

落叶松中二氢槲皮素提取新工艺研究

韩俊凤, 贾林艳 (牡丹江师范学院化学系, 黑龙江牡丹江 157000)

摘要 [目的]研究落叶松中二氢槲皮素的提取新工艺,为更好地开发利用东北落叶松资源提供试验依据。[方法]采用微波辅助预处理的方法改进传统水热提取法提取落叶松中的二氢槲皮素。[结果]结果显示,原料粒度为 80 目、462 W 下微波预处理 3 min、浸提温度为 90 ℃、浸提时间为 2 h、料液比为 1:16 的条件下,二氢槲皮素的平均提取率为 0.981%。与传统的水热提取法比较,微波辅助提取效率提高了 22.17%。[结论]微波辐射有利于落叶松中二氢槲皮素的提取。

关键词 二氢槲皮素;微波辅助提取;落叶松

中图分类号 S791.22 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)24-11385-03

Research on the New Extraction Technology of the Dihydro Quercetin from Larch

HAN Jun-feng et al (Department of Chemistry, Mudanjiang Normal College, Mudanjiang, Heilongjiang 157000)

Abstract [Objective] The basis of the development and utilization of larch resource was provided through the research on the new extraction process of dihydro quercetin from larch. [Method] The average extraction rate of dihydro quercetin method of microwave-assisted pre-treatment based on the improvement of the traditional hot water extraction was used for the extraction of the dihydro quercetin from larch. [Result] The results showed average extraction rate of dihydro Drynaria was 0.981% under the condition of the raw material particle size of 80 head, the pretreatment of 462 W microwave for 3 min, the extraction temperature of 90 ℃, the extraction time for 2 hours and the ratio of solution to material is of 1:16. Compared with the traditional hot water extraction method, the extraction efficiency of 22.17% was higher with the microwave-assisted method. [Conclusion] The microwave radiation was in favor of the extraction of dihydro quercetin from larch.

Key words Dihydro quercetin; Microwave-assisted extraction; Larch

二氢槲皮素又称花旗松素、紫杉素,是一种生物类黄酮。作为一种强效抗氧化剂^[1],二氢槲皮素应用广泛。

微波辅助提取是微波和传统的溶剂萃取法相结合后形成的一种新的萃取方法。它根据被照射物质的结构不同,吸收微波能力的差异实现选择性加热,具有选择性高、溶剂消耗少、有效成分提取率高等特点^[2],在天然产物有效成分提取中具有广泛的应用前景。但微波进入样品内部的深度是有限的,样品的深内层还需要通过热传导的方式进行加热^[3]。所以笔者把微波辐射作为一种辅助手段。目前,关于提取落叶松中二氢槲皮素的研究多采用热提取法^[4-5],尚未见微波辅助提取落叶松中二氢槲皮素的报道。笔者研究了落叶松中二氢槲皮素的微波辅助提取工艺,为微波技术应用到二氢槲皮素的提取提供客观的试验依据,以期更好地开发利用落叶松资源。

1 材料与方法

1.1 材料 落叶松来自黑龙江大兴安岭。仪器: P70D20TJ-D3 微波炉,广东格兰仕集团有限公司; R205B 旋转蒸发器,上海申胜生物技术有限公司; FW80 型高速万能试样粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司; FA2004 电子天平,上海天平仪器厂; HH-S 恒温水浴锅,江苏恒丰仪器厂; TGL-16 高速离心机,江苏金坛亿通电子有限公司。

