

槐豆中天然芦丁的提取工艺研究

冯爱青, 胡秋雯*, 崔娟 (1. 洛阳师范学院生命科学系, 河南洛阳 471022; 2. 洛阳师范学院化学化工学院, 河南洛阳 471022)

摘要 [目的] 研究槐豆中天然芦丁的提取工艺。[方法] 以豫西山区的槐豆为原料, 研究热水提冷析出法提取芦丁的最佳工艺条件, 并对产品进行质量鉴定。[结果] 槐豆中天然芦丁的最佳提取工艺条件为: 在粉碎槐豆中加入8倍量的水, 浸提30 min, 抽滤, 再加入5倍量的水, 浸提20 min, 抽滤, 滤液静置10 h, 析出沉淀, 过滤, 干燥得到粗芦丁, 将粗芦丁用甲醇进一步浸提得到纯度高达48.0%的精制芦丁。该工艺提取率达18.0%, 高于传统的碱提酸沉法2倍。经验证提取的芦丁的性质、结构与标准品芦丁一致, 符合质量要求。[结论] 从槐豆中提取的芦丁产品有广阔的市场前景。

关键词 槐豆; 芦丁; 提取; 纯度

中图分类号 S759.82 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)15-06163-02

Study on the Extraction Technology of Natural Rutin from Locust Bean

FENG Ai-qing et al (Department of Life Science, Luoyang Normal University, Luoyang, Henan 471022)

Abstract [Objective] The purpose was to study the extraction technology of natural rutin from locust bean. [Method] With locust bean from the mountainous area in western Henan as raw material, the optimum technological condition of extracting rutin by hot water extraction and cold precipitation was studied and the quality of products was identified. [Result] The optimum technological condition of extracting natural rutin from locust bean was adding water at 8 times of material into crushed locust bean, extraction for 30 min, pumping filtration, and then adding water at 5 times of material again, extraction for 20 min, pumping filtration, setting filtrate stationary for 10 h, precipitating sediment, filtration, and then the crude rutin was obtained after drying. The refined rutin with purity up to 48.0% was obtained through further extraction of crude rutin by methanol. The extraction rate of the technology was up to 18.0% and 2 times higher than the traditional extraction by acid and precipitation by alkali. The verification showed that the property and structure of the extracted rutin accorded with standard rutin, satisfying quality requirement. [Conclusion] The rutin products extracted from locust bean had broad market prospect.

Key words Locust bean; Rutin; Extraction; Purity

槐豆是国槐树的果实, 棕红色, 有着像咖啡一样的香味, 但不含咖啡因。据本草纲目记载, 槐豆具有凉血、止血、清热泻火的功效, 对血热引起的多种疾病有很好的治疗作用。研究显示, 槐豆富含蛋白质、类黄酮、triterpenoid、皂苷、维生素B1、B2、C和氨基酸^[1], 可以调血脂、降血压、帮助减轻体重, 尤其在促进身体各系统自然清洁方面有显著效果。芦丁(Rutin) 又名芸香甙, 为维生素P属的一种, 是一种重要的黄酮类多酚生物活性物质, 其化学式为C₂₉H₃₀O₁₆^[2]。芦丁能促进细胞增生, 防止血细胞的凝集, 有抗炎、降血脂、强心等作用^[3]。芦丁存在于槐豆、芸香、荞麦等植物中, 我国芦丁生产主要以槐豆为原料采用碱提取酸沉淀法进行提取, 但因是加热提取, 常有一定的水解产物存在, 产率较低(一般约为9%~13%)^[4]。豫西地区有大面积的国槐树种植, 由于该地区多为丘陵地带, 昼夜温差大, 所产槐豆个大肉厚, 富含芦丁等活性成分, 因此, 笔者以豫西山区的槐豆为原料, 研究热水提冷析出法的最佳工艺过程提取芦丁, 以期对豫西特产的槐豆开发提供依据。

1 材料与方

1.1 仪器与试剂 723型可见分光光度计(上海分析仪器总厂)、JJ2型组织捣碎匀浆机(金坛市杰瑞尔电器有限公司)、85-2型恒温电磁搅拌器(郑州长城科工贸有限公司)、RE52A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、101-1AB型干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)。标准芦丁溶液(200 μg/g)、无水乙醇、甲醇、亚硝酸钠、硝酸、氢氧化钠均为分析纯。

1.2 提取方法^[5] 称取粉碎后的槐豆样品10 g于250 ml三

颈烧瓶中, 加入8倍水(80 ml), 回流加热30 min, 抽滤, 得浸提液A。再加入5倍水(50 ml), 回流加热20 min, 抽滤, 得浸提液B。合并A、B浸提液, 浓缩, 趁热过滤, 滤液冷至室温, 放置10 h, 析出芦丁。抽滤, 干燥, 用无水乙醇溶解、过滤, 加入适量水, 蒸馏出乙醇, 浓缩、冷却析出芦丁。干燥, 用甲醇浸提, 过滤, 加适量水、浓缩、再结晶, 析出深黄色芦丁晶体。

