

白刺种子黄酮类化合物最佳提取工艺研究

王洪伦, 李玉林, 索有瑞*

(中国科学院西北高原生物研究所, 甘肃 西宁 810001)

摘要: 本文通过单因素及正交实验探讨了白刺种子内黄酮类化合物的最佳提取工艺。实验结果表明: 在提取温度 80℃ 的条件下用 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5h, 料液比为 1:6(W/V)。在此条件下, 黄酮类化合物的得率最高。

关键词: 唐古特白刺; 黄酮类化合物; 正交实验; 提取工艺

Research on Optimum Extraction Process of Flavonoids of the *Nitraria* Seed

WANG Hong-lun, LI Yu-lin, SUO You-rui*

(Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Xi'ning 810001, China)

Abstract: In this paper the optimum extracting conditions of *Nitraria* flavonoids were investigated by orthogonal experiment. The results showed that under the conditions of 80℃, 1:6(W/V), 70% ethanol and extracting 3 times with 1.5h for each time, the extraction rate of flavonoids would reach 93.8%.

Key words: *Nitraria* flavonoids; orthogonal experiment; extraction process

中图分类号 TS201.1

文献标识码 B

文章编号 1002-6630(2004)07-0097-03

白刺(*Nitraria*)是蒺藜科(Zygophyllaceae)的旱生或超旱生典型荒漠植物, 其抗逆性强, 耐干旱盐碱、能适应高温低寒, 自然分布在干燥、盐碱、多风、植被稀少的严酷环境中, 是防风固沙的优良灌木^[1,2]。全世界有 11 个种, 我国有 8 个种。在我国主要分布在青海、新疆、甘肃、宁夏、内蒙古等地, 资源十分丰富。其中唐古特白刺(*Nitraria tangutorum* Bobr.)为我国的特有种。白刺是西部蒙、藏、维等少数民族的传统药材, 广泛用于多种疾病的治疗, 同时具有广谱的营养作用^[3,4], 经常在中藏药复方上出现。据对产地农牧民的访问, 白刺果实成熟时, 群众采集鲜果连核一起吞食, 可治疗胃病, 有助消化, 还可治伤风感冒、头痛头晕等; 其叶在民间作为药用, 具抗痉挛、抑制神经痛、降压安神等功效。近年来的实验还显示白刺果有一定的抗脂质过氧化作用和提高 SOD 酶活力的作用^[5], 因而具有延缓衰老的保健功能。而且研究发现白刺种子内含有丰富的黄酮类化合物^[6], 因此有必要对其黄酮类化合物进行开发研究。

黄酮类化合物的提取方法现在一般有水煮、超临界 CO₂ 流体提取和有机溶剂提取。水煮和超临界 CO₂ 流体提取的方法存在诸多局限, 没有被广泛应用。由于有机

溶剂提取法具有工艺简单、效率高和较经济等优点, 在工业上常用有机溶剂提取法提取黄酮类化合物。因此, 本文对用有机溶剂提取黄酮类化合物的工艺进行了优化。

1 试验部分

1.1 材料、仪器与试剂

唐古特白刺种子 采自青海柴达木地区, 白刺果实榨汁后洗净得实验所需样品。

CRAY300Bio 紫外可见分光光度计 美国 Varian 公司; JA1003 电子天平 上海天平仪器厂。

芦丁标准品 中国药品生物制品鉴定所 其它亚硝酸、硝酸铝、氢氧化钠试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 材料的处理

取一定量白刺种子进行粉碎, 混合均匀, 用 40、60 和 80 目筛进行分级。

1.2.2 标准溶液的制备

精确称取干燥恒重的芦丁(黄酮标准对照品)50mg 置于 500ml 容量瓶中, 加入 70% 乙醇溶液适量溶解稀释至刻度并摇匀, 即可得到浓度为 0.1mg/ml 的芦丁标准溶液。

收稿日期 2003-10-09 *通讯联系人

基金项目: 国家财政部产业技术成果转化西部专项

作者简介: 王洪伦(1979-), 男, 博士研究生, 主要从事天然产物分离分析与生物资源开发工作。

1.2.3 标准曲线的制备

精确量取标准溶液0.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0ml分别置于50ml的容量瓶中,加水使其各体积为12.0ml,各精确加入5%亚硝酸钠2.0ml,摇匀,放置6min,再分别加入10%硝酸铝溶液2.0ml,摇匀,放置6min,加入4.3%的氢氧化钠溶液20ml,然后用70%的乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,放置15min。在500nm波长(全程扫描在500nm处有最大吸收)测定吸光度。测定结果用最小二乘法作线性回归,得方程为: $A(\text{吸光度}) = 0.181C(\text{mg/ml}) + 0.012$, $r = 0.9998$ 。