1.2 提取率计算方法 二氢槲皮素的定量分析采用称重法确定。由于获得的产品量少,为提高准确率,称量时宜采用和滤纸同干同称的方法。提取率计算公式如下:

$$\text{提取率} = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100\%$$

式中, W 、 W_1 、 W_2 分别为原料重量、滤纸重量、干燥后滤纸及产品的重量。

1.3 试验方法 用少量水将一定量落叶松碎屑浸润 10 min 后进行微波处理,然后以不同料液比在水浴条件下加热搅拌提取一段时间后,过滤提取液,减压浓缩滤液。浸提液中加入聚酰胺,搅拌过滤,滤渣用乙酸乙酯重复洗涤 3 次,收集滤液,减压蒸馏至干,烧瓶壁上有淡黄色粉末,此为二氢槲皮素粗品,用热水溶解晶体,3 500 r/min 离心 10 min,于冰箱中冷冻结晶,过滤出晶体,干燥、称重。

分别考察原料粒度、微波处理时间、微波功率、浸提温度、浸提时间、料液比对二氢槲皮素提取率的影响。

2 结果与分析

2.1 原料粒度对二氢槲皮素提取率的影响 落叶松木料加入粉碎机进行粉碎后过筛,得到不同粒度的细小木屑。按“1.3”的试验方法对其进行提取,结果如图 1。

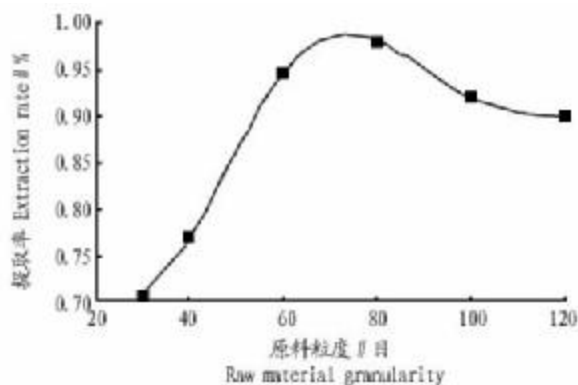


图 1 原料粒度对二氢槲皮素提取率的影响

Fig. 1 Effect of raw material granularity on extraction rate of Dihydro quercetin

由图 1 可知,原料粒度对提取率有一定影响。在一定范围内二氢槲皮素的提取率随着原料粒径的减小而逐渐增加,当原料过筛目数在 60~80 目的时候提取率较高。这是因为原料粒径越小,比表面越大,原料的分散程度越好,有利于落叶松中二氢槲皮素的溶出。但粉碎过细,样品颗粒表面积过大,吸附作用增强,反而影响扩散速度,并不利于浸出,同时

也会造成蛋白质、多糖等成分在提取时溶出过多,使提取液黏稠甚至产生胶冻现象,影响有效成分的提取和操作。

2.2 微波处理时间对二氢槲皮素提取率的影响 按“1.3”的试验方法,设定微波处理时间分别0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 min 提取二氢槲皮素,结果见图2。

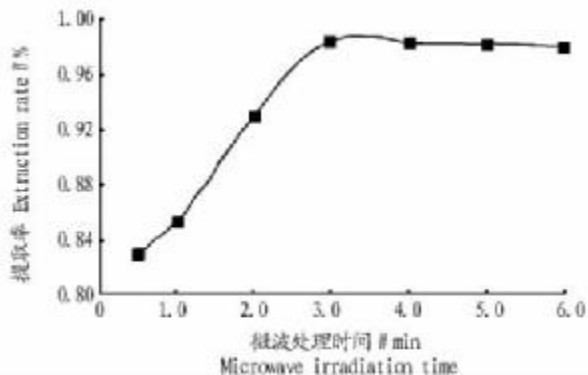


图2 微波处理时间对二氢槲皮素提取率的影响

Fig. 2 Effect of microwave irradiation time on extraction rate of Dihydro quercetin

从图2中可以看出,微波处理时间对二氢槲皮素的提取率有一定影响。微波处理时间在3.0 min 以内,二氢槲皮素提取率增幅较大,继续延长处理时间对提取率影响不大。这是因为微波可以加剧植物细胞内部极性分子相互碰撞、挤压程度,破坏细胞壁结构,有助于有效成分的溶出。但微波只是起到影响植物细胞结构的作用,微波时间过长可能对二氢槲皮素分子的稳定性产生不利影响,且试验中微波处理时水仅充当浸润剂的作用,如果微波处理时间过长会导致物料烧焦或烧糊。

