

欧李叶片中多酚的提取工艺优化

唐洪梅, 李秀珍, 李学强

(河南科技大学林学院, 洛阳 471003)

摘要:【研究目的】以欧李叶片为试验材料, 多酚提取率为评价指标, 探讨欧李叶片多酚提取的工艺条件。【方法】以丙酮为提取剂, 选定浸提时间、溶剂浓度、料液比、浸提温度为考察的4个因素, 以 $L_9(3^4)$ 正交试验设计, 采用常规提取法和微波提取法研究提取欧李叶片中多酚的最佳条件。【结果】利用常规法从欧李叶片中提取多酚各因素对多酚提取率影响的主次顺序为: 浸提温度>浸提时间>固液比>提取剂浓度, 得出最优方案为 $A_1B_3C_3D_3$, 与试验中最佳处理组合 $A_1B_3C_3D_3$ 相一致; 利用微波法从欧李叶片中提取多酚各因素对提取率影响的主次顺序为: 提取剂浓度>固液比>辐射时间>辐射功率, 得出最优方案为 $A_1B_2C_3D_2$, 与试验中最佳处理组合 $A_1B_2C_2D_2$ 不一致。【结论】欧李叶片中多酚提取的最佳工艺为70%丙酮溶液, 固液比1:450, 浸提时间1.5 h, 浸提温度70℃。

关键词: 欧李叶片; 多酚; 提取工艺

中图分类号: S661.9

文献标志码: A

论文编号: 2010-2223

The Optimization of Polyphenols Extraction Process of *Prunus Humilis* leaves

Tang Hongmei, Li Xiuzhen, Li Xueqiang

(Forestry College of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003)

Abstract: 【OBJECTIVE】 This paper used *Prunus Humilis* leaves as experimental materials, the rate of polyphenols extraction indicators as the evaluation standard to explore the extraction process conditions of polyphenols in *Prunus Humilis* leaves. 【METHOD】 This paper had chosen acetone as extraction agent, and selected the extraction time, the solvent concentration, the liquid-solid ratio and the extraction temperature as four investigation factors, and used the $L_9(3^4)$ orthogonal experiment design, and used regular extraction method and microwave extraction method to study the best conditions of the extraction process of polyphenols of *Prunus Humilis* leaves. 【RESULTS】 The primary and secondary effects of polyphenols extraction indicators by using regular extraction method from *Prunus Humilis* leaves was as follows: extraction temperature>extraction time>solid-liquid ratio>extraction concentration; the optimal scheme was $A_1B_3C_3D_3$, which corresponded with the best treatment combination $A_1B_3C_3D_3$. The primary and secondary effects of polyphenols extraction indicators by using microwave method from *Prunus Humilis* leaves was as follows: extraction concentration>solid-liquid ratio>irradiation time>radiated power; the optimal scheme was $A_1B_2C_3D_2$, which did not correspond with the best treatment combination $A_1B_2C_2D_2$. 【CONCLUSION】 The best extraction process of polyphenols in *Prunus Humilis* leaves was the 70% of acetone solution, the solid-liquid ratio was 1:450, the extraction temperature was 70℃, the extraction time was 1.5 h.

Key words: *Prunus Humilis* leaves; polyphenols; extraction process

基金项目: 河南省科技攻关项目“河南野生欧李种质资源的调查、评价和利用”(0624090004)。

第一作者简介: 唐洪梅, 女, 1986年出生, 四川资阳人, 在读硕士, 研究方向: 果树生理。通信地址: 471003 河南省洛阳市涧西区西宁路35号, Tel: 0379-64281823, E-mail: tanghongmeihave@126.com。

通讯作者: 李学强, 男, 1969年出生, 河南人, 副教授, 博士, 研究方向: 果树生理。通信地址: 471003 河南省洛阳市涧西区西宁路35号, Tel: 0379-64282262, E-mail: gnaiqueuxil@163.com。

