

# 紫叶稠李叶片中黄酮的提取工艺优化

何映霞<sup>1,2</sup>, 张来<sup>1,2</sup>, 沈昱翔<sup>1,2</sup>, 龙菊<sup>1,2</sup>

(1. 安顺学院 化学与生物农学系, 贵州 安顺 561000; 2. 贵州省教育厅功能材料与资源化学特色重点实验室, 贵州 安顺 561000)

**摘要:**以经过清洗、烘干、粉碎并且过筛的紫叶稠李叶粉末为原料, 利用乙醇提取法, 考察了乙醇浓度、提取时间、液料比、温度 4 个单因素对紫叶稠李叶黄酮提取率的影响, 并在单因素试验的基础上进行了响应面实验, 研究不同提取条件对紫叶稠李叶中总黄酮含量的影响。结果表明: 紫叶稠李叶中黄酮提取的最佳工艺条件: 乙醇浓度为 70%, 提取时间为 80 min, 液料比为 40:1 mL/g, 提取温度为 60℃。

**关键词:**紫叶稠李叶; 提取; 黄酮; 响应面

**中图分类号:**TS 255.36 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)16-0155-05

紫叶稠李(*Padus virginiana* cv)属蔷薇科稠李属高大落叶乔木, 树高可达 20~30 m 左右, 原产于北美洲, 是一种速生植物。该树种从春天的粉红色初芽, 到展叶后绿色的枝叶, 从夏季的初红到夏季紫红色的树冠, 其叶色变化极为丰富。它自然开张的树形, 繁茂的叶片, 紫红色的果实, 都具有很高的欣赏价值。该树种的耐寒、耐旱、耐瘠薄能力, 以及其抗高温、抗病虫害的特性, 使其成为北方地区优良的园林彩叶树种之一<sup>[1]</sup>。同时, 紫叶稠李叶片中含有丰富的黄酮类化合物(Flavonoids)。此类化合物因分子中含有多电子的羟基部分, 使其具有良好的抗氧化性能, 是一种天然抗氧化剂<sup>[2-3]</sup>, 具有清除人体中超氧离子自由基、抗衰老和增加机体免疫力的生理活性作用。同时, 黄酮类化合物还具有降血压、降血脂、增进冠状动脉血流量、软化血管和防治冠心病、心绞痛以及抗肿瘤等作用<sup>[4]</sup>。

目前从植物中提取黄酮类化合物并用于食品和医药工业成为人们关注的焦点。从紫叶稠李叶中提取黄酮类化合物的研究已有报道, 并在食品工业上用作天然着色剂、抗氧化剂和功能性食品的原料。而对提取条件进行优化寻求最佳工艺却鲜见报道。而有关紫叶稠李叶中黄酮类化合物提取方面的研究鲜有报道。为充分开发利用这一植物资源, 该试验采用乙醇-水浸提法<sup>[5]</sup>对紫叶稠李叶片总黄酮的含量进行了提取分析, 确定最佳提取条件<sup>[6-7]</sup>, 以期为进一步开发利用该资源提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试紫叶稠李叶采自江苏省沐阳县。

### 1.2 试验方法

1.2.1 原料的预处理 紫叶稠李叶→去杂处理→清洗→烘干→磨粉。

1.2.2 黄酮的提取 准确称取 0.5 g 样品置于离心管中, 按一定的料液比加入一定浓度的乙醇溶液作为提取剂, 放入水浴锅中, 在一定的恒温下浸提一定的时间后, 离心, 取上清液备测<sup>[8]</sup>。