2.3 微波功率对二氢槲皮素提取率的影响 按照“1.3”试验方法,分别设定微波功率为119、280、462、595、700 W 处理落叶松原料3.0 min 后进行提取,结果如图3。

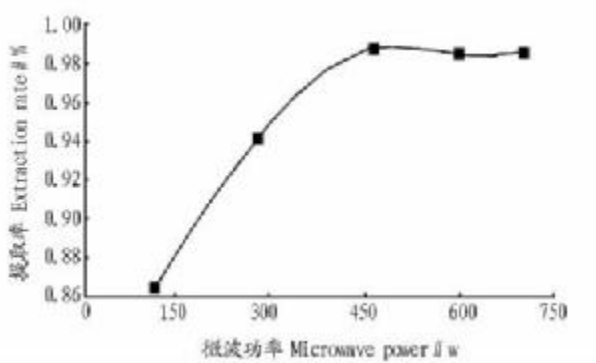


图3 微波功率对二氢槲皮素提取率的影响

Fig. 3 Effect of microwave power on extraction rate of Dihydro quercetin

由图3可知,加大微波功率可以提高二氢槲皮素的提取率。微波功率对提取率的影响主要体现在对植物细胞结构的影响上。功率大,微波对细胞壁破坏的程度加剧,有助于细胞内有效成分的溶出。

2.4 浸提温度对二氢槲皮素提取率的影响 按“1.3”的试验方法,分别在30、40、50、60、70、80、90、100 °C 的温度下提取,结果如图4。

由图4可知,随着浸提温度地升高,二氢槲皮素的提取

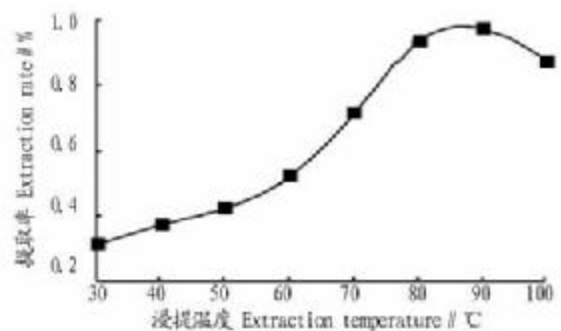


图4 浸提温度对二氢槲皮素提取率的影响

Fig. 4 Effects of extraction temperature on extraction rate of Dihydro quercetin

率也随之增加。这是因为升高温度可以削弱二氢槲皮素与落叶松基质间的相互作用力,加快分子的扩散速度,增加二氢槲皮素在水中的溶解度^[6]。温度升高还有助于降低溶剂与植物材料间的表面张力,使二者更好地融合。很明显,60~80 °C 时,提取率剧增,在90 °C 时提取率达到最大值。但温度过高会引起二氢槲皮素的结构被氧化破坏,导致提取率降低;同时,产品的色泽加重。另外,从经济性和操作性角度考虑也不宜采用过高的温度。

2.5 浸提时间对二氢槲皮素提取率的影响 按“1.3”的试验方法,在90 °C 的温度下对落叶松木屑分别浸提0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5 h,结果如图5所示。

