

微波辅助法提取藤茶黄酮工艺优化

宾冬梅, 易诚, 颜彩虹 (衡阳师范学院生命科学系, 湖南衡阳 421002)

摘要 [目的]提高藤茶中总黄酮提取率。[方法]以藤茶为原料,以水为溶剂,采用微波辅助提取的方式,研究了浸提温度、浸提时间、微波辅助加热时间、微波加热功率4个单因素对藤茶总黄酮提取率的影响,并在单因素的基础上进行正交试验得到藤茶总黄酮提取的最佳工艺条件。[结果]在100℃的温度下浸提时间60 min,中高档微波加热120 s的条件下,藤茶总黄酮的得率最高。[结论]优化微波辅助法工艺能提高藤茶黄酮提取率。

关键词 藤茶;总黄酮;微波辅助提取;工艺优化

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)27-09320-02

Optimization of Microwave-enhanced Extraction of Total Flavonoids from *Ampelopsis grossedentata*

BIN Dong-mei, YI Cheng, YAN Cai-hong (Department of life science, Hengyang Normal University, Hengyang, Hunan, 421002)

Abstract [Objective] The research aimed to improve the extraction rate of total flavone in *Ampelopsis grossedentata*. [Method] Taking *Ampelopsis grossedentata* as raw materials and water as solvent, the impact of the extraction temperature, extraction time, microwave-assisted heating time, microwave heating power of 4 single factors on extraction rate of total flavone were studied by microwave assisted extraction method, and orthogonal experiment optimum conditions of extracting total flavone from *Ampelopsis grossedentata* on the basis of single factor. [Result] The temperature at 100℃ under the extraction time 60 min, high-grade microwave heating under 120 s conditions, the *Ampelopsis grossedentata* flavonoids was the highest. [Conclusion] Optimization of microwave-enhanced extraction can improve extraction rate of total flavonoids from *Ampelopsis grossedentata*.

Key words *Ampelopsis grossedentata*; Total flavonoids; Microwave-enhanced extraction; Technology optimization

藤茶是葡萄科蛇葡萄属中的一种野生木质落叶藤本植物,俗称白茶、山甜茶、藤婆茶等^[1],学名为显齿蛇葡萄(*Ampelopsis grossedentata*)。我国广西、湖南等省区的瑶族、壮族人民常用其幼嫩茎叶入茶,夏天泡茶,数日不馊,有“神茶”之称^[2],人们还将其制成保健茶,用于治疗胃热呕吐、咽喉肿痛、感冒发热等症。藤茶广泛分布于我国湖南、湖北、云南、贵州、广东、广西、福建等地,野生贮藏量大,为可以直接利用的野生植物资源。经化学成分分析发现,藤茶富含黄酮类物质,有效部位总黄酮含量达40%左右,其中二氢杨梅素含量高达27%^[3]。黄酮类化合物广泛存在于植物界,大量研究证明,其具有抗自由基、抗氧化、抗癌、抗菌、抗过敏、抗炎症等多种生理活性及药理作用,且无毒,对人类多种疾病的防治有重要意义^[4-7]。在此,笔者以藤茶为原料,以水为溶剂,采用微波辅助提取的方式,研究了浸提温度、浸提时间、微波辅助加热时间、微波加热功率4个单因素对藤茶总黄酮提取率的影响,并在单因素的基础上进行正交试验得到藤茶总黄酮提取的最佳工艺条件。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 藤茶,市售,产地为衡阳市衡东县。

1.2 试验试剂 无水氯化铝(分析纯)、HCl、AlCl₃溶液(实验室自制)、二氢杨梅素标准品(分析纯)、蒸馏水(实验室自制)。

1.3 试验用具 各种大小的烧杯、锥形瓶、试剂瓶、移液管、胶头滴管、定容瓶、洗耳球、比色皿、离心管、试管架、剪刀、玻璃棒、布氏漏斗、分液漏斗、滤纸、标签纸。

1.4 试验设备 真空干燥箱、粉碎机(JFSD-100-II,上海嘉

定粮油仪器有限公司)、分析天平、电子万用炉(天津市泰斯特仪器有限公司)、恒温水浴锅(HH-S,江苏国胜实验仪器厂)、微波炉(WP800TL-23-K3)、循环水式多用真空泵(SHB-III,郑州长城科工贸有限公司)、低压抽滤器、紫外可见721型分光光度计。

