

芦笋中活性物质提取技术参数及组分鉴定的研究

张素华, 王正云, 葛庆丰

(扬州大学食品科学与工程学院, 江苏 扬州 225001)

摘 要: 本文利用 SFE—CO₂(超临界 CO₂)萃取芦笋中的活性物质, 探讨了萃取压力、温度、时间等对萃取率的影响。通过正交试验确定最佳萃取工艺条件为: 萃取压力 30MPa, 萃取温度 75℃, 萃取时间 1h。并对提取物进行了 HPLC、MS 分析。结果显示: 分离物中以类黄酮物质(芦丁)为主。

关键词: 芦笋; SFE; HPLC; MS

Study on Extraction and Structure of Active Substances from Asparagus

ZHANG Su-hua, WANG Zheng-yun, GE Qing-feng

(College of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China)

Abstract: Extracting the active substances from asparagus with SFE, the paper investigated the effects of pressure, temperature, time on extraction. According to orthogonal test, the optimum extraction conditions were obtained as follows: P=30MPa, T=75℃, t=1h. After the analysis on the extracting substances with HPLC / MS, the results showed that: Rutin of flavonoids was the main component of the extracts.

Key words: asparagus; SFE; HPLC; MS

中图分类号: R151.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)02-0138-04

芦笋(*Asparagus officinalis* L.)学名石刁柏、龙须菜, 为百合科天门冬属宿根性多年生草本植物。原产于欧洲地中海沿岸及小亚西亚一带, 我国从美国引种以来, 现种植面积已达 50 万亩以上。称其为芦笋是因为主要供食用的地上茎, 形似芦苇和竹笋的嫩茎, 所以人们习惯称其为芦笋。据报道, 芦笋中含有丰富的黄酮类化合物, 主要是芦丁。芦丁又称芸香苷, 为维生素 P 的重要组成部分, 具有维持血管正常渗透压, 降低血管脆性的作用, 在临床上主要用于动脉硬化、高血压的辅助治疗。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料

芦笋 徐州, 连云港产, 新鲜芦笋经脱水干燥备用; 酒精 95% 食用级; CO₂ 食用级。

1.1.2 SFE 设备

高效液相色谱仪(waters-810), 质谱仪 华安超临界 CO₂ 设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 SFE 萃取芦笋活性物质的工艺流程

新鲜芦笋→切分→干燥→粉碎→过筛→称重→装料→密封→升温→升压→萃取→取出分离物

1.2.2 最佳萃取工艺参数的确定

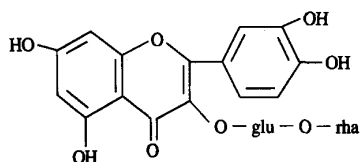
在 SFE 萃取工艺中, 影响萃取率的主要因素有萃取压力、萃取温度、萃取时间和夹带剂等。本研究分别对各影响因素进行了系列试验, 采取三因素, 三水平的正交试验法对试验方案进行设计。本实验采用的 CO₂ 流量为 120ml/h; 夹带剂为 95% 乙醇; 萃取釜容量为 1m³。

1.2.3 提取物结构的鉴定

据资料介绍(1)芦笋中含有大量的芦丁(Rutin)其结构式为:

收稿日期: 2004-01-05

作者简介: 张素华(1951-), 女, 副教授, 硕导, 主要从事食品工程的教学和科研工作。



本试验将提取物用 HPLC 和 MS 以标准样(芦丁)作对照 [HPLC 分析条件 hypers: L-C₁₈ 柱(10 μ m, 4.6 \times 150) 检测波长 254nm; 柱温 32.5 $^{\circ}$ C; 流速 1.0ml/min; 进样量 10 μ l; 流动相: Methanol-water-Acetic acid40: 57.5: 2.5 V/V] 进行分析。

