

# 莲子心总黄酮的超声波萃取工艺研究

黄中梅, 何自强, 赵婉, 黄晓琴

(武汉生物工程学院 化学与环境工程系, 湖北 武汉 430415)

**摘要:**以莲子心为试材,乙醇溶液为提取剂,采用超声波萃取法,进行单因素试验和 $L_9(3^4)$ 正交实验,研究乙醇浓度、提取时间、料液比和提取温度对总黄酮提取率的影响。结果表明:影响莲子心中总黄酮提取率的主要因素是乙醇浓度,其次依次为提取温度、料液比、超声波萃取时间;提取的最佳条件为:乙醇浓度60%,提取温度70℃,料液比1:24 g/mL,超声波萃取时间30 min,该条件下得到的总黄酮的提取率为10.86 mg/g。

**关键词:**总黄酮;莲子心;超声波萃取

**中图分类号:**R 284.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)04-0133-04

莲子是睡莲科水生植物莲的种子,莲子心是莲子中的胚芽。莲子自古以来是老少皆宜的滋补佳品,莲子心作为其副产品主要应用于中药材,味苦,具有清热、固精、安神、强心之功效<sup>[1]</sup>。莲子系列产品的市场开发日渐成熟,需求量日益增长<sup>[2-3]</sup>,莲子心因此来源丰富。现代药理研究表明莲子心含有多种生物碱<sup>[4-6]</sup>、黄酮类物质<sup>[7-10]</sup>、水溶性多糖和微量元素<sup>[11]</sup>等有药理作用和生理效应的有益成分。天然来源的生物黄酮分子量小,能被人体迅速吸收,能通过血脑屏障,渗入脂肪组织,进而体现出诸多功能,如消除疲劳、保护血管、防动脉硬化、疏通微循环、抗脂肪氧化等;超声波提取法节省溶剂、能耗低、效率高、适应性广,是中草药有效成分提取较成熟的方法之一<sup>[12-14]</sup>。

现选用乙醇为萃取剂,采用超声波法辅助,利用 $AlCl_3$ 溶液为显色剂,芸香叶苷为对照品,通过紫外可见分光光度计测定提取物总黄酮含量。分析了提取温度、料液比、乙醇浓度、超声波提取时间等4个因素对总黄酮提取率的影响,并进行正交实验和对得出的最佳方案进行验证,以期确定从莲子心中提取总黄酮的最佳条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

将市购的莲子心(当年产新鲜和头年产陈年)在电热鼓风箱中70℃烘干,4 h后用碾磨磨碎,置于干燥器中密封以备用,单因素试验和正交实验以新鲜莲子心为

原料。

无水乙醇、六水合三氯化铝、石油醚等试剂均为分析纯,芸香叶苷(芦丁)购自成都思科华生物技术有限公司。

KQ-3200DV型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);722型紫外分光光度计(上海精密科技仪器有限公司);SHIMADZU AU120电子分析天平(日本岛津仪器设备公司);RE-52AAA旋转蒸发仪(上海嘉鹏科技有限公司)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 单因素试验** 莲子心干粉样品均准确称取质量为7.5000 g。乙醇浓度对黄酮提取率的影响:5份莲子心样品中分别加入浓度为用30%、40%、50%、60%、70%的乙醇120 mL,于60℃超声提取30 min,过滤,滤渣按上述条件再重复提取1次,合并滤液,计算总黄酮提取率;料液比对总黄酮提取率的影响:取莲子心干粉6份,分别加入浓度为60%的乙醇90、120、150、180、210、240 mL,于60℃超声提取30 min,此时料液比各为1:12、1:16、1:20、1:24、1:28、1:32 g/mL,过滤后测定计算总黄酮提取率;超声波萃取时间对取率的影响:取莲子心干粉5份,分别用60%乙醇180 mL在60℃下超声水浴各20、30、40、50、60 min,过滤,滤渣按上述条件再重复提取1次,合并滤液,测定计算总黄酮提取率;温度对总黄酮提取率的影响:莲子心干粉5份,各加入60%乙醇180 mL,分别在温度为30、40、50、60、70℃下超声水浴30 min,过滤,过滤后滤渣按上述条件再重复提取1次,合并滤液,测定计算总黄酮提取率。

