

卫亚丽,钟箫,汤洪敏.茜草中总蒽醌的提取工艺优化[J].江苏农业科学,2014,42(8):268-270.

# 茜草中总蒽醌的提取工艺优化

卫亚丽<sup>1,2</sup>,钟箫<sup>1</sup>,汤洪敏<sup>1</sup>

(1. 贵州民族大学化学与环境科学学院/贵州少数民族医药资源开发与利用重点实验室,贵州贵阳 550025;

2. 贵州大学农学院,贵州贵阳 550025)

**摘要:**利用紫外可见分光光度计,在400~800 nm范围内对1,8-二羟基蒽醌的吸收光谱进行扫描,确定最大吸收波长;探讨提取次数、提取浓度、提取时间、料液比等单因素对茜草中总蒽醌的提取效果,在此基础上,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验,确定总蒽醌的最佳提取工艺。结果表明,茜草总蒽醌的最大吸收波长为511 nm;对照品1,8-二羟基蒽醌的吸收度与浓度线性关系良好,相关系数 $r=0.99946$ ;茜草总蒽醌最佳提取工艺为料液比1 g:12 mL、提取时间1.5 h、提取次数3次、乙醇浓度70%。

**关键词:**紫外分光光度法;茜草;总蒽醌;提取

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0268-02

茜草(*Rubia Cordifolia* L.)为茜草科植物,别称活血草、锯子草、拉拉草、缠老鼠、粘粘草、血见愁等,多年生攀援草本,主产于陕西、江苏、安徽、河南、山东,春、秋2季采挖,根及根茎干燥药用,性寒、味苦,归肝经,具有凉血、止血、祛瘀、通经之功效,临床上用于吐血、崩漏下血、外伤出血、经闭瘀阻、关节痹痛、跌打肿痛等病症<sup>[1-2]</sup>,特别对心脑血管疾病疗效显著。蒽醌类物质不仅在药用方面有极大的发展潜力,而且可作为天然色素用于食品添加剂,安全性高,具有营养和药用价值,逐渐受到人们的重视<sup>[3-5]</sup>。茜草蒽醌类物质的研究报道较多<sup>[6-11]</sup>,大多是对其组成和结构进行鉴定,对提取工艺的研究报道较少。采用正交试验,研究4因素(乙醇浓度、提取次数、时间、料液比)3水平醇提工艺,采用紫外可见分光光度计测定总蒽醌含量,确定最佳醇提条件,为工业化提取茜草总蒽醌提供试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器材料

UV-cary300型紫外可见分光光度计;W201B恒温水浴锅,上海中生生物技术有限公司生产;AEG-45SM电子天平(1/100 000),日本岛津公司生产;1,8-二羟基蒽醌,中国药品生物制品检定所提供;R-201型旋转蒸发仪,上海中生科技有限公司生产;无水乙醇、三氯甲烷及其他试剂均为分析纯。茜草购自贵阳市医药公司,产地陕西。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 最大吸收波长测定

精确称取1,8-二羟基蒽醌标

准品10 mg,甲醇溶解,定容至100 mL;吸取1 mL水浴蒸干,加0.5%醋酸镁-甲醇溶液,摇匀使之溶解,10 mL容量瓶定容;以0.5%醋酸镁-甲醇溶液作空白溶液,用紫外可见分光光度计对1,8-二羟基蒽醌标准溶液在500~800 nm波长范围内进行光谱扫描,确定其最大吸收波长。

1.2.2 标准曲线的绘制 精确称取1,8-二羟基蒽醌标准品10 mg,甲醇溶解,定容至100 mL;分别精确吸取0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL减压蒸干,加0.5%醋酸镁-甲醇溶液,摇匀使之溶解,10 mL容量瓶定容;以0.5%醋酸镁-甲醇溶液作空白,在波长511 nm处测量吸光度,并绘制标准曲线。

1.2.3 茜草总蒽醌的提取和含量测定<sup>[6]</sup> 精确称取茜草10.0 g,按照不同料液比、提取时间、提取次数和提取剂浓度对茜草总蒽醌进行提取,制成提取液并记录其体积;精确量取10.0 mL提取液于50 mL圆底烧瓶中,减压回收溶剂,加20%硫酸溶液20 mL、10%三氯化铁溶液100 mL,沸水加热回流水解60 min,并不断摇振;回流液冷却至室温,依次加入30、20、20 mL三氯甲烷,回流10 min,吸出三氯甲烷层,反复抽提至三氯甲烷层无色,合并三氯甲烷层,减压回收溶剂;残渣加入0.5%醋酸镁-甲醇液溶解,25 mL容量瓶定容,于511 nm处测定吸光度,根据标准曲线读出样品中总蒽醌化合物的含量。

