

微波浸提竹叶黄酮的工艺研究^{*}

高梦祥¹, 张佳兰², 王江明¹

(1 长江大学 生命科学学院, 湖北 荆州 434025;

2 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 在单因素试验的基础上, 采用正交试验, 研究了乙醇体积分数、固液比、微波作用时间、微波功率对竹叶黄酮提取量的影响规律。得出了竹叶黄酮提取工艺的最佳参数组合为: 乙醇体积分数 10%, 固液比 1:40 (g/mL), 微波作用时间 6 min, 功率 400 W。在最佳参数组合下, 每克竹叶可提取总黄酮 4.689 mg。

[关键词] 竹叶; 黄酮; 微波; 浸提

[中图分类号] S795.08; Q684

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)07-0147-04

竹子是禾本科多年生绿色植物, 是当今世界上最具有使用价值的植物之一。竹子的种类很多, 全世界约有 70 多属, 1 200 多种, 竹林面积约 2 100 万 hm^2 。我国现有竹林面积 100 多万 hm^2 ^[1], 以每 hm^2 年产 150 kg 干竹叶计算, 如能利用其中的 1%, 每年就可提供约 3 万 t 干竹叶。我国的竹林大多分布在偏远贫困地区, 据不完全统计^[2], 我国有 1 亿多人口全部或部分从竹林和竹产品加工中获取生活费用。竹林不仅与人们的生计息息相关, 而且还在涵养水源、保持水土、保护生态环境中发挥着特殊作用。当前, 西部大开发中的一项重要举措就是“退耕还竹”, 因此开发竹叶资源具有重要的经济和社会意义。

竹叶是卫生部确定的药食两用药材, 既可药用又可食用, 具有较好的安全性, 所以竹叶是一种可以开发的新型药用资源。近年来对竹叶的研究发现^[3], 竹叶中含有大量对人体有益的活性物质, 包括黄酮酚酸类化合物、氨基酸肽类化合物、萜醌类化合物和萜类内脂化合物等, 其中主要是黄酮等酚类化合物。对竹叶黄酮和银杏黄酮的主要组成成分和主要药理活性的比较研究表明, 银杏黄酮与竹叶黄酮有着相似的化学组成, 并且两者都具有明显的抗脂质过氧化、清除羟自由基和调节血脂的作用^[4-6], 而竹叶黄酮以其巨大的资源优势, 良好的药理活性和极低的毒性^[7], 将成为一种非常有应用前途的药物。

微波射线穿透性极好, 可施加于任何天然生物材料, 在接近环境温度下抽提所需的有效成分, 尤其对热敏性成分的浸提极为有效。随着微波技术在工

业中的普及, 微波萃取作为一种新的顺应潮流的高新技术, 必将得到迅速发展。

本研究利用微波技术研究了乙醇体积分数、固液比、微波作用时间和微波功率对竹叶黄酮的影响规律, 采用正交试验, 得出了竹叶黄酮提取工艺的最佳参数组合。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要仪器、试剂与材料

1.1.1 主要仪器 Whirlpool 微波炉(满载 800 W, 2 450 MHz), 广东惠尔普公司生产; 722 型分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司生产; MA 110 型电子分析天平, 日本 Kyoto 公司生产; 粉碎机, 烘箱, 均由金坛市富华电器有限公司生产。

1.1.2 试剂 芦丁, 生化试剂, 北京化学试剂公司产品; 体积分数 95% 乙醇, 亚硝酸钠, 硝酸铝, 氢氧化钠, 均为分析纯。

1.1.3 材料 所用竹叶采自长江大学西校区校园内。

1.1.4 原料处理 取一定量的竹叶于 60℃ 烘箱内干燥约 12 h, 取出后用粉碎机充分粉碎, 将所得竹叶粉放入干燥室内备用。

1.2 标准曲线的制作

准确称取充分干燥后的芦丁标准试剂 0.02 g, 用体积分数 60% 乙醇溶解, 并全部转入 100 mL 容量瓶中, 用 60% 乙醇定容, 摇匀, 得质量浓度为 0.2 mg/mL 的标准液。分别取上述芦丁标准溶液 0,

