

微波提取山药黄酮的方法研究

徐 东 生

(湖北工程学院 特色果蔬质量安全控制湖北省重点实验室,湖北 孝感 432000)

摘 要:以山药为试材,用微波消解仪提取黄酮,分光光度法测定黄酮含量,采用单因子试验及正交实验方法研究山药黄酮的最佳提取条件。结果表明:微波提取山药黄酮最适条件是乙醇浓度 60%,提取温度 95℃,料液比 1:20 g/mL,提取时间 20 min,黄酮提取率达 0.428%,各因子对提取效果影响的大小顺序是微波温度>料液比>乙醇浓度,提取时间对黄酮提取率影响不大。

关键词:山药;微波;黄酮

中图分类号:S 632.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)15-0139-03

山药属薯蓣科植物薯蓣(*Dioscorea opposita* Thunb)的根茎,药食两用,药用和滋补价值均很高^[1-2],市场需求量不断增加。山药的药用价值与其多糖、黄酮等多种营养物质有关,黄酮在医学和保健等方面有重要价值,是

目前研究的热点。研究山药黄酮的提取方法对于充分发挥山药的药用价值,筛选优质山药资源等研究有积极作用。黄酮的提取方法很多,常用的方法有回流和索氏提取,这些方法耗时长,通常要 6~8 h。周厚良等^[3]、吕鹏等^[4]分别用热浸提和超声波的方法对山药黄酮的含量进行了研究,随着微波炉的普及,人们发现利用微波提取植物黄酮省时、高效、节能,该方面的研究在枸杞等植物上报道较多^[5],但鲜见用于山药黄酮的研究,该研究以山药为原料利用微波提取山药黄酮,以期为其工艺条件优化提供理论依据。

作者简介:徐东生(1955-),男,湖北武汉人,高级实验师,现主要从事植物方面的研究工作。E-mail:1377994531@qq.com.

基金项目:特色果蔬质量安全控制湖北省重点实验室开放基金资助项目(2013k16)。

收稿日期:2014-04-10

[4] 刘普,方静凡,程运江,等.生防酵母菌防治果品采后病害机理的研究进展[J].华中农业大学学报,2013,32(2):134-140.

[5] 郭东起,赵萍,侯旭杰.冬枣采后病害生物防治用拮抗酵母菌的筛选[J].保鲜与加工,2011,11(6):6-9,13.

[6] 童蕴慧,纪兆林,徐敬友,等.灰葡萄孢拮抗细菌在番茄植物体表的定殖[J].中国生物防治,2003,19(2):78-81.

[7] 凌箴,纪兆林,张纪兵,等.地衣芽孢杆菌 W10 在苹果和柑橘果实表面的定殖[J].果树学报,2009,26(6):851-854.

[8] Kloepper J W, Kuc J A. Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions[J]. Phytopathology, 1981,71(6):642-644.

[9] 殷幼平,袁训娥,李强,等.生防菌枯草芽孢杆菌 CQBS03 的绿色荧光蛋白基因标记及其在柑橘叶片上的定殖[J].中国农业科学,2010,43(17):3555-3563.

[10] 陈志谊,苗东华.拮抗细菌的定殖、浓度和喷施期与水稻纹枯病的关系[J].江苏农业学报,1998,14(1):31-35.

Study on Colonization Ability of Antagonistic Yeasts on the Surface of Fresh Jujubes

GUO Dong-qi^{1,2}, ZHAN Xu-fang¹

(1. College of Life Science, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300; 2. Production and Construction Group Key Laboratory of Agricultural Products Processing in South Xinjiang, Alar, Xinjiang 843300)

Abstract: Taking 'Yuancui' jujubes as test material, the colonization ability of antagonistic yeasts (*Metschnikowia pulcherrima*) on the surface of fresh jujubes was studied. The results showed that higher concentrations of *M. pulcherrima* (10^8 cfu/mL) applied, and relative humidity (RH 95%~100%) in preservation period of fruit, the more favorably colonized *M. pulcherrima* on fresh jujubes surface, the colonization ability of it was at 25℃ much more than at 5℃, pre-inoculation of pathogen had a negative effect of *M. pulcherrima*, Especially, the colonization ability of *M. pulcherrima* was decreased significantly then the inoculation the fungus 24 h after inoculation *M. pulcherrima* on fresh jujube surface. The synergistic factors could improve its colonizing ability, especially calcium propionate(0.2%w/v) could improve its colonizing ability stronger.

