

富士苹果和国光苹果不同部位苹果多酚的提取研究

白变霞, 靳志强, 王玺

(长治学院 生物科学与技术系, 山西 长治 046011)

摘要: 以两个品种(富士和国光)的苹果不同部位的多酚含量比较为目的, 用3种不同溶剂(70%的甲醇、乙醇和丙酮)分别进行提取, 对两个品种的果皮部位和果皮加肉部位进行多酚类物质的粗提取, 通过福林酚法测定其含量。结果显示: 3种不同溶剂的提取结果均表现为富士苹果的多酚含量显著高于国光苹果($P < 0.05$)。且两个品种均表现为果皮组的多酚含量高于果皮加果肉组。由此可见, 富士苹果较国光苹果在多酚含量上占有优势, 且多酚类物质在果实的果皮中含量较高。

关键词: 苹果; 多酚; 提取

Study on the Extraction of Apple Polyphenol from Different Parts of Fuji and Ralls

BAI Bian-xia, JIN Zhi-qiang, WANG Xi

(Department of Biology Science & Technology, Changzhi University, Changzhi 046011, Shanxi, China)

Abstract: The purpose was to compare the polyphenol content from the different parts of the two cultivars (Fuji and Ralls). The two parts (peel, fresh with peel) were respectively extracted by methanol, ethanol and acetone (70%). The polyphenol content was measured by Folin-Ciocalteu method. The results showed that the Fuji apple polyphenol content was significantly higher than Ralls ($P < 0.05$). The two cultivars showed polyphenol content of the skin was higher than the fresh with peel. Thus, the polyphenol content of Fuji has an advantage than the Ralls, and apple polyphenol is mainly distributed in the skin.

Key words: apple; polyphenols; extraction

苹果是日常生活中常见的水果之一, 中医认为苹果具有开胃、醒酒、健脾和养心等功效^[1]。苹果多酚是苹果的重要功能性成分之一, 近年来的研究表明, 苹果多酚具有一定的抗氧化作用、抑菌作用、降血压功能、预防冠心病与中风、抗龋齿等, 可以被广泛地应用于食品、化妆品和医药行业等^[2-4]。苹果多酚是在果实生长发育过程中形成, 其含量与果实的成熟情况有一定关系, 有相关研究表明未成熟的果实较成熟果实多酚含量高^[5-6]。除果实的成熟度以外, 苹果多酚的含量高低还与苹果种类、果树栽培土壤情况、气候环境等

有关系^[7]。本试验选用富士苹果和国光苹果作为研究材料, 采用甲醇、乙醇和丙酮作为提取溶剂, 分别对果实不同部位(果皮、果皮加果肉)的多酚物质进行提取, 并且设置提取过程中加亚硫酸钠与不加亚硫酸钠的对照, 通过福林酚法测定多酚含量, 以期验证亚硫酸钠在提取过程中对多酚物质的保护效果, 同时对比两个品种之间多酚含量的差异, 为综合利用果汁厂的果渣废弃物提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料

富士苹果和国光苹果: 购买于博源超市(山西, 长治)。

所用试剂均为分析纯, 其中无水乙醇、甲醇、丙酮

基金项目: 长治学院科研项目(201519)

作者简介: 白变霞(1987—), 女(汉), 助教, 硕士, 研究方向: 天然产物提取及功能性研究。

和乙酸乙酯:天津市凯通化学试剂有限公司;无水亚硫酸钠:北京化学试剂三厂;碳酸钠:天津市塘沽化学试剂厂;焦性没食子酸:天津市大茂化学试剂厂;福林酚试剂:北京索莱宝科技有限公司。

多头磁力搅拌器(HJ-4A):金坛市科析仪器有限公司;多功能料理机(RZ-348T):合肥荣事达小家电有限公司;电子天平(FA2104)、分光光度计(722s):上海精密科学有限公司;旋转蒸发仪(RE-5ZAA)、循环水式真空泵(SHZ-D):上海压荣生化仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 苹果多酚的提取方法

参照杨薇的方法稍作修改^[9],将称取好的果皮(果皮加果肉)30.000 0 g用多功能料理机搅碎后,按料液比1:10(g/mL)的比例分别加入70%的甲醇、乙醇和丙酮,用磁力搅拌器于45℃搅拌30 min,过滤,收集滤液,重复3次,合并3次的滤液旋转蒸发(45℃),将有机试剂甲醇、乙醇和丙酮蒸发,残留物用乙酸乙酯萃取3次,旋转蒸发(45℃),将残留物用乙酸乙酯定容至10 mL,避光置于4℃冰箱中保存备用。

