

doi: 10.3969/j.issn.1004-275X.2025.07.32

新工科背景下化工综合性创新实验设计探索 ——紫薯原花青素的提取及其抗氧化活性研究*

吴春燕, 翁艳英, 谭义秋

(广西民族师范学院 化学与材料学院, 广西 崇左 532200)

摘要: 新工科背景下创新性实验对化工类人才培养尤为重要。根据前期科研成果, 设计了专业综合实验——紫薯原花青素的提取及其抗氧化活性研究。实验内容包括原花青素标准曲线的绘制、单因素试验、正交试验、抗氧化活性研究等实验模块。该实验结合了仪器分析、天然产物化学、计算机在化工中的应用等学科知识, 具有综合性、创新型, 能有效培养学生文献查阅能力、团队协作能力、知识运用能力、分析解决问题能力等科研素养, 提升学生的实践操作能力及科研创新精神。

关键词: 化工综合实验; 紫薯; 原花青素; 实验设计; 新工科; 创新

中图分类号: G642 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-275X(2025)07-0141-05

Exploration of Comprehensive Innovative Experiment Design in Chemical Engineering under the Background of New Engineering ——Extraction of Anthocyanins from Purple Sweet Potato and Study on Its Antioxidant Activity*

WU Chunyan, WENG Yanying, TAN Yiqiu

(College of Chemistry and Materials, Guangxi Minzu Normal University, Chongzuo 532200, China)

Abstract: Under the background of new engineering disciplines, innovative experiments are particularly important for the cultivation of chemical engineering talents. Based on previous research achievements, a comprehensive professional experiment—the extraction of anthocyanins from purple sweet potatoes and the study of their antioxidant activity was designed. The experimental content included the drawing of the standard curve of anthocyanins, single-factor experiments, orthogonal experiments, and the study of antioxidant activity and other experimental modules. This experiment integrates knowledge from disciplines such as instrumental analysis, natural product chemistry, and the application of computers in chemical engineering. It is comprehensive and innovative, and can effectively cultivate students' research literacy such as literature review ability, teamwork ability, knowledge application ability, and problem-solving ability, as well as enhance their practical operation skills and scientific research innovation spirit.

Keywords: Comprehensive Chemical Experiment; Purple Sweet Potato; Proanthocyanidins; Experimental Design; New Engineering; Innovative

2023年2月,教育部等五部门关于印发《普通高等教育学科专业设置调整优化改革方案》的通知中提出,围绕“新的工科专业,工科专业的新要求,交叉融合再出新”,深化新工科建设,将相关学科专业发展前沿成果、最新要求融入人才培养方案和教学过程^[1]。化工专业综合实验是培养化工专业学生实践操作能力的重要手段,但目前化工专业综合实验仍沿用旧教材的一些验证性的实验项目,跟不上化工行业快速发展的要求。因此,有必要将最新科研成果融入到化工专业综合实验中。

根据前期研究成果,设计了紫薯原花青素的提取及其抗氧化活性研究的综合性创新实验。原花青素是

一种有着特殊结构的多酚类物质^[2],具有抗氧化、抗癌、预防心血管疾病、抗炎症、抗过敏等生物活性^[3],在保健食品、化妆品以及医药的领域中有着广泛的应用^[4],应用前景广阔。原花青素的提取方法有溶剂提取法^[5]、超声波提取法^[6]、酶提取法^[7]、低共熔溶剂提取法^[8]、微波提取法等^[9]。其中超声波提取主要利用超声波产生的空化效应、机械效应等作用,使植物中的有效成分能与溶剂充分接触并快速溶入溶剂中,且几乎不改变有效成分的物理化学性质^[10]。本实验以价廉易得的紫薯作为原料,使用超声波提取法提取其中的原花青素。通过单因素实验和正交实验,选择出最佳的提取条件,并研究其体外抗氧化活性。本实验包含

