

菱角壳总黄酮超声辅助提取工艺研究

李维莉, 马银海, 张亚平, 杨秋萍, 黄椿淋

(昆明学院化学科学与技术系, 云南 昆明 650031)

摘 要: 目的: 确定菱角壳中总黄酮的优化超声回流提取工艺条件。方法: 采用正交试验法考察溶剂用量、溶剂浓度、提取次数、提取时间对总黄酮提取率的影响, 用标准曲线法测定总黄酮含量。结果: 在超声提取所考察的因素中, 采用 50% 的乙醇、取液料比 10:1(V/m), 超声提取 2 次、每次提取 0.5h, 在此条件下黄酮提取可达 0.81%。结论: 该方法具有操作简单、提取时间短、提取率高等优点。

关键词: 菱角壳; 总黄酮; 超声辅助提取

Ultrasound-assisted Extraction of Total Flavonoids from Water Chestnut Hull

LI Wei-li, MA Yin-hai, ZHANG Ya-ping, YANG Qiu-ping, HUANG Chun-lin

(Department of Chemical Science and Technology, Kunming University, Kunming 650031, China)

Abstract: Ultrasonic technique was employed to extract total flavonoids from water chestnut hull with ethanol. Effects of four crucial factors including ethanol concentration, liquid/material ratio (V/m), extraction duration and repeated extraction times on extraction yield of total flavonoids were investigated by one-factor-at-a-time method. Subsequently, all these factors were optimized using orthogonal array design. The optimal parameters for extracting total flavonoids were as follows: ethanol concentration 50% and liquid/material ratio 10:1 for an extraction duration of 0.5 h repeated twice, and the yield of total flavonoids was up to 0.81% under these optimized conditions. The ultrasonic-assisted extraction for total flavonoids in water chestnut hull is a time- and cost-saving and highly efficient method.

Key words: water chestnut hull; total flavonoids; ultrasonic-assisted extraction

中图分类号: R151.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)14-0140-03

菱角为菱科菱属(*Trapa bispinosa*)植物, 又名龙角和水栗, 为一年生水生草本植物, 在中国已有 3000 多年的栽培历史, 原产于中国南方, 中国每年菱的种植面积在 4 万平方千米以上, 年产 24 万吨左右。菱壳可治“腹泻、脱肛、痔疮、黄水症、天泡疮”^[1], 用四角菱的外壳晒干, 研成细末, 每次服 9g, 口服 3 次, 服时加蜜一汤匙, 可治疗胃癌^[2]。但大量的菱角壳并没有得到有效的利用, 菱角壳中含有黄酮、色素等多种化合物, 且材料来源广泛。

超声波技术强化提取过程可有效提高提取率, 缩短提取时间, 节约成本, 甚至还可提高产品质量和产量。近年来, 超声波技术应用于提取植物中的生物碱、苷类、生物活性物质、动物组织浆的毒质等研究已有报道^[3-6]。

本实验以市售新鲜菱角的晒干壳为原料, 研究超声辅助回流提取菱角壳中总黄酮的优化工艺, 为综合开发利用菱角资源提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

市售新鲜菱角的晒干壳。

芦丁标准品 中国药品生物制品检定所; 乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠均为分析纯。

1.2 仪器与设备

BUG25-06 超声仪; 电子天平; UV-9100 紫外分光光度仪; EYELA SB-2000 旋转蒸发仪。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液制备及标准曲线绘制

准确称取减压干燥至恒重的芦丁标准品 20.0mg, 置于 100mL 容量瓶中, 加少量蒸馏水, 置于水浴上微热使溶解, 放冷, 加蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 即得 (每 1mL 溶液中含芦丁 0.200mg)。准确吸取不同体积的芦丁标准品溶液分别置于 25mL 容量瓶中($n=6$), 分别加质量分数 5% 的亚硝酸溶液 1mL, 摇匀, 放置 6min, 加

收稿日期: 2009-04-14

作者简介: 李维莉(1974—), 女, 副教授, 硕士, 主要从事天然产物研究与开发。E-mail: lierkm@163.com

质量分数 10% 的硝酸铝溶液 1mL, 摇匀, 放置 6min 后, 加质量分数 4% 的氢氧化钠溶液 10mL, 最后用蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 放置 15min。在 512nm 波长处测定吸光度, 以吸光度(A)为纵坐标、浓度(C)为横标绘制标准曲线, 得回归方程 $C=0.091A-0.0006$, 线性关系良好 ($r=0.9996$)。

