

水提紫甘薯色素废渣总黄酮提取工艺研究

高 晴, 王瑞欣, 吴志霜, 周建于, 徐 芳, 王 琦,
吴少雄, 吴丽莎, 李桑柔, 殷建忠*

(昆明医科大学营养与食品研究所, 昆明 650500)

摘 要: **目的** 研究水提紫甘薯色素废渣总黄酮的提取工艺, 旨在为紫甘薯废渣的综合开发利用提供理论基础和参考依据。**方法** 采用溶液浸提法、超声波辅助法、微波萃取法对水提紫甘薯色素废渣中的总黄酮进行提取研究, 通过单因素实验和正交实验确定最佳提取方法及工艺条件。**结果** 水提紫甘薯色素废渣总黄酮最佳提取方法为微波萃取法, 其最佳提取工艺: 乙醇体积分数 70%, 提取时间 4 min, 微波功率 708 W, 料液比 1:40。在此条件下累计 6 次提取结果得水提紫甘薯色素废渣中总黄酮含量为 $3.83 \text{ g} \pm 0.03 \text{ g}/100 \text{ g}$ 。最佳提取次数为 2 次。**结论** 水提紫甘薯色素废渣黄酮类物质含量较高, 具有较大的开发利用价值。

关键词: 水提紫甘薯色素废渣; 黄酮; 提取; 工艺

Study on the extraction of flavonoids from residue of water-extracting pigment of *Ipamoea batatas* L.

GAO Qing, WANG Rui-Xin, WU Zhi-Shuang, ZHOU Jian-Yu, XU Fang, WANG Qi,
WU Shao-Xiong, WU Li-Sha, LI Sang-Rou, YIN Jian-Zhong*

(Research Institute of Nutrition and Food Science, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective To research the extraction process of the total flavonoids from residue of water-extracting pigment of *Ipamoea batatas* L., which could provide the theoretical basis and reference for the comprehensive development and utilization of residue of water-extracting pigment of *Ipamoea batatas* L.. **Methods** Traditional solution method, ultrasonic-assisted method and microwave-assisted method were adopted to extract total flavonoids from residue of water-extracting pigment of *Ipamoea batatas* L.. The best extraction method and process conditions were determined by single factor experiment and orthogonal experiment. **Results** Microwave-assisted extraction was confirmed as the optimum method for extracting total flavonoids from residue of water-extracting pigment of *Ipamoea batatas* L.. The optimum extraction process was extracted for 4 min at microwave power 708 W by the ratio of material to liquid 1:40 with the 70 % volume fraction of ethanol. Total flavonoids was extracted on this condition by 6 times, and the content of total flavonoids in residue of water-extracting pigment of *Ipamoea batatas* L. was $3.83 \text{ g} \pm 0.03 \text{ g}/100 \text{ g}$. The best extraction times is 2 times. **Conclusion** The content of flavonoids in residue of water-extracting pigment of *Ipamoea batatas* L. is higher and residue of water-extracting pigment of *Ipamoea batatas* L. has greater

基金项目: 云南省科技计划项目(2008ZC107M)、云南公共卫生与疾病防控协同创新中心项目(2014YNPHXT07)

Fund: Supported by the Science and Technology Planning Project of Yunnan Province(2008ZC107M) and the Project for the Collaborative Innovation Center of Public Health and Disease Prevention and Control of Yunnan Province (2014YNPHXT07)

*通讯作者: 殷建忠, 教授, 主要研究方向为营养与食品安全。E-mail: yinjianzhong2005@sina.com

*Corresponding author: YIN Jian-Zhong, Professor, Research Institute of Nutrition and Food Science, Kunming Medical University, Kunming 650500, China. E-mail: yinjianzhong2005@sina.com

utilization value.

KEY WORDS: residue of water-extracting pigment of *Ipamoea batatas* L.; flavonoids; extraction; process

1 引言

紫甘薯(*Ipamoea batatas* L.)富含具有生理活性作用的花青素类色素(purple sweet potatoe color, PSPC)。目前,紫甘薯主要用途是提取色素,企业面临的难题是如何将水法提取紫甘薯色素后剩余废渣变废为宝。黄酮类化合物(flavonoids)是具有 2-苯基色原酮(flavone)结构的一类天然化合物的总称。黄酮类化合物的溶解度因结构及存在状态(甙元、单糖甙、双糖甙或三糖甙)不同而有很大差异。一般游离甙元难溶或不溶于水,易溶于甲醇、乙醇、乙酸乙酯、乙醚等有机溶剂及稀碱水溶液中;黄酮、黄酮醇、查耳酮更难溶于水;而二氢黄酮及二氢黄酮醇等,则较易溶于水;花色素及其甙元也易溶于水;黄酮甙一般易溶于水、甲醇、乙醇等极性强的溶剂;糖链越长则水溶度越大^[1-5]。目前常用于提取紫甘薯总黄酮的方法主要包括溶剂浸提法、超声波辅助法、微波萃取法、酶法等^[6]。本课题组前期对水提紫甘薯色素废渣进行了基础研究及产品研发^[7-14]。本研究深入探讨溶剂浸提法、超声波辅助法、微波萃取法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的最佳工艺及方法,旨在为紫甘薯废渣的综合开发利用提供参考依据。