收稿日期: 2025-05-08

* 基金项目: 2024年广西自治区级新工科、新医科、新农科、新文科研究与实践项目(项目编号: XGK202416)。

作者简介: 吴春燕(1982-),女,广西浦北人,硕士,副教授,研究方向为天然产物开发及应用。

原花青素的提取过程、分析测定及其抗氧化活性实验,涉及到有机化学、仪器分析、天然产物化学、计算机在化工中的应用等多门课程的知识点,通过完成本实验,培养学生文献查阅能力、团队协作能力、知识运用能力、分析解决问题能力等科研素养,提升学生的实践操作能力及科研创新精神。

1 实验目的

- 1) 通过查阅文献,了解原花青素的性质与结构特点。
- 2) 掌握原花青素的提取及分光光度计测定原花青素的方法。
- 3) 掌握抗氧化活性的研究方法。

2 实验原理

原花青素是一种有着特殊结构的生物类黄酮混合物,它主要是由不同数量的儿茶素或者表儿茶素缩合而成的地聚合物,能溶于甲醇、乙醇、丙酮等极性溶剂中^[11]。原花青素在酸性条件下与香草醛发生缩合反应产生红色物质,故可用分光光度计进行测定。原花青素的测定方法主要由香草醛-盐酸法、香草醛-硫酸法、正丁醇-盐酸法等^[12],本实验使用香草醛-盐酸法进行测定。

3 实验材料

紫薯 购自崇左市美佳超市;原花青素标准品(>98%)、DPPH,上海麦克林生化科技股份有限公司;乙醇、抗坏血酸、七水硫酸亚铁、水杨酸、30%过氧化氢、六水合三氯化铁、盐酸、香草醛、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、三氯乙酸,成都市科隆化学品有限公司。

4 实验方法

4.1 原花青素标准曲线的绘制

1) 显色剂的配制:将1%的香草醛甲醇溶液和8%的盐酸甲醇溶液以1:1(体积比)的量混合摇匀制成显色剂,需现配现用。

2) 原花青素标准曲线的测定:称取10.00 mg的原花青素标准品用乙醇溶解,定容至100 mL,配制质量浓度为0.1 mg/mL的储备液。在5支10 mL的比色管中分别加入2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL储备液,各加入3.0 mL显色剂后,用乙醇定容至刻度,配成质量浓度为0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mg/mL的原花青素标准溶液。摇匀后在室温下让待测液充分反应30 min。以乙醇溶液替代样品溶液调零做空白试验,在495 nm处用可见分光光度计检测,以原花青素的质量浓度 ρ 为横

坐标,以吸光度值A对原花青素的质量浓度原花青素的标准曲线^[5]。

4.2 紫薯原花青素的提取与测定

1) 原料处理:新鲜紫薯切薄片→60℃烘干→粉碎→80目标准筛过筛→烘干→紫薯粉。

2) 原花青素提取与测定:准确称取1 g紫薯粉加入30 mL体积分数为60%的乙醇,置于60℃的300 W的超声波清洗机40 min,转移至离心管中4000 r/min离心10 min,取上清液,即为紫薯原花青素提取液。移取0.1 mL紫薯原花青素上清液于25 mL容量瓶中,加入无水乙醇定容至刻度,按4.1的方法测定吸光度。通过原花青素标准曲线计算紫薯原花青素质量浓度,得率计算式为:

$$\text{原花青素得率} = \frac{\rho \times N \times V}{m \times 10^3} \times 100\%$$

式中: ρ 为定容后的紫薯原花青素质量浓度,mg/mL; m 为紫薯粉质量,g; V 为紫薯原花青素提取液总体积,mL; N 为溶液稀释倍数。

4.3 紫薯原花青素的提取工艺

1) 单因素试验

按照4.2的方法提取紫薯原花青素,考察乙醇体积分数(40%、50%、60%、70%、80%)、液料比(10:1、20:1、30:1、40:1、50:1(mL/g))、提取温度(30、40、50、60、70℃)、提取时间(10、20、30、40、50 min)对野紫薯原花青素得率的影响。

2) 正交试验

根据单因素试验的结果,安排 $L_9(3^4)$ 正交试验,见表1。

表1 正交试验因素水平表

水平	因素			
	A(乙醇体积分数/%)	B(液料比/(mL/g))	C(提取时间/min)	D(提取温度/℃)
1	50	20:1	20	40
2	60	30:1	30	50
3	70	40:1	40	60

