

桑葚叶黄酮类化合物提取工艺的优化

黄琼

(福建农业职业技术学院, 福建 福州 350119)

摘要: 采用分光光度法,以芦丁为标准样品,测定桑葚叶黄酮类化合物的含量。在考察各影响因素的基础上设计正交试验,得出各因素对提取效果的影响主次顺序为料液比>提取时间>提取温度>乙醇浓度,桑葚叶黄酮类化合物的最佳提取工艺为提取温度 60℃,料液比 1:14(g/mL),乙醇浓度 70%,提取时间 90 min,提取 2 次。最佳条件下,黄酮类化合物的含量为 50.2 mg/g。

关键词: 桑葚叶;黄酮类化合物;提取工艺

Optimization of Extraction Process of Flavonoids from Mulberry Leaves

HUANG Qiong

(Fujian Vocational College of Agriculture, Fuzhou 350119, Fujian, China)

Abstract: The extraction of total flavonoids from mulberry leaves was optimized by orthogonal array design with the objective of developing a sample preparation method for the spectrophotometric determination of total flavonoids with rutin as a standard reference material. Four extraction parameters were ranked in decreasing order of importance as follows: material-liquid ratio, time, temperature and ethanol concentration. And optimum condition was confirmed by the orthogonal test. The best extraction process for extraction of mulberry leaves flavonoids was temperature 60℃, solid-liquid ratio 1 and 14 g/mL, 70% ethanol concentration, extraction time 90 min, extracting 2 times. Under the best condition, the content of flavonoids was 50.2 mg/g.

Key words: mulberry leaves; flavonoids; extraction conditions

我国是种桑养蚕最早的国家,桑树的栽培已有四千多年的历史,桑树种类、品种以及桑葚产量均位居世界首位。桑葚又名桑枣、桑仁、葚子、文武实等,桑葚营养价值丰富,是苹果的 5 倍~6 倍,是葡萄的 4 倍,被医学界誉为“21 世纪的最佳保健果品”^[1]。桑葚目前主要应用于酿酒、蜜饯和饮料中,桑葚叶主要用于养蚕,但对桑葚叶中经济成分的研究及利用较少。

黄酮类化合物是植物经光合作用产生的一大类化合物,在植物界中分布很广泛,如山楂、枸杞、沙棘、枇杷叶、银杏叶、茶叶等中均含有^[2]。黄酮类化合物是一种天然的抗氧化剂,具有降血压、降血糖、抗癌、抗衰老、治疗心血管疾病^[3]。国内外已对多种植物黄酮进行过研究^[4-7],但对桑葚叶黄酮类化合物的提取和利用鲜见报道。

本研究以桑葚叶为材料,分别探讨了乙醇提取、

作者简介:黄琼(1976—),女(汉),副教授,硕士,主要从事天然产物开发与利用方面的科研与教学工作。

水提取和微波辅助提取对桑葚叶黄酮类化合物的提取效果,并在单因素基础上,进行正交试验,最终得到桑葚叶黄酮类化合物提取的最佳工艺参数。旨在为桑葚叶的开发和利用提供理论参考,对农业发展和植物资源的合理利用具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料和设备

桑葚叶采自福建农业职业技术学院相思岭观光园,将桑葚叶洗净、晒干、粉碎、混合,原料的粒径最好在 0.5 mm~0.8 mm,最大不超过 1 mm。原料粒径过大,给提取造成困难,粒径过小,给后续分离操作带来困难。

无水乙醇、NaNO₂、AL(NO₃)₃、NaOH 均为分析纯;岛津 UVmini-1240 型紫外可见分光光度计;广州市化兴科学仪器有限公司;DHF-9055A 型电热鼓风干燥箱;上海一恒科技有限公司;ST-80 索氏提取装置;北

京赛福莱博科技有限公司;FZ102 微型植物粉碎机:北京格拉威尔科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 提取方法

乙醇提取法:用电子天平精确称取干燥至恒重的枇杷叶 6.0 g 3 份,置于平底烧瓶中,加入 70 %乙醇溶液,于 60 ℃恒温水浴锅中提取 90 min,料液比 1:10(g/mL),提取液冷却后过滤,得滤液,即为待测提取液。

