

# 生姜中黄酮类物质的提取

樊琛, 刘桂芹, 曾庆华, 王会, 李燕, 孙小凡 (聊城大学农学院, 山东聊城 252059)

**摘要** [目的]优化生姜中黄酮类物质的提取工艺。[方法]以生姜为原料,通过正交试验探讨了溶剂浓度、料液比、超声提取时间以及提取温度等对生姜提取物总黄酮含量的影响。[结果]试验表明,各因素对生姜提取物总黄酮含量的影响大小次序为:料液比、乙醇浓度、提取时间、提取温度,其最优方案为以30%乙醇为浸提溶剂,料液比1:10 g/ml,20℃超声提取30 min。[结论]研究可为生姜的综合利用和深入研究提供理论依据。

**关键词** 生姜;总黄酮;超声辅助

中图分类号 S632.5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)29-11846-02

## Extraction of Flavonoids in Ginger

FAN Chen et al (Agriculture School of Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059)

**Abstract** [Objective] To optimize the extraction technique of flavonoids in ginger. [Method] With ginger as raw material, effects of solvents concentration, solid-liquid ratio, ultrasonic extraction time and temperature in total flavonoids in ginger were discussed through orthogonal test. [Result] The results showed that the order of influencing is solid-liquid ratio, ethanol concentration, extraction time, temperature. The optimize conditions are 30% ethanol as extracting solvent, solid-liquid ratio 1:10 g/ml, 20℃ ultrasonic extraction 30 min. [Conclusion] The study can provide theoretical basis for comprehensive utilization and deeply study of ginger.

**Key words** Ginger; Total flavonoids; Ultrasonic-assisted

生姜(*Zingiber Officinale* Roscoe)为姜科植物姜的根茎,含有多种营养和功能成分,具有较高的营养与保健价值。现代药理研究显示,生姜具有促进消化液分泌、保肝利胆、降血糖、降血脂、抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、抗炎、抗微生物、抗辐射、保护心血管等作用,是一类具有广泛开发前景的天然抗氧化剂<sup>[1-3]</sup>。生姜含有丰富的酚类物质,包括姜酚、姜脑、姜酮等,这些酚类物质具有较强的供氢、供电子能力,能清除体内所产生的自由基<sup>[4-5]</sup>。在提取方式上,微波、超生波等辅助提取方式在红景天等植物生物活性成分的提取中已越来越受到重视。唐仕荣等对生姜多酚的优化提取及其抗氧化性进行研究,结果表明,生姜多酚具有清除 DPPH· 的能力<sup>[6]</sup>。另有学者对生姜多糖抗氧化性及其组分也进行了研究。笔者以生姜为原料,通过正交试验探讨了溶剂浓度、料液比、超声提取时间以及提取温度对生姜提取物总黄酮含量的影响,以期对生姜的综合利用和深入研究提供理论依据。

## 1 材料与方

**1.1 材料** 生姜:购自聊城市金鼎商厦超市,成熟、新鲜、无腐烂、无虫蛀。主要试剂:乙醇、NaNO<sub>2</sub>、芦丁等为分析纯。主要仪器设备:UV-1700 紫外可见分光光度计,日本岛津公司;SK1200H 超声清洗机,上海科导超声仪器有限公司;G80D23CN2P-T7(B0)格兰仕微波炉,佛山市顺德区格兰仕微波炉电器有限公司;79-2 双向磁力加热搅拌器,江苏省金坛市医疗仪器厂;SB-2000 水浴锅,上海爱朗仪器有限公司;TD5 台式多管架离心机,长沙英泰仪器有限公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 生姜提取液制备** 将生姜洗净、去皮、切片,称取3 g 放入研钵中,加入浸提溶剂进行研磨、浸提、超滤取滤液,将

滤液离心(3 000 r/min,15 min)得到澄清液即为生姜提取液。

**1.2.2 正交试验的设计**。用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验确定最佳料液比、处理时间、浸提溶剂的浓度、提取温度等工艺条件。考虑生物活性物质对温度的敏感性和实际操作中节省物料、能源等因素,正交试验因素水平设置见表1。

