

# 超声 - 微波辅助提取葛根异黄酮工艺研究

范蕴芳, 胡碧纯, 陈慧, 韩洪玲, 陈义勇\* (常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏常熟 215500)

**摘要** [目的] 探讨超声 - 微波辅助技术提取葛根异黄酮的最佳工艺条件。[方法] 以乙醇作为提取溶剂, 句容葛根作为原料, 通过采用超声 - 微波辅助技术进行提取, 以异黄酮得率为指标, 考察微波功率、提取时间、料液比等因素对提取效果的影响, 确定最佳的提取工艺参数。[结果] 超声 - 微波辅助技术提取葛根异黄酮的最佳工艺条件为: 提取时间 31.2 min, 料液比 1:30 g/ml, 微波功率 98 W, 超声功率 50 W, 在此条件下, 葛根异黄酮得率为 8.92%。[结论] 超声 - 微波提取法不仅缩短了提取时间, 而且提高了葛根异黄酮的得率, 是一种适合葛根异黄酮的高效提取方法。

**关键词** 超声 - 微波协同辅助提取; 葛根异黄酮; 工艺

**中图分类号** S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517 - 6611(2013)12 - 05495 - 03

## Study on the Ultrasonic Microwave Assisted Extraction Technology of Isoflavonoids from *Radix Pueraria*

FAN Yun-fang et al (School of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu, Jiangsu 215500)

**Abstract** [Objective] The study aimed to discuss the optimum technology condition for the ultrasonic microwave assisted extraction of isoflavonoids from *Radix Pueraria*. [Method] With ethanol as the extracting solvent, *Radix Pueraria* from Jurong as raw materials, using ultrasonic microwave assisted extraction technology, with yield of isoflavonoids as index, microwave power, extracting time, solid-liquid ratio as factors, the optimum parameters were determined. [Result] The optimum technology condition for ultrasonic microwave assisted extraction of isoflavonoids from *Radix Pueraria* was as follows; the extraction time was 31.2 min, the material-liquid ratio was 1:30 (g/ml), microwave power was 98 W, ultrasonics power was 50 W. Under the optimum conditions, the yield of isoflavonoids from *Radix Pueraria* was 8.92%. [Conclusion] The ultrasonic microwave assisted extraction could not only shorten the extraction time greatly, but also increase the yield of isoflavonoids from *Radix Pueraria*, which is a suitable method of efficient extraction of isoflavonoids from *Radix Pueraria*.

**Key words** Ultrasonic microwave assisted extraction; Isoflavonoids from *Radix Pueraria*; Technology

葛根(*Radix Pueraria*)为豆科植物葛的块根,其性凉,味甘辛,具有发表解肌、升阳透疹、解热生津等功效。葛根在我国分布广泛、资源丰富,已被卫生部认定为药食两用的山地植物<sup>[1]</sup>。葛根异黄酮是葛根资源中的一类重要功能性成分,已被证实有改善颈项强痛、缓解心绞痛、降血压、治疗视网膜动脉阻塞、增强免疫功能、降血糖、改善脑循环、改善学习记忆能力、抗肿瘤、解酒等功效<sup>[2-4]</sup>。

有关葛根异黄酮的提取方法有微波辅助提取<sup>[5]</sup>、溶剂提取<sup>[6]</sup>、超高压提取<sup>[7]</sup>等。近年来,超声和微波辅助萃取技术广泛应用于植物有效成分的提取,但葛根异黄酮的超声 - 微波辅助技术提取研究未见报道,为此笔者探讨超声 - 微波协同辅助技术提取葛根异黄酮的最佳工艺,旨在寻找一种葛根异黄酮的高效提取方法,为葛根异黄酮的工业化生产提供依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 葛根,句容茅宝葛业有限公司提供。主要试剂:葛根素标准品(纯度 >96%),中国药品生物制品检定研究所;无水乙醇,国药集团化学试剂有限公司。主要仪器: CW-2000 超声 - 微波协同萃取仪,上海新拓微波溶样测试技术有限公司; DJ-04 粉碎机,上海淀久中药机械制造有限公司; RE-52A 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器公司; 752 型紫外 - 可

