

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  $r=0.999\ 46$ ; 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仪测定总蒽醌含量, 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仪; W201B 恒温水浴锅, 上海中生化技术有限公司生产; 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, 上海中生化技术有限公司生产; 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。

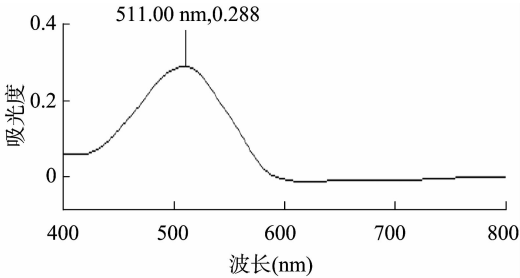


图 1 1,8-二羟基蒽醌标准溶液的吸收光谱

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:  $D = 1.216\ 64C - 0.040\ 84, r = 0.999\ 7$ 。

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。

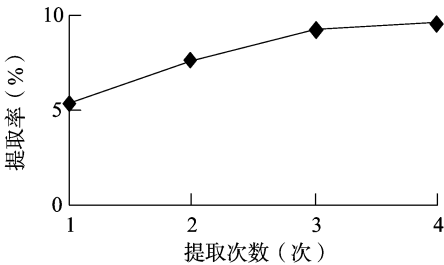


图 2 不同提取次数对茜草总蒽醌提取效果的影响

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。

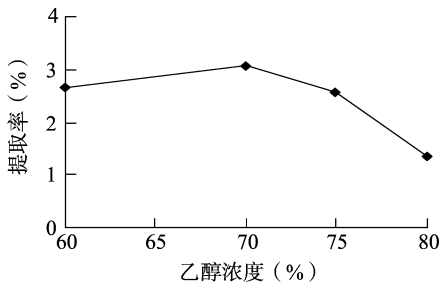


图 3 不同乙醇浓度对茜草总蒽醌提取效果的影响

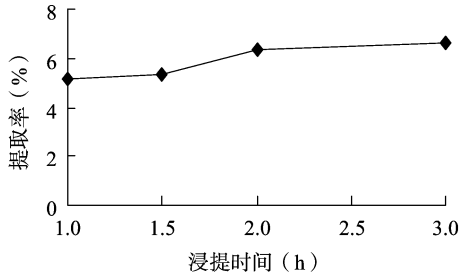


图 4 不同提取时间对茜草总蒽醌提取效果的影响

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。

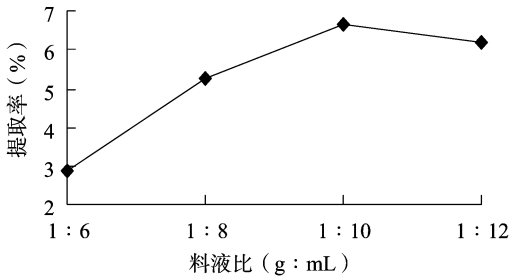


图 5 不同料液比对茜草总蒽醌提取效果的影响

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研究中心,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,7 d 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 1.5 h、提取次数为 3 次、乙醇浓度为 70%、料液比为 1 g:12 mL。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 1.5 h、提取次数为 3 次、乙醇浓度为 70%、料液比为 1 g:12 mL,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.