

芦笋保健茶活性成分动态溶出分析研究

许瑾¹, 杭珊珊¹, 马明星², 沈楹¹, 陈姜¹, 钱沁瑜¹, 黄嬛^{1*}

(1. 嘉兴学院医学院, 浙江嘉兴 314001; 2. 华东理工大学, 上海 200237)

摘要 [目的] 提取芦笋中总黄酮并分析芦笋保健茶活性成分的动态溶出情况, 促进芦笋茶的推广与发展。[方法] 以新鲜芦笋为原料, 采用超声乙醇提取法提取芦笋总黄酮并测定它们在芦笋不同部位的含量。制作芦笋袋泡茶, 从分子水平对芦笋袋泡茶活性成分的溶出进行动态分析。通过设定不同浸泡时间、不同温度条件以及不同芦笋袋泡茶投料量, 测定浸出物中黄酮类成分的含量, 并通过正交试验来确定芦笋茶的最佳冲泡条件。[结果] 在芦笋的不同部位总黄酮含量有差异, 从芦笋顶端到根部逐渐递减; 芦笋袋泡茶的最佳冲泡条件为芦笋袋泡茶投料量 4.0 g, 浸泡水温 90 ℃, 浸泡时间 25 min。[结论] 研究表明, 今后可根据所需要的成分对芦笋进行合理的利用; 同时可为芦笋茶的科学冲泡及芦笋类饮品的开发利用提供理论依据。

关键词 芦笋; 芦笋袋泡茶; 总黄酮; 冲泡工艺

中图分类号 S509.9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)36-114-03

Analysis and Research of Asparagus Health Tea Active Ingredient Dynamic Dissolution

XU Jin¹, HANG Shan-shan¹, MA Ming-xing², HUANG Xuan^{1*} et al (1. College of Medicine, Jiaxing University, Jiaxing, Zhejiang 314001; 2. East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

Abstract [Objective] To extract total flavonoids from *Asparagus officinalis* L. and analyze the dynamic dissolution of the active components of asparagus health tea, and promote the promotion and development of asparagus tea. [Method] Using fresh asparagus as raw material, the total flavonoids of *Asparagus officinalis* L. was extracted by ultrasonic ethanol extraction and the content of them in different parts of asparagus was determined. The dynamic analysis was made on dissolution of active components of asparagus teabag from the molecular level. By setting different soaking time, temperature and dosage of asparagus teabag, the content of flavonoids in the extract was determined, and the optimum conditions of asparagus tea brewing were obtained through orthogonal test. [Result] The total flavonoid content in different parts of asparagus difference from the top to the roots of asparagus gradually decreasing, the best conditions of asparagus tea brewing is asparagus teabag feeding amount of 4.0 g, soaking temperature 90 ℃, soaking time 25 min. [Conclusion] The research shows that the reasonable utilization of asparagus can be carried out in the future, and it can provide theoretical basis for the development and utilization of asparagus tea.

Key words Asparagus; Asparagus teabag; Total flavonoids; Brewing technology

芦笋(*Asparagus officinalis* L.) 为百合科天门冬属的多年生草本植物, 学名石刁柏, 又名文山竹、龙须菜、细百叶部、索罗罗^[1]。研究发现, 芦笋含有抗肿瘤、免疫调节、抗衰老、抗疲劳、降血脂、保肝解毒等特殊生物学功能的活性成分^[2]。

芦笋的活性成分主要有 3 类: 第 1 类为皂苷, 第 2 类为多糖类, 第 3 类为黄酮类化合物; 此外, 芦笋还含有氨基酸、脂肪酸、活性酶和微量元素等多种活性成分^[3]。研究表明, 芦笋中含有大量的黄酮类化合物, 具有很高的营养保健价值^[4], 且具有明显的抗肿瘤活性和降血压、降血脂、增进冠状动脉血流量、软化血管和防治冠心病、心绞痛等作用。芦笋中总黄酮含量是决定其药用价值高低的重要指标^[5]。芦笋中的黄酮类成分主要有: 芦丁^[6]、槲皮素、香橞素、山柰素等^[7]。

