

超声-微波协同提取马蹄皮总黄酮的研究

杨军君, 陈秋娟 (贺州学院化学与生物工程学院, 广西贺州 542899)

摘要 [目的]优化超声-微波协同提取马蹄皮总黄酮的工艺条件。[方法]通过单因素试验和正交试验研究了超声-微波协同萃取法提取马蹄皮总黄酮的最优工艺。[结果]试验表明,超声-微波协同提取马蹄皮总黄酮的最佳工艺条件为:提取时间 25 min,提取温度 60 ℃,料液比 1:16 g/ml,乙醇浓度 70%,在此条件下马蹄皮总黄酮的提取率为 2.652%。[结论]研究可为充分利用马蹄皮有效活性成分提供一定的理论依据。

关键词 马蹄皮;总黄酮;超声-微波协同提取

中图分类号 S38 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)07-02128-02

Study on Ultrasonic-Microwave Synergistic Extraction of Total Flavones from Water Chestnut Peel

YANG Jun-jun et al (College of Chemical and Biological Engineering, Hezhou University, Hezhou, Guangxi 542899)

Abstract [Objective] To optimize the condition for ultrasonic-microwave synergistic extraction process of total flavones from the water chestnut peel. [Method] The single factor analysis and orthogonal test were designed to confirm the optimum condition for ultrasonic-microwave synergistic extraction process of total flavones from the water chestnut peel. [Result] The results showed that the optimum conditions were as follows: extraction time 25 min, extraction temperature 60 ℃, solid to liquid ratio 1:16 g/ml, ethanol concentration 70%, and finally the extraction rate of total flavones was 2.652%. [Conclusion] The study can provide theoretical basis for fully utilization of active ingredients of water chestnut peel.

Key words Water chestnut peel; Total flavones; Ultrasonic-microwave synergistic extraction

马蹄又称荸荠,在广西尤其是桂林市荔浦县、贺州市等地大量种植。马蹄皮作为人们在食用和加工马蹄的过程中产生的废料,一直以来都是作为废弃物处理。研究发现,马蹄皮中含有丰富的黄酮类化合物、多酚类物质等,具有一定的药理活性^[1-4]。黄酮类化合物是一类广泛存在于自然界中的具有 2-苯基色原酮结构的化合物,具有抗肿瘤、抗炎、镇痛、抗氧化自由基、抗菌及抗病毒等多种重要的药理活性^[5-7]。

笔者对马蹄皮中总黄酮的超声-微波协同萃取工艺进行了初步研究,以期对马蹄皮有效活性成分的充分利用提供一定的理论依据和试验基础。

1 材料与方法

1.1 材料 马蹄皮,购买于广西贺州市城西菜市场马蹄收购点。主要试剂:芦丁,中国药品生物制品检定所;95%乙醇,广州溢联化工有限公司;亚硝酸钠,广州溢联化工有限公司;硝酸铝,天津市科密欧化学试剂有限公司;氢氧化钠,天津市科密欧化学试剂有限公司;以上试剂均为分析纯。主要仪器: CW-2000 型超声-微波协同萃取仪,上海新拓微波液相测试技术有限公司; TU1901 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司; FZ-4 高速粉碎机,浙江温岭市百色粉碎设备厂。

1.2 方法

1.2.1 原料预处理。将马蹄皮于 60 ℃ 下烘干,用粉碎机粉碎后筛取 80 目粉末贮存于干燥器中,备用。

1.2.2 标准曲线的绘制^[8]。准确称取芦丁 20 mg(干燥至恒重),用 60% 乙醇溶解并定容到 100 ml 容量瓶中,配成浓度

为 0.2 mg/ml 的标准品溶液,备用。准确吸取芦丁标准品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 ml 分别置于 10 ml 容量瓶中。先加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 ml,摇匀,静置 6 min。再加入 10% 硝酸铝溶液 0.3 ml,摇匀,再放置 6 min。加入 4% 的氢氧化钠溶液 4 ml。各用 60% 乙醇稀释定容,15 min 后于波长 510 nm 处测吸光度。绘制标准曲线,并进行线性回归,得回归方程 $A = 9.7914C + 0.0108$, $r^2 = 0.9997$ 。

