

番石榴中总黄酮的微波萃取工艺研究

徐金瑞¹, 张名位², 张瑞芬², 张文芬¹

(1. 广东药学院公共卫生学院, 广东 广州 510310)

(2. 广东省农业科学院生物技术研究所农业部功能食品重点开放实验室, 广东 广州 510640)

摘要: 采用微波萃取法研究番石榴中总黄酮的提取工艺。比较了微波功率、微波时间、料液比、提取剂乙醇浓度对番石榴黄酮含量及其抗氧化能力的影响, 并以微波功率、微波时间、料液比为考察因素, 采用正交试验, 确定了番石榴中总黄酮微波萃取的最佳工艺参数, 即微波功率 300 W, 时间 15 min, 料液比 1:40, 乙醇浓度 50%。在上述提取条件下, 番石榴干粉中总黄酮含量可达 55.56 mg/g。

关键词: 番石榴; 微波; 总黄酮; 抗氧化能力; 最佳工艺

中图分类号: O636.9; 文献标识码: A; 文章篇号: 1673-9078(2008)07-0674-04

Microwave Extraction of Total Flavones from Guava

XU Jin-rui¹, ZHANG Ming-wei², ZHANG Rui-fen², ZHANG Wen-fen¹

(1. College of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, China)(2. Key Laboratory of Functional Food, Ministry of Agriculture, Bio-technology Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The flavone was obtained from dried guava flesh by microwave extraction. The effects of microwave power, microwave time, the flesh-solvent ratio and ethanol concentration on flavones content and its total antioxidant capability (TAC) were studied. The orthogonal test showed that the optimum microwave power, time, the flesh-solvent ratio, and ethanol concentration were 15 min, 300 W, 1:40, and 50%, respectively, under which the content of total flavones in dried guava flesh was 55.56 mg/g.

Key words: guava; microwave; flavones; total antioxidant capability (TAC); optimum technology

番石榴 (*Psidium guajava* L.) 为桃金娘科番石榴属植物, 其果实清香可口, 富含低聚糖、氨基酸、维生素及钙、磷、铁等人体所需的微量元素, 具有较高的营养价值^[1]。现代研究表明, 番石榴中含有多种重要的芳香类二级代谢产物如多酚黄酮类化合物, 有学者认为正是这些酚类化合物赋予番石榴多种药用功效, 其中最主要的是其抗氧化活性^[2,3]。但目前研究主要集中于番石榴叶的生物活性^[4-6], 而对其果肉中活性物质包括黄酮类物质的研究还少有报道。传统的黄酮类物质的提取多采用溶剂浸提法, 耗时长, 能耗大。微波辐射具有穿透力强、选择性高、加热效率高等特点, 可大大加快反应速度 (最高达1240倍), 目前已广泛应用于植物细胞破壁, 尤其适宜于植物活性物质的提取^[7]。本文以乙醇为萃取剂, 以黄酮含量和总抗氧化能力为指标, 对影响黄酮提取的主要因素通过正交设计试验, 并运用方差分析方法对结果进行分析,

收稿日期: 2008-03-07

基金项目: 广东药学院博士科研启动基金资助 (No: 43555015)

作者简介: 徐金瑞, 博士, 讲师, 研究方向: 生物活性物质与功能食品

优化番石榴中总黄酮微波萃取的最佳提取条件, 可为番石榴中抗氧化功能因子的开发利用提供理论依据。

1 材料和仪器

1.1 试验材料

材料: 市售优质番石榴, 切片烘干, 粉碎至 40 目, 烘干备用。

试剂: 三吡啶三吡嗪 (2,4,6-tripyridyl-s-triazine, TPTZ) 购自 Fluka 公司; 芦丁等均为国产分析纯。

1.2 仪器

pHS-3C 型 pH 计, 上海精密科学仪器有限公司; G8023ETL-V8 型微波炉, 佛山市顺德格兰仕生活电器销售有限公司; 752C 型紫外可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司; DFT-50 手提式高速中药粉碎机, 温岭市大德中药机械有限公司; CU-600 恒温水箱, 上海福玛实验设备有限公司。

2 试验方法

2.1 总黄酮含量的测定

采用硝酸铝显色法^[8], 实际测定有改进, 即吸取 5.0 mL 待测样品于 10 mL 比色管中, 加入 0.5 mL 5% 的 NaNO₂ 溶液, 摇匀, 放置 5 min 后加入 0.5 mL 10% Al(NO₃)₃ 溶液, 摇匀, 放置 5 min 再加入 4 mL 1 mol/L 的 NaOH, 摇匀, 放置 10 min, 于 510 nm 处测定吸光度; 另以 0.1~0.5 mg/mL 芦丁的标准溶液代替样品作标准曲线, 得到回归方程为: $Y = 1.0435x - 0.0003$, $R^2 = 0.9999$ 。