在上述试验方法的基础上,针对富士苹果不同部位(果皮,果皮加果肉)多酚提取过程中,分别做加亚硫酸钠和不加亚硫酸钠处理,加入亚硫酸钠的浓度为60 mg/L。

1.2.2 苹果多酚的含量测定

本文选用福林酚测定法对多酚含量进行测定。

标准曲线制作:先用5 mL乙醇溶解0.250 0 g没食子酸后,定容至50 mL,分别取0.0、0.5、1.0、2.5、3.5、4.0、4.5、5.0 mL到50 mL容量瓶中,用水定容配制成0、50、100、250、350、400、450、500 mg/L等浓度梯度的没食子酸标准溶液。从以上不同浓度的没食子酸标准溶液中分别量取0.5 mL至50 mL的容量瓶中,再分别向其中依次加入30 mL的去离子水,2.5 mL的福林酚试剂,混合,在0.5 min~8 min内,加入7.5 mL的20%的碳酸钠溶液,混合定容。将定容后的标准溶液在避光下保存2 h后,在765 nm下测其吸光值,绘制出标准曲线。

样品中多酚含量的测定:取溶于乙酸乙酯的苹果多酚0.5 mL加入到50 mL容量瓶中,再分别加入30 mL去离子水,混合加入2.5 mL的福林酚试剂,混合,在0.5 min~8 min内,加入7.5 mL的20%的碳酸钠溶液,混合定容。将定容后的标准溶液在避光下保存2 h后,在765 nm下测其吸光值。每组试验做3次重复。

1.3 数据处理

本试验数据主要通过Excel 2010和origin 8.5进

行数据的处理分析。

2 结果与分析

2.1 福林酚法标准曲线

以没食子酸作为测定多酚含量的标准物质,采用福林酚法进行测定,绘制的标准曲线如图1所示。

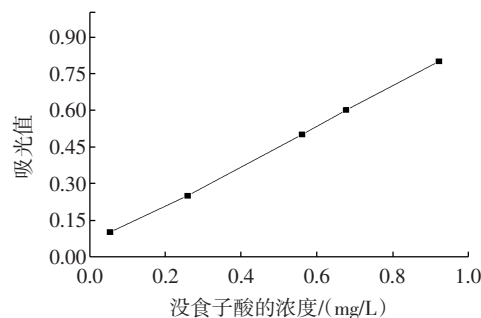


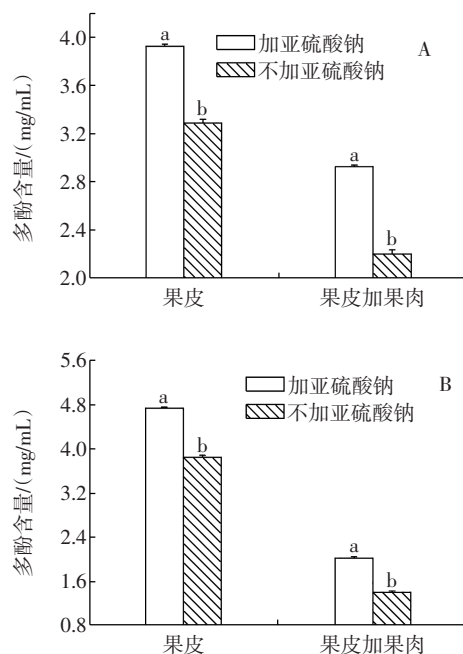
图1 福林酚法测总酚的标准曲线

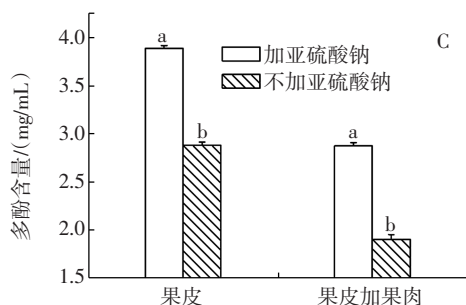
Fig.1 The standard curve of total polyphenols measured by Folin-Ciocalteu method

由图1可以看出,吸光度与没食子酸浓度之间呈现良好的线性关系。

2.2 提取液中加亚硫酸钠与不加亚硫酸钠对多酚含量的影响

多酚类物质含有多个酚羟基,容易被氧化,因此这类物质具有一定的抗氧化作用^[9]。在对苹果中多酚类物质提取过程中,苹果多酚能够与空气中的氧气接触发生一定的氧化作用,对多酚提取量造成一定影响。本试验在对富士苹果不同部位(果皮,果皮加果肉)多酚提取过程中做了加保护剂亚硫酸钠与不加保护剂的对比见图2。





