

黄瓜叶中总黄酮含量的研究

蔡健, 王薇

(苏州农业职业技术学院, 江苏 苏州 215008)

摘要: 黄瓜叶中含有丰富的黄酮类化合物。采用分光光度法, 以芦丁为标准品, 测定黄瓜叶中总黄酮的含量。结果显示: 乙醇提取法最佳工艺组合为 $A_1B_3C_3D_3$, 即乙醇浓度 30%, 提取时间 3h, 料液比 1g:50ml, 提取温度 60℃。研究结果可为利用黄瓜叶工业化生产黄酮类药用成分提供科学依据。

关键词: 黄瓜叶; 分光光度法; 总黄酮

Study on the Total Flavonoids Content in Leaves of Cucumber

CAI Jian, WANG Wei

(Suzhou Polytechnical Institute of Agriculture, Suzhou 215008, China)

Abstract: Leaves of cucumber is rich of flavonoids compounds. Flavonoids in leaves was determined by spectrometric method with rutin as a standard. The results indicated: The optimum extracting condition of the ethanol digestion method was $A_1B_3C_3D_3$, which is adding twenty times amount of the ethanol 30%, extracting time 3h, solid-liquid ratio 1g:50ml and temperature of extraction 60℃. This data provided useful pharmaceutical information of flavonoids from leaves of cucumber.

Key words: leaves of cucumber; spectrometric method; total flavonoids

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)08-0194-04

黄酮类化合物(Flavonoids)是植物经光合作用产生的一大类化合物, 其结构母核是以 $C_6-C_3-C_6$ 为骨架的 2-苯基色原酮。它的存在形式有两种, 一种是游离的苷元, 另一种是与糖等结合的苷。黄酮类化合物在植物界分布很广泛, 如银杏叶、山楂、沙棘、蔷薇果、枸杞、杜仲、茶叶等。到目前为止, 已发现有 5000 多种植物中有黄酮类和异黄酮类物质。它们包括黄酮、异黄酮、黄酮醇、黄酮醇苷、双黄酮及其衍生物^[1]。

黄酮类化合物作为一种功能成分, 具有许多有益的生理效应与药理作用, 越来越引起人们的重视^[2]。黄酮类化合物的生理活性作用较为广泛, 具有生物抗氧化性、清除自由基作用、抗衰老^[3,4]、治疗心脑血管疾病、降血脂降血压作用、降低血糖作用^[5]、抗癌作用^[6]、镇痛作用、免疫作用、抗炎作用、抗菌作用^[7]、对消化性溃疡的保护作用等药用保健功能^[8]。随着人们不断发现黄酮类物质所具有的生物效能, 对黄酮类化合物的研究日益增多, 为寻找新的黄酮药源, 更好地开发利用黄瓜叶中的黄酮类物质, 我们进行了提取方法的研究, 以期筛选出较好的提取方法, 为黄瓜叶的合理利用提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

原料 黄瓜叶, 采自苏州市郊区果园。将黄瓜叶切成小片, 用粉碎机粉碎后, 在干燥箱干燥备用。

试剂 芦丁, 中国医药(集团)上海化学试剂公司(生化试剂); 无水乙醇(A.R)、 $NaNO_2$ (A.R)、 $Al(NO_3)_3$ (A.R)、 $NaOH$ (A.R)、蒸馏水。

1.2 仪器设备

XA-1型高速万能粉碎机 江苏姜堰市银河实验仪器厂; 分析天平 上海天平仪器厂; 电热恒温水浴锅 上海医疗器械五厂; 80-1 离心沉淀器 上海手术器械厂; 722-光栅分光光度计 上海第三分析仪器厂; 101A-2型数显电热鼓风干燥箱 上海浦东荣丰科学仪器有限公司。

1.3 方法^[9]

1.3.1 黄瓜叶提取物中黄酮类含量的测定

准确称取芦丁标准试剂 0.0788g, 用 30% 乙醇溶解, 并完全移入 250ml 容量瓶中, 用 30% 乙醇定容。分别取上述芦丁标准溶液 0、1、2、4、6、8、10ml 于 7 只 25ml 容量瓶中, 用 30% 乙醇补充至 12.5ml, 加入

收稿日期: 2005-05-27

作者简介: 蔡健(1962-), 男, 副教授, 主要从事食品及农产品的教学与研究工作。

5%的NaNO₂ 0.7ml, 摇匀, 放置5min后加入10%的Al(NO₃)₃ 0.7ml, 6min后再加入4%的NaOH 5ml, 混匀, 用30%乙醇稀释至刻度, 10min后于波长500nm处比色测定, 试剂为空白参比。具体结果见表1。

