

葛根总黄酮提取工艺研究

张喜梅, 李琳, 陈玲, 苗晓杰

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

摘要: 本论文采用传统浸提法, 以乙醇为溶剂, 考察溶剂体积分数、提取时间、固液比、提取温度和葛根粉粒度对葛根总黄酮提取率的影响, 并在单因素实验的基础上, 通过正交试验, 确定了葛根总黄酮的提取工艺。结果表明, 提取温度、提取时间、固液比、乙醇体积分数以及粒度对葛根总黄酮的提取率均有影响, 优化的葛根总黄酮的提取工艺为: 提取温度为 80 °C, 提取时间为 120 min, 乙醇体积分数为 70%, 固液比为 1:12, 粒度为 80 目。

关键词: 葛根; 总黄酮; 提取

中图分类号: TS201.2; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)01-0042-04

Study on the Extaction of Total Flavones from *Pueraria Lobata Ohwi*

ZHANG Xi-mei, LI Lin, CHEN Ling, MIAO Xiao-jie

(College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The total flavones were extracted with alcohol as the solvent from *Pueraria Lobata Ohwi*. The effects of the extraction conditions such as the concentration of ethanol, the extraction time, the ratio of Puerariae to solution of ethanol, extraction temperature and the size of *Pueraria Lobata Ohwi* were studied. The proper condition was determined by orthogonal experiment. The results were as following: The extraction temperature was 80 °C, the extraction time was 120 min, the concentration of ethanol was 70%, the ratio of Puerariae to solution of ethanol was 1:12, and the size of *Pueraria Lobata Ohwi* was 80.

Key words: *Pueraria Lobata Ohwi*; total flavones; extraction

黄酮类化合物是植物的次级代谢产物, 在自然界中分布广泛, 普遍存在于植物的叶子和果实中。葛根既是中药材, 又是营养丰富的食用原料。其被《神农本草经》列为中品, 并为中国药典所收载^[1,2]。

近年来, 从植物体中分离提取黄酮类化合物已得到了广泛的重视和研究。其中探索从植物体中分离提取高纯度黄酮类化合物的方法成为一个关键问题^[2]。本文以富含黄酮类化合物的葛根为材料, 采用传统浸提方法, 在单因素影响研究的基础上, 通过正交实验, 进行优化研究, 以期工业化生产提供适宜的工艺参数。

1 实验材料和仪器设备

1.1 实验原料

葛根: 广东翁源县出品。

1.2 主要试剂

芦丁: 中国医药(集团)上海化学试剂公司生产; 乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等均为分析纯。

1.3 实验仪器

恒温水浴锅 (HH-S 数显); 江苏省金坛市医疗仪

器厂。

紫外分光光度计 (UV-2102PC); 上海尤尼柯仪器有限公司。

2 实验方法

2.1 标准曲线的绘制

黄酮类化合物在碱性介质中与硝酸铝作用后, 生成黄酮的铝盐络离子, 呈黄色, 可通过紫外-可见分光光度法定量测定黄酮类物质的含量。

精密测量 120 °C 减压干燥至恒重的芦丁标准品 10 mg, 用 95% 的乙醇溶解。定容到 10 mL 的容量瓶中, 再精确量取 2.5 mL 至 25 mL 的容量瓶中。用 95% 乙醇稀释定容, 得 100 μg/mL 的芦丁标准溶液。

精密吸取芦丁标准溶液 0.0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL, 分别置于 20 mL 刻度试管中, 用 95% 的乙醇补充至 5 mL, 然后加入 0.5 mL 的 10% Al(NO₃)₃ 溶液, 再加入 10% 硝酸铝溶液 0.5 mL, 摇匀后放置 6 min, 最后加 4% NaOH 溶液 4 mL, 摇匀放置 15~20 min。

