

# 枇杷叶黄酮类化合物的水浸提工艺研究

林启训

(福建农林大学食品科学学院, 福州 350002; 福建省农产品加工工程技术研究中心, 福州 350002)

**摘要:** 以提高水提液中黄酮类化合物浓度为目的, 通过 4 组单因素试验和均匀试验研究了枇杷叶黄酮类化合物的最佳水提工艺。结果表明: 在原料细度 1.2 mm × 1.3 mm, 料液比 34 g/250 mL 条件下, 枇杷叶黄酮类化合物的最优水提工艺条件为水的 pH 值 8.0, 水提温度 100 ℃, 水提时间 105 min。按优化工艺条件水提的产品黄酮类化合物浓度 0.979 mg/mL。

**关键词:** 枇杷叶; 黄酮类化合物; 水浸提

**中图分类号:** S667.3; Q944.58

**文献标识码:** B

**文章编号:** 1002-6819(2005)07-0190-04

林启训 枇杷叶黄酮类化合物的水浸提工艺研究[J]. 农业工程学报, 2005, 21(7): 190-193

L in Q ixun Water extraction of flavonoids in loquat leaves[J]. Transactions of the CSAE, 2005, 21(7): 190-193 (in Chinese with English abstract)

## 0 引言

枇杷叶为蔷薇科植物枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb) Lindl. 的叶, 含有丰富的黄酮类化合物, 具有良好的抗炎和止咳作用<sup>[1]</sup>, 临床常用于治疗急、慢性呼吸道疾病<sup>[2]</sup>。目前大多数的枇杷落叶一般作为垃圾处理, 不仅造成资源浪费, 而且污染环境, 所以对该资源的利用具有良好的社会效益和经济效益。黄酮类化合物在生理学、医学和营养学上有较高的应用价值, 且因其具毒性低、药理活性强等特点而倍受关注。从植物的叶中提取黄酮类化合物已成为国内外研究的热门课题<sup>[3]</sup>, 其中有枫叶<sup>[4]</sup>、龙柏叶<sup>[5]</sup>、槐花<sup>[6]</sup>、山楂叶<sup>[7]</sup>、金银木叶<sup>[8]</sup>、荷叶<sup>[9]</sup>等, 提取工艺和方法也不尽相同, 主要有水提法、有机溶剂提取法、微波法、超声波法、酶解法、大孔树脂吸附法、超临界萃取法及组合法等。本研究选用水提法进行枇杷叶黄酮类化合物提取, 具有工艺成本低、安全, 适合工业化大生产<sup>[10]</sup>, 且含有较多的无机盐、蛋白质、糖类及人体所需氨基酸等营养素的水提液, 可替代部分食用水直接制作块状食品(如口含片等)或经适当处理(如浓缩、超滤等)后作为软饮料等食品工业产品的营养补充; 试验选用枇杷鲜叶(即将脱落的树叶)为试验材料, 以节省成本, 降低能耗为宗旨, 提高水提液中黄酮类化合物浓度为目的, 进行了主因素分析和优化, 对枇杷叶黄酮类化合物的应用及水提的产业化与合理化作业有着重要的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

试验用枇杷叶(采自福建农林大学园艺场“解放钟”枇杷树); 芦丁(生化试剂); 硝酸铝、亚硝酸钠(分析纯)。电子天秤(BS110S型, 北京赛多利斯天平有限公司), 数显恒温水浴锅(HH-4型, 上海精宏实验设备有限公司), 紫外/可见分光光度计(752型, 上海光谱仪器有限公司), 等。

### 1.2 材料处理

枇杷叶取回后用清水清洗, 除去尘土和叶背面的绒毛, 晾干后根据试验方案中原料的细度要求, 按先横后纵的顺序进行切分后待用。

### 1.3 测定指标与分析方法

1) 标准曲线的制作 以芦丁为标样, 参照文献<sup>[11]</sup>, 用硝酸铝亚硝酸钠比色法, 得芦丁标准溶液浓度  $Y$  (mg/mL) 与其光谱吸收比  $\alpha$  关系间的标准方程为:  $\alpha = 0.2469Y + 0.0195$ , 相关系数  $r = 0.9987$ 。