1.2.4 茜草总蒽醌单因素试验 (1)不同提取次数。准确称取4份茜草样品,在料液比1 g:10 mL、提取时间2 h、70%乙醇100 mL作为浸提剂的条件下,分别提取1、2、3、4次,过滤、合并所得滤液即为提取液,对提取液进行测定。(2)不同浸提剂浓度。准确称取4份茜草样品,在料液比1 g:10 mL、提取时间1 h、提取次数为1次的条件下,分别以浓度为60%、70%、75%、80%乙醇溶液进行提取,并对提取液进行测定。(3)不同提取时间。准确称取4份茜草样品,在料液比为1 g:10 mL、乙醇浓度70%、提取次数为1次的条件下,分别提取1.0、1.5、2.0、3.0 h,对提取液进行测定。(4)不同料液比。准确称取4份茜草样品,在乙醇浓度70%、提取次数为1次、时间1.0 h的条件下,分别以料液比为1 g:6 mL、1 g:8 mL、1 g:10 mL、1 g:12 mL加入乙醇溶液进行提取,对提取液进行测定。

收稿日期:2013-10-21

基金项目:贵州省科技厅对外合作项目(编号:黔科合处G字[2011]7034);贵州省科技厅贵州民族大学联合项目(编号:黔科合J字LKM[2012]04)。

作者简介:卫亚丽(1977—),女,山西临汾人,博士,副教授,主要从事生物药物及中草药分析研究。E-mail:weiyali0012@163.com。

通信作者:汤洪敏,教授,主要从事生物化学及分子生物学研究。

Tel:(0851)3610313;E-mail:echoboy99@163.com。

1.2.5 正交试验优化工艺设计 以总蒽醌化合物含量为评价指标,采用正交试验设计法  $L_9(3^4)$  对茜草样品进行总蒽醌的提取,考察茜草总蒽醌最优提取工艺(表1)。

表1 茜草总蒽醌提取工艺4因素3水平正交试验设计

水平	因素			
	A:料液比 (g : mL)	B:时间 (h)	C:乙醇浓度 (%)	D:次数(次)
1	1 : 8	1.0	60	1
2	1 : 10	1.5	70	2
3	1 : 12	2.0	80	3

## 2 结果与分析

### 2.1 最大吸收波长测定

由图1可见,1,8-二羟基蒽醌标准溶液紫外可见分光光度计的最大吸收波长为511 nm。

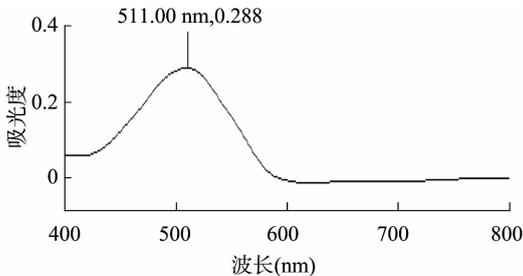


图1 1,8-二羟基蒽醌标准溶液的吸收光谱

### 2.2 标准曲线的绘制

以吸光度  $D$  为纵坐标,1,8-二羟基总蒽醌浓度  $C$  (mg/mL) 为横坐标绘制标准曲线,得回归方程为:  $D = 1.21664C - 0.04084, r = 0.9997$ 。

### 2.3 单因素试验

2.3.1 不同提取次数对总蒽醌的提取效果 由图2可见,随着提取次数的增加,提取率不断增加;提取3次与提取4次相比,总蒽醌的提取率增加较小。综合时间消耗和能源消耗因素,以提取3次为最佳。

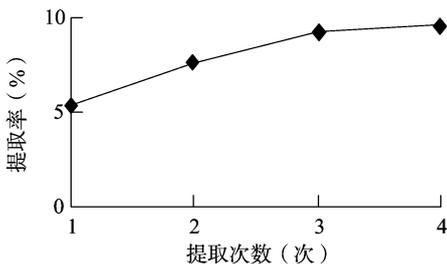


图2 不同提取次数对茜草总蒽醌提取效果的影响

2.3.2 不同乙醇浓度对总蒽醌的提取效果 由图3可见,当乙醇浓度为70%时,对茜草总蒽醌的提取效果最好,提取率最高;当乙醇浓度小于70%时,提取率随乙醇浓度的增大而升高;当乙醇浓度大于70%时,提取率随乙醇浓度的增大而降低。

