

花生壳不同溶剂提取物的总酚含量及抗氧化性的比较研究

赵二劳, 武宇芳, 白建华
(忻州师范学院化学系, 山西 忻州 034000)

摘要: 分别以水、60% 乙醇、纤维素酶+60% 乙醇为提取剂, 采用超声辅助提取花生壳中活性成分, 研究提取物对 DPPH 自由基和羟自由基($\cdot\text{OH}$)的清除能力, 并测定提取物中总酚含量。结果表明: 在超声辅助条件下, 3 种不同提取剂水、60% 乙醇、纤维素酶+60% 乙醇的提取物中总酚含量依次为 81.22、205.9、370.8mg/100g。3 种提取物均具有较强的抗氧化能力, 且以纤维素酶+60% 乙醇超声提取物最强, 其对 DPPH 自由基的清除率为 88.49%, 对 $\cdot\text{OH}$ 清除率为 93.65%。花生壳提取物抗氧化能力与其总酚含量成正相关。

关键词: 花生壳; 总酚; 超声波; 纤维素酶; 抗氧化

Comparative Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Different Solvent Extracts from Peanut Shell

ZHAO Er-lao, WU Yu-fang, BAI Jian-hua
(Department of Chemistry, Xinzhou Teachers University, Xinzhou 034000, China)

Abstract: In this study, ultrasonic-assisted extraction was used to extract bioactive components from peanut shells with water, 60% ethanol or 60% ethanol combined with cellulase. The scavenging capacities of peanut shell extracts on DPPH and hydroxyl free radicals were evaluated. The contents of total phenol were determined. The results showed that the contents of total phenol in the extracts obtained using water, 60% ethanol and 60% ethanol + cellulase were 81.22, 205.9 mg/100 g and 370.8 mg/100 g, respectively. All three extracts had strong antioxidant capacity, especially the one obtained using 60% ethanol + cellulase. The scavenging rates of this extract on DPPH and hydroxyl free radicals were 88.49% and 93.65%, respectively. Therefore, the antioxidant capacity is positively correlated with the contents of total phenol in peanut shell extracts.

Key words: peanut shell; total phenol; ultrasonic treatment; cellulase; antioxidation

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)11-0079-03

花生(*Arachis hypogaea* L.)又名落花生, 长生果, 为豆科落花生属一年生草本植物, 是我国重要的经济作物, 我国各地普遍种植, 产量已达 1500 万 t, 位居世界第一位^[1], 因此每年都有大量花生壳产生。花生壳作为花生的副产品, 除少量用作燃料和动物饲料外, 大部分被白白扔掉, 造成资源的极大浪费^[2], 同时也严重污染环境。研究表明, 花生壳富含木质素、纤维素, 还含有多糖和酚类等活性成分, 具有抗炎、降血脂和增强免疫功能等药理作用^[3-4], 目前对花生壳活性成分提取分离的研究较多^[5-6], 有关其抗氧化性的研究报道不多^[7-8], 而以加纤维素酶的乙醇为提取剂, 超声提取花生壳活性成分的研究尚未见相关报道。为开发利用花生壳资源, 本实验分别以水、60% 乙醇和纤维素酶+60% 乙醇为提

取剂, 采用超声波辅助提取花生壳中活性成分, 测定提取物中总酚含量, 通过清除 DPPH 自由基和羟自由基($\cdot\text{OH}$)法研究提取物的抗氧化能力, 旨在为花生壳的综合利用和高附加值产品的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

花生壳, 购于某市农贸市场, 洗净去杂, 于烘箱中 50℃ 烘干, 药材粉碎机粉碎, 过 60 目筛, 装瓶备用。

没食子酸(分析纯) 天津市光复精细化工研究所; 酚试剂(生化试剂) 上海海聚生物科技有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 美国 Sigma 公司; 纤维素酶(生化试剂) 北京奥博星生物技术有限公司; 无水碳

收稿日期: 2011-05-26

基金项目: 山西省高校科技开发研究项目(200611041)

