

# 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取马齿苋中总黄酮的工艺研究

翟 硕 莉

(衡水学院 生命科学系, 河北 衡水 053000)

**摘 要:**采用单因素和正交实验方法,从萃取压力、萃取温度、萃取时间、夹带剂用量 4 个因素上对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术萃取马齿苋中总黄酮进行了研究。结果表明:最佳萃取工艺条件为:压力为 30 MPa,温度为 45℃,时间为 2 h,夹带剂用量 4.0 mL/g 可使马齿苋中黄酮萃取率达到 8.55%;影响萃取率的各因素大小顺序为:压力>夹带剂用量>温度>时间。

**关键词:**马齿苋;超临界 CO<sub>2</sub>;总黄酮

**中图分类号:**Q 946-33 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)12-0045-03

马齿苋(*Portulaca oleracea* L.)为 1 a 生肉质草本植物,在我国南北各地均有分布,其化学组成复杂多样,是我国卫生部划定的 78 种药食同源的野生植物之一,具有广泛的药理活性及营养保健作用,其中的有效成分黄酮具有多种药理作用,从马齿苋中提取黄酮类物质是目前研究的热点之一。超临界流体萃取技术是近几年发展起来的一种新型萃取分离技术。兼有传统的蒸馏和液液萃取的特征,是适用面很广的一项新型分离技术<sup>[1]</sup>。目前,马齿苋中总黄酮的萃取多采用有机溶剂萃取、超声波萃取或微波萃取等,目前还没有关于超临界 CO<sub>2</sub> 萃取马齿苋黄酮的报道。影响马齿苋总黄酮因素有很多,现对萃取压力、萃取温度、萃取时间、夹带剂用量 4 个因素进行研究,以期得到超临界 CO<sub>2</sub> 萃取马齿苋黄酮的最佳工艺条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

马齿苋为野生,采自衡水市郊区;芦丁:中国药品生物制品检定所;无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠均为分析纯。仪器:HA121-50-01 超临界萃取装置,752N 型紫外可见分光光度计, HG72-1 恒温干燥箱,JA5002 电子天平。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 马齿苋的制备** 马齿苋洗净晾干后于 70~80℃ 烘干,粉碎过 60 目筛,备用。

**1.2.2 芦丁标准曲线的制备** 精确称取芦丁标准品 10 mg,置于 50 mL 容量瓶中,加 60%乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得芦丁标准溶液。采用 NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-NaOH 法测定总黄酮<sup>[2]</sup>,得到芦丁浓度与吸光度关系的

回归方程为: $y=10.922x-0.0014$ ,  $R^2=0.9993$ 。

**1.2.3 单因素试验和正交实验** 选取超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法的主要操作参数萃取压力、萃取温度、萃取时间和流体流量进行单因素试验,在单因素试验的基础上,进行多因素正交实验,获得超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取马齿苋黄酮类物质的最佳工艺参数。总黄酮含量(%)=萃取总黄酮质量/马齿苋原料的质量。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

**2.1.1 萃取压力对黄酮萃取率的影响** 称取 150 g 干马齿苋粉,选定萃取温度 40℃,萃取时间 2 h,夹带剂无水乙醇用量 4.0 mL/g,CO<sub>2</sub> 流量由压力控制,考察萃取压力在 20~40 MPa 时,黄酮提取率的变化情况。超临界流体的密度与萃取温度和萃取压力有关,当萃取温度一定时,萃取压力的改变造成超临界流体密度的变化,而超临界流体密度的变化直接引起超临界流体对物质溶解度的变化<sup>[1]</sup>。由图 1 可知,随着萃取压力的增加,总黄酮的提取率也在增大。当压力上升到 25 MPa 以上时,随着压力的增加,总黄酮的提取率增大趋势减缓,且过高的压力对设备也提出了更高的要求。根据此单因素试验,结合设备的压力使用范围和操作费用,选定 20、25、30 MPa 为正交实验中的萃取压力的范围值。

