荞麦中芦丁的提取工艺优化

黄艳菲[1]，彭镰心[2]，丁玲[1]，李艳丹[1]，左旭[1]，刘圆[1]，赵钢[2]
（1.西南民族大学民族医药研究院，四川成都 610041）（2.成都大学生物产业学院，四川成都 610106）

摘要：以米荞1号为原料，采用响应面法优化荞麦中芦丁的提取工艺。在单因素试验的基础上，根据Box-Behnken试验设计原理，通过响应面法优化芦丁提取工艺，选取时间、温度、料液比和甲醇体积分数四因素三水平进行中心组合试验，建立芦丁含量的二次回归方程，确定提取芦丁的最佳工艺组合条件。结果表明：提取时间93 min，提取温度77 ℃，料液比1:32，甲醇体积分数91%。该条件下芦丁提取含量预测值为17.92 mg/g，实测值为18.20mg/g，偏差不大。

关键词：荞麦；芦丁；响应面；提取工艺

文章篇号：1673-9078(2012)10-1345-1349

Optimization of Rutin Extraction from *Fagopyrum*

HUNAG Yan-Fei[1], PENG Lian-Xin[2], DING Ling[1], LI Yan-dan[1], ZUO Xu[1], LIU Yuan[1], ZHAO Gang[2]
(1.Ethnic Medicine Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China)
(2.College of Biotechnology Industries, Chengdu University, Chengdu 610106, China)

Abstract: The response surface methodology was used to optimize the extraction of *Fagopyrum* of Miqiao 1. Based on one-factor-at-a-time experiments, the extraction of time, temperature, liquid-to-solid ratio and methanol concentration were used to carry out a 4-variable, 3-level central composite design, and established quadratic regression model. The best extraction time, temperature, solid-liquid ratio and methanol content were 93 minute, 77 ℃, 1:32 and 91 % under which the predicted yield of rutin with the optimized procedure was 17.92 mg/ and the practical yield of rutin was 18.20 mg/g.

Key words: buckwheat; rutin; response surface methodology; optimization of extraction

荞麦(Buckwheat)为蓼科*Polygonaceae*荞麦属*Fagopyrum*植物，为粮药兼备资源，有两个食用栽培种：一是1791年定名的*Fagopyrum tataricum* (Linn) Gaench (鞑靼荞麦)，二是1794年定名的*Fagopyrum esculentum* Moench(普通荞麦)。20世纪80年代中国科学家将鞑靼荞麦冠名苦荞，普通荞麦冠名甜荞。始载于《千金•食治》，《救荒本草》、《日用本草》、《本草纲目》、《草木便方》均有记载[1]。荞麦含有其他谷物中所不含的黄酮类化合物，其中已知的黄酮类化合物有芦丁、槲皮素、山奈酚和山奈酚-3-O-芸香糖苷等，以芦丁含量为最高。现代药理研究表明：荞麦黄酮具有降血糖、降血脂、抗氧化、抗衰老及防治心脑血管系统疾病等作用[2-5]。

荞麦有很高的营养价值，蛋白质、脂肪、维生素和微量元素（K、Cu、Mg、Zn、Se）普遍高于大米、小麦、玉米等；荞麦蛋白质、氨基酸组成平衡、生物价值高，并且具有独特的生理功能[6]。在人们越来越重视健康的今天，具有保健作用的食品也愈发受到重视，因此荞麦的开发利用也越来越受到人们的重视，以荞麦为原料制作的食品种类繁多，包括茶类、酒类、醋类、面条和米粉类、麦片类、饼干糕点类等，其中茶类的开发最为普遍，全国有数十家生产苦荞茶的厂家，有多个种类的商品苦荞茶。芦丁被公认为是荞麦中的主要活性成分之一，国家、省（自治区）或者企业对荞麦和商品苦荞茶中有效成分的质量控制却没有可以执行的标准。因此，在系统地对荞麦及商品苦荞茶进行相关研究之前，有必要建立一种简单、准确的提取芦丁的方法，为荞麦及商品苦荞茶中芦丁的质量评价提供试验基础。

本试验在单因素试验的基础上采用响应面法对荞麦中芦丁的提取工艺进行优化，得到荞麦中芦丁提取的最佳工艺。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