作者简介: 赵二劳(1952—), 男, 教授, 学士, 主要从事天然产物活性成分的提取及纯化工艺研究。E-mail: zel0350@sina.com

酸钠、乙醇及抗坏血酸等试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

723 型可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司；KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗仪 昆山市超声仪器有限公司；SHZ-D(III) 循环水式真空泵 巩义市予华仪器有限责任公司；HH-Z 型电热恒温水浴锅 北京科伟永兴仪器有限公司；AL104 电子分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司；TDL-4 型低速台式离心机 上海安亭科学仪器厂；中草药粉碎机 武义县屹立工具有限公司。

1.3 方法

1.3.1 花生壳提取物的制备

精确称取花生壳样品 5.0g，分别以 100mL 水、100mL 60% 乙醇和 100mL 加 0.5g 纤维素酶 + 60% 乙醇为提取剂，在温度 35℃、超声波功率 320W 的条件下，超声提取 30min，提取液过滤后定容，冰箱中冷藏保存，待用。

1.3.2 花生壳提取物中总酚含量测定方法

花生壳提取物中总酚含量的测定，以没食子酸为标准物，采用 Folin-Ciocalteu 法^[9-10]。实验确定的回归方程为： $A = 0.1115\rho + 0.0186$ ，相关系数 $r = 0.9996$ 。其中， A 为样品溶液在 769nm 波长处的吸光度； ρ 为没食子酸质量浓度/(mg/L)。实验表明，在 $\rho = 1.00 \sim 9.00$ mg/L 的范围内，没食子酸质量浓度与吸光度呈良好线性关系。花生壳提取物中总酚含量以每 100g 花生壳中含相当于没食子酸的毫克数表示。

1.3.3 对 DPPH 自由基清除率的测定^[11-12]

以常用抗氧化剂 VC 作阳性对照品。在 10mL 比色管中分别加入 2mL 0.042g/L 的 DPPH 溶液和不同体积的待测液或 VC 溶液，充分混合定容至刻度，反应 30min 后，在 517nm 波长处测定其吸光度。

花生壳提取物对 DPPH 自由基清除率用公式(1)计算。

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = (1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}) \times 100 \quad (1)$$

式中： A_i 为 2mL DPPH 溶液 + 待测液的吸光度； A_j 为待测液 + 与加入待测液等体积溶剂的吸光度； A_0 为 2mL DPPH 溶液 + 与加入待测液等体积溶剂的吸光度。

1.3.4 对 $\cdot\text{OH}$ 清除率的测定^[13-14]

采用固定反应时间法，分别测定加入与未加入花生壳提取物体系的吸光度，便能测定花生壳提取物对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力，以此评价花生壳提取物的抗氧化能力。并以常用抗氧化剂 VC 作阳性对照品。在 10mL 比色管中分别加入 7.52mmol/L 硫酸亚铁溶液 0.5mL、7.55mmol/L 水杨酸溶液 0.5mL 和 0.3% H_2O_2 溶液 0.5mL，

蒸馏水定容至刻度，在 37℃ 水浴中恒温反应 1h 后，于 510nm 波长处测定其吸光度 A_0 。在上述体系中分别加入不同量的花生壳提取物溶液或 VC 溶液测定吸光度为 A_i 。花生壳提取物对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率用公式(2)计算。

$$\cdot\text{OH 清除率}/\% = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中： A_i 为加入花生壳提取物后 $\cdot\text{OH}$ 体系的吸光度； A_0 为未加花生壳提取物时 $\cdot\text{OH}$ 体系的吸光度。

2 结果与分析

2.1 花生壳提取物总酚含量

表 1 花生壳提取物总酚含量($n = 3$)

Table 1 Contents of total phenol in different solvent extracts from peanut shell($n = 3$)

提取方法	总酚含量/(mg/100g)	RSD/%
水提法	81.22	0.74
60% 乙醇	205.9	0.53
纤维素酶 + 60% 乙醇	370.8	0.96

由表 1 可知，在相同的超声波辅助提取条件下，提取物中总酚含量大小顺序为：纤维素酶 + 60% 乙醇提取物 > 60% 乙醇提取物 > 水提取物，其原因可能是由于花生壳中含有较多的纤维素，纤维素酶的加入可以温和地分解、破坏细胞壁，加速花青素等多酚类物质的释放，从而导致总酚含量的增加^[9,15]。