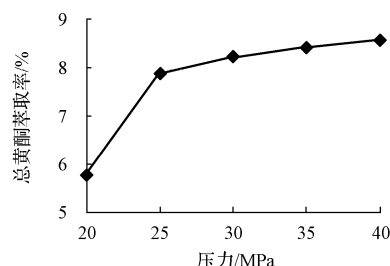


图 1 萃取压力对总黄酮萃取率的影响

**2.1.2 萃取温度对黄酮萃取率的影响** 称取 150 g 干马齿苋粉,选定萃取压力 25 MPa,萃取时间 2 h,夹带剂

**作者简介:**翟硕莉(1982-),女,河北邢台人,硕士,讲师,研究方向为食品分析及食品微生物,现主要从事生物技术方面的教学与研究工作。E-mail:zsl811210@163.com。

**收稿日期:**2012-03-15

无水乙醇 4.0 mL/g,  $\text{CO}_2$  流量由压力控制, 考察萃取温度在 30~50℃ 时, 黄酮提取率的变化情况。由图 2 可知, 与萃取压力类似, 萃取温度的变化也会影响超临界  $\text{CO}_2$  的密度从而影响物质的溶解度。随着萃取温度的增大, 超临界  $\text{CO}_2$  对黄酮的溶解度增加。但当温度高于 45℃ 后萃取率反而下降, 这是因为温度对萃取效果有双重的影响。一方面, 温度升高有利于溶质挥发性的增加和提高物料的扩散系数; 另一方面, 温度升高又降低了  $\text{CO}_2$  的浓度, 导致其溶解能力降低不利萃取<sup>[3]</sup>。因此选定 35、40、45℃ 为正交实验中的萃取温度的范围值。

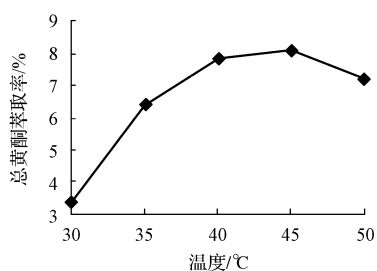


图2 萃取温度对总黄酮萃取率的影响

2.1.3 萃取时间对黄酮萃取率的影响 取 150 g 干马齿苋粉, 选定萃取压力 25 MPa, 萃取温度 40℃, 夹带剂无水乙醇 4.0 mL/g,  $\text{CO}_2$  流量由压力控制, 考察萃取时间在 1~3 h 时, 黄酮提取率的变化情况。由图 3 可知, 超临界  $\text{CO}_2$  萃取与其它萃取方法一样, 随着萃取时间的延长萃取率增加。在开始的 2 h 内, 增加较快, 这是由于在萃取初期, 由于超临界  $\text{CO}_2$  与溶质未达到良好接触, 萃取量较少, 随着萃取时间的延长, 传质达良好状态, 单位时间的萃取量增大<sup>[4]</sup>。但当萃取时间超过 2 h 后, 黄酮得率增加变缓。在前 2 h 内, 萃取时间与萃取率之间近似正比关系, 这个阶段获得的产品约占总萃取量的 90%。根据此单因子试验, 考虑到提取设备的损耗及成本问题选定 1.5、2.0、2.5 h 为正交实验中的萃取时间的范围值。

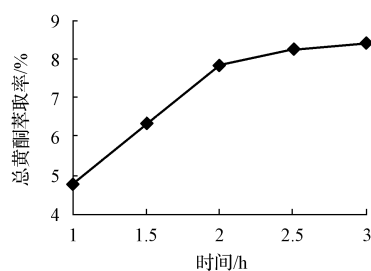


图3 萃取时间对总黄酮萃取率的影响

2.1.4 夹带剂用量对黄酮萃取率的影响 称取 150 g 干马齿苋粉, 选定萃取压力为 25 MPa, 萃取温度 40℃, 萃取时间 2 h,  $\text{CO}_2$  流量由压力控制, 考察夹带剂无水乙醇用量在 1.0~5.0 mL/g 时, 黄酮提取率的变化情况。由于超临界  $\text{CO}_2$  是非极性物质, 而黄酮类物质极性较大, 萃取时使用夹带剂可有效提高黄酮类物质在超临界  $\text{CO}_2$  中的溶解度, 从成本和安全性角度考虑, 选择无水乙醇为夹带剂。