2 材料与方法

2.1 实验材料

实验室模拟制备水提紫甘薯色素废渣:采用与实际生产工艺相同的提取方法。未提取过色素的干紫甘薯片(由云南省玉溪市太和生物开发有限公司提供)与 pH 3.0 的柠檬酸水溶液以料液比 1:19 浸泡 4 次提取色素,第 1、2 次浸泡 45 min,第 3 次浸泡 1 h,第 4 次浸泡 2 h。提取色素后剩余废渣经干燥箱干燥后用粉碎机粉碎为超细粉,过 100 目分样筛,备用。

2.2 主要仪器与试剂

722S 可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);KQ 3200 型超声波清洗仪(东莞市科桥超声波设备有限公司);格兰仕 WP 750A 型微波炉(顺德格兰仕电器厂有限公司);752 紫外可见分光光度计(上海

舜宇恒平科学仪器有限公司)。

柠檬酸(分析纯,广东汕头市西陇化工厂);甲酸(分析纯,上海三浦化工有限公司);盐酸(分析纯,重庆川东化工集团有限公司化学试剂厂);无水乙醇(安徽特酒总厂);95 %乙醇(天津市致远化学试剂有限公司);芦丁标准品(中国药品生物制品检定所)。

2.3 实验方法

2.3.1 水提紫甘薯色素废渣总黄酮定性及定量分析

目前常用于提取黄酮类化合物的有机溶剂有:甲醇、乙醇、丙醇乙酸乙酯等^[15]。由于乙醇价格便宜,毒性小,易于回收,本实验采用乙醇作为提取剂。水提紫甘薯色素废渣总黄酮定量分析:芦丁标准曲线绘制见图 1。

精密称取 20.0 mg 芦丁标准品,用 60%乙醇溶解并定容到 100 mL 容量瓶作为标准溶液,浓度为 0.20 mg/mL。准确吸取芦丁标准溶液 0、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.0 mL 移入 10 mL 刻度试管中,加入 60%乙醇溶液至 3.0 mL,各加 5% NaNO₂ 溶液 0.5 mL,振荡后放置 6 min;加入 10% Al(NO₃)₃ 溶液 0.5 mL,摇匀后放置 6 min;加 4% NaOH 溶液 4 mL,用 60%乙醇定容至刻度(相当于芦丁 0、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06 mg/mL),摇匀,放置 15 min;以零管为空白,于 508 nm 波长处测定吸光度。以芦丁浓度(mg/mL)为横坐标,以吸光度为纵坐标绘制标准曲线得回归方程: $A=7.8845c+0.027$, $R^2=0.9979$,线性范围:0.01~0.06 mg/mL(图 1)。

总黄酮提取率计算(公式 1):

$$y = \frac{c \times V_1 \times V_3}{V_2 \times w \times 1000} \times 100 \quad (\text{公式 1})$$

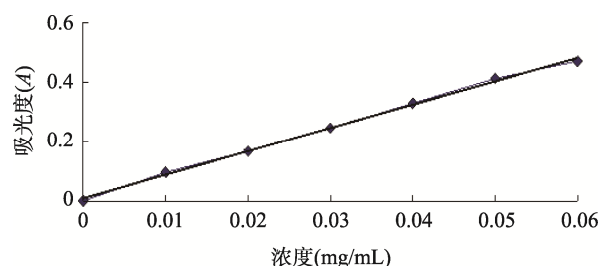


图 1 芦丁标准曲线

Fig. 1 Standard curves of rutin

式中: y -总黄酮提取率(%); c -移取液黄酮浓度(g/L); v_1 -移取液定容体积(mL); v_2 -移取液体积(mL); v_3 -提取液定容体积(mL); w -样品重量(g)。

2.3.2 溶剂浸提法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮
(1)总黄酮加标回收实验

空白加标回收实验: 移取 0.20 mg/mL 的芦丁标准品溶液 0、1.00、2.00 mL 至 10 mL 刻度试管中(各做两个平行样), 分别加入 60%乙醇溶液至 2.0 mL, 加 5% NaNO_2 溶液 0.5 mL, 振摇后放置 6 min; 加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.5 mL, 摇匀后放置 6 min; 加 4% NaOH 溶液 4 mL, 用 60%乙醇定容至刻度, 摇匀, 放置 15 min; 以零管为空白, 于 508 nm 波长处测定吸光度。根据标准曲线计算实际浓度值。按公式 2 计算空白加标回收率。

空白加标回收率 = $\frac{\text{测定值}}{\text{理论值}} \times 100\%$ (公式 2)

样品加标回收实验: 以乙醇浓度 70%, 料液比 1:100, 提取温度 60 ℃, 在水浴恒温振荡器中提取总黄酮 2 h, 提取液在 3500 r/min 下离心 10 min。分别移取 1.00 mL 提取液至两支 10 mL 刻度试管中(各做两个平行样), 在其中一支试管中加入 0.20 mg/mL 的芦丁标准品溶液 1.50 mL, 同时设置一个零管, 分别加入 60%乙醇溶液至 2.5 mL, 加 5% NaNO_2 溶液 0.5 mL, 振摇后放置 6 min; 加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.5 mL, 摇匀后放置 6 min; 加 4% NaOH 溶液 4 mL, 用

60%乙醇定容至刻度, 摇匀, 放置 15 min; 以零管为空白, 于 508 nm 波长处测定吸光度。根据标准曲线计算实际浓度值。按公式 3 计算样品加标回收率。