2) 枇杷叶水提液中黄酮类化合物浓度测定 准确吸取待测枇杷叶水提液 0.2 mL 置 10 mL 的具塞试管中, 以下操作同标准曲线的制作步骤。在 510 nm 处测定水提液的光谱吸收比  $\alpha$ , 取三次重复试验的平均值由标准方程计算出水提液中黄酮类化合物浓度  $Y$  值。

3) pH 值测定采用电位差法<sup>[12]</sup>测定。

### 1.4 实验设计

#### 1.4.1 单因素试验

影响枇杷叶水提液黄酮类化合物浓度的主要因素有水溶液 pH 值、原料细度、水提时间和水提温度等。试验分别对其进行单因素试验与分析, 以确定各因素的影响效果及适宜范围。

#### 1.4.2 优化试验

根据单因素试验与分析结果, 选择有现实作业意义的因素水平构建均匀设计表进行主因素优化试验, 用 DPS 数据处理系统软件对试验结果进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验与分析

#### 2.1.1 水的 pH 值对黄酮类化合物提取的影响

以稀 HCl 和稀 NaOH 溶液调节水的 pH 值。称取 34.0 g 枇杷鲜叶(原料细度 2.4 mm × 1.3 mm) 15 份置于 15 个 500 mL 烧杯中, 分别加入 250 mL 不同 pH 值的自来水, 在 95 ℃ 条件下加盖水提 1.5 h, 冷却后测定水提液的光谱吸收比  $\alpha$ 。得水提液中黄酮类化合物浓度与水的 pH 值间的关系如图 1 所示。由图 1 可以看出, 水的 pH 值对水提液中黄酮类化合物浓度有较大影响, pH 值为 9.0 时, 枇杷叶黄酮类化合物的水提效果最好。pH 值过低或过高都不利于枇杷叶黄酮类化合物的水提, 说明枇杷叶黄酮分子呈微弱的碱性。当水的 pH 值高于 9.0 时, 强碱水加热破坏了黄酮类化合物母核, 致使水提液中黄酮类化合物浓度下降, 该结果与葛根黄酮浸提<sup>[13]</sup>的趋势相类似。

#### 2.1.2 水提温度对黄酮类化合物提取的影响

取原料的细度为 1.2 mm × 0.7 mm 的鲜叶样品 15 份, 每份 34.0 g, 分别加入 pH 值为 9.0 的水 250 mL, 采用不同温度进行枇杷叶黄酮类化合物水提试验, 提取时间 90 min。结果表明(见

收稿日期: 2004-08-02 修订日期: 2005-05-19

基金项目: 福建省科学技术厅重大科技项目(2004N Z02-3)

作者简介: 林启训, 男, 副教授, 从事农产品贮藏与加工及植物有效成分提取研究。福州 福建农林大学食品科学学院, 福建省农产品加工工程技术研究中心, 350002, Email: lqx500@sina.com.cn

图 2), 随着水提温度不断升高, 枇杷叶水提液中黄酮类化合物浓度逐渐增大。这与金银花冲泡水提的趋势略有不同<sup>[14]</sup>, 可能与所选用物料性状有关。

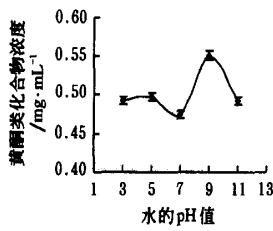


图 1 水的 pH 值对水提液黄酮类化合物浓度的影响

Fig 1 Effects of pH values on flavonoids concentrations in the water-extraction solution of loquat leaves

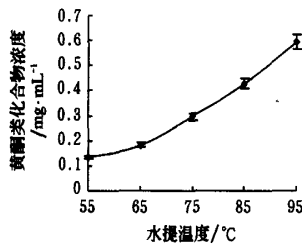


图 2 水提温度对枇杷叶水提液黄酮类化合物浓度的影响

Fig 2 Effects of temperatures on flavonoids concentrations in the water-extraction solution of loquat leaves

用指数函数关系式  $Y = ae^{bx}$ <sup>[15]</sup> 对图 2 中试验数据的平均值进行拟合, 得在不同水提温度下枇杷叶水提液中黄酮类化合物浓度  $Y$  与水提温度  $x$  间的关系为  $Y = 0.0157e^{0.0385x}$ , 显著性检验  $F = 229.760$ , 相关系数  $r = 0.9987$ 。查表得  $F_{0.01}(1, 3) = 34.116$ , 由此表明, 上述方程中  $Y$  与  $x$  之间存在着极为显著的非线性指数函数相关关系。相关系数  $r$  值大, 表明  $Y$  与  $x$  的相关程度高, 曲线拟合好;  $r$  为正值, 表明  $Y$  与  $x$  间呈正相关关系, 即水提温度高, 水提液中黄酮类化合物浓度高; 反之则降低。提高水提温度, 可以明显提高水提液中黄酮类化合物浓度。