* [收稿日期] 2004-10-09

[作者简介] 高梦祥(1971-), 男, 陕西武功人, 讲师, 博士, 主要从事农产品深加工研究。

1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 和 10.0 mL 于 6 支 50 mL 容量瓶中, 用体积分数 60% 乙醇补至 25 mL, 加入 50 mg/mL 亚硝酸钠 1.4 mL, 摇匀, 放置 5 min 后加入 100 mg/mL 硝酸铝 1.4 mL, 6 min 后再加入 1 mol/L 氢氧化钠 10 mL, 混匀, 用体积分数 60% 乙醇稀释至刻度, 10 min 后于波长 510 nm 处比色测定, 参比为空白试剂。得标准曲线(芦丁浓度 y 和吸光值 x 的关系)如图 1 所示, 其回归方程 $y(\mu\text{g}/\text{mL}) = 83.537x + 1.4811, R^2 = 0.995$ 。

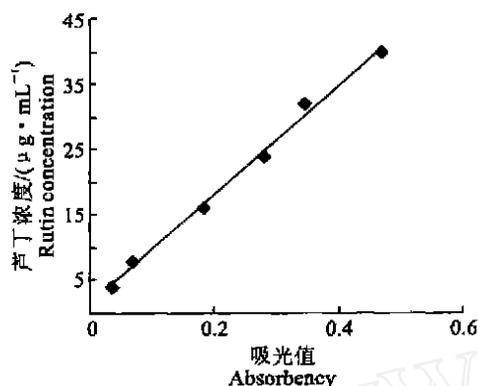


图 1 芦丁浓度与吸光值标准曲线

Fig 1 Standard curve of rutin concentration and absorbency

1.3 竹叶黄酮的单因素提取试验

准确称取粉碎后的竹叶粉 3 g, 与不同体积分数乙醇同时加入烧瓶中, 在一定微波功率下提取一定时间, 冷却, 过滤, 按 1.2 中的步骤进行, 于波长 510 nm 处比色, 参比为空白试剂。在测定某一因素对竹叶黄酮提取量的影响时, 固定其他因素及其水平。

1.4 确定竹叶黄酮最佳提取工艺条件的正交试验

在单因素试验基础上, 考虑安全性及经济性, 选择微波功率为中火, 以乙醇体积分数、微波作用时间、固液比为影响因素, 采用正交试验确定各因素不同水平对竹叶黄酮提取量的影响, 其因素水平设置见表 1, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验方案设计。

表 1 竹叶黄酮提取工艺条件的正交试验因素与水平

Table 1 Factors and level of orthogonal test of extracting flavonoids of bamboo leaves

水平 Level	因素 Factor		
	乙醇体积分 数/% Percent of ethanol volume	固液比 (g/mL) Ratio of solid and liquid	微波作用 时间/min Microw ave treating time
1	5	1:30	4
2	10	1:40	5
3	15	1:50	6

2 结果与分析

2.1 乙醇体积分数对竹叶黄酮提取量的影响

在微波炉功率为中火, 固液比为 1:50 (g/mL), 微波作用时间为 5 min 的条件下, 不同乙醇体积分数对竹叶黄酮提取量的影响规律见图 2。由图 2 可以看出, 用乙醇做溶剂有助于竹叶黄酮的提取, 这是因为乙醇对黄酮的溶解度比水大, 在浸泡过程中, 乙醇等有机溶剂对细胞的破坏作用也比水强, 在微波场中这种差异则更加明显; 在微波作用下, 加入低体积分数乙醇(10%)即可提高竹叶中黄酮的提取量(由 3.77 mg/g 升高到 4.86 mg/g), 而高体积分数乙醇的提取效果更好, 几乎能将竹叶中的黄酮全部提取出来^[6]。但在传统提取方法中, 乙醇体积分数增加对黄酮提取量增幅的影响不大^[5]。目前使用的微波发生器都是家用微波炉, 是个封闭体系, 高体积分数的乙醇沸点较低, 易挥发, 使得微波炉内有大量乙醇蒸汽, 这将是一个安全隐患, 并且对操作人员的身体健康不利, 也会造成环境污染。另外, 高体积分数的乙醇价格也比较昂贵, 如果做放大试验, 必须增加回收装置和防爆装置, 不利于工业化生产, 故本试验决定采用体积分数 10% 的乙醇提取黄酮。