1.2.2 桑葚叶总黄酮含量的测定

标准曲线的绘制:准确称取芦丁标准品 10 mg,用 30 %的乙醇溶解,然后转入 100 mL 的容量瓶,再用 30 %的乙醇稀释定容,得到浓度为 0.1 mg/mL 的芦丁标准溶液。精确吸取芦丁标准溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置于 10 mL 具塞比色管中,各加入 5 %亚硝酸钠水溶液 0.3 mL,摇匀,静置 5 min;然后分别加入 10 %的硝酸铝水溶液 0.3 mL。摇匀,静置 6 min;再分别加入 1 mol/L 的氢氧化钠 4 mL,摇匀,最后用 30 %乙醇稀释至刻度,静置 10 min。配成系列芦丁乙醇标准溶液。以试剂空白为参比,用 1 cm 吸皿在 360 nm~800 nm 波长处进行扫描,测得最大吸收峰位于 510 nm 处。依次在此波长下测定各标准溶液的吸光度,以吸光度为纵坐标,以芦丁浓度为横坐标,绘制标准曲线,用最小二乘法进行线性回归,得芦丁标准质量浓度 C (mg/mL) 与吸光度 A 之间的回归方程: $A_{\text{吸光度}} = KC_{\text{芦丁浓度}} + b$

桑葚叶总黄酮含量的测定:吸取待测提取液,稀释一定的倍数后,取 1.0 mL 稀释液置于 10 mL 具塞比色管中,按标准曲线的步骤,测得样品的吸光度,试验重复 3 次,取平均值。

根据吸光度利用标准曲线由下式求出样品黄酮类化合物含量^[9]。

$$m = C \times V_1 \times 10 / W \times V$$

式中: m 为黄酮类化合物含量,mg/g; C 为溶液中黄酮类化合物的测定浓度,mg/mL; V_1 为桑葚叶黄酮提取液总体积,mL; W 为桑葚叶干粉质量,g; V 为所取待测液体积,mL。

1.2.3 提取工艺的优化

通过预试验,确定乙醇、微波、水提取法中最优的提取方法,并在单因素试验的基础上,选取 4 个因素各较优的 3 个水平进行正交试验,采用 $L_9(3^4)$ 设计进行正交试验获取最佳工艺参数。

1.3 数据处理

采用 DPS 数据处理软件对试验数据进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 芦丁标准曲线及线性回归方程

芦丁对照品标准曲线见图 1。

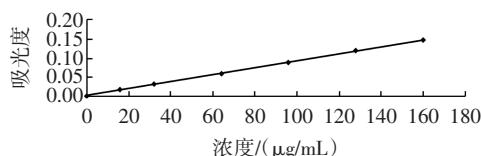


图 1 芦丁对照品标准曲线

Fig.1 The standard curve of the rutin standard sample

由图 1 可得,芦丁含量 C (mg/mL) 与吸光度 A 的标准线性回归方程: $A = 0.0009C + 0.0025$, $R^2 = 0.9998$ 。呈现良好的线性关系。

2.2 单因素试验

2.2.1 乙醇浓度对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响

设提取温度 60 ℃,提取时间 90 min,料液比 1:10 (g/mL) 的条件下,分别选择体积分数为 40 %、50 %、60 %、70 %、80 % 的乙醇溶液进行提取试验,试验测定 3 次,对所得结果取平均值,结果如图 2 所示。

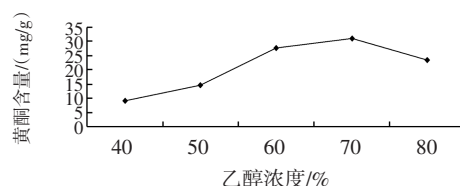


图 2 乙醇浓度对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响

Fig.2 The effect of ethanol concentration on extraction efficiency

由图 2 可见,随着乙醇浓度的增大,桑葚叶黄酮类化合物含量先增大后减少,当乙醇浓度为 70 % 时,提取液黄酮类化合物含量达到最大值,因此,乙醇浓度确定为 70 %。

2.2.2 料液比对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响

设提取温度 60 ℃,提取时间 90 min,乙醇浓度为 70 % 的条件下,分别选择料液比为 1:8、1:10、1:12、1:14、1:16 (g/mL) 进行提取试验,试验测定 3 次,对所得结果取平均值,结果如图 3 所示。

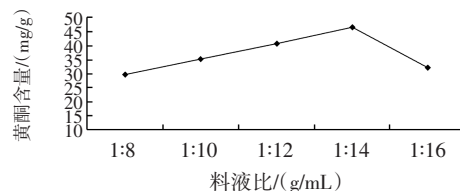


图 3 料液比对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响

Fig.3 The effect of different material-liquid ratio on extraction efficiency

由图 3 可知,随着料液比的增大,提取液黄酮类化合物含量增加,当料液比为 1:14 (g/mL) 时,黄酮类化

合物含量达到最大值。因此,料液比为 1:14(g/mL)。

2.2.3 提取时间对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响

设提取温度为 60℃,料液比为 1:14(g/mL),乙醇浓度为 70%的条件下,分别选择提取时间为 60、75、90、105、120 min 进行提取试验,试验测定 3 次,对所得结果取平均值,结果如图 4 所示。

