

文章编号:1673-1689(2009)05-0623-04

微波辅助提取蜈蚣草黄酮及其抗氧化

丁利君, 苏桂良

(广东工业大学 轻工化工学院, 广东 广州 510006)

摘要:对蜈蚣草总黄酮的最佳提取工艺条件及其抗氧化性进行研究。采用微波辅助提取,通过单因素和正交实验确定蜈蚣草总黄酮的最佳提取工艺;以对羟基自由基的清除率为指标,分析提取液的抗氧化性。最佳提取条件为:微波时间是5 min,微波功率为700 W,微波压强为0.5 MPa,料液比为1:35。在此条件下,黄酮的提取率为14.576%。蜈蚣草黄酮提取液有很好的清除羟基自由基作用。结论:蜈蚣草总黄酮含量高,且具有抗氧化性,有很好的开发利用前景。

关键词:蜈蚣草;黄酮;微波消解;抗氧化

中图分类号:TS 202.3

文献标识码:A

Extraction of Flavonoids from Ladder Brake with Microwave and Its Antioxidative Activity

DING Li-jun, SU Gui-liang

(Faculty of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The aim of this study is to develop an easy and efficient microwave-assisted extraction process to extract the antioxidative substrate from Chinese brake (*Pteris vittata* L.). The optimal process parameters were determined by single and orthogonal experiments and listed as follows: 700 W of microwave power, 5 min of microwave time, 0.5 MPa of microwave pressure and the material/solvent ratio of 1:35. With those optimum conditions, the content of the extracted total flavonoids was achieved at 14.576%. Furthermore, the extracts was proven to be scavenged 64.04% of hydroxyl radical.

Key words: ladder brake, flavonoids, microwave, antioxidative activity

我国蕨类植物资源丰富,约有世界12 000种中的2 600多种,大多分布于长江以南各省区。蜈蚣草(*Pteris vittata* L.),俗称蜈蚣蕨、舒筋草等,是蕨类凤尾蕨科凤尾蕨属多年生草本植物,全草入药^[1]。蕨类植物的化学成分较为复杂,其中具有生物活性的成分主要有酚类化合物、黄酮类化合物、生物碱类化合物、甾体及三萜类化合物^[2]。黄酮是蕨

类植物所含化学成分中较多的一种,有很强的生物活性,在医药、食品添加剂上具有广泛用途。目前国际上对黄酮类化合物的研究开发十分活跃,其产品的种类很多,在国际上的销售额已达10亿美元以上。

蕨类黄酮提取的方法主要有热水提取法、乙醇浸提法、微波消解法、超声波提取法、酶解法等,微

收稿日期:2009-03-26

基金项目:广东省自然科学基金项目(8185009001000029)。

作者简介:丁利君(1965-),女,湖南长沙人,教授。主要从事食品化学、食品加工等方面的教学与研究工作。

Email: ddddjlj@gmail.com

波消解技术是近年来发展起来的^[3],时间短,工艺简单,提取率高,无需加热,简化了工艺流程,具有很高的开发利用价值。本文采用微波辅助萃取蜈蚣草的黄酮,确定最佳提取工艺,并对其抗氧化性进行分析,为蜈蚣草的进一步开发利用提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

蜈蚣草,采自广州大学城中心湖。取地上部分的叶子,洗净,在60℃下烘干,粉碎,粉末过不同目数的筛,并分类收集。

试剂:5% NaNO₂ 溶液、10% Al(NO₃)₃ 溶液、1mol/L NaOH 溶液、无水乙醇,以上的试剂都是分析纯。

仪器:724 分光光度仪;上海精密科学仪器有限公司产品;XT-9900 型微波消解仪;上海新拓微波溶样测试技术有限公司产品等。

1.2 实验方法

1.2.1 总黄酮的测定 测定值经过最小二乘法进行线性回归,分析得出回归方程: $y = 0.9971x - 0.0063$, $R^2 = 0.9957$ 。其中 y 是黄酮浓度, x 是测定的吸光度值^[4]。

$$p\% = \frac{yV_1}{mV}$$

式中, p 为总黄酮类物质提取率(%), y 为从回归方程计算求得样品中黄酮质量浓度(mg/mL), V_1 为样液定容总体积(mL), V 为测定取样体积(mL), m 为蜈蚣草样品投料量(g)。