用第一个样品做空白样, 在 400~1000 nm 范围内扫描其他样品, 得扫描曲线, 如图 1 所示, 确定总黄

酮的测量波长为 506 nm。

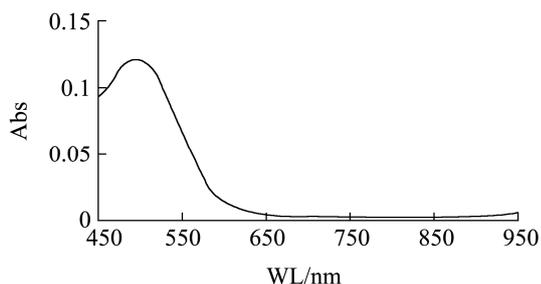


图 1 样品的最大吸收峰扫描

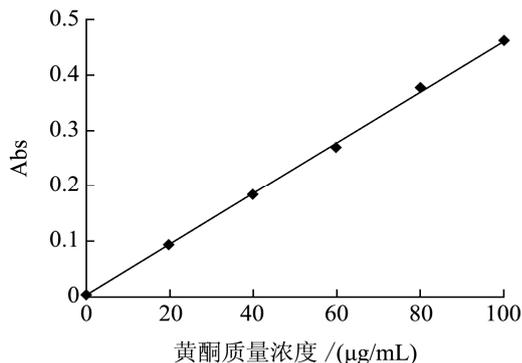


图 2 506 nm 处黄酮质量浓度与吸光度的关系

在 506 nm 处，分别测出 6 个标准溶液的吸光度，并对吸光度与黄酮质量浓度的关系作图，如图 2 所示，通过线性回归，得吸光度与质量浓度的关系为：

$$A=0.018436 \times C, R^2=0.999535$$

其中，A-吸光度；C-黄酮的质量浓度， $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2 葛根总黄酮的提取及提取率的计算

将葛根用粉碎机粉碎，过筛，制成葛根粉。称取一定量的葛根粉，用一定量的乙醇溶液在一定条件下浸泡一定时间，过滤，得黄色滤液，测量滤液体积。取 2 mL 滤液，按绘制标准曲线的方法显色，在 506 nm 处，用紫外-可见分光光度计测定其吸光度，质量浓度由下式计算而得，即： $C=A/0.018436$

葛根总黄酮的提取率按以下公式计算：提取率/%= $(C \times 5/2 \times V) / m$

其中，提取率以 1 g 葛根粉提取总黄酮的 μg 数表示，单位为 $\mu\text{g/g}$ 葛根粉，C-质量浓度 $\mu\text{g/mL}$ ，V-滤液的体积，mL，m-所用葛根的质量数，g。

3 结果与讨论

3.1 单因素对提取率的影响研究

3.1.1 溶剂体积分数的影响

称量 10 g 20 目葛根粉，按固液比为 1:6 的比例分别加入无水、95%、75%、50%、30%乙醇溶液，在温度为 70 °C 下浸提 1 h，测定并计算不同乙醇体积分数

下葛根总黄酮的提取率，得到乙醇体积分数与葛根总黄酮提取率的关系如图 3。

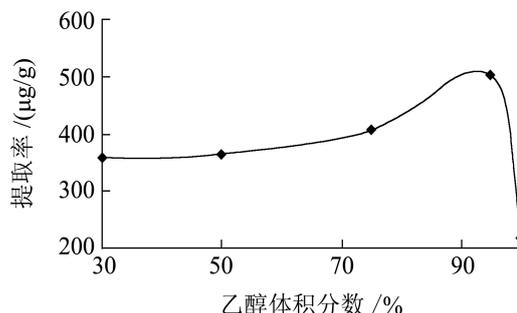


图 3 溶剂体积分数对葛根总黄酮提取率的影响

从图 3 中可知，在其他因素不变的情况下，葛根总黄酮的提取率随乙醇体积分数的提高而增大，当乙醇体积分数为 95% 时，葛根总黄酮的提取率最大。而当乙醇体积分超过 95% 时，提取率反而下降。这是由于大部分黄酮类化合物易溶于乙醇类有机溶剂，因此，随着有机溶剂量的增加，总黄酮提取率提高，但当有机溶剂达到 100% 时，一些水溶性黄酮类化合物的溶出量降低，从而导致总黄酮的提取率降低。