收稿日期: 2010-07-21, 修回日期: 2010-08-27。

0 引言

植物体内的多酚(polyphenol),是一类复杂的酚类次生代谢物,在许多针叶树皮中含量仅次于纤维素、半纤维素和木质素^[1]。植物多酚具有抗癌、抗动脉硬化、防治冠心病与中风等心血管疾病;保护软骨与增强骨质、生发与乌发、保护视网膜、抗视力退化、抗菌、抗病毒等多种药理作用^[2]。目前国内外主要从天然植物如板栗壳^[3]、茶叶^[4]、火棘^[5]、野苋菜^[6]、葡萄^[7]、石榴皮^[8]、杏仁红衣^[9]等材料中进行多酚的提取,欧李叶片中也富含多酚,而欧李叶片中提取多酚的研究还未见报道。作者在前人研究方法的基础上,采用常规法和微波法提取欧李叶片中多酚,探讨欧李叶片多酚提取的工艺条件,从而为植物多酚的开发利用提供理论依据,为欧李的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

试验于2007年7月—2008年3月在河南科技大学林学院果树试验室进行。

1.2 试验材料

采自河南科技大学果树实验田内2年生欧李植株上的成熟叶片,清洗干净后阴干,粉碎,过80目筛后,置于干燥器中保存备用。

1.3 试剂

没食子酸,丙酮,碳酸钠,钨酸钠,钼酸钠,浓磷酸,浓盐酸,硫酸锂,溴水等均为国产分析纯。

Folin-Ciocalteu 试剂:在1000 mL的磨口圆底烧瓶中加入钨酸钠50 g,钼酸钠12.5 g,蒸馏水350 mL,浓磷酸25 mL,浓盐酸50 mL,充分混匀,小火回流10 h。再加入硫酸锂75 g,蒸馏水25 mL,溴水数滴,开口继续沸腾15 min,使溴水挥发完全为止。冷却后定容至500 mL,过滤,滤液呈绿色,置于棕色试剂瓶中保存。使用时加入1倍体积的蒸馏水,此液为应用液,置于冰箱中可以长期保存。

1.4 仪器

微型植物试样粉碎机:FZ102,购自北京中兴伟业仪器有限公司;分析天平:d=0.001 g,购自瑞士普利赛斯公司;数显水浴锅:HH-W420,购自江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;台式离心机:TDL-60B,购自上海精密仪器仪表有限公司;紫外分光光度计:UVmini-1240,购自上海晓光仪器有限公司;微波炉:P70D20N1L-M1(S0),购自佛山市顺德区格兰仕微波炉电器有限公司。

1.5 试验方法

1.5.1 常规条件提取欧李叶片中多酚的正交试验设计以浸提时间、溶剂浓度、料液比、浸提温度为因素进行

表1 常规条件提取欧李叶片中多酚的正交试验因素水平

水平	固液比 (g/mL)	浸提时间/h	浸提温度/°C	提取剂浓度/%
1	1:350	0.5	70	50
2	1:400	1	80	60
3	1:450	1.5	90	70

$L_9(3^4)$ 正交试验设计,按照表1设水平。

1.5.2 微波提取欧李叶片中多酚的正交试验设计以辐射时间、溶剂浓度、料液比、辐射功率为因素进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,按照表2设水平。

表2 微波提取欧李叶片中多酚的正交试验因素水平

水平	辐射功率/W	辐射时间/min	提取剂浓度/%	固液比
1	119	4	50	1:200
2	280	5	60	1:250
3	462	6	70	1:300

1.5.3 没食子酸标准曲线制作 参考韩明等^[6]的方法,以没食子酸为标准样品,得标准曲线。得到没食子酸含量 $Y(\text{mg/mL})$ 与吸光度 A 之间的回归方程:

1.5.4 多酚含量的测定 按 $L_9(3^4)$ 正交试验设计的处理进行试验,称取0.125 g欧李叶片粉末,装入50 mL三角瓶中,加入丙酮溶液(V),密封,在设定条件下浸提一段时间,然后将提取液转移至10 mL离心管中以4000 r/min离心,吸取上清液0.5 mL装入盛有10 mL蒸馏水的25 mL容量瓶中,加入1 mL Folin-Ciocalteu试剂和8 mL 7.5% Na_2CO_3 溶液,摇匀,然后放入100°C水浴锅中1 min,冷却定容,放置0.5 h后,于760 nm处比色,记录吸光值,然后根据标准曲线计算样品液中多酚浓度,进而计算出欧李叶片中的多酚得率,其计算公式为:多酚得率(%)=(50 $Y \times V$)/125,式中 Y 表示吸光度; V 表示丙酮体积。

