

朱德艳. 葛根黄酮不同提取方法比较[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(5): 265–267.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.088

葛根黄酮不同提取方法比较

朱德艳

(荆楚理工学院, 湖北荆门 448000)

摘要:通过正交试验确定乙醇回流法、大孔树脂吸附法、CO₂ 超临界萃取法提取湖北荆门地区葛根黄酮的最佳提取条件, 并比较 3 种不同方法的提取率。结果表明, CO₂ 超临界萃取法提取率高于其他 2 种方法, 但大孔树脂吸附法适合应用到葛根黄酮产业化生产中。

关键词:葛根黄酮; 提取; 正交试验

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0265-03

葛根作为富含异黄酮的食用草本植物, 被列入 2010 年版中国药典, 在中药中广泛使用, 具有解肌、退热、生津、透疹、升阳、止泻之功效, 还具有改善血液循环、解痉、降血糖等功效^[1-5]。葛根的主要成分之一是异黄酮类化合物, 而异黄酮类化合物在防治心脑血管疾病、降低血糖、增强免疫力等方面都有显著效果^[6], 同时葛根黄酮还可作为保健食品开发的原料, 用于解酒、延缓更年期、降低糖尿病引起的并发症等^[7]。因此葛根黄酮的提取与功能应用的研究是目前热点之一, 本试验选取乙醇回流法、大孔树脂吸附法、CO₂ 超临界萃取法 3 种方法进行葛根黄酮提取率比较研究, 以找出不同方法的最优组合。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

葛根来自湖北省仙之灵有限公司(自然晾干, 粉碎); 芸

香苷标准品, 中国药品生物制品检定所, 批号为 100080-200707; 其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

AB104-N 电子分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司), TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), 电热恒温鼓风干燥箱(上海精密实验设备有限公司), HA220-50-06 超临界萃取装置(江苏南通华安超临界萃取有限公司), 旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司), F120 型粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂), SHZ-3 循环水多用真空泵(上海沪西分析仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 总黄酮含量的测定 芸香苷标准溶液的配制: 准确称取芸香苷标准品 10.0 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加 30% 乙醇适量, 超声波使其全部溶解, 放冷后加 30% 乙醇至刻度, 摇匀, 既得浓度为 200 μg/mL 的芸香苷标准溶液。

测定波长的选择: 取芸香苷标准溶液 2.0 mL, 加 30% 乙醇至 6 mL, 加 5% NaNO₂ 溶液 1.0 mL, 摇匀, 放置 10 min, 加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 1.0 mL, 摇匀, 放置 10 min, 再加 10% NaOH 溶液 10 mL, 加 30% 乙醇至 25 mL, 摇匀, 放置 10 min。以相应试剂作空白, 在 370~700 nm 波长范围测定吸光度, 结果表明, 在 500 nm 处有最大吸光度。

收稿日期: 2014-06-10

基金项目: 荆楚理工学院湖北省新农村发展研究院项目(编号: Z201404)。

作者简介: 朱德艳(1977—), 女, 湖北恩施人, 硕士, 副教授, 主要从事生物制药技术研究。E-mail: zhudeyan@163.com。

工艺条件: 料液比 1 g: 10 mL、提取温度 80 ℃、提取功率 900 W、提取时间 50 min、提取 2 次, 多糖得率为 9.343%, 其中影响多糖得率因素从强到弱依次为料液比 > 提取时间 > 提取功率 > 提取温度。微波提取法的最佳工艺条件: 提取功率为 720 W, 料液比 1 g: 35 mL、提取时间 50 s、提取 1 次, 多糖得率为 5.682%, 其中影响多糖得率的因素从强到弱依次为提取功率 > 料液比 > 提取时间。与微波提取法相比, 超声提取 1 次多糖得率为微波提取法的 1.12 倍, 但微波提取所用时间仅为超声提取法的 1/60, 可见微波提取法能节约时间。按照 2 种提取方法的最佳工艺提取, 超声法提取得率高于微波法。

参考文献:

[1] 朱向秋, 刘长江, 魏建梅. 冬枣采后果实呼吸强度和维生素 C、糖

含量变化的研究[J]. 特产研究, 2006, 28(4): 39-40, 43.