3.1.2 提取时间的影响

称量 5 g 20 目的葛根粉，按固液比为 1:6 的比例加入 95% 乙醇溶液，提取温度为 70 °C，提取时间分别为 30 min、60 min、90 min、120 min、150 min，测定并计算相应条件下葛根总黄酮的提取率。提取时间与葛根总黄酮提取率的关系如图 4 所示。

如图所示，在其它因素不变的情况下，葛根总黄酮的提取率随提取时间的延长而增大，90 min 后，提取时间的改变对提取效果的影响不明显，这可能是黄酮类化合物在细胞内外已达平衡的原因。

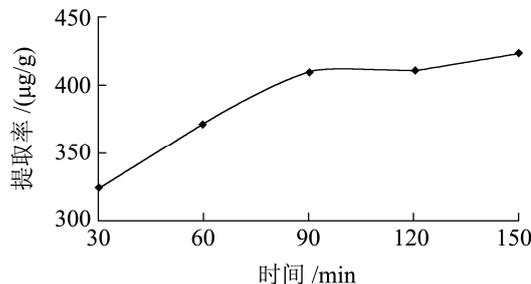


图 4 提取时间对葛根总黄酮提取率的影响

3.1.3 溶剂量的影响

称量 5 g 20 目葛根粉，按固液比分别为 1:4、1:6、1:8、1:10、1:12 的比例加入 95% 乙醇溶液，提取温度为 70 °C，提取时间为 90 min，测定并计算相应条件下葛根总黄酮的提取率。图 5 为固液比与葛根总黄酮提取率的关系。

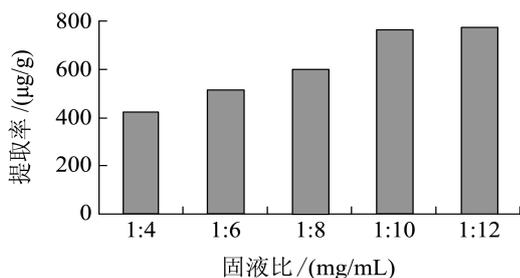


图5 固液比对葛根总黄酮提取率的影响

从图5中可以得出,在其它因素不变的情况下,葛根总黄酮的提取率随所用溶剂用量的增加而增大,一般说来,在一定温度条件下,物质的溶解度一定,则总黄酮溶出量随着提取溶剂的增加而增加,但当溶剂量达到一定值时,总黄酮基本溶出完全,则增加溶剂量对总黄酮的提取率影响不大。

从图5中可知,当固液比达到1:10后,所得葛根总黄酮的提取率变化不大。因此,本实验的固液比控制在1:10。

3.1.4 提取温度的影响

称量5g 20目的葛根粉,按固液比为1:10的比例加入95%乙醇溶液,改变提取温度,分别为40℃、50℃、60℃、70℃、80℃,提取时间为90min,测定并计算相应条件下葛根总黄酮的提取率。得到提取温度与葛根总黄酮提取率的关系图,如图6。

由图6可知,在其它因素不变的情况下,葛根总黄酮的提取率随提取温度的提高先增加后减小。提取温度在60℃左右时,提取率可达到最大值。之后随着温度的提高,提取率反而下降。这可能是由于温度的升高,部分黄酮类化合物被氧化,此外,温度升高,易导致其它易溶物溢出量增加,同样可导致总黄酮提取率降低。