**1.2.2 正交实验** 在单因素试验的基础上,采用 $L_9(3^4)$ 进行正交实验设计(表1),以总黄酮的提取率为考查指标,优化最佳的提取条件。

**第一作者简介:**黄中梅(1976-),女,湖北武汉人,硕士,讲师,现主要从事有机化学教学和植物资源利用等研究工作。E-mail:hzhmei@qq.com。

**基金项目:**武汉市教育局资助项目(2008K014)。

**收稿日期:**2014-11-18

表 1 正交实验因素水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平 Level	A 乙醇浓度 Ethanol density /%	B 料液比 Solid-to-liquid ratio /(g·mL <sup>-1</sup> )	C 超声时间 Extraction time /min	D 提取温度 Extraction temperature/℃
1	40	1:16	30	50
2	50	1:20	35	60
3	60	1:24	40	70

1.2.3 标准曲线的绘制 精密称取芸香叶苷对照品 200 mg,用 40%乙醇 70.0 mL 在水浴中微热溶解,自然冷却后再用 40%的乙醇定容于 100 mL 容量瓶,即得 2 mg/mL 的标准溶液。取芸香叶苷标准溶液 5 mL 于 25 mL 的容量瓶中,加入 0.1 mol/L 的三氯化铝溶液 1 mL 后加入 40%的乙醇定容至刻度,摇匀后静置 10 min。取其溶液于石英比色皿中,紫外可见分光光度计在 200~600 nm 之间进行扫描,扫描结果取平均值,确定最大吸收波长  $\lambda$  为 460 nm。精密量取标准溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 分别置于 25 mL 容量瓶,加入 0.1 mol/L 的三氯化铝 1.0 mL,摇匀,静置 6 min,再加入 40%乙醇定容至刻度。摇匀,静置 30 min,于波长 460 nm 处测定吸光度 A,得到芦丁的质量浓度 b(mg/mL)与吸光度 A 之间的线性回归方程: $A=0.662b+0.0074$ , $R^2=0.9994$ 。

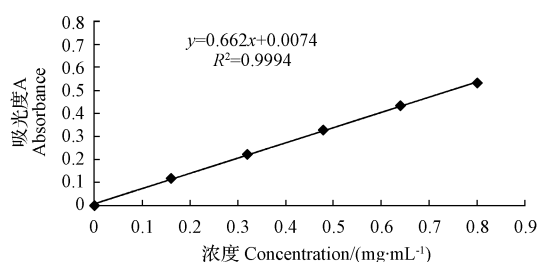


图 1 芦丁标准曲线

Fig. 1 Standard curve of rutin

1.2.4 莲子心总黄酮的测定 提取液用石油醚萃取至石油醚层无色后,减压蒸馏浓缩至约 60 mL,用 95%乙醇准确定容为 100.00 mL。取样 10.00 mL 加入 0.1 mol/L 的三氯化铝 1.0 mL,摇匀,静置 10 min,于波长 460 nm 处测定吸光度 A,根据回归方程计算提取液中总黄酮含量  $m(m=(A-0.0074) \times 100.00/0.662)$ ,然后按如下公式计算莲子心总黄酮的得率: $E[\text{提取率}/(\text{mg/g})]=m$  (提出液中总黄酮质量/mg)/M (莲子心干粉重量/g)。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

2.1.1 乙醇浓度对黄酮提取率的影响 由图 2 可知,黄酮类的提取率随乙醇的浓度增大而增大,但当乙醇的浓度增大到 70%时,叶绿素被萃取的含量也增大,使后期去除叶绿素所用石油醚的量增大,提取操作繁琐。乙醇的浓度太小则一些水溶性成分如多糖类也被萃取出来,

提取液粘稠,抽滤困难并且黄酮类含量偏低。故选用 40%、50%、60%乙醇作为正交实验的考察水平。

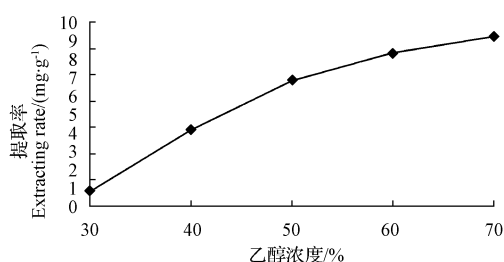


图 2 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effect of ethanol concentration on the extracting rate of total flavones