2 结果与分析

2.1 超临界 CO₂ 萃取的最佳工艺参数的确定

2.1.1 萃取温度对萃取率的影响

在二氧化碳超临界流体萃取中, 许多因素条件都影响到萃取效果。其中, 萃取温度对萃取效果有双重的影响。温度升高, 可以增加物料的扩散系数, 但又降低了 CO₂ 的浓度。为此, 我们对萃取温度进行了探讨(时间 1h)。结果见图 1。

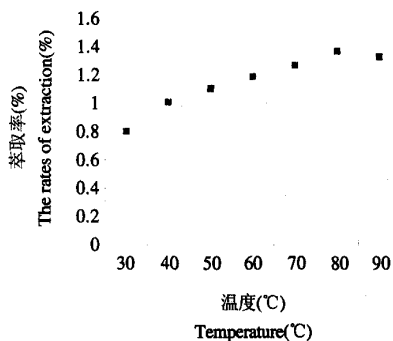


图 1 不同萃取温度对萃取效果的影响

Fig.1 The effects of temperature on extraction

由图 1 可知: 温度较低, 萃取率较低, 温度升高, 萃取率也升高, 但并非温度越高越好, 温度高不仅需耗费更多的能源, 使生产成本提高, 而且温度升高到一定程度后, 萃取率不仅没有增加, 反而略有下降。

2.1.2 最佳萃取时间的确定

超临界二氧化碳萃取活性物, 萃取的时间和流体 CO₂ 的流量对萃取效果同样具有双重影响。流体流量升高, 减少了流体对物料接触的时间, 同时大流量的 CO₂ 萃取时需要消耗大量的 CO₂ 气体。另一方面, 却因增加了传递速度和浓度差而有利于萃取。为此, 我们在不同温度下对萃取时间进行了试验, 其结果见图 2。

由图 2 可知, 萃取时间越长, 萃取率越高。但到了一定时间后, 随着时间的延长, 萃取率增长的比例

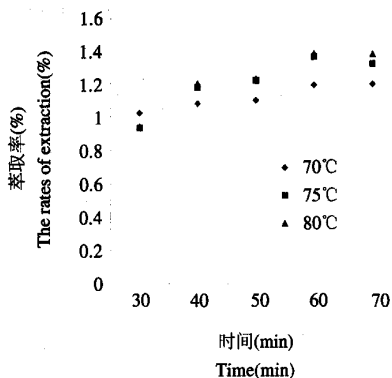


图 2 不同萃取时间对萃取效果的影响

Fig.2 The effects of time on extration

不大, 从经济角度看以 60min 为佳。

2.1.3 萃取压力对萃取率的影响

从图 1、图 2 看出, 温度和时间对超临界 CO₂ 的提取有密切的关系。在一定的温度和时间下, 超临界 CO₂ 对芦笋活性物质同样受提取压力的影响。我们设计了 20、25、30、35 MPa 的工艺参数, 其结果见图 3。

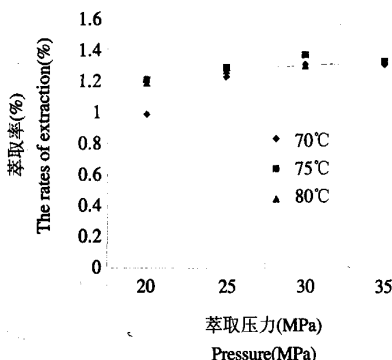


图 3 不同萃取压力对萃取效果的影响

Fig.3 The effects of pressure on extraction

由图 3 可以看出: 在一定的温度下, 超临界 CO₂ 对芦笋活性物质的提取与压力成正相关的关系, 主要因为萃取压力提高, 活性物质的溶解度提高, 但在选定的压力范围内, 萃取随压力的提高增幅较小, 且压力太大增加了不安全系数, 故选用 30 MPa 为佳。

2.1.4 方差分析

CO₂ 超临界萃取芦笋活性物质影响因素较复杂。本试验利用正交试验进一步考证优化条件, 其结果见表 1。

正交实验设计及极差分析结果表明, 各种因素对浸提效果影响的主次顺序依次为 CAB。即萃取时间是影响 SFE-CO₂ 萃取芦笋中活性物质萃取效率的最主要因素, 其次为萃取压力, 萃取温度也对萃取效率有一定影响。

