

美洲大蠊黄酮提取工艺条件研究

程吉云, 岳明, 王涛, 周文靖, 许龙* (佳木斯大学生命科学学院, 黑龙江佳木斯 154007)

摘要 [目的]研究美洲大蠊黄酮类化合物的提取方法, 确定美洲大蠊黄酮的最佳提取条件。[方法]采用单因素试验确定黄酮提取条件, 通过分析不同提取温度、提取时间和料液比等条件对美洲大蠊黄酮提取率的影响, 确定最佳的提取条件与方法。[结果]通过试验分析得出美洲大蠊黄酮的最佳提取条件: 提取温度 25 ℃, 提取时间 12 h, 料液比为 1:8 (g/mL)。美洲大蠊黄酮含量与提取温度、提取时间、料液比呈相关性。[结论]该研究对美洲大蠊黄酮类化合物的开发与利用具有较高的科学意义。

关键词 美洲大蠊; 黄酮; 提取工艺; 最佳条件

中图分类号 Q969.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)10-0148-02

Study on Extraction Process of Cockroach Flavone in America

CHENG Ji-yun, YUE Ming, WANG Tao et al (College of Life Sciences, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract [Objective] To determine the optimal extraction conditions for the flavonoids in the americas by the study of the extraction of flavonoids from the American cockroach. [Method] Based on *Periplaneta americana* as the research object, using single factor experiment to determine flavonoids extraction time, by analyzing the different extraction temperature, extraction time and solid-liquid ratio *Periplaneta americana* flavonoids extraction yield in the body, ultimately determine the best extraction conditions. [Result] Through the test analysis found that great American scythe optimum extraction conditions of flavonoids, extraction temperature is 25 ℃, time of 12 h, and solid-liquid ratio of 1:8 (g/mL). The main factors influencing the *Periplaneta americana* extract flavonoids are: extraction temperature, extraction time and solid-liquid ratio. [Conclusion] This study will be of great scientific significance for the development and utilization of flavonoids in *Periplaneta americana*.

Key words *Periplaneta americana*; Flavonoids; Extraction process; Best condition

美洲大蠊 (*Periplaneta americana* L.), 俗称蟑螂、偷油婆、灶蚂子等, 其虫体内含有极丰富的营养和功能性成分, 包括蛋白质、维生素、几丁质等。现代医学研究表明, 黄酮类物质在医学上具有许多作用, 如抗癌、增强免疫力、保护心脑血管等, 黄酮类物质成为天然活性成分研究的重点对象之一^[1]。研究资料表明, 植物体内含有丰富的黄酮类物质, 但是动物体内含量相对较少, 尤其是昆虫体内研究的较少。为研究如何从昆虫体内最大剂量地提取活性最大的黄酮物质, 笔者以美洲大蠊为研究对象, 通过分析不同提取温度、不同提取时间和不同料液比对美洲大蠊体内黄酮提取率的影响, 参考相关文献[2-8], 确定最佳提取条件, 期望为美洲大蠊的相关研究提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料。该试验所使用的美洲大蠊来自于河北省中药材市场, 经罗志文副教授鉴定为美洲大蠊 (*Periplaneta americana* L.) 隶属于蜚蠊目 (Blattaria) 蜚蠊科 (Corydidae), 该药材及样品被保存在佳木斯大学的应用昆虫研究所。

1.1.2 主要仪器与试剂。TU-1800/800S 型紫外线可见分光光度计; SHB-III 循环水式多用真空泵; HHW-21CU-600 电热恒温水槽及电热鼓风干燥箱; RE-52AA 旋转蒸发器 (索氏抽提器); 芦丁标准品; 石油醚; 甲醇; 正丁醇等。

1.2 方法

1.2.1 原料处理。美洲大蠊分拣较严格, 要求不含杂质。将分拣好的美洲大蠊置于冰箱速冻后使用电热鼓风箱进行干燥

处理 (温度设定为 55~60 ℃)。将干燥的美洲大蠊粉碎过 60~80 目, 然后使用石油醚对美洲大蠊粉末进行脱脂处理。

1.2.2 黄酮液的提取。准确称取美洲大蠊粉制品 3.33 g 置于抽提器中, 并在其中加入石油醚 3.34 mL。将抽提器置于 70 ℃ 恒温水浴锅中, 提取脂肪, 滤除滤渣。在室温环境下使用 100 mL 浓度为 50% 的甲醇将其浸泡 36 h, 每 3 h 对其摇动 1 次, 继续抽滤, 使用提取溶剂反复对滤渣进行洗涤 3 次。最后将滤液合并, 舍弃滤渣, 待滤液中的甲醇挥发后定容于 100 mL 的容量瓶中。

