

微波水浸提鸭儿芹黄酮的浸出特性及抗氧化作用研究

周志¹, 莫开菊¹, 林春晓², 汪兴平^{1,*}, 田成¹, 陈业¹

(1.湖北民族学院生物科学与技术学院, 湖北恩施 445000; 2.广东喜之郎集团有限公司, 广东深圳 518031)

摘要: 本实验以山野菜鸭儿芹为原料, 研究了微波对鸭儿芹黄酮浸出特性的影响, 并对鸭儿芹黄酮粗提物的抗氧化作用进行了探讨。研究表明: 以水为介质, 粒度80目的鸭儿芹用料水比1:30(W/V)、浸提时间4.0min、微波解冻档浸提三次的浸提效果最好。微波水浸提出的鸭儿芹黄酮粗提物具有较高的还原力和清除羟自由基的能力。

关键词: 鸭儿芹; 黄酮; 微波提取; 抗氧化

Studies on Microwave-assisted Extraction of Total Flavonoids from *Cryptotaenia japonica* Hassk and Their Anti-oxidation Properties

ZHOU Zhi¹, MO Kai-ju¹, LIN Chun-xiao², WANG Xing-ping^{1,*}, TIAN Cheng¹, CHEN Ye¹

(1. School of Biological Science and Technology, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China;

2. Guangdong Strong Group Co. Ltd., Shenzhen 518031, China)

Abstract: Crushed *Cryptotaenia japonica* Hassk was defatted with petroleum ether by heat reflux method. After dried at 60 °C, the defatted *Cryptotaenia japonica* Hassk was used to extract total flavonoids with deionized water under the assistance of microwave. The microwave-assisted extraction technology of total flavonoids from defatted *Cryptotaenia japonica* Hassk was optimized and their anti-oxidation properties were discussed in this study. The results demonstrated that the optimal extraction conditions were as follows: particle size of defatted *Cryptotaenia japonica* Hassk 80 mesh, material to liquid ratio 1:30 (W/V), extraction time 4 min, and extraction times 3. The crude flavonoids extract from *Cryptotaenia japonica* Hassk exhibited higher reducing power and hydroxyl radical scavenging capacity.

Key words: *Cryptotaenia japonica* Hassk; flavonoid; microwave extraction; anti-oxidation

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)10-0056-04

鸭儿芹(*Cryptotaenia japonica* Hassk.), 别名三叶芹、鸭脚板、野蜀葵, 属伞形科鸭儿芹属多年生蔬菜, 在中国、日本、朝鲜半岛和北美洲东部均有野生分布^[1], 湖北省鄂西南地区野生鸭儿芹资源丰富。鸭儿芹具有消炎、解毒、活血、消肿, 治肺病、淋病、风火牙痛、抗感染、抗病毒等功效^[2]。

植物类黄酮具有镇痛^[3]、抗凝血^[4]、抗氧化^[5]、抗肿瘤^[6]等多种生理作用。黄酮的提取常采用热水提取法^[7]、丙酮提取法^[8]、乙醇提取法^[9]、微波萃取法^[10]等, 但微波在鸭儿芹有效成分提取分离方面的研究尚无报道。为了充分合理利用鸭儿芹野生资源, 提高山野菜鸭儿芹的开发价值, 本实验研究微波水浸提对鸭儿芹黄酮浸出特

性的影响, 并对鸭儿芹黄酮粗提物的体外抗氧化作用效果进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

鸭儿芹 湖北民族学院实习基地。

氢氧化钠、硝酸铝、石油醚、亚硝酸钠、乙醇(95%)、无水乙醇、水杨酸、三氯乙酸、铁氰化钾、过氧化氢(H₂O₂)、盐酸、FeSO₄·7H₂O、FeCl₃、Na₂HPO₄、NaH₂PO₄均为分析纯; 芦丁(生化试剂) 中国医药(上海)试剂集团。

收稿日期: 2008-08-08

基金项目: 湖北省教育厅重点项目(D20059006)

作者简介: 周志(1974-), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为特产资源开发利用。E-mail: zhouzhi77716@sohu.com

* 通讯作者: 汪兴平(1963-), 男, 教授, 博士, 研究方向为特色资源开发。E-mail: wxp.mkj@263.net

DL-5-B 大容量离心机 上海安亭科学仪器厂；WFJ7200 型分光光度计 尤尼柯(上海)仪器有限公司；SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器、RE-52 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂；SKFG-01 型电热恒温鼓风干燥箱 湖北省黄石市医疗器械厂；WD800S 型微波炉 中国顺德格兰仕电器厂。