米荞1号种子采自四川省成都市的成都大学荞麦

收稿日期：2012-06-10
基金项目：国家科技支撑计划项目（2012BAI27B07）；四川省科技支撑计划（2011SZ0233）；现代农业产业技术体系建设专项资金资助（CARS-08-D-3）；四川中医药管理局课题（2010-78）
作者简介：黄艳菲(1986-)，女，硕士研究生，研究方向为民族药物；彭镰心（1981-），男，硕士，研究方向为食品质量评价
通讯作者：刘圆（1968-），女，博士，教授，研究方向为民族药物

试验田。

甲醇，无水乙醇，磷酸为分析纯：成都市科龙化工试剂厂；乙腈为色谱纯：美国迪马公司；水为超纯水；芦丁对照品：中国药品生物制品检定所（批号：100080-200707）。

Agilent 1200 高效液相色谱仪（配 DAD 检测器）：美国 Agilent 公司；METTLER AE240 电子分析天平：梅特勒-托利多上海仪器有限公司；Milli-Q 超纯水机：美国 Millipore 公司；W201B 恒温水浴锅：上海申顺生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 检测方法

1.2.1.1 色谱条件

色谱柱：DIKMA diamonsil (4.6 mm×250 mm, 5 μm)，柱温：20 ℃，流速：1 mL/min，检测波长：255 nm，进样量：10 μL，流动相：乙腈-0.1%磷酸水。梯度洗脱程序为：0~5 min，乙腈浓度为10%~20%，5~15 min，乙腈浓度为20%~25%，15~25 min，乙腈浓度为25%~40%。

1.2.1.2 对照品溶液的制备

准确称取芦丁对照品19.88 mg，用90 %甲醇溶解，定容于25 mL容量瓶中，摇匀，制成质量浓度为0.7952 mg/mL对照品储备液。

1.2.1.3 标准曲线的绘制

精密量取芦丁对照品储备液，用体积分数90%的甲醇稀释并定容，摇匀，得系列质量浓度对照品溶液0.5964 mg/mL，0.3976 mg/mL，0.2982 mg/mL，0.1988 mg/mL，0.0994 mg/mL，0.003976 mg/mL，分别取上述溶液10 μL注入高效液相色谱仪，记录峰面积，以峰面积A对进样质量浓度(mg/mL)进行线性回归，得芦丁回归方程：y=6224.4x+40.664，R^2=0.9999。结果表明，芦丁在0.003976~0.5964 mg/mL范围内呈良好线性关系。

1.2.2 提取方法

超声法和热回流法是两种常用、提取效果较好、方便快速的方法，故对这两种方法进行考察。在选择提取溶剂时，通过查阅参考文献，发现苦荞黄酮的提取溶剂大多采用甲醇或乙醇，文献[7]对体积分数60%、80%、90%、100%的甲醇进行考察，发现体积分数90%的甲醇对苦荞黄酮的提取率最高；文献[8]对沸水、碱水、体积分数为70%的乙醇、70%的甲醇进行考察，结果发现体积分数70%的甲醇对苦荞黄酮提取率优于体积分数70%的乙醇；文献[9]对体积分数60%、70%、80%的乙醇进行考察，发现体积分数70%的乙醇对芦丁和槲皮素的提取率最高，文献[10]对体积分数45%、55%、65%、75%、85%、95%和100%的乙醇进行考察，结果发现体积分数75%的乙醇对苦荞黄酮的提取效果最佳；因此，综合考虑，选择体积分数90%甲醇[7]、70%甲醇[8]、70%乙醇[9]和与90%甲醇作对比的90%乙醇为考察对象。

1.2.2.1 提取溶剂的选择

精密称取样品米荞 1 号（过 50 目筛）0.5 g，置具塞锥形瓶中，分别加入上述 4 种溶剂，料液比为 1:50，密塞，称定重量，超声（45 kHz，300 W）处理 30 min，冷却，再称定重量，补足减失重量，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜过滤，备用。

1.2.2.2 提取方法的选择

精密称取样品米荞 1 号（过 50 目筛）0.5 g，在甲醇体积分数为 90%，料液比 1:50 的条件下，分别于超声中提取 30 min，于 70 ℃下热回流 30 min，补足减失重量，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜过滤，备用。

