

山楂黄酮提取工艺研究

张明 (楚雄医药高等专科学校药理学系, 云南楚雄 675005)

摘要 [目的]优化山楂果实和叶中黄酮的提取工艺。[方法]采用单因素和正交试验法研究不同工艺条件对山楂黄酮提取效率的影响,得出最佳提取工艺及相关参数。[结果]试验得出,山楂黄酮提取采用最适宜方法为渗漉法,其最佳工艺参数是:溶剂为50%的乙醇,料液比1:8 g/ml,浸泡时间72 h,流速为中速(3 ml/min)。[结论]此方法工艺简单,成本低,提取率高,无需加热,剩余物无有害残留,适用于山楂黄酮的大批量提取生产。

关键词 山楂黄酮;黄酮提取;渗漉法;正交试验

中图分类号 S661.5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)33-11857-02

Resrarch on extract technology to extraction of falconoid from hawthorn fruits

ZHANG Ming (Chuxiong Medical College, Chuxiong, Yunnan 675005)

Abstract [Objective] To optimize technique for extracting flavonoids from hawthorn fruit and leaf. [Method] Using single-factor and orthogonal test method, effects of different technique conditions on extraction efficiency of flavonoids from hawthorn were studied. The optimum extraction technique and relevant parameters were obtained. [Result] The optimal method for extracting flavonoids from hawthorn is percolation. The best parameters are: 50% ethanol, solid-liquid ratio 1:8 g/ml, soaking time 72 h, medium flow rate(3 ml/min). [Conclusion] This process is simple, low cost, high extraction rate, no need for heat, the residual is unharmed to be disposed. The technique is suitable for mass production of hawthorn flavonoid.

Key words Flavonoid of hawthorn; Extract flavonoids; Percolation method; Orthogonal design

当今社会,高血压、高血脂等心脑血管疾病已严重影响人类的健康,因此,具有降压、降脂功效的药物研制一直受到人们的广泛重视^[1]。

山楂为蔷薇科山楂属植物果实,又名红果。山楂果实含有大量维生素C、胡萝卜素、黄酮类化合物及钙、钾、镁、钠等矿物质,同时含有柠檬酸、苹果酸、琥珀酸、山楂酸等多种有机酸,能增进胃蛋白酶的分泌,具有消食化滞、助消化、增进食欲之功能。山楂中的总黄酮类成分可促使血管扩张及冠状动脉血流量增加,对人体可以起到降血压、降血脂、增大心脏血流量等作用。有研究表明,黄酮类成分中牡荆素化合物具有抗癌作用。山楂树叶不仅具有果实所含营养价值与药用价值,而且黄酮类化合物和维生素C含量高于果实10倍左右,因而更具开发利用价值^[2-3]。

利用山楂果实和山楂叶提取黄酮类化合物,研制一种具有保健功能的饮料酒——山楂黄酮酒,对果露酒、保健酒的发展是十分有意义的,同时,对进行山楂深加工,促进林果产业发展将起到积极的作用^[4-5]。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 原料及试剂。山楂,市售;芦丁标准品,中国药品生物制品鉴定所。甲醇、乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、NaOH,均为国产分析纯试剂。

1.1.2 仪器及设备。双光束紫外-可见分光光度计,日本岛津;DWF-100植物粉碎机,河北省黄骅市科研器械厂;Sartorius 万分之一电子天平;恒温干燥箱;植物粉碎机;超声波清洗仪;恒温电热套;旋转蒸发仪。

1.2 方法

1.2.1 原料预处理。将干山楂果粉研过20目筛,105℃干燥2 h,备用。

1.2.2 标准曲线制作。精密称取芦丁15.0 mg,加甲醇溶解并定容至100 ml,配制成150 μg/ml的芦丁标准溶液,作为对照品溶液。分别精密吸取芦丁标准液0、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 ml相当于含芦丁0、150、300、450、600、750 μg,置于12.5 ml比色管中,加30%的乙醇补至5 ml,各加入5%亚硝酸钠溶液0.30 ml,摇匀后放置5 min,加入10%硝酸铝溶液0.3 ml摇匀后放置6 min,加1.0 mol/L NaOH溶液2.00 ml,用30%乙醇定容至刻度,摇匀,放置15 min,以零管为空白。摇匀后用1 cm的比色杯,在510 nm波长处测定吸光度,测3次取平均值。