A. 甲醇作为提取溶剂;B. 丙酮作为提取溶剂;C. 乙醇作为提取溶剂。

a,b 表示差异显著 ($P<0.05$)。

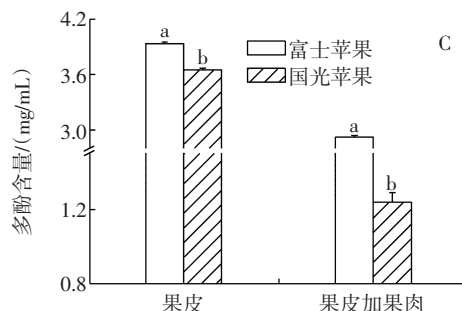
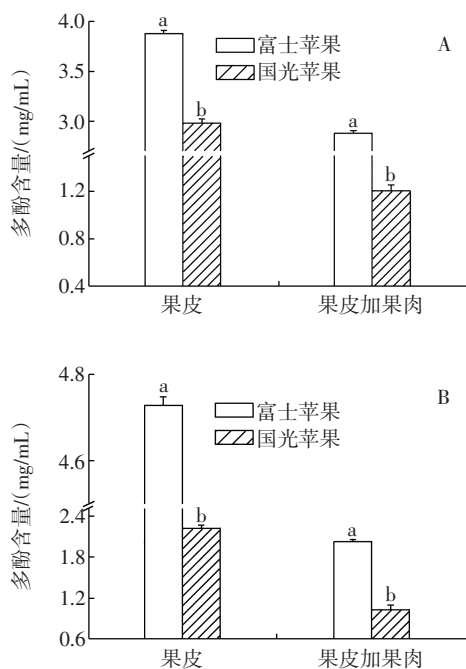
图2 亚硫酸钠对富士苹果多酚提取的影响

Fig2 The effect of sodium sulfite on the polyphenol extracts from Fuji

由图2可以看出,在分别用70%的甲醇、乙醇和丙酮对苹果多酚提取的结果,无论是果皮组还是果皮加果肉组,均表现为加保护剂亚硫酸钠组的多酚提取量显著高于不加保护剂的对照组 ($P<0.05$)。由此可以看出在对苹果多酚的提取过程中有必要加入保护剂亚硫酸钠。同时也可以看出,无论哪种溶剂进行多酚提取,富士苹果果皮组的多酚含量均明显高于果皮加果肉组。

2.3 两个品种苹果(富士和国光)不同部位多酚含量的对比

采用70%的甲醇、乙醇和丙酮3种不同的溶剂分别对两个品种苹果的不同部位(果皮,果皮加果肉)的多酚进行提取,在提取过程中均加入亚硫酸钠(60 mg/L)作为保护剂,对提取的粗提物采用福林酚法测定其中的多酚含量,结果如图3所示。



A. 乙醇作为提取溶剂;B. 丙酮作为提取溶剂;C. 甲醇作为提取溶剂。

a,b 表示差异显著 ($P<0.05$)。

图3 3种溶剂对两个品种苹果多酚提取量的影响

Fig.3 The effect of three solvents on the apple polyphenol extracts from the two cultivars

由图3可知,无论是哪种溶剂进行提取,对于富士苹果和国光苹果均表现为果皮组的多酚含量明显高于果皮加果肉组。这与已有报道苹果多酚主要分布于果皮和果核部位相一致。

本试验还分别对两个品种苹果的相同部位多酚含量进行了显著性差异分析。

由图3(A)可以看出以70%的乙醇作为提取溶剂,富士苹果的果皮组多酚含量显著高于国光苹果的果皮组 ($P<0.05$);对于果皮加果肉组的多酚含量,也表现为富士苹果显著高于国光苹果 ($P<0.05$)。由图3(B)可以看出,以70%丙酮作为提取溶剂,富士苹果的果皮组多酚含量显著高于国光苹果的果皮组 ($P<0.05$);对于果皮加果肉组的多酚含量,也表现为富士苹果显著高于国光苹果 ($P<0.05$)。由图3(C)可以看出,以70%的甲醇作为提取溶剂,果皮组和果皮加果肉组的多酚含量情况与70%的乙醇和丙酮作为提取溶剂时相一致。

