

岗稔黄酮苷提取工艺研究

靳桂敏, 钟瑞敏, 林朝朋

(韶关学院英东生物工程学院, 广东 韶关 512005)

摘要: 采用单因素试验与正交试验方法, 对乙醇提取岗稔黄酮苷的工艺进行了探讨, 研究了岗稔皮与乙醇的质量配比(料液比)、提取时间、提取温度以及乙醇体积分数等因素对岗稔黄酮苷提取得率的影响, 结果表明最佳提取工艺条件为料液比 1:40、提取时间 2.5 h、提取温度 80 ℃、乙醇体积分数 60%。

关键词: 岗稔; 黄酮苷; 提取; 乙醇

中图分类号: TS202.3; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2007)03-0042-03

Extraction of Flavonoid Glycosides in *Rhodomyrtus tomemntosa*

JIN Gui-min, ZHONG Rui-min, LIN Chao-peng

(Yingdong College of Biotechnology, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China)

Abstract: The ethanol extraction of flavonoid glycosides in *Rhodomyrtus tomemntosa* was discussed by single factor and orthogonal experiments. The influential factors were investigated and the optimal weight ratio of *Rhodomyrtus tomemntosa* to ethanol, the extraction time, temperature and ethanol concentration were shown to be 1:40, 80 ℃, 60% and 2.5 h, respectively.

Keywords: *Rhodomyrtus tomemntosa*; flavonoid glycosides; extracting; ethanol

岗稔, 又称山稔、稔子、多莲等, 学名桃金娘 *Rhodomyrtus tomemntosa* (Ait.) Hassk. 广泛分布于我国广东、广西、海南等广大地区。秋季结出球状浆果, 熟时暗紫色。

岗稔具有较高的保健功能和药用价值。岗稔的根、叶、果均可入药, 具有补血、滋养、安胎、明目, 临床主治贫血、病后体虚、神经衰弱等功效^[1]。岗稔果实含有较为全面的营养成份, 有氨基酸, 微量元素和多种维生素、有机酸等。此外, 岗稔富含花色苷、没食子酸等黄酮类成分及植物多糖成分, 这些成分具有显著的清除体内自由基、抵制癌细胞、降血脂、软化血管及提高机体免疫能力的功效, 尤其对心脑血管疾病有极好的预防和治疗效果, 是目前国内外重点研究和应用的天然植物功能性成分, 被广泛应用于食品加工、化妆品开发等, 是一种有较高利用价值的野生植物资源^[2,3]。

由于人工合成的黄酮类化合物存在着副作用大及价格昂贵等多方面缺陷, 人们逐渐将注意力转向从植物中提取黄酮类化合物, 从天然物质中提取的黄酮类化合物具有较好的药理作用, 且毒副作用小。

收稿日期: 2006-11-9

基金项目: 2004 年韶关市科技计划项目资助 (313-140347)

作者简介: 靳桂敏, 高级讲师, 主要从事食品深加工方面的研究。

通讯作者: 钟瑞敏

黄酮类化合物的提取方法有很多, 如水提法、有机溶剂提取法、大孔树脂法、超临界CO₂萃取法、微波法、超声波法、高速逆流色谱法(HSCCC)等^[4]。比较各提取方法的优缺点和考虑到当前的实验室条件, 本研究采用有机溶剂提取法。以乙醇为提取溶剂, 研究从岗稔果皮中提取黄酮苷的工艺。对影响黄酮苷提取率的主要因素进行了探讨, 通过实验确定最佳提取工艺条件。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

岗稔果皮、芦丁、乙醇(AR)、氢氧化钠(AR)、硝酸钠(AR)、亚硝酸铝(AR)。

S22PC 分光光度计、电子分析天平、石狮牌 JCW-46B 型多功能搅肉机、SHZ-D (III) 循环水式真空泵抽滤装置、HH-S285 恒温水浴锅等。

1.2 实验方法

1.2.1 岗稔皮预处理

岗稔果榨汁后取皮, 经干燥、粉碎, 备用。

1.2.2 黄酮苷的提取^[5]

准确称取已经过预处理的岗稔皮 2.000 g, 投入到 250 ml 的圆底烧瓶中, 加入一定体积分数的乙醇水溶液, 配上冷凝管, 在恒温水浴锅中回流提取、冷却、抽滤, 用 50% 的乙醇洗涤滤渣两次, 合并滤液并转移

到 100 ml 的容量瓶中, 定容待测。

1.2.3 芦丁标准曲线的绘制^[6]

采用芦丁为标准品, 用分光光度计测定黄酮苷的含量。

精确称取 0.1000 g 芦丁, 置于烧杯中完全溶解, 冷却, 转移至 1000 ml 的容量瓶中, 用水定容, 即得标准液 (0.1000 g/L)。

精确吸取该标准液 0.0 ml, 2.0 ml, 4.0 ml, 6.0 ml, 8.0 ml, 10.0 ml, 分别置于 6 支试管中, 加体积分数为 30% 的乙醇至 10 ml, 加 5% 的亚硝酸钠 0.7 ml, 摇匀, 静置 5 min 后, 加 10% 的硝酸铝 0.7 ml, 加 1 mol/l 的氢氧化钠 5 ml, 加体积分数为 30% 的乙醇 8 ml, 摇匀, 静置 10 min 后, 以芦丁空白为对照, 在波长 510 nm 处测定吸光度值, 以吸光度值对质量浓度作图, 得芦丁标准曲线如图 1 所示。