2 结果与分析

2.1 溶剂的选择 芦丁难溶于水(1:8000), 略溶于热水(1:200), 易溶于热甲醇(1:7)、冷甲醇(1:100)、热乙醇(1:30)、冷乙醇(1:600), 难溶于乙酸乙酯、丙酮, 不溶于苯、氯仿、乙醚等。根据芦丁的溶解性质, 试验选择水、不同浓度乙醇、纯甲醇溶液作溶剂。采用加热回流方法浸提, 提取率见表1。由表1可知, 甲醇、70%乙醇提取率较高, 但考虑生产成本和安全性, 选择水作为溶剂。

表1 各种溶剂浸提率

Table 1 Extraction rate of different solvents

| 溶剂 Solvents | 液固比 Liquid solid ratio | | 时间 min Time | | 提取率 % Extraction rate |
|----------------------|---------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------------|
| | 第1次 First time | 第2次 Second time | 第1次 First time | 第2次 Second time | |
| | 水 Water | 8:1 | 5:1 | 30 | |
| 10%乙醇 10% ethanol | 6:1 | 3:1 | 30 | 20 | 18.9 |
| 25%乙醇 25% ethanol | 6:1 | 3:1 | 30 | 20 | 19.2 |
| 40%乙醇 40% ethanol | 6:1 | 3:1 | 30 | 20 | 19.8 |
| 60%乙醇 60% ethanol | 6:1 | 3:1 | 30 | 20 | 20.3 |
| 70%乙醇 70% ethanol | 6:1 | 3:1 | 30 | 20 | 21.6 |
| 甲醇 Methanol | 6:1 | 3:1 | 30 | 20 | 22.5 |

2.2 萃取时间的选择 选择水为溶剂, 加热至沸腾回流萃取芦丁所需时间应与原料中芦丁浓度达到平衡所需时间相

基金项目 河南省自然科学基金项目(Nb.0411021600); 河南省教育厅自然科学基金项目(200510482009)。

作者简介 冯爱青(1979-), 女, 河南焦作人, 助教, 从事生物有机化学方面的研究。* 通讯作者。

收稿日期 2008-03-13

等,在实际操作中达到80%~85%理论提取率即停止萃取。在提取芦丁时,试验选择的第一次浸提时间分别为50、40、30、20,其提取率分别为20.3%、19.5%、18.0%、16.5%,第二次均采用20 min浸提。综合考虑提取率和纯度,选择第一次浸提时间为30 min,第二次提取时间为20 min。

2.3 液固比 一般说来,液固比越大,槐豆中芦丁提取率越高,但所得萃取液浓度小,会增加蒸发的负荷和蒸气消耗量。固定萃取和搅拌萃取的液固比为4:1~5:1。试验第一次萃取的液固比选择为8:1,第二次萃取的液固比选择为5:1,提取效果较好。

2.4 结构鉴定^[6-7] 盐酸镁粉显色反应:将试样溶于1 ml甲醇或乙醇中,加少许镁粉振摇再加浓盐酸3滴,1~2 min内即显橙红色。Molish反应:取试样晶体1 ng置于一小试管中,加入乙醇0.5 ml,萘酚5 ng,振摇使之溶解。倾斜试管,沿管壁徐徐注入浓H₂SO₄约1 ml,静止。结果界面呈现出黄酮甙类晶体的紫红色。NaBH₄反应:在试管中加入1 ml含有试样晶体的乙醇液,再加入1 ml 2%NaBH₄的甲醇液。1 min后,加浓H₂SO₄数滴,结果没有显色,表明晶体不属二氢黄酮类。锆枸橼酸反应:取试样晶体约0.5 ng,加甲醇2 ml,使之溶解。再加入2%的ZrOCl₂甲醇溶液4滴,然后加2%枸橼酸甲醇溶液4滴。结果是先显亮黄色,后变浅,最后褪色。说明晶体为5-羟基黄酮,而非3-羟基黄酮。H₃BO₃反应:取试样晶体约0.5 ng,溶于2 ml甲醇中,加入无水硼酸约2 ng。其颜色呈绿黄色,略带荧光。说明晶体具有5-羟基4-酮基的结构。氨性SrCl₂反应:取试样晶体0.5 ng,加甲醇2 ml,使之溶解。加入0.01 ml/L的SrCl₂甲醇溶液3滴,再加氨蒸气饱和的甲醇溶液3滴,产生绿色沉淀。说明晶体具有邻二酚的结构。

2.5 含量分析^[8] 取0.1、2、3、4、5、6 ml标准液分别置于25 ml容量瓶中,依次加入5%亚硝酸钠溶液1 ml,摇匀,放置6 min,加10%硝酸溶液1 ml,摇匀,放置6 min,加4%氢氧化钠10 ml。用水稀释至刻度,摇匀,放置15 min。以试剂作空白,在500 nm处测定吸光度,绘制标准曲线。

(上接第6162页)