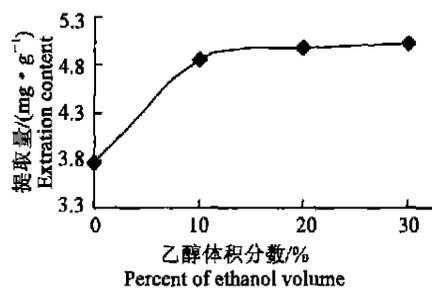


图 2 乙醇体积分数对竹叶黄酮提取量的影响

Fig 2 Effect of the percent of ethanol volume on extraction content of bamboo leaves

2.2 固液比对竹叶黄酮提取量的影响

在微波炉功率为中火, 乙醇体积分数为 10%, 微波作用时间为 5 min 的条件下, 不同固液比对竹叶黄酮提取量的影响规律见图 3。由图 3 知, 黄酮提取量随溶剂量的增加先升高再降低, 在固液比为 1:50 (g/mL) 时, 黄酮提取量出现峰值。这是由于微波辐射待提取样品时, 会使其超微结构特性遭到破坏^[8,9]。加拿大 Para 等^[10]在美国申请的专利“天然物的微波萃取”中也证实, 微波能够振碎植物腺体和脉管中的细胞而不伤害周围的组织, 提取效率很高。

固液比较小时, 竹叶吸收的微波能量相对较多, 细胞破碎的程度就比较好, 溶解的黄酮就多; 而溶剂体积过大时, 竹叶吸收的能量相对减少, 细胞破碎程度相对就会减小, 所以黄酮溶解量也会相应减少。

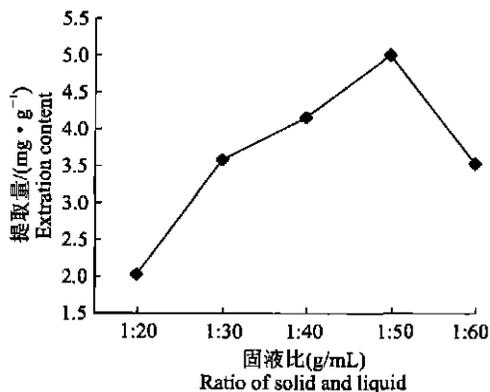


图3 固液比对竹叶黄酮提取量的影响

Fig. 3 Effect of the ratio of solid to liquid on extraction content of bamboo leaves

2.3 微波作用时间对竹叶黄酮提取量的影响

在微波炉功率为中火, 乙醇体积分数为 10%, 固液比为 1:50 (g/mL) 的情况下, 不同微波作用时间对竹叶黄酮提取量的影响规律见图 4。由图 4 可知, 黄酮提取量随微波作用时间的延长先升高再降低, 在微波作用时间为 5 min 时, 黄酮提取量出现峰

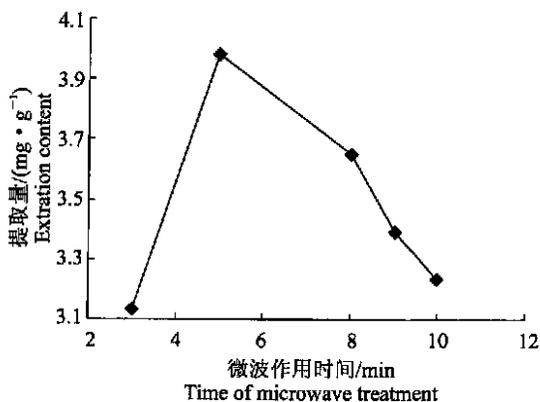


图4 微波作用时间对竹叶黄酮提取量的影响

Fig. 4 Effect of the time of microwave treatment on extraction content of bamboo leaves

2.5 微波提取竹叶黄酮的最佳工艺条件

表 2 的正交试验结果表明, 影响微波提取竹叶黄酮的各因素主次顺序为: 乙醇体积分数 > 微波作用时间 > 固液比。最佳因子组合为: 乙醇体积分数 10%, 固液比 1:40 (g/mL), 微波作用时间 6 min。