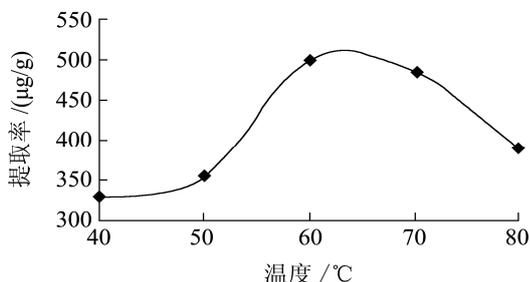


图6 提取温度对葛根总黄酮提取率的影响

3.1.5 固体粒度的影响

称量2g葛根粉,其目数分别为20目、40目、

60目、80目、100目,按固液比为1:12的比例加入95%乙醇溶液,提取温度为70℃,提取时间为90min,测定并计算相应条件下葛根总黄酮的提取率。得到葛根粒度与葛根总黄酮提取率的关系图,如图7所示。

从图7中可知,在其它因素不变的情况下,葛根总黄酮的提取率随提取粒度的减小先增加后减小。粒度为80目时,提取率可达到最大值;之后随着粒度的减小,提取率反而下降。这是由于粒度减小,比表面积增大,与溶液的接触面积增大,有利于黄酮的浸出,但粒度进一步减小,颗粒之间易发生团聚,反而降低了比表面积,因此,提取率降低。

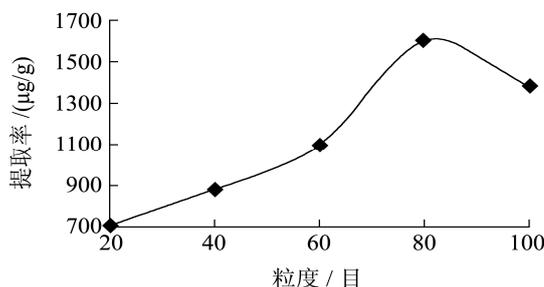


图7 葛根粉粒度对葛根总黄酮提取率的影响

3.2 葛根总黄酮提取工艺的优化

单因素实验表明,溶剂体积分数、提取时间、溶剂量、提取温度以及葛根粒度对葛根总黄酮提取率均有影响。因此,在单因素实验的基础上,通过L₁₆(4⁵)正交试验,进一步研究它们的影响。实验因素水平如表1,正交实验结果如表2。

表1 实验因素水平L₁₆(4⁵)表

水平	因素				
	温度/°C	时间/min	溶剂/%	固液比/(g/mL)	粒度/目
	A	B	C	D	E
1	50	30	70	1:6	40
2	60	60	80	1:8	60
3	70	90	90	1:10	80
4	80	120	100	1:12	100

根据表1、2的结果可知,提取温度、提取时间、固液比、乙醇体积分数以及粒度对葛根总黄酮的提取率均有影响,影响的大小顺序为:粒度>乙醇体积分数>固液比>提取温度>提取时间。根据正交实验的结果,可以确定葛根总黄酮提取的最佳实验条件为:提取温度为60℃,提取时间为60min,乙醇体积分数为70%,固液比为1:12,粒度为80目。

表2 正交实验结果

实验号	因素					提取率 ($\mu\text{g/g}$)
	A	B	C	D	E	
1	50	30	70	1:6	40	1236.823
2	50	60	80	1:8	60	1792.873
3	50	90	90	1:10	80	2250.402
4	50	120	100	1:12	100	551.738
5	60	30	80	1:10	100	1160.000
6	60	60	70	1:12	80	2996.200
7	60	90	100	1:6	60	797.334
8	60	120	90	1:8	40	1739.569
9	70	30	90	1:12	60	2408.733
10	70	60	100	1:10	40	928.969
11	70	90	70	1:8	100	1201.114
12	70	120	80	1:6	80	2050.813
13	80	30	100	1:8	80	1388.536
14	80	60	90	1:6	100	932.291
15	80	90	80	1:12	40	2325.000
16	80	120	70	1:10	60	2545.596
k_1	1457.959	1548.523	1994.933	1254.315	1557.590	
k_2	1673.276	1662.583	1832.171	1530.523	1886.134	
k_3	1647.407	1643.463	1832.749	1721.242	2171.488	
k_4	1797.856	1721.929	916.644	2070.418	961.286	
极差	339.897	173.406	1078.289	766.103	1210.202	