样品加标回收率 = $\frac{\text{加标试样测定值} - \text{试样测定值}}{\text{加标量}} \times 100\%$ (公式 3)

(2)单因素实验

按表 1 的条件置于水浴恒温振荡器中, 150 r/min 提取总黄酮, 提取液在 3500 r/min 下离心 10 min, 取上清液 1 mL 于 10 mL 刻度试管中, 按操作得到总黄酮提取率。

(3)正交实验

采用 $L_{16}(4^5)$ 正交实验表安排实验, 考察提取时间、提取温度、料液比及乙醇体积分数对总黄酮提取效果的影响, 确定各因素的影响主次。正交因素水平表见表 2。

2.3.3 超声波辅助法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮

(1)总黄酮加标回收实验

方法基本同“2.3.2(1)”, 不同之处为采用超声提取后加标。

(2)单因素实验

按表 3 的条件置于超声处理器中, 超声功率 150 W 提取总黄酮, 提取液在 3500 r/min 下离心 10 min, 取上清液 1 mL 于 10 mL 刻度试管中, 按操作得到总黄酮提取率。

表 1 溶剂浸提法提取总黄酮单因素实验设计
Table 1 Single factor experiments for extracting total flavonoids by solvent extraction

提取因素	水平	提取条件
提取温度(℃)	40, 50, 60, 70, 80	70%乙醇, 料液比 1:100, 2 h
提取时间(h)	1, 2, 3, 4, 5	70%乙醇, 料液比 1:100, 60 ℃
料液比(g/mL)	1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:100	70%乙醇, 60 ℃, 2 h
乙醇浓度(%)	50, 60, 70, 80, 90	料液比 1:100, 60 ℃, 2 h

表 2 $L_{16}(4^5)$ 正交实验因素水平表
Table 2 $L_{16}(4^5)$ orthogonal experiment table

水平	因素				
	A 时间(h)	B 温度(℃)	C 料液比(g/mL)	D 乙醇体积分数(%)	空白列
1	1	50	1:10	50	1
2	2	60	1:20	60	2
3	3	70	1:30	70	3
4	4	80	1:40	80	4

表 3 超声辅助法提取总黄酮单因素实验设计
Table 3 Single factor experiments for extracting total flavonoids assisted by ultrasonic method

提取因素	水平	提取条件
提取时间(min)	15, 25, 35, 45, 55	70%乙醇, 料液比 1:100, 60 ℃
提取温度(℃)	40, 50, 60, 70, 80	70%乙醇, 料液比 1:100, 35 min
料液比(g/mL)	1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:100	70%乙醇, 60 ℃, 35 min
乙醇浓度(%)	50, 60, 70, 80, 90	料液比 1:100, 60 ℃, 35 min

(3)正交实验

采用 L₁₆(4⁵)正交实验表安排实验, 考察超声处理时间、提取温度、料液比及乙醇体积分数对总黄酮提取效果的影响, 确定各因素的影响主次。正交因素水平表见表 4。

2.3.4 微波萃取法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮

(1)总黄酮加标回收实验

方法基本同“2.3.2(1)”, 不同之处为采用微波萃取后加标。

(2)单因素实验

按表 5 的条件静置 30 min 后置于微波炉中提取总黄酮, 提取液在 3500 r/min 下离心 10 min, 取上清液 1 mL 于 10 mL 刻度试管中, 按操作得到总黄酮提取率。

(3)正交实验

采用 L₁₆(4⁵)正交实验表安排实验, 考察微波辐照时间、微波功率、料液比及乙醇体积分数对总黄酮提取效果的影响, 确定各因素的影响主次。正交因素水平表见表 6。

表 4 L₁₆(4⁵)正交实验因素水平表
Table 4 L₁₆(4⁵)orthogonal experiment

水平	因素				
	A 时间(min)	B 温度(℃)	C 料液比(g/mL)	D 乙醇体积分数(%)	空白列
1	25	50	1:10	50	1
2	35	60	1:20	60	2
3	45	70	1:30	70	3
4	55	80	1:40	80	4

表 5 微波辅助法提取总黄酮单因素实验设计
Table 5 Single factor experiments for extracting total flavonoids by microwave

提取因素	水平	提取条件
乙醇浓度(%)	50, 60, 70, 80, 90	料液比 1:100, 236 W, 4 min
辐照时间(min)	0.5, 1, 2, 3, 4, 5	70%乙醇, 料液比 1:100, 236 W
微波功率(W)	236, 354, 472, 590, 708, 826	70%乙醇, 料液比 1:100, 4 min
料液比(g/mL)	1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:100	70%乙醇, 236 W, 4 min

表 6 L₁₆(4⁵)正交实验因素水平表
Table 6 L₁₆(4⁵)orthogonal experiment

水平	因素				
	A 乙醇体积分数(%)	B 时间(min)	C 微波功率(W)	D 料液比(g/mL)	空白列
1	50	2	472	1:10	1
2	60	3	590	1:20	2
3	70	4	708	1:30	3
4	80	5	826	1:40	4