Key words: fresh jujube; antagonistic yeasts; colonization

1 材料与方法

1.1 试验材料

市购山药去皮洗净晾干,置于恒温干燥箱 60℃干燥至恒重,粉碎后过 60 目筛,山药粉密封置于 4℃冰箱中备用。芦丁标准品购于南京替斯艾么中药研究所,亚硝酸钠、硝酸铝、95%乙醇、氢氧化钠均为分析纯。

供试仪器:电子天平(BS210S 赛多利斯仪器有限公司),温压双控微波消解仪(WX4000N 奥谱勒仪器有限公司),紫外可见分光光度计(TU1810 北京普析通用仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 单因子试验 微波时间对黄酮提取率的影响:山药粉 1 g 5 份,每份加 30 mL 70%乙醇,用 85℃分别提取 5、10、15、20、25 min;微波温度对黄酮提取率的影响:山药粉 1 g 5 份,每份加 30 mL 70%乙醇,分别 55、65、75、85、95℃提取 20 min;乙醇浓度对黄酮提取率的影响:(体积份数,下同)。山药粉 1 g 5 份,分别加 50%、60%、70%、80%、90%乙醇 30 mL,用 85℃提取 20 min;料液比对黄酮提取率的影响:山药粉 1 g 5 份,分别加入 70%乙醇 15、20、25、30、35 mL,85℃提取 20 min。

1.2.2 正交实验 根据单因子试验结果,采用 $L_9(3^3)$ 3 因数 3 水平的正交表,对乙醇浓度、微波温度、料液比进行正交实验,微波时间一律采用 20 min,各处理重复 3 次。试验设计见表 1。

表 1 正交实验因素与水平

水平	A 乙醇浓度/%	B 微波温度/℃	C 料液比/g·mL ⁻¹
1	50	75	1:20
2	60	85	1:25
3	70	95	1:30

1.2.3 黄酮含量测定的标准曲线制作 精确称取芦丁 10 mg,置于小烧杯,加入少量 95%乙醇置于水浴锅上 60℃加热溶解,放冷后倒入 50 mL 容量瓶中用 70%乙醇定容,配置成 0.2 mg/mL 芦丁母液,分别准确吸取 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 母液置于 10 mL 具塞试管中,加入 30%的乙醇到达 5 mL 刻度处,接着加入 0.3 mL 5%的亚硝酸钠溶液,静置 6 min,再加入 0.3 mL 10%的硝酸铝溶液,静置 6 min,最后加入 4 mL 4%氢氧化钠溶液,用蒸馏水稀释到 10 mL,静置 10 min,在波长为 510 nm

处测定吸光值(第一管为空白对照)以吸光度为横坐标,浓度为纵坐标,绘制标准曲线,得到回归方程 $y = 0.805x + 0.007$, $R^2 = 0.9989$, x 为吸光值。

1.2.4 微波提取黄酮的方法 按照试验设计的条件,利用微波消解仪处理,处理后的提取液注入离心管中离心,转速 4 000 r/min 离心 10 min,取离心的上清液于 50 mL 容量瓶中,用 70%乙醇溶液定容,此为待测液,取待测液 5 mL 于 10 mL 具塞试管中,按标准曲线中的方法显色和测定吸光度,根据吸光度和回归方程计算黄酮含量,3 次重复。