1.3.2 样品溶液的制备

精密称取菱角壳约 1.000g ($n=6$), 超声波辅助加热 (80℃) 乙醇回流提取, 回收乙醇, 移至 100mL 容量瓶中, 加入 5% 的亚硝酸溶液 4mL, 摇匀, 放置 6min, 再加入 10% 的硝酸铝溶液 4mL, 摇匀, 放置 6min, 再加入 4% 的氢氧化钠溶液 40mL, 最后用水稀释至刻度, 摇匀, 放置 15min, 得样品溶液, 测定吸光度。代入标准曲线方程计算, 得出样品总黄酮浓度。

$$\text{总黄酮提取率}(\%) = \frac{C \times 100}{W \times 10^3}$$

式中: W 为菱角粉末的质量, g; C 菱角总黄酮的浓度, mg/mL。

1.3.3 菱角壳黄酮提取工艺单因素试验

分别研究提取溶剂浓度、溶剂用量、提取时间、提取次数等因素对菱角壳总黄酮提取率的影响。

1.3.3.1 乙醇浓度对提取率的影响

分别用 40%、50%、60%、70%、80%、90% 的乙醇提取, 乙醇用量为样品质量的 10 倍, 加热回流 (80℃) 超声波提取 1h, 回收乙醇, 移至 100mL 容量瓶, 按 1.3.2 节方法定容显色后在 512nm 波长处测定吸光度。

1.3.3.2 乙醇用量对提取率的影响

分别用浓度为 60% 的乙醇, 以液料比为 4:1、6:1、8:1、10:1、12:1, 加热 (80℃) 超声波回流提取 1h 回收乙醇, 移至 100mL 容量瓶中, 按 1.3.2 节方法定容显色后在 512nm 波长处测定吸光度。

1.3.3.3 提取时间对提取率的影响

用质量分数 60% 的乙醇, 以液料比为 10:1, 分别加热回流 (80℃) 超声波提取 0.25、0.5、0.8、1h, 回收乙醇, 移至 100mL 容量瓶中, 按 1.3.2 节方法定容显色后在 512nm 波长处测定吸光度。

1.3.3.4 提取次数对提取率的影响

用质量分数为 60% 的乙醇 10 倍量, 提取 1h, 分别加热 (80℃) 超声波回流提取 1、2、3 次, 回收乙醇, 移至 100mL 容量瓶中, 按 1.3.2 节方法定容显色后在 512nm 波长处测定吸光度。

1.3.4 菱角壳总黄酮提取工艺优化

在单因素试验的基础上, 采用正交试验方法, 优

化菱角壳总黄酮提取工艺。

以菱角壳中总黄酮提取率为考察指标, 选择乙醇浓度、加醇量、提取时间和提取次数作为考察因素, 按四因素三水平进行正交试验设计 $L_9(3^4)$, 见表 1, 在此条件下对菱角壳中的总黄酮进行提取, 用亚硝酸钠-硝酸铝比色法测定其吸光度, 参照芦丁标准曲线计算总黄酮提取率, 确定提取菱角壳总黄酮的最佳工艺。

表 1 正交试验因素水平表
Table 1 Factors and levels in orthogonal array design

水平	因素			
	A 提取次数	B 乙醇质量分数(%)	C 液料比(V/m)	D 提取时间(h)
1	1	50	6:1	0.5
2	2	60	8:1	0.8
3	3	70	10:1	1.0

1.3.5 回收率实验结果

称取菱角壳样品约 1g, 按提取最佳工艺优化组合条件提取菱角壳总黄酮, 回收乙醇, 取浓缩液 2mL 于 25mL 容量瓶中, 定容显色后在 512nm 波长处测定吸光度, 计算样品中总黄酮的含量 ($n=6$)。

取浓缩液 2mL 于 25mL 容量瓶中, 加入芦丁标准品溶液 5mL, 定容显色后在 512nm 波长处测定吸光度, 计算加标后总黄酮的含量 ($n=6$), 计算回收率。

