

# 山药零余子黄酮的微波提取工艺优化 及其抗氧化活性

毛 瑜, 龙远春, 邓泽元, 张 兵, 李红艳\*

(南昌大学食品科学与技术国家重点实验室 江西南昌 330047)

**摘要:** 在单因素试验基础上, 分别研究液料比、乙醇体积分数、微波功率、微波时间对零余子中黄酮类化合物提取量的影响。通过响应曲面法, 进一步优化得到微波提取零余子黄酮的提取工艺。并对微波提取的零余子黄酮进行抗氧化活性的研究。结果表明最佳提取工艺条件为: 乙醇体积分数为 40%, 液料比 30:1 mL/g, 微波功率 320 W, 微波时间 37 s, 得到黄酮提取量为 6.95 mg QE/g DW, 与软件得出预测值 6.90 mg QE/g DW 相差 0.7%, 说明采用响应曲面法得到的模型回归性良好拟合度高, 可用于零余子黄酮提取量的预测。且此方法提取出的零余子黄酮表现出比 V<sub>c</sub> 相近甚至更强的 1,1'-二苯基-2-三硝基苯肼 DPPH、2,2'-联氮-2(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 ABTS 自由基清除能力和铁离子还原能力, 说明其具有良好的抗氧化活性。

**关键词:** 零余子, 黄酮, 微波提取, 响应面, 抗氧化活性

## Optimization of the Extraction Process for Flavonoids from Yam Bulbil and Their Antioxidant Activities

MAO Yu, LONG Yuan-chun, DENG Ze-yuan, ZHANG Bing, LI Hong-yan\*

(State Key Laboratory of Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**Abstract:** On the basis of single factor experiments, the influence of ratio of liquid, volume of ethanol, the power and time of microwave method on the yield of the flavonoids were studied. The parameters of microwave-extraction of the flavonoids was further optimized by the response surface methodology. The antioxidant activity was also studied. The optimal conditions were material-to-liquid ratio of 30:1 mL/g, ethanol concentration of 40%, microwave power of 320 W, and irradiation time of 37 s. The rate of flavonoids was 6.95 mg QE/g DW, which was just 0.7% far from the predicted value of 6.90 mg QE/g DW. It was shown that the model had good regression and high fitting degree, which could be used to predict the yield of the flavonoids. The flavonoids extracted from Yam bulbil showed the same or even greater DPPH, ABTS antioxidant activity and ferric reducing antioxidant power than V<sub>c</sub>.

**Key words:** bulbil; flavonoids; microwave extraction; response surface; antioxidant activity

中图分类号: TS201.4

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2018)20-0173-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.20.029

引文格式: 毛瑜, 龙远春, 邓泽元, 等. 山药零余子黄酮的微波提取工艺优化及其抗氧化活性 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(20): 173-179.

零余子(*Dioscorea opposita*), 俗称山药蛋, 是植物薯蓣叶腋间的珠芽, 是山药的重要部位之一。零余子的外形呈球状或卵圆状, 颜色呈淡黄色且有光泽, 气味淡而不苦<sup>[1]</sup>。据研究报道, 零余子中含有酚、皂苷、黄酮、尿囊素、氨基酸、淀粉、多糖、山药素等多种营养物质<sup>[2-3]</sup>。此外, 零余子还具有一定的抗氧化作用<sup>[4]</sup>、降血糖作用<sup>[5]</sup>和抑制动脉粥样硬化作用<sup>[6]</sup>等。

黄酮类化合物是零余子中重要的抗氧化成分,

其提取方法的选择至关重要。一般来说, 黄酮类化合物的提取方法有回流、超声、微波、超临界、膜分离等<sup>[7]</sup>。关于零余子中黄酮类化合物的提取, 目前已有部分报道。如廖兆贵<sup>[8]</sup>和屈亚娟<sup>[9]</sup>采用回流方法, 吕鹏<sup>[10]</sup>采用超声方法对零余子中的黄酮类化合物提取进行研究。但是, 微波提取方法目前没有报道。微波提取方法可以通过瞬时穿透加热<sup>[11]</sup>, 使植物细胞快速破碎, 同时具有高效性、环保性、耗能低、污染小、操作方便, 时间短等优点<sup>[12-13]</sup>。

收稿日期: 2018-01-16

作者简介: 毛瑜(1992-), 女, 硕士研究生, 专业方向: 食品科学与工程, E-mail: maoyufish1992@163.com。

\* 通讯作者: 李红艳(1986-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养与化学, E-mail: lihongyan@ncu.edu.cn。

基金项目: 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室青年研究基金(SKLF-QN-201506)。

因此,本研究采用微波提取零余子中黄酮类化合物,并利用响应面法优化工艺条件及对采用最佳工艺提取的黄酮进行抗氧化活性比较,旨在为零余子的深入开发利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

瑞昌零余子(*Dioscorea opposita*) 江西省赣州市; 芦丁标准品 阿拉丁公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2-联氮-2-(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、无水甲醇、无水乙醇 分析纯。

722G 可见分光光度计 上海仪电分析仪器有限公司; TQ-400Y 粉碎机 永康市天祺盛世工贸有限公司; DGG-9140A 电热鼓风干燥箱 上海森信实验仪器有限公司; G80F20CN2L-B8(R0) 微波炉 佛山市顺德区格兰仕微波炉电器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 零余子粉的制备 将零余子洗净,在60℃下烘干至恒重,粉碎,过60目筛,备用。