2.2 总抗氧化能力 (Total antioxidant capability, TAC) 测定

采用 FRAP 法^[9], 实际加样量扩大了 20 倍, 即 0.2 mL 样品 + 0.6 mL 水 + 6 mL 预热至 37 °C 的 FRAP 工作液 (10 mmol/L TPTZ、20 mmol/L FeCl₃、0.3 mmol/L 醋酸钠缓冲液以 1:1:10 的比例混合), 摇匀后放置 4 min, 593 nm 测其吸光值; 另以 0.1~1.0 mmol/L FeSO₄ 的标准溶液代替样品作标准曲线, 得到回归方程 $y = 0.3117x - 0.006$, 相关系数 $R^2 = 0.9994$ 。样品的总抗氧化能力以毫摩尔 FeSO₄/每克提取物表示, 单位为 mmol/g。

3 结果与分析

3.1 单因素试验

3.1.1 提取剂浓度对提取效果的影响

准确称取 2 g 番石榴粉 5 份, 分别加入 80 mL 水、30%、50%、80%、100% 的乙醇溶液, 设定微波功率为 400 W, 提取 10 min, 过滤, 并将滤液分别补至原体积, 分别测其总黄酮含量和总抗氧化能力, 结果见图 1。

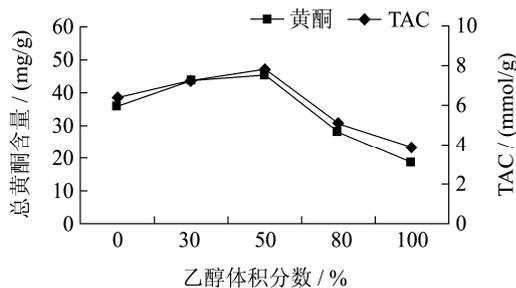


图 1 乙醇浓度对提取效果的影响

Fig.1 Effect of ethanol content on the extraction of total flavone

由图 1 可知, 番石榴中总黄酮含量和总抗氧化能力随着乙醇浓度增高而增大, 在 50% 达到最大值。但随着乙醇浓度的进一步增高, 其黄酮含量和总抗氧化能力反而下降, 这可能是由于乙醇的挥发性造成的, 而且浓度越高, 乙醇的沸点越低, 挥发越大, 由于溶剂化及其热效应的共同作用, 造成乙醇浓度过高时番石榴中黄酮含量及其抗氧化能力降低, 故提取剂浓度以 50% 乙醇为宜。

图 1 的结果表明, 番石榴中黄酮含量的变化与抗氧化能力的变化趋势相同, 说明番石榴中的黄酮含量越高, 其总抗氧化能力越强, 提示番石榴中的黄酮类物质就是其抗氧化作用的基础。这与报道的番石榴中黄酮类物质具有抗氧化等作用^[10]一致。

3.1.2 微波功率对提取效果的影响

准确称取 2 g 番石榴粉 4 份, 加入 50% 的乙醇 80 mL, 分别设定微波功率为 300 W、400 W、500 W、600 W, 提取 10 min, 过滤, 并将滤液分别补至原体积, 分别测其总黄酮含量和总抗氧化能力, 结果见图 2。

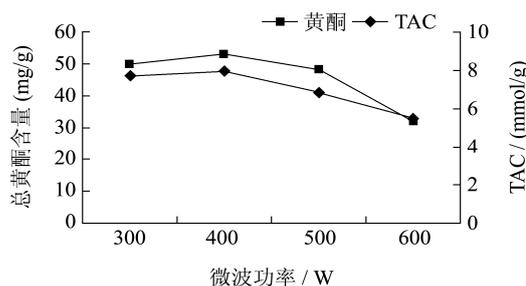


图 2 微波功率对提取效果的影响

Fig.2 Effect of microwave power on the extraction of total flavone

图 2 结果表明, 在微波功率 300~400 W 的范围内黄酮含量和总抗氧化能力随微波功率的增高而增大, 但微波功率过高却呈下降趋势, 说明黄酮类物质具有一定的耐热性, 但过热即微波功率过高会对黄酮类物质及总抗氧化能力造成破坏, 从而引起番石榴中黄酮含量及其抗氧化能力的降低。