1.2.3 黄酮含量的测定。标准曲线的制定: 精确称取芦丁标准品 10 mg, 用 50% 甲醇转溶于 50 mL 容量瓶, 并定容至刻度, 得 0.20 mg/mL 标准溶液。分别精确吸取 0.1、2.3、4.5 mL 上述溶液置于 10 mL 容量瓶内, 分别加入 0.3 mL 5% 等体积亚硝酸钠溶液, 振荡摇匀后静置 5 min, 分别加入 0.3 mL 10% 硝酸铝溶液, 摇匀后再静置 5 min, 再加入 4% 氢氧化钠 4.0 mL, 最后用 50% 甲醇稀释定容, 静置 30 min, 用紫外可见分光光度计测定波长 496 nm 的吸光度值。采用 DSP 数据处理软件处理, 得到工作曲线回归方程: $A = 0.0116C + 0.0137$ (C 为浓度, $\mu\text{g/mL}$; A 为吸光值; 相关系数 $R = 0.995$), 见图 1。

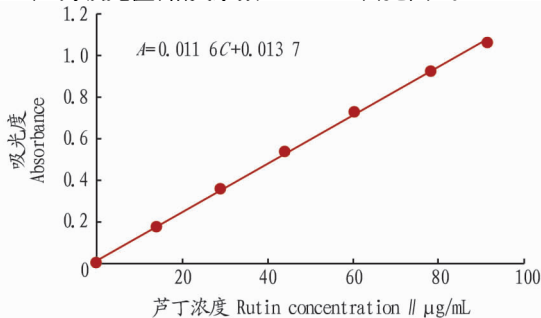


图 1 芦丁标准曲线

Fig. 1 Standard curve of rutin

基金项目 佳木斯大学研究生科技创新基金项目 (YZ2016_007)。
作者简介 程吉云 (1986—), 女, 安徽宿州人, 在读硕士, 从事资源昆虫应用研究。* 通讯作者, 副教授, 硕士生导师, 从事资源昆虫研究。
收稿日期 2017-12-24

采用移液管吸取上述样品提取液 0.1 mL 滴入 10 mL 的容量瓶内,再向该容量瓶中加入 5% 亚硝酸溶液各 0.3 mL,轻轻振荡容量瓶保证溶液均匀后静置 5 min。再加入浓度为 10% 的硝酸铝溶液 0.3 mL,同样轻轻振荡容量瓶后静置 5 min。再加入浓度为 4% 的氢氧化钠溶液 4.0 mL,轻轻振荡后采用浓度为 50% 的甲醇分别稀释后定容,轻轻晃动摇匀后静置 30 min。用紫外分光光度计测定该溶液在波长 496 nm 波长下的吸光度值 A ,使用相应的公式计算黄酮含量。

1.2.4 不同因素提取试验。使用不同的温度、时间、料液比分别对脱脂后的美洲大蠊粉末中的黄酮物质进行提取,测定所提取黄酮的含量,并将其换算为 100 g 干黄酮的提取率。

2 结果与分析

2.1 提取温度对黄酮提取率的影响 由图 2 可知,提取温度在美洲大蠊黄酮的提取过程中扮演着十分重要的角色。该试验过程所使用的酒精浓度为 90%,提取时间固定为 8 h,分别使用不同料液比[1:4、1:6、1:8、1:10、1:12 (g/mL)]对美洲大蠊中黄酮的成分进行提取。提取温度设定在 25 ~ 65 ℃,可以看出随着温度的提升,美洲大蠊的黄酮提取率逐渐增高。虽然温度对黄酮提取率有影响,但是黄酮提取率所受影响程度不太大,并且 5 种不同料液比条件下,黄酮提取率受温度影响程度比较一致。综合考虑溶解度和能耗等因素,最后确定美洲大蠊黄酮提取温度确定为 25 ℃。