1.2.2 零余子黄酮提取液的制备 准确称取零余子粉末样品1.0 g,按一定液料比加入不同体积分数的乙醇溶液,置于微波炉中微波提取一定时间,将提取液趁热抽滤得澄清滤液,并将滤液旋转蒸发至干,最后用50%甲醇定溶于到10 mL比色管。

#### 1.2.3 单因素实验设计

1.2.3.1 乙醇体积分数对零余子黄酮提取量的影响 分别选取30%、40%、50%、60%、70%、80%六种不同体积分数的乙醇为提取剂,在液料比30:1 mL/g,功率400 W,时间40 s条件下测定黄酮提取量。

1.2.3.2 液料比对零余子黄酮提取量的影响 分别选取不同的液料比15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1 mL/g,在乙醇体积分数70%,功率400 W,时间40 s条件下测定黄酮提取量。

1.2.3.3 微波功率对零余子黄酮提取量的影响 分别选取不同的微波功率320、400、480、560 W,在乙醇体积分数70%,液料比30:1 mL/g,时间40 s条件下测定黄酮提取量。

1.2.3.4 微波时间对零余子黄酮提取量的影响 在乙醇体积分数70%,液料比30:1 mL/g,微波功率400 W的条件下,分别选取不同的微波时间10、20、30、40 s测定黄酮提取量。

1.2.4 响应曲面分析法优化工艺 根据Box- Behnken的中心组合试验设计原理,以单因素试验为基础,选取乙醇体积分数、液料比、微波功率、微波时间四个因素,采用四因素三水平的响应面分析方法,因素与水平见表1。

#### 1.2.5 黄酮提取量的测定

1.2.5.1 芦丁标准曲线的制作 准确吸取0.1 mg/mL标准芦丁溶液0.5、1、2、2.5、3、4、4.5 mL分别置于比色管中,加入5%的亚硝酸钠溶液0.3 mL摇匀,静置6 min后加入10%的硝酸铝溶液0.3 mL,混匀,再静置6 min后加入4%的氢氧化钠溶液4 mL,混匀,用蒸馏水定容至10 mL,静置15 min,于510 nm处测定吸光度值,得到芦丁浓度与吸光度的回归方程。每

表1 微波提取山药零余子响应曲面分析因素与水平

Table 1 Coded values and factors of response surface analysis of microwave extraction of flavonoids from Yam bulbil

因素	水平编码		
	-1	0	1
A 乙醇体积分数(%)	20	40	60
B 液料比(mL/g)	20:1	30:1	40:1
C 微波功率(W)	320	400	480
D 微波时间(s)	20	30	40

个样品重复三次<sup>[8]</sup>。

1.2.5.2 样品中黄酮的测定 量取1.0 mL提取后的零余子黄酮样品液置于具塞试管中,加入5%的亚硝酸钠溶液0.3 mL摇匀,后续步骤同1.2.5.1。

#### 1.2.5.3 黄酮提取量的计算

$$\text{黄酮提取量}(\text{mg QE/g DW}) = \frac{C \times V_1 \times V_2}{W \times V}$$

式中: C 为显色样品溶液中黄酮类化合物的浓度; W 为称取样品质量, mg; V<sub>1</sub> 为显色样品溶液定容后体积, mL; V<sub>2</sub> 为提取液定容后体积, mL; V 为用于检测提取液的体积, mL。

#### 1.2.6 抗氧化能力测定

1.2.6.1 山药零余子黄酮提取液的配制 称取10 g山药零余子粉末,用微波响应面法所得最佳工艺条件提取,滤液减压浓缩至无醇味后,冷冻干燥至恒重。分别称取6.25、12.5、25、50、100 mg黄酮粗提物定容于10 mL,配制成0.625、1.25、2.5、5、10 mg/mL的黄酮提取液。

1.2.6.2 山药零余子黄酮提取液清除DPPH自由基的测定 参照Brand-Williams W和Zimmer AR建立的DPPH自由基清除实验方法<sup>[14-17]</sup>,在96孔板中将100 μL的DPPH甲醇溶液(0.065 mmol/L)与20 μL的样液或空白溶液混匀,在室温下反应30 min,用酶标仪于517 nm下测定其吸光值(空白吸光值0.7左右)。

清除DPPH自由基能力用如下公式计算:

$$\text{清除率}(\%) = (1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}) \times 100$$

其中: A<sub>i</sub> 为样品溶液加DPPH试剂混合液的吸光度, A<sub>j</sub> 为样品溶液加乙醇的吸光度, A<sub>c</sub> 为DPPH溶液加样品溶剂的吸光度。用半抑制浓度( IC<sub>50</sub> )表示。

其中, 维生素C半抑制浓度( V<sub>c</sub> IC<sub>50</sub> ) = V<sub>c</sub> IC<sub>50</sub> = 0.046 mg·mL<sup>-1</sup>。