2.1.2 料液比对总黄酮提取率的影响 由图 3 可知,料液比在 1:12~1:24 g/mL 范围内,总黄酮的提取率随着料液比的减小而增加。当料液比在 1:12 g/mL 时,乙醇溶液太少,提取液与物料的接触水平低,不利于黄酮的萃取。当料液比在 1:24 g/mL 以后,提取液用量和浓缩所需功耗加大,总黄酮提取率也降低。故选 1:16、1:20、1:24 g/mL 作为正交实验的料液比的考察水平。

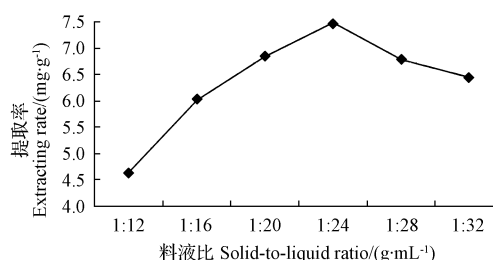


图 3 料液比对总黄酮提取率的影响

Fig. 3 Effect of solid-to-liquid ratio on the extracting rate of total flavones

2.1.3 超声波萃取时间对提取率的影响 随着超声萃取时间增加,黄酮类的提取率增加,30 min 以后提取率增幅较小,40 min 以后提取率反而下降,可能是因为长时间超声处理对黄酮的结构和生物活性产生了破坏作用,且乙醇挥发量增加,从而使总黄酮的提取率下降。

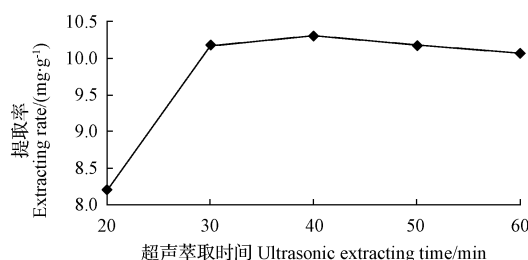


图 4 超声波萃取时间对总黄酮提取率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasonic extraction time on the extracting rate of total flavones

故选 30、35、40 min 作为正交实验的提取时间考察水平。

2.1.4 温度对总黄酮提取率的影响 温度越高黄酮类的提取率越高,实际操作中,温度在 70℃时,乙醇的挥发量也会增大,温度再增加,溶液接近沸腾,故选择提取温度为 50、60、70℃进行正交实验。

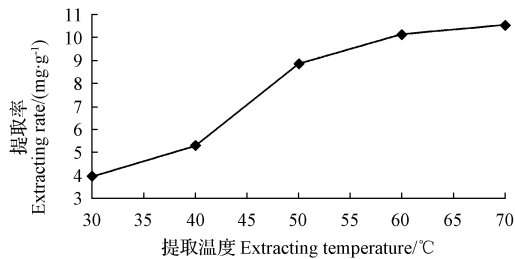


图5 温度对总黄酮提取率的影响

Fig. 5 Effect of temperature on the extracting rate of total flavones

## 2.2 正交实验结果

从表 2 可以看出,各因素对总黄酮提取率影响的主要顺序依次为乙醇浓度、温度、料液比、超声时间,最优组合是  $A_3B_3C_1D_3$ ,即乙醇浓度为 60%、提取温度为 70℃、料液比为 1:24 g/mL、超声波萃取时间 30 min。

表 2 正交实验设计及结果

Table 2 Result and analysis of  $L_9(3^4)$  orthogonal test

序号 serial number	因素水平 Factors and levels				提取率 Extracting rate of total flavones /(mg·g <sup>-1</sup> )
	A 乙醇浓度 Ethanol density	B 料液比 Solid-to-liquid ratio	C 超声时间 Extraction time	D 提取温度 Extraction temperature	
1	1	1	1	1	5.71
2	1	2	2	2	6.96
3	1	3	3	3	8.63
4	2	1	2	3	8.46
5	2	2	3	1	6.94
6	2	3	1	2	8.67
7	3	1	3	2	8.93
8	3	2	1	3	10.52
9	3	3	2	1	9.25
$k_1$	21.30	23.10	24.90	21.90	
$k_2$	24.07	24.42	24.67	24.56	
$k_3$	28.70	26.55	24.50	27.61	
R	7.40	3.45	0.40	5.71	