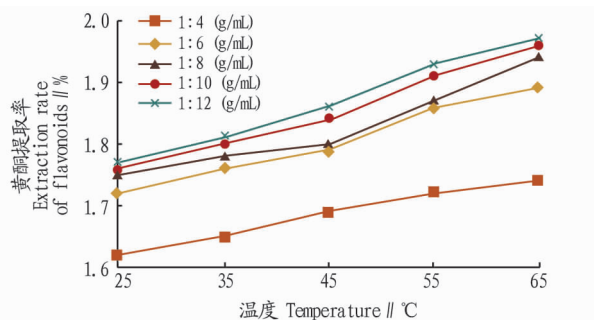


图2 提取温度对黄酮提取率的影响

Fig.2 Effect of extraction temperature on the extraction rate of flavonoids

2.2 提取时间对黄酮提取率的影响 图 3 显示的是提取温度为 25 ℃,料液比为 1:4 (g/mL) 的条件下,使用浓度不同的乙醇对黄酮进行提取,黄酮提取率随提取时间的变化过程。可以看出,提取时间对美洲大蠊黄酮类化合物的提取率具有明显的影响。随着提取时间的推进,乙醇不断溶解更多的黄酮类化合物。当乙醇浓度在 55% ~ 65% 时,当提取时间超过 12 h 之后,黄酮类化合物的提取率变化比较缓慢;当乙醇浓度为 75% ~ 90% 时,在提取时间为 4 ~ 12 h 范围内,随着提取时间的增加,黄酮提取率显著增加,但超过 24 h 后,黄酮提取率变化不明显。因此得出,美洲大蠊黄酮最佳提取时间为 12 h。

2.3 料液比对黄酮提取率的影响 提取液的配比对黄酮提取率也会产生明显的影响。图 4 显示的是乙醇浓度为 90%、提取温度为 25 ℃ 条件下,不同料液比提取黄酮的试验过程,提取时间分别为 8、12、24、48 h。可以看出提取时间的增加会在一定程度上提升黄酮类化合物的提取率;并且随着料液

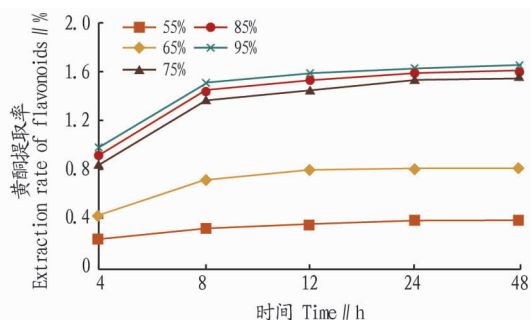


图3 提取时间对黄酮提取率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the extraction rate of flavone 比的增多,美洲大蠊黄酮类化合物的提取率也在逐渐提升。同时也可以看出,随着提取时间的增加,料液比为 1:4 ~ 1:8 (g/mL),美洲大蠊黄酮提取率的变化最为明显;当料液比超过 1:8 (g/mL) 时,美洲大蠊黄酮提取率的变化逐渐趋于平稳。

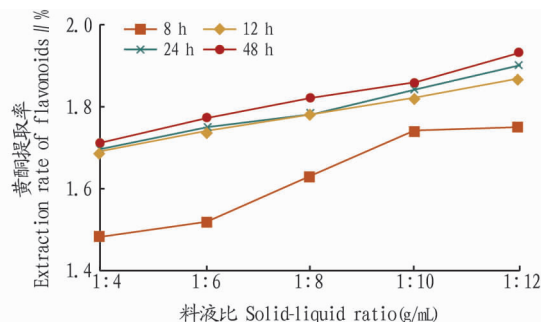


图4 料液比对黄酮提取率的影响

Fig.4 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of flavonoids

随着料液比的提升,提取时间为 8 h 条件下,提取的美洲大蠊黄酮含量变化较大,随着提取时间的增加,其提取率变化不明显。

由图 4 可以看出,12 ~ 48 h 阶段,美洲大蠊黄酮类提取率的变化趋势比较接近,且变化幅度不大;纵向分析图 4 可以看出,料液比为 1:8 ~ 1:12 (g/mL),黄酮类化合物的提取率变化缓慢,增幅较小。因此,综合考虑各种因素最终确定美洲大蠊黄酮最佳提取料液比为 1:8 ~ 1:12 (g/mL)。为了节省成本,可将料液比缩小至 1:8 (g/mL)。

