



菥蓂总黄酮提取工艺的优化

段曼,周中杰,王立升*,庞赛,马荣锴
(广西大学化学化工学院,广西南宁 530004)

摘要:目的:优化菥蓂总黄酮的索氏提取工艺。方法:采用紫外可见分光光度法,以提取出的总黄酮含量作为评价指标,先后通过单因素实验和正交实验来确定提取菥蓂总黄酮的最佳工艺条件。结果:四因素影响顺序为提取温度>提取时间>料液比>乙醇浓度,菥蓂全草料液比为1:13,温度180℃下,50%乙醇索氏提取回流2.5h为最佳提取条件,此时,总黄酮提取率为89.047mg/20g。结论:该工艺作为菥蓂提取总黄酮的一种有效手段,可为其工业化提取提供参考。
关键词:菥蓂,正交实验,总黄酮,工艺条件

Optimization of the extraction technology of total flavonoids from *Thlaspi Arvense* Linn herb

DUAN Man, ZHOU Zhong-jie, WANG Li-sheng*, PANG Sai, MA Rong-kai

(School of Chemistry & Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: Total flavonoids from *Thlaspi Arvense* Linn herb were extracted by soxhlet extractor. On the basis of single factor experiments, the orthogonal experiment was carried out to confirm the optimal extraction conditions. Results showed that the order of the factors was extraction temperature > extraction time > soild-liquid ratio > concentration of ethanol, and the optimal extraction conditions were: the raw material was extracted at 180℃, in 50% ethanol with the ratio of material to liquid at 1:13 for 2.5h, under these conditions the yield of total flavonoids came up to 89.074mg/20g. The process could be used as an effective mean for the extraction of total flavonoids from *Thlaspi Arvense* and also supplied consultation for its industrial extraction.

Key words: *Thlaspi Arvense* Linn; orthogonal experiment; total flavonoids; extraction technique

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2012)06-0317-04

菥蓂(*Thlaspi arvense* Linn), 又称大芥、遏蓝菜, 是陇南地区野生名菜^[1], 为双子叶十字花科菥蓂属植物菥蓂的全草, 而且是花红片中的一味药材, 具有清肝、明目、利尿的药理作用, 常用于肾炎和子宫内膜炎的治疗。黄酮类化合物广泛存在于自然界植物中, 大部分具有较强的抗氧化活性, 能起到广谱抑菌、消炎和抗毒素的作用^[2], 其消炎作用与菥蓂治疗炎症的功效相符。目前对菥蓂的研究主要集中在菥蓂籽中特有成分黑芥子苷以及其挥发油上^[3-4], 本工作对菥蓂全草的总黄酮提取工艺进行了探索和优化, 从溶剂的选择、溶剂的浓度、提取时间、提取温度和料液比的单因素实验, 以及正交实验多个方面进行考察研究, 找到菥蓂总黄酮提取的最优工艺, 以期能为菥蓂总黄酮的工业化生产提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

芦丁标准品 中国药品生物制品检定所, 批号 100080-200707; 菥蓂干燥地上全草 广西花红药业股份有限公司; 其他所用试剂 均为分析纯。

T6 紫外-可见分光光度计 北京普析通用有限

公司; BS124S 电子分析天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司; 旋转蒸发器 德国 Heidolph 公司; 循环水式真空泵 巩义市英峪予华仪器厂; 真空干燥箱、电热套、恒温水浴锅 郑州长城科工贸有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线的绘制^[5] 精密称取芦丁对照品 10.0mg, 置于 100mL 容量瓶中, 加甲醇溶液溶解并定容, 摇匀, 即得浓度为 100μg/mL 的芦丁对照品溶液。精密吸取对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5mL 置于 25mL 容量瓶中, 分别加入 1mL 质量分数为 5% 的 AlCl₃ 水溶液, 甲醇定容, 摇匀, 放置 5min, 以相应的试剂为空白, 在 435nm 波长处测定吸光度, 绘制标准曲线, 得回归方程。