1.2.3 试验方法

分别以溶剂体积分数、料液比、提取温度、提取时间及提取次数为单因素进行试验，考察各单因素对荞麦中芦丁含量提取的影响。

在单因素试验基础上，确定Box-Behnken 设计的自变量[11~13]，以芦丁含量为响应值，通过响应面分析对提取条件进行优化。试验因素水平编码设计见表1。数据处理采用Design Expert 7 统计软件分析。

表 1 响应面优化试验因素水平表

Table 1 Coded values and corresponding actual values of the optimization parameters used in response surface analysis

水平	因素			
	A (提取时间/min)	B (提取温度/℃)	C [料液比/(mL/g)]	D (甲醇体积分数/%)
-1	60	70	20:1	80
0	90	80	30:1	90
1	120	90	40:1	100

2 结果与讨论

2.1 不同提取溶剂的考察结果

表 2 提取溶剂对芦丁提取效果的影响

Table 2 Effect of solvent on the yield of rutin

提取溶剂	芦丁含量/(mg/g)
70%甲醇	12.8±0.62
70%乙醇	13.4±0.54
90%甲醇	16.2±0.69
90%乙醇	3.99±0.11

从表中可以看出，甲醇与乙醇由于极性不同，在不同甲醇与乙醇体积分数下提取芦丁的含量有较大差异，以 90 %甲醇提取芦丁的含量最高。

2.2 不同提取方法的考察结果

表 3 提取方法对芦丁提取效果的影响

Table 3 Effect of extraction method on the yield of rutin

提取方法	芦丁含量/(mg/g)
超声	15.56±0.52
热回流	16.74±0.39

从表中可以看出，在相同提取条件下，热回流的提取效果要优于超声，故选择热回流法。

2.3 单因素试验

2.3.1 甲醇体积分数对芦丁提取效果的影响

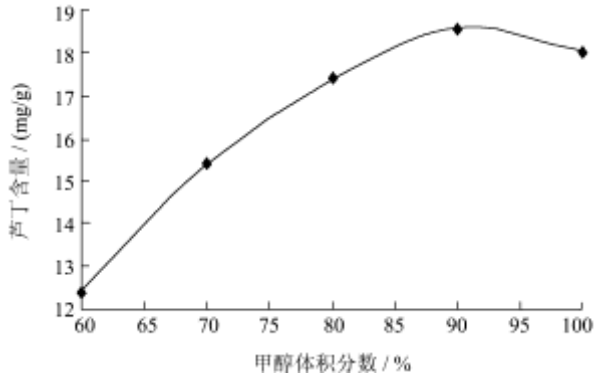


图 1 甲醇体积分数对芦丁提取效果的影响

Fig.1 Effect of methanol concentration on the yield of rutin

在料液比 1:50，回流提取温度 70 ℃，提取时间 90 min，提取次数为 1 次的条件下，考察不同体积分数对芦丁提取效果的影响，结果见图 1。从图 1 可以看出，随着甲醇体积分数的增加芦丁提取率上升，达到 90%左右时达到最高，随着甲醇体积分数继续增大，芦丁含量略有降低，故选甲醇体积分数为 90%为宜。

2.3.2 料液比对芦丁提取效果的影响

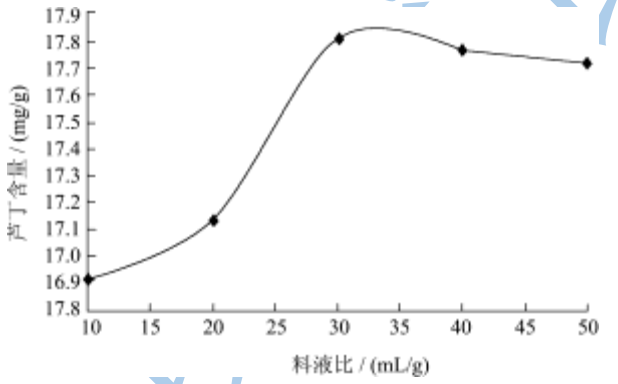


图 2 料液比对芦丁提取效果的影响

Fig.2 Effect of liquid-to-material ratio on the yield of rutin

在其它条件不变的情况下，考察料液比对芦丁提取效果的影响，结果见图 2。从图 2 可以看出，芦丁的含量随着料液比的增加而上升，超过 1:30 后，芦丁的提取率已经趋于稳定，一定范围内增加溶剂用量有利于芦丁的溶出，溶剂量过多则会使成本增加，综合考虑，料液比以 1:30 为宜。

