

保鲜与加工

Storage and Process

ISSN 1009-6221, CN 12-1330/S

《保鲜与加工》网络首发论文

题目：藤三七茎总黄酮微波提取工艺的优化
作者：孟祥凤，张红，赵艺飞，左晓哲，尚爽
网络首发日期：2020-05-15
引用格式：孟祥凤，张红，赵艺飞，左晓哲，尚爽. 藤三七茎总黄酮微波提取工艺的优化. 保鲜与加工.
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1330.S.20200515.1317.004.html>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

藤三七茎总黄酮微波提取工艺的优化

孟祥凤, 张红*, 赵艺飞, 左晓哲, 尚爽

(德州学院 生命科学学院, 山东 德州 253023)

摘要: 以自然生长的藤三七为原料, 利用不同浓度的乙醇作为提取剂, 采用微波法提取藤三七总黄酮。在单因素实验基础上, 分别研究不同部位、微波时间、微波功率、乙醇浓度对藤三七总黄酮提取率的影响, 并得出影响因素主次和最佳提取方案。结果表明, 总黄酮在藤三七茎部位含量较高且不易被氧化; 藤三七茎中总黄酮的最佳提取工艺为: 微波时间 70s、微波功率 320W、乙醇浓度 70%、料液比 1:80, 在此条件下, 总黄酮得率为 7.42%。影响提取率的因素主要为微波功率和乙醇浓度, 在生产加工中应对其加以控制。
关键词: 藤三七; 总黄酮; 微波提取; 正交试验

Optimization of Extraction Process of Total Flavonoids from *Anredera Cordifolia*

MENG Xiang-feng, ZHANG Hong*, ZHAO Yi-fei, ZUO Xiao-zhe, SHANG Shuang

(College of Life Sciences, Dezhou University, Dezhou 253023, China)

Abstract: Naturally growing stems of *Anredera Cordifolia* were used as raw materials for extraction, and total concentration of flavonoids was extracted by microwave method with ethanol extraction. Based on single-factor experiments, it studied the effects of different parts, microwave time, microwave power, and ethanol concentration on the extraction rate of total flavonoids from *Anredera Cordifolia*. The result showed that the content of flavonoids in the stem part of *Anredera Cordifolia* was higher than that in other parts and the stem was not easily oxidized. The best extraction process of total flavonoids in the stem of *Anredera Cordifolia* was: microwave time 70s, microwave power 320W, ethanol concentration 70%, the ratio of feed liquid was 1:80. Under this condition, the yield was 7.42%. The factors affecting the extraction rate were mainly microwave power and ethanol concentration, which should be controlled during production and processing.

Key words: *Anredera Cordifolia*; total flavonoids; microwave extraction; orthogonal test

藤三七为落葵科落葵薯属多年生蔓生藤本植物^[1]。其根叶微苦、性温, 能补益肝肾、壮腰膝、活血消肿化痰, 用于腰膝痹痛、病后体弱、跌打损伤、骨折^[2], 具有抗癌防老等功效。其主要成分为皂苷类和黄酮类化合物^[3]。藤三七生长速度快, 受环境影响小, 是极易采取的食品原料。近年来对藤三七的开发研究逐步加强, 但对微波法^[4-5]提取藤三七总黄酮的研究鲜少见报道。该研究以自然生长的藤三七为主要原料, 采用微波辅助乙醇提取法来提取总黄酮, 进而通过正交实验来确定藤三七总黄酮最佳提取方案, 从而为藤三七的进一步加工和研究提供借鉴和参考。微波辅助提取法具有简单高效、加热均匀、低耗能耗材、应用面广的特点, 能够安全快速地得到产物。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料与试剂

藤三七，采自本校校区；芦丁标准品（纯度 $\geq 98\%$ ），购于合肥博美生物科技有限责任公司，其他药剂均为国产分析纯。

1.1.2 仪器与设备

紫外可见分光光度计(UV-5500)：上海元析仪器有限公司；电子天平(PL203)：梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司；电热恒温水浴锅(HH S21-8S)：上海新苗医疗器械制造有限公司；数显鼓风干燥箱(GZX-9070 MBE)：上海博迅实业有限公司医疗设备厂；可调功率微波化学反应器(LWMC-205)：南京陵江科技开发有限责任公司；黄城高速多功能粉碎机；索氏提取器(SXT-06)：上海华睿仪器有限公司；循环水式多用真空泵(SHZ-D(III))：河南省予华仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 藤三七总黄酮的提取工艺流程