**1.2.3 提取物的定性分析**。采用紫外吸收光谱法对生姜的提取物进行检验,在190~1 100 nm 范围内对生姜提取液(正交试验中的7、8、9号,浸提溶剂分别为60%乙醇、水、30%乙醇)进行扫描,可初步判断提取液中化合物属性。

表1 正交试验因素水平设计

| 水平 | 因素               |                  |                |                |
|----|------------------|------------------|----------------|----------------|
|    | 料液比<br>(A)//g/ml | 提取时间<br>(B)//min | 乙醇浓度<br>(C)//% | 提取温度<br>(D)//℃ |
| 1  | 1:10             | 15               | 0              | 20             |
| 2  | 1:20             | 30               | 30             | 40             |
| 3  | 1:30             | 45               | 60             | 60             |

**1.2.4 提取物的定量分析**。

**1.2.4.1 总黄酮测定及标准曲线的绘制**<sup>[6-9]</sup>。用络合-分光光度计法,以芦丁为标准样测定生姜提取物总黄酮含量。分光光度法以黄酮与铝离子在碱性与亚硝酸存在条件下形成黄酮的铝络合物,生成稳定的红色。红色的深浅与黄酮含量呈一定的比例关系,可以芦丁(标准样)为标准,于510 nm 波长处比色定量测定。准确称取120℃干燥恒重的芦丁5.0 mg,用甲醇定容至50 ml 得浓度0.1 mg/ml 的标准应用液。准确吸取标准应用液0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml 于6支具塞试管中,加30%乙醇至5 ml,加5% NaNO<sub>2</sub> 溶液0.3 ml,摇匀放置6 min,加10% AlCl<sub>3</sub> 溶液0.3 ml,摇匀,放置6 min 后加1 mol/L NaOH 溶液4 ml,加水0.4 ml,摇匀放置10~15 min。于510 nm 波长处测定吸光度,绘制浓度(Y)与吸光度(X)的标准曲线。

**1.2.4.2 生姜黄酮样液的测定方法**<sup>[6-9]</sup>。准确吸取提取液

**基金项目** 聊城大学博士科研启动基金(31805)。

**作者简介** 樊琛(1978-),女,山东聊城人,副教授,博士,从事食品营养、病原体分子生物学、食品卫生学方向的研究,E-mail: fanchen7810@126.com。

**收稿日期** 2013-09-16

1 ml 稀释到 5 ml, 加于试管中再加 5%  $\text{NaNO}_2$  溶液 0.3 ml, 摇匀放置 6 min 后加 10%  $\text{AlCl}_3$  溶液 0.3 ml, 摇匀放置 6 min。加 1 mol/L  $\text{NaOH}$  溶液 4 ml, 加蒸馏水 0.4 ml, 摇匀放置 10~15 min。同时做试剂空白和样品空白, 以试剂空白为对照于 510 nm 波长处测定吸光度, 查标准曲线后计算出生姜样液中的总黄酮含量。重复做 3 遍, 结果取平均值。样液中

