

# 大枣叶中甜味抑制成分提取的研究

林勤保, 李艳红

(山西大学现代化学研究所, 山西太原 030006)

**摘要** 采用正交实验法考察不同因素和水平对大枣叶中甜味抑制成分——皂苷提取率的影响, 分别得出水浴浸提和超声提取的最佳工艺条件。

**关键词** 正交实验 大枣叶 甜味抑制剂 皂苷 提取

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2005)12-0094-03

大枣叶为鼠李科植物枣树 (*Zizyphus jujuba* mill.) 的叶子, 对大枣叶的研究和利用, 国内外研究报道很少<sup>[1,3,6,7]</sup>。

国外报道大枣叶中主要含有黄酮类化合物、生物碱及甜味抑制剂<sup>[1,7]</sup>。另有研究报道<sup>[2]</sup>, 在伊朗, 大枣叶被用于减少糖的摄入; 大枣叶的提取物能够提高人体对蔗糖溶液味感的阈值; 枣叶中分离得到的甜味抑制物质—ziziphin, 在和甜味物质一起品尝时, 具有很明显的甜味抑制作用; 这种化合物是一种达玛烷型的三萜皂苷。但在国内未见有关报道。

皂苷类化合物极性大, 水溶性强, 结构相似, 分离、纯化及结构测定都比较困难<sup>[3]</sup>。对于大枣叶中的三萜皂苷曾有国外文献报道采用水浴浸提法<sup>[6]</sup>。近年来, 超声提取天然植物中的有效成分研究已广泛开展, 且取得一定的进展<sup>[4,5]</sup>。作者采用超声技术和水浴浸提法从大枣叶中提取大枣叶中的皂苷, 取得较好效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

大枣叶、乙醚、95%乙醇、黄芪甲甙对照品(中国药品生物制品检定所)、香草醛、冰醋酸、高氯酸、三氯甲烷均为分析纯试剂。

电子分析天平, 索氏提取器, 台式干燥箱, 722型可见分光光度计, 电热恒温水浴锅, 离心机,

KQ2200DB型数控超声波清洗器(W=80W)(昆山市超声仪器有限公司), 分液漏斗, 布氏漏斗, 移液枪, 移液管, 10mL比色管, 平底烧瓶。

### 1.2 计算方法

皂苷提取率(%) = 皂苷含量 × 100% / 大枣叶质量

### 1.3 实验方法

1.3.1 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲甙 9.7mg, 置 5mL 容量瓶中, 加 95%乙醇使溶解并稀释至刻度, 密封, 摇匀, 即得。

1.3.2 测定波长的选择 取供试品溶液, 经显色剂 5%香草醛冰醋酸-高氯酸显色后, 分光光度计测量吸光度, 当波长在 582nm 处时有最大吸收值, 故可选择 582nm 作为样品测定的波长。

1.3.3 标准曲线的制备 精密取对照品液 0、10、20、40、80、120、160、200、240、280、320μL, 分别置 10mL 比色管中, 热风吹干, 加 5%香草醛冰醋酸溶液-高氯酸(2:8)(临用新配)的混合液 1.0mL, 于 60℃恒温水浴放置 15min, 取出后冰水冷却, 加入冰醋酸 5.0mL, 混匀, 立即分光光度法 582nm 测定, 以第一管空白为对照, 绘制标准曲线, 结果见表 1, 回归方程为  $Y = 0.0521A + 0.0015$ ,  $R^2 = 0.9878$ 。

1.3.4 供试品溶液的制备<sup>[6]</sup> 准确称取 0.6g 室温条件下干燥的大枣叶, 磨粉, 乙醚脱脂, 95%乙醇提取(提取条件在下面正交实验中详述), 浓缩提取液, 离心, 弃去沉淀, 上层清液室温条件用 2:1 的三氯甲烷-水提取, 分液漏斗分层, 得三氯甲烷层, 减压条件下蒸发至膏状, 加 95%乙醇使之溶解, 定容在 50mL 容量瓶中待测。