2.3.3 提取时间对总蒽醌的提取效果 由图4可见,虽然茜草浸提3 h,对总蒽醌的提取率最大,但是,当浸提时间大于2 h时,总蒽醌的提取率增加幅度不大。如果提取时间过短,则不利于充分提取;如果时间过长,则又不够经济。

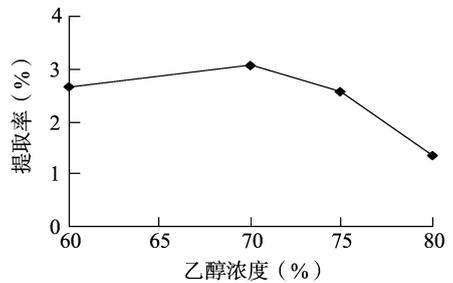


图3 不同乙醇浓度对茜草总蒽醌提取效果的影响

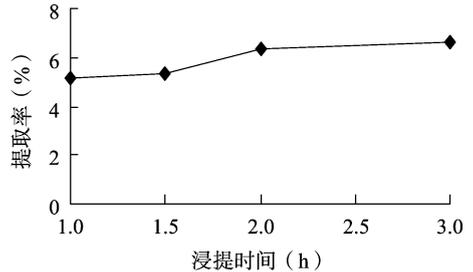


图4 不同提取时间对茜草总蒽醌提取效果的影响

2.3.4 不同料液比对总蒽醌的提取效果 由图5可见,不同料液比对茜草总蒽醌的提取有明显的影 响;当料液比小于1 g : 10 mL 时,茜草总蒽醌提取率随料液比增加而增大;当料液比大于1 g : 10 mL 时,茜草总蒽醌提取率随料液比增加而降低。综合考虑,料液比为1 g : 10 mL 最合适。

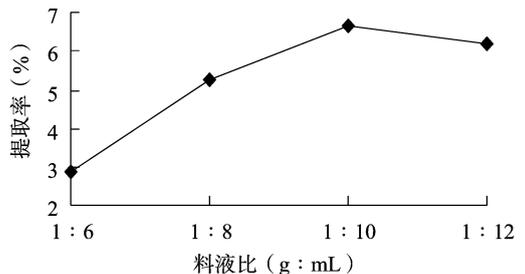


图5 不同料液比对茜草总蒽醌提取效果的影响

### 2.4 正交试验最优提取工艺设计

由表2可知,影响总蒽醌提取率的最强因素为A,其次

表2 茜草总蒽醌提取正交试验结果

试验编号	因素				提取率 (%)
	A:时间 (h)	B:次数 (次)	C:料液比 (g : mL)	D:乙醇浓度 (%)	
1	1.0	1	1 : 8	60	4.36
2	1.0	2	1 : 10	70	7.54
3	1.0	3	1 : 12	80	10.44
4	1.5	1	1 : 10	80	5.21
5	1.5	2	1 : 12	60	10.45
6	1.5	3	1 : 8	70	9.66
7	2.0	1	1 : 12	70	4.37
8	2.0	2	1 : 8	80	2.80
9	2.0	3	1 : 10	60	5.57
$k_1$	7.447	4.647	5.607	6.793	
$k_2$	8.440	6.930	6.107	7.190	
$k_3$	4.247	8.557	8.420	6.150	
$R$	4.193	3.910	2.813	1.040	
最优组合	$A_2$	$B_3$	$C_3$	$D_2$	

周方方,吴正钧,陈 臣,等. 1种肠膜明串珠菌发酵稀奶油的研制[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):270-272.

# 1种肠膜明串珠菌发酵稀奶油的研制

周方方,吴正钧,陈 臣,徐致远,刘振民,郭本恒

(光明乳业股份有限公司研究院/乳业生物技术国家重点实验室/光明乳业股份有限公司技术中心/  
上海乳业生物工程技术有限公司,上海 200436)

**摘要:**为提高脱脂奶生产副产品稀奶油的利用率,以1株具有良好的产胞外多糖能力的肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*) Leuco4为发酵剂,添加10%白砂糖,28℃发酵稀奶油得到涂抹型发酵稀奶油制品。该菌发酵的稀奶油在析水性、流动性(黏度)、涂抹性及感官评定方面均优于对照菌株,7d保质期内产品状态稳定,几乎不析水,涂抹性好。该发酵稀奶油不含任何稳定剂、增稠剂及乳化剂,但稳定性好、稠度佳、保水性很好,符合清洁标签以及健康自然食品要求。