1.2.2 提取溶剂的选择 准确称取菥蓂干燥粉末 20.0g, 180℃ 下, 分别量取水、正丁醇^[6]、60% 甲醇、60% 乙醇^[7]、丙酮、以及 pH 8 的氨水溶液^[8] 300mL, 经索氏提取 3h, 浓缩, 干燥后称重。精确称取各样品 0.100g 置于 100mL 容量瓶中, 甲醇定容, 移取 2mL 样品置于 25mL 容量瓶中, 按照 1.2.1 方法络合显色, 测定吸光度, 计算总黄酮含量。

1.2.3 单因素实验

1.2.3.1 不同乙酸浓度提取 准确称取 20.0g 菥蓂粉末, 180℃ 下, 料液比为 1:15, 分别以浓度为 50%、60%、

收稿日期: 2011-06-15 * 通讯联系人

作者简介: 段曼(1986-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 有机化学。

70%、80%、90%的乙醇水溶液,索氏提取3h。提取后按照1.2.2中方法处理,测定吸光度,计算总黄酮含量。

1.2.3.2 不同温度提取 准确称取20.0g 蒜薹粉末,料液比为1:15,分别在140、150、160、170、180℃下,70%乙醇水溶液索氏提取3h。提取后按照1.2.2中方法处理,测定吸光度,计算总黄酮含量。

1.2.3.3 不同时间提取 准确称取20.0g 蒜薹粉末,料液比为1:15,180℃下,70%乙醇水溶液,分别索氏提取1、1.5、2、2.5、3h。提取后按照1.2.2中方法处理,测定吸光度,计算总黄酮含量。

1.2.3.4 不同料液比提取 准确称取20.0g 蒜薹粉末,180℃下,70%乙醇水溶液,分别以料液比为1:9、1:11、1:13、1:15、1:17索氏提取3h。提取后按照1.2.2中方法处理,测定吸光度,计算总黄酮含量。

1.2.4 正交实验^[9] 根据单因素实验结果,选择合适的提取温度、提取时间、乙醇浓度和料液比为参考因素,进行 $L_9(3^4)$ 正交实验,设计因素水平见表1。

表1 单因素实验因素水平表

Table 1 Factors and levels table of single experiment

水平	因素			
	A 提取温度 (℃)	B 提取时间 (h)	C 乙醇浓度 (%)	D 料液比 (w:v)
1	160	2	50	1:11
2	170	2.5	60	1:13
3	180	3	70	1:15

2 结果与讨论

2.1 标准曲线的绘制

根据所得数据以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为 $Y = 0.0383X + 0.0039$, $R^2 = 0.9997$,结果表明芦丁在0~14 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好。

2.2 提取溶剂的选择

根据回归方程,总黄酮含量计算公式为

总黄酮含量(mg/20g)

$$= \frac{A - 0.039}{0.038} \times \frac{25 \times 100}{2} \times \frac{m}{0.1} \times 10^{-3}$$

其中,A为测得的吸光度,m为粗提物的质量(g)。

由表2可知,乙醇粗提物多,所含总黄酮质量最多,选定乙醇为提取溶剂。

表2 不同极性溶剂对总黄酮提取的影响

Table 2 The effects of total flavonoids extraction by different polar solvents

溶剂	粗提物质量 (g)	吸光度 (A)	总黄酮含量 (mg/20g)
60%乙醇	1.25	0.1534	60.991
60%甲醇	1.12	0.1498	53.332
60%丙酮	0.54	0.1572	27.018
乙酸乙酯	0.24	0.0501	3.619
正丁醇	0.44	0.1604	22.474
pH 8 氨水	1.49	0.1118	52.471
水	1.33	0.0665	27.173