4 结论

通过以上研究可以得知:

(1) 提取温度、提取时间、固液比、乙醇体积分数以及粒度对葛根总黄酮的提取率均有影响, 影响的大小顺序为: 粒度>乙醇体积分数>固液比>提取温度>提取时间。

(2) 葛根总黄酮提取的最佳实验条件为: 提取温度为 80 $^{\circ}\text{C}$, 提取时间为 120 min, 乙醇体积分数为

70%, 固液比为 1:12 (m/V), 粒度为 80 目。

参考文献

- [1] 崔苏镇,彭学莲.葛根的药理作用研究概况.时珍国药研究.1998,9(3):246-249
- [2] 华辉;郭勇.黄酮类化合物药理研究进展.广东药学,1999,9(4):9-12
- [3] 张睿,徐雅琴,时阳.黄酮类化合物提取工艺研究.食品与机械,2003,(1):21-22
- [4] 金春雪,上官进,刘政,等.黄酮苷类化合物的提取与初步分析.信阳师范学院学报,1998,(2):186-187
- [5] 中国科学院上海药物研究所编著,中草药有效成分提取与分离.上海:上海科技出版社,1983,(7):24-25
- [6] 潘见,陈强,王国霞,等.葛根黄酮浸取工艺优化研究.农业工程学报,1998,(4):230-233
- [7] 邵立波,郑文德,何艳贞.葛根中黄酮类化合物的提取.林业科学研究,1996,(4):400-402
- [8] 魏永生,王永宁,石玉平,等.分光光度法测定总黄酮含量的实验条件研究.青海大学学报(自然科学版),2003,(6):61-63
- [9] 向大雄,李焕德,大勇,等.不同纯化工艺对葛根总黄酮质量的影响.中国药房,2002,(6):328-330
- [10] 毕立君,李君.水芹中总黄酮类化合物最佳提取工艺的研究.食品科学,1999,(12):35-37
- [11] 董嘉德.超声技术在中药提取中的应用.中国药业,2002,11(11):55-56
- [12] 赵丽娟,王翠艳,陈崇军.葛根总黄酮的两种不同提取方法比较.鞍山钢铁学院学报,2002,(2):105-107
- [13] Sarabia E. R, Gallego J. A., Rodriguez G., et al. Application of high-power ultrasonic to enhance fluid/solid particle separation processes. Ultrasonics. 2000,38:642-646
- [14] Vinatorm M., Toma M., Radu O., et al. The use of Ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. Ultrasonic Sonochemistry. 1997,4(2):135-139

汇源推出儿童专用果汁

随着国内果汁行业的不断发展和成熟,生活中可供消费者选择的果汁品种日益增多,但一直以来市场上还没有一款专门针对少年儿童营养健康的果汁产品出现.近日,这一现象终于得到改观:中国果汁行业第一品牌汇源集团正式面向全国推出了国内首款儿童专用果汁产品——乐乐园.至此,乐乐园儿童产品不仅成为中国儿童果汁第一品牌,也填补了国内果汁市场无儿童果汁的空白。

多年来,国家对少年儿童健康工作予以高度关注.但由于很多家长都认为每天给孩子补充了牛奶、肉类及蛋白类食品就可以确保孩子的健康成长,却不知维生素对孩子同样重要,所以维生素缺乏已成为儿童维生素缺乏的普遍现象.维生素对孩子的成长非常重要,有效地、合理地补充维生素是确保孩子健康成长的关键.据了解,汇源此次全力出击儿童果汁市场正是针对国内儿童维生素缺乏现象所作出重大战略决策。(新闻来源:中国食品科技网)