1.5 试验方法

1.5.1 材料的处理。先将采购回来的藤茶用水清洗,除去叶片表面的尘埃和油脂类物质,自然晾干。待干燥完全后,选取无霉烂变质的藤茶先用剪刀初步剪碎,然后放入粉碎机粉碎,过筛,备用。

1.5.2 紫外分光光度法测定藤茶总黄酮的含量。

1.5.2.1 标准曲线的测定^[8]。精密吸取对照品溶液0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 ml分别置于10 ml容量瓶中,于290 nm处测定吸收度。以对照品浓度为横坐标、吸收度为纵坐标,回归方程为 $y = 55.773x - 0.0727$, $R = 0.995$ ($n = 2$)。

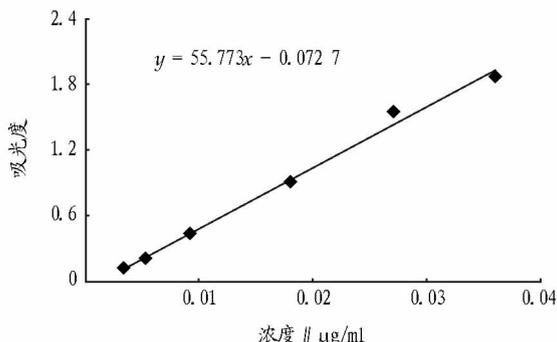


图1 对照品溶液的标准曲线

1.5.2.2 藤茶总黄酮提取单因素试验^[9]。精密称定藤茶5 g,置于锥形瓶中,以料液比1:30加入蒸馏水,在指定温度下恒温水浴浸提指定时间后,再放入微波炉中,在指定功率下加热相应时间,得水提液,趁热过滤,将滤液转至500 ml容量

瓶中,用蒸馏水定容,再吸取 1 ml 置于 10 ml 容量瓶中,备用。

1.5.2.3 藤茶总黄酮提取正交试验。在单因素的基础上,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,优化藤茶中总黄酮的提取工艺,试验数据采用表格进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果分析

2.1.1 不同浸提温度对藤茶总黄酮提取率的影响。称取 5 g 藤茶粉末,以料液比 1:30 加入 150 ml 水,分别在 60、80、100 °C 下进行恒温水浴浸提,浸提 15 min,再放入微波炉中,在中档微波功率下提取 60 s 后,趁热抽滤,洗涤。取滤液,并立即用水定容至 500 ml,再吸取 1 ml 置于 10 ml 容量瓶中,于 290 nm 处测定吸收度,记录并处理数据。结果发现,在 60、80、100 °C 浸提温度下,藤茶中总黄酮提取率分别为 18.60%、28.89%、33.19%。可见,随着温度的升高,浸提物含量呈上升的趋势,在 100 °C 时有最大值。藤茶中总黄酮的提取是借助分子扩散和对流扩散完成的。升高温度,会加快分子的扩散速度,从而影响提取过程。且随着提取温度的升高,溶剂对黄酮的溶解能力增大,从而改变黄酮类的溶解平衡,提高了提取率。因此,选取 100 °C 为提取温度,可以最大量地得到黄酮类物质,同时也方便控制提取温度。