2.3 单因素优化结果

2.3.1 乙醇浓度的优化 固定提取时间、提取温度、

料液比三个单因素,改变乙醇浓度时,总黄酮含量与提取所用的乙醇浓度关系如图1所示。

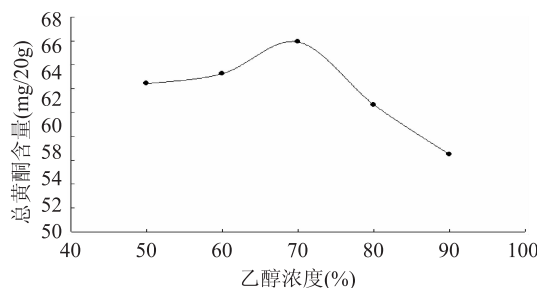


图1 乙醇浓度对总黄酮含量的影响

Fig.1 Influence of concentration of ethanol on the total content of flavonoids

图1表明,总黄酮含量随乙醇浓度的增加而逐渐增加,随后又快速减小。这是因为乙醇浓度逐渐增加,极性渐渐减小,当乙醇浓度为70%时,蒜薹粉末中的总黄酮被最大程度的萃取出来,而后随着乙醇浓度的继续增大,溶液的极性越来越小,由于总黄酮极性差异,不能被萃取出来而使总黄酮含量下降。当乙醇浓度为70%时,每20.0g原药材提取物中所含总黄酮质量最多,为65.909mg,可以确定体积分数为70%的乙醇水溶液为最佳提取溶液。

2.3.2 提取温度的优化 固定提取时间,乙醇浓度,料液比三个因素,改变提取温度时,总黄酮含量与提取温度的关系如图2所示。

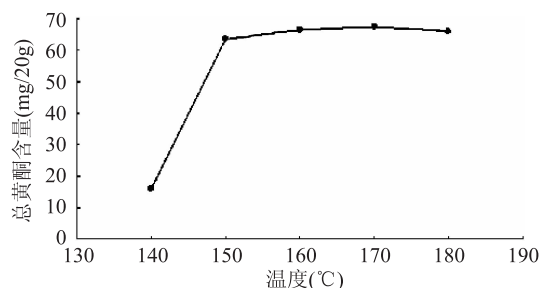


图2 不同提取温度对总黄酮含量的影响

Fig.2 Influence of different extraction temperature on the total content of flavonoids

图2表明,当温度为140℃时,每20.0g原药材提取物中总黄酮含量少,为15.854mg,150℃时,总黄酮含量为63.346mg,含量明显上升,这是因为140℃时,温度低,索氏提取时,3h内虹吸次数少。当温度从150℃上升到180℃过程中,随着温度上升,总黄酮含量逐渐增大,考虑能量损耗,确定170℃为最佳提取温度。

2.3.3 提取时间的优化 固定提取温度、乙醇浓度、料液比三个因素,改变提取时间时,总黄酮含量与提取时间的关系如图3所示。

图3说明,当提取时间超过1.5h后,提取物中总黄酮含量明显增加,提取时间为2.5h,总黄酮含量有所减小,可能是因为2~3h中,提取的非黄酮成分在增加,而总黄酮成分相对减少,当提取时间为3h时,由于加热时间长,药材内部纤维结构破坏严重,总黄酮渗出导致含量增加,加热时间为3h时,总黄