1.2 方法

1.2.1 鸭儿芹原料的处理

新鲜鸭儿芹原料，除去灰尘、泥土、死叶，在 100℃ 蒸汽下处理 3.0min，迅速放在阴凉通风处冷却，然后放入鼓风烘箱中在 80℃ 条件下烘干，粉碎，将粉碎后的鸭儿芹干粉和石油醚按 1:4(W/V) 比例混合，放入圆底烧瓶中在 80℃ 条件下回流 2.5h，用脱脂棉过滤，滤渣于 60℃ 条件下烘干，用分析筛分级为 20、40、60、80、100 目后保存于棕色试剂瓶中备用。

1.2.2 指标测定

水分含量的测定参考文献[11]进行；标准曲线的制作参考文献[12]进行；鸭儿芹黄酮的测定参考文献[12]进行；羟自由基清除率的测定参考文献[13]进行；黄酮粗提物还原力的测定参考文献[14]进行。

2 结果与分析

2.1 微波水浸提鸭儿芹黄酮的浸出特性

2.1.1 料水比的影响

称取五份 80 目鸭儿芹脱脂干粉 3.00g，分别置入 500ml 三角瓶中，以不同的料水比置于微波炉中，用解冻档处理，浸提 3.0min，1 次，经尼龙布过滤，滤液定容，离心，取上清液测定，研究料水比对鸭儿芹黄酮浸出量的影响。结果见表 1。

表 1 不同料水比对鸭儿芹黄酮浸出量的影响

Table 1 Effects of different material to liquid ratios on extraction yield of total flavonoids

料水比(W/V)	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50
黄酮浸出量(%)	7.13	7.16	7.51	7.15	7.15

表 1 结果表明，鸭儿芹黄酮的浸出量先随水量的增加而增加，当料水比为 1:30 时，又随水量的继续增加而下降，这可能是因为水量的过度增加，导致在一定微波能条件下水温的上升受到限制所致。所以料水比以 1:30 为宜。

2.1.2 粒度的影响

分别称取五份不同粒度的鸭儿芹脱脂干粉 3.00g，置入 5 个 500ml 三角瓶中，按料水比 1:30 加入蒸馏水，置于微波炉中，用解冻档处理，浸提 3.0min，1 次，

经尼龙布过滤，滤液定容，离心，取上清液测定，研究粒度对鸭儿芹黄酮浸出量的影响。结果见表 2。

表 2 不同粒度对鸭儿芹黄酮浸出量的影响

Table 2 Effects of different particle sizes of defatted *Cryptotaenia japonica* Hassk on extraction yield of total flavonoids

粒度(目)	20	40	60	80	100
黄酮浸出量(%)	4.00	4.54	6.01	7.52	8.55

表 2 结果表明，鸭儿芹颗粒越细，其黄酮的浸出量就越多。但过度粉碎会导致过滤困难及浸提液混浊不清，所以粒度以 80 目为宜。

2.1.3 浸提时间的影响

称取五份 80 目鸭儿芹脱脂干粉 3.00g，分别置入 500ml 三角瓶中，按料水比 1:30 加入蒸馏水，置于微波炉中，用解冻档处理，浸提不同时间，1 次，经尼龙布过滤，滤液定容，离心，取上清液测定，研究浸提时间对鸭儿芹黄酮浸出量的影响。结果见表 3。

表 3 不同浸提时间对鸭儿芹黄酮浸出量的影响

Table 3 Effects of different extractuib time on extration yield of total flavonoids

提取时间(min)	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
黄酮浸出量(%)	7.01	7.15	7.44	7.63	7.68

表 3 表明，鸭儿芹黄酮的浸出量随提取时间的增加而增加，这主要是因为随处理时间的增加，水温上升较大，有利于鸭儿芹黄酮浸出。但处理时间过长，易产生爆沸现象，汤汁会溢出。

2.1.4 提取次数的影响

称取三份 80 目鸭儿芹脱脂干粉 3.00g，分别置入 500ml 三角瓶中，按料水比 1:30 加入蒸馏水，置于微波炉中，用解冻档处理，浸提 5.0min，不同次数，经尼龙布过滤，滤液定容，离心，取上清液测定，研究提取次数对鸭儿芹黄酮浸出量的影响。结果见表 4。

