73
4	2	1	3	2	12.08
5	2	2	1	3	11.08
6	2	3	2	1	12.09
7	3	1	2	3	14.05
8	3	2	3	1	13.75
9	3	3	1	2	13.08
k1	13.03	12.06	11.40	11.96	
k2	11.75	13.04	13.48	13.15	
k3	13.62	13.30	13.52	13.29	
R	1.87	1.24	2.12	1.33	

3 结论

在不同条件下,牡丹花多酚的提取量变化较大,在超声功率为 600 W 时,牡丹花多酚的最佳提取工艺参数为提取温度 60 ℃、料液比 1:40、超声波提取时间 30 min、乙醇浓度 60%。在该提取条件下多酚的提取率为 15.10%;提取温度对于牡丹花多酚的提取效果影响最大,其次为料液比,乙醇浓度对于牡丹花多酚的提取效果影响最小。

参考文献:

[1] 郭传琦,崔波,李文华,等. 浅色系牡丹花瓣多酚含量及生物活性的研究[J]. 山东食品发酵,2013(13):13-16.  
[2] 高亚辉,张少文,张淑霞,等. 牡丹花的成分及应用研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2011,3(6):93-96.  
[3] 赵亦成,蒋纪洋. 淄博本草[M]. 北京:中国中医药出版社,1995.

[4] 史国安,郭香凤,包满珠. 不同类型牡丹花的营养成分及体外抗氧化活性分析[C]//中国机械工程学会. 2006 年中国机械工程学会年会暨中国工程院机械与运载工程学部首届年会论文集. 北京:机械工业出版社,2006.  
[5] 陈程,王海坤,张存劳,等. 响应面法优化超声辅助提取牡丹籽粕中多酚工艺[J]. 中国油脂,2017,42(3):127-130.  
[6] 苏宝来,孙泽飞,张延龙,等. 11 种牡丹花瓣多酚成分及抗氧化能力分析[C]//张启祥. 中国观赏园艺研究进展. 北京:中国林业出版社,2017.  
[7] Manach C, Mazur A, Scalbert A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases[J]. Current Opinion in Lipidology, 2005(16):77-84.  
[8] 齐继成. 植物多酚的开发应用前景[J]. 中国医药技术与市场,2007,7(4):31-34.  
[9] 张少衡,牛春艳. 北五味子中多酚物质的提取及其保鲜作用的研究[J]. 黑龙江科技信息,2015(27):136-137.  
[10] 吴丹,陈健初. 葡多酚的应用研究进展[J]. 粮油加工与食品机械,2003(5):57-59.  
[11] 陈蓓,姚慧,林海燕,等. 假烟叶树叶多酚物质的提取工艺优化[J]. 湖南农业科学,2015(8):83-86.  
[12] 史国安. 牡丹开花与衰老的生理生化机制研究[D]. 武汉:华中农业大学,2010.  
[13] 安佰义,赵飞. 牡丹不同类型总酚含量 PPO 活性研究[J]. 北华大学学报,2005(10):169-172.  
[14] 朱素英. 牡丹花多酚提取优化与抗氧化性[J]. 生物技术,2014,6(3):78-82.  
[15] Sun Y, Xu W, Zhang W, et al. Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from kudingcha made from *Ilex kudingcha* C. J. Tseng by using response surface methodology[J]. Separation and Purification Technology, 2011, 78(3):311-320.  
[16] Singh R P, Murthy K N C, Jayaprakash G K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using *in vitro* models[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2002(50):81-86.  
[17] 张红玉,王成章,张宇思,等. 超声波提取牡丹籽壳多酚工艺响应面法优化及抗氧化性研究[J]. 中国油脂,2015,40(6):90-94.

Process Optimization on Ultrasonic Extraction of Polyphenols from Peony Flower

MENG Xin-xin, MA Zhi-hui, CHEN Feng-zhen

(College of Agricultural and Biological Engineering, Heze University, Heze 274000, China)

**Abstract:** In order to promote the rational utilization of peony flower resources, with fresh peony flower as the experimental material, ethanol as the extraction agent, on the basis of the ultrasonic assisted method, first by the four factors influencing the peony extract polyphenols extraction temperature and ethanol concentration, solid-liquid ratio, ultrasonic time, single factor experiment and through orthogonal experiment, the optimum technological parameters of peony polyphenols extraction. The results showed that when the ultrasonic power 600 W, material liquid ratio of 1:40, extraction temperature 60 ℃, 60% ethanol concentration, ultrasonic time 30 min for the optimum extraction conditions; The effect of the extraction effect of polyphenols on the peony was from large to small to extract temperature, ultrasonic extraction time, liquid ratio and ethanol concentration. Under optimal conditions, the extraction content of polyphenols of peony was 15.10%.

**Keywords:** peony flowers; polyphenols; ultrasonic