1.3.5 供试品溶液的测定 精密吸取供试品溶液 1mL 于 10mL 比色管中, 蒸干, 加 5%香草醛冰醋酸溶液-高氯酸(2:8)(临用新配)的混合液 1.0mL, 于 60℃恒温水浴放置 15min, 取出后冰水冷却, 加入冰醋酸 5.0mL, 混匀, 立即在 582nm 处测定吸光度, 按标准曲线计算出供试品溶液中三萜皂苷的含量。

收稿日期: 2005-05-09

作者简介: 林勤保(1968-)男, 副教授, 研究方向: 食品化学与食品安全。

基金项目: 山西省青年科技基金资助项目(20041030)。

表 1 黄芪甲甙浓度( mg/mL )与吸收度(A)的相关性

浓度( mg/mL )	0.0032	0.0065	0.0129	0.0259	0.0388	0.0517	0.0647	0.0776	0.0905	0.1035
吸收度(A)	0.044	0.112	0.171	0.457	0.732	0.896	1.355	1.552	1.672	1.836

## 2 提取工艺的优化

### 2.1 水浴浸提实验方案( 一 )

2.1.1 方案设计 采用该法从大枣叶中提取皂苷 , 影响提取率的主要因素有 : 提取温度(A)、大枣叶质量对加入乙醇量的比例(B)( 以下用固液比表示 )、提取时间(C)。为优化提取条件 , 采用正交法设计实验 , 选用三因素三水平正交实验表  $L_9(3^3)$  进行正交实验。

2.1.2 结果与讨论 以皂苷的提取率为考察指标 , 各实验条件下所得结果见表 2。

表 2 水浴浸提实验方案设计( 一 )的正交实验及结果

实验号	因素			提取率( % )
	A 温度(℃)	B 固液比	C 时间(h)	
1	1(50)	1(1:15)	1(6)	0.23
2	1	2(1:18)	2(8)	0.30
3	1	3(1:20)	3(10)	0.36
4	2(60)	1	2	0.43
5	2	2	3	0.46
6	2	3	1	0.34
7	3(70)	1	3	0.53
8	3	2	1	0.43
9	3	3	2	0.54
$K_1$	0.29667	0.39667	0.33333	
$K_2$	0.41000	0.39667	0.42333	
$K_3$	0.50000	0.41333	0.45000	
R	0.20333	0.01667	0.11667	

由表 2 的数据分析可知 ,  $A_3B_3C_3$  为最佳条件 , 即温度 70℃ , 固液比 1:20 , 时间 10h ; 由极差分析可知 , 温度的影响最大 , 其次是时间和固液比。

### 2.2 水浴浸提实验方案( 二 )

2.2.1 方案设计 从实验方案设计( 一 )可以看出 , 如果再提高温度 , 延长提取时间和加大固液比例 , 提取率应该会相应提高。故在本实验方案设计中 , 重新设定条件 , 但考虑到乙醇的沸点为 78.3℃ , 所以最高温度设在 78℃。采用正交法设计实验 , 选用三因素三水平正交实验表  $L_9(3^3)$  进行正交实验。

2.2.2 结果与讨论 以皂苷的提取率为考察指标 , 各实验条件下所得结果见表 3。

由表 3 的数据分析可知 ,  $A_3B_2C_1$  为最佳条件 , 即温度 78℃ , 固液比 1:24 , 时间 12h ; 由极差分析可知 , 温度的影响最大 , 其次是固液比和时间。

### 2.3 超声法与水浴浸提法的比较

为考察超声提取收率高、速度快的特点 , 通过实验比较了超声提取与水浴浸提的效率 , 见表 4。通过表 4 可以看出 , 提取条件相同 , 而超声提取率却是水浴浸提的 1.68 倍 , 故超声提取有明显的优势。