1.2.3 芦丁标准曲线的制作及回归方程的建立 精确称取芦丁标准品 10 mg, 置于 25 mL 容量瓶中, 加 80% 乙醇溶解定容。用移液枪准确移取 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL 的标准溶液于 10 mL 的容量瓶中, 先加 5% 的亚硝酸钠溶液 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min, 再加 10% 的硝酸铝溶液 0.3 mL, 摇匀, 再放置 6 min, 加 4% 的 NaOH 4 mL, 各用蒸馏水稀释至 10 mL, 放置 15~20 min, 在波长 510 nm 处测定吸光度, 以无水乙醇做参比。由芦丁制得的标准曲线<sup>[9]</sup>的回归方程为:  $y=12.786x-0.0173, R^2=0.9979$ 。

1.2.4 单因素试验<sup>[5]</sup> 乙醇浓度对黄酮含量的影响: 称取紫叶稠李叶粉末, 在 70℃下, 液料比分别为 40:1, 乙醇浓度分别为 40%、50%、60%、70%、80% 条件下提取 1.5 h, 测定黄酮的含量, 选择最佳的乙醇浓度。提取时间对黄酮含量的影响: 称取紫叶稠李叶粉末, 在 70℃下, 乙醇浓度为 50%, 液料比分别为 40:1, 设提取时间分别为 20、40、60、80、100 min, 测定黄酮的含量, 选择最佳的提取时间。料液比对黄酮含量的影响: 称取紫叶稠李叶粉末, 在 70℃下, 乙醇浓度为 50%, 液料比分别为 40:1、50:1、60:1、70:1、80:1 mL/g 条件下提取 80 min,

**第一作者简介:**何映霞(1983-), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事中草药研究工作和生物学教学工作。E-mail:1354558000@qq.com。

**基金项目:**贵州省中药现代化专项资助项目[黔科合中药字(2011)5053号]。

**收稿日期:**2013-04-08

选择最佳液料比。提取温度对黄酮含量的影响:称取紫叶稠李叶粉末,在乙醇浓度为50%,液料比为70:1,温度分别在40、50、60、70、80℃条件下浸提80 min,选择最佳提取温度。

1.2.5 响应面优化试验 在单因素试验的基础上,对液料比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)进行响应面优化试验,确定紫叶稠李叶黄酮的最佳提取工艺条件。因素水平表见表1。

表1 响应面优化试验因素水平

因素	1	2	3
液料比/mL·g <sup>-1</sup>	60:1	70:1	80:1
提取温度/℃	50	60	70
提取时间/min	60	80	100

### 1.3 项目测定

紫叶稠李叶中总黄酮含量的测定:量取1.0 mL样品溶液于10 mL的比色管中,先加5%的亚硝酸钠溶液0.3 mL,摇匀,放置6 min,再加10%的硝酸铝溶液0.3 mL,摇匀,再放置6 min,最后加4%的NaOH 4 mL,各用蒸馏水稀释至10 mL,放置15~20 min,在波长510 nm处测定吸光度,试验设3次重复,取平均值,按计算公式计算黄酮含量。 $P=c \times v \times n/m$ ,式中,P为总黄酮类物质含量,mg/g;c为从回归方程计算得样品中黄酮类物质质量浓度,mg/mL;n为稀释倍数;v为提取液总体积,mL;m为称取样品的质量,g。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

2.1.1 乙醇浓度对黄酮含量的影响 由图1可见,随着乙醇浓度的升高,紫叶稠李叶中黄酮的提取量呈上升趋势,在乙醇浓度为50%时提取量达到最高,随着乙醇浓度继续升高,黄酮的提取量不再增加,略有下降直至平缓。因此确定最佳提取的乙醇浓度为50%。

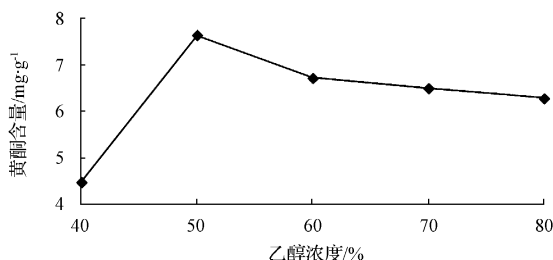


图1 乙醇浓度对紫叶稠李叶中黄酮提取率的影响

2.1.2 提取时间对黄酮含量的影响 由图2可见,在提取时间为20~60 min时,紫叶稠李叶中黄酮的提取量随时间的增加而增加,且升高幅度较为明显,之后趋于平缓,80 min时含量达到最高。但随着提取时间的进一步延长,黄酮的提取量反而略有下降。因此确定最佳提取时间为80 min。