值。这可能是由于在中火 (400 W) 时, 微波在短时间内对细胞膜的破碎作用就比较大, 溶出物多, 黄酮提取量也就高。随时间增加, 膜进一步破裂, 样品中粘液质等杂质就会进入浸出液, 使得浸出液粘度增大, 从而扩散速度变慢, 过滤也变得困难, 这样, 就会因较多黄酮含于滤渣而损失。同时, 随时间增加, 乙醇挥发增多, 随其一起损失的黄酮也就增多。

2.4 微波功率对竹叶黄酮提取量的影响

在乙醇体积分数为 10%, 固液比为 1:50 (g/mL), 微波作用时间为 5 min 的情况下, 不同微波炉功率对竹叶黄酮提取量的影响规律见图 5。由图 5 可知, 微波功率为中火 (400 W) 时, 黄酮提取量可达 3.22 mg/g; 中高火 (600 W) 和高火 (800 W) 时的黄酮提取量稍有降低, 但相差不多; 暖火 (200 W) 时的黄酮提取量最低。这可能是因为在暖火时, 微波对细胞膜的破碎作用比较小, 分子运动也不剧烈, 故黄酮浸出率不高; 随着微波功率不断增加, 分子运动加剧, 细胞膜破碎程度加大; 另外, 微波的选择性加热性能起到了一定的作用, 黄酮浸出率也随着升高; 但当微波炉功率太大时, 细胞膜并不会无限制破碎, 而微波对细胞内物质的选择性加热性能差异则减小, 一些易溶于水的物质先被溶解, 从而造成黄酮提取量的降低。

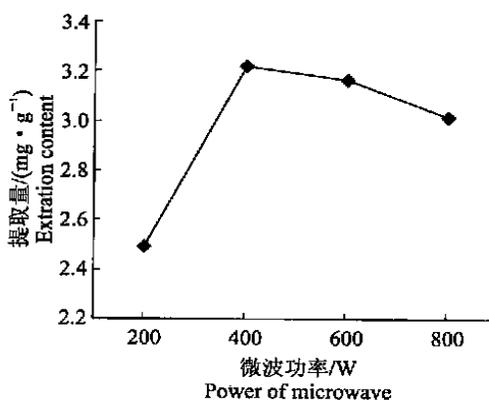


图5 微波功率对竹叶黄酮提取量的影响

Fig. 5 Effect of microwave power on extraction content of bamboo leaves

这种最佳组合恰好与实际试验中的 5 号试验水平相同。故可知理论分析得出的最佳水平组合与实际得到的最优水平组合是一致的。在此最佳参数组合条件下, 黄酮提取量为 4.689 mg/g。

表 2 微波提取竹叶黄酮工艺条件的正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test of extracting flavonoids of bamboo leaves by microwave

处理 Treatment	乙醇体积 分数/% Percent of ethanol volume	固液比 (g/mL) Ratio of solid and liquid	微波作用 时间/min Microwave treating time	误差 Error	提取量/ (mg · g ⁻¹) Extraction content
1	1	1	1	1	3.481
2	1	2	2	2	3.653
3	1	3	3	3	3.812
4	2	1	2	3	3.747
5	2	2	3	1	4.689
6	2	3	1	2	4.001
7	3	1	3	2	3.843
8	3	2	1	3	3.701
9	3	3	2	1	4.151
\bar{K}_1	3.649	3.69	3.728	4.107	= 35.078
\bar{K}_2	4.147	4.014	3.850	3.832	
\bar{K}_3	3.898	3.988	4.115	3.75	
R	0.498	0.324	0.387	0.357	

3 讨 论

众所周知,植物细胞中有效成分大部分含于细胞质的质体(如叶绿体、线粒体、高尔基体、淀粉粒等)中。细胞壁为多孔通透性网状结构,一般不会影响有效成分的溶出;细胞膜为选择透过性膜,叶绿体和线粒体为双层膜结构,液泡为单层膜等,这些膜结构对有效成分进出细胞有阻碍作用,不利于有效成分的提取。