需要注意的是,由图3(A)、图3(B)与图3(C)可以看出,对于果皮组,富士苹果表现为70%的丙酮对多酚的提取量最大的;而国光苹果表现为70%的甲醇对多酚的提取量最大的;对于果皮加果肉组,富士苹果和国光苹果均表现为70%的乙醇提取效果最好。造成这种差异的原因可能是不同苹果品种和苹果不同部位所含的多酚种类存在一定差异,而不同种类的多酚在极性方面也是不相同^[10],因此在70%的甲醇、70%的乙醇和丙酮中的溶解性存在差异,最终导致3种溶剂的提取效果出现差异。

3 结论与讨论

由本文的试验结果可以看出,富士苹果和国光苹果两个不同的品种之间,苹果多酚的含量均存在较大差异,富士苹果无论是果皮部位还是果皮加果肉部位均显著高于国光苹果 ($P<0.05$)。造成两个品种间多酚

采用荧光定量PCR方法快速检测蔬菜中沙门氏菌

郭蕾, 江洁*, 武晓松

(大连民族大学 生命科学学院, 辽宁 大连 116600)

摘要: 为快速检测蔬菜中的沙门氏菌, 建立一种荧光定量 PCR 检测方法。筛选出特异性引物可稳定的扩增沙门氏菌特异性基因 *invA*。利用循环次数 C_q 值和菌落数对数的线性关系得出荧光定量 PCR 方法对沙门氏菌检出最低浓度为 18 cfu/mL。利用建立的荧光定量 PCR 检测方法对大连开发区 3 个地点采样 10 种蔬菜共 60 份样品进行检测, 检测结果显示, 在 60 份样品中有 5 份样品确定存在沙门氏菌, 检出率为 8.33%。试验证明, 荧光定量 PCR 检测方法具有快速简便和高效特异等优势, 并可定量分析, 可用于蔬菜中沙门氏菌的快速检测。

关键词: 沙门氏菌; 蔬菜; 荧光定量 PCR

Real Time Fluorescence Quantitative PCR Method for Rapid Detection *Salmonella* in Vegetables

GUO Qiang, GANG Jie*, WU Xiao-song

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, Liaoning, China)

Abstract: For the rapid detection of *Salmonella* in vegetables, a kind of Real Time PCR method had been established. The *invA* gene was screened as stable *Salmonella*-specific gene. The minimum test concentration of Real Time PCR detection for *Salmonella* was 18 cfu/mL by linear relationship between the Cycles (C_q) and colony count logarithm. 60 samples were detected of 10 kinds of vegetables from Dalian Development Zone by the Real Time PCR method. The results showed that there were 5 samples to determine *Salmonella* in the 60 sam-

基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划课题(2012BAD38B05); 2014 年度研究生创新基金项目(YCX20141034)

作者简介: 郭蕾(1991—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 食品安全检测。

* 通信作者: 江洁(1965—), 女(满), 教授, 博士, 研究方向: 食品生物技术。

含量差异可能是由于不同品种的种植条件和生长环境等因素造成的。另外苹果果实不同部位, 多酚含量也存在明显差异, 果皮组明显高于果皮加果肉组, 这一试验结果与王皎等^[11]的研究结果是相一致的, 以期为后续果汁厂果渣中苹果多酚研究与开发提供一定理论基础。

参考文献:

- [1] 韩菊, 高洪潮, 魏福祥, 等. 苹果多酚的性能研究[J]. 食品科技, 2008(10): 139-142
- [2] 孙红男, 孙爱东, 苏雅静, 等. 苹果多酚抑菌效果的研究[J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(4): 280-283
- [3] Y Lu, L Y Foo. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace[J]. Food Chemistry, 2000, 68(1): 81-85
- [4] Scalbert A, Williamson G. Dietary Intake and Bioavailability of polyphenols[J]. Journal of Nutrition, 2000, 130(8): 2073-2085
- [5] 曲恩超, 魏福祥. 苹果多酚的研究进展[J]. 河北化工, 2006, 29(1): 5-8
- [6] 梁峙. 苹果多酚的功效研究与应用[J]. 农牧产品开发, 1998(6): 18
- [7] 孙平平. 苹果多酚的研究概况[J]. 科技创新导报, 2011(7): 7, 10
- [8] 杨薇. 苹果多酚的提取纯化及抗龋齿活性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2010: 12-14
- [9] 石碧, 狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 30-31
- [10] A Picinelli, Belén Suañez, Juan José Mangas. Analysis of polyphenols in apple products[J]. European Food Research and Technology, 1997, 204(1): 48-51
- [11] 王皎, 高颖, 赵丽敏, 等. 测定不同品种苹果果皮和果肉中总多酚的含量[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(20): 87-89

收稿日期: 2016-01-21