芦笋茶是一种全新概念的蔬菜茶, 利用新鲜芦笋嫩叶、芽头为原料, 经清洗、整理、分切、杀青、烘制等工艺加工制作而成的芦笋茶, 具有抗癌、防癌、降血压、降血脂、增强体质等功效, 并能提高人体免疫力。芦笋茶经脱苦、提香、保绿, 用开水冲泡后, 具有芦笋特有的清香味, 其色、香、味俱全。

笔者以芦笋为研究对象, 采用超声乙醇提取法提取芦笋总黄酮, 并制作芦笋保健茶, 从分子水平对芦笋保健茶活性成分的溶出动态进行分析, 以期对芦笋茶的科学冲泡及芦笋

的开发与利用提供理论依据, 并对养生保健有一定的实用指导意义, 进一步促进我国扩大天然药物的资源及创新药物的研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料及试剂。新鲜芦笋, 30% 乙醇溶液, 4% 氢氧化钠溶液, 5% 亚硝酸钠溶液, 10% 硝酸铝溶液, 芦丁标准品(中国食品药品鉴定研究院)等。

1.1.2 主要仪器。UV-2401PC 紫外分光光度计, 日本岛津; LH-08A 台式连续投料式中药粉碎机; H. H. S 24-4B 电热恒温水浴锅, 上海医疗器械五厂。

1.2 方法

1.2.1 试验材料的前处理。将新鲜芦笋洗净, 用刀分段, 分别切成食用部分芦头段、食用部分中段、食用部分下段、下脚料绿色部分、下脚料白色部分。将分段后的芦笋置烘箱中干燥处理。将干燥后的不同部位芦笋用粉碎机粉碎处理, 过 13 目筛, 装入广口瓶备用。

1.2.2 总黄酮的提取及含量测定。

1.2.2.1 芦丁标准曲线的绘制。精密称取芦丁标准品 10 mg, 用 30% 乙醇定容至 50 ml (得到 0.2 mg/ml 标准试液), 分别吸取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 于 25 ml 容量瓶中, 每组加入 5% 亚硝酸钠 0.75 ml, 静置 6 min 后, 加入 10% 硝酸铝 0.75 ml, 静置 6 min 后, 加入 4% 氢氧化钠 10 ml, 用 30% 乙醇定容至 25 ml, 摇匀后放置 15 min。以空白试剂(30% 乙醇)作为对照, 用紫外分光光度计(UV-2401PC)在波长 510 nm 处测吸光度。以

基金项目 2014 年度嘉兴学院校级重点 SRT 计划项目(851714069)。

作者简介 许瑾(1993-), 女, 安徽黄山人, 本科生, 专业: 药学。* 通讯作者, 教授, 硕士, 从事天然药物、制剂新技术的研究开发。

收稿日期 2015-11-26

质量浓度(mg/ml)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.2.2 芦笋总黄酮的提取方法验证选择。在预试验中分别采用了超声辅助热水提法和超声辅助醇提法提取芦笋总黄酮。

超声辅助热水提法:取 5 g 芦笋粉末(分别为下脚料的绿色段和下脚料的白色段各 3 份)加入 25 ml 水(料液比 1:5 g/ml),在 50 °C 温度下超声(150 W)热水辅助提取 45 min^[8]。

超声辅助醇提法:取 10 g 芦笋粉末(分别为下脚料的绿色段和下脚料的白色段各 2 份),用 300 ml 70% 乙醇(料液比 1:30 g/ml)在 70 °C 下超声(300 W)提取 45 min,抽滤得滤液^[9]。

将超声辅助热水提取的溶液用蒸馏水定容至 500 ml,取 5 ml 至 25 ml 容量瓶中,加入 5% 亚硝酸钠 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后,加入 10% 硝酸铝 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后,加入 40% 氢氧化钠 10 ml,再用 30% 乙醇定容至 25 ml,摇匀放置 15 min 后,用紫外分光光度计(UV-2401PC)在波长 510 nm 下测吸光度,并将所测数据代入芦丁标准曲线计算总黄酮得率。将超声辅助醇提取液分别取各组对应样品 5 ml 加入到 25 ml 容量瓶中,加入 5% 亚硝酸钠 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后,加入 10% 硝酸铝 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后,加入 40% 氢氧化钠 10 ml,用 30% 乙醇定容至 25 ml,摇匀静置 15 min 后,在波长 510 nm 处测定紫外吸光度,并将所测数据代入芦丁标准曲线计算总黄酮得率。