表1 超临界CO₂萃取芦笋活性物质参数优化正交试验结果
Table 1 The results of orthogonal design of SFE-CO₂ from asparagus

试验号 Number	萃取压力 A Pressure(MPa)	萃取温度 B Temperature(℃)	萃取时间 C Time(min)	试验方案 Scheme of experiments	萃取得率(%) Rates of extraction
1	1(20)	1(70)	1(30)	A ₁ B ₁ C ₁	1.01
2	1	2(75)	2(60)	A ₁ B ₂ C ₂	1.17
3	1	3(80)	3(90)	A ₁ B ₃ C ₃	1.16
4	2(25)	1	2	A ₂ B ₁ C ₂	1.23
5	2	2	3	A ₂ B ₂ C ₃	1.22
6	2	3	1	A ₂ B ₃ C ₁	1.16
7	3(30)	1	3	A ₃ B ₁ C ₃	1.20
8	3	2	2	A ₃ B ₂ C ₂	1.27
9	3	3	1	A ₃ B ₃ C ₁	1.14
K ₁	3.34	3.44	3.31		
K ₂	3.61	3.66	3.67		
K ₃	3.61	3.46	3.58		
R	0.27	0.22	0.36		

因此可以确定超临界流体萃取的优化工艺参数为 A₃B₂C₂，即萃取压力：30MPa；萃取温度：75℃；萃取时间：60min。

2.2 超临界CO₂萃取物中活性物质的组分定性鉴定分析

2.2.1 高效液相色谱分析

20世纪70年代美国生物化学家卢茨就对芦笋的药理

保健作用进行了试验，他声称：芦笋治好了他的眼癌和淋巴癌，但是对芦笋的活性结构仍不清楚，特别是提取物的成分的组成仍是一个未知数。为此，我们将超临界CO₂萃取出的物质浓缩，经甲醇溶解后利用高效液相色谱对提取物进行了成分测定。其结果见图4、图5。

经高效液相色谱仪分析，根据保留时间对照定性法（芦丁标准品 T_{max}=3.648min，萃取样品 T_{max}=3.640，两者极为相似）。可知，芦笋萃取物中的活性物质主要为类黄酮中的芦丁，从分析结果(表2、表3)看：标准品3号峰值的峰面积为96.2695%，样品的2号峰值的峰面积为87.4416%。