2.3.5 统计分析

采用 SPSS17.0 统计软件及正交设计助手 II 对数据进行分析。

3 结果与讨论

3.1 溶剂浸提法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮

3.1.1 总黄酮加标回收实验结果

空白加标回收率 $\overline{y}_0=101.76\%$ ；样品加标回收率 $\overline{y}_1=102.73\%$ 。

3.1.2 单因素实验结果

① 提取温度的影响

如图 2 所示，在实验过程中，当温度低于 60 ℃，提取率随温度升高而增大，并且溶液无明显的糊化现象，当温度达到 70 ℃时，样品中的淀粉发生糊化，提取液中有杂质溶出，故考虑 60 ℃为最佳提取温度。

② 提取时间的影响

如图 3 所示，提取时间低于 2 h 时，提取率随提取时间的延长而增大，并在提取时间为 2 h 时达到最大。之后随着时间的延长，提取率呈减小的趋势。故最佳的提取时间为 2 h。

③ 料液比的影响

如表 7 所示，增加提取剂用量，有利于黄酮类物质由原料向浸提液扩散，增加总黄酮的浸出率，但提取液用量过大会使生产成本提高。料液比 1:40、1:60、1:80 之间的总黄酮提取率差异不显著($P>0.05$)。故考虑最佳料液比为 1:40。

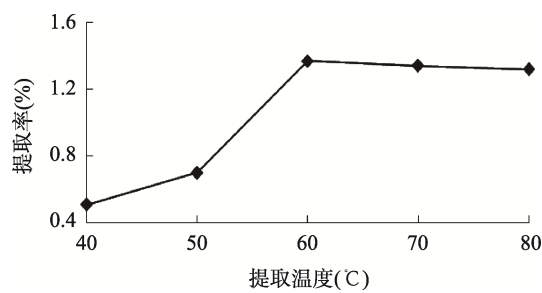


图 2 提取温度对总黄酮提取效果的影响

Fig. 2 Effects of temperature on extraction of total flavonoids

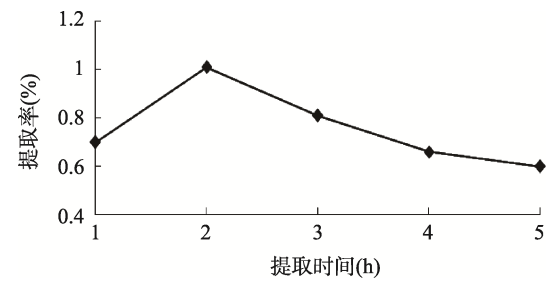


图 3 提取时间对总黄酮提取效果的影响

Fig. 3 Effects of extraction time on extraction of total flavonoids

④ 乙醇体积分数的影响

如图 4 所示，乙醇浓度在 50%~60%时，随着乙醇浓度的增大，总黄酮溶解度增大，提取率增幅较大，但是乙醇浓度超过 60%后，得率上升的趋势开始变得平缓。乙醇浓度到达 70%时，提取率最大。超过 70%后，黄酮的提取率反而下降。一方面是因为乙醇溶液浓度超过 70%后，趋于高浓，易于挥发；另一方面可能因为高浓度乙醇水溶剂易使某些醇溶性杂质、色素及亲脂性强的成分溶出，与黄酮竞争乙醇，从而导致黄酮浓度下降。因此将最佳乙醇浓度确定为 70%。

3.1.3 正交实验结果

溶剂浸提法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的正交实验(表 8)结果显示，诸因素及其交互作用对实验结果影响的主次顺序为 $D>A>C>B$ 。最佳结果组合为： $A_2B_2C_4D_3$ ，即提取时间 2 h，提取温度 60 ℃，料液比 1:40，乙醇体积分数 70%，与单因素实验结果一致。经方差分析，乙醇体积分数(D)对提取的影响有显著差异($F=11.898, P<0.05$)。

在最佳组合下进行验证实验，可得总黄酮得率为 1.48%，高于前述各实验组合。

3.2 超声波辅助法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮

3.2.1 总黄酮加标回收实验结果

空白加标回收率 $\overline{y}_0=101.09\%$ ；样品加标回收率 $\overline{y}_1=99.86\%$ 。

表 7 料液比对总黄酮提取效果的影响

Table 7 Effects of solvent-to-sample ratio on extraction of total flavonoids

料液比	1:10	1:20	1:40	1:60	1:80	1:100
$y(\%)$	0.93 ± 0.016	0.94 ± 0.047	1.00 ± 0.031	1.00 ± 0.027	0.90 ± 0.044	1.13 ± 0.056

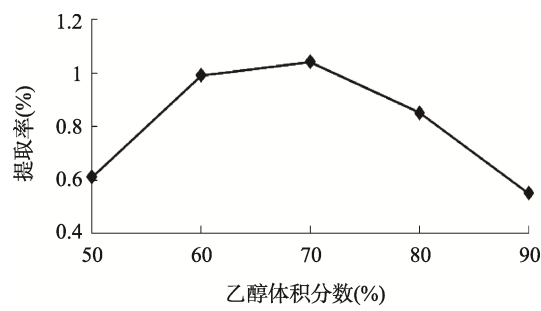


图 4 乙醇体积分数对总黄酮提取效果的影响

Fig. 4 Effects of ethanol concentration on extraction of total flavonoids

3.2.2 单因素实验结果

① 提取时间的影响

如图 5 所示, 提取时间低于 35 min 时, 随着超声

时间的延长, 黄酮的溶解度增大, 提取率增大。之后随着时间的延长, 提取率出现下降的趋势, 这可能是由于超声空化作用是黄酮活性成分降解或异构化, 导致提取物有效成分含量降低。故最佳的提取时间为 35 min。