1.2.3 不同提取方法单因素提取。

1.2.3.1 回流提取。取干燥山楂果粉10 g,分别分别加50%、70%乙醇60 ml(编号①、②),70℃回流提取3次,每次1 h,冷却,过滤,转移至容量瓶,得山楂黄酮提取液,定容至200 ml,测总黄酮含量,并精密量取25 ml提取液,测浸出物含量。

1.2.3.2 冷浸提取。取干燥山楂果粉10 g,分别加50%、70%乙醇80 ml(编号③、④)冷浸提取2次,每次24 h,冷却,过滤,浓缩提取液,转移至容量瓶,得山楂黄酮提取液,定容至200 ml,测总黄酮含量,并精密量取25 ml提取液,测浸出物含量。

1.2.3.3 渗漉法提取。取干燥山楂果粉10 g,采用渗漉法提取,分别加50%、70%乙醇100 ml(编号⑤、⑥)。干粉用适量溶剂湿润2 h,装桶,加入剩余乙醇,静置72 h。中速回收溶剂,转移至容量瓶,得山楂黄酮提取液,定容至200 ml,测总黄酮含量,并精密量取25 ml提取液,测浸出物含量。

1.2.4 渗漉法操作流程。渗漉法是往药材粗粉中不断添加

基金项目 楚雄医药高等专科学校2013年校本项目。

作者简介 张明(1985-),男,云南楚雄人,助教,硕士,从事天然产物提取、分离、纯化与生物活性测定研究。

收稿日期 2014-10-13

提取溶剂使其渗过药粉,提取液从下端出口流出的一种溶剂提取法。根据之前不同方法比较,采用渗漉法具有几个优势,此法可造成良好的浓度差,提取效率较高,且室温提取不破坏成分。比较适合山楂黄酮的提取,其工艺流程为:药材粉碎→润湿→装筒→排气→浸渍→渗漉,共6个步骤。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果 从表1可以看出,3种不同方法之间提取结果存在明显差异,①、②组回流提取和⑤、⑥渗漉法得到的浸出物总量和总黄酮含量(以芦丁计,以下同)明显高于③、④组冷浸提取法。

表1 3种提取方法单因素提取试验结果

编号	25 ml 溶液浸 出物含量		浸出物	总黄酮	总黄酮
	g	g	提取率	测定量	含量
	g	g	%	mg	mg/g
①	0.614 8	4.918 4	49.18	581.00	58.10
②	0.610 7	4.885 6	48.86	674.48	67.45
③	0.591 7	4.733 4	47.33	375.00	37.50
④	0.590 9	4.727 2	47.27	331.21	33.12
⑤	0.654 9	5.239 2	52.39	657.78	65.78
⑥	0.726 0	5.808 0	58.08	597.98	59.80

在试验过程中观察到,加热回流法处理的溶剂在冷却后比其他2组提取方法提取的溶液浑浊,多次过滤后,开始是澄清的,一段时间后有少量絮状沉淀出现,再次加热或振荡超声处理都无法溶解沉淀。

综合以上两点结论,如果大量生产时,建议采用渗漉法,能够节约成本,提取物的含量和提取操作过程都相对简单,且结果稳定。

2.2 正交试验结果^[6] 按渗漉法的工艺操作要求,以流速、浸泡时间、料液比、溶剂浓度4个因素的3个水平,设计了 $L_9(3^4)$ 的正交试验。正交试验因素水平设计见表2,结果见表3。

表2 山楂黄酮提取 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平设计

水平	因素			
	流速(A) ml/min	浸泡时间 (B)//h	料液比 (C)//g/ml	浓度(D) %
1	1(低)	24	1:8	40
2	3(中)	48	1:10	50
3	5(高)	72	1:12	60