2.1.3 原料的细度对黄酮类化合物提取的影响

枇杷叶黄酮类化合物的提取, 实质上是固相传递至液相的传质过程, 用扩散理论解释, 就是溶质从高浓度区向低浓度区溶出的过程。测定结果(图 3)表明, 用 pH9.0 的水提取枇杷叶, 水提时间 1.5 h, 水提温度 95 °C, 料液比(原料质量分数/水质量分数) 34 g/250 mL, 原料的细度与水提液中黄酮类化合物浓度间存在着一定的相关关系。随原料细度的逐渐变小, 水提液中黄酮

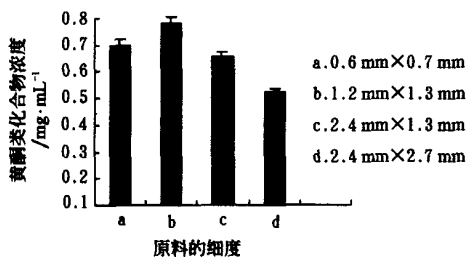


图 3 原料的细度对枇杷叶水提液黄酮类化合物浓度的影响

Fig 3 Effects of cut leaf sizes on flavonoids concentrations in the water-extraction solution of loquat leaves

类化合物浓度逐渐升高; 当细度降低至某一极限值后, 浓度则随细度变小呈下降趋势。由此说明, 原料的细度小, 试样的表面能增大, 水提速度加快, 但原料细度过小, 试样表面积过大, 吸附作用增强, 反而影响溶质传递速度, 不利于水提, 该结果与乙醇法紫背天葵色素提取<sup>[16]</sup>的趋势相吻合。

由图 3 可以看出, 以  $b$  (长 × 宽: 1.2 mm × 1.3 mm) 的原料细度按上述条件水提, 枇杷叶水提液中黄酮类化合物浓度最高。

2.1.4 水提时间对黄酮类化合物提取的影响

蒸馏、吸收、液-液萃取等单元操作中传质的两相在相对运动和相互接触过程中形成自由界面, 物质借助扩散作用从一相传递到另一相。扩散之所以发生是由于物质内部组分的质量浓度梯度, 亦是物系中组分有了质量浓度梯度之后, 才发生组分由高质量浓度向低质量浓度转移的现象<sup>[17]</sup>。根据费克第一定律, 由浓度梯度所引起的扩散速率可用  $d\theta/dt = -DFdc/dx$  表示, 其中, 负号表明扩散方向与浓度梯度方向相反, 即分子扩散朝着浓度低的方向进行,  $\theta$  为组分的扩散质量通量,  $t$  为扩散时间,  $D$  为扩散系数,  $F$  为面积,  $dc/dx$  为组分在扩散方向的质量浓度梯度。

图 4 为原料细度 1.2 mm × 1.3 mm, 料液比 34 g/250 mL, 用 pH9.0 的水在水提温度 95 °C 下, 水提时间与水提液中黄酮类化合物浓度间的关系。由图 4 曲线可以看出枇杷叶黄酮类化合物水提过程有 2 个加速段, 分别出现在 0~45 min 和 75~105 min。这与金银花冲泡水提<sup>[14]</sup>的趋势相类似。第 1 加速段出现的原因可认为是水提开始后的一段时间内, 由于枇杷叶质地疏松、富含纤维, 且又切成小段, 溶剂易于进入, 此时原料的溶质与水中溶质在单位时间内存在较大的质量浓度梯度 ( $dc/dx$ ), 扩散系数  $D$  大, 扩散速率  $d\theta/dt$  大, 黄酮类化合物的水提速度较快; 第 2 加速段出现的原因可认为在此时间段的原料充分溶胀, 面积  $F$  增大, 加快了溶质从内部向表面传递和扩散的速度。第 1 加速段后(即 45~75 min)出现溶质溶出平缓可认为原料由于较长时间在较高温度下提取, 部分热敏性组分产生过热糊化, 增加了溶质溶出的阻力; 第 2 加速段后(即 105 min~)出现溶质溶出平稳的原因可认为在此阶段原料的溶质与水中溶质达到平衡之缘故。