表 4 不同提取次数对鸭儿芹黄酮浸出量的影响

Table 4 Effects of different extraction times on extraction yield of total flavonoids

提取次数(次)	1	2	3
黄酮浸出量(%)	7.70	7.95	8.24

表 4 表明，鸭儿芹黄酮的浸出量随提取次数的增加而增加，考虑到浸提次数增加，工艺操作复杂，水溶剂用量增加，浓缩困难，所以提取次数以 3 次为宜。

2.1.5 微波水浸提条件的优化

在单因素试验基础上，选择料水比、粒度、提取时间和提取次数四个因素，采用 $L_9(3^4)$ 正交设计，研究

鸭儿芹在不同的微波浸提条件下黄酮的浸出效果, 确定最佳浸提条件。结果见表 5、6 和图 1。

表 5 正交试验因素水平表

Table 5 Factors and levels of orthogonal test on microwave-assisted extraction conditions of total flavonoids

水平	因素			
	A 料水比(W/V)	B 浸提时间(min)	C 提取次数	D 粒度(目)
1	1:10	2.0	1	40
2	1:20	4.0	2	60
3	1:30	6.0	3	80

表 6 正交试验结果

Table 6 Results and range analysis of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	黄酮浸出量(%)
1	1	1	1	1	4.32
2	1	2	2	2	5.99
3	1	3	3	3	7.66
4	2	1	2	3	7.50
5	2	2	3	1	4.95
6	2	3	1	2	5.76
7	3	1	3	2	6.30
8	3	2	1	3	7.61
9	3	3	2	1	4.94
k ₁	5.99	6.04	5.90	4.74	
k ₂	6.07	6.18	6.14	6.02	
k ₃	6.28	6.12	6.30	7.59	
R	0.29	0.14	0.40	2.85	

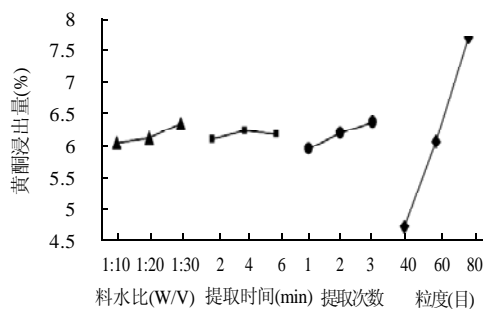


图 1 各因素水平对鸭儿芹黄酮浸出量的影响

Fig.1 Effects of factors and levels on extraction yield of flavonoid

表 5、6 和图 1 表明: 影响鸭儿芹黄酮浸出量因素的主次顺序为: 粒度(D)>提取次数(C)>料水比(A)>浸提时间(B)。随水溶剂用量的增加, 鸭儿芹黄酮的浸出量有所增加; 随提取时间的延长, 鸭儿芹黄酮的浸出量先增加后略微降低; 随提取次数的增多, 鸭儿芹黄酮的浸出量也随之增大; 鸭儿芹颗粒的粒径越小, 其黄酮的浸出量会有较大提高, 但粒度过细, 会导致过滤困难。故微波水浸提鸭儿芹黄酮的最佳组合为 A₃B₂C₃D₃, 即鸭儿芹粒度为 80 目、料水比 1:30、微波解冻档浸提 3 次、每次 4.0min。

2.2 鸭儿芹黄酮粗提物的体外抗氧化实验

2.2.1 鸭儿芹黄酮粗提物对羟自由基的清除效果

采用经过杀青、干燥、粉碎、脱脂、分级后的鸭儿芹干粉, 按鸭儿芹粒度 80 目、料水比 1:30、微波解冻档浸提 3 次、每次 4.0min 的工艺参数浸提、浓缩、调整浓度后, 参照文献[13]的方法, 研究鸭儿芹黄酮粗提物对羟自由基的清除效果。结果见图 2。

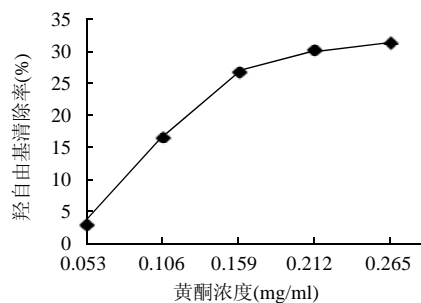


图 2 黄酮浓度对羟自由基清除率的影响

Fig.2 Effects of different total flavonoid concentrations on hydroxy free radical scavenging rate