## 2.3 验证试验

根据筛选的最佳提取条件  $A_3B_3C_1D_3$ ,对新陈 2 批莲子心分别平行提取 3 次,计算总黄酮提取率,由表 3 可知,最佳提取条件下莲子心总黄酮的提取率均大于正交设计中的提取率,试验结果的重现性较好。

## 2.4 新鲜莲子对莲子心总黄酮提取率的影响

表 3 表明,在最佳提取条件下总黄酮提取率新鲜莲子心的高于陈年莲子心,与夏稼红等<sup>[9]</sup>的研究结论相符。二者的差值不大,且最佳提取条件下陈年莲子心总黄酮的提取率高于正交设计中新鲜莲子的总黄酮提取率,表明储存时间对总黄酮含量影响较小,提取条件对总黄酮提取率影响较大。

表 3 最佳工艺的验证

Table 3 Verification of optimum technology

项目 Project	新鲜莲子心 Fresh lotus plumule			陈年莲子心 Old lotus plumule		
	1	2	3	1	2	3
总黄酮提取率 Extracting rate of total flavones /(mg·g <sup>-1</sup> )	10.87	10.76	10.94	10.53	10.41	10.66
平均提取率 Average extracting rate of total flavones /(mg·g <sup>-1</sup> )	10.86			10.54		
RSD/ %	2.21			1.39		

## 3 结论

采用超声波乙醇提取法提取莲子心总黄酮,影响提取率的主要因素是乙醇浓度,其它依次是提取温度、料液比和提取时间。最佳提取工艺为:乙醇浓度 60%、提取温度 70℃、料液比 1:24 g/mL、超声波萃取时间 30 min,在该条件下莲子心总黄酮提取率为 10.86 mg/g。莲子心的存放年份对总黄酮含量影响较小,平行试验结果表明超声波乙醇提取法对同产地新陈莲子心总黄酮的提取重现性较好。

该试验以莲子副产物莲子心为研究对象,以黄酮为目标化合物,系统研究了莲子心总黄酮的提取工艺,为莲子产业的发展和提高莲子产品的附加值提供了参考依据。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005:193.
- [2] 冯国民,郑彬,余中伟. 武汉市江夏区莲子产业现状及发展对策[J]. 长江蔬菜,2010(14):128-129.
- [3] 占林涛,杜成杰,袁玉珍. 莲子产业应加强快消品市场开发[N]. 湖北日报,2011-08-24.
- [4] 季爱民,车瓯,徐峰,等. 莲子心超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物化学成分分析[J]. 中国药业,2006,15(2):31-32.
- [5] 曾建伟,熊学敏,吴警忠. 正交实验法优选莲子心生物碱的提取工艺[J]. 时珍国医国药,2007,18(7):1615-1616.
- [6] 张敏,郑铁松,陶锦鸿,等. 莲子心水提液体外抗氧化活性的研究[J]. 食品科学,2008,29(8):83-86.
- [7] 蔡定建,柳茶花,钟渐鸣,等. 莲子心黄酮类物质的提取和测定[J]. 中国酿造,2010(1):132-135.
- [8] 杨明,黄剑波,胡文娥. 微波、超声波提取莲子心黄酮方法比较[J]. 食品研究与开发,2008,29(4):70-73.
- [9] 夏稼红,陶冉,范乃兵,等. 紫外分光光度法测定莲子心总黄酮含量[J]. 南京中医药大学学报,2008,24(2):116-118.
- [10] 曾建伟,朱晓琴,叶锦霞,等. HPLC 法测定莲子心中芦丁的含量[J]. 今日药学,2010,20(7):7-8,15.
- [11] 俞远志,吴亚林,潘远江. 莲子心多糖的提取、分离和抗氧化活性研究[J]. 浙江大学学报,2008,35(1):48-51.
- [12] 曾建伟,吴警忠,张书娟. 莲子心药学研究进展[J]. 福建中医学院学报,2005,10(15):40-42.
- [13] 王鑫. 黄酮类化合物提取方法的应用[J]. 天津药学,2007,19(5):61-66.
- [14] 邱爱军,王春燕,汪河滨. 大果沙枣果肉中总黄酮的提取工艺研究[J]. 中国酿造,2012,31(9):92-95.