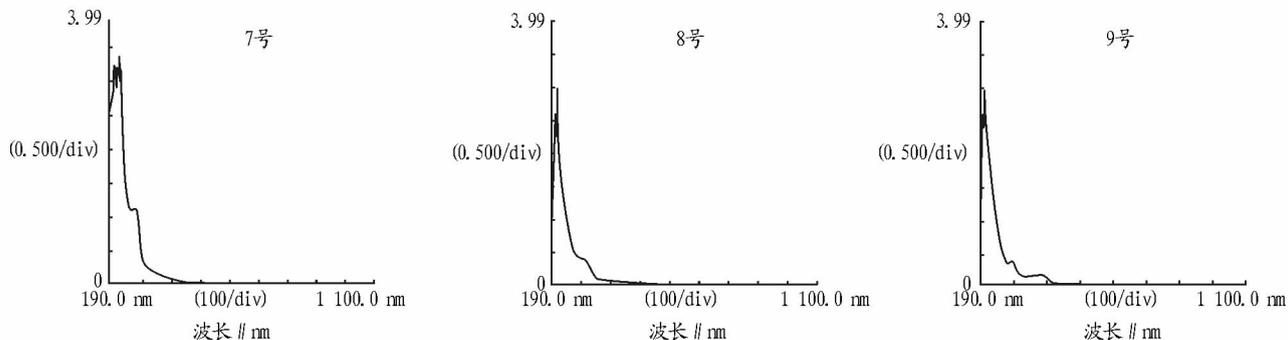


图1 生姜提取物吸收光谱

黄酮类化合物具有羰基与两芳香环形成较强的共轭体系, 对紫外光相应产生 2 个区域的特征吸收, 区带 I 最大吸收峰在 300~380 nm, 为 B 环肉桂酰的吸收; 区带 II 的最大吸收峰在 240~280 nm, 为 A 环的苯甲酰结构, 并且 B 环上同时存在 3' 位和 4' 位的羟基取代<sup>[3,10]</sup>。图 1 所示, 光谱特征为强区带 II 吸收, 区带 I 稍有吸收, 符合异黄酮、双氢黄酮和双氢黄酮醇的紫外光谱特性。异黄酮的主峰在 245~270 nm, 双氢黄酮和双氢黄酮醇的主峰在 270~295 nm<sup>[11]</sup>。被检物质带 II 吸收分别在 275 nm(生姜水提取物)、276 nm(生姜 30% 乙醇提取物)、277 nm(生姜 60% 乙醇提取物), 符合双氢黄酮光谱。此外, 在 223 nm(生姜水提取物)、203 nm(生姜 30% 乙醇提取物)、209 nm(生姜 60% 乙醇提取物) 有强的吸收峰, 表明有其他物质。姜酚物质在 210、280 nm 有吸收峰, 此为苯环的特征吸收峰; 在 230 nm 附近有吸收, 此为共轭双键特征吸收<sup>[12]</sup>。

## 2.2 生姜提取物的定量分析

**2.2.1 总黄酮测定及标准曲线的绘制。**用络合-分光光度计法, 以芦丁为标准样测定生姜提取物中总黄酮的含量, 见图 2。如图 2 所示, 得回归方程  $Y = 0.0791X - 0.0007$ , 方程相关系数为  $R^2 = 0.9981$ 。由此可知, 在 0.01~0.05 mg/ml 范围内有良好线性关系。