表1 芦丁标准浓度—吸光度
Table 1 Standard rutin concentration-absorbance

名称	1	2	3	4	5	6	7
芦丁浓度Y(g/L) Rutin concentration	0	0.0063	0.0126	0.0252	0.0378	0.0504	0.0632
吸光度A(x) Absorbance	0	0.024	0.043	0.106	0.184	0.236	0.283

根据表1结果用最小二乘法作线性回归, 得芦丁浓度Y与吸光度A的关系曲线的回归方程式: $Y=0.2087A+0.002110$ 。相关系数 $r=0.9970$, 所以本检测方法中芦丁浓度与吸光度有良好的相关性。

1.3.2 黄瓜叶中黄酮类化合物的提取

称取10g黄瓜叶粉, 用75%乙醇以料液比1:30g/ml在一定温度下提取, 定容进行定量分析, 然后计算提取率并测定提取物中黄酮化合物含量。

总黄酮含量的测定: 以芦丁为标样, 采用亚硝酸钠-硝酸铝比色法, 在可见光510nm处测定其吸光值。提取率(%)=(黄酮类化合物质量/干物料质量)×100%。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 乙醇浓度对提取的影响

分别用15%、30%、45%、60%、75%、90%乙醇溶液浸泡相同量的样品12h。测定提取液的总黄酮含量, 结果见表2。

表2 乙醇浓度对提取的影响
Table 2 Effect of alcohol concentration on extraction

乙醇浓度(%) Alcohol concentration	15	30	45	60	75	90
总黄酮含量(%) Content of flavonoids	0.1142	0.2154	0.4247	0.4227	0.4565	0.5217

注: 以上料液比为1:30(g/ml)。

实验结果表明: 随着乙醇浓度的提高, 在45%和90%出现两个最高点, 而在45%~90%乙醇溶液提取液萃取前后总黄酮含量相差不大。从实验过程中也可看

出: 15%~60%乙醇溶液提取液为棕黄色, 75%~90%的提取液为绿色至墨绿色, 可见75%以上的乙醇把叶绿素也提取出来了, 而叶绿素等物质对紫外吸收有干扰, 使测量结果偏高, 且不利于黄酮的提纯^[10,11], 因此乙醇浓度确定在75%以下。

2.1.2 提取时间对浸取的影响

在料液比1:30、乙醇溶液60%的条件下, 每隔0.5h计算一次提取液的总黄酮含量, 结果见表3。实验结果表明: 当提取时间为2.5h时, 提取效果最好。当时间继续延长时, 总黄酮含量反而降低。这可能是提取时间太长, 有部分乙醇被挥发而导致沸点逐渐增大, 从而破坏某些黄酮类化合物^[12,13]。

表3 提取时间对浸提的影响
Table 3 Effect of time on extraction

浸提时间(h) Time	1	1.5	2	2.5	3	3.5
总黄酮含量(%) Content of flavonoids	0.0468	0.1176	0.3525	0.5438	0.5133	0.5217

2.1.3 料液比对浸提的影响

用60%乙醇溶液对样品进行浸泡, 对不同的料液比进行提取试验, 料液比(g/ml)分别为1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70和1:80, 提取时间为2.5h, 结果见表4。从表4可知: 随着料液比的增加, 提取量出现了两个波峰0.5487%和0.6223%, 尽管料液比为1:80时出现的数值最大, 但溶剂用量过大, 不仅增加了溶剂用量, 也增加了浓缩回收溶剂的能耗, 且增加了对环境的污染。因此从提取工艺角度出发, 我们选择料液比1:50以下作为考虑对象。

2.1.4 浸提温度对提取的影响

称取一定量的样品分别在30、40、50、60、70、80℃下保温2.5h, 结果见表5。从表5可知: 30℃到50℃总黄酮含量有较大的增长, 但50℃到80℃增长速度变化不大, 而80℃时总黄酮含量最大。这主要是由于黄酮

表5 浸提温度对提取的影响
Table 5 Effect of temperature on extraction

温度(℃) Temperature	30	40	50	60	70	80
总黄酮含量(%) Content of flavonoids	0.2324	0.3511	0.5175	0.5282	0.5466	0.6089

注: 乙醇浓度为60%。

表4 料液比对浸提的影响
Table 4 Effect of solid-liquid ratio on extraction

料液比(g/ml) Solid-liquid ratio	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50	1:60	1:70	1:80
总黄酮含量(%) Content of flavonoids	0.0876	0.1834	0.4826	0.5487	0.5102	0.5288	0.5445	0.6223