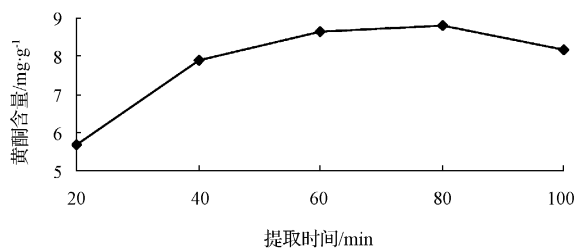


图2 提取时间对紫叶稠李叶中黄酮提取率的影响

2.1.3 液料比对黄酮含量的影响 由图3可见,随着液料比的增加,紫叶稠李叶中黄酮的提取量增大,当液料比达到70:1 mL/g时,黄酮的提取量达到最高。之后,随着液料比继续增加,黄酮提取量反而下降。综合考虑后确定液料比在70:1 mL/g时提取效果较佳。

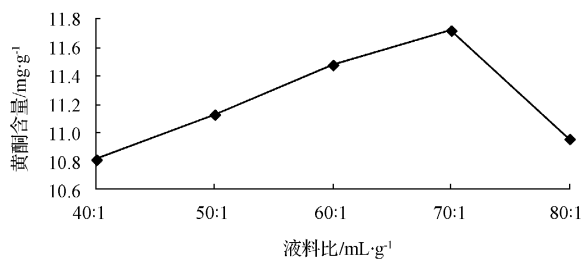


图3 液料比对紫叶稠李叶中黄酮提取率的影响

2.1.4 提取温度对黄酮含量的影响 由图4可见,随着温度的升高,紫叶稠李叶中黄酮的提取量呈上升趋势,50~60℃之间升高幅度较明显,并在60℃时提取量达到最高。当温度继续升高时,黄酮提取量反而下降,这可能与黄酮的热稳定性有关。因此,提取温度选取60℃为宜。

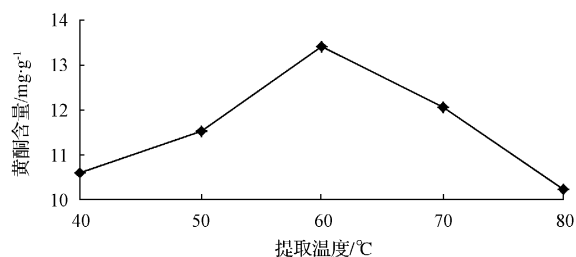


图4 温度对紫叶稠李叶中黄酮提取率的影响

### 2.2 响应面优化法提取黄酮的最佳工艺

紫叶稠李叶中黄酮的含量可用回归方程表示为: $Y=13.10420+0.010625A+0.83575B+0.50438C-2.26085A^2-1.48860B^2-1.65435C^2-0.41075AB-0.60350AC-0.31525BC, R^2=0.9876$ 。由上述回归模型中求最优后所得条件为:液料比为70:1 mL/g,提取温度为60℃,提取时间为80 min。黄酮的最大提取量为13.2514 mg/g(表2)。

表 2 响应面优化试验试验设计及结果

试验号	因素			黄酮含量 /mg·g <sup>-1</sup>
	A 液料比/mL·g <sup>-1</sup>	B 提取温度/℃	C 提取时间/min	
1	60:1	70	80	10.380
2	70:1	60	80	13.045
3	70:1	60	80	13.183
4	70:1	50	60	8.149
5	70:1	70	60	10.784
6	80:1	60	60	9.225
7	70:1	70	100	11.143
8	80:1	60	100	9.046
9	60:1	60	100	10.360
10	60:1	50	80	8.200
11	70:1	60	80	12.976
12	70:1	60	80	13.045
13	70:1	50	100	9.769
14	80:1	70	80	9.688
15	70:1	60	80	13.272
16	60:1	60	60	8.125
17	80:1	50	80	9.171