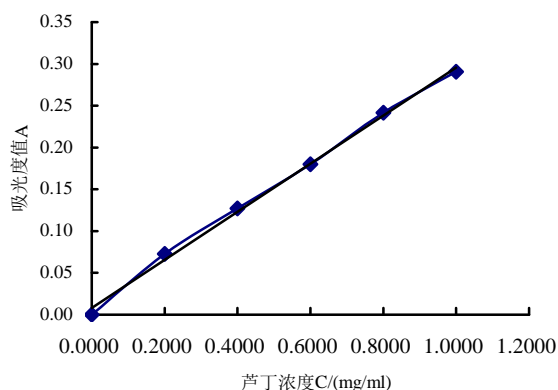


图 1 芦丁标准曲线

Fig.1 The standard working curve of rutin

回归方程得: $A=0.2876C+0.0082$, $R^2=0.9971$ 。

式中: A 为吸光度值, C 为芦丁的浓度 (mg/ml)。

1.2.4 样品提取液中黄酮苷含量的测定

精确吸取待测样液 1 ml 于试管中, 其制备方法同上。用体积分数为 30% 的乙醇调零, 在波长 510 nm 处测定吸光度值, 然后代入回归方程计算, 即可得样品液中黄酮苷的质量浓度, 再经计算就得其含量。

黄酮苷得率的计算公式:

$$\text{黄酮苷得率}(\%) = (C_1 \times 100 \div 1000W) \times 100\%$$

式中: C_1 为样品液中黄酮苷的质量浓度 (mg/ml); W 为岗稔皮的质量 (g)。

2 结果与分析

2.1 单因素试验的分析

分别测定不同温度、不同时间、不同乙醇体积比及不同料液比黄酮苷得率。

2.1.1 提取溶剂的选择

按料液比 1:30 分别加入水、体积分数为 50% 的甲醇和体积分数为 50% 的乙醇, 在水温为 78 °C 的水浴锅中恒温回流 2 h, 测定不同提取溶剂的黄酮苷得率。

实验结果表明水、甲醇、乙醇的黄酮苷得率分别为 0.162%、0.507%、1.506%, 由此可见, 乙醇作为提取溶剂的效果明显比前面两者要好得多。而且考虑到试剂的价格和安全性, 本研究选用乙醇为提取溶剂。

2.1.2 提取温度的影响

按料液比 1:40 加入体积分数为 50% 的乙醇, 分别在 40 °C、50 °C、60 °C、70 °C、80 °C、90 °C 下回流提取 1.5 h, 测样品中黄酮苷得率。结果如图 2 所示。

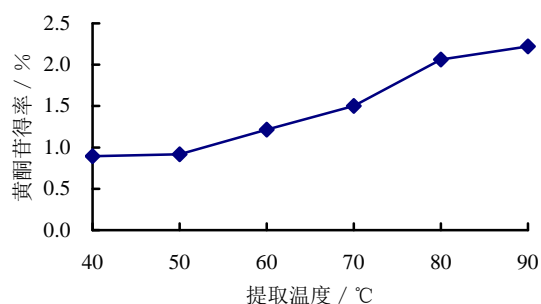


图 2 提取温度对黄酮苷得率的影响

Fig.2 Effect of temperature on the yield of flavonoid glycosides

由图 2 可知, 随着温度的升高, 黄酮苷得率不断增加。70 °C 升到 80 °C 的过程中, 黄酮苷得率增加得最快; 80 °C 后, 黄酮苷得率的增加又趋向于缓慢。温度的升高, 有利于黄酮苷的溶出, 但是, 温度过高, 杂质的溶出增加, 同时, 黄酮苷可能会部分分解, 因此, 选择最佳提取温度为 80 °C。

2.1.3 提取时间的影响

按料液比 1:40 加入体积分数为 50% 的乙醇, 时间取 0.5 h、1 h、1.5 h、2 h、2.5 h、3 h, 在 80 °C 下回流提取, 测样品中黄酮苷得率。实验结果如图 3 所示。图 3 可知, 当提取时间增加到 1.5 h 时, 黄酮苷得率达到最大值。因此, 最佳提取时间为 1.5 h。