4.4 抗氧化活性的研究

1) 原花青素提取液对羟基自由基的清除能力测定 参照文献[13]的方式测定。配制9 mmol/L FeSO_4 溶液、9 mmol/L水杨酸-乙醇溶液和8.8 mmol/L H_2O_2 溶液,取这三种溶液相同的量混合摇匀,作为检测液备用。在10 mL比色管中加入不同质量浓度的紫薯原花青素提取液1 mL,再加入检测液3 mL并用蒸馏水定容。将比色管中的溶液放在暗处反应30 min后在波长为510 nm处测定其吸光度,记为 A_0 。照上述方法

用蒸馏水代替原花青素样品溶液,测得 A_0 。直接测定原花青素溶液,不需要加检测液,测得 A_1 。以抗坏血酸作为对照品。每组实验重复做三次。根据下式计算出紫薯原花青素提取液对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率。

$$\text{羟基自由基清除率} = [1 - (A - A_1) / A_0] \times 100\%$$

2) 紫薯原花青素提取液对 DPPH 自由基的清除能力测定

参照文献[14]的方式测定。配制浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液。在 10 mL 比色管中依次加入 2.0 mL 不同浓度的原花青素提取液和 DPPH 溶液,摇匀并在暗处反应 30 min 后在波长 517 nm 处测定其吸光度,测得 A 。按照以上步骤以无水乙醇代替 DPPH 溶液,测得 A_1 。另外再量取 2.0 mL 的无水乙醇和 DPPH 溶液,照上述方法检测得 A_0 。以抗坏血酸作为对照品。每组实验重复做三次。根据下式计算出紫薯原花青素提取液对 DPPH 自由基的清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率} = [1 - (A - A_1) / A_0] \times 100\%$$

5 结果与分析

5.1 原花青素标准曲线的绘制

在质量浓度范围为 0.02 ~ 0.10 mg/mL 时,原花青素的标准曲线为: $A = 8.03\rho - 0.0232$, 相关系数 $R^2 = 0.9997$ 线性关系良好,见图 1。

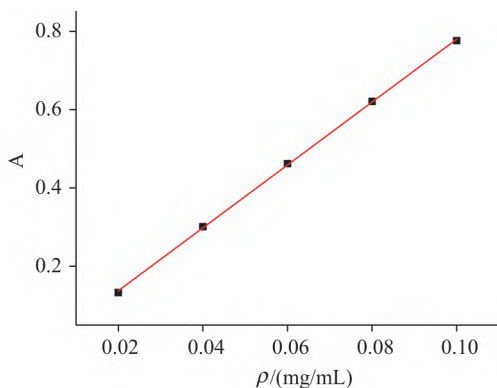


图1 原花青素标准曲线图

5.2 单因素试验

5.2.1 乙醇体积分数对紫薯原花青素提取率的影响

乙醇体积分数较低时,紫薯原花青素的提取率也低,且在实验过程中发现,低浓度乙醇溶液提取的紫薯原花青素在用乙醇定容后会出现混浊的情况,可能是因为一些溶解度较好的水溶性物质如糖类、果胶等溶解在溶剂中,导致原花青素溶出率下降。当乙醇体积分数超过 60% 时,由于提取体系极性发生改变,一些醇溶性杂质、亲脂性强的成分溶出量增加是造成提取率降低的原因^[15-16]。故正交试验选择的乙醇体积分数为 50%、60%、70%。见图 2。

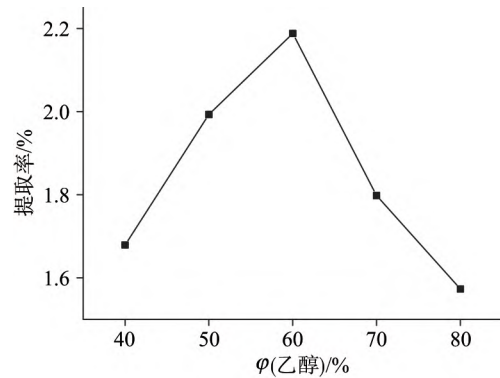


图2 乙醇体积分数对提取率的影响

5.2.2 液料比对紫薯原花青素提取率的影响

紫薯原花青素的提取率随液料比的增大先增大后减小,当液料比达到 30:1 (mL/g) 时,紫薯原花青素的提取率达到最大值。当液料比较小时,紫薯原花青素与溶剂接触面积较少,原花青素溶出也较少;液料比超过 30:1 mL/g 时,提取率下降,可能是因为溶剂增多,其他非原花青素物质溶出增多,影响了原花青素的溶出。因此,正交试验选择的液料比为 20:1、30:1、40:1 (mL/g)。见图 3。