2 结果与分析

2.1 微波时间对山药黄酮提取率的影响

由图 1 可知,微波处理时间对黄酮提取率影响很小,5~20 min 提取率略增加,20~25 min 提取率略下降,方差分析表明,微波处理时间对山药黄酮提取率没有影响。

2.2 微波温度对山药黄酮提取率的影响

由图 2 可知,微波温度对黄酮提取率影响较大,温度从 55℃到 95℃随着温度升高黄酮提取率逐渐升高,75℃前黄酮提取率升幅较大,75℃后升幅变缓,95℃时达到最大值,方差分析表明不同温度对黄酮提取率有显著影响。如果继续提高温度,黄酮提取率可能有少量增加,考虑到温度过高会影响黄酮的结构和稳定性,温度在 85~95℃为宜。

2.3 乙醇浓度对山药黄酮提取率的影响

由图 3 可知,乙醇浓度对黄酮提取率影响很大,乙醇浓度从 50%升高至 60%山药黄酮提取率增加,乙醇浓度为 60%时,黄酮提取率最大为 0.34%,乙醇浓度超过 60%山药黄酮提取率显著下降,乙醇浓度为 90%时,黄酮提取率最小为 0.20%,较最大值下降 41.18%,方差分析表明乙醇浓度对黄酮提取率有极显著影响。乙醇浓度过高可能使非黄酮类物质的溶解增加导致溶液的粘性增大,阻碍了黄酮类物质转移到溶剂中^[5],同时不同体积分数的乙醇极性不同,黄酮类化合物具有较高的极性,浓度 60%的乙醇其极性有利于山药黄酮溶解。乙醇浓度对山药黄酮提取率影响也可能与其黄酮种类有关。

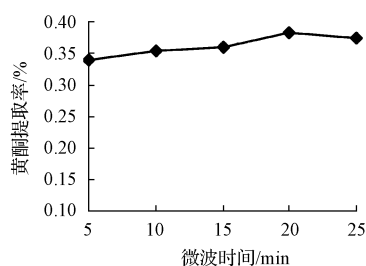


图 1 微波时间对山药黄酮提取率的影响

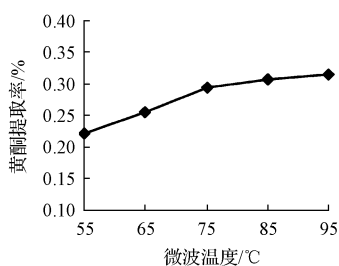


图 2 微波温度对山药黄酮提取率的影响

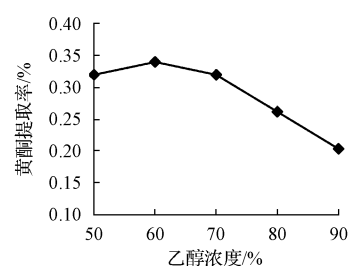


图 3 乙醇浓度对山药黄酮提取率的影响

2.4 料液比对黄酮提取率的影响

由图4可知,料液比从1:15 g/mL到1:30 g/mL黄酮提取率逐渐增加,1:30 g/mL时最大,1:30 g/mL以后黄酮提取率下降,乙醇过多可能利于其它物质溶出,而影响黄酮的提取。

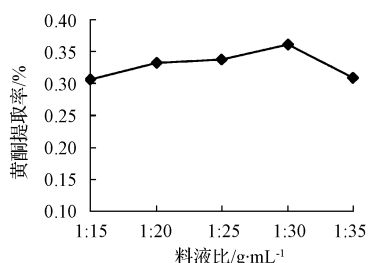


图4 料液比对山药黄酮提取率的影响

2.5 正交实验结果分析

由表2可知,不同处理试验结果差别明显,9组正交实验中,最高的黄酮提取率为0.428%,方差分析表明,微波温度和料液比对黄酮提取率有显著差异,乙醇浓度对黄酮提取率无影响。极差分析表明,各因子对黄酮提取率影响的大小依次为微波温度>料液比>乙醇浓度。微波提取山药黄酮最佳条件是微波温度95℃、料液比1:20 g/mL、乙醇浓度60%。

