

盐地碱蓬总黄酮的提取工艺条件研究*

高健¹, 付进²

(1. 盐城工学院 化学与生物工程学院, 江苏 盐城 224003 ;
2. 江苏省产品质量监督检验研究院, 江苏 南京 210029)

摘要: 采用正交实验法确定从盐生植物—盐地碱蓬中提取黄酮类化合物的最佳方案, 即通过对乙醇浓度、乙醇用量、提取温度、提取时间四因素三水平的选择实验, 得出最佳提取条件。结果表明, 乙醇体积浓度为 65%, 乙醇质量体积为 15 倍, 提取温度为 75℃, 提取时间为 4h, 提取工艺条件最好。

关键词: 盐地碱蓬; 总黄酮; 提取工艺

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1671-5322(2007)01-0057-03

盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)又名翅碱蓬、黄须菜。为藜科一年生草本植物, 野生于海涂或盐场的盐滩之上, 无污染, 被称为标准的“绿色食品”, 富含不饱和脂肪酸、维生素和微量元素。具有清凉解毒、降压降脂, 有助于消化等功能^[1, 2]。

近年来研究表明盐地碱蓬中富含抗氧化活性物质, 其抗氧化作用与其含有多酚类物质有关^[2], 在过去的研究中, 证明盐地碱蓬中含有丰富的黄酮类化合物, 且这些黄酮类化合物有很强的抗氧化活性和清除体外超氧阴离子能力^[3]。在此基础上, 本文采用了四因素三水平的正交实验设计, 对盐地碱蓬总黄酮提取工艺进行研究, 旨在获得盐地碱蓬中总黄酮提取的最佳方案, 以期开发、生产盐地碱蓬中黄酮类物质提供理论依据。

1 材料与仪器

盐地碱蓬采集于盐城射阳新洋港滩涂, 洗净、阴干后, 置于干燥箱中 65℃ 烘干, 剪成碎段, 然后粉碎成粉末, 备用。对照品芦丁(中国药品生物制品鉴定所); 乙酸乙酯、无水乙醇、无水硫酸钠

等均为 AR。HH-8 数显恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司)、FZ102 微型植物式样粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)、RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)、CS101-2E 多功能恒温箱(重庆万达仪器有限公司)、7202B 可见分光光度计(龙尼科上海仪器有限公司)、LGJ-10 真空冷冻干燥机(北京四环化学仪器制造厂)。

2 方法与结果

2.1 正交设计

采用乙醇为提取溶剂, 以乙醇浓度、乙醇用量、提取温度、提取时间为 4 个考察因素, 分别设立 3 个水平, 以总黄酮的提取率为考察指标, 选取 L₉(3⁴) 正交表进行实验(如表 1), 从而系统考察乙醇提取法的工艺参数。

2.2 总黄酮含量测定

2.2.1 标准品溶液的制定及标准曲线绘制

准确称取干燥至恒重的芦丁标准品(纯度为 98%) 20 mg, 用 50% 的甲醇溶解并定容至 50 mL, 摇匀即得浓度为 0.4 mg/mL 的标准应用液。

* 收稿日期 2006-11-06

基金项目: 江苏省教育厅高校自然科学研究项目(06KJD350196), 盐城工学院科研基金项目(XKY2006030)。

作者简介: 高健(1973-)男, 江苏建湖县人, 讲师, 硕士, 主要研究方向为生物活性物质提取、海洋藻类、生物化学等。
万方数据

表 1 乙醇提取正交实验因素水平表

Table 1 Factors and level of orthogonal experiment

| 水平 | 因素 | | | |
|----|----------|-----------|----------|----------|
| | A 乙醇浓度/% | B 乙醇用量(倍) | C 提取温度/℃ | D 提取时间/h |
| 1 | 55 | 10 | 70 | 3 |
| 2 | 65 | 15 | 75 | 4 |
| 3 | 80 | 20 | 80 | 5 |

再准确吸取标准应用液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 分别置于 25 mL 比色管中,分别加入 5% 的 NaNO₂ 1 mL,混匀,放置几分钟后加入 10% Al(NO₃)₃ 1 mL,摇匀,再放置几分钟,加入 4% NaOH 10 ml,加水至刻度,混匀,15 min 后用分光光度计在最大特征吸收波长 510 nm 处,以 50% 的甲醇作空白试剂,测定各个标样的吸光度^[4]。

根据各个标样浓度及对应的吸光度制作标准曲线,用最小二乘法经线性回归,得出回归方程为:

$$Y = 7.74x + 0.0846, \text{ 相关系数 } r = 0.9929$$

Y - 吸光度

x - 芦丁浓度(g/L)

2.2.2 总黄酮提取及含量测定

准确称取一定量的盐地碱蓬粗粉,根据正交表 L₉(3⁴)所列条件,先用石油醚进行脱脂,分别用不同浓度的乙醇加热提取,趁热过滤,合并提取液,把提取液放在旋转蒸发器中减压浓缩至 1/3,过滤,滤液用乙酸乙酯萃取数次,用无水硫酸钠干燥,回收溶剂,得提取液,取一定量的提取液,置于 50 mL 量瓶中,用甲醇定容、摇匀。精密量取 2 mL 于 10 mL 量瓶中,按照标准曲线绘制下的方法,测定吸光度。由回归方程计算出溶液中总黄酮的含量。试验重复了两次,盐地碱蓬中总黄酮提取量结果见表 2。