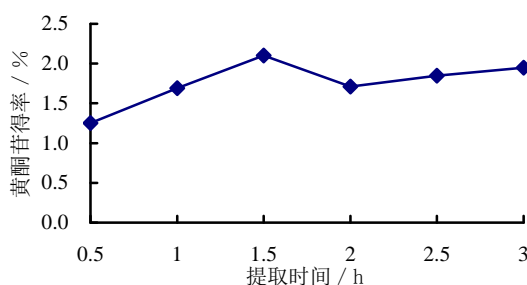


图 3 提取时间对黄酮苷得率的影响

Fig.3 Effect of time on the yield of flavonoid glycosides

2.1.4 乙醇体积分数的影响

按料液比 1:40 加入不同体积分数乙醇, 80 °C 下回流提取 1.5 h, 测样品黄酮苷得率。结果如图 4 所示。

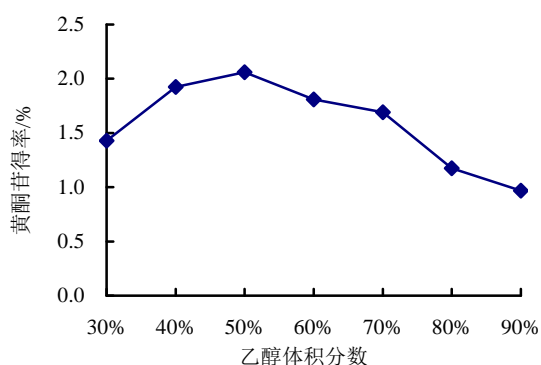


图 4 乙醇体积分数对黄酮苷得率的影响

Fig.4 Effect of concentration on the yield of flavonoid glycosides

由图 4 知乙醇体积分数为 50% 时, 黄酮苷的得率达到最大。

2.1.5 料液比的影响

按不同料液比用体积分数为 50% 的乙醇在 80 °C 下回流提取 1.5 h, 测样品黄酮苷得率。结果如图 5。

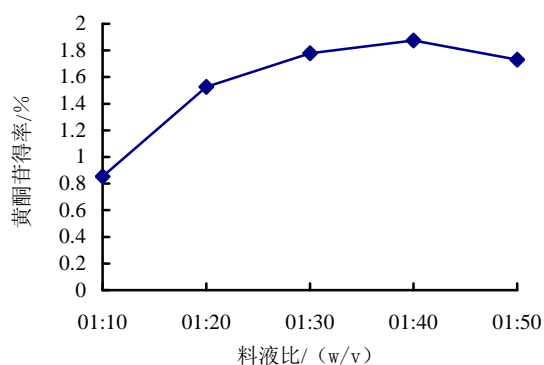


图 5 料液比对黄酮苷得率的影响

Fig.5 Influence of liquid-solid rate on the yield of flavonoid glycosides

图 5 可知, 随着溶剂用量的增大, 黄酮苷得率也逐渐增加, 当料液比为 1:40 时最大。

2.2 正交试验结果 (见表 2)

根据单因素实验结果, 选用 $L_9(3^3)$ 进行正交试验, 因素水平如表 1, 结果如表 2。

表 1 水平因素表

水平	A 温度/°C	B 时间/h	C 乙醇体积分数/%
1	70	1.5	40
2	80	2.0	50
3	90	2.5	60

表 2 正交试验结果

Tab.2 Results and orthogonal experiment

实验号	A	B	C	黄酮苷得率(%)
1	1	1	1	1.476
2	1	2	2	1.455
3	1	3	3	1.588
4	2	1	3	2.116
5	2	2	1	1.873
6	2	3	2	2.136
7	3	1	2	1.454
8	3	2	3	1.625
9	3	3	1	1.781
K_1	4.519	5.046	5.130	
K_2	6.215	4.953	5.046	
K_3	4.860	5.505	5.328	
k_1	1.506	1.682	1.710	
k_2	2.042	1.651	1.682	
k_3	1.620	1.835	1.776	
R	0.536	0.184	0.094	

通过表 2 可看出: 各因素对黄酮苷得率的影响顺序为 $A > B > C$, 较佳提取条件为 $A_2B_3C_3$, 即按料液比 1:40 加入体积分数为 60% 的乙醇, 在 80 °C 下回流提取 2.5 h, 为岗稔黄酮苷的最佳提取工艺条件。

3 结论

用醇提法进行优化岗稔黄酮苷的提取工艺条件, 其工艺简单、操作容易, 值得推广应用。但由于植物有效成分的提取是一个较为复杂的过程, 受到植物的种植、采收、储存, 及具体工艺和评价标准等诸多环节的影响。本工艺虽然可以使样品液中的黄酮苷得率超过 2.14%, 但这只是粗黄酮苷, 杂质较多, 必须要在在此基础上将这些提取物粗品进一步分离纯化。

参考文献

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(上册) [M]. 人民卫生出版社, 1983. 664.
- [2] 来国防等. 黄酮类化合物抗 HIV 活性研究进展 [J]. 商丘师范学院学报, 2002, 18(5): 83-87.
- [3] 黄华艺等. 黄酮类化合物抗肿瘤研究作用进展 [J]. 中国新药与临床杂志, 2002, 21(7): 428-433.
- [4] 高志强, 江相兰, 等. 竹叶中黄酮类化合物的研究进展评述 [J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2005, 31(1): 38-43.
- [5] 丁利群, 吴振辉, 蔡创海. 槐花中黄酮类物质提取工艺的研究 [J]. 农业工程学报, 2002, 18(1): 141-144.
- [6] 苏燕评, 刘育梅, 刘剑秋等. 红花桑寄生茎叶总黄酮提取工艺 [J]. 亚热带植物科学, 2002, 31(2): 21-24.