当  $P$  值小于 0.05 时,即表示该项指标显著<sup>[10-11]</sup>。从表 3 可以看出,对总黄酮提取率所建立的回归模型是显著的。并且该模型的  $R^2=0.9876$ ,说明此模型与实际试验拟合较好,试验失拟项小,因此可用该回归方程代替试验真实点对试验结果进行分析<sup>[12]</sup>。同时,由  $F$  值的大小可以推断,在所选择的试验范围内,3 个因素影响黄酮提取率的排序为  $B>C>A$ ,即提取温度>提取时间>液料比。

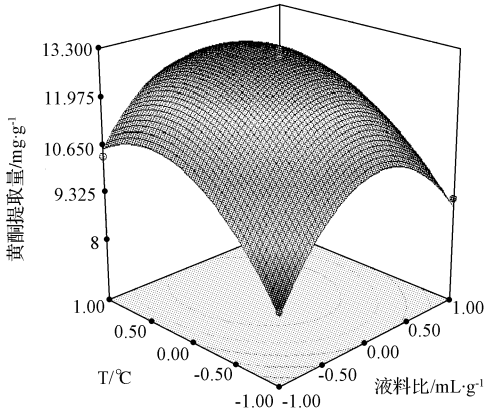


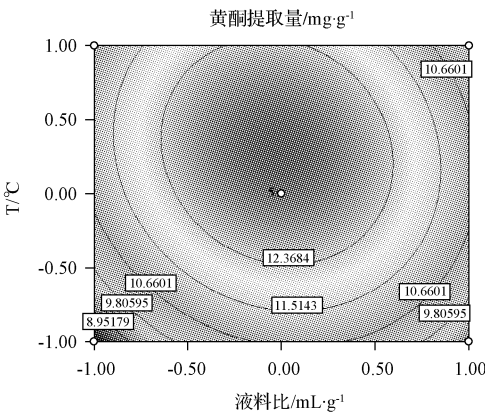
图 5 液料比和提取温度对紫叶稠李叶总黄酮提取影响的曲面图和剖面图

由图 6 可以看出,在所选提取条件下黄酮提取率存在最大值。在液料比和提取时间较大时,黄酮提取率较高,这是因为溶剂量的增大可以使黄酮在溶剂中的溶解度增大,从而使更多的黄酮溶解于溶剂中。相应的,提取时间的升高能使提取更充分。然而,当时间过长、液料比太大时,提取率反而下降,这是因为太长的提取时间可能引起黄酮的分解,太大的液料比引起后期处理时损失增多,反而不利于黄酮提取率的提高。

表 3 方差分析

方差来源	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	$F$ 值 $F$ value	$P$ 值 $P$ value
Model	57.28	9	6.36	142.24	<0.0001
A	9.031E-004	1	9.031E-004	0.020	0.8910
B	5.59	1	5.59	124.88	<0.0001
C	2.04	1	2.04	45.48	0.0003
A <sup>2</sup>	21.52	1	21.52	480.97	<0.0001
B <sup>2</sup>	9.33	1	9.33	208.51	<0.0001
C <sup>2</sup>	11.52	1	11.52	257.53	<0.0001
AB	0.67	1	0.67	15.08	0.0060
AC	1.46	1	1.46	32.56	0.0007
BC	0.40	1	0.40	8.88	0.0205
残差	0.31	7	0.045		
失拟值	0.26	3	0.085	5.89	0.0598
误差	0.058	4	0.014		
总变异	57.59	16			