1.5.5 统计分析 采用SPSS13.0数据分析软件进行数据处理,正交试验分析软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 常规条件提取结果

由表3可知,在该试验条件下,各因素对多酚提取率影响的主次顺序为:浸提温度>浸提时间>固液比>提取剂浓度。由表3还可以看出,各个因素不同水平的处理效果差异较大。在浸提温度处理中,水平1提取率的平均值最高;在固液比处理中,水平3提取率的平均值最高;在浸提时间处理中,水平3提取率的平均值最高;在提取剂浓度处理中,水平3提取率的平均

表3 常规条件提取欧李叶片中多酚的正交试验结果

序号	浸提温度A	固液比B	浸提时间C	提取剂浓度D	多酚含量/%
1	1	1	1	1	5.3412
2	1	2	2	2	7.1365
3	1	3	3	3	10.5358
4	2	1	2	3	5.7089
5	2	2	3	1	5.9872
6	2	3	1	2	5.5432
7	3	1	3	2	4.748
8	3	2	1	3	4.8353
9	3	3	2	1	5.1442
K1	7.671	5.266	5.240	5.491	
K2	5.746	5.986	5.997	5.809	
K3	4.909	7.074	7.090	7.027	
R	2.762	1.808	1.850	1.536	

值最高,从而得出最优处理组合为 $A_1B_3C_3D_3$ 。在试验的9个处理中,处理3的多酚提取率最高,其水平组合为 $A_1B_3C_3D_3$,是最佳处理组合。推导出的最优处理组合与试验中最佳处理组合相一致,即 $A_1B_3C_3D_3$,需做重现性试验验证其处理效果的稳定性。

由表4可知,多酚平均得率为10.5358%,3次重复的结果相差不大,说明重现性较好,故常规条件提取欧李叶片中多酚的最佳工艺条件为:70%的丙酮,固液比1:450,提取温度为70℃,提取时间1.5 h。

表4 常规条件提取欧李叶片中多酚的重现性试验

重复次数	多酚得率/%	多酚平均得率/%
1	10.7006	
2	10.4407	10.5358
3	10.4666	

2.2 微波提取结果

由表5可见,在该试验条件下,各因素对提取率影响的主次顺序为:提取剂浓度>固液比>辐射时间>辐射功率。根据各个因素不同水平的处理效果可以推出最优处理组合为 $A_1B_2C_3D_2$,与试验中最佳处理组合不一致,试验中的最佳处理组合为 $A_1B_2C_2D_2$,故应该做验证性试验检验2个处理组合的优劣。

由表6可知,最佳处理组合 $A_1B_2C_3D_2$ 与最优组合 $A_1B_2C_2D_2$ 间差异不显著,但从成本方面考虑,最优组合 $A_1B_2C_2D_2$ 的处理功率较小,可以降低能源消耗,故微波法提取欧李叶片中多酚的最佳工艺条件为 $A_1B_2C_2D_2$,

表5 微波提取欧李叶片中多酚的正交试验结果分析

水平	固液比A	辐射时间B	辐射功率C	提取剂浓度D	多酚含量/%
1	1	1	1	1	3.4312
2	1	2	2	2	4.409
3	1	3	3	3	3.1683
4	2	1	2	3	1.8202
5	2	2	3	1	3.3772
6	2	3	1	2	3.0015
7	3	1	3	2	3.7271
8	3	2	1	3	2.7963
9	3	3	2	1	3.1237
K1	3.669	2.993	3.076	3.331	
K2	2.733	3.527	3.118	3.713	
K3	3.216	3.098	3.424	2.595	
R	0.936	0.534	0.348	1.118	