② 提取温度的影响

如图 6 所示, 在温度低于 70 ℃时, 随着温度的上升, 提取率增大, 并在 70 ℃时达到最高点, 此时提取液黄酮的浓度也最大。之后随着温度的继续升高, 提取率出现下降的趋势, 这可能是由于此时植物细胞壁已经基本破碎, 温度过高, 超声场的聚能作用增加了黄酮类化合物之间的碰撞次数, 使黄酮类化合物或黄酮类化合物与其他物质形成新的化学键。考虑 70 ℃为最佳提取温度。

表 8 L₁₆(4⁵)正交实验结果

Table 8 Results of the L₁₆(4⁵) orthogonal experiments

实验号	A 时间(h)	B 温度(℃)	C 料液比(g/mL)	D 乙醇体积分数(%)	空白列	实验结果
1	1(1)	1(50)	1(1:10)	1(50)	1	0.89
2	1	2(60)	2(1:20)	2(60)	2	1.20
3	1	3(70)	3(1:30)	3(70)	3	1.44
4	1	4(80)	4(1:40)	4(80)	4	1.20
5	2(2)	1	2	3	4	1.28
6	2	2	1	4	3	1.20
7	2	3	4	1	2	1.25
8	2	4	3	2	1	1.29
9	3(3)	1	3	4	2	0.86
10	3	2	4	3	1	1.42
11	3	3	1	2	4	0.99
12	3	4	2	1	3	1.02
13	4(4)	1	4	2	3	1.18
14	4	2	3	1	4	1.04
15	4	3	2	4	1	1.17
16	4	4	1	3	2	1.28
K ₁	1.182	1.052	1.090	1.050	1.192	
K ₂	1.255	1.215	1.167	1.165	1.147	
K ₃	1.072	1.212	1.157	1.355	1.210	
K ₄	1.167	1.198	1.262	1.107	1.127	
R	0.183	0.163	0.172	0.305	0.083	

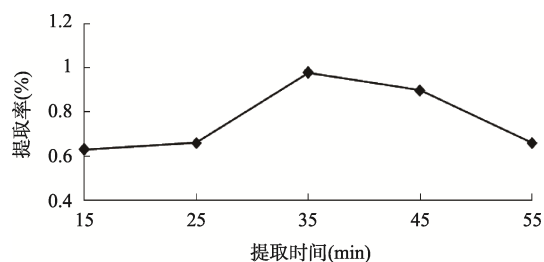


图 5 提取时间对总黄酮提取效果的影响
Fig. 5 Effects of extraction time on extraction of total flavonoids

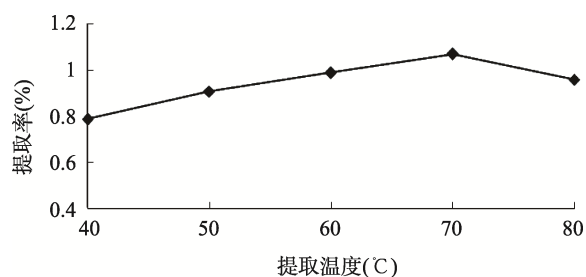


图 6 提取温度对总黄酮提取效果的影响
Fig. 6 Effects of temperature on extraction of total flavonoids

③ 料液比的影响

如表 9 所示,当料液比为 1:20 时,提取率较大。增加提取物或提取剂的用量,均会增大成本。故考虑 1:20 为最佳料液比。

④ 乙醇体积分数的影响

如图 7 所示,乙醇浓度在 50%~60%时总黄酮提取率增加的速率较快,但是乙醇浓度超过 60%后,提取率上升的幅度变得平缓。到达 70%时,提取率最大。超过 70%后,黄酮的提取率反而下降,这可能是因为超过 70%后,乙醇溶液趋于高浓,极性相对偏高,黄酮溶解度又有所降低。因此将最佳乙醇浓度确定为 70%。

3.2.3 正交实验结果

超声辅助法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的正交实验结果(表 10)表明,诸因素及其交互作用对实验结果影响的主次顺序为 $B > A > D > C$ 。最佳结果

组合为: $A_1B_4C_4D_3$, 即提取时间 25 min, 提取温度 80 °C, 料液比 1:40, 乙醇体积分数 70%。经方差分析,提取温度(B)对水提紫甘薯色素废渣总黄酮提取率有显著影响($F=10.581, P<0.05$)。

最佳组合下进行验证实验,得水提紫甘薯色素废渣总黄酮提取率为 2.97%, 高于前述各实验组合。

3.3 微波萃取法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮

3.3.1 总黄酮加标回收实验结果

空白加标回收率 $\overline{y_0}=99.71\%$; 样品加标回收率 $\overline{y_1}=102.21\%$ 。

3.3.2 单因素实验结果

① 乙醇体积分数的影响

如图 8 所示,当乙醇浓度低于 70%时,提取率随着乙醇浓度的增大而增大,70%时达到最大。超过 70%后,黄酮的提取率反而下降。因此将最佳乙醇浓度确定为 70%。

② 辐照时间的影响

如图 9 所示,水提紫甘薯色素废渣总黄酮提取率基本呈随着微波辐照时间的延长而增大的趋势,并在提取时间为 4 min 时达到最大。之后随着时间的延长,提取率稍有降低。故最佳的提取时间为 4 min。