2.3.3 提取温度对芦丁提取效果的影响

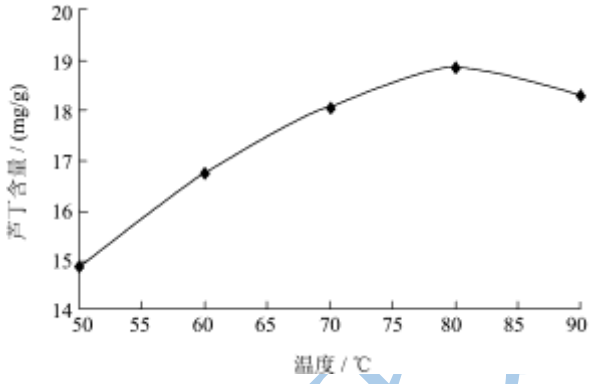


图 3 提取温度对芦丁提取效果的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on the yield of rutin

其它条件与上述相同情况下，考察不同提取温度对芦丁提取效果的影响，结果见图 3。从图 3 可以看出，温度对芦丁的提取效果有较大的影响，随着温度升高，芦丁提取率上升，超过 80 ℃后芦丁提取率略有下降，可能由于高温环境下芦丁结构受到破坏[14]，故提取温度以 80 ℃为宜。

2.3.4 提取时间对芦丁提取效果的影响

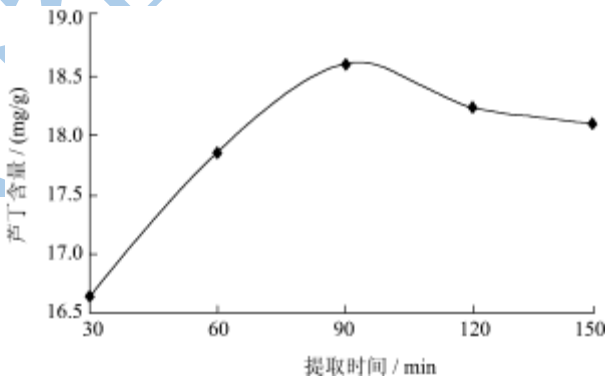


图 4 提取时间对芦丁提取效果的影响

Fig.4 Effect of extraction time on the yield of rutin

其它条件与上述相同情况下，考察提取时间对芦丁含量的影响，结果见图 4。从图 4 可知，随着提取时间的延长，芦丁提取率增大，超过 90 min 后，芦丁含量略有下降，可能由于原料中其它醇溶性物质的被溶解提出，使芦丁提取率下降[14]，故选择 90 min 为宜。