1.2.3 总黄酮测定方法。称取原料马蹄皮粉 2.000 g,以乙醇溶液作为提取溶剂,按一定的料液比加入提取溶剂,置于萃取仪烧瓶中进行萃取,提取完之后过滤,滤液定容至 50 ml,得马蹄皮总黄酮提取液。

精确移取总黄酮提取液 1.0 ml,放入 10 ml 容量瓶中,按“1.2.2”标准曲线的绘制中“先加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 ml”同法操作,测吸光度,由吸光度根据回归方程计算黄酮浓度(C)和总黄酮的提取率。

$$\text{马蹄皮总黄酮提取率} = \frac{C \times 10 \times 50}{1000 \times 2.000} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响。图 1 结果表明,乙醇浓度从 40% 增加到 70%,总黄酮提取率随着乙醇浓度的升高而增加,当乙醇浓度大于 70% 时,总黄酮提取率不再继续增加。试验结果表明,选用 70% 的乙醇作为提取溶剂提取效果较好。

2.1.2 提取温度对总黄酮提取率的影响。图 2 结果表明,总黄酮提取率随着温度的升高逐渐增加。试验过程中发现,在超声和微波的双重作用下,当温度超过 70 ℃ 时,萃取仪烧瓶中的溶剂产生沸腾,导致提取无法进行下去。因此,提取温度应控制在 70 ℃ 以下。

2.1.3 提取时间对总黄酮提取率的影响。图 3 结果表明,总

基金项目 广西教育厅科研立项项目(2010101LX545,2010101LX533)。
作者简介 杨军君(1983-),男,湖南衡阳人,助教,硕士,从事天然产物化学与利用方面的研究。

收稿日期 2014-02-10

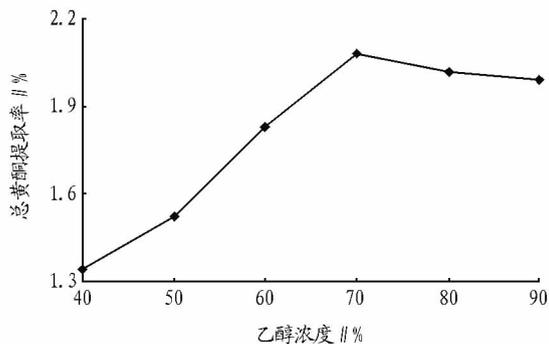


图1 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响

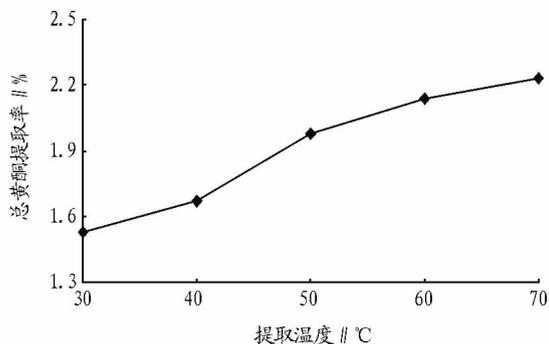


图2 提取温度对总黄酮提取率的影响

黄酮提取率随着提取时间的延长而逐渐增加,在 20 min 时达到最大,之后继续增加提取时间,总黄酮提取率反而有所下降。这可能是由于长时间超声-微波萃取而使一部分黄酮化合物受热损失掉,因此,提取时间为 20 min 左右比较合适。