表6 因素水平表 $L_9(3^4)$
Table 6 Factor standard $L_9(3^4)$

水平 Standard	A 乙醇浓度(%) Alcohol concentration	B提取时间(h) Time	C料液比(g/ml) Solid-liquid ratio	D提取温度(°C) Temperature
1	30	2	1:30	40
2	45	2.5	1:40	50
3	60	3	1:50	60

在乙醇中的溶解度随着温度的升高而增大,同时由于温度的升高,提取液粘度减少,扩散系数增加,促进提取速度加快。

2.2 正交实验

在实际操作中,由于各因素之间相互交叉影响,因此为全面考察乙醇提取法的工艺参数,根据单因素实验的结果及有关资料介绍^[14],确定以乙醇浓度、提取时间、料液比、提取温度等四种因素进行正交试验设计,以测定黄瓜叶浸提样品中的总黄酮含量。设计了正交实验因素水平见表6。

2.3 正交实验确定提取的最佳条件

按照正交实验表6,各实验处理及黄瓜叶中黄酮类物质总黄酮含量见表7^[15]。

表7 正交实验结果
Table 7 Orthographic experiment result

实验 Test	水平Standard				总黄酮含量(%) Content of flavonoids
	A	B	C	D	
1	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	0.3782
2	A ₁	B ₂	C ₂	D ₂	0.6053
3	A ₁	B ₃	C ₃	D ₃	0.6538
4	A ₂	B ₁	C ₂	D ₃	0.4127
5	A ₂	B ₂	C ₃	D ₁	0.5820
6	A ₂	B ₃	C ₁	D ₂	0.4964
7	A ₃	B ₁	C ₃	D ₂	0.2145
8	A ₃	B ₂	C ₁	D ₃	0.3249
9	A ₃	B ₃	C ₂	D ₁	0.4027
K ₁	1.637	1.005	1.200	1.363	
K ₂	1.491	1.512	1.421	1.316	
K ₃	0.9421	1.553	1.450	1.391	
k ₁	0.5458	0.3351	0.4000	0.4543	
k ₂	0.4970	0.5041	0.4736	0.4387	
k ₃	0.3140	0.5176	0.4834	0.4638	
R	0.2318	0.1825	0.0834	0.0251	

从表7中的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R 分析得到:乙醇浓度、提取时间、料液比、提取温度四因素对黄酮提取量影响的主次顺序为:乙醇浓度→提取温度→料液比→提取时间,并且最佳的提取工艺条件为乙醇浓度30%,提取时间3h,料液比1:50,提取温度60℃,即 $A_1B_3C_3D_3$ 。

2.4 最佳提取工艺条件下黄瓜叶中总黄酮含量的测定

在最佳的提取工艺条件下,即乙醇浓度30%,提取时间3h,料液比1:50,提取温度60℃,通过测定得

到黄瓜叶中黄酮类物质总黄酮含量为0.6875%。

3 结 论

3.1 根据以上的结果与讨论可知,黄瓜叶中含有丰富的黄酮类化合物,本文详细探讨了黄瓜叶中黄酮类物质总黄酮的提取工艺,为开发利用该资源提供有益的参考。

3.2 通过研究得到的最佳提取工艺为:乙醇浓度30%,提取时间3h,料液比1:50,提取温度60℃,在最佳的提取工艺条件下测得黄瓜叶中总黄酮含量为0.6875%。

3.3 提取物中含有叶绿素较多,可用氯仿或石油醚将它提纯。由此,在黄酮类化合物提取中还得到副产物叶绿素,可以通过综合开发利用提高其经济效益。

参考文献:

- [1] 蔡健,华景清,王薇,等.黄酮提取工艺研究进展[J].淮阴工学院学报,2003,12(5):82-85.
- [2] 华辉,郭勇.黄酮类化合物药理研究进展[J].广东药学,1999,9(4):9-12.
- [3] Wei H C, Cai Q Y, Rahn R O, et al. Inhibition of UV light and Fenton reaction induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein[J]. Carcinogenesis, 1996, 17: 73.
- [4] Beret A. Flavonoids are selective cyclic CMP phosphodiesterase inhibitors[J]. Biochem Pharmacol, 1979, 28: 536.
- [5] 韩锐.抗癌药物研究与试验技术[M].北京:北京医科大学,中国协和医科大学联合出版社,1997. 141.
- [6] Matsuzaki Y, Kurokawa N, Terai S Y, et al. Cell death induced by baicalein in human hepatocellular carcinoma cell lines[J]. Jpn J Cancer Res, 1996, 87(2): 170.
- [7] 白凤梅,蔡同一.类黄酮生物活性及其机理的研究进展[J].食品科学,1999,20(8):11-13.
- [8] 王炜,王琳.黄酮类化合物的研究进展[J].沈阳医学院学报,2002,4(2):115-119.
- [9] 黄晓冬,刘剑秋,陈炳华,等.赤楠茎叶果总黄酮提取与含量测定[J].泉州师范学院学报,2003,21(4):72-76.
- [10] 杨洋,余炼,唐宇雯.柚皮黄酮类成分的分离工艺研究[J].食品科学,2001,22(3):41-43.