③ 微波辐照功率的影响

从图 10 中可以看出,水提紫甘薯色素废渣总黄酮提取率基本呈随着微波功率增大而增大的趋势。但功率增大,使温度升高,样品中的淀粉出现糊化现象,提取液中杂质质量增多。选择最佳微波辐照功率为 708 W。

④ 料液比的影响

如表 11 所示,增加提取剂用量,有利于黄酮类物质由原料向浸提液扩散,增加总黄酮的浸出率,但提取液用量过大会使生产成本提高。故考虑 1:40 为最佳料液比。

表 9 料液比对总黄酮提取效果的影响
Table 9 Effects of solvent-to-sample ratio on extraction of total flavonoids

料液比	1:10	1:20	1:40	1:60	1:80	1:100
$y(\%)$	0.94 ± 0.023	0.99 ± 0.019	0.86 ± 0.027	0.80 ± 0.033	0.92 ± 0.039	0.96 ± 0.021

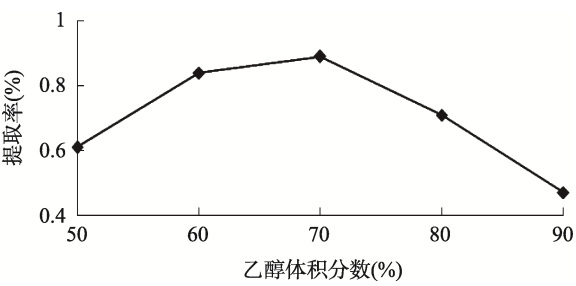


图 7 乙醇体积分数对总黄酮提取效果的影响
Fig. 7 Effects of ethanol concentration on extraction of total flavonoids

3.3.3 正交实验结果

微波萃取法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的正交实验结果(表 12)表明, 诸因素及其交互作用对实验结果影响的主次顺序为 $A > C > D > B$ 。最佳结果组合为: $A_3B_3C_3D_4$, 即乙醇体积分数 70%, 提取时间 4 min, 微波功率 708 W, 料液比 1:40, 与单因素实验结果一致。经方差分析, 乙醇体积分数(A)对水提紫甘薯色素废渣总黄酮提取率有显著影响($F=11.959, P<0.05$)。

在最佳组合下进行验证实验, 可得水提紫甘薯色素废渣总黄酮提取率为 2.82%, 高于前述各实验组合, 但提取液中有少量杂质。

表 10 $L_{16}(4^5)$ 正交实验结果
Table 10 Results of the $L_{16}(4^5)$ orthogonal experiments

实验号	A 时间(min)	B 温度(℃)	C 料液比(g/mL)	D 乙醇体积分数(%)	空白列	实验结果
1	1(25)	1(50)	1(1:10)	1(50)	1	0.95
2	1	2(60)	2(1:20)	2(60)	2	1.12
3	1	3(70)	3(1:30)	3(70)	3	1.46
4	1	4(80)	4(1:40)	4(80)	4	2.52
5	2(35)	1	2	3	4	1.28
6	2	2	1	4	3	0.96
7	2	3	4	1	2	0.95
8	2	4	3	2	1	1.58
9	3(45)	1	3	4	2	0.83
10	3	2	4	3	1	1.29
11	3	3	1	2	4	0.66
12	3	4	2	1	3	0.99
13	4(55)	1	4	2	3	0.92
14	4	2	3	1	4	0.97
15	4	3	2	4	1	0.86
16	4	4	1	3	2	1.96
K ₁	1.513	0.995	1.132	0.965	1.170	
K ₂	1.193	1.085	1.063	1.070	1.215	
K ₃	0.943	0.983	1.210	1.498	1.083	
K ₄	1.177	1.762	1.420	1.292	1.357	
R	0.570	0.779	0.357	0.533	0.274	

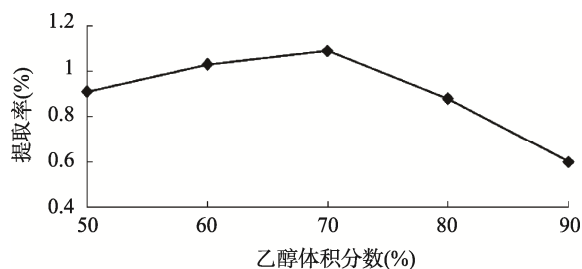


图 8 乙醇体积分数对总黄酮提取效果的影响
Fig. 8 Effects of ethanol concentration on extraction of total flavonoids

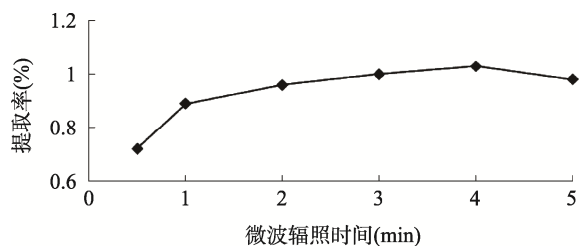


图 9 提取时间对总黄酮提取效果的影响
Fig. 9 Effects of extraction time on extraction of total flavonoids