由图 4 可知, 黄酮类物质的溶解量随夹带剂用量的增加而上升, 根据单因素试验, 结合成本原因, 选定 3.0、4.0、5.0 mL/g 为正交实验中的夹带剂用量范围值。

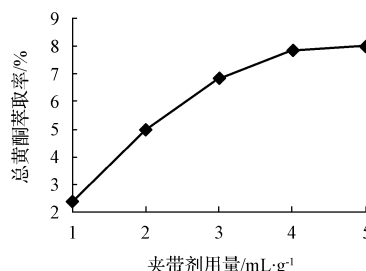


图4 夹带剂用量对总黄酮萃取率的影响

## 2.2 正交实验

根据以上萃取压力、萃取温度、萃取时间、夹带剂用量 4 个单因素试验结果, 设计了四因素三水平正交实验, 因素水平表见表 1, 正交分析见表 2。由表 2 中的极差值可看出, 4 个因素对黄酮萃取率影响大小顺序为  $A > D > B > C$ 。由  $k$  值的大小可知, 超临界  $\text{CO}_2$  萃取马齿苋黄酮的最佳工艺为  $A_3 B_3 C_2 D_2$ , 即压力为 30 MPa, 温度为 45℃, 时间为 2 h, 夹带剂用量 4.0 mL/g 可使马齿苋中黄酮萃取率达到 8.55%。

表1 正交设计的因素及水平

水平	因素			
	A 压力/MPa	B 温度/℃	C 时间/h	D 夹带剂用量/mL·g <sup>-1</sup>
1	20	35	1.5	3.0
2	25	40	2.0	4.0
3	30	45	2.5	5.0

表2  $L_9(3^4)$  正交实验结果与分析

实验号	因素				萃取率/%
	A	B	C	D	
1	20	35	1.5	3.0	6.35
2	20	40	2.0	4.0	7.14
3	20	45	2.5	5.0	7.25
4	25	35	2.0	5.0	7.68
5	25	40	2.5	3.0	7.4
6	25	45	1.5	4.0	7.84
7	30	35	2.5	4.0	8.41
8	30	40	1.5	5.0	8.16
9	30	45	2.0	3.0	8.28
$k_1$	20.74	22.44	22.35	22.03	
$k_2$	22.92	22.7	23.1	23.39	
$k_3$	24.85	23.37	23.06	23.09	
R	4.11	0.93	0.75	1.36	

## 3 结论

近年来超临界  $\text{CO}_2$  萃取法开始应用于黄酮类物质的萃取, 超临界  $\text{CO}_2$  萃取法传质速度快、溶解力强, 低温操作, 节能, 萃取产率高, 明显优于其它方法。该试验以马齿苋为研究对象, 用超临界  $\text{CO}_2$  萃取方法提取黄酮, 采用正交试验法优化了超临界  $\text{CO}_2$  萃取的几个因素, 效果良好。与已报道的其它方法<sup>[5-7]</sup> 相比, 萃取率高, 适用于马齿苋黄酮的提取。

# 生长调节剂对麻疯树成花及营养物质的影响

王秀荣, 赵 杨, 丁贵杰, 韩 磊, 谢 毅

(贵州大学 林学院, 贵州 贵阳 550025)

**摘 要:**运用正交实验设计,用不同水平的 6-苄氨基嘌呤(6-BA)+赤霉素(GA<sub>3</sub>)+肥种处理麻疯树茎尖,研究外源物质对麻疯树花芽分化及树体内营养物质的影响。结果表明:各处理对麻疯树成花数量有显著影响,6-BA(2 mg/L)+GA<sub>3</sub>(50 mg/L)+肥种(氮)为最优促花组合,正交实验设计中以 6-BA(0.5 mg/L)+GA<sub>3</sub>(50 mg/L)+肥种(氮)的促花效果较好;GA<sub>3</sub>是影响麻疯树成花的主要因子。处理促进营养生长和生殖生长,二者交错进行。处理株叶片内氮、可溶性糖、淀粉、C/N 比、钾的含量和变化趋势均呈增加-降低-再增加的 S 型模式。磷的含量在早期达到最大,之后便持续下降。叶片内钾在最高含量是最低含量的 4.8 倍,变幅最大,磷和钾呈极显著正相关。枝条生长与叶片内可溶性糖含量显著负相关。