1.2.6.3 山药零余子黄酮提取液清除ABTS自由基的测定 将5 mL 7.4 mmol/L ABTS储备液与88 μL 2.6 mmol/L K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>混匀,静置12 h配制成ABTS工作液。ABTS工作液用80%的甲醇稀释,使稀释液在734 nm处吸光值为1.4,然后于96孔板中分别加入200 μL ABTS溶液和20 μL样品溶液,振荡混合均匀6 min后,在734 nm波长下测定吸光值<sup>[18-19]</sup>。清除率计算公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = (1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}) \times 100$$

其中:  $A_i$  为样品溶液加 ABTS 试剂混合液的吸光度,  $A_j$  为样品溶液加甲醇的吸光度,  $A_c$  为 ABTS 溶液加样品溶剂的吸光度。用  $IC_{50}$  表示。

其中,  $V_c IC_{50} = 0.067 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.2.6.4 山药零余子黄酮提取液还原能力的测定 参照恽祥惠的方法在 96 孔板中,依次加入 10  $\mu\text{L}$  样液和 300  $\mu\text{L}$  的 ferric-TPTZ 工作液(300 mmol/L 醋酸盐缓冲液(0.31 g 三水合醋酸钠 + 1.6 mL 冰醋酸 + 超纯水至 100 mL, pH3.6)、10 mmol/L TPTZ 的 40 mmol/L 盐酸溶液和 20 mmol/L  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  溶液,以 10:1:1 体积比混合),室温反应 30 min 后,于 595 nm 下用酶标仪测定其吸光度<sup>[20-22]</sup>。测定结果以  $V_c$  (L-ascorbic acid, AAE) 为参考标准,结果表示为  $\mu\text{mol AAE/g 干重}$ ( $\mu\text{mol AAE/g DW}$ )。

其中,  $V_c$  标准曲线的线性回归方程:  $y = 7.0874X + 0.4718$  ( $R^2 = 0.9978$ ) (其中  $X$  表示  $V_c$  浓度  $\text{mmol/L}$ ,  $y$  表示还原能力  $\mu\text{mol AAE/g 干重}$ )。

### 1.3 统计分析

单因素实验每次做 3 个平行样,结果用平均值  $\pm$  标准偏差表示; 响应曲面分析结果用 Design-Expert 8.0 软件进行参数优化及方差分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 芦丁标准曲线

标准曲线方程为:  $Y = 4.3489X + 0.0379$ ,  $R^2 = 0.9991$ 。

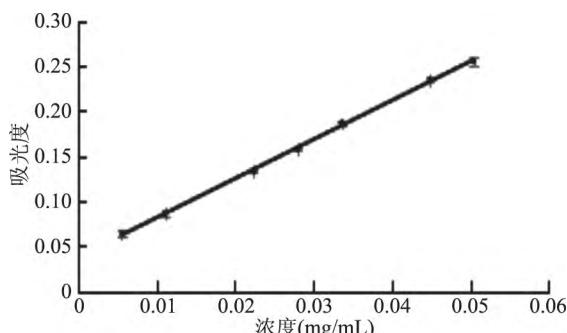


图 1 芦丁标准曲线

Fig.1 Standard curve of rutin

### 2.2 单因素实验结果

2.2.1 乙醇体积分数对零余子黄酮提取量的影响 由图 2 可知,随着乙醇体积分数的增大,黄酮的提取量先增大后减小,在 40% 时达到最大值。这可能是因为: 黄酮类物质在醇类溶剂中的溶解度大于在水中的溶解度,随乙醇比例增大,黄酮类化合物提取量增大,但在 40% 之后,体系中其它醇溶性杂质的溶出能力也增加,当乙醇体积分数再增大时,黄酮类物质的提取量被干扰而下降。结果表明,乙醇体积分数保持在 40% 左右为宜。

2.2.2 液料比对零余子黄酮提取量的影响 由图 3 可见,随着液料比的增加,提取量增加,之后又有所减少。这是因为随着液料比的增加,没有完全浸出的零余子与提取液接触逐渐充分,因此提取量增加,而液料比达到一定值时,黄酮类物质已经充分析出,而过量的溶剂会影响零余子对微波能量的吸收,导

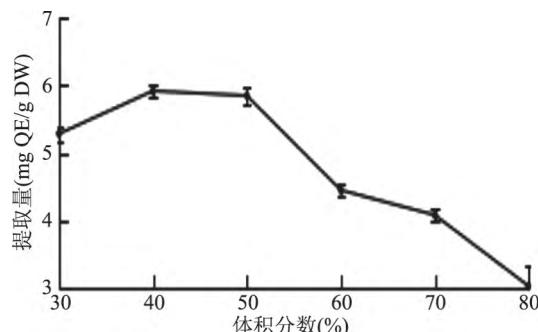


图 2 乙醇体积分数对零余子黄酮提取量的影响

Fig.2 Effect of ethanol concentration on yield of flavonoids

致热负荷增大,提取完全时间增大,从而损失量也会有增加。所以从本实验所得提取量结果以及考虑溶剂用量是否造成有机溶剂的浪费等综合问题,选择最佳的液料比为 30:1 mL/g。