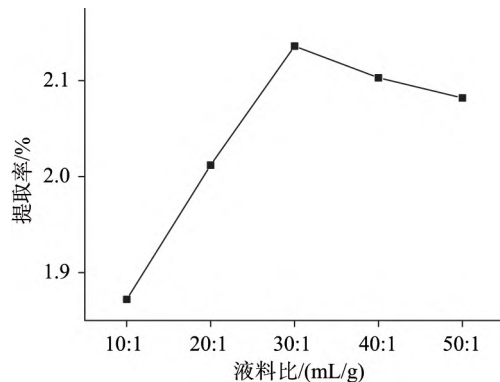


图3 液料比对提取率的影响

5.2.3 提取时间对紫薯原花青素提取率的影响

紫薯原花青素的提取率随着提取时间的变化先上升后下降。在 10 ~ 30 min 范围内,紫薯原花青素提取率不断升高。提取时间为 30 min 时,紫薯原花青素提取率达到最大值。超过 30 min 后,紫薯原花青素的提取率随着时间的延长开始逐渐降低,可能是因为提取时间过长会导致紫薯原花青素酚羟基结构被破坏或发生氧化反应,影响紫薯原花青素的提取率。因此,正交试验选择的提取时间为 20、30、40 min。见图 4。

5.2.4 提取温度对紫薯原花青素提取率的影响

在低温条件下,由于分子运动较弱,原花青素难以向溶剂中扩散,不利于紫薯原花青素的提取。温度升高可以加快分子的扩散、渗透和溶解速度。而过高的温度可能会造成紫薯原花青素发生原花青素的氧化聚合,破坏本身结构,从而使提取率降低。因此,正交试验选择的提取温度为 40、50、60 °C。见图 5。

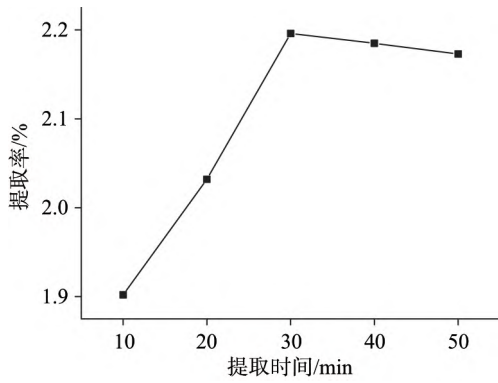


图4 提取时间对提取率的影响

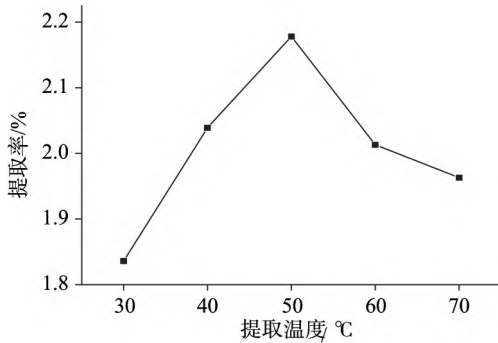


图5 提取温度对提取率的影响

5.3 正交试验优化

提取紫薯原花青素,得到的最好工艺条件为 $A_2B_2C_3D_2$, 即乙醇体积分数为 60%、液料比为 30:1 (mL/g)、提取时间为 40 min、提取温度为 50 °C。在此条件下进行三次重复实验,可得紫薯原花青素的提取率为 2.416%。极差 R 值反映了各因素对结果的影响大小,各因素对紫薯原花青素提取率影响的大小顺序为: A(乙醇体积分数) > C(提取时间) > D(提取温度) > B(液料比)。见表 2。