[2] 王百千, 宋利霞. 枣果实主要营养成分分析[J]. 河北果树, 2012(1): 51-52.

[3] 申利红, 王建森, 李雅, 等. 植物多糖的研究及应用进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(2): 349-352.

[4] 魏然, 陈义伦, 邹辉, 等. 超声波提取条件对圆铃大枣多糖提取率的影响[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(11): 253-257.

[5] 李进伟, 丁霄霖. 超声波提取金丝小枣多糖的工艺研究[J]. 林产化学与工业, 2006, 26(3): 73-76.

[6] 李新明, 张光茂, 张俊, 等. 响应面法优化红枣多糖的微波提取工艺研究[J]. 北方园艺, 2011(9): 49-52.

[7] 李粉玲, 蔡汉权, 林泽锋. 橘红皮多糖的微波提取研究[J]. 中国食品添加剂, 2010(3): 125-130.

[8] 曾哲灵, 奚光兴, 葛晓环. 两种苦瓜藤多糖提取工艺的比较分析[J]. 食品工业科技, 2013, 34(10): 285-288, 308.

供试品溶液的制备:取样品 2 g,加 60% 乙醇溶液 40 mL,加热回流 2 h,提取 2 次,过滤,合并 2 次滤液,用 60% 乙醇定容至 100 mL,即得供试品溶液。

标准曲线的绘制:精确量取芸香苷标准溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,分别置 25 mL 量瓶中,分别加 30% 乙醇 6.0、5.0、4.0、3.0、2.0、1.0、0 mL,再各加 5% NaNO₂ 溶液 1.0 mL,混匀,放置 6 min;加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 1.0 mL,摇匀,放置 6 min;加 10% NaOH 溶液 10 mL,摇匀,放置 10 min。以 30% 乙醇溶液为空白,在 500 nm 处测定吸光度,以吸光度为横坐标、浓度为纵坐标绘制标准曲线。

供试品溶液中总黄酮含量的测定:吸取供试品溶液 1 mL,置 25 mL 量瓶中,参照芸香苷标准曲线绘制步骤,测定供试品溶液吸光度,并计算出供试品溶液中总黄酮含量。

葛根黄酮提取率 = $\frac{\text{提取液中黄酮质量(g)}}{\text{葛根粉质量(g)}} \times 100\%$ 。

1.3.2 葛根预处理 将鲜葛根去皮、清洗、切块、干燥并超微粉碎过 200 目后,分装于广口瓶中,于烘箱 55 ℃ 烘 10 h。准确称取 10 g 葛根粉末于 100 mL 具塞三角烧瓶中,待提取。

1.3.3 葛根黄酮的提取 分别用乙醇回流、大孔树脂吸附、CO₂ 超临界萃取 3 种方法提取葛根中的黄酮。

(1)乙醇回流法。分别以乙醇浓度、回流温度、料液比、回流时间按照 L₉(3⁴) 正交试验表 4 因素 3 水平进行设计(表 1)。

(2)大孔树脂吸附法。按照 L₉(3⁴) 正交试验表分别以吸附时间、吸附液体积、吸附液浓度、吸附液 pH 值 4 因素 3 水平进行设计(表 2)。

(3)CO₂ 超临界萃取法。按照 L₉(3⁴) 正交试验表分别以投料量、萃取压力、萃取温度、萃取时间 4 因素 3 水平进行设计(表 3)。

表 1 乙醇回流法提取葛根中黄酮的正交试验设计				
水平	A:乙醇浓度 (%)	B:回流温度 (℃)	C:料液比 (g : mL)	D:回流时间 (h)
1	60	60	1 : 30	1.5
2	70	70	1 : 40	2.0
3	80	80	1 : 50	2.5

表 2 树脂吸附法提取葛根中黄酮的正交试验设计				
水平	A:吸附时间 (min)	B:吸附液体积 (mL)	C:吸附液浓度 (mg/mL)	D:吸附液 pH 值
1	50	20	3	6
2	60	25	4	7
3	70	30	5	8