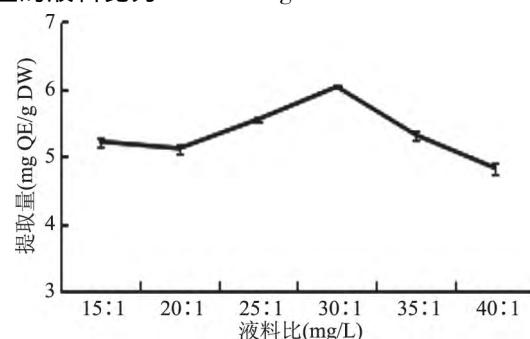


图 3 液料比对零余子黄酮提取量的影响

Fig.3 Effect of liquid-solid ratio on yield of flavonoids

2.2.3 微波功率对零余子黄酮提取量的影响 由图 4 可知,微波功率对黄酮类物质的提取的影响明显。在微波功率为 320 W 时,提取量只有 4.59 mg QE/g DW,随着功率的增加,分子的热运动加剧,引起温度升高,迅速破坏细胞壁,使细胞内的黄酮类物质较快地分离提取出来,黄酮提取量随之增加,在微波功率为 400 W 时达到最大值。可当功率大于 400 W 后,提取量急剧下降,可能是因为功率过大使黄酮结构破坏。因此结果表明微波功率在 400 W 为宜。

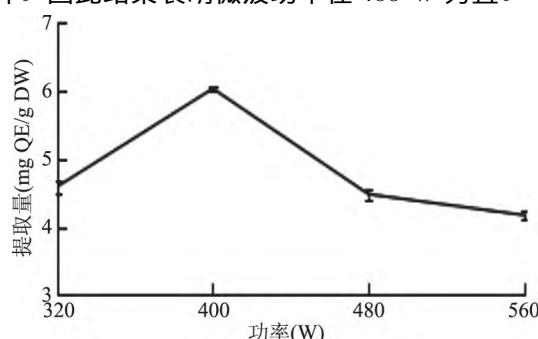


图 4 微波功率对零余子黄酮提取量的影响

Fig.4 Effect of microwave power on yield of flavonoids

2.2.4 微波时间对零余子总黄酮微波提取量的影响 由图 5 可见,随着提取时间的增长,零余子中总黄酮不断析出,提取量逐渐增高。在 30 s 时提取量达到最大,之后随着提取时间的延长,黄酮类化合物的溶出达到了一定的平衡。但同时随着时间的延

长吸收微波过多,热能过高,对细胞有一定的破坏,细胞溶出物增加,并且一些黄酮类化合物发生了降解反应或者转化为其他化学物质,导致了提取量的降低,因此选择30 s为黄酮提取的最佳时间。

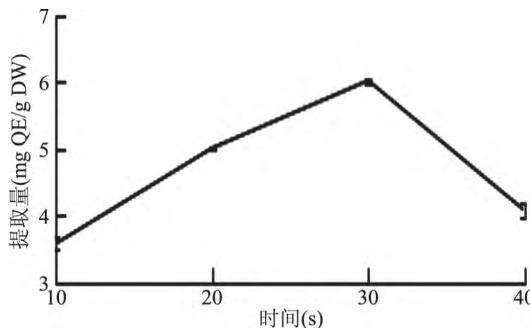


图5 微波处理时间对零余子黄酮提取量的影响

Fig.5 Effect of microwave treatment time  
on extraction capacity of flavonoids

### 2.3 响应曲面分析结果

2.3.1 响应曲面试验设计及结果 通过研究单因素的影响条件,确定最佳的单因素试验条件范围,以此为基础,根据Design-Expert 8.0软件的Box-Behnken中心组合方法设计响应面实验方案,共有27个试验点,其中1~24号为析因点,其变量取值在各因素构成的三维顶点;25~27号为零点,是区域的中心点,用来估计试验误差。零余子黄酮提取量(mg QE/g DW)为响应值,响应曲面试验设计及结果见表2。

2.3.2 回归方程拟合和方差分析 将所得试验数据进行多元回归拟合,得到零余子总黄酮提取量Y与微波提取各因素变量的二次回归方程模型为:

$$Y = 6.81 + 0.20A + 0.35B - 0.31C - 0.090D + 0.36AB + 0.34AC + 0.10AD + 0.75BC + 0.35BD - 0.98CD - 0.72A^2 - 0.63B^2 - 0.65C^2 - 0.47D^2$$

由回归方程可得出,各因素对零余子黄酮提取量的影响大小顺序为:液料比>微波功率>乙醇体积分数>微波时间。对该模型进行方差分析,结果见表3,整体模型的显著性检测 $p < 0.0001$ ,且失拟项为0.6430不显著,说明该方程对试验拟合较好,可以用该模型进行分析。一次项中液料比B和微波功率C对总黄酮提取量有极显著影响,乙醇体积分数A对总黄酮提取量有显著影响,而微波时间D对总黄酮提取量不显著;交互项AD不显著外,AB、AC和BD显著,BC和CD极显著;二次项均达到极显著水平。

其中校正决定系数 $R_{\text{adj}}^2 = 0.8793 > 0.80$ 和变异系数(CV)为4.79%,可用来对微波法提取零余子总黄酮的工艺过程进行初步分析和预测。