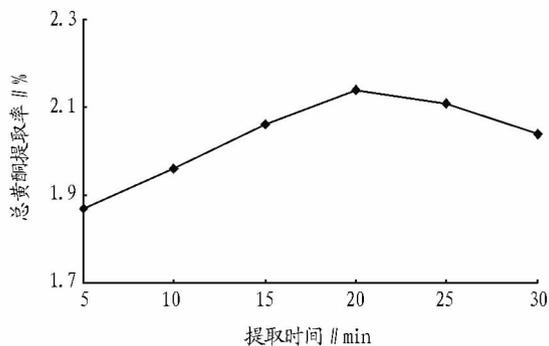


图3 提取时间对总黄酮提取率的影响

2.1.4 料液比对总黄酮提取率的影响。图 4 结果表明,随着提取溶剂用量的增加,总黄酮提取率也随着增加,料液比达到 1:14 g/ml 后,总黄酮提取率变化不大。这表明随着料液比的减小,提取溶剂和马蹄皮原料间的浓度差增大,总黄酮越容易溶出,其提取效果较好。但当料液比减小到一定程度时,提取已基本完全,故提取率不再继续增加。因此,为了节省溶剂成本,选用料液比为 1:14 g/ml。

2.2 正交试验 为了得到总黄酮的最佳提取工艺条件,根据单因素试验得出的结果,在各因素最佳值附近分别取 3 个水平,以总黄酮提取率为试验指标,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,以优化超声-微波协同法提取马蹄皮总黄酮的工艺。正交试验的因素及水平设计见表 1,试验结果见表 2。

正交试验结果表明(表 2),超声-微波协同萃取法提取

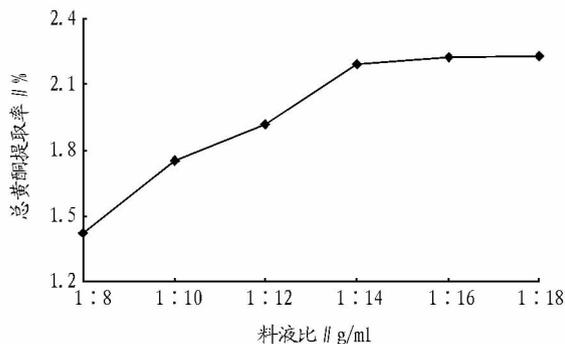


图4 料液比对总黄酮提取率的影响

马蹄皮总黄酮的最优组合为 $A_3B_2C_3D_2$, 即提取时间为 25 min、提取温度为 60 °C、料液比为 1:16 g/ml、乙醇的浓度为 70%。从极差 R 的大小可以看出,各因素对总黄酮提取率的影响的主次顺序为 $C > D > B > A$, 即料液比 > 乙醇浓度 > 提取温度 > 提取时间。

表 1 正交试验因素水平设计

水平	因素			
	提取时间 (A) / min	提取温度 (B) / °C	料液比 (C) / g/ml	乙醇浓度 (D) / %
1	15	50	1:12	60
2	20	60	1:14	70
3	25	70	1:16	80

表 2 正交试验结果

试验号	因素				总黄酮提取率 / %
	提取时间 (A) / min	提取温度 (B) / °C	料液比 (C) / g/ml	乙醇浓度 (D) / %	
1	1	1	1	1	1.343
2	1	2	2	2	2.246
3	1	3	3	3	1.879
4	2	1	2	3	1.249
5	2	2	3	1	2.342
6	2	3	1	2	1.675
7	3	1	3	2	2.548
8	3	2	1	3	1.486
9	3	3	2	1	1.523
K_1	1.823	1.713	1.501	1.736	
K_2	1.755	2.025	1.673	2.156	
K_3	1.852	1.692	2.256	1.538	
R	0.097	0.333	0.755	0.618	

2.3 验证试验 按照最优组合 $A_3B_2C_3D_2$ 进行验证试验,重复 3 次,结果得出,3 次重复的总黄酮提取率分别为 2.702%、2.641%、2.613%, 平均提取率为 2.652%, 大于正交试验中提取率最高的第 7 号试验的提取率。因此,经过优化之后的提取工艺条件较为可靠。