2.1.2 不同浸提时间对藤茶总黄酮提取率的影响。称取 5 g 藤茶粉末,以料液比 1:30 加入 150 ml 水,在 80 °C 下恒温水浴浸提 15、30、45 min 后,再放入微波炉中,在中档微波功率下提取 60 s 后,趁热抽滤,洗涤,滤液立即用水定容至 500 ml,再吸取 1 ml 置于 10 ml 容量瓶中,于 290 nm 处测定吸收度,记录并处理数据。结果表明,随着浸提时间的增加,藤茶浸出物含量呈上升趋势,在 15~30 min 阶段,上升最显著,在 15、30 min 浸提时间下,藤茶总黄酮提取率分别为 28.89%、32.20%。浸出物黄酮总含量随时间的增加也呈不断上升的趋势,其中以 45 min 时最高,其浸出率达 35.06%。但达到一定时间后,随着固液比逐渐变小,提取速率减慢,继续延长提取时间,固液之间达到动态平衡。且高温对二氢杨梅素的稳定性会产生影响,故选取 30 min 为最适提取时间。

2.1.3 不同微波加热功率对藤茶总黄酮提取率的影响。称取 5 g 藤茶粉末,以料液比 1:30 加入 150 ml 水,在 80 °C 下恒温水浴浸提 15 min 后,放入微波炉中,分别在中档、中高档、高档微波功率下提取 60 s 后,趁热抽滤,洗涤,滤液立即用水定容至 500 ml,再吸取 1 ml 置于 10 ml 容量瓶中,于 290 nm 处测定吸收度,记录并处理数据。结果发现,中档、中高档、高档 3 种微波加热功率下藤茶总黄酮提取率分别为 28.89%、36.32%、35.42%,可见,当微波功率在中档到中高档之间时,总黄酮的得率开始缓慢上升,相对较稳定,当微波功率大于中高档时,总黄酮的得率开始下降。研究表明,微波频率与分子转动的频率相关联^[10]。微波功率越大,分子运动越剧烈,提取效率相对较高;当微波功率过大时,活性分子运动过于剧烈,可能导致活性物质间发生副作用。此外,提取温度的瞬间升高,使溶液爆沸导致总黄酮和水浸出物损

失,故导致了高档功率下黄酮提取率的下降。因此选择合适功率的加热才能使温度不至于升高过快,而又得到较高的提取率。此试验以中高档加热时总黄酮的得率最理想,故选取中高档为最适条件。

2.1.4 不同微波加热时间对藤茶总黄酮提取率的影响。称取 5 g 藤茶粉末,以料液比 1:30 加入 150 ml 水,在 80 °C 下恒温水浴加热浸提 15 min 后,再放入微波炉中,在中档微波功率下分别提取 30、60、90 s 后,趁热抽滤,洗涤,滤液立即用水定容至 500 ml,再吸取 1 ml 置于 10 ml 容量瓶中,于 290 nm 处测定吸收度,记录并处理数据。结果表明,30、60、90 s 的微波加热时间对黄酮的提取率分别为 26.78%、28.89%、36.13%,可见水浸出物得率随着时间的增加呈上升趋势,且在 30~90 s 的范围内,上升幅度最大,但总黄酮含量随着时间的延长先增加后减少,其中以 90 s 时最高。这可能是因为在微波加热过程中,电磁波会渗透进入藤茶中,直接把能量传播到茶叶内部,使之瞬间加热,溶解藤茶中的黄酮类物质,使其从藤茶中溶解出来,这样不仅大大缩短加热时间,更保证了黄酮的质量。但加热时间太短,黄酮浸出不充分,加热时间过长,黄酮易遭致破坏而降低。

2.2 藤茶总黄酮提取条件优化 根据单因素试验结果, $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平设计如表 1 所示。从表 2 可以看出,在影响藤茶提取率的各因素中,浸提时间对提取的影响最大,微波功率影响最小,影响顺序依次为 $D > C > A > B$,试验中 $A_3B_2C_1D_3$ 组合的最高提取率达 37.45%,以各影响因素的最佳水平组合 $A_3B_2C_3D_3$ 进行 2 次提取试验,提取率为 38.72%。