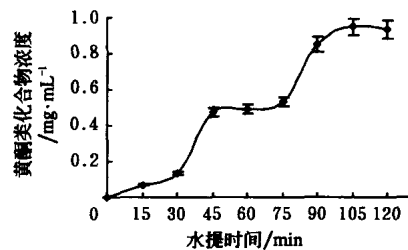


图 4 水提时间对枇杷叶水提液黄酮类化合物浓度的影响

Fig 4 Effects of extraction time on flavonoids concentrations in the water-extraction solution of loquat leaves

2.2 优化试验与分析

枇杷叶黄酮类化合物的水提是个重要的操作单元, 主要因素的选择将直接影响水提液的质量。为了进一步研究水中 pH 值  $a$ 、水提温度  $b$  和水提时间  $c$  3 个主因素及其交互作用与水提液中黄酮类化合物浓度  $Y$  (mg/mL) 的相关关系。在单因素试验和分析基础上, 以枇杷鲜叶为基材, 黄酮类化合物为主要指标成分, 原料细度 1.2 mm × 1.3 mm, 及根据提取一定量原料的最小溶剂质量分数确定的料液比 34 g/250 mL 为固定条件, 采用 3 因素 4 水平构建均匀设计表进行主因素优化试验(见表 1), 寻找枇杷叶黄酮类化合物水提的最佳工艺条件。

表1  $U_{12}(12^{12})$  试验因素及水平Table 1 Factors and levels of  $U_{12}(12^{12})$  experiments

因素	水平编码和编码值			
	1	2	3	4
水的pH值(a)	11	10	9	8
提取温度(b)/	85	90	95	100
水提时间(c)/min	105	110	115	100

表2 试验方案及测定结果

Table 2 Design and results of experiment

试验号	试验因素与水平编码值			Y /mg · mL <sup>-1</sup>
	a	b	c	
1	1	1	3	0.631
2	1	2	2	0.641
3	1	3	1	0.621
4	2	4	4	0.694
5	2	1	2	0.680
6	2	2	1	0.699
7	3	3	4	0.791
8	3	4	3	0.814
9	3	1	1	0.699
10	4	2	4	0.778
11	4	3	3	0.714
12	4	4	2	0.931

采用均匀试验设计回归分析程序<sup>[15]</sup>对试验结果(表2)进行拟合,得到以水提液中黄酮类化合物浓度 $Y$ 为因变量,3个因素的水平编码值为自变量的回归方程为

$$Y = 2.0875 - 0.0499a - 0.0010b - 0.0127c + 0.0001bc$$

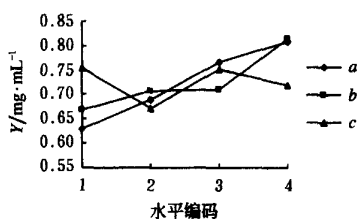
F检验表明, $F = 4.632 > (4.120 = F_{0.05}(4, 7))$ 。表明方程显著,且置信度大于95%,可用于定量描述自变量与因变量间的变化规律。

根据标准回归系数的绝对值(表3), $a, b, c$  3个因素对 $Y$ 影响的主效应为 $c > b > a$ ,说明在所选定的3个因素中,水提时间对 $Y$ 的效应最大,其次是提取温度,水的pH值的效应相对较小。对方程进行单因素分析表明,当 $b$ 固定时, $Y$ 与 $c$ 呈负相关关系,即随着 $c$ 的延长, $Y$ 逐渐下降;当 $c$ 不变时, $Y$ 与 $b$ 亦呈负相关关系,但下降速率较为平缓。

表3 回归分析结果

Table 3 Results of regression analysis

变量	常数	a	b	c	bc
回归系数	2.0875	-0.0499	-0.0010	-0.0127	0.0001
标准回归系数		-0.6489	-0.6499	-0.8252	1.2697

图5 因素水平对 $Y$ 的影响Fig 5 Effects of factors and levels on  $Y$ 

对试验数据进行极差分析,以3个因素的水平编码为横坐标轴,因变量 $Y$ 为纵坐标轴,绘出试验因素水平与指标值间的关系曲线,如图5所示。

由图5中折线趋势可以得出,枇杷叶水提液中黄酮类化合物浓度最高的优化因素水平组合为 $a_3b_4c_1$ ,即水的pH值为8.0,水提温度100℃,水提时间105 min。