3 结论

该试验主要研究了超声-微波协同萃取法提取马蹄皮总黄酮的工艺条件。试验确定的最佳工艺条件为:提取时间 25 min, 提取温度 60 °C, 料液比 1:16 g/ml, 乙醇浓度 70%, 在最佳工艺参数下马蹄皮总黄酮的提取率可达 2.652%。影响总黄酮提取率的因素主次顺序为料液比 > 乙醇浓度 > 提取温度 > 提取时间。

于受到水源供水、农户靠天等雨等因素的影响,结果不一定能够真实反映灌区作物的实际需水情况。而且吉林省目前灌溉试验站及中心站数量不多,所获取的数据有限。另外,由于资金投入不足,灌区计量设备比较落后,灌区信息化建设水平滞后。灌区数据库建设缓慢,不能及时共享和发布相关数据资料^[4]。从而导致制定定额时数据不全、不准、不新。

(3) 新技术、新措施推广使用带来的变化和影响不能及时反映。近几年吉林省西部玉米膜下滴灌技术发展迅速,其在乾安县更是使用多年,从 2008 年开始至今已累计推广 $10 \times 10^4 \text{ hm}^2$ 。但在修订后的定额标准中并未明确提出该技术下的灌溉用水定额,导致此项技术在实际应用中并未充分发挥其节水的作用。其他一些新技术和措施,比如玉米高光效休闲轮作技术的推广应用也越来越广泛。此外,乾安县玉米耕作机械化程度逐年提高,加之合作社集约经营方式的不断转变和土地流转速度的加快等所带来的变化也并未在定额中反映出来。

4 主要对策与建议

针对灌溉用水定额制定和应用中存在的主要问题,为使其在乾安县乃至吉林省西部能够顺利实施,提出以下对策与建议。

(1) 将灌溉设计保证率纳入到灌溉用水定额指标之中。灌溉设计保证率既是计算供水量的依据,也是影响灌溉用水总量的控制指标。虽然考虑灌溉设计保证率对灌溉用水定额和灌溉用水总量的影响会使问题变得更加复杂,而且,从科学分配水资源的角度来讲,也会使定额、指标的汇总、平衡失去统一的基准^[1]。但设计灌溉规模和依据灌溉用水总量指标和灌溉用水定额确定的灌溉规模可能有较大出入,对于实际中应用灌溉用水定额,尤其是对乾安县这样十年九旱的地方来讲,进行灌区的用水定额管理指导意义不大。建议参考其他已经进行此项工作省份的经验,结合吉林省具体情况对灌溉用水定额值进行修订。此外,随着科技的发展,节水技术的大力推广,农业灌溉工程自动化程度的大幅度提高,使得灌溉用水由粗放型向精细型转变^[4]。这一转变要求操作者要综合考虑影响灌溉设计保证率的因素,适当提高灌溉设计保证率。

(2) 增强灌溉试验站点的试验与统计能力,加快量测设施的建设与配套,加强灌区信息化建设。要保证灌溉数据的全面性,就要结合灌溉试验和典型田块调查的成果。要保证灌溉数据的准确性,一方面要增强现有试验站点的试验与统计能力,建立试验数据统计管理系统,便于数据的原始记录、

分类整理和资料的分析统计工作^[5];并尽可能多设置一些观测站点,完善我省灌溉试验站网建设;另一方面,要加快量测设施的建设与配套。目前,乾安县农业用水普遍没有建立系统的量水设施,无法实行按方收费和定额管理。可以将农业用水的计量设施建设纳入灌区建设的整体规划,并在农田水利建设投资中,增加水量计量设施项目,进行有计划的投资建设。要保证灌溉数据的及时性,就要加强灌区信息化建设。目前,吉林省已将信息化建设作为吉林省水利建设重点工作之一^[6]。此外,要想提升灌区管理的效能,还需政府部门加大资金投入;灌区管理人员多培训学习,提高信息化技术水平;灌区信息化建设要进行统一规划,方便信息共享和综合集成。对于乾安县来说,随着哈达山水利枢纽工程的建设,其种植结构,用水结构将会发生重大变化,监测这一变化将成为今后制定该区灌溉用水定额的重要依据。