表 3 水浴浸提实验方案( 二 )的正交实验及结果

实验号	因素			提取率(%)
	A 温度(℃)	B 固液比	C 时间(h)	
1	1(70)	1(1:20)	1(12)	0.79
2	1	2(1:24)	2(13)	0.71
3	1	3(1:30)	3(15)	0.66
4	2(74)	1	2	0.72
5	2	2	3	0.80
6	2	3	1	0.69
7	3(78)	1	3	0.76
8	3	2	1	0.81
9	3	3	2	0.79
$K_1$	0.71825	0.75436	0.76398	
$K_2$	0.73655	0.77287	0.73778	
$K_3$	0.78626	0.71382	0.73930	
R	0.06801	0.05905	0.02621	

表 4 超声提取实验方案设计的正交实验及结果

实验号	因素				提取率( % )
	A 温度(℃)	B 固液比	C 时间( h )	D 功率(W)	
1	1(50)	1(1:15)	1(1.0)	1( 70 )	0.23
2	1	2(1:18)	2(1.5)	2( 80 )	0.32
3	1	3(1:20)	3(2.0)	3( 90 )	0.40
4	2(60)	1	2	3	0.37
5	2	2	3	1	0.34
6	2	3	1	2	0.24
7	3(70)	1	3	2	0.49
8	3	2	1	3	0.35
9	3	3	2	1	0.40
$K_1$	0.31493	0.36287	0.27373	0.32520	
$K_2$	0.31733	0.33503	0.36373	0.35113	
$K_3$	0.41397	0.34833	0.40877	0.36990	
R	0.09903	0.02783	0.13503	0.04470	

2.3.1 超声提取实验方案设计 从大枣叶中提取皂苷 , 影响超声提取率的主要因素为 : 超声提取温度(A)、大枣叶质量对乙醇加入量的比(B)、提取时间(C)、超声功率(D)。为优化提取条件 , 采用正交法设计实验 , 选用四因素三水平正交实验表  $L_9(3^3)$  进行实验。

2.3.2 结果与讨论 以皂苷的提取率为考察指标 , 各实验条件下所得结果见表 4。

由表 4 的数据分析可知 ,  $A_3B_1C_3D_3$  为最佳条件 , 即温度 70℃ , 固液比 1:15 , 时间 2h , 功率 90w。而由极差分析可知 , 时间的影响最大 , 其次是温度、超声功率和固液比。

## 3 小结

3.1 结合水浴浸提实验方案设计( 一 )( 二 )的正交实验及结果得知 , 皂苷提取率随着温度的升高呈提高的趋势 , 但由于提取溶剂沸点的限制 , 提取温度不能继续升高 , 而随着固液比的加大和时间的延长 , 皂

(下转第 98 页)

大,其次是C、A的极差最小;对于GA的浸出量,A的极差最大,其次是C、B的极差最小。很明显,对于感官和GA的浸出量来说,都是A<sub>3</sub>为好,B对于感官是最重要的,而对于GA浸出量是最不重要的,因此,可以服从于感官这个指标,于是决定取B<sub>1</sub>C对于感官和GA的浸出量都是次要的,都是占第二位的,但由经验可知A<sub>3</sub>、C<sub>1</sub>搭配起来,茶汤会较苦涩,因此选C<sub>3</sub>会好一些。综合各方面的结果得出的较好条件是A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>,即本实验的确定配比是80g匙羹藤叶:40g花茶:7.5g甘草,验证实验结果与推论相符。

## 2.6 产品质量指标

2.6.1 感官指标 茶汤:呈明亮的黄绿色;香气:具有匙羹藤叶特有的香味和花茶的清香;滋味:入口醇厚,先微苦而后甘甜,回味持久。

2.6.2 理化指标 匙羹藤酸GA的含量 $\geq 8.0\text{mg}/100\text{mL}$ 。

## 3 结论

研究表明,以匙羹藤叶为原料,采用优化的烘烤工艺(杀青条件:100℃蒸汽杀青2min;烘焙温度:50~60℃)制成的茶叶,感官评分较高,而GA的浸出量也较高。本实验通过正交设计探讨出匙羹藤保健茶的

(上接第95页)