藤三七→烘干→粉碎→过筛→藤三七干粉→称量→微波提取→减压抽滤→总黄酮测定。

1.2.2 总黄酮含量提取率计算

1.2.2.1 标准曲线的绘制

以芦丁为标准品，采用 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2$ 比色法测定总黄酮含量。称取 0.038g 芦丁药品，加入 100 mL 水配置 0.38 mg/mL 芦丁溶液，精密称量对照品溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 分别于 25mL 容量瓶中，各加入 5% 亚硝酸钠溶液 1.0mL，摇匀后静置 6min，再加入 10% 硝酸铝溶液 1.0mL，摇匀后静置 6 min，加入 4% 氢氧化钠溶液 10mL，经摇匀后用 60% 乙醇定容^[7]，静置 15min 后，以不含芦丁的溶液作为空白对照，于 510 nm 波长下测定吸光度，并绘制标准曲线。经线性回归求出芦丁浓度与吸光度值关系曲线的回归方程 $y = 9.8543x - 0.0025$ ， $R^2=0.9962$ 。

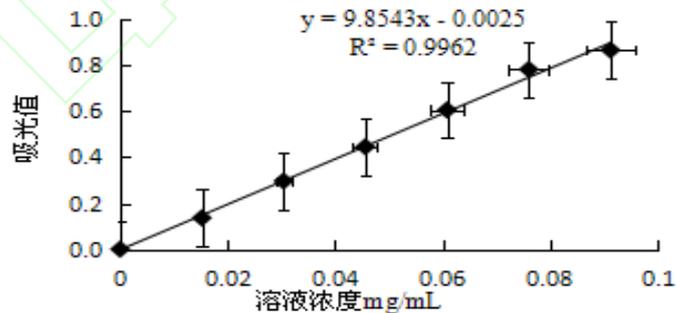


图1 芦丁标准曲线
Fig.1 Rutin standard curve

1.2.2.2 总黄酮提取率

应用线性回归方程计算总黄酮质量浓度，再按照下式计算总黄酮提取率。

$$\text{总黄酮提取率}(\%) = \rho \times V \times n \times 10^{-3} / m \times 100\% \quad (1)$$

式中： ρ 为黄酮质量浓度(mg/mL)； V 为测定用容量瓶容积； n 为稀释倍数； m 为样品质量 (g) ^[7]。

1.2.3 提取工艺条件优化的单因素试验

1.2.3.1 藤三七不同部位对比

称取 0.5 g 藤三七不同部位粉末样品分别放入 4 个 50 mL 圆底烧瓶中水浴加热，设定料液比为 1:40，加入 50% 乙醇溶液 20mL，同时进行水浴加热 1 小时，经过滤后暗中绘制标准曲线的方法测定总黄酮含量，计算提取率。

1.2.3.2 料液比

准确称取藤三七茎粉 0.25g，在乙醇浓度为 40%，水浴加热温度为 60℃，提取时间为 1h 的条件下，分别设置 1:40、1:60、1:80、1:100 的料液比进行实验，经过滤后前述方法测定总黄酮提取率。

1.2.3.3 乙醇浓度

准确称取藤三七茎粉 0.25g，设定料液比为 1:80，分别用 30%、40%、50%、60%、70%、80% 的乙醇溶液溶解，在微波功率为 400W、微波时间 60s 的条件下进行实验。用微波反应器提取后进行减压抽滤得到滤液，按前述方法测定总黄酮的提取率。

1.2.3.4 微波功率

准确称取藤三七茎粉 0.25g，设定料液比为 1:80，用 60% 的乙醇溶液溶解，分别在微波功率为 200、260、400、480W 的条件下微波 60s，用微波反应器提取后进行减压抽滤得到滤液，按前述方法测定总黄酮的提取率。