表2 正交实验结果分析

试验号	A	B	C	黄酮提取率/%
1	1	1	1	0.387
2	1	2	2	0.373
3	1	3	3	0.402
4	2	1	2	0.359
5	2	2	3	0.390
6	2	3	1	0.427
7	3	1	3	0.348
8	3	2	1	0.390
9	3	3	2	0.428
k ₁	0.387	0.364	0.401	
k ₂	0.392	0.384	0.386	
k ₃	0.388	0.419	0.380	
R	0.005	0.055	0.021	

3 讨论

该试验所用的微波消解仪能够设定功率、温度及时间,从预备试验及单因子试验可知,功率及时间对黄酮提取率影响不大,所以正交实验中没有选用功率及时间。研究表明,温度是影响黄酮提取率的最主要因子,功率只影响到达试验温度的时间,特定条件下,黄酮到一定时间后基本完成溶出,这可能是该试验中时间对黄酮提取率影响不明显的原因。

利用微波消解仪提取山药黄酮省时、高效、方便。不同的微波设备性能不同,对于能够精确设定功率,温度,时间的微波设备,要先通过试验,确定其最佳功率,温度,时间组合,达到提高功效、节约费用、保持黄酮活性的目的。微波消解仪的消解罐密封性好,而普通微波炉容易出现提取液外溢现象。赵晨晨等^[6]利用微波提取络石藤黄酮发现,反应温度、乙醇浓度对提取总黄酮影响较大,而料液比、微波功率和微波作用时间的影响不明显;陈金娥等^[7]利用微波提取银杏黄酮结果表明,影响提取率大小因素顺序是温度>功率>液固比>时间,这些都与该研究的结果基本吻合。

参考文献

- [1] 姜红波. 山药的药理活性研究及产品开发现状[J]. 化学与生物工程, 2011, 28(4): 9-12.
- [2] 易骏, 黄玉仙, 王涛. 不同种质资源的山药黄酮含量比较[J]. 福建中医药大学学报, 2013, 23(3): 30-32.
- [3] 周厚良, 王良健, 谢伶俐. 山药中黄酮提取工艺的优化[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(17): 3824-3826.
- [4] 吕鹏, 贾秀梅, 张振凌, 等. 怀山药及非药用部位总黄酮含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 65-68.
- [5] 杨鹏, 巨敏, 朱沛沛, 等. 正交优化微波辅助提取枸杞中总黄酮的工艺研究[J]. 食品工业, 2012(1): 28-30.
- [6] 赵晨晨, 承伟, 王立冬. 微波辅助提取络石藤总黄酮的工艺研究[J]. 中草药, 2012, 43(4): 718-720.
- [7] 陈金娥, 匡强民, 张海容. 正交优化-微波辅助提取银杏叶黄酮[J]. 光谱实验室, 2011, 28(2): 623-626.

Study on Extraction Total Flavonoids by Microwave From *Dioscorea opposita*

XU Dong-sheng

(Hubei Key Laboratory of Quality Control of Characteristic Fruits and Vegetables, Hubei Engineering University, Xiaogan, Hubei 432000)

Abstract: Using the *Dioscorea opposita* as material and ethanol as solvent to extract total flavonoids with microwave digestion instrument, the content of total flavonoids was determined by spectrophotometry, the optimal condition of extraction was studied through the orthogonal test based on the single factor. The results showed the optimal extraction conditions were as follows: ethanol concentration 60%, temperature 95℃, material to liquid ratio 1:20 g/mL, extraction time 20 min, flavonoids extraction rate was 0.428%. The order of affecting was the extraction temperature>material to liquid ratio>ethanol concentration, the affecting of extraction time was no significant difference.

Key words: *Dioscorea opposita*; microwave; flavonoid