3.1.3 微波提取时间对提取效果的影响

准确称取 2 g 番石榴粉 4 份, 加入 80 mL 50% 的乙醇溶液, 设定微波功率为 400 W, 分别提取 5 min、10 min、15 min、20 min, 过滤, 并将滤液分别补至原体积, 分别测其总黄酮含量和总抗氧化能力, 结果见图 3。

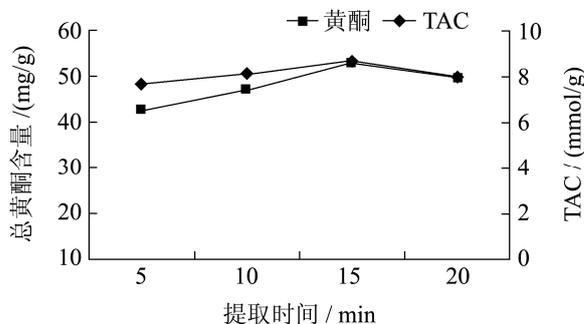


图 3 提取时间对提取效果的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the extraction of total flavone

从图 3 可看出, 随着提取时间的延长 (0~15 min), 番石榴中总黄酮含量及抗氧化能力均呈增大趋势, 但时间过长, 黄酮含量及抗氧化能力反而有所降低, 这

可能是由于时间过长时热效应造成黄酮类物质被破坏，导致其抗氧化活性降低的缘故。

3.1.4 料液比对提取效果的影响

准确称取2 g番石榴粉4份，分别按物料/溶剂=1:30、1:40、1:50、1:60的比例加入50%乙醇，设定微波功率为400 W，提取10 min，过滤，并将滤液分别补至原体积，分别测其总黄酮含量和总抗氧化能力，结果见图4。

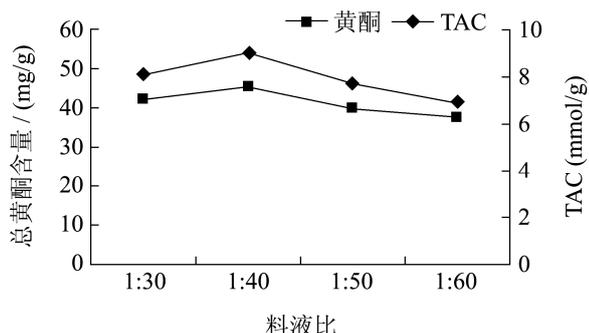


图4 料液比对提取效果的影响

Fig.4 Effect of the flesh-solvent ratio on the extraction of total flavone

从图4可以看出，当料液比为1:40时，番石榴中总黄酮含量及其抗氧化能力均达到最大值，表明此时番石榴中的抗氧化物质及黄酮类物质已基本溶出；再增大料液比，黄酮含量反而减少，总抗氧化能力降低，推测可能是番石榴中的杂质成分竞争性溶出反而不利于其抗氧化物质提取。而且料液比例过大，会增大经济成本，因此，从提取效果和实际生产角度两方面综合考虑，料液比选1:40左右为宜。

3.2 番石榴中总黄酮微波萃取的最佳工艺优化结果

单因素试验结果表明，微波功率、料液比、提取时间、提取剂浓度对番石榴中总黄酮的提取及其抗氧化能力影响较大。考虑到微波过程中乙醇的挥发性，而且黄酮含量与抗氧化能力变化趋势一致，因此本研究仅以黄酮含量为指标，对微波功率、料液比和提取时间三个因素进行L₉(3³)正交设计(见表1)，试

验结果见表2。

由表2的结果可知，最优水平组合为A₁B₂C₂，即最佳工艺提取条件是微波功率300 W，料液比为1:40，提取时间为15 min。三个因素的主次顺序为：A>C>B，即微波功率影响最大，其次是料液比，时间对其影响最小。

表1 正交试验因素水平表

水平	A (功率/W)	B (时间/min)	C (料液比)
1	300	10	1:30
2	400	15	1:40
3	500	20	1:50

表2 番石榴中总黄酮提取正交试验结果

试验号	A	B	C	黄酮含量/(mg/g)
1	1	1	1	39.48
2	1	2	2	55.56
3	1	3	3	48.38
4	2	1	2	49.13
5	2	2	3	37.59
6	2	3	1	36.69
7	3	1	3	26.46
8	3	2	1	41.57
9	3	3	2	39.31
∑K _{1j} /3	47.81	42.64	39.25	
∑K _{2j} /3	41.14	44.91	48.00	T=374.17
∑K _{3j} /3	35.78	41.46	37.48	
R	12.03	3.45	10.52	