2.3.3 响应曲面分析 图6~图11是根据回归方程绘制出的各因素交互作用的响应面图,反映了各因素在提取过程中对响应值的影响,其投影为等高线图。

由图6可得乙醇体积分数对黄酮提取量有一定影响,随体积分数的增大,黄酮提取量上升,但过高的体积分数反而导致提取量的下降。液料比同样对

表2 微波提取零余子黄酮响应曲面分析试验设计及结果  
Table 2 Experimental design and results of response surface analysis of microwave-assisted extraction of flavonoids

实验号	A	B	C	D	提取量 (mg QE/g DW)
1	-1	-1	0	0	5.48
2	1	-1	0	0	5.16
3	-1	1	0	0	5.33
4	1	1	0	0	6.45
5	0	0	-1	-1	5.45
6	0	0	1	-1	6.69
7	0	0	-1	1	6.95
8	0	0	1	1	4.25
9	-1	0	0	-1	5.47
10	1	0	0	-1	5.64
11	-1	0	0	1	5.27
12	1	0	0	1	5.86
13	0	-1	-1	0	6.10
14	0	1	-1	0	5.66
15	0	-1	1	0	3.77
16	0	1	1	0	6.35
17	-1	0	-1	0	5.65
18	1	0	-1	0	5.38
19	-1	0	1	0	4.65
20	1	0	1	0	5.73
21	0	-1	0	-1	5.78
22	0	1	0	-1	5.55
23	0	-1	0	1	5.01
24	0	1	0	1	6.18
25	0	0	0	0	7.09
26	0	0	0	0	6.82
27	0	0	0	0	6.51

表3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance table

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	p
模型	15.22	14	1.09	14.53	<0.0001
A	0.47	1	0.47	6.25	0.0279
B	1.50	1	1.50	19.98	0.0008
C	1.17	1	1.17	15.66	0.0019
D	0.098	1	0.098	1.30	0.2759
AB	0.52	1	0.52	6.94	0.0218
AC	0.45	1	0.45	6.06	0.0299
AD	0.044	1	0.044	0.59	0.4576
BC	2.27	1	2.27	30.38	0.0001
BD	0.49	1	0.49	6.59	0.0246
CD	3.87	1	3.87	51.77	<0.0001
$A^2$	2.78	1	2.78	37.08	<0.0001
$B^2$	2.10	1	2.10	28.01	0.0002
$C^2$	2.25	1	2.25	30.12	0.0001
$D^2$	1.16	1	1.16	15.52	0.0020
残差	0.90	12	0.075		
失拟项	0.73	10	0.073	0.87	0.6430
纯误差	0.17	2	0.084		
总和	16.12	26			

注:  $R^2 = 0.9442$   $R_{\text{adj}}^2 = 0.8792$ , C.V. = 4.79%,  $p < 0.01$  表示极显著; $p < 0.05$  表示显著; $p > 0.05$  表示没有显著性。

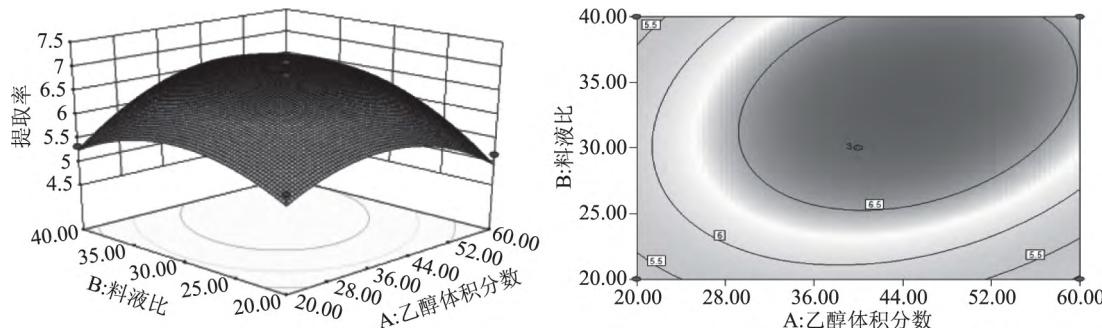


图6 乙醇体积分数与液料比对黄酮提取量的交互作用及等高线

Fig.6 Interaction effect and contour on yield of flavonoids between ethanol concentration and liquid-solid ratio

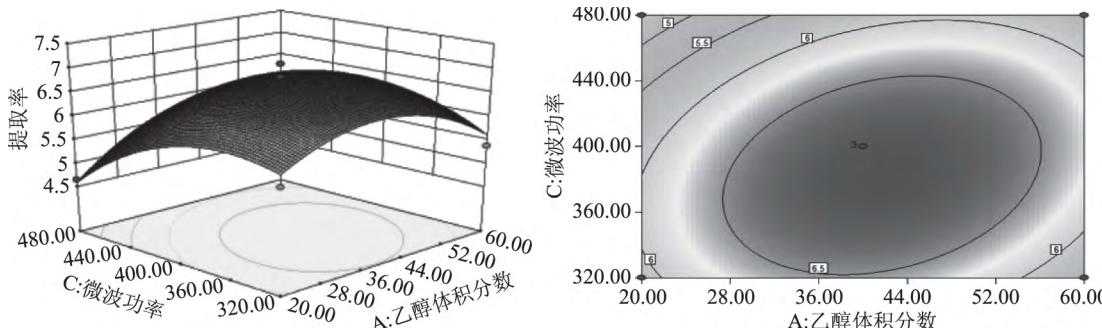


图7 乙醇体积分数与微波功率对黄酮提取量的交互作用及等高线

Fig.7 Interaction effect and contour on yield of flavonoids between ethanol concentration and microwave power