2.2 花生壳提取物的抗氧化能力

2.2.1 对 DPPH 自由基的清除能力

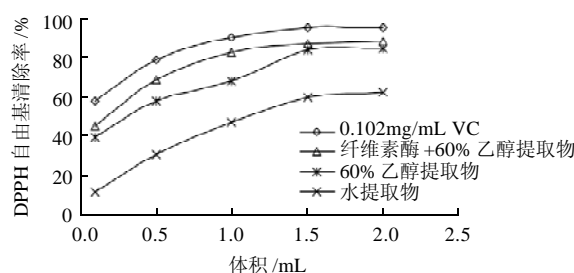


图 1 花生壳不同溶剂提取物和 VC 溶液对 DPPH 自由基的清除率
Fig.1 Scavenging rates of different solvent extracts from peanut shell and vitamin C on DPPH free radicals

由图 1 可知，各提取物均具有较强的 DPPH 自由基清除能力，且各提取物对 DPPH 自由基的清除率都随着花生壳提取物用量的增大而增强。同时，不同提取剂提取的花生壳提取物对 DPPH 自由基清除能力不同，其对 DPPH 自由基清除能力大小顺序为：纤维素酶 + 60% 乙醇提取物 > 60% 乙醇提取物 > 水提取物。但它们对

DPPH 自由基的清除率均小于相对应体积(质量浓度为 0.102mg/mL)的 VC 对 DPPH 自由基的清除率。

2.2.2 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力

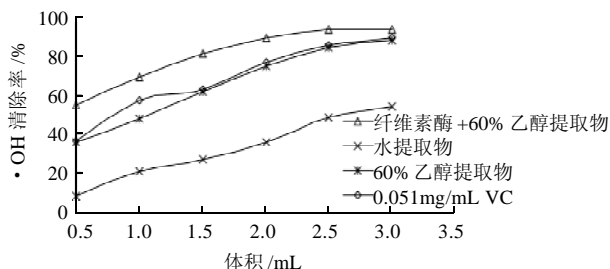


图2 花生壳不同溶剂提取物和 VC 溶液对 $\cdot\text{OH}$ 清除率

Fig.2 Scavenging rates of different solvent extracts from peanut shell and vitamin C on hydroxyl free radicals

由图 2 可知, 各提取物均具有较强的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力, 相对而言, 纤维素酶辅助超声波提取的提取物清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力最强, 强于阳性对照 VC(质量浓度为 0.051mg/mL)。即对 $\cdot\text{OH}$ 清除能力大小顺序为, 纤维素酶+60% 乙醇提取物> VC 溶液> 60% 乙醇提取物> 水提取物。结果显示, 3 种不同溶剂的花生壳提取物均具有较强的抗氧化能力, 且纤维素酶辅助超声波提取物最强, 其原因可能是采用纤维素酶辅助超声波提取, 抗氧化活性成分提取充分。

2.3 抗氧化能力与总酚含量的相关性

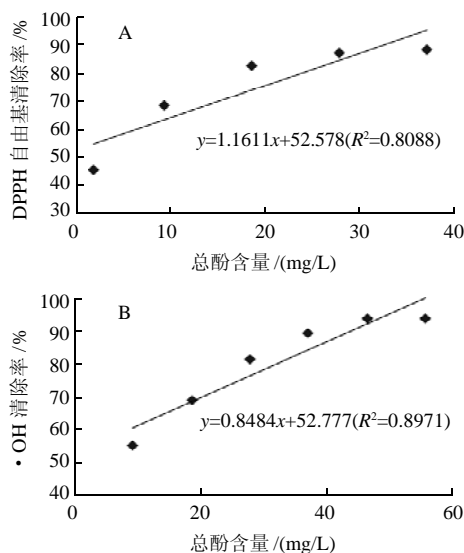


图3 抗氧化能力与总酚含量的相关性

Fig.3 Correlation between antioxidant activity and total phenol content

由图 3 可知, 由清除 DPPH 自由基法测得花生壳提取物抗氧化能力和总酚含量之间的相关系数 $r = 0.8993$; 由清除 $\cdot\text{OH}$ 法测得花生壳提取物抗氧化能力和总酚含量之间的相关系数 $r = 0.9472$, 表明花生壳提取物中总