图 2 表明, 随着鸭儿芹黄酮粗提物浓度的不断增加, 羟自由基的清除率不断上升。黄酮浓度在 0.159mg/ml 以下时, 鸭儿芹黄酮粗提物对羟自由基的清除效率的增幅较高。

2.2.2 鸭儿芹黄酮粗提物还原力的测定结果

采用经过杀青、干燥、粉碎、脱脂、分级后的鸭儿芹干粉, 按鸭儿芹粒度 80 目、料水比 1:30、微波解冻档浸提 3 次、每次 4.0min 的工艺参数浸提, 浓缩, 调整黄酮浓度后, 参照文献[14]的方法, 研究鸭儿芹黄酮粗提物浓度的还原能力。结果见图 3。

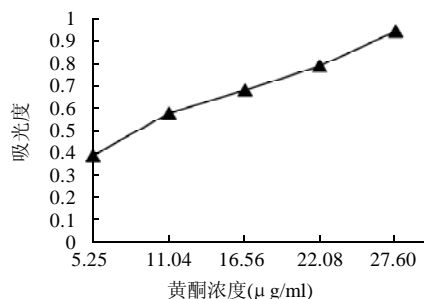


图 3 黄酮浓度对还原力的影响

Fig.3 Effects of different total flavonoid concentrations on reducing power

图 3 显示, 随着鸭儿芹黄酮粗提物浓度的不断增加, 吸光度不断增加, 表示鸭儿芹黄酮粗提物的还原力逐渐增强。

3 结论与讨论

微波技术应用于鸭儿芹黄酮类物质的提取具有短时、高效、节能等优点。确定的最佳浸提条件为：粒度 80 目的鸭儿芹用料水比 1:30(W/V)、时间 4.0min、微波解冻档浸提 3 次，鸭儿芹黄酮的浸出量最高。

微波水浸提出的鸭儿芹黄酮粗提物具有较高的还原力和清除羟自由基的能力。微波水浸提山野菜鸭儿芹的黄酮粗提物具有一定的抗氧化作用。它作为一种天然抗氧化剂，使用安全，为新型抗氧化剂的开发提供了新思路。

参考文献：

- [1] 金东梅, 东惠茹. 绿色食品: 野菜[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [2] 上海新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1977: 1842-1843.
- [3] 张黎, 赵春晖, 陈志武, 等. 银杏叶总黄酮镇痛作用及机制的探讨[J]. 安徽医科大学学报, 2001, 36(4): 263-264.
- [4] 陈建康, 王雷, 李珂, 等. 银杏黄酮与蚓激酶的抗凝溶栓作用[J]. 心脏杂志, 2001, 13(4): 308-309.
- [5] 阿不都热依木, 斯拉甫, 哈木拉提. 电子顺磁共振技术研究一枝蒿总黄酮抗氧化作用[J]. 中国药理学通报, 2001, 17(6): 648-650.
- [6] 赵铁华, 花宝金, 石艳华, 等. 黄芩茎叶总黄酮对小鼠肉瘤 S₁₈₀ 瘤株体内增殖的抑制作用[J]. 中国中医药信息杂志, 2001, 8(7): 34-35.
- [7] 贾冬英, 耿磊, 姚开. 苦荞麦茎及籽壳中黄酮类化合物(芦丁)的提取及其鉴定[J]. 食品科学, 1998, 19(9): 46-47.
- [8] 吴红菱, 龚坚, 刘先林. 银杏叶提取物结果初析[J]. 郧阳医学院学报, 1995, 14(1): 28-29.
- [9] 李长生, 朱笃, 邓鹏, 等. 鸭儿芹总黄酮提取及含量测定研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 357-360.
- [10] 杜志坚, 刘志勇, 王莉, 等. 微波辅助提取荆芥根中总黄酮及含量测定[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(2): 99-100.
- [11] 吴谋成. 食品分析与感官评定[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 49-50.
- [12] 董钰明, 张军, 刘晖, 等. 芹菜汁中总黄酮的含量测定[J]. 兰州医学院学报, 2000, 6(1): 13-15.
- [13] 莫开菊, 柳圣, 程超. 生姜黄酮的抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2006, 27(9): 110-114.
- [14] 晏文杰, 李家璞, 杜平惠. 类黄酮抗氧化力与其结构之关系[J]. 台湾农业化学与食品科学, 2000, 38(1): 80-88.