表 2 正交试验结果

实验号	因素				提取率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	2.073
2	1	2	2	2	2.336
3	1	3	3	3	2.297
4	2	1	2	3	2.345
5	2	2	3	1	2.397
6	2	3	1	2	2.302
7	3	1	3	2	2.198
8	3	2	1	3	1.989
9	3	3	2	1	2.083
K_1	6.706	6.616	6.364	6.553	
K_2	7.044	6.722	6.764	6.836	
K_3	6.27	6.682	6.892	6.631	
k_1	2.235	2.205	2.121	2.184	
k_2	2.348	2.241	2.255	2.279	
k_3	2.090	2.227	2.297	2.210	
R	0.258	0.036	0.176	0.095	

5.4 抗氧化活性的结果与分析

5.4.1 羟基自由基清除能力

紫薯原花青素对羟基自由基的清除率随质量浓度增大而增大,但低于同浓度下抗坏血酸的清除率。当质量浓度由 0.1 mg/mL 增加至 0.6 mg/mL 时,紫薯原花青素对羟基自由基的清除率由 32.21% 增加至 56.77%,表明紫薯原花青素具有一定的羟基自由基清除能力。见图 6。

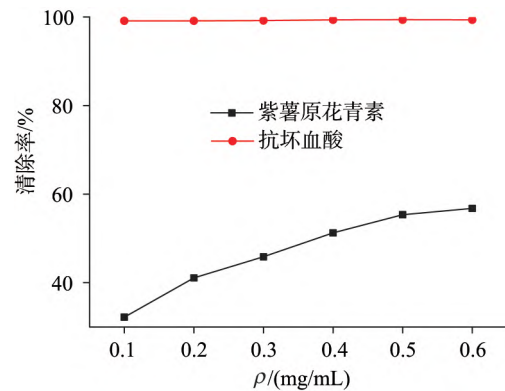


图6 紫薯原花青素羟基自由基清除能力

5.4.2 DPPH 自由基清除能力

紫薯原花青素对 DPPH 自由基的清除率随质量浓度增大而增大,并与抗坏血酸清除率之间的差距逐渐减小。当质量浓度由 0.1 mg/mL 增加至 0.6 mg/mL 时,DPPH 自由基的清除率由 35.38% 增加至 93.56%,表明了紫薯原花青素具有较强的 DPPH 自由基清除能力。见图 7。

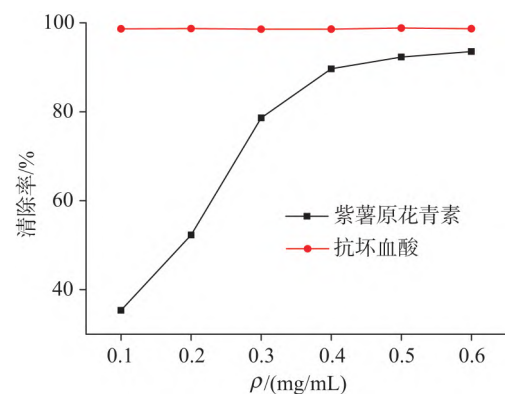


图7 DPPH 自由基清除能力

6 实验结论

通过正交试验,可得提取紫薯原花青素的最好工艺条件为:乙醇体积分数为 60%、液料比为 30:1 (mL/g)、提取时间为 40 min、提取温度为 50 °C。在此条件下紫薯原花青素的提取率为 2.416%。各因素对紫薯原花青素提取率影响的大小顺序为:乙醇体积分数 > 提取时间 > 提取温度 > 液料比。抗氧化活性实验

表面,在紫薯原花青素的质量浓度为0.6 mg/mL时,对羟基自由基的清除率为56.77%,对DPPH自由基的清除率为93.56%,表明紫薯原花青素具有一定的抗氧化能力。

7 实验安排

1) 课前。安排学生查阅有关原花青素提取方法的文献,了解原花青素的结构、性质、提取方法、抗氧化原理及测定方法,并完成预习报告。

2) 课中。学生2~3人一组,实验共设12课时,教师讲解1课时,原花青素的标准溶液的配制及测定2课时,单因素3课时,正交试验优化3课时,抗氧化活性试验2课时。教师讲解原花青素标准溶液的配制及注意事项,使用分光光度计演示标准曲线的测定,并在电脑上演示如何使用软件绘制标准曲线、单因素试验图形的制作、正交试验的计算等,实验中如果标准曲线线性关系达不到要求则要求重新配制溶液测定。