1.2.3.5 微波时间

准确称取藤三七茎粉 0.25g，分别用料液比为 1:80 的 60% 的乙醇溶液溶解，在微波功率为 400W 的条件下分别微波 60、70、80、90s，用微波反应器提取后进行减压抽滤得到滤液，按前述方法测定总黄酮的提取率。

1.2.4 提取工艺条件优化的微波法正交试验

称取 9 份 0.25 g 藤三七茎粉，根据表 1 的正交试验设计，加入 20mL 不同浓度的乙醇溶液，在不同微波功率下微波处理不同时间后将溶液进行抽滤，其中各因素数值按照单因素结果设定。

表 1 微波提取法正交实验设计

Table 1 Orthogonal Experiment Design of microwave extraction method

水平	因素		
	A 微波时间/s	B 微波功率/W	C 乙醇浓度/%
1	A ₁	B ₁	C ₁
2	A ₂	B ₂	C ₂
3	A ₃	B ₃	C ₃

2 结果及分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 不同部位的总黄酮含量

称取 0.5 g 藤三七不同部位粉末样品放入 50 mL 圆底烧瓶中水浴加热，在其他条件一致的情况下进行实验，得到如图所示的结果，对比得出藤三七茎及叶部分的黄酮含量较高。采摘后，藤三七叶较茎更易氧化，不易保存，所以以藤三七茎为提取原料所得黄酮类化合物量更高。因采摘后的植物叶易氧化、腐烂，其内部黄酮含量有所损失，所以相较藤三七茎总黄酮提取率较小。

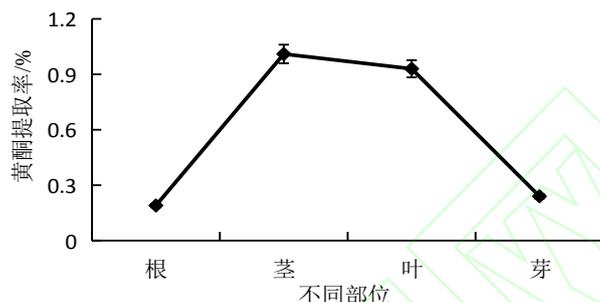


图2 不同部位总黄酮含量的对比
Fig.2 Comparison of total flavonoids content in different parts

2.1.2 料液比对总黄酮提取率的影响

从图 3 可以看出，当料液比为 1:40 时，藤三七中总黄酮提取率非常低，其原因可能是提取液与藤三七粉不能充分接触，无法进行“空化效应”的撞击作用，未能完全溶解，导致藤三七中的总黄酮未被溶出^[8]。将料液比提高到 1:60 后，乙醇溶液与藤三七粉的接触相比料液比为 1:40 时充分许多，所以提取率迅速上升。当料液比提高到 1:80 时，提取率达到最大值为 0.71%，可能由于当料液比达到 1:80 时，藤三七粉中的总黄酮已经在乙醇溶液中充分的被溶解出来。因此可以得出，在此实验条件下，可确定对总黄酮的提取的最佳料液比为 1:80。

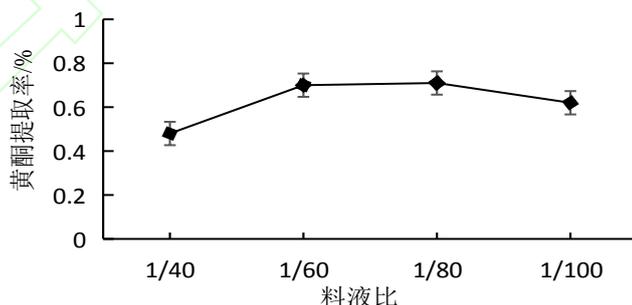


图3 料液比对黄酮提取率的影响
Fig.3 effect of solid-liquid ratio on flavonoids extraction rate

2.1.3 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响

由图 4 可知，随着乙醇浓度的升高，藤三七茎中的总黄酮提取率增加，当乙醇浓度达到 60% 时，总黄酮的提取率最高，达到 0.845%。而当乙醇浓度超过 60% 后，总黄酮的提取率不断下降，其原因可能是乙