见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司; LD4-ZA 型离心机,北京医用离心机厂; SHB-B 循环水式真空泵,郑州长城科工贸公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 葛根原材料预处理。**葛根经过去皮、干燥、粉碎、过筛,然后用蒸馏水在 70 °C 条件下回流 6 h,然后离心(1 000 r/min, 20 min),弃去上清液,沉淀在 60 °C 条件下真空干燥 6 h,得到预处理的葛根粉。

**1.2.2 葛根异黄酮超声 - 微波协同辅助提取。**以乙醇作为提取溶剂,将预处理葛根粉置于超声 - 微波萃取仪 250 ml 玻璃萃取容器中,设定提取时间和微波功率参数,超声波换能器功率参数固定为 50 W,当提取完成后,将提取液放置冷却,然后离心(1 000 r/min, 30 min),将上清液减压浓缩,即得葛根异黄酮提取物。

**1.2.3 葛根异黄酮含量测定**<sup>[6]</sup>。

**1.2.3.1 标准曲线的绘制。**称取干燥的葛根素标准品 5 mg 于 50 ml 容量瓶中,用 95% 乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀备用。分别取上述葛根素标样溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml 置于 10 ml 容量瓶中,并各加 95% 乙醇 1.0 ml,再加去离子水稀释至刻度,摇匀。取 1.0 ml 95% 乙醇,加水稀释到 10 ml,作空白对照,在 250 nm 波长下测吸光度,以葛根素的质量浓度为横坐标(x),吸光度为纵坐标(y),绘制标准工作曲线,由标准曲线可得回归方程  $y = 0.0779x + 0.0231$ ,相关系数  $R^2 = 0.9991$ 。