表 3 CO ₂ 超临界提取法提取葛根中黄酮的正交试验设计				
水平	A:投料量 (g)	B:压力 (MPa)	C:温度 (℃)	D:时间 (min)
1	30	12	45	70
2	50	14	55	80
3	70	16	65	90

2 结果与分析

2.1 芸香苷标准曲线的绘制

以吸光度为纵坐标、浓度为横坐标,绘制标准曲线,结果

如图 1 所示。结果显示,芸香苷标准品浓度在 0 ~ 0.05 mg/mL 范围内线性关系良好。得到回归方程为 $y = 9.845\ 7x + 0.004\ 2, r^2 = 0.9986$ 。

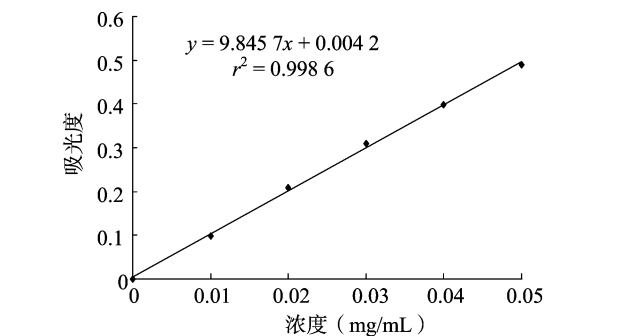


图1 芸香苷的标准曲线

2.2 葛根黄酮提取试验结果

2.2.1 乙醇回流法 乙醇回流正交试验设计因素水平与葛根黄酮提取率的关系见表 4。

表 4 乙醇回流法提取葛根黄酮正交试验结果					
序号	A	B	C	D	提取率 (mg/g)
1	1	1	1	1	10.12
2	1	2	2	2	13.24
3	1	3	3	3	16.15
4	2	1	2	3	12.81
5	2	2	3	1	11.43
6	2	3	1	2	15.33
7	3	1	3	2	9.32
8	3	2	1	3	9.01
9	3	3	2	1	13.12
k ₁	13.17	10.75	11.49	11.56	
k ₂	13.19	11.23	13.06	12.63	
k ₃	10.48	14.87	12.30	12.66	
R	2.71	4.12	1.57	1.10	

由表 4 可以看出,各因素对葛根黄酮提取率影响的主次顺序为 B > A > C > D,即回流温度是最大影响因素。最佳条件为 A₂B₃C₂D₃,即乙醇浓度为 80%,回流温度为 70 ℃,料液比 1 : 40,回流时间 2.5 h。

2.2.2 树脂吸附法 树脂吸附正交试验设计因素水平与葛根黄酮提取率的关系见表 5。

由表 5 可以看出,各因素对葛根黄酮提取率影响的主次顺序为 D > B > C > A,即吸附液 pH 值影响最大。最佳条件为 A₃B₃C₂D₂,即吸附时间为 70 min,体积为 30 mL,吸附浓度为 4 mg/mL,吸附液 pH 值 7.0。

2.2.3 CO₂ 超临界提取法 CO₂ 超临界提取正交试验因素水平与葛根黄酮提取率的关系见表 6。

由表 6 可以看出,各因素对葛根黄酮提取率影响的主次顺序为 A > B > C > D,投料量对葛根黄酮的萃取率影响最大。最佳条件为 A₂B₃C₃D₃,即投料量 50 g、萃取温度 55 ℃、萃取压力 16 MPa、萃取时间 90 min。

2.3 几种方法提取效率比较

按上述不同提取方法的最佳条件,分别进行 3 组平行试验,结果见表 7。

表 5 树脂吸附法提取葛根黄酮正交试验结果

序号	A	B	C	D	提取率 (mg/g)
1	1	1	1	1	13.19
2	1	2	2	2	18.72
3	1	3	3	3	13.60
4	2	1	2	3	12.59
5	2	2	3	1	13.12
6	2	3	1	2	18.32
7	3	1	3	2	18.88
8	3	2	1	3	10.29
9	3	3	2	1	19.57
k_1	15.17	14.89	13.93	15.29	
k_2	14.68	14.04	16.96	18.64	
k_3	16.25	17.16	15.20	12.16	
R	1.57	3.12	3.03	6.48	