1.2.2.3 芦笋不同部位总黄酮的提取及含量测定。取 10 g 芦笋粉末(分别取食用中部和食用下部各 2 份及下脚料绿色段和下脚料白色段各 2 份)。用 300 ml 70% 乙醇(料液比 1:30 g/ml)在 70 °C 下超声(300 W)提取 45 min,抽滤得滤液。精密量取各组提取液 1 ml 于 25 ml 容量瓶中,加 5% 亚硝酸钠 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后,加 10% 硝酸铝 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后加入 4% 氢氧化钠 10 ml,再用 30% 乙醇定容至 25 ml,摇匀,放置 15 min 后,在波长 510 nm 处测定紫外吸光度。将所测数据代入芦丁标准曲线计算总黄酮得率。

1.2.3 芦笋袋泡茶单因素试验。

1.2.3.1 投料量对黄酮得率的影响。在考察投料量影响因素时,不仅需要考虑到黄酮得率,还需考虑芦笋袋泡茶的口感、茶汤香味。

1.2.3.2 不同提取时间对黄酮得率的影响。以 90 °C 的纯化水 250 ml,投料量 4 g,在 90 °C 恒温水浴条件下,分别浸提 5、10、15、20、25、30 min。取热水提取的溶液 5 ml 加入到 25 ml 容量瓶中,加入 5% 亚硝酸钠 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后,加入 10% 硝酸铝 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后,加入 4% 氢氧化钠 10 ml,用 30% 乙醇定容至 25 ml,摇匀静置 15 min 后,用紫外分光光度计在波长 510 nm 下测吸光度,并将所测数据代入芦丁标准曲线计算总黄酮得率。

1.2.3.3 不同提取温度对黄酮得率的影响。以 250 ml 纯化水,分别在 40、50、60、70、80、90 °C 下进行恒温水浴浸提 20 min,取热水提取的溶液 5 ml 加入到 25 ml 容量瓶中,加入

5% 亚硝酸钠 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后,加入 10% 硝酸铝 0.75 ml,摇匀静置 6 min 后,加入 4% 氢氧化钠 10 ml,用 30% 乙醇定容至 25 ml,摇匀静置 15 min 后,用紫外分光光度计在波长 510 nm 下测吸光度,并将所测数据代入芦丁标准曲线计算总黄酮得率。

1.2.4 确定芦笋袋泡茶的最佳冲泡条件的正交试验。在单因素试验的基础上,选择提取时间、提取温度、投料量考察因素,以测得的芦笋样品中总黄酮含量为考察因素,每个因素选择 3 个水平,选用 $L_9(3^3)$ 正交表对芦笋袋泡茶的最佳冲泡条件进行研究,如表 1,按照正交表的条件进行提取。

表 1 总黄酮提取正交试验因素水平

水平	因素分布		
	提取温度(A)//°C	提取时间(B)//min	投料量(C)//g
1	80	15	4.0
2	90	20	4.5
3	100	25	5.0

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制 由表 2 数据进行芦丁标准曲线的绘制,见图 1,得标准曲线回归方程 $y = 11.681x + 0.01428$, $R = 0.999$ 。

表 2 波长 510 nm 处测定不同浓度芦丁标准品紫外吸光度

组别	浓度(C)//mg/ml	紫外吸光度(A)
1	0	0.0045
2	0.008	0.1135
3	0.016	0.2090
4	0.024	0.2980
5	0.032	0.3830
6	0.040	0.4801
7	0.048	0.5743