3) 课后。处理及分析实验数据,每个实验部分都必须做讨论,包括标准曲线是否线性关系良好、单因素试验各水平对紫薯原花青素提取率大小的影响原因、正交试验的最佳工艺条件及对原花青素影响大小次序、通过羟基自由基与DPPH自由基清除能力判断紫薯原花青素的抗氧化活性等,最后完成实验报告上交。

8 结语

我校化学工程与工艺专业的化工综合实验课程开设在第6学期,本实验是在已完成有机化学、有机化学实验、仪器分析、仪器分析实验、天然产物化学、计算机在化工中的应用等相关课程的基础上开设的,实验内容既涉及到化工基础课程的基本原理、常用仪器的操作,也涉及到相关化学化工软件的使用,多学科交叉应用,综合性较强。同时,我院近四届化学工程与工艺专业学生有关天然产物提取类的毕业论文中占32.7%,占比较高,本实验项目的开设也有利于指导学生第7~8学期的毕业论文开展。通过完成本实验,增强了学生的实践操作能力、实验数据处理能力,提升了学生的科研思维,提升学生的实践操作能力及科研创新精神。培养了学生的综合能力。

参考文献:

- [1] 陆冰琳. 新工科背景下电子商务专业数据库原理与应用课程教学研究与实践[J]. 教育信息化论坛, 2024(3): 39-41.
- [2] 罗应, 李彦青, 涂睿, 等. 响应面法优化百香果中原花青素提取工艺研究[J]. 应用化工, 2020, 49(12): 3026-3030.
- [3] 刘鹤, 孙杰, 费晓伟, 等. 原花青素生理功效和分析研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(12): 211-217.
- [4] 张媛雯, 赵琳, 谭伟. 植物原花青素的应用研究进展[J]. 中国果菜, 2023, 43(7): 24-28+41.
- [5] 吴春燕, 蔡敏, 廖如樱. 正交试验优化黑米原花青素的提取工艺及其抗氧化性研究[J]. 山东化工, 2023, 52(13): 10-13.
- [6] 郭志刚, 黄小强, 刘顺和, 等. 响应面法优化女贞花原花青素的提取工艺及抗氧化活性[J]. 食品科技, 2024, 49(9): 218-226.
- [7] 周春晖, 龚丽妍, 丘智聪, 等. 越橘原花青素的提取及其体外抗氧化活性研究[J]. 保鲜与加工, 2024, 24(1): 20-27.
- [8] 郑德瑜, 张瑞芬, 黄菲, 等. 低共熔溶剂提取荔枝壳中的原花青素及其抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2024, 40(2): 246-256.
- [9] 林赛婷, 田君飞, 史荣祥, 等. 微波辅助低共熔溶剂高效提取油茶壳原花青素的工艺优化[J]. 应用化工, 2023, 52(2): 398-403.
- [10] 郝丽, 杨志伟. 超声波-酶法提取紫甘蓝花青素条件优化及其抗氧化和消化酶抑制活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(22): 295-304.
- [11] 赵利敏. 葡萄皮渣中活性物质提取工艺研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2012.
- [12] 吕品, 桑田, 李朋伟. 响应面法优化香草醛法测定莽吉柿果壳原花青素[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(2): 160-166.
- [13] 吴春燕, 蔡敏, 黄莹莹, 等. 响应面法优化酶-超声波辅助提取黑米花青素工艺及其抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(5): 121-125.
- [14] 孙姗姗, 熊蕾, 杨洋, 等. 紫薯花青素的提取工艺及抗氧化、抗紫外活性研究[J]. 中国野生植物资源, 2024, 43(12): 10-18.
- [15] 罗应, 李彦青, 涂睿, 等. 响应面法优化百香果中原花青素提取工艺研究[J]. 应用化工, 2020, 49(12): 3026-3030.
- [16] 只德贤, 张妮, 李建颖. 微波超声协同提取白刺果原花青素工艺及抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(13): 171-179.