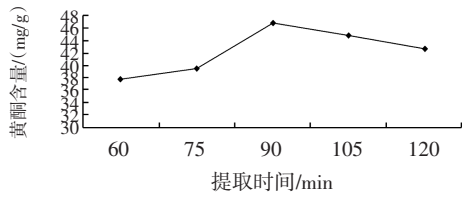


图 4 提取时间对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响
Fig.4 The effect of different time on extraction efficiency

由图 4 可知,随着提取时间的延长,提取液黄酮类化合物含量先增加后减少,提取时间为 90 min 时,黄酮类化合物含量达到最大值。因此提取时间确定为 90 min。

2.2.4 提取温度对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响

设提取时间为 90 min,料液比为 1:14(g/mL),乙醇浓度为 70%的条件下,分别选择提取温度为 40、50、60、70℃进行提取试验,试验测定 3 次,对所得结果取平均值,结果如图 5 所示。

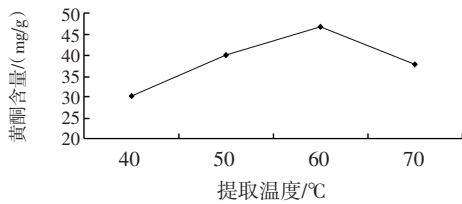


图 5 提取温度对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响
Fig.5 The effect of different temperature on extraction efficiency

由图 5 可知,提取液黄酮含量随着提取温度先增大后减少,当提取温度为 60℃时,黄酮类化合物含量最高,因此,提取温度为 60℃。

2.3 正交试验

根据单因素试验结果,选用 $L_9(3^4)$ 正交表,选取乙醇浓度、料液比、提取时间、提取温度为考察因素,以黄酮类化合物含量为判断指标,对桑葚叶黄酮类化合物提取工艺进行正交试验。各试验测定 3 次,取平均值。正交试验设计及结果见表 1。

由表 1 极差分析得出,各种因素对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响主次顺序依次为料液比(B)>提取时间(D)>提取温度(C)>乙醇浓度(A)。因此,桑葚叶黄酮类化合物提取的最佳工艺组合为: $A_2B_3C_2D_1$,即提取温度 60℃,料液比 1:14(g/mL),乙醇浓度 70%,提取时间 90 min。在此条件下,提取液黄酮类化合物的含

表 1 正交试验方案及结果

试验号	因素				黄酮类化合物含量/(mg/g)
	A 乙醇浓度/%	B 料液比/(g/mL)	C 提取温度/℃	D 提取时间/min	
1	60	1:10	50	90	33.1
2	60	1:12	60	105	40.9
3	60	1:14	70	120	36.5
4	70	1:10	60	120	30.2
5	70	1:12	70	90	40.2
6	70	1:14	50	105	44.6
7	80	1:10	70	105	30.1
8	80	1:12	50	120	38.0
9	80	1:14	60	90	45.3
K_1	110.500	93.400	115.700	118.600	
K_2	115.000	119.100	116.400	115.600	
K_3	113.400	126.400	106.800	104.700	
k_1	36.833	31.133	38.567	39.533	
k_2	38.333	39.700	38.800	38.533	
k_3	37.800	42.133	35.600	34.900	
优水平	A_2	B_3	C_2	D_1	
R_j	1.500	11.000	3.200	4.633	
主次顺序	$B>D>C>A$				

量最高。
2.4 验证试验
由上述正交设计可知,试验结果较好的方案为 $A_2B_3C_2D_1$,而正交表中没有该方案组合,为了进一步考察上述提取工艺结果的准确性,按照最优组合 $A_2B_3C_2D_1$ 进行 3 次重复试验,结果见表 2 所示。

表 2 桑葚叶黄酮类化合物提取试验结果
Table 2 Validation results of flavonoids extraction

提取次数	总黄酮含量/(mg/g)	平均总黄酮含量/(mg/g)
1	46.9	47.0
2	47.1	
3	46.9	

由表 2 可知,在 $A_2B_3C_2D_1$ 条件下,黄酮总含量均高于表 2 中每 1 项试验结果,故 $A_2B_3C_2D_1$ 为最佳选择。即提取温度 60℃,料液比 1:14(g/mL),乙醇浓度 70%,提取时间 60 min。在此条件下,提取液黄酮类化合物的含量最高,为 47.0 mg/g。