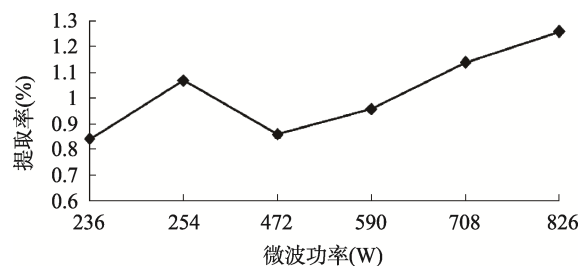


图 10 微波功率对总黄酮提取效果的影响
Fig. 10 Effects of microwave power on extraction of total flavonoids

3.4 讨论

3.4.1 水提紫甘薯色素废渣总黄酮最佳提取方法及工艺

(1) 最佳提取方法

比较溶剂浸提法、超声波辅助法、微波萃取法

提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的效果(表 13), 得溶剂浸提法、超声波辅助法、微波萃取法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的效果差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 超声波辅助法优于溶剂浸提法和微波萃取法 ($P<0.05$), 微波萃取法优于溶剂浸提法 ($P<0.05$)。综合考虑工业生产的时效性、可操作性、成本节约性, 在提取率相差不大的情况下, 微波萃取法所用时间明显短于超声波辅助法, 故确定微波萃取法为提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的最佳方法。

(2) 最佳提取次数的确定

采用微波萃取法的最佳提取条件对水提紫甘薯色素废渣粉进行总黄酮提取, 过滤得到滤液 1, 滤渣在最佳提取条件下进行二次提取, 过滤得滤液 2, 采取相同的操作分别得滤液 3, 4...n, 直到肉眼观测到滤液显示无色, 测出最大提取量, 并以此为总黄酮含量来计算各次提取率。本实验合计 6 次提取结果, 得水提紫甘薯色素剩余废渣总黄酮含量为 $3.83\text{ g} \pm 0.03\text{ g}/100\text{ g}$ 。如表 14 所示, 随着提取次数的增加, 水提紫甘薯色素废渣总黄酮提取率呈上升趋势。提取 2 次后提取率即达 91.91%, 增幅较大, 而继续增加提取次数对总黄酮提取率影响不大, 且增大成本, 故最佳提取次数为 2 次。

4 结论

比较溶剂浸提法、超声波辅助法、微波萃取法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的效果, 综合考虑工业生产的时效性、可操作性、成本节约性, 在提取率相差不大的情况下, 微波萃取法所用时间明显短于超声波辅助法, 故确定微波萃取法为提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的最佳方法。微波萃取法提取工艺: 乙醇体积分数 70%, 提取时间 4 min, 微波功率 708 W, 料液比 1:40, 提取 2 次。

表 11 料液比对总黄酮提取效果的影响
Table 11 Effects of solvent-to-sample ratio on extraction of total flavonoids

料液比	1:10	1:20	1:40	1:60	1:80	1:100
y(%)	0.83 ± 0.022	0.91 ± 0.035	0.93 ± 0.025	1.13 ± 0.018	1.01 ± 0.039	1.07 ± 0.041

表 12 L₁₆(4⁵)正交实验结果
Table 12 Results of the L₁₆(4⁵) orthogonal experiments

实验号	A 乙醇体积分数(%)	B 时间(min)	C 微波功率(W)	D 料液比(g/mL)	空白列	实验结果
1	1(50)	1(2)	1(472)	1(1:10)	1	0.81
2	1	2(3)	2(590)	2(1:20)	2	0.66
3	1	3(4)	3(708)	3(1:30)	3	1.15
4	1	4(5)	4(826)	4(1:40)	4	0.96
5	2(60)	1	2	3	4	0.78
6	2	2	1	4	3	0.99
7	2	3	4	1	2	1.07
8	2	4	3	2	1	1.06
9	3(70)	1	3	4	2	2.41
10	3	2	4	3	1	1.41
11	3	3	1	2	4	1.71
12	3	4	2	1	3	1.08
13	4(80)	1	4	2	3	0.77
14	4	2	3	1	4	0.88
15	4	3	2	4	1	1.17
16	4	4	1	3	2	0.86
K ₁	0.895	1.192	1.093	0.960	1.113	
K ₂	0.975	0.985	0.922	1.050	1.250	
K ₃	1.653	1.275	1.375	1.050	0.997	
K ₄	0.920	0.990	1.053	1.383	1.083	
R	0.758	0.290	0.453	0.423	0.253	

表 13 三种方法提取水提紫甘薯色素废渣总黄酮的效果比较
Table 13 Comparison of three methods for extraction of total flavonoids from residue of extracting pigment of *Ipamoea batatas* L.

方法	y(g/100g)	F	P
溶剂浸提法	1.48±0.026	1261.938	0.001
超声辅助法	2.97±0.053		
微波萃取法	2.82±0.036		

表 14 提取次数对水提紫甘薯色素废渣总黄酮效果的影响
Table 14 Effects of extraction degrees on extraction of total flavonoids from residue of extracting pigment of *Ipamoea batatas* L.