由图 5 可以看出,在所选提取条件下黄酮提取率存在最大值。在液料比和提取温度较大时,黄酮提取率较高,这是因为溶剂量的增大可以使黄酮在溶剂中的溶解度增大,从而使更多的黄酮溶解于溶剂中。同样提取温度的升高有利于分子的热运动速度的提高,从而使更多的黄酮分子从紫叶稠李叶中释放出来。然而当温度过高、液料比太大时,提取率反而下降,这是因为过高的温度可能引起黄酮的分解,太大的液料比引起后期处理时损失增多,反而不利于黄酮提取率的提高。



由图 7 可以看出,在所选提取条件下黄酮提取率存在最大值。在提取温度和提取时间较大时,黄酮提取率较高,这是因为提取温度的升高有利于分子的热运动速度的提高,从而使更多的黄酮分子从紫叶稠李叶中释放出来。相应的,提取时间的升高能使提取更充分。然而,当温度过高、时间太长时,提取率反而下降,这是因为太长的提取时间和提取温度可能引起黄酮的分解,反而不利于黄酮提取率的提高。



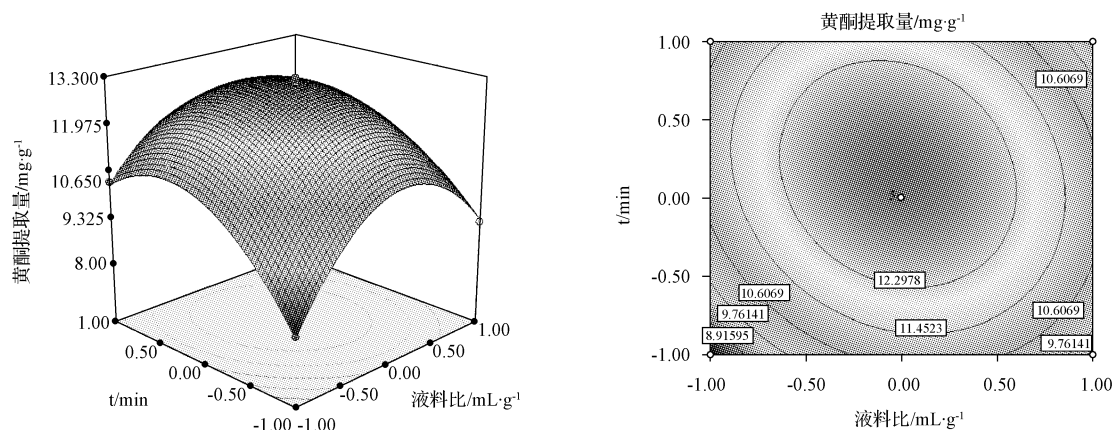


图6 液料比和提取时间对紫叶稠李叶总黄酮提取影响的曲面图和剖面图

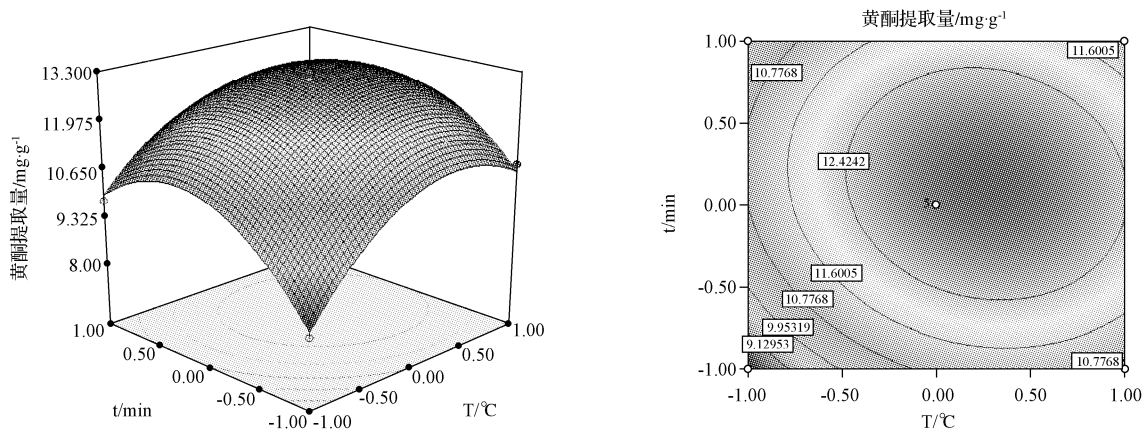


图7 提取温度和提取时间对紫叶稠李叶总黄酮提取影响的曲面图和剖面图

### 3 结论

该试验通过 Box-Behnken 的中心组合设计响应面法建立了 3 个影响因素(液料比、提取温度、提取时间)相互作用的数学模型,优化得到了紫叶稠李叶中黄酮的最优提取工艺参数为液料比 70 : 1 mL/g,提取温度 60℃,提取时间 80 min。在此优化条件下,紫叶稠李叶中黄酮的提取量可达 13.272 mg/g,该结果对今后开发利用紫叶稠李叶中的总黄酮具有一定的参考意义。

#### 参考文献

- [1] 曹海军. 紫叶稠李在园林中的应用[J]. 农业知识, 2005(5): 39.
- [2] 刘寿永. 百病中医药膳疗法[M]. 北京: 学苑出版社, 1992.
- [3] 张广成, 方思鸣. 葛根异黄酮的抗氧化作用[J]. 中药材, 1997, 20(7): 358-360.
- [4] 李久长, 马挺军, 刘诚. 复方山楂黄酮的提取及调脂研究[J]. 食品科学, 2006, 27(3): 216-218.
- [5] 罗伟强, 李济权, 黄梅珍. 花生壳中总黄酮含量的测定[J]. 西部粮油科技, 2002, 27(2): 48-49.