2.5 提取次数对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响

设提取时间为 90 min,料液比为 1:14(g/mL),乙醇浓度为 70%的条件下,提取温度为 60℃,分别提取 1 次、2 次、3 次,试验测定 3 次,对所得结果取平均值,结果如图 6 所示。

调配乳酸菌发酵豆类饮料的研制

李次力,张根生,范媛,程健博

(哈尔滨商业大学 食品工程学院,黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:采用乳酸菌对红芸豆、大豆进行发酵,利用发酵豆类过滤后的发酵液研制发酵饮料;试验采用单因素和正交试验方法,通过对饮料成品进行感官评价确定饮料的最佳配方。试验结果表明,对乳酸菌发酵豆类饮料感官品质影响最大的因素为发酵液与脱脂牛乳比例,其次是复合稳定剂;最佳配方为:脱脂牛乳与豆类发酵液比例为1:1(体积比)、稳定剂为0.06%、蔗糖酯为0.04%、复合甜味剂为0.10%、蔗糖为0.4%。

关键词:乳酸菌;红芸豆发酵液;大豆发酵液;调配;饮料

Preparation of Mixed Fermented Bean Beverage with Lactic Acid Bacteria

LI Ci-li, ZHANG Gen-sheng, FAN Yuan, CHENG Jian-bo

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, Heilongjiang, China)

Abstract: The red kidney bean and soybean were fermented with lactic acid bacteria. The fermentation liquor which had been filtered would be prepared to beverage. Sensory evaluation index was used to determine the process parameters through single factor experiment and orthogonal test. The optimal results were as follows: the

基金项目:黑龙江省应用技术与开发计划项目(GC13B206);哈尔滨市科技攻关计划项目(2013AA6BN009)

作者简介:李次力(1963—),男(汉),教授,硕士,研究方向:农产品及其副产物的深加工。

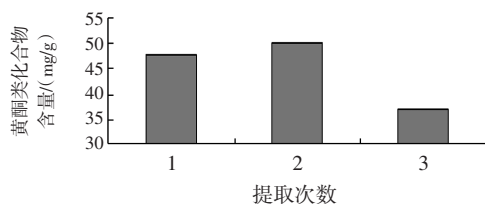


图6 提取次数对提取桑葚叶黄酮类化合物的影响

Fig.6 The effect of extraction times on extraction efficiency

由图6可知,黄酮类化合物含量随提取次数增加先增加后减少,提取2次,黄酮类化合物含量最大,说明提取2次已基本提取完全,若增加提取次数不但黄酮类化合物含量变化不大,还会导致大量杂质溶出,所以提取以2次为宜。

3 结论

乙醇法提取桑葚叶黄酮类化合物的各影响因素主次顺序依次为料液比>提取时间>提取温度>乙醇浓度。最佳工艺为提取温度60℃,料液比1:14(g/mL),乙醇浓度70%,提取时间90min,提取2次。在此条件

下,黄酮类化合物的含量最高,为50.2 mg/g。

参考文献:

- [1] 宋喜云,任大文,任术琦.桑葚营养保健功能与综合利用[J].中国食物与营养,2004(8):9-11
- [2] 孔令明,李芳,苏兴成.枸杞中黄酮类化合物的提取研究[J].食品研究与开发,2008,29(8):45-47
- [3] 郭庆彬,刘邻渭,刘盼红,等.芦苇叶中黄酮类化合物提取工艺的研究.食品研究与开发,2007,28(12):59-62
- [4] 张辉,乔勇进,戚文元.大麦苗总黄酮提取工艺的优化[J].食品与发酵工业,2013,39(8):238-241
- [5] 王宗成,王多,王凯,等.响应面法优化喜树叶总黄酮提取工艺的优化[J].食品工业,2014,35(2):80-82
- [6] 古丽巴哈尔·阿巴拜克力.新疆琐琐葡萄叶总黄酮提取工艺及抗氧化活性[J].食品科学,2012,34(12):104-108
- [7] 黄琼,谢向机.超声波辅助提取枇杷花黄酮类化合物工艺的优化[J].食品工业,2012(1):8-12
- [8] 陈欲云,杨跃寰,蒋斌,等.芹菜总黄酮提取工艺的优化[J].四川理工学院学报(自然科学版),2013,26(5):19-22

收稿日期:2015-01-09