(3) 适时适度考虑新技术、新举措带来的影响。农业技术的进步使得玉米的需水量和水分生产函数发生很大变化。比如抗逆品种的应用,提高了降水实际利用率;覆盖技术的推广,减少了灌水次数,降低了棵间蒸发;对于玉米需水关键期的确定,为在水资源一定条件下灌水量的优化分配提供了指导^[7];节水灌溉技术的推广,使得灌溉管理更加科学,节水增产效益更明显。在乾安县推广玉米膜下滴灌就能够实现“一节、二保、三减、四增、五提高”的优点^[3]。而且,为实现玉米种植业的可持续发展,乾安县不断探索节水增产新模式,近两年大力推广的玉米高光效新型栽培技术,玉米大垄四行覆膜种植,以及玉米全程机械化装备的研制,为实现土地规模集约经营而建立的农机合作社等,必将会对灌溉用水定额产生影响。虽然这些因素目前尚难以用普遍适用的定量关系描述,但其能够满足对灌溉用水的科学、合理、先进的要求,所以,仍应高度重视现状用水情况的调查,并把它们作为制订灌溉用水定额的出发点,否则难免会脱离实际。

参考文献

- [1] 赵竟成,倪文进. 灌溉用水定额之浅见[EB/OL]. <http://www.chinawater.net.cn/jieshui/20021015-4.doc>.
- [2] 张清华,韩梅,杨利民. 1949—2008 年吉林省乾安县能值生态足迹的动态研究[J]. 西北农林科技大学学报,2012,40(5):1-7.
- [3] 赵炳南,朱风文,杨威,等. 吉林省西部半干旱区玉米灌溉现状分析及对策[J]. 吉林农业科学,2010,35(6):8-10.
- [4] 赵惠新,李兆宇. 关于提高灌溉设计保证率的必要性分析[J]. 中国农村水利水电,2011(6):52-54.
- [5] 孙慕群,汪富,叶文华. 湖北省灌溉试验数据处理系统[J]. 中国农村水利水电,2011(4):92-97.
- [6] 魏正清,茹世荣. 吉林省灌区信息化建设探讨[J]. 吉林水利,2008(4):53-54.
- [7] 朱景武,于海荣. 旱作物关键灌水期的确定[J]. 中国农村水利水电,2000(3):21-23.

(上接第 2129 页)

参考文献

- [1] 罗杨合,韦学丰,邓年方,等. 微波辅助提取马蹄皮总黄酮的工艺研究[J]. 应用化工,2009,38(4):514-516.
- [2] 黄华,林庆宇,罗杨合,等. 马蹄皮总提取物多组分的协同抗氧化能力研究[J]. 食品研究与开发,2012,33(1):159-161.
- [3] 罗杨合,黄皓妍,韦飞梅,等. 超声波辅助提取马蹄皮天然棕色素的工艺研究[J]. 应用化工,2008,37(9):999-1003.
- [4] 陈秋娟,罗杨合,张志,等. 微波辅助提取荸荠皮中多酚类物质的工艺

- 研究[J]. 安徽农业科学,2013,41(24):10144-10146.
- [5] 罗锋,汪河滨,杨玲,等. 超声-微波协同萃取法提取甘草黄酮的研究[J]. 食品研究与开发,2006,27(8):127-128.
- [6] 邱爱军,王春燕,汪河滨. 大果沙枣果肉中总黄酮的提取工艺研究[J]. 中国酿造,2012,27(9):56-58.
- [7] 张春兰,杨爱红,陈胜慧子,等. 超声-微波协同萃取蔷薇果中黄酮类物质的研究[J]. 食品工业科技,2010,31(6):221-222.
- [8] 汪河滨,郭志愿,赵小亮,等. 超声-微波协同萃取灰叶胡杨花粉中总黄酮的工艺研究[J]. 食品科学,2009,30(2):61-64.