表 2 乙醇提取的正交试验表及结果

Table 2 The results of orthogonal experiment

| 序号 | 因素 | | | | 总黄酮得率/% | | |
|----------------|-------|-------|-------|-------|---------|--------|----------------|
| | A | B | C | D | 单位组 I | 单位组 II | T _i |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 4.63 | 4.51 | 9.14 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 5.89 | 5.96 | 11.85 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 4.85 | 4.46 | 9.31 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 6.39 | 6.32 | 12.71 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 5.98 | 6.14 | 12.12 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 6.09 | 6.11 | 12.20 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 4.66 | 4.42 | 9.08 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 4.27 | 5.27 | 9.54 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 5.97 | 5.83 | 11.80 |
| k ₁ | 30.30 | 30.93 | 30.88 | 33.06 | 48.73 | 49.02 | 97.75(T) |
| k ₂ | 37.03 | 33.51 | 36.36 | 33.13 | | | |
| k ₃ | 30.42 | 33.31 | 30.51 | 31.56 | | | |
| R | 6.73 | 2.58 | 5.85 | 1.57 | | | |

2.2.3 正交实验结果

经极差分析处理,其结果见表 2,影响总黄酮提取率的因素主要次序为:A > C > B > D,即乙醇提取浓度(A)对总黄酮提取影响最大,其次是提取温度,而在设定的提取时间范围内,相对而言,提取时间对提取效果影响最小,结果表明最佳乙醇提取工艺为 A₂B₂C₂D₂。

将正交结果进行方差分析,由于提取时间经极差分析,方差数据最小,且 SSD 误差最小,所以在

方差分析时,将其作为空白,主要对乙醇浓度、乙醇用量、提取温度进行了方差分析,结果见表 3。方差分析结果表明乙醇浓度和提取温度对提取效果有显著影响,且影响极显著,而乙醇用量对提取效果无显著影响,重复两次的单位组之间差异也不显著。通过正交实验验证及方差分析,实验确定选 A₂B₂C₂D₂ 为最佳提取工艺条件,即乙醇浓度为 65%,乙醇体积为 15 倍,提取温度为 75℃,提取时间为 4 h。

表 3 方差分析表
Table 3 Analysis of variance of extraction rate of flavones

| 方差来源 | SS | df | MS | F | $F_{0.05}$ | $F_{0.01}$ |
|-----------|---------|----|---------|-----------|------------|------------|
| A | 4.944 4 | 2 | 2.472 2 | 27.56 * * | 4.10 | 7.56 |
| B | 0.686 7 | 2 | 0.343 4 | 3.83 | 4.10 | 7.56 |
| C | 3.577 2 | 2 | 1.788 6 | 19.94 * * | 4.10 | 7.56 |
| 单位组 | 0.004 7 | 1 | 0.004 7 | 0.005 2 | 4.96 | 10.04 |
| 误差/ e_1 | 0.262 3 | 2 | 0.131 2 | | | |
| 误差/ e_2 | 0.635 1 | 8 | 0.079 4 | | | |
| 合并误差/ e | 0.897 4 | 10 | 0.089 7 | | | |

表中 * * 表示 $P < 0.01$, 有极显著性统计学意义

3 结论

实验采用了乙醇提取工艺法提取了盐地碱蓬中黄酮类物质,用乙醇作为黄酮类物质的提取试剂,与甲醇等其它有机试剂相比,乙醇无毒,成本低。且乙醇为溶媒浸提盐地碱蓬中黄酮类物质时,在减少杂质浸出的同时,往往还可以达到分离苷和苷元(或极性苷元与非极性苷元)的效果,提高了提取率的同时减少了杂质的浸出^[5]。通过实验,乙醇浓度为 65%,乙醇体积为 15 倍,提取温度为 75℃,提取时间为 4 h 时,提取工艺条件

是最好的。

盐地碱蓬在我国分布很广,广泛生长于沿海滩涂沙地、盐碱地。盐地碱蓬价格低廉,营养丰富,苗期茎叶鲜嫩,可做蔬菜,含有丰富的黄酮类物质,经常食用有益于健康和长寿。近年来黄酮类物质在食品上应用越来越广泛,可作为天然色素、抗氧化剂、甜味剂等。本文以乙醇为溶剂,探讨了盐地碱蓬中黄酮类物质提取工艺,为这种盐生植物资源的合理利用以及深度加工和开发提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 谷奉天. 开发盐地碱蓬绿色系列食品研究[J]. 滨州教育学院学报, 1999, 5(3): 43-48.
- [2] 胡博路, 杭瑚. 翅碱蓬的抗氧化活性研究[J]. 中国海洋药物, 2001(4): 29-31.
- [3] 高健. 盐地碱蓬中黄酮类物质的提取及抗氧化性研究[J]. 盐城工学院学报, 2005, 18(2): 55-57.
- [4] 在向平. 银杏叶中总黄酮含量的测定和提取方法[J]. 中草药, 1992(3): 122-124.
- [5] 朱奇, 陈彦. 仙人掌黄酮类物质提取工艺的比较研究[J]. 江苏农业科学, 2006(3): 162-164.

Research on the Process Conditions Extracting Total Flavonoids from Suaeda salsa

GAO Jian¹, FU Jin²

(1. Department of Chemical and Biological Engineering, Yancheng Institute of Technology, Jiangsu Yancheng 224003, China;
2. Jiangsu Institute of Supervision & Inspection on Product Quality, Jiangsu Nanjing 210029, China)

Abstract: The optimum process of extracting total flavonoids from Suaeda salsa was selected by orthogonal experiment design. The orthogonal test was employed to test the effects of the four factors including concentration of alcohol, volume of alcohol, temperature and time of extraction on total flavonoid contents. The results showed the optimum extracting conditions of total flavonoids were alcohol concentration 65%, adding alcohol volume 12 times, extracting temperature 75℃, extracting time 1h.

Keywords: suaeda salsa, total flavonoids, extracting process