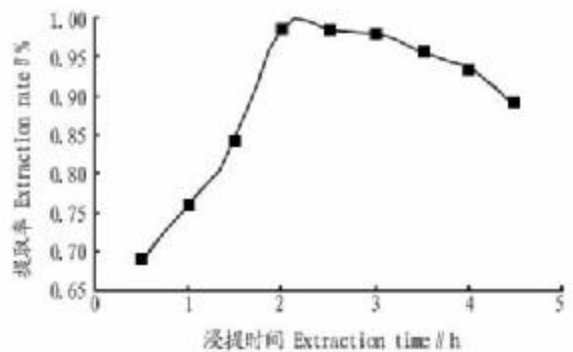


图5 浸提时间对二氢槲皮素提取率的影响

Fig. 5 Effect of extraction time on extraction rate of Dihydro quercetin

从图5中可以看出,随着浸提时间地延长,二氢槲皮素的提取率呈现先增加后下降的趋势。特别在0.5~2.0 h,提取率明显提高。这是由于落叶松经过微波处理后,细胞壁已经破碎,有效成分已部分溶出并附在物料的表面,浸提时间延长有助于二氢槲皮素与溶剂的融合。当时间在2.0~3.0 h,提取率基本稳定,说明细胞内外的二氢槲皮素浓度基本一致,达到了平衡状态。如果继续延长浸提时间会使二氢槲皮素氧化加剧^[7],反而导致提取率下降。同时杂质成分的溶解量也会增加,给后期提纯精制造成困难。

2.6 料液比对二氢槲皮素提取率的影响 由图6可知,随着料液比地减小,二氢槲皮素的提取率逐渐增加,即在一定范围内,浸提的水量越多,则二氢槲皮素的提取率越高。这是由于溶剂用量与物质的溶出存在对应的平衡关系,随着溶剂用量的增加,溶剂与物料之间的浓度差越来越大,物质溶出也越来越容易,溶出量随之增加。特别是当料液比在1:10

~1:14 范围内时,提取率增幅明显。当料液比为1:16时,提取率达到最高。此后继续增加水的用量对二氢槲皮素的提取率影响不大,反而导致试验周期地延长。

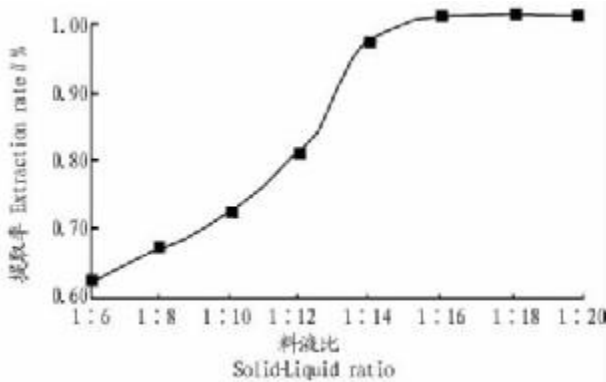


图6 料液比对二氢槲皮素提取率的影响

Fig. 6 Effects of Solid-liquid ratio on extraction rate of Dihydroquercetin

2.7 对比试验 分别采用微波辅助提取法和热水提取法提取落叶松中的二氢槲皮素,试验结果如表1。

由表1可知,与传统的水热法相比较,微波辅助可以提高落叶松中二氢槲皮素的提取率,平均增幅为22.17%。

3 结论

微波辐射有利于落叶松中二氢槲皮素的提取,与传统工艺比较,提取率提高22.17%。通过大量单因素试验确定了提取的最佳工艺条件:原料粒度为80目、462 W下微波预处理

3 min、浸提温度为90℃、浸提时间为2.0 h,料液比为1:16。在此条件下,二氢槲皮素的平均提取率为0.981%。

表1 对比试验

Table 1 Contrast test

试验方法		提取率//%	平均值//%
Test result		Extraction rate	Average value
水热法	1	0.812	0.803
Hydrothermal method	2	0.793	
	3	0.804	
微波辅助法	1	0.976	0.981
Microwave-assisted extraction	2	0.984	
	3	0.982	