3 结论与讨论

美洲大蠊含有的黄酮类化合物比较丰富,每 100 g 含量在 1 600.0 ~ 1 970.0 mg,因此对美洲大蠊黄酮类化合物的提取工艺进行研究具有十分积极的意义。

通过对不同提取温度、不同提取时间和不同料液比的黄酮提取效果进行对比分析,综合考虑各种因素,最终确定美洲大蠊黄酮类化合物最佳提取条件为提取温度为 25 ℃,提取时间为 12 h,料液比为 1:8 (g/mL)。

参考文献

- [1] 张来,杨碧昌,刘宁.植物黄酮类化合物在医药上的应用[J].安顺学院学报,2010,12(2):84-88.
- [2] 刘重芳,吴志荣,方青汉.银杏叶总黄酮提取工艺探讨[J].中成药,1992,14(7):7-8.
- [3] 侯学敏,李林霞,张直峰,等.响应面法优化薄荷叶总黄酮提取工艺及抗氧化活性[J].食品科学,2013,34(6):124-128.

Z-Stack 协议栈等优点。

采集节点主要负责采集传感器数据,然后发送给路由节点,路由节点不仅采集传感器数据,而且也将采集节点传送过来的数据一起发送给其他路由节点或协调器。协调器负责将路由节点和采集节点的数据通过串口发送给网关及控制器设备。采集节点和路由节点的硬件组成相同,但所用软件不同,硬件主要包括传感器模块、CC2530、无线传输模块和电源模块 4 个部分,其中电源可以由锂电池和太阳能电池板供电,通过太阳能电池板可以节能,并且减少电线的安装及部署。协调器硬件主要由 CC2530、无线收发器模块和串口模块组成。其具体结构示意图如图 2 所示,其中虚线框中的部分表示协调器与采集节点和路由节点 2 类节点硬件不同的部分。

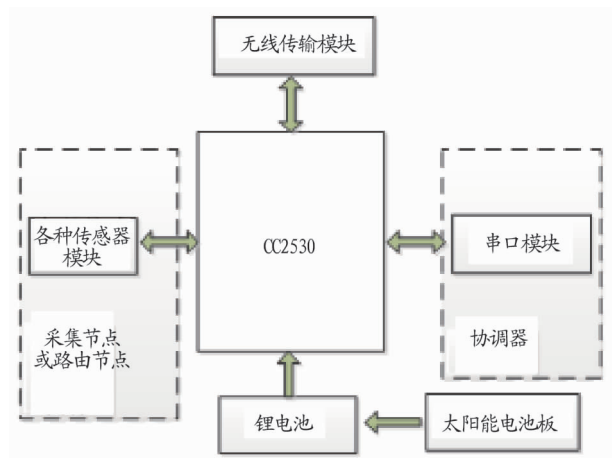


图2 协调器与采集节点和路由节点结构示意图

Fig.2 The structure of coordinator, acquisition nodes and routing nodes

2.2 网关及控制器的功能及设计 网关及控制器的主要功能是通过串口 1 接收由协调器发送过来的采集数据,然后将采集数据按通信协议打包后通过串口 2 将数据发送给 GPRS 模块,同时串口 2 还可以接收 GPRS 模块传送过来的数据,解析该数据后发送指令控制现场的执行设备。网关及控制器的处理器选用 ARM9,其硬件结构示意图如图 3 所示。

2.3 云服务器功能 该平台的云服务器采用阿里云服务器。阿里云服务器是一种处理性能优越、安全可靠的计算服务,方便用户建立数据中心,可实现数据的灵活访问和数据存储计算^[5]。

云服务器端分为控制台、web 服务、数据库 3 个部分。控制台的功能相当于云端与外界进行沟通的桥梁^[6],控制台向下与网关及控制器设备进行数据通讯,通过 TCP/IP 协议将获取茶园现场环境的参数数据进行解析后存储到数据库内;控制台向上与各种客户端软件进行数据通讯,以便对