由于直观分析法对各因素各水平的试验结果差异究竟是由因素水平的不同引起，还是由试验误差引起的不能区分，也无法估计因素水平影响的相对大小，故进一步对正交试验的结果作方差分析^[1]。方差分析可对正交试验中的不同因素对提取率的影响情况进行分析，结果见表3。

表3 方差分析

Table 3 Variance analysis of the results of the orthogonal test

因素	偏差平方和	自由度	均方	F	F _{0.05}	F _{0.01}	显著性
微波功率	0.020227	2	0.01044	23.80			**
时间	0.00086	2	0.000418	0.98	3.49	5.85	
料液比	0.006425	2	0.003213	7.56			**
误差	0.007647	18	0.000425				

表3分析表明，微波功率和料液比对番石榴中黄酮类物质的提取效果的影响均达到了极显著(p<0.01)，

但提取时间对其影响并不显著(p>0.05)。3个因素对提取率影响大小依次为：A>C>B，即微波功率>料液

比>提取时间。

以上两种分析方法结果基本一致,可得到番石榴中总黄酮的最佳提取工艺参数为:微波功率为300 W,乙醇浓度为50%,料液比为1:40,提取时间15 min。最佳工艺条件(A₁B₂C₂)的提取结果恰好在试验中体现出来,即在此最优条件下番石榴干粉中总黄酮的含量达到55.56 mg/g。本试验中采用的是微波萃取,用传统醇提法需要近4 h,而微波萃取法只需15 min即可完成,省时、节能,其优越性显而易见。

4 结论

番石榴中总黄酮微波萃取的最佳工艺条件是:以50%的乙醇溶液为提取剂,微波功率为300 W,料液比为1:40,时间15 min。在此最优条件下,番石榴干粉中的黄酮提取量达到55.56 mg/g。

参考文献

- [1] 王波,刘衡川.番石榴的降血糖作用研究[J].现代预防医学,2005,32(10):1293-1294
- [2] Jimenez E A, Rincon M, Pulido R et al. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber [J]. J. Agric Food Chem, 2001, 49 (11):5489-5493
- [3] Suganya Tachakittirungrod, Siriporn Okonogi, Sombat Chowwanapoonpohn. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract [J]. Food Chemistry, 2007, 103(2):381-388
- [4] Olajide O A, Awe S O, Makinde J M. Pharmacological studies on the leaf of *Psidium guajava* Linn [J]. Fitoterapia, 1999, 70 (1): 25-31
- [5] Gnan S O, Demello M T. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous guava extracts [J]. Journal of Ethnopharmacology, 1999, 68 (1-3): 103-108
- [6] Jaiarj P, Khoohaawan P, Wongkrajang Y, et al. Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. Leaf extract [J]. Journal of Ethnopharmacology, 1999, 67 (2): 203-212
- [7] 张代佳,刘传斌,修志龙,等.微波技术在植物细胞内有效成分提取中的应用[J].中草药,2000,31(9): 5-6
- [8] 陈亮,王克勤.芹菜中总黄酮测定方法的探讨[J].江苏食品与发酵,2007,128 (1): 33-35
- [9] Sean P. Griffin, Ranjeet Bhagooli. Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004, 302 (2): 201-211
- [10] Kriengsak Thaipong, Unaroj Boonprakob, Kevin Crosby, et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(6-7): 669-675
- [11] 杨德.试验设计与分析[M].北京:中国农业出版社,2002

(上接第700页)

- [3] 徐亚真,程茂成,吴天荣,等.试论南昌市藟头产业化生产现状及发展对策[J].江西园艺,2003,(5):16-17
- [4] 张洪波,冯根良.湘阴藟头飘洋过海[J].湖南农业,2002,9:9-9
- [5] 麻成金,黄群,吴竹青,等.藟头真空冷冻干燥工艺研究[J].中国食物与营养,2006,7:38-40
- [6] 周帼萍,王亚林,韩冰.藟头醋的研制[J].中国酿造,2006,5:69-71
- [7] 周向荣,夏延斌,周跃斌.盐渍藟头根与柄的加工技术[J].食品与发酵工业,2006,32(12):88-91
- [8] 冯德明,刘深.大蒜素酒精提取液在白豆腐片等豆制品保鲜中的应用研究[J].食品工业科技,2003,24 (3):21-23
- [9] Mi-Yeon Kim, Young-Chan Kim, Shin-Kyo Chung. Identification and in vitro biological activities of flavonols in garlic leaf and shoot: inhibition of soybean lipoxygenase and hyaluronidase activities and scavenging of free radicals[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2005,85(4):633-640