参考文献

- [1] SEREY V, GEODAKYAN, INNA V, VOSKOBOINIKOVA, JURY A, KOLE-SNIK, et al. High-performance liquid chromatographic method for the determination of mangiferin, likviritin and dihydroquercetin in rat plasma and urine [J]. Biomedical Applications, 1992, 577 (2): 371 - 375.
- [2] 金钦汉. 微波化学 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 166 - 170.
- [3] 郭振库, 金钦汉. 微波萃取技术 [J]. 分析科学学报, 2001 (12): 505 - 509.
- [4] 金建忠. 落叶松中二氢槲皮素的提取工艺研究 [J]. 林产化工通讯, 2005, 39 (4): 12 - 15.
- [5] 席丹莹, 王正平, 宁正祥. 吸附法提取二氢槲皮素的研究 [J]. 食品科技, 2007 (12): 142 - 144.
- [6] CAMEL V. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples [J]. Trends Anal Chem, 2000, 19: 229 - 248.
- [7] RUAN P L, YU B Y, FU G M, et al. Improving the solubility of ampelopsin by solid dispersions and inclusion complexes [J]. Pharmaceut Biomed Anal, 2005, 38: 457 - 464.

(上接第11371页)

2.4 非洛地平 MIP 选择吸附性研究 该试验是配制相同浓度卡马西平与非洛地平的溶液来作为底物进行对比,分别测量非洛地平 MIPMs 对两种溶液及两种溶液混合的吸附量。结果初步显示,非洛地平 MIPMs 对非洛地平作为底物的溶液具有一定的选择性,对其余两种的吸附量较小。由于该试验进行项目过多且时间有限,故两种底物各浓度的吸附性比较有待进一步研究。

3 结论

该试验以非洛地平为模板分子,利用悬浮聚合法分别合成了三种以甲基丙烯酸、丙烯酰胺、及二者的混合物为功能单体的非洛地平的模板聚合物。首先是通过三种模板聚合物比较得出以甲基丙烯酸为功能单体合成的聚合物选择性最好,再通过分光光度法测定以非洛地平为模板分子,以甲基丙烯酸为功能单体按照1:4的比例合成的聚合后物是最佳方案。最后运用传统的封管聚合法制备同样得以甲基丙烯酸为功能单体按照1:4的比例合成非洛地平 MIPs,通过两种方法制备的聚合物在同等条件下进行吸附试验比较,结果是新方法效果明显更好,且制备方法更加简便。该方法在

医学方面希望能推广并且能代替传统的封管聚合法用于人的体液如血液、尿液的非洛地平的分离、富集和检测,操作简单易行。

参考文献

- [1] 李蓉, 郝鹤, 朱辉, 等. 分子印迹聚合物应用研究发展 [J]. 武警医学院学报, 2007, 16 (3): 325 - 327.
- [2] 蒋旭红, 涂伟萍. 分子印迹聚合物微球制备方法研究进展 [J]. 材料导报, 2007, 12 (20): 52 - 55.
- [3] 朱丽, 胡小玲, 管萍. 分子印迹聚合物微球制备及表征技术 [J]. 高分子通报, 2007 (11): 60 - 66.
- [4] 蒲家志, 汤又文, 胡小刚, 等. 烟酸分子印迹聚合物的制备 [J]. 华西药理学杂志, 2004, 19 (2): 84 - 87.
- [5] 芮耀成, 张万年, 李万亥, 等. 现代药理学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1999.
- [6] BORJE SELLERGREN. Imprinted chiral stationary phase in high-performance liquid chromatography [J]. J Chromat A, 2001, 906: 227 - 252.
- [7] 郭宇姝, 谢剑伟, 张沂. 抗胆碱能药物分子烙印聚合物的分子识别研究 [J]. 中国药理学杂志, 2007, 42 (12): 943 - 945.
- [8] TATIANA A S, HEIKE MATUSCHEWSKI, SERGIY A P, et al. Molecularly imprinted polymer membranes for substance-selective solid-phase extraction from water by surface photo-grafting polymerization [J]. J Chromat A, 2001, 907: 89 - 99.
- [9] PILETSKY SA, PILETSKAEV, CHEN B, et al. Chemical grafting of molecularly imprinted homopolymers to surface of microplates application of artificial adrenergic receptor in enzyme-linked assay for beta - agonists determination [J]. Anal Chem, 2000, 72: 4381 - 4385.