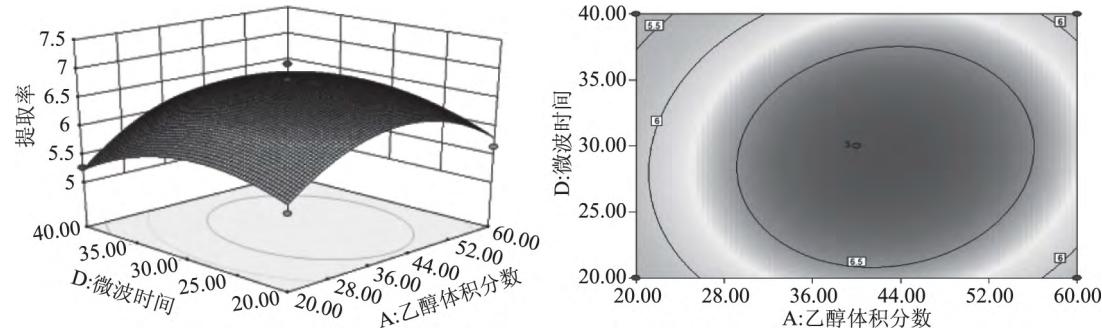


图8 乙醇体积分数与微波处理时间对黄酮提取量的交互作用及等高线

Fig.8 Interaction effect and contour on yield of flavonoids between ethanol concentration and microwave treatment time

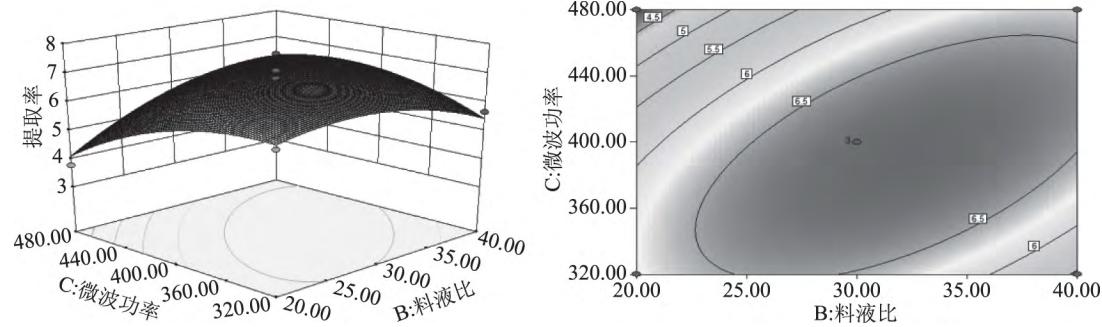


图9 液料比与微波功率对黄酮提取量的交互作用及等高线

Fig.9 Interaction effect and contour on yield of flavonoids between liquid-solid ratio and microwave power

黄酮提取量有影响,且沿液料比轴向等高线较乙醇体积分数密集,说明液料比的影响大于乙醇体积分数。等高线稍呈椭圆,代表乙醇体积分数和液料比两者交互作用显著。

由图7可得微波功率对黄酮提取量的影响显著,曲面较陡,乙醇体积分数对黄酮提取量的影响不

大,曲面较缓和,且沿微波功率轴向等高线较乙醇体积分数密集,说明微波功率影响大于乙醇体积分数。等高线稍呈椭圆,说明乙醇体积分数和液料比交互作用显著。

由图8可得微波时间对黄酮提取量的影响不显著,曲面比较平缓,且沿微波时间轴向等高线相对疏

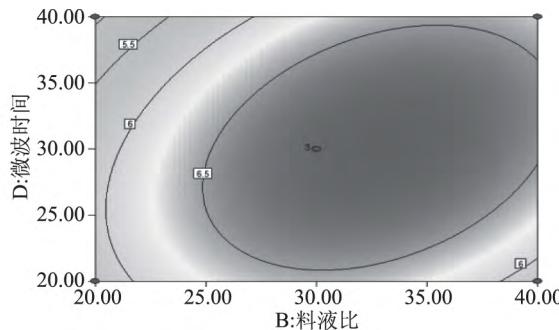
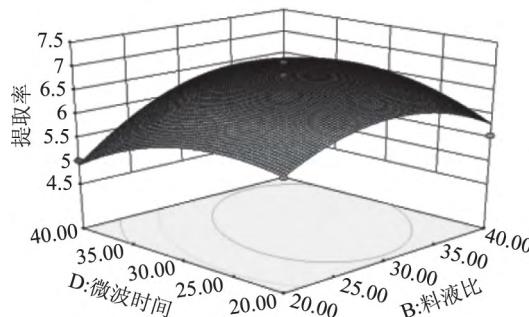


图 10 液料比与微波处理时间对黄酮提取量的交互作用及等高线

Fig.10 Interaction effect and contour on yield of flavonoids between liquid-solidratio and microwave treatment time