表 6 CO₂ 超临界法提取葛根黄酮正交试验结果

序号	A	B	C	D	试验结果 (mg/g)
1	1	1	1	1	9.81
2	1	2	2	2	13.62
3	1	3	3	3	19.31
4	2	1	2	3	17.65
5	2	2	3	1	20.15
6	2	3	1	2	22.26
7	3	1	3	2	11.63
8	3	2	1	3	10.92
9	3	3	2	1	13.12
k_1	14.25	13.03	14.33	14.36	
k_2	20.02	14.90	14.80	15.84	
k_3	11.89	18.23	17.03	15.96	
R	8.13	5.20	2.70	1.60	

表 7 不同提取方法最佳提取率

提取方法	最佳条件平均提取率 (mg/g)
乙醇回流法	17.31
树脂吸附法	21.26
CO ₂ 超临界提取法	22.31

从表 7 可以看出,不同方法最优条件下的葛根黄酮提取率均高于正交试验中的组合,且 CO₂ 超临界提取法提取葛根黄酮的平均提取率高于其他 2 种方法。

3 结论

目前葛根的应用除了作为各种淀粉类产品的原料外,还

用来提取葛根黄酮,作为化工工业和生物医药的重要原料^[8]。据报道,提取葛根黄酮的方法有很多^[9-12],如有机溶剂提取法、微波辅助萃取法、超声辅助提取法、酶解提取法等。本研究选取乙醇回流法、大孔树脂吸附法、CO₂ 超临界萃取法 3 种方法提取葛根黄酮。从试验结果可以看出,乙醇回流法的葛根黄酮提取率相对较低,温度要求较高,但成本较低,是工业生产中可以考虑的一种方法。CO₂ 超临界萃取法提取率略高于其他 2 种方法,提取的葛根黄酮纯度较高,但该方法提取时间长、能耗高、设备要求高,目前作为科学研究较多。大孔树脂吸附法提取率介于其他 2 种方法之间,吸附树脂具有理化性质稳定性强、吸附选择性好、条件温和、使用周期长、易于循环利用、成本低等诸多优点,广泛应用于天然产物的提取分离^[13]。所以,大孔树脂法可以作为葛根黄酮产业化生产的方法之一。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2005:171-172.

[2] 雷小丹,邱朝坤,刘晓宇,等. 葛根黄酮提取工艺条件优化的响应面分析[J]. 食品科技,2011,36(9):223-226.

[3] Cai R L, Li M, Xie S H, et al. Antihypertensive effect of total flavone extracts from *Puerariae Radix* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 133(1):177-183.

[4] 李杏元,陈国安. 微波辅助提取葛根黄酮工艺的优化[J]. 湖北农业科学,2012,51(16):3572-3574.

[5] Fan J P, Cao J, Zhang X H, et al. Optimization of Ionic liquid based ultrasonic assisted extraction of puerarin from *Radix Puerariae lobatae* by response surface methodology [J]. Food Chemistry, 2012, 135(4):2299-2306.

[6] 邓永中. 葛根素药理作用研究现状[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(增刊1):126-127.

[7] 彭游,胡小铭. 葛根黄酮提取与保健功能研究进展[J]. 食品工业科技,2011,32(12):581-584,589.

[8] 黄靖,罗健. 葛根的开发利用[J]. 江西食品工业,2002(2):20-21,19.

[9] 韩剑,曹伟,尹华,等. 正交试验法优选葛根素提取工艺[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(3):332-333.

[10] 彭游,汤明,邓泽元,等. 葛根黄酮微波干法辅助提取[J]. 食品科技,2011,36(5):211-214.

[11] 张喜梅,程亮光,李琳,等. 超声提取葛根总黄酮成分的研究[J]. 声学技术,2006,25(2):110-112.

[12] 王星敏,殷钟意,郑旭煦,等. 微生物酶解破壁制备葛根黄酮的工艺[J]. 食品科学,2011,32(2):28-31.

[13] 穆雪峰,孙丽萍,徐响,等. 枣花蜜中抗氧化成分提取工艺优化[J]. 食品科学,2011,32(16):98-102.