表 1 正交试验因素水平

因素水平	A(浸提温度/°C)	B(微波功率)	C(微波加热时间//s)	D(浸提时间//min)
1	60	高	60	30
2	80	中高	90	45
3	100	中	120	60

表 2 藤茶黄酮提取正交分析

序号	A	B	C	D	总黄酮得率//%
1	1	1	1	1	30.60
2	1	2	2	2	32.73
3	1	3	3	3	36.24
4	2	1	2	3	35.64
5	2	2	3	1	35.63
6	2	3	1	2	34.31
7	3	1	3	2	35.43
8	3	2	1	3	37.45
9	3	3	2	1	34.52
均值 1	33.19	33.89	33.14	33.58	
均值 2	35.19	35.27	34.15	34.17	
均值 3	35.80	35.02	35.76	36.44	
极差	2.61	1.38	2.62	2.86	
最佳效果	A3	B2	C3	D3	

3 结论

经单因素试验选择试验条件,利用正交设计进行藤茶提

(下转第 9403 页)

将基部扎牢,中间部分也适当绑扎。

3 嫁接后管理

3.1 除萌 及时去除砧木上的萌蘖,若接穗死亡,可保留一部分萌芽,以便芽接补救或恢复树冠后再进行改接。

3.2 放风 接后 20 d 左右接穗开始萌发,当新梢长出土后,可将袋顶部开一口,让嫩梢顶端自然伸出,放风口由小到大,分 2~3 次打开。当新梢伸出袋后,可将顶部全打开。

3.3 绑支柱 当新梢长到 20~30 cm 时,将土全部去除,要及时在接口处设立支杆,将新梢牵引绑结在支杆上,随着新梢的加长要绑 2~3 次。

3.4 解绑 嫁接后 2 个月左右,要将接口处的绑绳解掉,防止绞缢。

3.5 疏花、整形 新梢萌发后若有雌花,应及早疏掉。当新梢长到 20~30 cm 时,要根据整形需要,疏去多余新梢枝,尤其是早实品种萌芽率高,同一节位的 2 个芽往往都能萌发,在其他节位的芽萌发良好情况下,一般每个节位留 1 个壮梢即可。长势旺的用于培养侧枝的新梢,可在长至 50 cm 左右时摘心促分二次枝。8 月上旬,对所有未停长的新梢摘心,若再萌发,可抹芽或留 1~2 片叶再摘。

3.6 越冬防寒 用石灰水加盐或石灰水加石硫合剂对主干刷白,这样可反射阳光,减少树干对太阳辐射热的吸收,降低树体昼夜温差,避免树干冻裂,还可以杀死在树皮内越冬的害虫。对于一年生枝或不耐寒树木,要用草绳道道紧接的卷干或用稻草包裹来防寒,包草时草梢向上,开始半截平铺于地,从干基折草向上,连续包裹,每隔 10~15 cm 横捆一道,逐层向上至分支点。必要时可再包部分主枝。此法防寒应在晚霜后拆除,不宜拖延。

4 讨论

成龄核桃一般因树体高大,难以操作,故不采取高接换优,对初果期的核桃树原则上不采取高接换优,但有条件的情况下,根据目的可分批进行。实生幼龄和劣质低产树是高接换优的主要树群,一般这些树多为 10 a 左右,在立地条件较好的情况下,生长势都很旺盛,1 a 的新梢生长都在 50~

100 cm 之间。如果立地条件不好,应首先改善立地条件,通过施肥、扩穴、深翻等措施促使树势由弱转强,之后再行高接换优。

应严格选用优良品种接穗,一般从立地条件、生物特性、经济性状、抗逆性等方面挑选适宜品种。需注意当地晚霜与所选品种生物特性相适应,否则无法达到预期效果。目前核桃的优良品种有三大类^[9]:①早实类(中林系列、辽核系列、北京系列)品种共同特性:结果早、早丰产、分枝力强、果枝坐果高,枝条紧凑,便于管理,但肥水管理要求高。②晚实类型(晋龙系列、西洛 3 号、豫 786 等)树冠高大,在形成大骨干枝的基础上开始丰产,肥水管理要求不严格,同时也具有抗晚霜的特点。③美国黑核桃类大致有两大类:用材类和仁用类。可根据当地具体情况而选择适宜品种,并在选择好品种的同时,适当地搭配授粉树。