2.2.2 质谱分析

为了更确切的证实峰P的分子组分结构，我们进一步用质谱法进行核实。其结果见图6、图7。

经质谱图分析，萃取样品的分子量为608.8，与芦丁标准品的分子量608.7完全相符。从样品质谱的分析

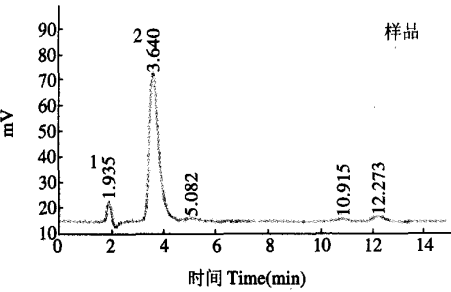


图4 标准品芦丁色谱图
Fig.4 The HPLC figure of Rutin

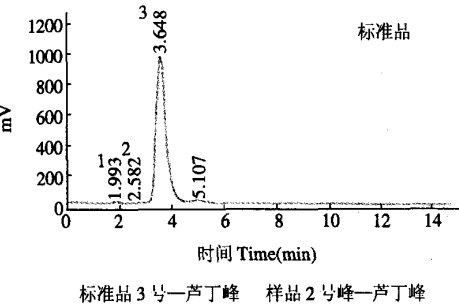


图5 样品萃取物色谱图

Fig.5 The HPLC figure of the substance of extraction from asparagus

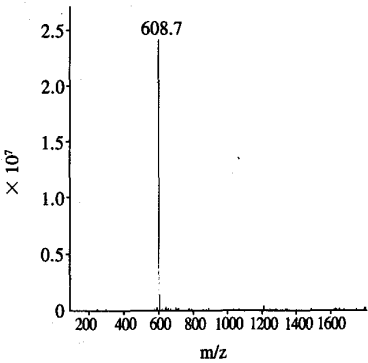


图6 芦丁标准品质谱图
Fig.6 The MS figure of Rutin

表2 标准品的HPLC分析结果
Table 2 The HPLC results of Rutin

序号 Sequence	峰号 Number	组分名 Name	保留时间 Time(min)	峰高 Height	峰面积 Area	面积百分比(%) Area percent(%)
1	1	Unknown	1.993	12511.1	143988.0	0.5334
2	2	Unknown	2.582	2195.3	52483.8	0.1944
3	3	Unknown	3.648	971933.9	25988213.2	96.2695
4	4	Unknown	5.107	20284.9	810589.7	3.0027

表3 样品的HPLC分析结果
Table 3 The HPLC results of the substance of extraction from asparagus

序号 Sequence	峰号 Number	组分名 Name	保留时间 Time(min)	峰高 Height	峰面积 Area	面积百分比(%) Area percent(%)
1	1	Unknown	1.935	7982.6	80836.6	4.6958
2	2	Unknown	3.640	58141.4	1505266.5	87.4416
3	3	Unknown	5.082	1176.5	39601.2	2.3005
4	4	Unknown	10.915	910.4	32719.8	1.9007
5	5	Unknown	12.273	1919.2	63029.5	3.6614

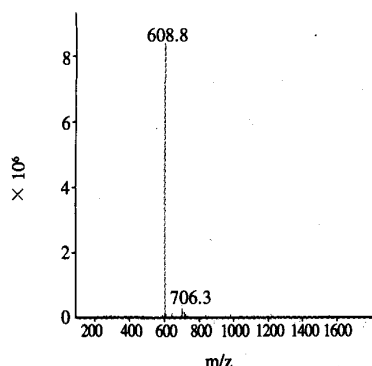


图7 样品萃取物质质谱

Fig.7 The MS figure of the substance of extraction from asparagus

峰值看, 芦笋中除了芦丁外, 还有其他物质(2号峰), 该物质有待探讨。

根据以上高效液相色谱和质谱分析, 基本上可以确定芦笋中的活性物质主要为类黄酮中的芦丁。

3 结论

3.1 通过正交试验得出, 利用超临界 CO_2 从芦笋中萃取活性物质的最佳工艺参数为 30MPa, 75℃条件下用 95% 乙醇作为夹带剂提取 60min。

3.2 高效液相色谱及质谱的定性鉴定结果表明, 芦笋萃取物中活性物质主要为类黄酮物质中的芦丁。

3.3 从芦笋中利用超临界流体萃取芦丁, 为芦丁的生产提供了一条新途径。

参考文献:

- [1] 戴伦凯. 黄酮类化合物[M]. 谢玉如, 译. 北京: 科学出版社, 1983. 52.
- [2] 葛毅强, 孙爱东. 不同萃取条件对麦胚天然维生素E的SFE- CO_2 萃取的影响[J]. 食品与发酵工业, 1998, 26(5): 40-45.
- [3] 刘树兴, 齐香君, 庞振, 等. 芦笋中芦丁的提取及其鉴定[J]. 食品工业科技, 2001, 40-41.

信息

美国食品添加剂市场需求看涨

据海外媒体报道, 由于现在越来越多的美国消费者喜欢有香味的食品, 美国的食品添加剂尤其是防腐剂的市場变得日益繁荣, 预计到2006年, 通过生产食品添加剂而获取的利润将会增加到50亿美元。

有关专家指出, 由于消费者越来越关注合成化学物质的安全性, 人们对添加纯天然添加剂和防腐剂食品的需求量呈上升趋势。此外, 越来越多的消费者开始青睐无热量的甜味剂, 使得阿斯巴甜(俗称甜味素)和糖精的使用量增加, 从而促进了这些产品的销售。