以此优化因素水平组合,即在原料细度 $1.2\text{ mm} \times 1.3\text{ mm}$ ,料液比 $34\text{ g}/250\text{ mL}$ 、水的pH值8.0,100℃条件下加盖水提105 min,可得水提液中黄酮类化合物浓度 $0.979\text{ mg/mL}$ 。

### 3 结论

通过单因素试验和优化试验,建立和分析的枇杷叶水提液中黄酮类化合物浓度随水的pH值、水提温度和水提时间变化的多元回归变量方程,其置信度达95%,可用于定量描述自变量与因变量间的变化规律。

枇杷叶水提液中黄酮类化合物浓度最高的优化因素水平组合是水的pH值8.0,水提温度100℃,水提时间105 min。

采用均匀设计法对枇杷叶黄酮类化合物水提的工艺进行优化,在优化工艺条件下,即采用原料细度 $1.2\text{ mm} \times 1.3\text{ mm}$ ,料液比 $34\text{ g}/250\text{ mL}$ ,用pH值8.0的水在水提温度100℃条件下加盖水提105 min,可得水提液中的黄酮类化合物浓度 $0.979\text{ mg/mL}$ ,为节省提取工艺成本,降低能耗和工业化生产的合理化作业提供了有价值的依据。枇杷叶黄酮类化合物水提液的稳定性及其在食品工业产品中的实际应用已着手深入研究和分析。

#### [参考文献]

- 王立为,刘新民,余世春,等. 枇杷叶抗炎和止咳作用研究[J]. 中草药, 2004(2): 174-176
- 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 宗教文化出版社, 2003: 332
- 张国辉,马辰. 黄酮类化合物药理学研究进展[J]. 中草药, 2004, (5): 582-585
- 王兰珍,马希汉,王妹清,等. 元宝枫叶总黄酮提取方法研究[J]. 西北林学院学报, 1997, (4): 64-67
- 毛燕,黄必恒. 龙柏叶总黄酮提取条件的研究[J]. 浙江林学院学报, 2000, (1): 102-105
- 丁利君,吴振辉,蔡创海. 槐花中黄酮类物质提取工艺的研究[J]. 农业工程学报, 2002, (1): 142-146
- 王晓,李林波,马小来,等. 酶法提取山楂叶中总黄酮的研究[J]. 食品工业科技, 2002, (3): 37-39
- 李春华. 金银花木叶中黄酮类化合物的提取[J]. 河北农业大学学报, 2003, (3): 65-68
- 蒋益虹. 荷叶黄酮的乙醇提取工艺优化研究[J]. 农业工程学报, 2004, (4): 168-171
- 张睿,徐雅琴,时阳. 黄酮类化合物提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2003, (1): 21
- 徐礼焱. 中草药有效成分分析法(下册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 69-71
- GB 10468-89. 水果和蔬菜产品pH值的测定方法[S]
- 潘见,陈强,王国霞,等. 葛根黄酮浸取工艺优化研究[J]. 农业工程学报, 1998, (4): 230-233
- 林启训,蔡珊珊,雷润波. 金银花冲泡浸提的影响因素分析及状态参数优化[J]. 食品与机械, 2002, (6): 7-9
- 唐启义,冯明光. 实用统计分析及其DPS数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 156-158
- 林启训,胡亮,龚丽丽,等. 紫背天葵色素的稳定性及其提取工艺优化[J]. 中国农学通报, 2004, (1): 141-145
- 无锡轻工业学院. 食品工程原理(下册)[M]. 北京: 轻工业出版社, 1993: 472-491

## Water extraction of flavonoids in loquat leaves

Lin Qixun

*(College of Food Science and Technology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;*

*Fujian Research Center for Agricultural Product Processing, Fuzhou, 350002, China)*

**Abstract** To improve the concentration of flavonoids compounds in the water-extraction solution of fresh loquat leaves, optimal processing conditions were investigated by using the factors and uniform design. The results showed that when the size of cut leaves was 1.2 mm × 1.3 mm and the solid/liquid ratio was 34 g/250 mL, the optimal processing parameters were pH 8.0, temperature 100 °C and extraction time 105 min. Under the rational conditions, the concentration of flavonoids in the extract was 0.979 mg/mL.

**Key words:** loquat leaves; flavonoids; water extraction