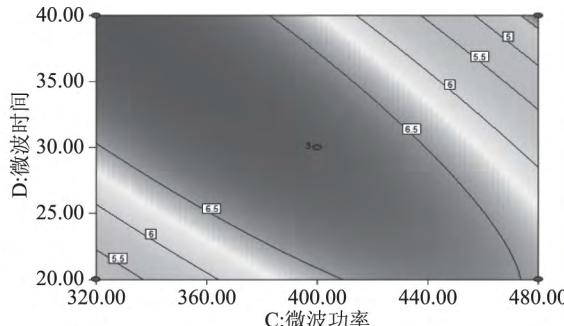
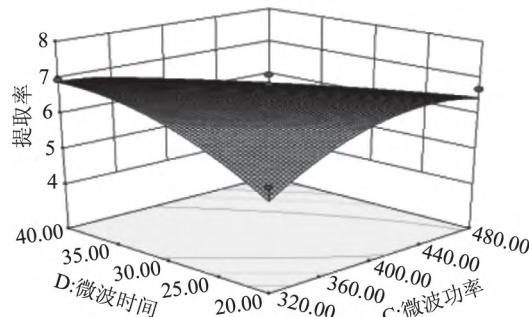


图 11 微波功率与作用时间对黄酮提取量的交互作用及等高线

Fig.11 Interaction effect and contour on yield of flavonoids between microwave treatment time and ultrasonic power

松。等高线呈圆形,乙醇体积分数和微波时间交互作用较弱,影响不显著。

由图9可得沿液料比和微波功率轴向等高线都比较密集,说明液料比和微波功率对黄酮提取量的影响都较大,作用极显著,而根据等高线图可得,等高线呈椭圆形,说明两者交互作用较强,影响极显著。

由图10可得液料比曲面较陡,液料比对黄酮提取量的影响显著,而微波时间曲面较平缓,对黄酮提取量的影响不大。且沿液料比轴向等高线较微波时间密集,说明液料比对响应值峰值的影响比微波时间大。且根据等高线图可得等高线稍呈椭圆,说明液料比和微波时间交互作用稍显著。

由图11可得微波功率对黄酮提取量影响显著,曲面较陡,而微波时间则对黄酮提取量影响不大,曲面平缓,再根据等高线呈椭圆形,说明两者交互作用极显著。

运用软件得出最佳工艺为:乙醇体积分数:40.11%;液料比:30.07:1 mL/g;微波功率:335 W;微波时间:37.63 s。在此条件下,回归模型预测的零余子黄酮提取量的理论值可达6.90 mg QE/g DW。

**2.3.4 工艺条件的优化和验证** 为了检验试验结果的真实性,结合实际实验条件需要,将最佳提取工艺参数优化为乙醇体积分数40%,液料比30:1 mL/g,微波功率320 W,微波时间37 s,在此条件下,回归模型预测的零余子黄酮提取量的理论值可达6.90 mg QE/g DW,与预测值6.90 mg QE/g DW相差0.7%。说明采用响应曲面法得到的优化工艺可行性强,优化结果可靠。

采用微波法提取零余子中黄酮类化合物,相比

于吕鹏<sup>[10]</sup>通过超声提取怀山药零余子黄酮得2.46 mg/g以及屈亚娟<sup>[8]</sup>通过回流提取零余子黄酮得5.49 mg/g,具有更高的提取量。而且微波提取用时只需38 s,远小于超声和回流的时间,操作更加便捷。因此研究零余子黄酮的微波提取优化具有一定的意义。

#### 2.4 山药零余子黄酮的抗氧化性作用

**2.4.1 零余子黄酮提取液对DPPH自由基清除能力** 零余子黄酮提取物清除DPPH自由基能力 $IC_{50}=0.050\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,与 $V_c(0.046\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1})$ 相近,但不及零余子皂苷对DPPH的清除能力,零余子皂苷在0.04 mg/mL时抑制率就达到202.52%<sup>[23]</sup>。

**2.4.2 零余子黄酮提取液对ABTS自由基清除能力** 零余子黄酮提取物清除ABTS自由基能力 $IC_{50}=0.055\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,比 $V_c(0.067\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1})$ 表现出更强的ABTS清除能力。

**2.4.3 零余子黄酮提取液的 $\text{Fe}^{3+}$ 的还原能力** 零余子黄酮提取物还原 $\text{Fe}^{3+}$ 的能力为9.63 mmol AAE/g DW(每g  $V_c$ 换算得5.68 mmol  $V_c$ )换算得1.70倍的 $V_c$ ,有较强的铁离子还原能力。

#### 3 结论

通过乙醇微波提取法与响应面法相结合,对零余子黄酮类化合物的提取工艺进行研究,得到以下结论:影响黄酮提取量自变量因素的大小排列为:液料比>微波功率>乙醇体积分数>微波时间。微波提取黄酮的最佳工艺条件为:乙醇体积分数为40%,液料比30:1 mL/g,微波功率320 W,微波时间37 s。通过验证试验得到黄酮的提取量为6.95 mg QE/g DW。说明微波提取法适用于零余子中黄酮类化合物的提