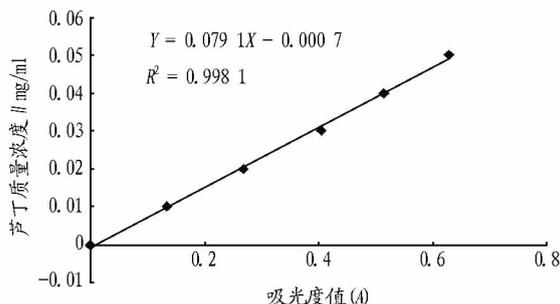


图2 芦丁标准曲线

**2.2.2 生姜提取液的测定。**以料液比、超声提取时间、乙醇

的黄酮含量(mg/ml) =  $C/5 \times 5/1 \times 10$ 。其中,  $C$  表示查标准曲线的值(mg/ml)。

## 2 结果与分析

**2.1 提取物的定性分析** 取 3~4 ml 稀释后的生姜提取液(正交试验中的 7、8、9 号)在 190~1000 nm 范围内进行扫描, 结果如图 1 所示。

浓度和提取温度为正交因素设计正交试验, 在 510 nm 波长处测定吸光度值, 查标准曲线后计算出生姜样液中的总黄酮含量, 结果见表 2。

表2 正交试验中黄酮的含量

| 试验号   | 因素         |             |             |             | 黄酮含量<br>mg/ml |
|-------|------------|-------------|-------------|-------------|---------------|
|       | 料液比<br>(A) | 提取时间<br>(B) | 乙醇浓度<br>(C) | 提取温度<br>(D) |               |
| 1     | 1          | 1           | 1           | 1           | 0.0885        |
| 2     | 1          | 2           | 2           | 2           | 0.1113        |
| 3     | 1          | 3           | 3           | 3           | 0.0747        |
| 4     | 2          | 1           | 2           | 3           | 0.0606        |
| 5     | 2          | 2           | 3           | 1           | 0.0655        |
| 6     | 2          | 3           | 1           | 2           | 0.0371        |
| 7     | 3          | 1           | 3           | 2           | 0.0371        |
| 8     | 3          | 2           | 1           | 3           | 0.0294        |
| 9     | 3          | 3           | 2           | 1           | 0.0423        |
| $K_1$ | 0.091      | 0.062       | 0.052       | 0.065       |               |
| $K_2$ | 0.054      | 0.069       | 0.071       | 0.062       |               |
| $K_3$ | 0.036      | 0.051       | 0.059       | 0.055       |               |
| $R$   | 0.055      | 0.018       | 0.019       | 0.010       |               |

如表 2 所示, 随着料液比、提取温度的增加, 黄酮含量逐渐减少; 随着提取时间、乙醇浓度的增加, 黄酮含量先增加后减少。各因素对生姜提取物中总黄酮含量的影响次序为:  $A > C > B > D$ , 即料液比 > 乙醇浓度 > 提取时间 > 提取温度, 其最优方案为  $A_1C_2B_2D_1$ , 即以 30% 乙醇为浸提溶剂, 料液比 1:10 g/ml, 20 °C 超声提取 30 min。

## 3 结论

各因素对生姜提取物中总黄酮含量的影响次序为: 料液比 > 乙醇浓度 > 提取时间 > 提取温度, 其最优方案为  $A_1C_2B_2D_1$ , 即以 30% 乙醇为浸提溶剂, 料液比 1:10 g/ml, 20 °C 超声提取 30 min。

## 参考文献

- [1] 李大峰, 贾冬英, 姚开, 等. 生姜及其提取物在食品加工中的应用[J]. 中国调味品, 2011, 36(2): 20-23.
- [2] 胡炜彦, 张荣平, 唐丽萍, 等. 生姜化学和药理研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2008(9): 10-14.

的特点,可快速准确地确定灰度图像直方图熵的最佳分割阈值,实现目标和背景分离。该研究中选择个体种群数目  $NIND = 20$ ,最大遗传代数  $MAXGEN = 100$ ,代沟  $GGAP = 0.9$ ,变量的二进制位数  $PRECI = 8$ ,选择、交叉和变异的算子分别取 GOAT 工具箱中的 *select*、*recombin* 和 *mut* 函数。图 11 是利用最佳直方图熵与 GA 相结合算法的分割效果。从图 11 可以看出,分割出来的图像仍然有很多噪声,而且存在过分分割现象,很多细小的作物叶片不能分开,分割精度不高。

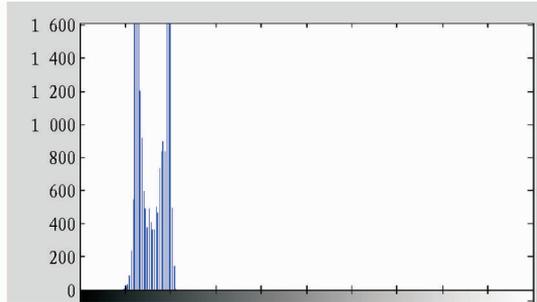


图 9 灰度直方图

#### 4 结论

H 通道的叶片信息虽然提取出来了,但是很多细节的枝叶不能显示出来;最佳直方图熵与 GA 相结合的方法虽然把叶片提取出来了,但是有很多噪声和干扰,从而影响分割的效果;支持向量机以其选择的有限样本和高效的学习能力的特点,不考虑颜色信息和阈值选取问题的影响,只需要选择背景样本和目标样本,就可以实现复杂背景下需要的信息的提取,体现了它在分类方面的优越性,能更方便、快捷地解决背景和背景分离的问题。在解决实际问题和大田环境的复杂环境中,SVM能够及时有效地实现背景和目标的分离,从