**1.2.3.2 葛根异黄酮提取量的计算。**精密吸取一定量的葛根提取物置于 10 ml 容量瓶中,按标准溶液测定方法,在 250 nm 波长处测定吸光度,根据标准曲线方程计算葛根异黄酮的提取量。葛根异黄酮的得率计算公式如下:

**基金项目** 句容市 2011 年科技创新专项资金(现代高效农业产业化)项目(NY2011020);2012 年江苏省高等学校大学生实践创新训练计划项目(2012JSSPITP2344);常熟理工学院第七批大学生课外学术科技项目。

**作者简介** 范蕴芳(1992 -),女,江苏无锡人,本科生,专业:食品质量与安全。\*通讯作者,副教授,博士,从事食品科学与天然活性成分研究,E-mail:chenyyp@126.com。

**收稿日期** 2013-03-17

葛根异黄酮得率 = (葛根异黄酮提取量 / 葛根质量) × 100%

## 2 结果与分析

**2.1 乙醇浓度对葛根异黄酮得率的影响** 在料液比为 1:20 g/ml, 提取时间 20 min, 微波功率为 100 W 的条件下, 考察乙醇浓度对葛根异黄酮得率的影响, 结果如图 1 所示。

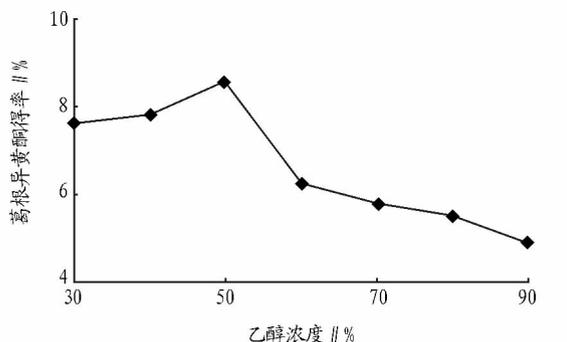


图 1 乙醇浓度对葛根异黄酮得率的影响

从图 1 可以看出, 随着乙醇浓度的升高, 葛根异黄酮得率逐步升高, 乙醇浓度大于 50% 时根异黄酮得率减少。因此, 选择适宜的乙醇浓度为 50%。

**2.2 料液比对葛根异黄酮得率的影响** 在微波功率为 100 W, 提取时间为 20 min, 50% 乙醇作为提取溶剂的条件下, 考察料液比对葛根异黄酮得率的影响, 结果如图 2 所示。

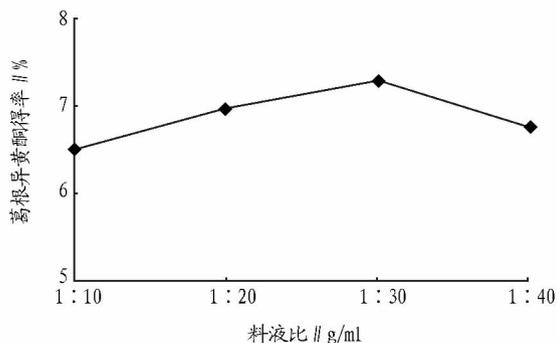


图 2 料液比对葛根异黄酮得率的影响

从图 2 可以看出, 随着料液比的减少, 葛根异黄酮得率有一定程度的增加, 当料液比为 1:30 g/ml 时, 葛根异黄酮得率达到最大。因此, 选择适宜的料液比为 1:30 g/ml。

**2.3 微波功率对葛根异黄酮得率的影响** 在液料比为 1:30 g/ml, 提取时间 20 min, 50% 乙醇作为提取溶剂的条件下, 考察微波功率对葛根异黄酮得率的影响, 结果如图 3 所示。

从图 3 可以看出, 微波功率小于 100 W 时, 葛根异黄酮得率逐步增大, 当微波功率大于 100 W 时, 葛根异黄酮得率呈下降趋势。因此, 选择适宜的微波功率为 100 W。

**2.4 提取时间对葛根异黄酮得率和纯度的影响** 在料液比为 1:30 g/ml, 微波功率为 100 W, 50% 乙醇作为提取溶剂的条件下, 考察提取时间对葛根异黄酮得率的影响, 结果如图 4 所示。

从图 4 可以看出, 随着提取时间的延长, 葛根异黄酮得率不断增加, 当提取时间超过 30 min, 葛根异黄酮得率增加不是

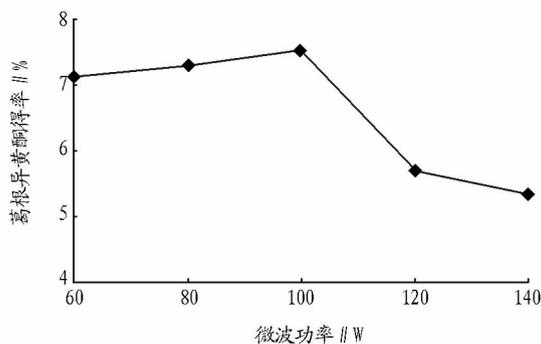


图 3 微波功率对葛根异黄酮得率的影响

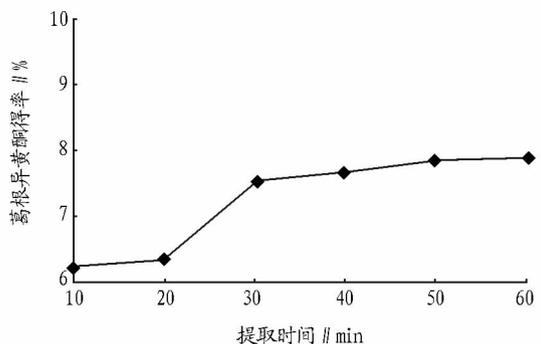


图 4 提取时间对葛根异黄酮得率的影响

很明显。为了节约提取时间, 选择适宜的提取时间为 30 min。

**2.5 超声 - 微波协同辅助提取葛根异黄酮最佳条件的优化** 为了确定葛根异黄酮的最佳提取工艺条件, 利用响应面分析法<sup>[8]</sup>优化超声 - 微波辅助提取葛根异黄酮工艺条件, 根据单因素试验最优水平作为试验的零水平, 设计 3 因素 3 水平的二次回归试验。3 因素分别为料液比 ( $X_1$ )、微波功率 ( $X_2$ ) 和提取时间 ( $X_3$ ), 响应值为葛根异黄酮得率, 通过拟合因素和响应值之间的函数关系, 确定超声 - 微波协同辅助提取葛根异黄酮的最佳工艺条件, 因素的零水平及其变化设计见表 1, 因素编码值见表 2, 试验结果见表 3。

表 1 因素的零水平及变化

零水平及变化	因素		
	料液比 ( $X_1$ ) / g/ml	微波功率 ( $X_2$ ) / W	时间 ( $X_3$ ) / min
$X_{0i}$	1:30	100	30
$\Delta_i$	1:10	20	10