微波辅助 H_2O_2 降解魔芋葡甘聚糖的研究

黄永春, 谢清若, 何 仁, 陈 燕

(广西工学院生物与化学工程系, 广西 柳州 545006)

摘 要: 研究了在微波辐射下 H_2O_2 对魔芋葡甘聚糖的降解作用, 考察了微波功率、pH、 H_2O_2 浓度、反应时间等对降解的影响。研究结果表明, 微波能有效促进 H_2O_2 对魔芋葡甘聚糖的降解, 降解的最适条件为: 微波功率 540W, pH3.6, H_2O_2 浓度为 1.8%, 降解时间 3min。

关键词: 微波; 过氧化氢; 魔芋葡甘聚糖; 降解

Study on the Degradation of Konjac Glucomannan with H_2O_2 under the Microwave

HUANG Yong-chun, XIE Qing-ruo, HE Ren, CHEN Yan

(Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology,
Liuzhou 545006, China)

Abstract: A degradation method of Konjac glucomannan(KGM) with hydrogen peroxide under the microwave was studied. The results indicate that under the microwave the hydrogen peroxide can degrade KGM effectively. The optimal condition to degrade KGM under the microwave: microwave power about 540W, pH3.6, the oncentration of H_2O_2 is 1.8%, and reaction time about 3min.

Key words: microwave; hydrogen peroxide; Konjac glucomannan; degradation

中图分类号: Q538

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)08-0197-04

魔芋是一种天南星科魔芋属的草本植物。魔芋葡甘聚糖(Konjac glucomannan, 简称 KGM)是魔芋的主要成分, 在干魔芋块茎中的含量高达 55%~60%^[1]。它是由 D-葡萄糖(G)和 D-甘露糖(M)按 1:1.6 或 1:1.69 的摩尔比通过 β -1,4 糖苷键结合的复合多糖。KGM 通常带有短支链, 并含有少量乙酰基^[2]。它在食品、石油、化工、纺织、医疗及化妆品等行业都具有广泛的用途^[3]。

魔芋低聚糖是魔芋葡甘聚糖降解后的产物。根据动物实验和临床研究表明, 魔芋低聚糖对促进双歧杆菌生长非常有效, 并能有效地改善肠道菌群结构, 而且其性能及效果优于乳果糖、大豆低聚糖及半乳糖基转移

低聚糖^[4]。魔芋低聚糖还具有防治高血脂、降血脂、抗氧化、增强免疫功能等作用^[5~9]。

目前多糖的降解方法主要有化学法^[10,11]、物理法^[12~14]和酶法^[15,16]等。本研究利用微波辅助 H_2O_2 对魔芋葡甘聚糖进行降解, 以探索一种高效、环保的魔芋葡甘聚糖的降解方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

魔芋精粉: 市售。

30% 过氧化氢: 分析纯, 广东汕头市西陇化工厂。

收稿日期: 2005-07-01

作者简介: 黄永春(1974-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为碳水化合物利用及其计算机模拟。

[11] 陈海光, 余以刚, 曾庆孝. 荷叶黄酮及生物碱的提取研究[J]. 食品科学, 2002, 23(1): 69-71.

[12] 范志刚, 麦军利, 杨莉斌, 等. 微波技术对雪莲中黄酮浸出量影响的研究[J]. 中国民族医药杂志, 2000, (1): 43-44.

[13] 王晓, 李林波, 马小朱, 等. 酶法提取山楂叶中总黄酮的

研究[J]. 食品工业科技, 2002, (3): 37-39.

[14] 王选东, 刘利林, 许宗运. 正交设计研究石榴皮总黄酮提取工艺[J]. 塔里木农垦大学学报, 2003, 15(2): 11-15.

[15] 王钦德, 等. 食品试验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003. 152-362.