**关键词:**麻疯树;生长调节剂;花芽分化;营养物质

**中图分类号:**S 482.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)12-0047-04

麻疯树是重要的生物能源树种,目前生产上产量过低是影响麻疯树形成产业发展的重要原因之一。近年

**第一作者简介:**王秀荣(1972-),女,在读博士,副教授,现主要从事森林培育和园林植物及遗传育种方面的教学与科研工作。

**责任作者:**丁贵杰(1960-),男,博士,教授,博士生导师,现主要从事森林培育的研究与教学工作。

**基金项目:**贵州省重大专项资助项目(黔科合重大专项字(2007)6004-5);教育部博士点基金资助项目(20070657001);贵州省自然科学基金资助项目(黔科合 J 字[2010]2048 号);贵州省人才基地建设资助项目(黔人领发[2009]9 号);省创新团队资助项目(黔科合人才团队(2011))。

**收稿日期:**2012-03-07

来对麻疯树的开花习性、传粉生物学特性及花的解剖结构方面的研究较多,主要集中在麻疯树花粉活力、柱头可授性、人工授粉试验<sup>[1-2]</sup>、传粉生物学特性<sup>[3]</sup>、雌雄花的形态解剖学观察<sup>[4]</sup>、性比及雌雄花器官尺寸数量<sup>[5]</sup>方面的观察和研究。植物激素对植物的生长发育有重要的调节控制作用。目前激素调节植物开花方面的研究多集中在蔬菜如黄瓜<sup>[6]</sup>及果树如龙眼<sup>[7]</sup>、荔枝<sup>[8]</sup>、板栗<sup>[9]</sup>等。研究表明,适合浓度的 GA<sub>3</sub> 处理有助于提高麻疯树雌花数量<sup>[10]</sup>,关于其它生长调节剂对麻疯树花芽分化的调节作用,及施用外源调节剂期间麻疯树体内生理物质如何发生变化,目前尚未见相关报导。该试验运用多

## 参考文献

- [1] 毛忠贵.生物工程下游技术[M].北京:中国轻工业出版社,2009(7):110-112.
- [2] 李香兰,王仲英.马齿苋不同部位总黄酮含量的测定[J].光谱实验室,2004,21(5):898-900.
- [3] 李秋红,罗莉萍,叶文峰.超临界 CO<sub>2</sub>萃取杜仲叶总黄酮的研究[J].食品科学,2006,27(12):553-555.
- [4] 王正芸.超临界 CO<sub>2</sub>萃取芦笋中总黄酮的工艺研究[J].食品研究与

开发,2007,28(10):42-46.

- [5] 章爱华,邓斌,蒋刚彪,等.马齿苋黄酮提取液抗氧化活性的初步研究[J].食品科技,2008(8):140-143.
- [6] 黄春红,殷武平,郝小花.野生马齿苋草粉总黄酮的提取及含量测定[J].湖北农业科学,2011,50(7):1462-1464.
- [7] 雷红伟,陆付耳,徐丽君,等.紫外分光光度法测定马齿苋总黄酮的含量[J].中西医结合研究,2011,2(3):126-128.

## Study on Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction of Flavonoids from *Portulaca oleracea* L.

ZHAI Shuo-li

(Department of Biology, Hengshui University, Hengshui, Hebei 053000)

**Abstract:** By single factor and orthogonal experiment, the supercritical CO<sub>2</sub> technology was used to extract flavonoids from *Portulaca oleracea* L. The effects of pressure, temperature, time and dosage of chemical preparation on extractabilities of flavone were studied. The results showed that the best craft conditions were: extraction tressure 30 MPa, extraction temperature 45°C, extraction time 2.0 h, dosage of chemical preparation 4.0 mL/g, and the extraction rate was 8.55%. The successive order of different effect factors was extraction pressure > dosage of chemical preparation > extraction temperature > extraction time.

**Key words:** supercritical CO<sub>2</sub>; *Portulaca oleracea* L.; flavonids