2 结果与分析

2.1 菱角壳总黄酮提取工艺单因素试验

2.1.1 乙醇浓度对提取率的影响

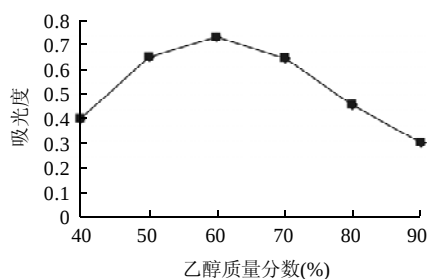


图 1 乙醇质量分数对提取率的影响

Fig.1 Effects of ethanol concentration on extraction efficiency

从图 1 可以看出, 乙醇质量分数为 60% 时, 菱角壳总黄酮有较高的提取率。

2.1.2 乙醇用量对提取率的影响

从图 2 中可以看出, 随着使用溶剂乙醇倍量的增加, 菱角壳总黄酮的提取率也增加, 考虑到经济因素, 采用液料比 6:1、8:1、10:1 进行优化试验。

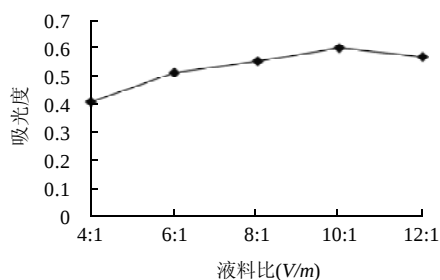


图2 乙醇用量对提取率的影响

Fig.2 Effects of liquid/material ratio on extraction efficiency

2.1.3 提取时间对提取率的影响

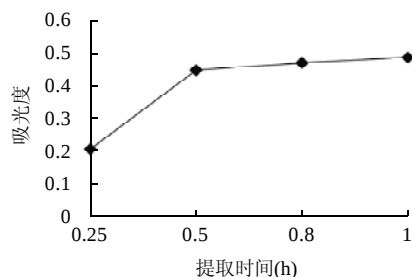


图3 提取时间对提取率的影响

Fig.3 Effects of duration on extraction efficiency

从图3可以看出,提取时间0.5h后,菱角壳总黄酮的提取率增加不大,所以优化时间采用1h以内。

2.1.4 提取次数对提取率的影响

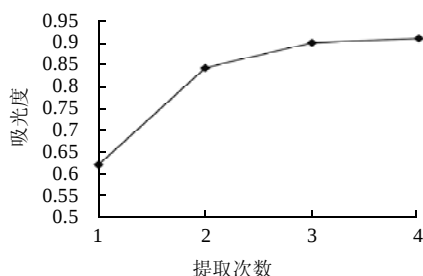


图4 提取次数对提取率的影响

Fig.4 Effects of repeated times on extraction efficiency

从图4可以看出,提取3次以后菱角壳总黄酮提取率基本没有变化。

2.2 菱角壳总黄酮提取工艺优化

正交试验结果表明:提取次数对菱角壳总黄酮提取率影响最大,其次是提取时间,乙醇质量分数对提取率的影响最小,从表2可以看出,提取最佳工艺组合为A₂B₁C₃D₁,即选择提取次数2次、乙醇质量分数50%、液料比10:1、提取时间0.5h,经验证该优化工艺,提取的总黄酮提取率达到0.81%。

2.3 加标回收率实验结果

表4为用标准加入法对菱角壳总黄酮提取的回收率实验结果,回收率在98.56%~101.1%之间,表明该方法测定结果可靠。

表2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal array design arrangement and the experimental data

试验号	A	B	C	D	总黄酮提取率(%)
1	1	1	1	1	0.30
2	1	2	2	2	0.16
3	1	3	3	3	0.40
4	2	1	2	3	0.74
5	2	2	3	1	0.77
6	2	3	1	2	0.28
7	3	1	3	2	0.43
8	3	2	1	3	0.40
9	3	3	2	1	0.68
K ₁	0.86	1.47	0.98	1.75	
K ₂	1.79	1.33	1.58	0.87	
K ₃	1.51	1.36	1.60	1.54	
R	0.93	0.14	0.62	0.88	

表3 正交试验方差分析结果

Table 3 Analysis of variance for the yield of total flavonoids with various extraction conditions

来源	离差平方和	自由度	均方	F值	p值
A	0.1518	2	0.0759	41.8957	0.02331
B	0.0036	2	0.0018	1.0000	0.50000
C	0.0828	2	0.0414	22.8466	0.04193
D	0.1408	2	0.0704	38.8773	0.02508
误差	0.0036	2	0.0018		
合计	0.3790	8			

表4 加标回收率实验结果

Table 4 Recovery of total flavonoids in spiked water chestnut hull

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.5037	1.0000	1.5080	100.4		
0.4104	1.0000	1.4216	101.1		
0.4446	1.0000	1.4542	100.9	100.2	1.11
0.4150	1.0000	1.4006	98.56		
0.5196	1.0000	1.5098	99.02		
0.4787	1.0000	1.4898	101.1		

3 结 论

正交试验确定菱角壳中总黄酮提取最佳工艺条件为乙醇质量分数50%、液料比10:1、超声波提取2次、每次提取时间0.5h,经验证该工艺提取的总黄酮提取率达到0.81%。该提取法操作简单、省时,提取效率高,作为菱角壳总黄酮提取的新工艺,具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 李向红,邓放明,刘展.菱资源开发利用现状与趋势[J].中国食物与营养,2004(8):20-22.
- [2] 止敬.菱角:医药之果[J].家庭中医药,1999(9):54.
- [3] 孙智敏,李发堂,殷蓉,等.黄酮类化合物提取工艺研究进展[J].河北化工,2005,28(4):7-8.
- [4] 黄锁义,阳文辉,李卫彬,等.超声波提取九里香总黄酮及其鉴别[J].时珍国医国药,2006,17(3):395-396.
- [5] 谢明杰,宋明,邹翠霞,等.超声波提取大豆异黄酮[J].大豆科学,2004,23(1):75-77.
- [6] 殷红,胡永洲,杨鑫骥,等.杭白菊总黄酮的超声提取工艺研究[J].中国中药杂志,2004,29(5):424-425.