- [6] 蔡健, 王薇. 黄芩叶中总黄酮含量的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 194-196.
- [7] 彭冬英, 高荫瑜, 周永兵. 蜂蜡中黄酮提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2006(1): 118-119.
- [8] 吴春, 陆海燕, 李健. 葡萄籽原花青素的提取工艺研究[J]. 食品工业, 2004(3): 22-23.
- [9] 杨志岩, 尹树花, 白明, 等. 油松花粉中总黄酮提取的响应面优化[J]. 现代食品科技, 2008(3): 253-256.
- [10] Gitelson A A, Kaufman Y J, Stark R. Novel algorithms for remote estimation of vegetation fraction[J]. Remote Sensing of Environ, 2002, 80(1): 76-87.
- [11] Merzlyak M N, Solovchenko A E, Smagin A I. Apple flavonoids during fruit adaptation to solar radiation: spectral features and technique for nondestructive assessment[J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(2): 151-160.
- [12] 张立明, 张霞, 郑传莉, 等. 响应面法优化三叶青总黄酮提取工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 176-179.

# 不同包装方式对冬枣储藏品质的影响

张红梅, 张桂然, 霍玉琴, 张亚男, 王 君

(沧州师范学院 生命科学系, 河北 沧州 061000)

**摘 要:**以冬枣为试材,在低温冷藏库(-1~0℃)冷藏条件下,研究了微孔保鲜膜、聚乙烯打孔袋、聚氯乙烯打孔袋包装对冬枣生理及贮藏保鲜效果的影响。定期统计其转红指数和腐烂指数,同时测定失重率、硬度、维生素含量、含糖量、含酸量等指标的变化。结果表明:微孔保鲜膜能明显抑制冬枣转红指数的升高,维持较高的硬度,延缓果实维生素 C 含量的下降,可滴定酸含量明显高于其它处理。微孔保鲜膜结合低温冷藏库保鲜冬枣,能很好地保持冬枣固有的品质,保鲜效果极佳。