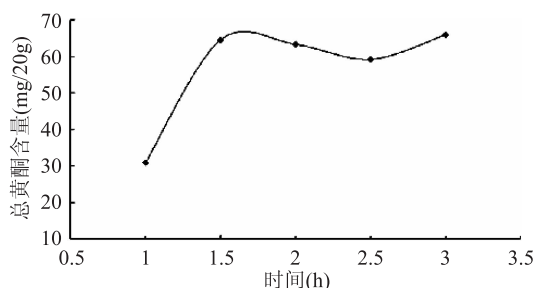


图3 提取时间对总黄酮含量的影响

Fig.3 Influence of different extraction time on the total content of flavonoids

酮含量最高,为 65.908mg/20g。确定提取时间 3h 为宜。

2.3.4 料液比的优化 固定提取温度,乙醇浓度,提取时间三个因素,改变料液比时,总黄酮含量与料液比的关系如图 4 所示。

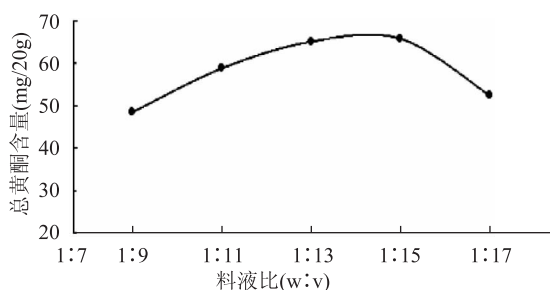


图4 料液比对总黄酮含量的影响

Fig.4 Influence of different solid-liquid ratio on the total content of flavonoids

图 4 说明,总黄酮含量随料液比的增加而逐渐增加,随后又减小。由于被提取的蒜薹粉末均为 20.0g,随着提取液的增加,在料液比为 1:15 时,提取物中黄酮类化合物含量最大,提取液再增加,黄酮含量减小。确定最佳料液比为 1:15。

2.4 正交实验结果

根据单因素实验结果,设计正交实验,结果见表 3。

表3 正交实验结果

Table 3 The result of orthogonal experiment

实验号	A	B	C	D	总黄酮含量 (mg/20g)
1	1	1	1	1	52.461
2	1	2	2	2	60.277
3	1	3	3	3	67.465
4	2	1	2	3	61.243
5	2	2	3	1	71.289
6	2	3	1	2	84.372
7	3	1	3	2	67.200
8	3	2	1	3	73.819
9	3	3	2	1	85.943
k ₁	60.068	60.301	70.217	69.897	
k ₂	72.301	70.616	69.154	70.616	
k ₃	75.654	67.509	68.651	67.509	
R	15.586	10.315	1.566	3.107	

由表 3 可知,考虑 A、B、C、D 四因素在 3 个水平上的变化,得出最佳提取条件,由极差(R)分析可以看出,各因素对总黄酮提取率影响的大小顺序为 A > B > D > C,即提取温度 > 提取时间 > 料液比 > 乙醇浓度。由正交实验结果可知最佳提取条件为 A₃B₂C₁D₂,即乙醇浓度为 50%,料液比为 1:13,提取时间为 2.5h,提取温度为 180℃时提取的总黄酮含量最高。

由于蒜薹中黄酮的最佳条件未在正交实验中进行,需进行验证实验。准确称取 20.0g 蒜薹粉末,按 1.2.4 正交实验优化所筛选得到的蒜薹总黄酮最佳提取条件平行提取 5 次,并按照 1.2.2 的方法处理,计算总黄酮含量。

2.5 验证实验结果

在上述正交实验筛选的最佳提取条件下进行 5 次平行实验,详见表 4。

表4 验证实验结果

Table 4 The result of verification

实验号	粗提物质量 (g)	吸光度 (A)	总黄酮含量 (mg/20g)	平均值 (mg/20g)
1	1.64	0.1711	89.493	
2	1.65	0.1707	89.824	
3	1.61	0.1724	88.539	89.047
4	1.66	0.1702	90.097	
5	1.59	0.1719	87.284	
RSD	1.79%		0.52%	

由表 4 可知,在乙醇浓度为 50%、料液比 1:13 的条件下,于 180℃下索氏提取 2.5h,总黄酮平均含量为 89.047mg/20g,比正交实验中的任何一次实验的产率都要高,这进一步说明通过正交实验得出的优化条件是稳定和可靠的。