DOI:10.11937/bfyy.201504032

# 酶法提取刺玫果总黄酮工艺研究

王晓林, 钟方丽, 薛健飞, 刘方方

(吉林化工学院 化学与制药工程学院, 吉林 吉林 132022)

**摘 要:**以刺玫果为试材,采用酶法辅助提取刺玫果总黄酮,研究各因素对刺玫果总黄酮提取率的影响。结果表明:纤维素酶辅助提取刺玫果总黄酮的最佳工艺条件为提取溶剂为 50%乙醇、温度控制在 50℃、料液比 1:15 g/mL、纤维素酶加入量为 40 mg/g、控制提取液于 pH 5.5 条件下,酶解提取 2 次,每次 140 min,在最佳条件下进行 3 次验证试验,其总黄酮提取率平均为 95.94 mg/g。

**关键词:**刺玫果;总黄酮;酶解;提取

**中图分类号:**R 284.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)04-0136-04

刺玫果属蔷薇科蔷薇属植物山刺玫(*Rosa davurica* Pall.)的成熟果实,其果实酸甜可口、营养丰富,具有持久、浓郁的清新、香甜气息,广泛分布于我国的东北及内蒙、山西等地区,果实中富含黄酮类、皂苷类、维生素 C、氨基酸等<sup>[1-3]</sup>,具有健脑益智、抗衰老、抗疲劳、除血栓、降血压、抗辐射等作用<sup>[4-8]</sup>。该课题组对山刺玫进行了详细研究<sup>[9-17]</sup>。黄酮类化合物是一类广泛存在于自然界的

天然有机化合物,具有众多生理活性<sup>[18]</sup>。现对酶解法提取刺玫果总黄酮的工艺进行了初步研究,以期对刺玫果的进一步开发提供基本依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试材料 采自吉林市龙潭区玉龙山并经吉林化工学院药学系薛健飞博士鉴定为蔷薇科蔷薇属植物山刺玫(*Rosa davurica* Pall.)的成熟果实。

1.1.2 试剂 芦丁,中国食品药品检定研究院(供含量测定用);纤维素酶,湖南红鹰祥生物股份有限公司;木瓜蛋白酶,江苏锐阳生物科技有限公司;果胶酶,上海金穗生物科技有限公司;硝酸铝、氢氧化钠、亚硝酸钠、无水乙醇均为分析纯,天津市大茂化学试剂厂;水为重蒸馏水。

**第一作者简介:**王晓林(1969-),男,山东五莲人,硕士,副教授,现主要从事天然产物有效成分的提取及纯化工艺等研究工作。E-mail:wangxiaolin69@eyou.com。

**责任作者:**钟方丽(1970-),女,山东安丘人,博士,教授,硕士生导师,现主要从事天然产物化学成分的分离与生物活性等研究工作。E-mail:fanglizhong@sina.com。

**基金项目:**吉林省科技厅计划资助项目(20110948)。

**收稿日期:**2014-11-11

## Study on Ultrasonic Extraction Process of Total Flavones from Lotus Plumule

HUANG Zhong-mei, HE Zi-qiang, ZHAO Wan, HUANG Xiao-qin

(Department of Chemical and Environmental Engineering, Wuhan Bioengineering Institute, Wuhan, Hubei 430415)

**Abstract:** Taking lotus plumule as test material and ethanol as extraction agent, using means of ultrasonic wave treatment. Effects of extracting temperature, ratio of the raw material and solvent, ultrasonic extracting time, and ethanol concentration on the rate of lotus plumule total flavonoids extraction were studied through the single factor control method and  $L_9(3^4)$  orthogonal design, with the extractive yield of total flavones as the index. The results showed that the order of factor affecting the extracting rate of total flavones was as followed: ethanol concentration, temperature, solid-to-liquid ratio and extraction time. Optimal extraction conditions were obtained as follows: concentration of ethanol was 60%, solid-to-liquid ratio was 1:24 g/mL, extraction temperature was 70℃ and extraction time was 30 min. The extracting rate of total flavones was 10.86 mg/g under these optimal conditions.

**Keywords:** total flavones; lotus plumule; ultrasonic extraction