醇浓度过高会导致藤三七茎中其他物质的提取率随之提高，影响总黄酮的提取。其次藤三七茎细胞表面的蛋白质凝固，影响了细胞总黄酮的溶出，从而降低总黄酮提取率。由此可得，在此条件下，藤三七茎中总黄酮的最佳乙醇浓度为 60%。

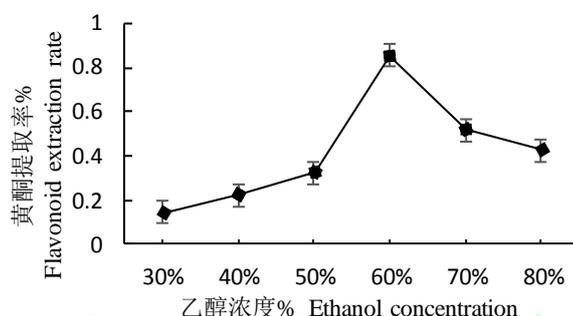


图4 乙醇浓度对黄酮提取率的影响
Fig.4 Effect of ethanol concentration on flavonoid extraction rate

2.1.4 微波功率对总黄酮提取率的影响

从图 5 可知，随微波功率的提高，藤三七中总黄酮的提取率在逐渐增加，可能是随着微波功率的提高，藤三七中的总黄酮溶解更加充分。当微波功率达到 400W 时，提取率达到最高为 1.26%。继续提高微波功率，总黄酮的提取率反而下降，可能是因为微波效应，对黄酮类化合物的结构产生了破坏。因此，综合各因素考虑，最佳功率为 400W。

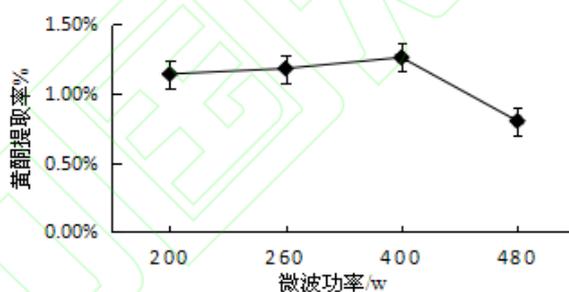
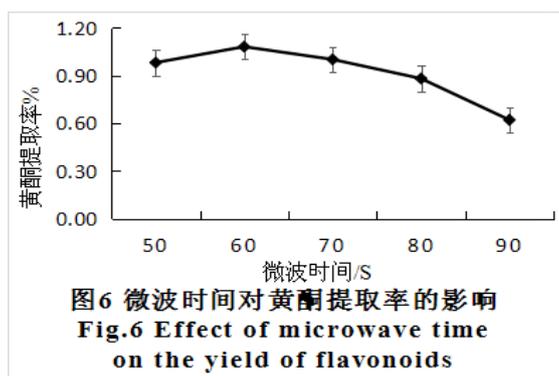


表5 微波功率对黄酮提取率的影响
Fig.5 Effect of microwave power on flavonoid extraction rate

2.1.5 微波时间对总黄酮提取率的影响

从图 6 中可看出，当微波时间少于 90s 时，随着微波时间的延长，藤三七中的总黄酮的提取率先升高再下降，当时间为 60s 时，黄酮提取率最高，提取率达到 1.08%，且随着时间的增加，提取率没有提升，可能是因为当时间达到 60s 时黄酮类化合物已经充分溶解在乙醇中，随着时间的增加，并没有溶解出更多的黄酮。而当时间过短时，总黄酮的提取率也较低，可能是因为细胞中的总黄酮还没有充分溶解到乙醇溶液中。因此，综合各因素考虑，最佳微波时间为 60s。