图 10 H 通道的 Otsu 法

而有利于日常生活中遇到的实际问题的解决。



图 11 最佳直方图熵与 GA 结合图像分割效果

该研究中实现的是 SVM 背景和背景两类问题的分类,对于二分类问题,支持向量机能很好地把感兴趣的部分从复杂背景中提取出来。但是对于多目标的提取还需要借助于支持向量机做进一步的研究。该研究从两类问题出发研究图像的分割问题,从而将目标和背景很好地分离出来,取得了很好的分割效果,但是图像分割过程中还存在一些问题,比如噪声、边缘的模糊和不连续等,有待于进一步研究。

#### 参考文献

- [1] OTSU N. A threshold method from gray - level histograms[J]. IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics, 1979, 9(1): 62 - 69.
- [2] 任玉刚,张健,李淼,等. 基于分水岭算法的作物病害叶片图像分割方法[J]. 计算机应用, 2012, 32(3): 752 - 755.
- [3] 姚立建,丁为民,刘璿璿,等. 基于 MATLAB 的茄子图像分割方法[J]. 江西农业学报, 2007, 19(6): 97 - 101.
- [4] CAMARGO A, SMITH J S. An image - processing based algorithm to automatically identify plant disease visual symptoms [J]. Biosystem Engineering, 2009, 102: 9 - 21.
- [5] 王红君,陈伟,赵辉,等. 复杂背景下植物叶片的彩色图像分割[J]. 中国农机化学报, 2013, 34(2): 207 - 211.
- [6] 王佳男. 采用基于区域的自动种子区域生长法的彩色图像分割方法[D]. 长春: 东北师范大学, 2007.
- [7] 张馨,李道亮,杨文柱,等. 高分辨率棉花异性纤维彩色图像的快速分割方法[J]. 农业机械学报, 2011, 42(1): 159 - 164, 192.
- [8] 汪伟. 基于各向异性扩散的数字图像处理研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2009.
- [9] HERNÁNDEZ-RABADÁN D L, GUERRERO J, RAMOS-QUINTANA F. Method for segmenting tomato plants in uncontrolled environments[J]. Science Research, 2012(4): 599 - 606.
- [10] GUNN S R. Support vector machines for classification and regression[R]. Technical Report, Southampton; University of Southampton, 1998: 1 - 28.
- [11] 边肇祺,张学工. 模式识别[M]. 北京: 清华大学出版社, 2002: 284 - 304.
- [12] 刘向东,朱美琳,陈兆乾,等. 支持向量机及其在模式识别中的应用[J]. 计算机科学, 2003, 30(6): 113 - 117.
- [3] 刘焕云,黄天娥,田少然. 生姜提取物抗氧化性能的研究[J]. 食品工业科技, 2006(7): 96 - 98.
- [4] 李迎秋,田文丽,黄雪松. 生姜提取物在食用油脂中的抗氧化效果[J]. 山东轻工业学院学报, 2004, 18(2): 47 - 50.
- [5] 于洁,云彩虹,南叶飞,等. 生姜提取物对油脂抗氧化作用研究[J]. 食品工业科技, 2010(5): 154 - 156.
- [6] 唐仕荣,李超,宋慧,等. 生姜多酚的优化提取及其抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2010(4): 256 - 259.
- [7] 莫开菊,柳圣,程超. 生姜黄酮的抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2009(9): 110 - 114.
- [8] 丁利君,周圳辉,林燕如. 芒果中黄酮物质的提取及其抗氧化研究[J]. 食品科学, 2005(8): 77 - 81.
- [9] 曾军,石国荣. 天然产物抗氧化活性的测定方法和原理[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(22): 35 - 36.
- [10] 杨洋. 生姜黄酮的提取及其抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2002(4): 45 - 50.
- [11] 莫开菊,程超,黄鹏,等. 生姜黄酮提取纯化及结构的初步鉴定[J]. 食品科学, 2005(9): 229 - 233.
- [12] 韩菊,魏福祥,王改珍,等. 生姜中姜酚的提取及其鉴定[J]. 食品工业科技, 2004(3): 64 - 65.

(上接第 11847 页)