1.2.2 抗氧化实验 ·OH 自由基清除率测定 提取液对羟自由基清除率:

$$\cdot\text{OH 清除率 } S(\%) = (A_x - A_0) / A_x \times 100\%$$

式中, A_x 为反应体系原来的吸光度, A_0 为加入提取液后的吸光度^[4]。

2 结果与分析

2.1 提取的单因素实验及其结果

2.1.1 乙醇对提取黄酮的影响 准确称取 1.00g 的蜈蚣草干燥粉末 6 份,分别按料液比 1:20(mg:mL),分别加入 20%、40%、60%、70%、80%、95% 体积分数的乙醇溶液,然后在 60℃ 恒温水浴浸提 2 h,抽滤,定容至 250 mL,取 1 mL 样品测量吸光度。图 1 表明,黄酮提取率在一定范围内随乙醇体积分数的增大而明显的提高,并在乙醇体积分数 60% 时黄酮提取效果比较好,这是因为乙醇对黄酮的溶解度比水大,但对糖类、果胶和树胶等大分

子物质的溶出量增加,从而使溶液粘度增大,过滤困难。乙醇体积分数越大,叶绿素等脂溶性物质溶出越多,并且在体积分数 70% 的乙醇溶液中溶解度达到最大值,由于叶绿素物质对吸光度的影响很大,导致出现异常^[5]。

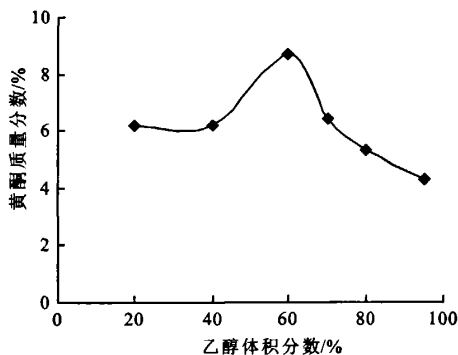


图1 乙醇体积分数对蜈蚣草黄酮提取率的影响

Fig. 1 Effect of ethanol content on the extraction rate

2.1.2 不同料液比对提取蜈蚣草中黄酮的影响

准确称取 1.00 g 蜈蚣草粉末 5 份,按照料液比分别为 1:20、1:30、1:40、1:50、1:60(mg:mL)加入蒸馏水,在 60℃ 恒温水浴下浸泡 2 h,过滤,定容至 250 mL,分别取 1 mL 测量吸光度。图 2 可见,黄酮含量随料液比的升高而增大,并在料液比为 1:50 时达到最大值,说明料液比对提取蜈蚣草黄酮的提取影响显著。

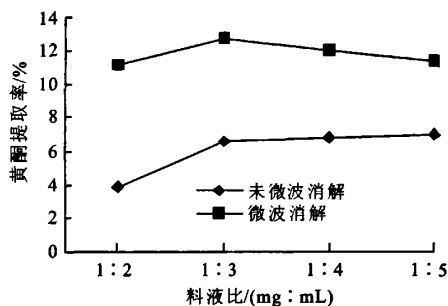


图2 料液比对蜈蚣草黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effect of solid/liquid ratio on the extraction rate

微波辅助提取时,准确称量蜈蚣草 1.00 g,按照同样的料液比,微波消解条件为,微波时间为 120 s,微波功率为 50%,工作压力为 0.2 MPa 条件下处理样品,处理后样品浸泡 30~60 min 后过滤,测吸光度。结果表明,与对照(不微波消解)比较,黄酮提取率大大的提高,普遍提高 1.7 倍。在利用微波辅助提取时,黄酮含量峰值出现在料液比为 1:30。主要是由于微波能破坏细胞壁结构,有利于蕨类植物黄酮的浸出。

2.1.3 微波功率对提取蜈蚣草中的黄酮的影响

准确称量 1.00 g 的蜈蚣草粉末,按料液比为 1:30 加入适量的蒸馏水,微波时间为 120 s,工作压力为 0.2 MPa 的条件下处理样品,处理完后浸泡 40 min,测吸光度。图 3 可见,黄酮提取率随着微波功率的提高而增大,在功率为 800 W 时,黄酮含量最大,这是因为功率增大时,细胞内的黄酮类物质受到的电磁波更强烈,产生剧烈的震荡,分子获得足够的能量摆脱细胞壁的束缚,黄酮的溶解性增大。但是由于黄酮类化合物是一种容易挥发的物质,在微波功率高达 900 W 时,提取液温度过高,使一部分黄酮损失和大量的杂质溶解,从而使吸光度明显的下降。