2.3.5 提取次数对芦丁提取效果的影响

提取条件相同前提下，考察提取次数对芦丁提取效果的影响，结果见图 5。随着提取次数的增加，芦丁的含量明显下降，增加提取次数已经无太大意义，故提取 2 次为宜。

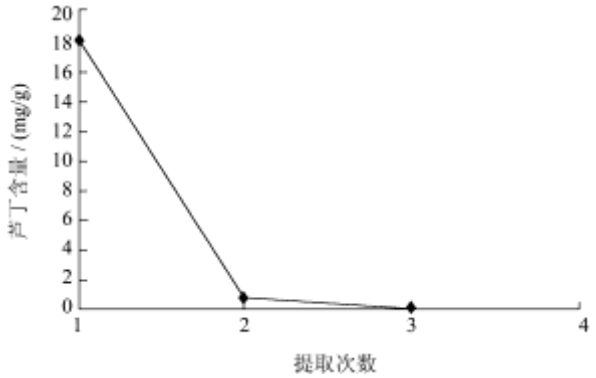


图 5 提取次数对芦丁提取效果的影响

Fig.5 Effect of extraction number of times on the yield of rutin

2.4 响应面优化试验

表 4 芦丁提取响应面分析方案及结果

Table 4 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	A	B	C	D	芦丁含量/(mg/g)
1	1	-1	0	0	16.53
2	0	1	1	0	15.81
3	-1	0	0	-1	15.51
4	1	0	0	-1	15.59
5	0	0	0	0	17.79
6	0	0	-1	-1	15.39
7	-1	-1	0	0	15.82
8	1	0	-1	0	15.53
9	0	1	-1	0	16.54
10	1	0	0	1	16.02
11	-1	0	0	1	15.88
12	0	-1	1	0	17.29
13	0	1	0	1	15.78
14	0	-1	0	1	16.89
15	0	-1	-1	0	15.77
16	0	1	0	-1	15.88
17	0	0	1	1	16.24
18	-1	0	-1	0	15.66
19	-1	0	1	0	15.67
20	0	-1	0	-1	15.54
21	0	0	0	0	17.97
22	1	0	1	0	16.63
23	0	0	0	0	17.84
24	0	0	1	-1	16.15
25	0	0	-1	1	16.22
26	-1	1	0	0	15.52
27	1	1	0	0	15.86

在单因素试验基础上，根据 Box-Behnken 试验设计原理，选择提取时间、提取温度、料液比、甲醇体积分数进行四因素三水平的响应面分析法，确定芦丁的最佳提取条件，结果见表 4。所得结果经过 Design Expert 软件进行多元回归拟合，得到芦丁含量对提取时间 A、提取温度 B、料液比 C 和甲醇体积分数 D 的二元回归方程：

$$芦丁含量=17.84+0.18A-0.2B+0.22C+0.25D-0.093AB+0.27AC+0.015AD-0.56BC-0.36BD-0.18CD-1.13A^2-0.75B^2-0.79C^2-1.02D^2$$

表 5 回归模型方差分析

Table 5 Variance analysis for the established regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	19.4	14	1.39	88.47	<0.0001
A	0.37	1	0.37	23.46	0.0003
B	0.50	1	0.50	31.94	<0.0001
C	0.60	1	0.60	38.21	<0.0001
D	0.74	1	0.74	46.93	<0.0001
AB	0.034	1	0.034	2.19	0.1615
AC	0.30	1	0.30	18.96	0.0007
AD	9.000E-004	1	9.000E-004	0.057	0.8140
BC	1.27	1	1.27	80.81	<0.0001
BD	0.53	1	0.53	33.56	<0.0001
CD	0.14	1	0.14	8.74	0.0104
残差	0.22	14	0.016		
失逆项	0.20	10	0.02	3.27	0.1322
纯误差	0.024	4			
总变异	19.62	28			

$R^2=0.9888 R^2_{Adj}=0.9776$

对该回归模型进行方差分析，结果见表 5。从表 5 可以看出，模型 P<0.0001，表明响应回归模型达到了极显著水平，失逆项 P=0.1322>0.05，不显著，模型的校正系数 $R^2=0.9888$，说明模型拟合程度良好，模型修正相关系数 $R^2_{Adj}=0.9776$，说明该方程较好地反应了时间、温度、料液比和甲醇体积分数与芦丁含量的关系。回归模型响应曲面图见图 6。

通过对回归方程的求解，得到芦丁提取的最佳工艺条件为：提取时间 93.54 min，提取温度 77.32 ℃，料液比 1:32.38，甲醇体积分数为 91.48%，提取芦丁含量的预测值为 17.92。考虑实际操作难以达到，将试验条件改为：提取时间 93 min，提取温度 77 ℃，料液比 1:32，甲醇体积分数 91%。同时对该最佳条件进行验证：对样品米荞 1 号同时提取 3 份，求得平均芦丁含量为 18.20 mg/g，偏差不大。