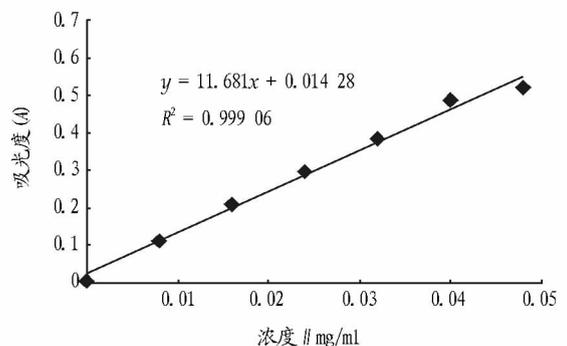


图 1 芦丁标准曲线

2.2 芦笋总黄酮的提取方法验证选择 超声辅助热水提法所测数据如表 3、表 4 所示,超声辅助醇提法所测数据如表 5 所示。

表 3 波长 510 nm 处超声辅助热水提取测定芦笋下脚料绿色段总黄酮紫外吸光度

组别	吸光度值			平均值	浓度计算值 mg/ml	黄酮得率 mg/g
	重复 1	重复 2	重复 3			
第 1 组	0.0419	0.0414	0.0407	0.0413	0.0263	13.15
第 2 组	0.0271	0.0270	0.0263	0.0268	0.0124	6.20
第 3 组	0.0276	0.0270	0.0267	0.0271	0.0127	6.35

比较超声辅助热水提取法和超声辅助醇提法试验组中最终总黄酮得率可知,相比较而言超声辅助醇提法提取芦笋

总黄酮得率显著高于超声辅助热水提取法。因此,决定采用超声辅助醇提取法提取芦笋总黄酮方法进行含量测定。

表4 波长510 nm处超声辅助热水提取测定芦笋下脚料白色段总黄酮紫外吸收度

组别	吸光度值			平均值	浓度计算值 mg/ml	黄酮得率 mg/g
	重复1	重复2	重复3			
0号(空白对照组)	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.00
1号(白色根部①组)	0.017 9	0.017 8	0.017 6	0.017 7	0.003 7	1.87
2号(白色根部②组)	0.017 7	0.017 8	0.017 7	0.017 7	0.003 7	1.87
3号(白色根部③组)	0.017 8	0.017 5	0.017 6	0.017 6	0.003 6	1.82
4号(白色根部③组)	0.017 3	0.017 4	0.017 2	0.017 3	0.003 4	1.68

表5 波长510 nm处超声辅助醇提取测定芦笋总黄酮紫外吸收度

组别	吸光度值			平均值	浓度计算值 mg/ml	黄酮得率 mg/g
	重复1	重复2	重复3			
0号(空白对照组)	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.00
1号(白色根部①组)	0.149 1	0.147 2	0.145 7	0.147 2	0.127 7	19.16
2号(白色根部②组)	0.128 0	0.127 4	0.126 2	0.127 4	0.108 7	16.31
3号(茎的绿色部分①组)	0.191 4	0.197 7	0.202 3	0.197 7	0.176 0	26.41
4号(茎的绿色部分②组)	0.238 5	0.237 1	0.234 9	0.237 1	0.213 8	32.06

2.3 芦笋不同部位总黄酮成分的差异比较 根据表6、7数据可知,白色根部的总黄酮含量分别是30.44、30.16 mg/g,平均值30.30 mg/g;茎的绿色部分总黄酮含量分别是21.90、22.19 mg/g,平均值22.05 mg/g;食用中部总黄酮含量分别是92.43、88.69 mg/g,平均值90.56 mg/g;食用下部总黄酮含量

分别是30.80、26.83 mg/g,平均值30.30 mg/g。

根据试验数据可知,芦笋食用中部总黄酮含量最高,依次是食用下部、白色根部、茎的绿色部分;并且可知食用下部和白色根部及茎的绿色部分含量比较接近,表明在芦笋的不同部位,总黄酮主要聚集在芦笋生理部位的上端。

表6 波长510 nm处超声辅助醇提取测定芦笋总黄酮紫外吸收度

组别	吸光度值			平均值	浓度计算值 mg/ml	黄酮得率 mg/g
	重复1	重复2	重复3			
0号(空白对照组)	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.00
1号(白色根部①组)	0.056 6	0.057 4	0.054 5	0.056 2	0.040 6	30.44
2号(白色根部②组)	0.057 8	0.055 4	0.054 3	0.055 8	0.040 2	30.16
3号(茎的绿色部分①组)	0.045 5	0.044 1	0.043 3	0.044 3	0.029 2	21.90
4号(茎的绿色部分②组)	0.044 9	0.044 6	0.043 9	0.044 7	0.029 6	22.19