3 结论

采用紫外可见分光光度仪进行全波长扫描确定了芦丁与三氯化铝络合后,显色物质的最大吸收波长为 435nm,并且对其进行了精密度、稳定性、重现性和加样回收实验,实验结果表明此方法准确可靠。通过单因素实验和正交实验,优化出了索氏提取蒜薹总黄酮的最佳工艺条件:蒜薹全草料液比为 1:13,180℃下,50%乙醇索氏提取回流 2.5h,总黄酮含量可达 89.047mg/20g。正交实验结果表明提取温度、提取时间对总黄酮提取有显著影响,而料液比、乙醇浓度相对影响较小。

参考文献

[1]何凯.野生名菜-蒜薹[J].生命世界,1990(4):15.
 [2]张鞍灵,刘国强,马琼,等.黄酮类化合物生物活性与结构的关系[J].西北林学院学报,2001,16(2):75-79.
 [3]王磊磊,陈聪,周旻,等.近红外漫反射光谱法测定川藏道地药材蒜薹子中黑芥子苷含量[J].光谱学与光谱分析,2009,29(10):2673-2676.
 [4]涂杰,张新申,李翔,等.GC-MS 分析蒜薹籽炒香前后挥发油的化学成分及其变化[J].华西药学杂志,2007,22(1):1-4.
 [5]王庆明,张金生,李丽华,等.两种分光光度法测定党参中的黄酮[J].辽宁石油化工大学学报,2010,30(4):4-7.

(下转第 323 页)

经罗维朋比色槽法色度测定,色度(133.4mm 罗维朋比色槽)(Y)35(R)3.6,明显低于传统精炼米糠油色度,达到了精炼米糠油的国家标准^[14]。

2.3.2 谷维素含量 对综合方法所得精炼油进行谷维素含量测定,结果表明精炼油中谷维素含量为1.73%,具有较好的营养价值。

2.3.3 磷含量 超临界流体萃取米糠油中磷含量较低,通过二乙醇胺精炼又会脱除一部分含磷物质。对综合处理后的米糠油进行磷含量测定,结果显示精炼油平均含磷量为3.1mg/kg,控制在目前脱胶效果最好的酶法脱胶范围(含磷量低于5mg/kg)^[15]之内。

2.3.4 过氧化值 对综合方法所得精炼油进行过氧化值测定,结果为4.5mmol/kg,油脂具有较好的稳定性。

2.3.5 蜡质含量 精炼米糠油成品蜡质含量测定结果为0.43%,与普通米糠油中2%~4%的蜡质含量^[16]相比明显降低,提高了米糠油的食用口感。

3 讨论

传统的压榨法制备米糠油得率低,有机溶剂浸出法油脂得率虽然高,但是和压榨毛油一样,酸价高且色泽深^[6],磷、铁含量高使毛油易于变质,增加了精炼工序的复杂性与物质消耗量。超临界流体萃取油脂得率接近有机溶剂浸出油脂得率,但酸价降低且色泽浅,同时甾醇含量得到针对性提高^[4]。本研究采用分段萃取法,不仅使中性油脂集中于高温高压区,而且油脂品质得到显著改善。

超临界萃取米糠油的得率与米糠的新鲜程度有直接关系,本实验中使用的米糠是从市场购买,新鲜程度受到影响,因此毛糠油出油率偏低,选用新鲜米糠此问题能够得到解决。

传统的米糠油碱炼可以获得理想的酸值和色泽,但中性油的损失较大,同时生成大量成分复杂的皂脚;物理精炼设备复杂,温度设置较高,油品质明显低于碱炼法^[17]。本研究使用的二乙醇胺精练法具有的独特优势,能在一定程度上避免传统碱炼和物理精炼的问题。

本实验简化米糠油精炼工艺,考察了米糠油脱酸效果及谷维素含量,而米糠油中其它营养素如甾醇及 V_E 在精炼中是否损失及损失多少尚不得知,需进一步研究。但生产富含谷维素的优质米糠油,此方法具有明显的优势。