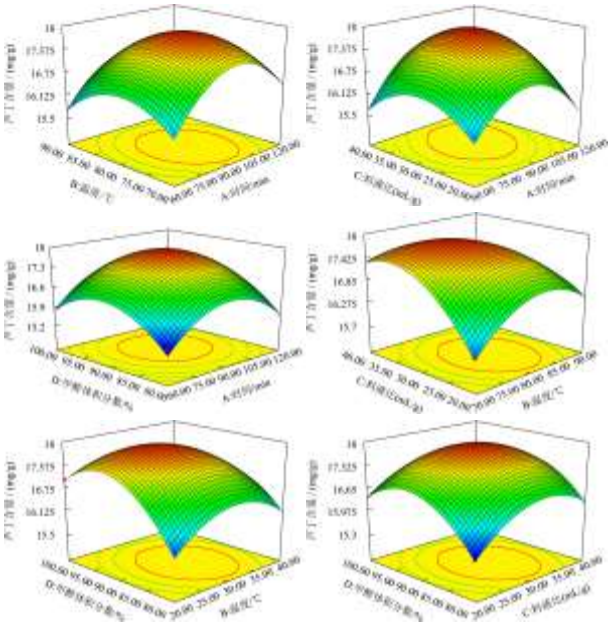


图 6 交互因素作用对芦丁提取效果的影响响应曲面图

Fig.6 Response surface plots showing the effects of interactions of factors on the yield of rutin

3 结论

本试验在单因素试验的基础上，采用响应面法优化芦丁的提取工艺，建立了数学模型，得到更优的工艺条件。优化后得到的最佳工艺条件结合实际修改为：提取时间 93 min，提取温度 77 ℃，料液比 1:32，甲醇体积分数 91 %。

参考文献

[1] 宋立人,洪恂,丁绪亮,等.中药大辞典[M].北京:人民卫生出版社,2001

[2] 张万明,谭盛春.苦荞的营养与食疗作用[J].西昌农业高等专科学校学报,2004,18(2):16-17

[3] 尹礼国,钟耕,等.荞麦营养特性、生理功能和药用价值研究进展[J].粮食与油脂,2002,5:32-34

[4] Li Yun Lin, Chiung Chi Peng, Ya-Lu Yang, et al. Optimization of Bioactive Compounds in Buckwheat Sprouts and Their Effect on Blood Cholesterol in Hamsters [J]. Agric Food Chem., 2008, 56 (4): 1216-1223

[5] Yang Yao, Fang Shan, Junsheng Bian, et al. d-*chiro*-Inositol-Enriched Tartary Buckwheat Bran Extract Lowers the Blood Glucose Level in KK-Ay Mice [J]. Agric Food Chem, 2008, 56 (21): 10027-10031

[6] 郭晓娜,姚惠源,陈正行.苦荞蛋白质的低消化性研究 II 一酶解产物的超微结构分析和分子分布[J].食品科学,2007,1:117-119

[7] 黄兴富,黎其万,刘宏程,等.高效液相色谱法同时测定苦荞中芦丁、槲皮素和山柰酚的含量[J].中成药,2011,33(2):345-347

[8] 王军.苦荞麸皮总黄酮提取工艺及高效液相色谱-质谱指纹图谱研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2007

[9] 宾婕,刘洁,张春勇,等.正交设计优选苦荞中芦丁和槲皮素的提取工艺研究[J].现代食品科技,2011,27(4):437-439

[10] 欧阳平,张高勇,康保安.苦荞麦黄酮类化合物提取的工艺参数优化及数学模型研究[J].食品科学,2005,26(1):107-111

[11] 黄鹭强,熊雪娇.响应面分析法优化甘薯的抗褐变工艺[J].现代食品科技,2011,27(11):1349-1352

[12] 彭勇胜,王江之,黄程,等.响应面法优化姬松茸多糖的提取工艺[J].现代食品科技,2011,27(9):1119-1122

[13] 李炳辉,陈玲,李晓玺,等.超声强化响应面法优化知母多糖的提取工艺[J].现代食品科技,2011,27(4):432-436

[14] 杨维,夏杏洲,韩维栋,等.响应面法优化白骨壤果实中黄酮类化合物的提取工艺[J].现代食品科技,2011,27(2):191-195

欢迎订阅中文核心期刊

《现代食品科技》

邮发代号：46-349　　刊号：ISSN 1673-9078/CN 44-1620

每期定价 15 元，全年 12 期仅 180 元。欢迎食品及相关行业的机构和科学工作者到各地邮局订阅，并踊跃投稿或建立广告宣传和产学研合作关系。

地址：广州五山华南理工大学轻工与食品学院麟鸿楼 508，邮编：510640

电话：020-87112373，87114555，87113352，87112532

E-mail：xdspkj@vip.sohu.com