表7 波长510 nm处超声辅助醇提取测定芦笋总黄酮紫外吸收度

组别	吸光度值			平均值	浓度计算值 mg/ml	黄酮得率 mg/g
	重复1	重复2	重复3			
0号(空白对照组)	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.00
1号(食用中部①组)	0.141 9	0.142 6	0.143 1	0.142 5	0.123 2	92.43
2号(食用中部②组)	0.137 3	0.138 2	0.136 5	0.137 3	0.118 3	88.69
3号(食用下部①组)	0.060 2	0.054 7	0.055 3	0.056 7	0.041 1	30.80
4号(食用下部②组)	0.051 1	0.051 3	0.051 1	0.051 2	0.035 8	26.83

2.4 芦笋袋泡茶单因素试验及正交试验

2.4.1 芦笋袋泡茶单因素试验。

2.4.1.1 投料量对黄酮得率的影响。在考察投料量时,综合考虑,在纯化用水量250 ml条件下,选择芦笋袋泡茶的投料量范围为4~5 g。

2.4.1.2 不同提取时间对黄酮得率的影响。由图2可知,在5~20 min时黄酮得率随提取时间的延长而明显提高,当浸提时间在20 min以上时,黄酮得率降低,故确定浸提时间为20 min。

2.4.1.3 不同提取温度对黄酮得率的影响。由图3可知,在温度50~90℃,随着温度的升高,黄酮得率增加,但温度太高(大于90℃)时,黄酮得率反而下降。这是由于温度太高致使黄酮类化合物结构被破坏。

2.4.2 芦笋袋泡茶正交试验。由正交试验设计及极差分析结果表明,3种因素对浸提效果影响大小依次为提取温度、提取时间、投料量,最佳浸提条件为A₂B₃C₁,即在90℃、投料

(下转第122页)

- [15] EJETA G, HASSEN M M, MERTZ E T. In vitro digestibility and amino acid composition of pearl millet (*Pennisetum typhoides*) and other cereals [J]. Proceedings of the national academy of sciences, 1987, 84(17): 6016-6019.
- [16] CHOWDHURY S, PUNIA D. Nutrient and antinutrient composition of pearl millet grains as affected by milling and baking [J]. Food/nahrung, 1997, 41(2): 105-107.
- [17] MBITHI-MWIKYA S, OOGHE W, VAN CAMP J, et al. Amino acid profiles after sprouting, autoclaving, and lactic acid fermentation of finger millet (*Eleusine coracana*) and kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2000, 48(8): 3081-3085.
- [18] ADEOLA O, ORBAN J I. Chemical composition and nutrient digestibility of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) fed to growing pigs [J]. Journal of cereal science, 1995, 22(2): 177-184.
- [19] TAYLOR J R N, BELTON P S, BETA T, et al. Increasing the utilisation of sorghum, millets and pseudocereals: Developments in the science of their phenolic phytochemicals, biofortification and protein functionality [J]. Journal of cereal science, 2014, 59(3): 257-275.

- [20] 田志琴. 小米多酚类活性物质的提取及抗氧化性研究 [D]. 焦作: 河南工业大学, 2011.
- [21] 张文昊, 邓媛元, 魏振承. 几种糙米的营养成分及抗氧化活性对比 [J]. 现代食品科技, 2013, 29(5): 1119-1122.
- [22] 邵雅芳. 稻米酚类化合物的鉴定, 分布, 遗传与相关基因的表达研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [23] KIM K H, TSAO R, YANG R, et al. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions [J]. Food chemistry, 2006, 95(3): 466-473.
- [24] VAHER M, MATSO K, LEVANDI T, et al. Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties [J]. Procedia chemistry, 2010, 2(1): 76-82.
- [25] IVANIŠOVÁ E, ONDREJOVI Č M, ŠILHÁR S. Antioxidant activity of milling fractions of selected cereals [J]. Nova biotechnologica et chimica, 2012, 11(1): 45-56.
- [26] 蔡碧琼, 余萍, 何海斌, 等. 水稻谷壳中总黄酮提取工艺及其性质表征 [J]. 江西农业大学学报, 2007, 29(1): 142-147.