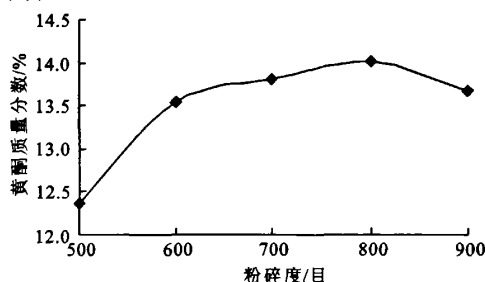


图3 微波功率对蜈蚣草黄酮提取效果影响

Fig. 3 Effect of microwave power on the extraction rate

2.1.4 微波处理时间对提取蜈蚣草中的黄酮的影响 准确称量 1.00 g 的蜈蚣草粉末,按料液比为 1:30 加入蒸馏水,在微波功率为 600 W,工作压力为 0.2 MPa 的条件下处理样品,完成后浸泡 40 min。图 4 结果表明,黄酮提取率随着微波处理时间的延长而升高,微波时间为 8 min 时,黄酮含量达最高值。在达到最值以后,黄酮含量迅速减少,这是因为时间的延长,蜈蚣草细胞中的各种糖类等大分子物质也迅速溶解,且黄酮受到长时间的高温会分解,从而影响测量结果。

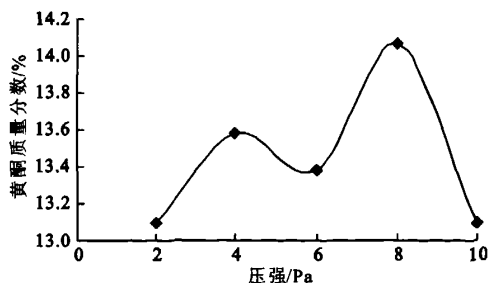


图4 微波处理时间对提取效果的影响

Fig. 4 Effect of microwave treatment time on the extraction rate

2.1.5 粉碎度对提取蜈蚣草中的黄酮的影响 微波辅助提取时,准确称量不同目数粉末各 1.00 g,微波时间为 120 s,微波功率为 600 W,工作压力为

0.2 MPa 条件下处理样品,浸泡 40 min。图 5 可知,粉碎程度越高,从蜈蚣草中溶解的黄酮含量也就越高,但是 60 目以后,升高的幅度不大,差异性不显著,且过度粉碎,使过滤难度加大,所以选 60~80 目的粉碎度比较合适。

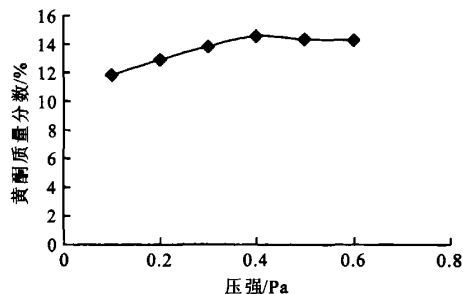


图5 粉碎度对黄酮提取率的影响

Fig. 5 Effect of Smash degree to extraction rate

2.1.6 微波辅助条件下,不同压强对提取蜈蚣草中的黄酮影响 准确称量 1.00 g 的蜈蚣草粉末,按料液比为 1:30 加入蒸馏水,微波时间为 120 s,微波功率为 700 W 的条件下处理样品,浸泡 40 min,测量吸光度。微波消解仪可以调节压强是由于在密封的消解罐中,溶液受热挥发使罐内的压强增大,通过调节微波的强度可以控制操作压强。从图 6 可见,黄酮提取率随着微波消解仪压强的增大而升高,在压强为 0.4 Pa 时,黄酮含量达到最大值。

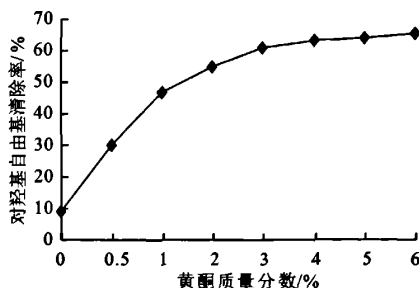


图6 微波消解仪的压强对提取效果的影响

Fig. 6 Effect of pressure on the extraction rate

2.2 正交实验及其结果

微波辅助提取蜈蚣草黄酮,考虑多因素的影响,根据以上的单因素实验结果,以黄酮提取率为指标,选取影响总黄酮提取率的 4 个主要的因素——微波时间、微波功率、微波压强和料液比进行正交试验,具体的因素水平编码表和正交实验及其结果如表 1。

表 2 的方差分析结果可以看出,各因素最好的水平选取为 $A_1B_2C_3D_3$,即在微波时间取 5 min;微波功率为 700 W;压强取 0.5 MPa;料液比取 1:35 的条件下,提取蜈蚣草总黄酮的最优组合。此条件