**关键词:**肠膜明串珠菌;发酵稀奶油;清洁标签

**中图分类号:** TS225.2<sup>+</sup>3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0270-03

肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)是乳酸菌中明串珠菌属的重要菌种,是被美国食品药品监督管理局(FDA)和美国饲料协会(AAFCO)于1989年列为可以直接食(饲)用的42种安全微生物之一,我国卫生部也于2012年将肠膜明串珠菌肠膜亚种列入《可用于食品的菌种名单》。研究证实,肠膜明串珠菌能使糖类发酵产生多种酸、醇,具有产胞外多糖能力、抗氧化能力、拮抗致病菌等能力<sup>[1]</sup>。肠膜明串珠菌可

以代谢生成胞外多糖(EPS),这类多糖是由 $\alpha$ -D-葡萄糖苷构成的同质性多糖,如右旋葡聚糖(dextran)<sup>[2-3]</sup>,肠膜明串珠菌的蔗糖代谢产物为黏性葡聚糖<sup>[1]</sup>。在乳品加工领域,右旋葡聚糖及其他类型胞外多糖均可用作增稠剂提高产品黏度,以及用作稳定剂减弱蛋白质的脱水收缩作用,提高产品稳定性。因此,胞外多糖在发酵乳、奶油、面点及调味乳等众多食品或饮料的生产加工过程中起重要作用。

稀奶油是脱脂鲜牛奶生产过程中的副产品,也是重要的甜品及糕点原料。开发稀奶油加工工艺,创新产品也成为研究热点。发酵稀奶油是稀奶油加工的一种方式,通过发酵可以延长稀奶油的储存期,增加风味。现有技术中发酵稀奶油一般是用含以下菌种的混合发酵剂:乳酸链球菌、乳脂链球菌、丁二酮乳链球菌、嗜柠檬酸链球菌、副嗜柠檬酸链球菌等<sup>[4]</sup>,可根据风味和产酸需要进行组合。目前还未见使用单株肠膜明串珠菌的专利或报道。现有技术须要用到多种菌株

收稿日期:2013-11-14

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2013BAD18B01);国家“863”计划(编号:2011AA100901)。

作者简介:周方方(1981—),女,山东烟台人,硕士,工程师,研究方向为食品生物技术。E-mail:zhoufangfang@brightdairy.com。

通信作者:郭本恒,博士,教授级高级工程师,研究方向为食品生物技术。E-mail:gbhbrightdairy@hotmail.com。

为B、C、D,即提取时间>提取次数>料液比>乙醇浓度;总蒽醌最佳提取条件为A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>,即浸提时间为1.5h、提取次数为3次、乙醇浓度为70%、料液比为1g:12mL。在最优提取条件下,茜草总蒽醌的提取率为12.45%。

### 3 小结

茜草中含有丰富的蒽醌类化合物,本试验详细探讨茜草中蒽醌类物质的提取工艺,为茜草的进一步开发利用提供了有益的参考。虽然提取的次数和时间越多越好,但结合生产实践,最佳提取工艺为浸提时间为1.5h、提取次数为3次、乙醇浓度为70%、料液比为1g:12mL,此时,总蒽醌的提取率最高,为12.45%。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典:一部[M]. 2010版. 北京:中国医药科技出版社,2010,218.
- [2] 杨连荣,周庆华,张哲锋,等. 茜草的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2007,24(1):21-23.

- [3] 张琳,彭亮,胡本祥. 茜草的化学成分研究进展[J]. 现代中医药,2008,28(2):52-54.
- [4] 余旭东,杨季菱. 茜草与茜草炭药理作用比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(9):53-56.
- [5] 许兰芝,赵世琴,胡庆伟,等. 茜草总蒽醌抗炎抗风湿作用及机制[J]. 潍坊医学院学报,2002,24(1):11-13.
- [6] 陈星,王侃,单鸣秋,等. UPLC测定茜草炭中4种醌类成分的含量[J]. 中国中药杂志,2012,37(19):2922-2925.
- [7] 陈小全,杨晓东,邵辉莹,等. 超声波作用下提取茜草色素及稳定性实验[J]. 泰山医学院学报,2013,34(3):173-176.
- [8] 浦益琼,王冰,张彤,等. 大孔树脂柱层析法制备茜草总蒽醌提取物的实验研究[J]. 中成药,2013,35(9):1900-1905.
- [9] 卫亚丽,梁芳,汤洪敏. 中药茜草中总蒽醌含量的测定[J]. 贵州农业科学,2011,39(8):51-53.
- [10] 苏静慧,吕强三,李红霞. 超声波法提取茜草中蒽醌成分[J]. 河北理工大学学报:自然科学版,2011,33(4):101-104.
- [11] 浦益琼,王冰,张彤,等. 茜草提取物中大叶茜草素测定的方法研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):94-96.