提取次数	1	2	3	4	5	6
累计提取量	3.04±0.17	3.52±0.11	3.67±0.04	3.72±0.03	3.77±0.05	3.83±0.03
提取率(%)	79.37	91.91	95.82	97.13	98.43	100

参考文献

- [1] 毛延妮. 植物枇杷叶黄酮类化合物提取与抑菌性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2010.
Mao YN. Loquat plant extract flavonoids and antibacterial research [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2010.
- [2] 程晓荣. 积雪草中总黄酮提取纯化及抗氧化活性的研究[D]. 沈阳: 辽宁医学院, 2011.
Cheng XR. Research on extraction and purification of total flavonoids and antioxidant activity of *Centella asiatica* [D]. Shenyang: Liaoning Medical University, 2011.
- [3] 崔钥. 穿心莲活性成分提制分析及其与生物大分子作用机理研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2011.
Cui Y. Research on common andrographis herb ctive ingredient extract to analysis with it and biological macromoleculesv interact mechanism [D]. Changsha: Hunan University, 2011.
- [4] 高莹. 紫甘薯叶多糖和黄酮的提取及抑菌作用研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2007.
Gao Y. Research on purple sweet potato extract leaf polysaccharides and flavonoids and it inhibit the growth of bacteria [D]. Tianjin: Tianjin Commerce University, 2007.
- [5] 马国财. 叉枝鸦葱总黄酮的提取工艺及其抗氧化活性研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2011.
Ma GC. Study contains extraction technology of total flavonoids of *Scorzonera divaricata* and antioxidant activity [D]. Alaer: Tarim University, 2011.
- [6] 孙永杰. 刺五加茎叶中总黄酮的提取及其抗氧化功效研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.
Sun YJ. Research on extraction and antioxidant effect of total flavonoids in *acanthopanax's* stems and leaves [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2012.
- [7] 杨解顺. 水提紫甘薯色素废渣减肥、通便保健功能评价及产品开发研究[D]. 昆明: 昆明医学院, 2011.
Yang JS. Study on the effect of weight reducing and catharsis of waste residue from extracting pigment of *Ipamoea batatas* L. in lab rats or mice and its products development [D]. Kunming: Kunming Medical University, 2011.
- [8] 杨解顺, 王琦, 吴少雄, 等. 水提紫甘薯色素废渣营养成分分析与评价[J]. 现代食品科技, 2010, 26(5): 551-553.
Yang JS, Wang Q, Wu SX, *et al.* Analysis and evaluation on nutritional components of *Ipamoea batatas* L. Residue after Pigment Extraction [J]. Mod Food Sci Technol, 2010, 26(5): 551-553
- [9] 张雪辉, 徐芳, 殷建忠, 等. 紫甘薯废渣的食用安全性评价[J]. 现代食品科技, 2011, 27(4): 476-478.
Zhang XH, Xu F, Yin JZ, *et al.* Food safety evaluation of waste residue of *Ipamoea batatas* L. after pigment extraction [J]. Mod Food Sci Technol, 2011, 27(4): 476-478
- [10] 起德丽, 王琦, 殷建忠, 等. 水提紫甘薯色素废渣对促进小鼠通便的影响[J]. 现代食品科技, 2013, 29(1): 59-62, 67.
Qi DL, Wang Q, Yin JZ, *et al.* Study on the effect of catharsis function of waste residue from extracting pigment of *Ipamoea batatas* L. in mice [J]. Mod Food Sci Technol, 2013, 29(1): 59-62, 67
- [11] 杨解顺, 尚建华, 殷建忠, 等. 水提紫甘薯色素废渣对肥胖大鼠减肥功效的研究. 现代食品科技, 2012, 28(12): 1648-1651.
Yang JS, Shang JH, Yin JZ, *et al.* Study on the effect of weight reducing of waste residue from extracting pigment of *Ipamoea batatas* L. in obese rats [J]. Mod Food Sci Technol, 2012, 28(12): 1648-1651
- [12] 殷建忠, 王琦, 吴少雄, 等. 正交实验法优化水提紫甘薯素废渣发酵酒工艺及基于模糊综合评判模型评价感官质量[J]. 食品科学, 2011, 23 (6): 131-134.
Yin JZ, Wang Q, Wu SX, *et al.* Orthogonal array optimization of wine fermentation from purple sweet potato residue after pigment extraction and sensory evaluation by fuzzy comprehensive evaluation model [J]. Food Sci, 2011, 23 (6): 131-134.
- [13] 张丽娟, 殷建忠, 李燕, 等. 紫甘薯色素的营养保健作用及其研究进展[J]. 农产食品科技, 2008, 2 (4): 59-62.
Zhang LJ, Yin JZ, Li Y, *et al.* Research advances of the pigment of purple sweet potatoes and its nutritionai and healthy function [J]. Acult Food Prod Sci Technol, 2008, 2(4): 59-62.
- [14] 王瑞欣, 张雪辉, 吴志霜, 等. 紫甘薯花色苷抗菌、抗氧化及肝损伤保护作用研究进展[J]. 农产食品科技, 2013, 7(1): 50-53, 58.
Wang RX, Zhang XH, Wu ZS, *et al.* Research development of antimicrobial, antioxidant and protective effect of injured liver of purple sweet potato anthocvanlns [J]. Acult Food Product Sci Technol, 2013, 7(1): 50-53, 58.
- [15] 高丽威. 紫心甘薯黄酮类化合物的提取纯化及抗氧化活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
Gao LW. *Ipamoea batatas* L flavonoids and antioxidant activity study of extraction and purification[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



高晴, 在读硕士研究生, 主要研究方向为营养与慢性病。
E-mail: 2763911754@qq.com



殷建忠, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为营养与食品安全。
E-mail: yinjianzhong2005@sina.com