5 结语

该技术在借鉴插皮舌接技术的基础上,在嫁接操作中增加了保湿处理,即用湿润土壤包裹嫁接部位,避免了嫁接部位被阳光直射,提高了愈伤组织的愈合能力,同时给接穗一定的生长空间,使其充分进行春化作用,在摘除保湿袋之后,接穗具有很强的生长力和抗性,从而大幅度地提高了高接换优的成活率。总之,核桃树的高接换优既要根据具体情况,掌握好各个技术环节,又要把握住各个时期管理措施,才能使核桃的高接换优达到预期的目的。

参考文献

- [1] 郑万钧. 中国树木志[M]. 北京:中国林业出版社,1985.
- [2] 华婷,刘丙花,侯立群. 核桃种仁营养成分研究进展[J]. 山东林业科技,2014(1):95-98.
- [3] 卜玉霞. 文玩核桃的收藏经[J]. 金融经济:上半月,2014(1):57.
- [4] 侯立群. 中国核桃产业发展报告[M]. 北京:中国林业出版社,2008.
- [5] 赵国斌,杨文辉. 核桃良种苗木培育及核桃建园技术[J]. 中国园艺,2012(2):170-172.
- [6] 韩华铂,何方. 我国核桃育种的回顾和展望[J]. 经济林研究,2004(3):48-53.
- [7] 李婉秋,李守玉. 核桃树多头高接技术[J]. 河北果树,1989(2):42-44.
- [8] 王玉兴. 核桃插皮舌接技术[J]. 中国果树,2013(6):66-67.
- [9] 王田利. 早实核桃与晚实核桃的四个区别[J]. 西北园艺,2014(6):7-9.
- [10] 王丽娟. 微波辅助提取天然产物有效成分研究工艺[D]. 北京:北京化工大学,2010.
- [11] 戴巧玲,宋纬文,戴勤,等. 藤茶饼治疗 53 例儿童咽喉肿痛的疗效观察[J]. 江西中医药,1996(2):29.
- [12] 熊大胜,朱金桃,刘朝阳. 显齿蛇葡萄幼嫩茎叶提取物抑菌作用的研究[J]. 食品科学,2000,21(2):48-50.
- [13] 钟正贤,覃洁萍,周桂芬,等. 广西瑶族藤茶中双氢杨梅树皮素的药理研究[J]. 中国民族医药杂志,1998,4(3):42-44.
- [14] 陈晓军,陈学芬,李茂,等. 显齿蛇葡萄总黄酮降脂作用的研究[J]. 广西中医药,2001,24(5):53-54.
- [15] 成凤桂,欧知义. 鄂西藤茶中总黄酮的提取及含量测定[J]. 中南民族大学学报:自然科学版,2005,24(2):19-22.
- [16] 杨铃. 微波辅助萃取藤茶中二氢杨梅素的研究及机理探讨[D]. 广州:华南理工大学,2005.
- [17] 王丽娟. 微波辅助提取天然产物有效成分研究工艺[D]. 北京:北京化工大学,2010.

(上接第 9321 页)

取液工艺优化,结果表明,以水作溶剂,物料比为 1:30 的条件下,采用微波辅助提取,即浸提温度为 100 ℃、浸提时间为 60 min、微波加热时间为 120 s、微波功率为中高档的,在此条件下提取的藤茶提取液中,总黄酮的提取率最高,可达 38.72%。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1998:53.
- [2] 广西植物研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁:广西民族出版社,1974:73.
- [3] 何桂霞,裴刚,周万达,等. 显齿蛇葡萄中总黄酮和二氢杨梅素的含量