表 2 提取葛根异黄酮工艺条件的因素编码值

水平	因素		
	料液比 ( $X_1$ ) / g/ml	微波功率 ( $X_2$ ) / W	时间 ( $X_3$ ) / min
-1	1:20	80	20
0	1:30	100	30
1	1:40	120	40

采用回归方程  $y_k = b_{k0} + \sum_{i=1}^3 b_{ki}x_i + \sum_{i=1}^3 b_{kii}x_i^2 + \sum_{i < j}^3 b_{kij}x_ix_j$ , 借助 SAS RSREG 软件对试验结果数据进行回归分析, 确定葛根异黄酮得率回归方程如下:  $Y = 9.74333 + 0.9975X_1 + 0.9825X_2 + 0.31X_3 - 2.209167X_1^2 - 0.885X_1X_2 + 1.195X_1X_3 - 1.734167X_2^2 + 0.085X_2X_3 - 0.239167X_3^2$ , 方程的相关系数

$R^2$  值达到了 0.920 9(表 4),说明方程的因变量和自变量之间的回归效果显著。

表 3 葛根异黄酮得率的响应面分析试验结果数据处理

试验号	因素			得率//%
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	
1	-1	-1	0	2.23
2	-1	1	0	5.26
3	1	-1	0	6.11
4	1	1	0	6.60
5	0	-1	-1	5.23
6	0	-1	1	6.64
7	0	1	-1	6.73
8	0	1	1	8.48
9	-1	0	-1	7.22
10	1	0	-1	5.71
11	-1	0	1	4.49
12	1	0	1	7.76
13	0	0	0	8.75
14	0	0	0	8.71
15	0	0	0	8.77

通过计算机模拟葛根异黄酮得率方程,确定葛根异黄酮超声-微波辅助提取最佳工艺为:提取时间 31.2 min,料液比 1:30 g/ml,微波功率 98 W。在此条件下,葛根异黄酮得率预测值为 8.92%,在最佳工艺条件下提取葛根异黄酮,葛根异黄酮得率实际值为 8.68%,与预测值无显著差异。

### 3 结论

该研究以句容野葛根为原料,以葛根异黄酮的得率为指标,在单因素试验的基础上,利用响应面分析法建立了超声

(上接第 5478 页)

### 3 结论与讨论

根据面包的 TPA 测试,弹性方差分析结果各因素主次顺序为:DATEM、SSL、GOD;面包比容的方差分析结果显示各因素主次为:SSL、DATEM、GOD、 $V_c$ 、FAA;面包感官评价方差分析结果的各因素主次为:DATEM、SSL、FAA、GOD、 $V_c$ 。

由以上结果可发现,对不同指标,因素的显著性及最佳水平稍有不同,其中  $A_2B_2$  是这 3 个指标里最一致的结果,所以经综合分析确定整个正交试验的最佳方案为  $A_2B_2C_2D_2E_2$ ,即 DATEM 0.4%,SSL 0.20%, $V_c$  0.015%,GOD 0.006%,FAA 0.03%。

将正交试验分析得到的最佳试验组合  $A_2B_2C_2D_2E_2$  与直观分析得到的最佳试验组合  $A_2B_2C_1D_2E_2$  进行对比验证试验。面包的感官评分分别为 74 分和 71 分( $P > 0.05$ )。 $A_2B_2C_1D_2E_2$  配比中的 L-抗坏血酸( $V_c$ )添加量比  $A_2B_2C_2D_2E_2$  中的抗坏血酸( $V_c$ )添加量要少且感官评分上无显著差异,最终可确定  $A_2B_2C_1D_2E_2$  为最优的面包质量改良条件,即 DATEM 0.4%,SSL 0.20%, $V_c$  0.012%,GOD 0.006%,FAA 0.03%。

### 参考文献

[1] 董海洲. 焙烤工艺学[M]. 北京:中国农业出版社,2008:56.

