

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

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

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(江苏南通市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。

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,张永茂,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% NaNO_2 溶液 1.0 mL,混匀,放置 6 min;加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 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。

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

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 °C 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、 CO_2 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 $L_9(3^4)$ 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 $L_9(3^4)$ 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) CO_2 超临界萃取法。按照 $L_9(3^4)$ 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)	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 (°C)	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 $y = 9.8457x + 0.0042$, $r^2 = 0.9986$ 。

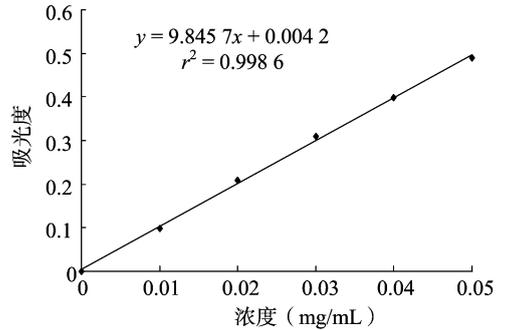


图 1 芸香苷的标准曲线

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 $A_2B_3C_2D_3$,即乙醇浓度为 80%,回流温度为 70 °C,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 $A_3B_3C_2D_2$,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 CO_2 超临界提取法 CO_2 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 $A_2B_3C_3D_3$,即投料量 50 g、萃取温度 55 °C、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. 微生物酶解破壁抑制葛根黄酮的工艺[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.