2.2 正交试验结果

按照单因素实验结果选取微波时间、微波功率、乙醇浓度作为考察因素^[9]，应用三因素三水平正交试验的方法，由表 2 可知，影响藤三七总黄酮的提取率的最主要的因素是微波功率，过高的微波功率会使试验温度迅速升高，从而破坏黄酮类化合物的结构，导致得率降低。从同时获得更高提取率的总黄酮考虑，最佳组合为 7 号，由正交结果得，最佳微波提取因素组合为微波功率为 320W，乙醇浓度为 70%，微波时间为 70s，此时藤三七总黄酮提取率为 7.42%。根据结果分析，影响提取率最显著的因素为微波功率，其次是乙醇浓度，影响最小的因素为微波时间。

表 2 正交结果表

Table 2 Results of the orthogonal experiment

试验号	因素			提取率/%
	A	B	C	
1	1	1	1	5.05
2	1	2	2	5.34
3	1	3	3	4.66
4	2	1	2	5.51
5	2	2	3	4.96
6	2	3	1	3.93
7	3	1	3	7.42
8	3	2	1	3.82
9	3	3	2	3.95
K ₁	15.05	17.98	12.80	
K ₂	14.40	14.12	14.80	
K ₃	15.19	12.54	17.04	
R	0.79	5.44	4.24	

因素主次

B>C>A

最优组合

B₁C₃A₃

3 讨论与结论

该实验以藤三七茎为主要原料,采用微波提取法提取藤三七茎中总黄酮。结果表明最佳提取工艺为:微波功率为 320W,乙醇浓度为 70%,微波时间为 70s,藤三七总黄酮提取率为 7.42%。由方差分析和因素间交互作用分析得出,三个因素对藤三七茎总黄酮提取率均有显著影响,顺序为:微波功率>乙醇浓度>微波时间,且微波功率和乙醇浓度对其影响较强。该实验微波辅助乙醇提取藤三七茎中总黄酮的得率与刘韬等微波法提取八角茴香叶中的 0.45%^[10]相比略高,而低于杨云舒微波提取广枣类黄酮化合物的得率 8.99%^[11]。可能是由于实验原料不同,枣中总黄酮含量高于藤三七中的含量,高于八角茴香中的含量;其次,实验具体操作时选择的微波功率和处理时间不一致。基于以上原因,导致本实验的得率与杨云舒等人的差别较大。此研究所用的微波提取法耗时短、耗能少、方法可靠、操作简单,值得进一步推广及应用。

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(第 26 卷)[M].北京:科学出版社,1996:46
- [2] 陈宇勒,陈玥婷.家养药食花草之五 藤三七[J].园林,2017(8):89.
- [3] LIN H Y,KUO S C,CHAO P D,et al. A New sapogenin from *boussingaultia gracilis*[J]. Journal of Natural Products,1988,51(4):797. DOI:10.1021/np50058a028.
- [4] 刘佳,郭正宏,刘庆博,等.藤三七中总黄酮提取工艺的研究[J].中华中医药学刊,2012,30(7):1651-1653. DOI: 10.13193/j.archtcm.2012.07.213.liuj.046.
- [5] 杨申明,王振吉,戴玥.藤三七总黄酮的超声波辅助提取及其抗氧化性研究[J].保鲜与加工,2018,18(5):65-71.DOI: 10.3969/j.issn.1009-6221.2018.05.012.
- [6] 毛瑜,龙远春,邓泽元,等.山药零余子黄酮的微波提取工艺优化及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2018,39(20):173-179.DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.20.029.
- [7] 权美平.超声波辅助提取白蒿总黄酮工艺优化[J].湖北农业科学,2014,53(8):1885-1887.DOI: 10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2014.08.010.
- [8] 蒋丽施,孟晓,左蕾蕾,等.超声波辅助提取会理石榴皮中总黄酮的工艺研究[J/OL].中国食品添加剂,2019(9):106-110.
- [9] 王江威.循环超声法提取三七总皂苷的工艺研究[D].哈尔滨商业大学,2015.
- [10] 刘韬,李荣,张禄捷,等.八角茴香叶中黄酮的微波提取及纯化[J].食品科学,2015,36(2):30-35.DOI:10.7506/spkx1002-6630-201502006.
- [11] 杨云舒.广枣中黄酮类化合物的成分分析及抗氧化性研究[D].天津商业大学,2016.