(上接第 116 页)

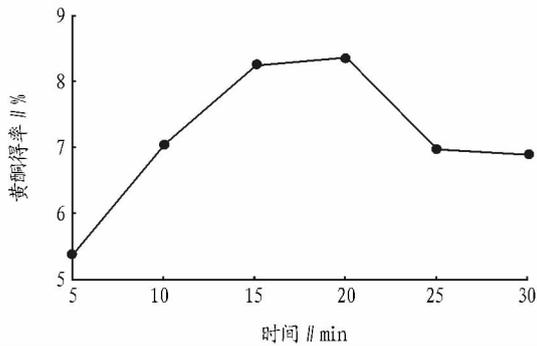


图2 不同提取时间对黄酮得率的影响

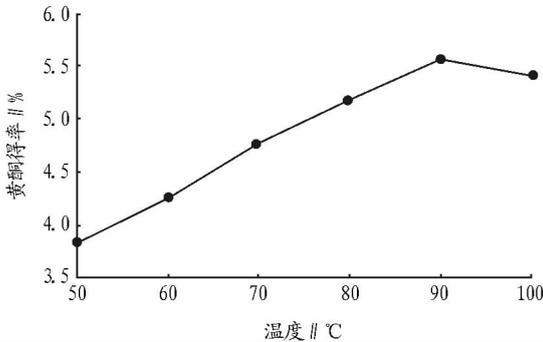


图3 不同提取温度对黄酮得率的影响

4.0 g 的条件下提取 25 min。对试验数据进行极差分析得因素 A(提取温度)影响显著,因素 B(提取时间)较显著,因素 C(投料)不显著。有一定影响因素作用的主次顺序为提取温度、提取时间、投料量,与极差分析的结果一致。按照上述最佳工艺条件对芦笋中黄酮类化合物进行提取,提取率为 4.842 mg/g。

3 结论

该试验对芦笋不同部位总黄酮含量的测定,可知在芦笋的不同部位总黄酮主要是在芦笋顶端含量较多,这一结果表明了在今后人们利用芦笋时,可根据所需要对芦笋进行合理的利用。

通过该试验可以从直观上了解到芦笋袋泡茶药用价值随时间、温度等因素的相关变化。通过此研究将会有利于推进芦笋种植业的发展,鼓励人们多饮用芦笋茶,促进芦笋相关食品加工业的发展,实现全民健康的目的,推动肿瘤医学的新进展,为芦笋产业及其天然资源开发利用提供理论依据。

表8 芦笋总黄酮提取工艺正交试验结果分析

编号	因素			吸光度	黄酮提取率 mg/g
	提取温度 (A) / °C	提取时间 (B) / min	投料量 (C) / g		
1	80	15	4.0	0.130	0.604
2	80	20	4.5	0.274	1.265
3	80	25	5.0	0.482	2.085
4	90	15	4.5	0.602	2.923
5	90	20	5.0	0.715	3.145
6	90	25	4.0	0.875	4.842
7	100	15	5.0	0.656	2.877
8	100	20	4.0	0.766	4.222
9	100	25	4.5	0.736	3.601
K_1	3.954	6.404	9.668		
K_2	10.911	8.632	7.790		
K_3	10.700	10.528	8.107		
R	6.956	4.123	1.878		

参考文献

- [1] 林友胜, 胡松青. 芦笋的药理和临床研究述要 [J]. 辽宁中医学院学报, 2005(6): 637-638.
- [2] 周利亘, 王春辉, 王君虹, 等. 芦笋的活性成分及其生物学功能 [J]. 安徽农学通报, 2006(2): 23-25.
- [3] 季宇彬, 许贺. 芦笋抗肿瘤活性成分及作用机制的研究进展 [J]. 药品评价, 2008(9): 428-432.
- [4] 刘俊山. 植物生产调节剂对豇豆采后生理影响的研究 [J]. 上海农学院学报, 1999, 17(4): 290-293.
- [5] MAKRI S D P, ROSSITER J T. Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa*) and asparagus spears (*Asparagus officinalis*): Effect on flavonol content and antioxidant status [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2001, 49(7): 3216-3222.
- [6] 孙春艳, 赵伯涛, 郁志芳, 等. 芦笋的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(5): 1-5.
- [7] 孙春艳, 赵伯涛, 郁志芳, 等. 芦笋的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2004(5): 23.
- [8] 刘树兴, 魏丽娜, 王维. 芦笋老茎中芦丁的提取工艺 [J]. 食品与发酵工业, 2005(12): 143-145.
- [9] 张素华, 王正云, 张翠英, 等. 芦笋中总黄酮的提取及初步精制 [J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2005, 26(3): 78-83.