表6 微波法提取欧李叶片中多酚的验证性试验 %

组合	多酚得率			多酚平均得率
	I	II	III	
$A_1B_2C_2D_2$	4.4010	4.3619	4.4487	4.4039a
$A_1B_2C_3D_2$	3.5831	3.5812	3.5902	3.5848a

注:数字后面的小写字母表示 $P=0.05$ 显著水平。

即微波辐射时间5 min、微波辐射功率280 W、固液比1:200、提取剂浓度为60%的丙酮溶液。

3 结论与讨论

欧李叶片中提取多酚的最佳工艺条件为:70%丙酮溶液,固液比为1:450,浸提时间为1.5 h,浸提温度为70℃,多酚提取率为10.5358%。

罗金岳等^[10]用微波辅助提取淡竹叶中茶多酚的结果表明:微波法与传统的索氏提取法相比,提取时间缩短,提取效率较高。刘洪等^[11]、汪兴平等^[12]分别对四川会理石榴皮、绿茶中的多酚进行提取,得出微波法比水-乙醇复合提取体系好。宋焯等^[13]从苹果渣中提取多酚表明:微波法明显优于回流提取法和超声波提取法。高岐等^[14]用微波辅助浸提法测定茶叶中茶多酚表明:微波浸提法与经典加热法无显著差异。而本试验所用的常规法和微波法的结果来看,微波提取不如常规提取效果好,常规法提取出的多酚得率为10.5358%,比微波法提取率高1倍多。这可能由于微波高温加快了欧李多酚发生氧化聚合,产生多种多酚氧化聚合物,使得欧李多酚含量有所下降^[15]。本试验常规法虽然耗时长(1.5 h),微波法只需要几分钟,但常规法提取率明显高于微波法。

参考文献

- [1] 程春龙,李俊清.植物多酚的定量分析方法和生态作用研究进展[J].应用生态学报,2006,17(12):2457-2460.
- [2] 齐继成.植物多酚的开发应用前景[J].中国医药技术与市场,2007,4(7):31-33.
- [3] 鲁晓翔,赵晨光,连喜军,等.板栗壳多酚提取条件及其抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2008,29(3):32-35.
- [4] 梁斌,万福成.粗陈茶叶中茶多酚的提取与应用[J].农技服务,2008,25(3):103-104.
- [5] 李伟,张应团.火棘多酚类物质的体外抗氧化作用[J].食品工业科技,2008,9(29):121-123.
- [6] 韩明,古佳妍,杜伟凤,等.野苋菜多酚类化合物提取工艺的研究[J].特产研究,2008,(3):53-55.
- [7] 汪成东,张振文,宋士任,等.葡萄多酚物质提取方法的研究[J].西北植物学报,2004,24(11):2131-2135.
- [8] 王晓瑜,高晓黎,买尔旦·马合木提,等.新疆石榴皮多酚类物质提取实验研究[J].中国民族民间医药,2007:8-10.
- [9] 王昌禄,张明辉,陈奇强,等.杏仁红衣总多酚提取条件的优化[J].农产品加工,2008,5(5):50-52.
- [10] 罗金岳,程康华,刘经诚,等.淡竹叶中茶多酚的微波辅助提取[J].南京林业大学学报,2005,7(4):29-32.
- [11] 刘洪,敖波,范淑辉,等.四川会理石榴皮中多酚微波提取的试验研究[J].安徽农业科学,2008,36(26):11172 - 11173,11178.
- [12] 汪兴平,周志,莫开菊,等.微波对茶多酚浸出及其结构和组成的影响研究[J].农业工程学报,2002,3(4):110-114.
- [13] 宋焯,吴茂玉,法涛,等.微波法提取苹果渣中多酚的工艺研究[J].食品科技,2007,10:227-230.
- [14] 高岐,赵三银,蒋荣华,等.微波辅助浸提法测定茶叶中茶多酚的含量[J].江苏农业科学,2007,2:189-190.
- [15] 滕宝仁,彭增华,谭蓉,等.微波干燥普洱茶对茶多酚的影响[J].食品科技,2007,11:97-99.