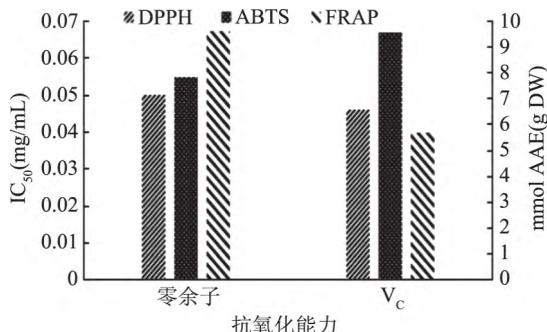


图 12 抗氧化测定

Fig.12 Antioxidant test

取。同时,通过 DPPH、ABTS、FRAP 对该工艺下提取的零余子黄酮提取物进行抗氧化活性评价,发现其表现出与 V<sub>c</sub> 相近甚至更强的抗氧化活性,说明微波提取法适用于零余子中黄酮类化合物的提取,同时可保留其较高的抗氧化活性。

### 参考文献

- [1] 李伟,程超,莫开菊,等.零余子多酚类物质的提取工艺及测定方法比较[J].食品科学,2007,28(8):152-156.
- [2] 滕井通,高翔,薛建平,等.怀山药零余子薯蓣皂苷元成分的含量测定[J].安徽农业科学,2012,40(21):10817-10818.
- [3] Fu Y C, Lha F, Huang P Y. Quantitative analysis of allantoin and allantoic acid in yam tuber, mucilage, skin and bulbil of the Dioscorea species. [J]. Food Chemistry, 2006, 94(4): 541-549.
- [4] 盛玮,薛建平,谢笔钧.怀山药零余子提取物抗氧化活性的研究[J].食品科学,2009,30(3):92-94.
- [5] Liang X, Huang Y, Chen J, et al. Antioxidant activity of polysaccharides in yam bulbils and their hypoglycemic effect in diabetic mice [J]. Agricultural Science & Technology, 2015, 16(7): 1332-1335.
- [6] Choi K W, Um S H, Kwak J H, et al. Suppression of adhesion molecule expression by phenanthrene-containing extract of bulbils of Chinese Yam in vascular smooth muscle cells through inhibition of MAPK Akt and NF-κB [J]. Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2012, 50(50): 2792-804.
- [7] 徐秋燕,张录录,陈益人.植物中黄酮类化合物的提取方法[J].纺织科技进步,2015(3):1-3.
- [8] 廖兆贵.零余子黄酮类化合物的提取工艺优化及初步分离[J].湖北民族学院学报:自然科学版,2014(1):43-46.
- [9] 屈亚娟,史红艳,陈晓玲,等.响应面法优化山药零余子黄酮类化合物的提取工艺研究[J].食品科技,2014(8):196-200.
- [10] 吕鹏,贾秀梅,张振凌,等.怀山药及非药用部位总黄酮含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(2):65-68.
- [11] 陈源,杨道富,范丽华,等.响应面法优化微波提取茂谷橘橙皮总黄酮工艺[J].中国食品学报,2013(04):80-86.
- [12] Krishnan R Y, Chandran M N, Vadivel V, et al. Insights on the influence of microwave irradiation on the extraction of flavonoids from Terminalia chebula [J]. Separation & Purification Technology, 2016, 170: 224-233.
- [13] Ke, Chen L, Haiyan. Enzymatic - assisted microwave extraction of total flavonoids from bud of *Chrysanthemum indicum* L. and Evaluation of Biological Activities [J]. International Journal of Food Engineering, 2016, 12(6): 607-613.
- [14] Zhang W, Zeng Z, Wei J. Electrochemical study of dpph radical scavenging for evaluating the antioxidant capacity of carbon nanodots [J]. Journal of Physical Chemistry C, 2017, 121(34): 18635-18642.
- [15] 刁青,环海洋, LIUQing,等.山药皮中黄酮的提取与抗氧化性的研究[J].广州化工,2015,43(24):98-100.
- [16] Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity [J]. LWT - Food Science and Technology, 1995, 28(1): 25-30.
- [17] Zimmer A R, Leonardi B, Miron D, et al. Antioxidant and anti-inflamatory properties of Capsicum baccatum: from traditional use to scientific approach. [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2012, 139(1): 228-233.
- [18] Rodríguez-Bonilla P, Gandía-Herrero F, Matencio A, et al. Comparative study of the antioxidant capacity of four stilbenes using ORAC, ABTS +, and FRAP techniques [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(9): 1-7.
- [19] 张伟,尹震花,张勇,等.黑莓籽总多酚、总黄酮含量及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2015,36(8):125-128.
- [20] Ustundag Y, Huysal K, Kahvecioglu S, et al. Establishing reference values and evaluation of an in-house ferric reducing antioxidant power(FRAP) colorimetric assay in microplates [J]. European Research Journal, 2016, 2(2): 126-131.
- [21] Jones A, Pravadali-Cekic S, Dennis G R, et al. Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography [J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 967: 93.
- [22] 汛祥惠,邢丽娜,李云,等.建立基于 96 孔板检测的 FRAP 法和 DPPH 法及其在橘核抗氧化活性研究中的应用[J].时珍国医国药,2014(5):1275-1278.
- [23] 程超,朱玉昌,莫开菊,等.零余子皂甙的抗氧化特性研究[J].食品科学,2007,28(10):83-86.

一套《食品工业科技》在手,  
纵观食品工业发展全貌