**关键词:**冬枣;微孔保鲜膜;生理指标;果实品质;保鲜效果

**中图分类号:**S 665.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)16-0159-04

冬枣(*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao)独产中国,是目前公认品质最好的鲜食枣品种<sup>[1]</sup>,其营养丰富,水分含量高,果面光滑,皮薄质脆,富含 19 种人体所需的氨基酸和多种维生素<sup>[2]</sup>,具有很高的营养价值和保健功效,被称之为“活维生素丸”<sup>[3]</sup>。目前,冬枣在中国环渤海湾地区已经形成了较大规模的商品化栽培,主要分布于河北省沧州、山东省德州和滨州等地。未来几年,冬枣的栽种面积和产量还会大幅度增加<sup>[4]</sup>。但冬枣采后极易失水、皱缩、酒软和腐烂,如果在常温下不做任何处理,2~3 d 之后果肉就会出现褐软,维生素 C 含量迅速降低,失去其鲜销价值,因此冬枣上市期很短。目前,冬枣的贮藏方式主要是普通保鲜膜聚氯乙烯打孔袋结合

低温冷藏库储藏。但由于冬枣果实与果实之间的间隙小,气体交换差,一般贮藏 3 个月,腐烂率即达到 20%左右。近年来,关于冬枣贮藏保鲜方面的研究很多,但仍不能完全解决其严重腐烂问题。

微孔保鲜膜<sup>[5]</sup>是国家农产品保鲜研究中心最新研制的一种高透气性与高透湿性气调保鲜膜,上有许多微孔,孔径约 0.01~10.00 μm。纪淑娟等<sup>[6]</sup>、班兆军等<sup>[7]</sup>利用该技术,通过对鸭梨和金陵大枣储藏方面的研究发现,与普通 PE 膜包装和单果纸包装相比,微孔保鲜膜包装在枣果储藏方面更利于保持枣果的硬度和维生素 C 含量,延缓衰老进程,在贮藏保鲜方面具有明显的优势。但是,微孔保鲜膜结合低温冷藏库贮藏冬枣的研究还处于空白阶段。该试验首次将微孔保鲜膜技术应用于沧州冬枣储藏,通过微孔保鲜膜、聚乙烯打孔袋、聚氯乙烯打孔袋结合低温冷藏库贮藏冬枣的对比性研究,分不同阶段对冬枣的外观品质、转红指数、腐烂指数、硬度、维

**第一作者简介:**张红梅(1966-),女,河北沧州人,本科,副教授,研究方向为果品储藏与加工技术。E-mail:czsfxzyhm@163.com.

**收稿日期:**2013-04-08

## Optimization of Extraction Process of Flavonoids from *Padus virginiana* Leaves

HE Ying-xia<sup>1,2</sup>, ZHANG Lai<sup>1,2</sup>, SHEN Yu-xiang<sup>1,2</sup>, LONG Ju<sup>1,2</sup>

(1. Department of Chemistry and Bio-Agronomy, Anshun College, Anshun, Guizhou 561000; 2. Guizhou Special and Key Laboratory of Material Science and Resource Chemistry, Anshun, Guizhou 561000)

**Abstract:** Taking *Padus virginiana* leaves powder after cleaning, drying, crushing and sieving as raw material, the effect of ethanol concentration, extraction time, solid-liquid ratio, temperature on the extraction rate of flavonoids in *Padus virginiana* leaves were studied, and on the basis of single factor experiment, the effect of different extraction conditions on the extraction rate of flavonoids in *Padus virginiana* leaves were studied using response surface experiment. The results showed that the optimization technological conditions of extraction process of flavonoids in *Padus virginiana* leaves were: ethanol concentration 70%, extraction time 80 min, ratio of liquid to solid 40:1 mL/g, extraction temperature 60℃.

**Key words:** *Padus virginiana* leaves; extraction; flavonoids; response surface