1.2.4 样品黄酮类化合物含量的测定及得率的计算方法

取一定量样品有机溶剂提取后定容,精密吸取1.00ml,按照标准曲线的方法测定吸光度,计算得样品黄酮含量。

$$\text{得率}(\%) = \frac{\text{白刺种子所提的总黄酮含量}}{\text{白刺种子中总黄酮含量}}$$

2 结果与讨论

2.1 粒度对提取效果的影响

溶剂提取的过程包括扩散、渗透和溶解等过程,因此物料的比表面积越大,即粒度越小,提取效果越好,但是粒度不宜过小,否则过滤出现困难。本实验以过40、60和80目的种子粉进行了比较,实验结果表明:宜取大于40目的种子粉作原料为佳,见表1。

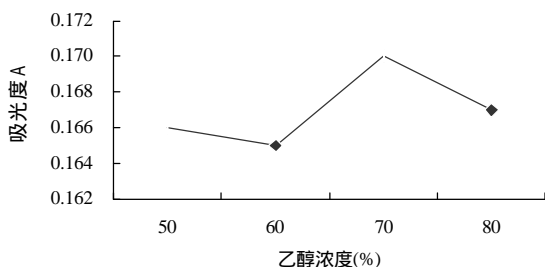
表1 粒度对提取效果的影响

粒度(目)	240	40	60	80
吸光度	0.216	0.182	0.161	0.129

条件: 10.0g, 70%乙醇, 80℃, 回流3次, 每次1.5h, 料液比1:6。

2.2 乙醇浓度对提取效果的影响

黄酮类化合物在不同浓度的乙醇溶液中溶解度有所不同,因此提取过程中所用乙醇溶液的浓度对提取效果有一定的影响。为此,本实验选取了四个不同浓度的乙醇溶液进行比较。从实验结果(见图1)可以看出:在提取过程中选用70%的乙醇为最佳。

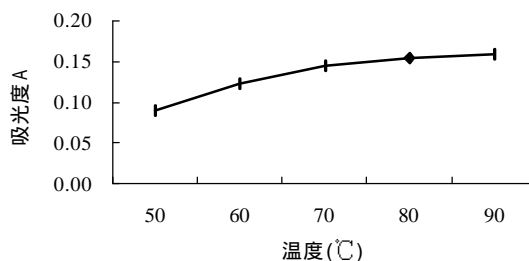


条件: 10.0g, 80℃, 回流3次, 每次1.5h, 料液比1:6

图1 不同乙醇浓度对提取效果的影响

2.3 温度对提取效果的影响

一般来说,随着温度的升高,分子运动速度加快,渗透、扩散、溶解速度加快,使黄酮类物质更易从细胞中转移到溶剂中,因此在提取的过程中黄酮类物质的得率随提取温度的升高而提高。但是温度过高容易使黄酮类物质产生氧化,而且在工业生产中,过高的提取温度耗能较大而且不宜操作。实验结果如图2所示,提取温度为80℃为宜。

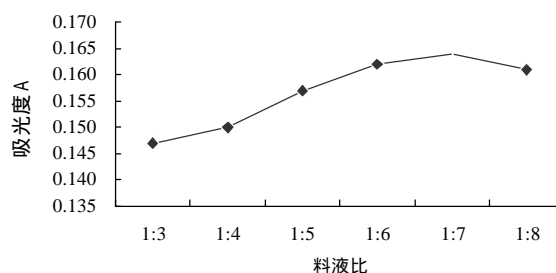


条件: 10.0g, 70%乙醇, 回流3次, 每次1.5h, 料液比1:6

图2 不同温度对提取效果的影响

2.4 料液比对提取效果的影响

一般来说,料液比就是溶剂的用量,溶剂用量越大对成分的溶解能力越强,黄酮类化合物在大剂量的溶剂中始终成“稀”溶液状态,利于扩散的进行。料液比越大提取效果越好,但是溶剂用量过大给后续的浓缩等操作带来不便。如图3所示,当料液比为1:6时,吸光度基本达到最大值,说明一定比例的溶剂已将有效成分基本溶出完全。料液比选取1:6为宜。



条件: 10.0g, 70%乙醇, 80℃, 回流3次, 每次1.5h

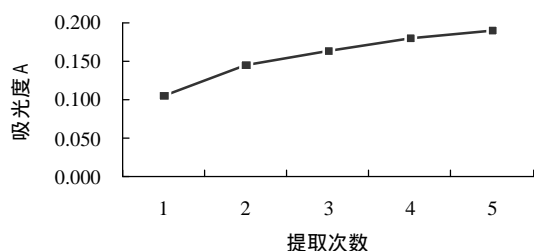
图3 不同料液比对提取效果的影响

2.5 提取次数对提取效果的影响

随着提取次数的增多,黄酮类物质的得率会逐渐升高,当提取3到4次后,白刺种子内的黄酮类化合物的得率已接近最大值;同时从实际工业生产中有有机溶剂的用量考虑,在提取过程中宜提取4次。