表 4 葛根异黄酮得率的响应面回归系数取值

系数	Y	$Pr >  t $
$a_0$	9.743 33	-
$a_1$	0.997 5	0.031 081
$a_2$	0.982 5	0.032 73
$a_3$	0.31	0.398 043
$a_{11}$	-2.209 167	0.006 568
$a_{22}$	-1.734 167	0.017 094
$a_{33}$	-0.239 167	0.648 755
$a_{12}$	-0.885	0.121 253
$a_{13}$	1.195	0.053 323
$a_{23}$	0.085	0.864 902
$R^2$	92.09%	-

-微波辅助提取葛根异黄酮工艺条件优化的数学回归模型。试验结果表明,模型拟合程度好,误差小,可用于实际预测。确立了葛根异黄酮得率的回归方程,并得出超声-微波辅助提取葛根异黄酮的最佳工艺条件为:提取时间 31.2 min,料液比 1:30 g/ml,微波功率 98 W,超声功率 50 W,在此条件下,葛根异黄酮得率为 8.92%。

### 参考文献

- [1] 石昌顺. 中药葛根的研究进展[J]. 中草药,1994,25(9):496-499.
- [2] 曾明,张汉明,郑永庆,等. 野葛中活性成分的动态研究[J]. 第二军医大学学报,1997,18(2):150-152.
- [3] 肖芳. 葛根异黄酮的分离与纯化[J]. 食品工程,2010(3):42-45.
- [4] 张雁,张孝祺,吴伟琪,等. 葛根资源的开发利用[J]. 中国野生植物资源,2000,19(6):26.
- [5] 彭游,汤明,邓泽元,等. 葛根黄酮微波干法辅助提取[J]. 食品科技,2011,36(5):211-214.
- [6] 雷小丹,邱朝坤,刘晓宇,等. 葛根黄酮提取工艺条件优化的响应面分析[J]. 食品科技,2011,36(9):223-226.
- [7] 林执绚. 超高压提取技术对葛根异黄酮提取率的影响[J]. 化学工程与装备,2009(2):37-37.
- [8] GIOVINNI M. Response surface methodology and product optimization [J]. Food Technology,1999,37:41-45.
- [9] 周素梅. 面包改良剂的发展历史及现状[J]. 粮食与油脂,1997(4):11-13.
- [10] 赵谋明,赵秋艳. 对改良剂增大面包体积和提高面包品质的研究[J]. 食品科学,2000,21(5):23-26.
- [11] VEMULAPALLI V, MILLER K A, HOSENEY R C. Glucose oxidase in bread-making systems [J]. Cereal Chemistry,1998,75:439-442.
- [12] BONET A, ROSELL C M, CABALLERO P A, et al. Glucose oxidase effect on dough rheology and bread quality: A study from macroscopic to molecular level [J]. Food Chemistry,2006,99(2):408-415.
- [13] 王霞. 微胶囊化葡萄糖氧化酶的制备及对小麦粉品质的改良研究[D]. 无锡:江苏大学,2011.
- [14] ABE J, NALAJIMAK K. Properties of the raw-starch digesting amylase of aspergillus SPK-27: A synergistic action of glucoamylase and alpha-amylase [J]. Carbohydr Research,1988,175:85-91.
- [15] 赵谋明,赵秋燕. 对改良剂增大面包体积和提高面包品质的研究[J]. 食品科学,2000,21(5):23-26.
- [16] 杨其林,杨刚,黄灵栋,等. 面包改良剂中酶制剂复配的优化设计[J]. 粮食与饲料工业,2006(9):19-20.
- [17] 张文福. 食品乳化剂在面包生产中的应用[J]. 食品研究与开发,2006,27(4):185-187.
- [18] 雷爱秋,刘晓艳,高昕明. 几种添加剂对面包质构的影响[J]. 食品工业科技,2008,29(11):49-50.
- [19] 蔡立志. 国外面包改良剂研究进展[J]. 中国粮油学报,1994,9(1):23-29.
- [20] 汪国钧. 面包改良剂的种类及其用途[J]. 农产品加工,2008(8):15-17.
- [21] 高红岩,张守文. 葡萄糖氧化酶复合改良剂对面粉烘焙品质改良效果的验证实验[J]. 食品工业技术与探讨,2005(4):64-66.
- [22] 李里特,江正强. 添加剂在面条加工中的应用和开发[J]. 郑州粮食学院学报,1999,20(4):24-27.