二次萃取后,有丝状白色絮状沉淀产生,干燥后仍为白色。这与张彦民等^[12]的研究结果有所不同,比他们的节约成本,且产品质量也比他们的好。但是其最佳条件还需进一步摸索和研究,另外,要得到高纯度的褐藻糖胶纯品,还需分级纯化,用CTAB沉淀法和乙醇沉淀法还达不到所要求。

3 结论

褐藻糖胶得率随着时间的延长,pH值升高,V/W(最佳用水体积/干海带质量)增大有着先升高后下降的规律;而随着温度的上升,褐藻糖胶得率则不断升高。CTAB沉淀法所得多糖得率和纯度均高于乙醇沉淀法。即CTAB沉淀法提取褐藻糖胶优于传统的乙醇沉淀法。

参考文献

- [1] 纪明侯. 海藻化学[M]. 北京: 科学出版社,1997:318.
- [2] 许凤清,吴皓. 海带多糖的研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2005,6(12):106-108.
- [3] TAIANA N,ZVYAGINSISEVA. A new procedure for the separation of water-

准确称取样品50 ng,用甲醇定容于25 ml容量瓶中,吸取10 ml再定容100 ml,取3.0 ml置于25 ml容量瓶中,其他步骤同标准曲线操作。经测定芦丁样品的纯度含量见表2。

表2 芦丁的含量测定

Table 2 Determination of rutin content

| 溶剂 | 初提 | 提纯后 |
|-------------------|--------------------|------------------|
| Solvents | Initial extraction | After extraction |
| 水 Water | 35.4 | 48.0 |
| 10%乙醇 10% ethanol | 36.7 | 48.1 |
| 25%乙醇 25% ethanol | 36.9 | 48.0 |
| 40%乙醇 40% ethanol | 41.3 | 48.2 |
| 60%乙醇 60% ethanol | 44.3 | 48.0 |
| 70%乙醇 70% ethanol | 45.6 | 47.8 |
| 甲醇 Methanol | 46.7 | 48.0 |

3 结论

用热水提冷析出法从槐豆中提取芦丁的最佳工艺过程为原料清洗烘干粉碎—第一次浸提—甩干—第二次浸提—甩干—浸提液浓缩—过滤—结晶—提纯—再结晶。该工艺从槐豆中提取的芦丁经试验证明其性质、结构与标准品芦丁相一致,符合质量要求。国槐在国内北方广泛种植,槐豆资源丰富,因此,从槐豆中提取的芦丁产品前景广阔。

参考文献

- [1] 第八届药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社,2005.
- [2] 戴云,董学畅,罗娅,等. 芦丁的谱学性质及其测定烟草中的铁[J]. 云南民族学院学报:自然科学版,2001,10(2):338-340.
- [3] 江苏新医学院编. 中药大辞典[M]. 上海: 上海人民出版社,1977:1596.
- [4] 胡杰,邓宇. 芦丁提取工艺的综合述[J]. 中国食品添加剂,2006(5):94-99.
- [5] 张宏志,管正学,王建立. 荞麦中天然芦丁的提取方法研究[J]. 内蒙古农牧学院学报,1997,18(2):26-29.
- [6] 姚新生. 天然药物化学[M]. 2版,北京: 人民卫生出版社,1997:191-236.
- [7] 曾云鹤,张华山,陈震华. 现代化学试剂手册[M]. 北京: 化学工业出版社,1989:785-791.
- [8] PATRIZIO R, OETI. Reversion of diabetes of increased aggr effect on rat collagen-linked fluorescence by a rimoguaridine and Rudn[J]. Diabetes, 1990, 37:796.
- [9] soluble polysaccharides from brown seaweeds[J]. Carbohydrate Research, 1999, 322:32-39.
- [4] 苏理. 海带加工废渣液的综合利用新技术[J]. 山东食品发酵,2003(1):22-25.
- [5] 尤瑜民,许时婴. 洋栖菜中褐藻糖胶的提取工艺[J]. 无锡轻工大学学报,2002,3(21):40-42.
- [6] BLACK WAP, WOODWARD FN. Manufacture of algal chemicals. IV laboratory scale isolation of fucidin from brown marine algae[J]. Sci Food agric, 1952(3):122-129.
- [7] 吴志春,欧阳藩,房艳丽,等. 非水溶性有机试剂萃取海藻多糖[J]. 高技术通讯,2000(8):19-22.
- [8] 高梦祥,叶森. 海带多糖的提取工艺研究[J]. 长江大学学报:自然科学版,2005,2(5):73-76.
- [9] 范晓,严小军,韩丽君. 海藻化学分析方法[M]. 北京: 学苑出版社,1996:16-19,37-38.
- [10] KEIKO KITAMURA, MASARU MAISUO, TSUNEO YASU. Fucoidan from brown seaweed *Laminaria angustata* var. *longissima* [J]. Agric Bd Chem, 1991,55(2):615-616.
- [11] 张英慧,曲爱琴,上官英连,等. 溴代十六烷基吡法提取海带岩藻—半乳聚糖硫酸酯[J]. 中国生化药物杂志,2003(5):219-221.
- [12] 张彦民,李宝才,朱利平. 海带中硫酸酯聚糖提取研究[J]. 云南化工,2003,5(30):10.