苷提取率呈现先提高后又降低的趋势,因此水浴浸提的最佳工艺条件为:提取温度78℃,提取时间12h,固液比1:24。

3.2 比较水浴浸提实验方案设计(一)的正交实验及结果和超声提取实验方案设计的正交实验及结果可得知,超声提取所用时间大大缩短。由于受提取溶剂特性的影响,提取温度难以进一步升高,但时间的延长和超声功率的增加还可以进一步使提取率增加。

3.3 大枣叶的皂苷提取物具有甜味抑制作用,本研究可以为进一步研究大枣叶中的有效成分,以及来源于天然植物类的甜味抑制剂的提取提供有益的参考。

## 参考文献:

- [1] 赵喜荣,莫简,王景祥.大枣叶提取物的抗炎作用及其机理[J]. 中医药研究,1994(5):47~48.

最佳工艺配方为A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>,即80g匙羹藤叶:40g花茶:7.5g甘草,这样既掩盖或减弱了匙羹藤叶的青草味和苦涩味,又提高了匙羹藤保健茶的营养保健作用。用这种匙羹藤保健茶冲泡出的茶,色、香、味俱佳,集营养保健于一身,很受爱茶人士的喜爱,是一种很有市场前景的保健饮品。

## 参考文献:

- [1] 钱信忠主编.中国本草彩色图鉴(草药篇第三卷)[M].人民卫生出版社,2003.  
[2] Rutt Suttisri, Ik-Soo Lee A. Douglas Kinghorn[J]. Journal of Ethnopharmacology, 1995,47:9~26.  
[3] Hiji. US Patent[P], 4912089, 1990.  
[4] 许慕农主编.保健茶制作技术[M].北京:中国轻工业出版社,2003.  
[5] 秦民坚,吴靳蓉,黄芸,等.现代中药研究与实践[J],2003,17(3):39~41.  
[6] 李凤英.食品工业科技[J],2004,25(1):92~93.  
[7] 刘魁英主编.食品研究与数据分析[M].北京:中国轻工业出版社,1998.

- [2] Rutt Suttisri, Ik-Soo Lee A Douglas Kinghorn\*. Plant-derived triterpenoid sweetness inhibitors [J]. Journal of Ethnopharmacology, 1995,47:9~26.  
[3] 梁侨丽,丁林生.鼠李科达玛烷型三萜皂苷的化学研究进展[J].天然产物研究与开发,1996,8(4):64~72.  
[4] 郭孝武.一种提取中草药化学成分的方法——超声提取法[J].天然产物研究与开发,1999,11(3):37~40.  
[5] 于凤文,计建炳,徐之超,等.功率超声浸取厚朴药材中的厚朴酚[J].化工进展,2001,20(12):57~58.  
[6] Yoshie Kurihara, Kazuyoshi Ookubo, Hiroyuki Tasaki, et al. Studies on the taste modifiers. I. Purification and structure determination of sweetness inhibiting substance in leaves of ziziphus jujuba[J]. Tetrahedron, 1988, 44(1):61~66.  
[7] 李艳红,林勤保,赵国燕.来自植物的天然甜味抑制剂[J].食品与发酵工业,2005,31(2):93~96.

## 河北省任丘市水鬼子食品厂

是白洋淀区域水产品(禽、鱼、蛋)深加工的龙头厂家,在保留传统工艺基础上,先后与南昌大学生物与生命工程学院和北京市月盛斋联合加工开发出荷香鸭、苇叶熏鱼、红油鸭蛋等美味食品,本厂产品先后五届荣获“河北省名优特”产品荣誉,2000年,被北戴河中央机关暑期疗养中心指定为专供食品。

该厂为拓展市场,寻求禽、鱼、蛋南北特色风味深加工工艺(正宗盐焗工艺、台湾卤蛋、糟蛋、淡水鱼真空包装风味食品等),并大量求购乳猪猪手(生)、白条金定鸭、湖鸭、绿头野鸭、竹制包装盒(篮)。

电话:0317-2234262 13603279197 联系人:马军民