酚含量与其抗氧化能力具有较好的相关性, 花生壳中总酚含量是决定花生壳抗氧化能力的一个重要因素。这与杨冬梅等^[16]通过测定得出蔬菜总抗氧化能力与多酚之间具有较好相关性($r = 0.8992$), 认为植物体内的抗氧化活性主要是由酚类物质提供, 酚类物质与抗氧化活性直接相关的结论一致。

3 结 论

在超声辅助下, 3 种不同提取剂水、60% 乙醇和纤维素酶+60% 乙醇的提取物中总酚含量依次为 81.22、205.9、370.8mg/100g。结果表明, 以纤维素酶+60% 乙醇为提取剂的花生壳提取物中总酚含量, 远高于以水、60% 乙醇为提取剂的花生壳提取物中总酚含量, 说明纤维素酶对花生壳中总酚的提取十分有效。

采用清除 DPPH 自由基和 $\cdot\text{OH}$ 法对花生壳提取物体外抗氧化活性进行考察, 发现 3 种不同提取剂的花生壳提取物均具有较强的抗氧化能力, 且以纤维素酶+60% 乙醇为提取剂花生壳提取物的抗氧化能力最强, 其对 DPPH 自由基的清除率为 88.49%, 对 $\cdot\text{OH}$ 清除率为 93.65%。且其对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力强于阳性对照物 VC。同时实验表明, 花生壳提取物的抗氧化能力与其总酚含量成正相关。

参考文献:

- [1] 李芳清, 徐卫东. 花生壳中黄酮类化合物的提取及其纯化[J]. 食品科学, 2009, 30(8): 101-105.
- [2] 石压中, 吴亚华. 花生壳综合利用研究现状[J]. 花生学报, 2008, 37(2): 41-44.
- [3] 孙兰萍, 马龙, 张斌, 等. 花生壳中黄酮类物质提取工艺优化研究[J]. 食品科学, 2009, 30(6): 97-101.
- [4] 杨国峰, 周建新, 王海峰, 等. 花生壳提取物的制备及其抗氧化与抗菌活性的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(2): 97-101.
- [5] 许晖, 孙兰萍, 张斌, 等. 响应面法优化花生壳黄酮提取工艺的研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(1): 107-111.
- [6] 于亚莉, 高峰, 刘静波, 等. 超声波法提取花生壳中多酚类物质的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 104-106.
- [7] 邓斌, 王存娣, 徐安武. 微波辅助提取花生壳黄酮类化合物及其抗氧化性研究[J]. 中国油脂, 2009, 34(3): 54-58.
- [8] 于亚莉, 高峰, 刘静波, 等. 超高压技术提取的花生壳多酚的抗氧化活性[J]. 吉林农业大学学报, 2009, 31(3): 334-337.
- [9] 高畅, 程大海, 高欣, 等. 蓝莓果渣提取物总酚含量及抗氧化活性[J]. 植物研究, 2010, 30(2): 253-256.
- [10] 杨磊, 贾佳, 祖元刚. 山楂果实提取物的体外抗氧化活性[J]. 中国食品学报, 2009, 9(4): 28-31.
- [11] WU Huichen, CHEN Huaming, SHIAU Chyuan. Free amino acid and peptide as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriacus*) [J]. Food Research International, 2003, 36(9): 949-957.
- [12] SUN Ting, HO Chitang. Antioxidant activities of buckwheat extracts[J]. Food Chemistry, 2005, 90(4): 743-749.
- [13] 王金梅, 张旭, 康文艺. 苍术及其麸炒品抗氧化活性研究[J]. 精细化工, 2010, 27(7): 664-666.
- [14] 李贵荣, 杨胜圆. 党参多糖的提取及其对活性氧自由基的清除作用[J]. 化学世界, 2001, 42(8): 421-422.
- [15] 吴春, 张艳. 纤维素酶法提取葡萄籽中原花青素的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 258-260.
- [16] 杨冬梅, 金月亭, 柯乐芹, 等. 12 种常见蔬菜抗氧化活性的比较研究[J]. 中国食品学报, 2007, 7(5): 24-29.