现场的控制设备发送控制命令。数据库服务器主要是存储采集的数据,以便客户端可以随时进行查询和分析。WEB 服务器端程序部署在 Tomcat 容器中,用 Java 语言编写,采用 MVC 分层设计模型。数据库采用 MySQL 数据库。云服务器与 PC 端采用 B/S 模式,与 Android 客户端采用 C/S 模式^[7]。

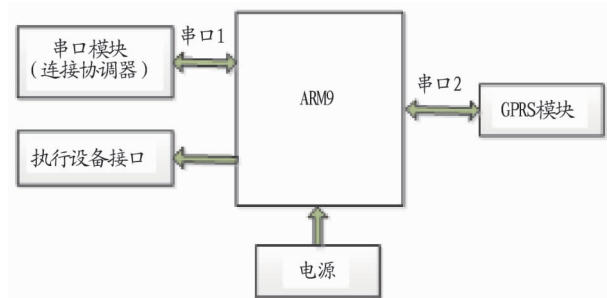


图3 网关及控制器结构示意图

Fig.3 The structure of gateway and controller

2.4 客户端功能 客户端程序分为 WEB 页面程序和移动终端程序。WEB 页面和移动端页面使用 HTML5 + CSS3 + JavaScript 开发,采用 Express 作为 WEB 应用框架,客户端程序主要是可以随时随地查询茶园的环境参数,并且根据查询的参数进行分析,然后手动的发送控制命令控制现场的控制设备,也可以通过设定参数的各种阈值,让系统自动控制现场的控制设备。同时,根据产生的大量历史数据,用于后期进行数据分析和控制策略的机器学习,以便更加合理、及时、高效地控制茶园的环境参数。

3 结语

基于 ZigBee 技术的无线传感网络提供了全新的获取数据的平台^[8],同时结合太阳能供电,满足低功耗、长期无人值守的工作需要,同时结合云服务技术,可以提供高安全、高可用、灵活扩展及成本低的服务,后期可根据获得的大数据进行分析,从而可对茶园环境进行自动化、精准化和智能化调控。

参考文献

- [1] 刘春腊,徐美,刘沛林,等.中国茶产业发展与培育路径分析[J].资源科学,2011,33(12):2376-2385.
- [2] 陈思琦,张清波,隋斌雁,等.基于 ZigBee 农田自动灌溉信号采集及数据传输系统[J].上海工程技术大学学报,2013,27(4):369-372.
- [3] 邵金梓.深亚微米片上电磁兼容技术研究与应用[D].南京:东南大学,2009.
- [4] 胡亚敏,张建锋,武珊珊,等.基于阿里云的便携式多功能农田信息采集系统设计[J].中国农机化学报,2016,37(9):146-150.
- [5] 王玉芹.基于 ZigBee 和模糊控制决策的自动灌溉系统的设计[J].节水灌溉,2010(8):52-55.
- [6] 余景华.基于云服务器的无线温度监控系统的设计[J].中小企业管理与科技,2017(24):195-196.
- [7] 黄晨晖,刘德彬,李浅屏,等.基于 Zigbee 和云服务器的茶园远程测控平台设计[J].福建电脑,2017,33(7):24-25.
- [8] 赵子健.基于 ZigBee 的无线环境监测系统设计与研究[J].微处理机,2007,38(4):91-95.

(上接第 149 页)

- [4] 莫开菊,程超,黄鹏,等.生姜黄酮提取纯化及结构的初步鉴定[J].食品科学,2005,26(9):229-233.
- [5] 欧阳平,张高勇,康保安.类黄酮提取的基本原理、影响因素和传统方法[J].中国食品添加剂,2003(5):54-57.
- [6] 王军,王敏,于智峰,等.基于响应曲面法的苦荞麸皮总黄酮提取工艺

优化[J].农业机械学报,2007,38(7):205-208.

- [7] 孙哲浩,李宝珍,赵谋明,等.响应面分析法优化荔枝枝总黄酮提取工艺的研究[J].食品与机械,2006,22(1):30-32.
- [8] 任凤莲,谷芳芳,吴梅林,等.利用响应面分析法优化山楂中总黄酮提取条件[J].天然产物研究与开发,2006,18(1):126-129.