传统的萃取过程中,能量首先无规则地传递给萃取剂,然后萃取剂扩散进入基体物质,再从基体溶解或夹带多种成分扩散出来,遵循加热—渗透—溶解—渗透出的模式,萃取的选择性很差。有限的选择只能通过改变溶剂性质或延长溶剂萃取时间来获得,前者由于同时受溶解能力和扩散系数的限制,选

择面很窄;后者则大大降低了萃取效率和速度。

本研究利用微波提取竹叶黄酮,具有提取量高、准确、快速,操作成本和原料预处理成本低,并且对环境无害等优点。这是由于生物体内的水分是极性分子,在微波的交变电磁场作用下引起强烈的极性振荡,导致细胞分子间氢键松弛,细胞膜结构电击穿破裂,加速了溶剂分子对基体的渗透和待提取成分的溶剂化^[9]。同时,在微波场中,吸收微波能力的差异使得基体物质的某些区域或萃取体系中的某些组分被选择性加热,分子运动加剧,在极短时间内使细胞膜破裂,从而使被萃取物质从基体或体系中分离,进入到介电常数较小、微波吸收能力相对较差的萃取剂中。并且微波的热效率高,升温快速均匀,大大缩短了萃取时间,提高了萃取效率。

[参考文献]

- [1] 李惠珍,陈朝洋.天然食品防腐剂—竹叶的研究 1. 抗菌物的提取、抗菌活性及稳定性[J].福建师范大学学报(自然科学版),1990,6(2): 74-84
- [2] 陈随军,江建设.竹叶加工企业竹农交易模式的分析与探讨[J].竹子研究汇刊,2004,23(3): 47-51
- [3] 陈志科,谢碧霞.竹叶活性成分分析及其提取物抗菌效果[J].中南林学院学报,2004,24(4): 70-73
- [4] 黄京华.丛生竹黄酮类化合物的分析研究及其在分类上的应用[J].竹子研究汇刊,1993,12(1): 18-27
- [5] 卢艳花.黄甜竹黄酮类化合物的提取与分离[J].竹类研究,1994,(1): 50-54
- [6] 贾之慎.竹叶中黄酮类化合物总量的研究[J].竹子研究汇刊,1995,14(2): 39-45
- [7] 李洪玉,孙静芸.竹叶化学成分研究[J].中药材,2003,26(8): 562-563
- [8] 汪秋安,孙朝旭.天然有机化合物提取新方法[J].北京日化,2000,(2): 23-25
- [9] 李 嵘,金美芳.微波法提取银杏黄酮的新工艺[J].食品科学,2000,21(2): 39-41
- [10] Para J R, Hasler A, Stiche O, et al Microwave assisted natural products extraction[P]. U. S. Patent: 5,002,784, 1991-02-19

(下转第 154 页)

Screening of flocculant-producing microorganisms and studying of the flocculant activity

YAN Xia, ZHANG Wei, WANG Li

(College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 5 strains were isolated and purified from sewage sludge. Each strain was cultured in relevant flocculant-producing mediums. Among these strains, E₁ had high and stable flocculating activity for Kaolin suspension. Ca²⁺ was of help in flocculation. When the sample was added at the proportion of 2.0%, the flocculation activity reached 90.32%, and remained firm as pH value changed. The optimum cultural condition of E₁ was decided: pH 8.0, temperature 40 °C, cultural time 72 h at the rate of 180 r/min.

Key words: bioflocculant; screening; flocculant activity

(上接第 150 页)

Abstract ID: 1671-9387(2005)07-0147-EA

Extracting flavonoids of bamboo leaves by microwave

GAO Meng-xiang¹, ZHANG Jia-lan², WANG Jiang-ming¹

(¹ College of Life Sciences, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China;

² College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Extraction of Bamboo Leaves (EBL) is a new developing vegetable flavone preparation. The single experimental factor, such as microwave power, percent of ethanol volume, microwave treating time, ratio of solid to liquid was studied. Then, the optimum parameters were obtained by orthogonal test at the ratio of solid to liquid 1:40 (g/mL), microwave treating 6 min, microwave power 400 W, percent of ethanol volume 10%. The total flavonoids content of bamboo leaves is 4.689 mg/g at the optimum parameters.

Key words: Bamboo leaves; flavonoids; microwave; extraction