4 结论

经超临界分段萃取、二乙醇胺精炼和脱蜡综合工艺处理所得米糠油具有焙烤食品独特香味,油脂

澄清、透明,呈现淡黄色,综合处理后酸价可降至0.85mgKOH/g,磷含量降至3.1mg/kg,过氧化值为4.5mmol/kg,蜡质含量0.43%,符合国家浸出成品米糠油质量指标。

超临界流体分段萃取和二乙醇胺法的综合应用,节省了传统毛糠油精炼工艺中单独脱色、脱胶和脱臭的工艺,是一种制备食用米糠油新型、简捷、高效的方法。

参考文献

- [1] Zullaikah S, Melwita E, Ju YH. Isolation of oryzanol from crude rice bran oil [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100 (1): 299-302.
- [2] 邵国武, 杨文凤, 李超, 等. 高谷维素米糠油双相萃取脱酸精炼工艺研究 [J]. *粮食科技与经济*, 2010, 35 (6): 30-32.
- [3] Pestana VR, Zambiazzi RC, Mendonca CRB, et al. Quality changes and tocopherols and d-oryzanol concentrations in rice bran oil during the refining process [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2008, 11 (5): 1013-1019.
- [4] 雷明刚. 超临界CO₂浸出米糠油 [J]. *食品科学*, 1993 (3): 43-45.
- [5] 罗晓岚, 朱文鑫. 浸出米糠油精炼工艺及难点分析 [J]. *中国油脂*, 2008, 33 (11): 57-60.
- [6] 赵威祺, 夫仓昭弘, 藤本健四郎, 等. 应用超临界二氧化碳分提米糠油 [J]. *中国油脂*, 1988 (4): 8-12.
- [7] 黄显慈. 简介保留与富集谷维素两种米糠油脱酸新方法 [J]. *粮食与油脂*, 2003 (6): 53.
- [8] 冯光炷, 刘国琴, 朱春山. 微波辐射条件下米糠中解脂酶活性的研究 [J]. *中国油脂*, 2004, 29 (2): 71-74.
- [9] 陈洁, 陈庶来. 超临界CO₂萃取米糠油的实验研究 [J]. *江苏理工大学学报*, 1995, 16 (6): 11-15.
- [10] 朱明. 食品工业分离技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 26-78.
- [11] 姚梅桑. 米糠油的制备及其抗氧化活性研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2008.
- [12] 范国欣, 孙晓薇, 潘希荣. 米糠油中谷维素含量的测定 [J]. *粮油食品科技*, 2010, 18 (1): 20.
- [13] 霍建聪, 杨坚, 欧丽兰. 米糠油的特性及其精炼技术的研究进展 [J]. *粮油加工与食品机械*, 2005 (3): 45-50.
- [14] 中华人民共和国国家标准局. GB 19112—2003 米糠油 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [15] 李文波, 万世亮. 米糠油精炼工艺及开发应用前景 [J]. *粮食科技与经济*, 2009 (5): 49-51.
- [16] 王子明. 糠蜡的提取 [J]. *中国油脂*, 1988 (3): 49-50.
- [17] Kim SK, 田养池. 碱炼、溶剂精炼和物理精炼对米糠油的脱酸作用和对色度的影响 [J]. *粮食加工*, 1986 (4): 38-40.

(上接第319页)

- [6] 惠俊峰, 惠有为, 米钰, 等. 银杏黄酮苷提取方法的研究 [J]. *西北农业学报*, 2004, 13 (2): 101-103.
- [7] 郭丽冰, 王蕾, 严优芍. 降香总黄酮提取工艺的正交设计实验优选 [J]. *时珍国医国药*, 2010, 21 (8): 1965-1966.

- [8] 刘健翔, 蒋洁, 魏峥曦. 超声波碱水法提取贯叶连翘总黄酮 [J]. *广东化工*, 2010, 37 (12): 15-16.
- [9] 胡殿丽, 吴鸣建, 木蝴蝶. 总黄酮超声提取工艺研究 [J]. *时珍国医国药*, 2010, 21 (10): 2475-2477.