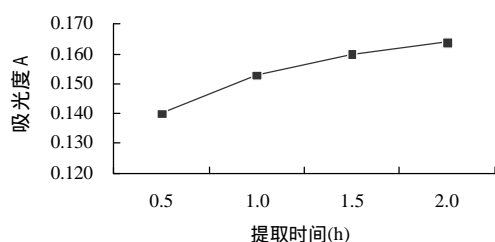
2.6 提取时间对提取效果的影响

黄酮类物质的提取包括扩散、渗透和溶解等过程,浸提时间愈长,浸提愈完全。但当扩散达到平衡时,延长时间的浸提会使高分子杂质浸出增加。如图5所



条件: 10.0g, 70% 乙醇, 80℃, 每次 1.5h, 料液比 1:6

图4 提取次数对提取效果的影响



条件: 10.0g, 70% 乙醇, 80℃, 回流 3 次, 料液比 1:6

图5 提取时间对提取效果的影响

示: 到浸提时间达到 1.5h 时, 提取液内有效成分浓度已达到平衡。随着时间的延长, 黄酮类物质的得率趋于稳定。因此提取时间选取 1.5h 为宜。

2.7 正交试验

为了确定在提取过程中各因素影响的大小, 选取了提取温度、料液比和提取次数三因素进行正交试验, 在正交试验中, 其他各因素均选取最适参数。见表 2

表2 三因素三水平表

水平	A 温度(℃)	B 料液比(W/V)	C 提取次数
1	75	1:6	2
2	80	1:7	3
3	85	1:8	4

正交试验结果及数据分析见表 3

从正交实验结果可以看出最佳地提取条件是 $A_3B_1C_3$, 即提取温度为 85℃, 料液比为 1:6, 提取次数为 4 次, 此条件与实验结果刚好吻合。

从实验数据及分析可以看出各因素对黄酮类化合物提取影响大小为: 提取次数 > 温度 > 料液比。

因为浸提温度对黄酮的提取影响并不很大, 考虑到实际工业化生产, 宜采用 80℃ 的提取温度。这样即能提高黄酮类化合物的得率, 又能节省能源、易于操作。

对实验数据的综合分析, 可以得出最佳浸提条件

表3 试验结果及数据分析

	A	B	C	黄酮含量(mg/g)
1	1	1	1	7.948
2	1	2	2	8.918
3	1	3	3	10.639
4	2	1	2	9.739
5	2	2	3	10.933
6	2	3	1	8.097
7	3	1	3	11.381
8	3	2	1	8.028
9	3	3	2	10.187
K_1	27.501	29.068	24.068	
K_2	28.769	27.874	28.844	
K_3	28.590	28.918	32.948	
k_1	9.167	9.689	8.023	
k_2	9.590	9.291	9.620	
k_3	9.868	9.639	10.983	
R	0.701	0.398	2.960	

为: 用 1:6 的 70% 的乙醇溶液在 80℃ 下, 回流体取 4 次, 每次 1.5h。

在此确定的最佳条件下测得白刺种子中总黄酮类物质的含量为 1.136%。

3 结 论

本实验通过单因素及正交实验得出了白刺种子黄酮类化合物的最佳提取工艺条件, 后经实验验证, 在确定的工艺条件下提取黄酮类物质得率为 93.8%, 从而为以后的分离纯化和利用白刺种子黄酮奠定了基础。

参考文献:

- [1] 赵克昌, 曲金声, 郭劲玲. 治沙保土灌木白刺开发利用现状及发展前景[J]. 中国水土保持, 1995, (1): 38-40.
- [2] 李必华. 白刺及其开发利用[J]. 山东林业科技, 1994, (3): 7-12.
- [3] 高航, 索有瑞. 柴达木盆地西伯利亚白刺和唐古特白刺的氨基酸含量与其营养评价[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 24(4): 4-7.
- [4] 高航, 李天才, 索有瑞. 柴达木盆地唐古特白刺和西伯利亚白刺中矿物质元素的分析[J]. 广东微量元素科学, 2002, 9(8): 52-54.
- [5] 姜明, 戴有盛, 吴承舜, 等. 野生植物白刺果实的营养成分及其延缓衰老作用的研究[J]. 营养学报, 1994, 16(3): 338.
- [6] 贾忠建, 朱广军, 王继和. 唐古特白刺黄酮类化合物的研究[J]. 兰州大学学报, 1991, 27(2): 102-107.