下黄酮提取率为 14.576%。

表 1 微波辅助提取的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Tab.1 Result of orthogonal test $L_9(3^4)$ with Microwave-assisted extraction

水平	因 素				OD ₅₁₀	黄酮 提取率 %
	A	B	C	D		
1	1(5)	1(600)	1(0.3)	1(1 : 25)	0.495	12.773
2	1(6)	2(700)	2(0.4)	2(1 : 30)	0.507	13.078
3	1(7)	3(800)	3(0.5)	3(1 : 35)	0.563	14.500
4	2	1	2	3	0.550	14.170
5	2	2	3	1	0.512	13.205
6	2	3	1	2	0.491	12.671
7	3	1	3	2	0.455	11.757
8	3	2	1	3	0.522	13.459
9	3	3	2	1	0.425	10.995
$\bar{K}_1$	40.351	38.700	38.903	36.973		
K_2	40.046	39.742	38.243	37.506		
K_3	36.211	38.166	39.462	42.129		
k_1	20.176	19.350	19.452	18.487		
k_2	20.023	19.871	19.122	18.753		
k_3	18.106	19.083	19.731	21.065		
R	2.070	0.788	0.609	2.578		

表 2 方差分析

Tab.2 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值
微波时间	4.482	2	1.526	4.460
微波功率	0.715	2	0.243	4.460
微波压强	0.510	2	0.174	4.460
料液比	6.041	2	2.057	4.460

参考文献(References):

[1] 黄富远,高明,楼云雁. 黄酮类化合物的研究进展[J]. 中华中医药学刊,2007,25(8):1730-1732.
HUANG Fu-yuan ,GAO Ming ,LOU Yun-yan. Survey from the researches on flavonoid[J]. **Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine**, 2007,25(8):1730-1732. (in Chinese)

[2] 阿衣木姑·阿布拉,苏力坦·阿巴白克力. 蕨类植物及其综合利用价值[J]. 生物技术通讯,2006,17(3):480-482.
A yingul A bla, Sultan A babakri. Pteridophyte and its comprehensive application value[J]. **Letters in Biotechnology**, 2006,17(3):480-482. (in Chinese)

[3] 周勇义,谷学新,范国强. 微波消解技术及其在分析化学中的应用[J]. 冶金分析,2004,24(2):30-36.
ZHOU Yong-yi, GU Xue-xin, FAN Guo-qiang. Application of microwave digestion in analytical chemistry[J]. **Metallurgical Analysis**, 2004,24(2):30-36. (in Chinese)

[4] 丁利君. 微波协同提取乌毛蕨黄酮及其抗氧化研究[J]. 广东化工,2006,1(33):33-35.
DING Li-jun. Study on Microwave-assisted extraction of flavonoids from blechnum orientale and its antioxidative[J]. **Guangdong Chemical Industry**, 2006,1(33):33-35. (in Chinese)

[5] 贾艳萍,张春玲,鞠振国,等. 微波辅助提取黄芩苷[J]. 食品与生物技术学报,2008,27(3):57-59.
JIA Yan-ping, ZHANG Chun ling, JU Zhen-guo, et al. Studies on microwave-assisted extraction of baicalin[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2008,27(3):57-59.

(责任编辑:杨萌)

2.3 提取液对羟基自由基·OH 的清除作用

采用 1.2.2 的方法,测定提取液对羟基自由基的清除率。图 7 可见,蜈蚣草黄酮提取液对羟基自由基的清除率达 65.56%,即有很好的抗氧化作用。

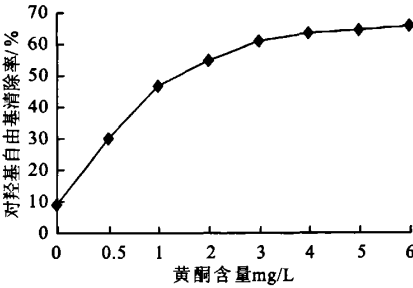


图 7 蜈蚣草提取液对羟基自由基清除率影响

Fig.7 Effect of the extract on the hydroxyl radical scavenging rate

3 结 语

微波辅助提取蜈蚣草中的黄酮的最佳工艺条件为,微波时间是 5 min,微波功率为 700 W,微波压强为 0.5 MPa,料液比为 1 : 35。微波辅助下的黄酮提取率提高 1.5 到 2 倍。蜈蚣草黄酮提取液对羟基自由基有很好的清除作用。微波消解辅助提取蕨类植物黄酮,所需的时间短,成本低,适合工业化生产。