由正交试验结果,采用直观分析法,山楂果肉粉末渗漉提取的最佳提取条件为: $A_2B_3C_1D_2$;即用50%的乙醇按照1:8 g/ml的料液比投料,浸泡72 h,以中速收集提取液。对以上数据进行方差分析(置信度=95%),结果如下:影响渗漉提取工艺的诸多因素中,以浸膏获得率看, $F_A = 8.77, P_A > 0.05; F_B = 4.00, P_B < 0.05; F_C = 49.39, P_C > 0.05; F_D = 22.56, P_D > 0.05$ 。由此可知,各因素影响大小依次是:料液比>提取溶剂浓度>流速>浸泡时间。

以黄酮含量看, $F_A = 4.46, P_A = 0.05; F_B = 4.47, P_B > 0.05; F_C = 63.05, P_C > 0.05; F_D = 17.65, P_D > 0.05$ 。由此可

知,各因素影响大小依次是:料液比>提取溶剂浓度>浸泡时间>流速。

综合两者评价,对于渗漉法提取山楂果肉粉末的工艺而言,影响较大的是料液比和提取溶剂浓度,流速和浸泡时间影响不显著。并且在实际试验中发现,浸泡时间长的产品在澄清度和色泽上要优于短时间浸泡产品。考虑到产品的适用性,所以直接采用直观分析结果作为最佳提取条件。

表3 正交试验结果

试验号	因素				浸膏得率 (Y_1)//%	总黄酮含量 (Y_2)//mg/ml
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	29.55	2.12
2	1	2	2	2	24.82	1.92
3	1	3	3	3	17.72	1.25
4	2	1	2	3	22.46	1.62
5	2	2	3	1	21.52	1.48
6	2	3	1	2	27.32	2.23
7	3	1	3	2	20.49	1.59
8	3	2	1	3	21.84	1.88
9	3	3	2	1	22.48	1.39
$K_1(Y_1)$	72.10	72.50	78.70	73.55		
$K_2(Y_1)$	71.30	68.18	69.76	72.64		
$K_3(Y_1)$	64.81	67.52	59.74	62.02		
$R(Y_1)$	2.43	1.66	6.32	3.85		
$K_1(Y_2)$	5.29	5.33	6.23	4.99		
$K_2(Y_2)$	5.33	5.28	4.92	5.74		
$K_3(Y_2)$	4.86	4.86	4.32	4.75		
$R(Y_2)$	0.16	0.16	0.63	0.33		

3 结论

该研究用渗漉法提取山楂黄酮。工艺流程:药材粉碎→润湿→装筒→排气→浸渍→渗漉。工艺参数:用50%的乙醇作为溶剂,按照1:8 g/ml的料液比投料,浸泡72 h后,以中速(3 ml/min)收集提取液。特点:渗漉属于动态浸出方法,溶剂利用率高,有效成分浸出完全,可直接收集浸出液,适用于贵重药材、毒性药材及高浓度制剂,也可用于有效成分含量较低的药材提取。渗漉过程中不用加热,避免有效成分损坏和溶剂的挥发。收集到的浸出液澄清透明,便于直接检测,如用于相关饮品的制备,具有很强的技术优势和成本优势。

另外,采用乙醇作为溶剂,简便易行,节约成本,所用试剂对人体较为安全,因此适于大规模生产,如生产相关酒精饮品,则直接可以用白酒替代乙醇,剩余物以糖、果胶蛋白质和纤维素等,可以作为食品原料加以综合利用。

参考文献

- [1] 刘北林,董继生,霍红. 山楂黄酮最佳提取工艺探讨[J]. 工艺技术, 2007,28(6):167-170.
- [2] 梁丹,张保东. 黄酮类化合物提取和分离方法研究进展[J]. 周口师范学院学报,2007,24(5):88-89.
- [3] 刘北林,董继生,霍红. 油松花粉中总黄酮提取的响应面优化[J]. 现代食品科技,2008,24(3):253-256.
- [4] 苏刚. 山楂黄酮保健饮料的研制[J]. 食品工业科技,2000,21(1):61-62.
- [5] 苏刚. 山楂黄酮酒的研制[J]. 酿酒科技,2000,97(1):81-83.
- [6] 郭锦棠,李伶,杨俊红,等. 微波法提取山楂中总黄酮的正交实验研究[J]. 中国药学杂志,2005,40(2):112.