

亚临界水提取油菜花粉中黄酮类物质的工艺研究

高如意,董兴叶,邓辰辰,许明君,徐振秋

(江苏康缘药业股份有限公司,江苏 连云港 222047)

摘要:以油菜花粉为原料,采用亚临界水提取黄酮类化合物。通过单因素和正交实验确定最佳工艺条件。研究表明,最佳工艺条件为:料液比 1:25 g/mL、提取时间 20 min、提取温度 120 °C、压力 1.2 MPa,按最佳工艺条件提取黄酮类化合物,得率高达 4.12% ± 0.05%。

关键词:油菜花粉;黄酮类化合物;亚临界水

中图分类号:TS 218 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2016)03-0036-03

Research on extraction of flavones in cole pollen with subcritical water

GAO Ru-yi, DONG Xing-ye, DENG Chen-chen, XU Ming-jun, XU Zhen-qiu

(Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang Jiangsu 222047)

Abstract: Subcritical water treatment was used to extract flavonoids from cole pollen. The optimal conditions were ascertained by single factor test and orthogonal test. The results showed that the optimal conditions of subcritical water extraction were as following: the ratio of material to water 1:25 g/mL, the time 20 min, the temperature 120 °C and the pressure 1.2 MPa. Under the conditions, the yield of flavonoids could reach up to 4.12% ± 0.05%

Key words: cole pollen; flavonoids; subcritical water

油菜是我国重要的油类经济作物,种植范围广,年产量达到 1 200 万 t,在授粉季节可以收获大量的油菜花粉。油菜花粉中含有人体所需要的蛋白、黄酮类、氨基酸、脂肪酸类胡萝卜素^[1]等多种生物活性物质,其中的黄酮类^[2]物质具有很强的抗氧化、调节血脂、抗肿瘤、抗炎、抗辐射、调节免疫^[3]等作用。此外,油菜花粉中的黄酮类物质对前列腺炎有较好的治疗效果^[4],并能防止前列腺肥大、前列腺增生等前列腺方面疾病^[5]。

油菜花粉中黄酮类物质的提取方法有超声、回流、浸提和渗漉^[6]等,提取溶剂均为乙醇,这些方法存在溶剂易残留、得率低等缺点。目前,关于亚临界水提取天然产物的研究逐渐增多,研究对象包括丹参、川芎、葛根、黄芩、银杏叶^[7]等多种植物,提取产物包括黄酮类、皂苷类、挥发油、多酚等多种活性物质,且亚临界水提取工艺采用纯化水为提取剂,绿色环保。但是,目前尚未有亚临界水提取油菜花粉中黄酮类物质的相关报道。因此,本文以油

菜花粉为原料,采用亚临界水提取其中的黄酮类化合物,通过单因素实验和正交实验确定提取的最佳工艺条件,为工业化制备油菜花粉中黄酮类物质提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

油菜花粉购于上海冠生园蜂制品有限公司;芦丁标准品(纯度 92.6%)购于中国食品药品检定研究院;无水乙醇、硝酸铝等均为分析纯。

UV-2700 型紫外分光光度计:日本岛津;KCFD05-03 型亚临界反应釜:烟台高新区科立自控设备研究所;微型植物试样粉碎机:天津泰斯特仪器有限公司;DZF-6050 型真空干燥箱:上海博讯实业有限公司医疗设备厂。

1.2 实验方法

1.2.1 黄酮含量测定

标准曲线的建立^[8]:以芦丁为对照品,采用分光光度计法测定黄酮类物质的含量。在 510 nm 波长下,以质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,标准曲线见图 1。

收稿日期:2015-10-17

作者简介:高如意,1990 年出生,男,本科。

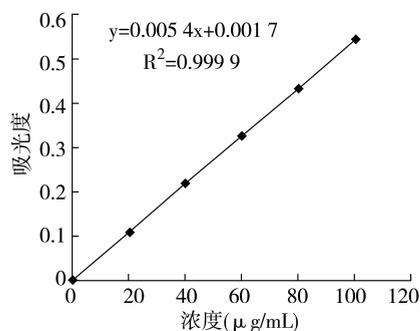


图1 芦丁标准曲线

样品黄酮测定:称取一定量的样品,经过稀释,按照标准曲线方法测定在510 nm处的吸光度,得出样品中黄酮类化合物含量,根据样品中黄酮化合物含量,计算黄酮类化合物的得率:

$$\text{得率} = \frac{\text{样品中黄酮类物质的质量}}{\text{破壁干燥后油菜花粉质量}} \times 100\%$$

1.2.2 工艺流程

油菜花粉→破壁→干燥→亚临界水提取→黄酮粗提液→浓缩干燥→黄酮类化合物。

油菜花粉破壁处理^[9]:将油菜花粉研磨粉碎,放-18℃冰箱冷冻,过夜,后于70℃搅拌加热,待完全解冻后干燥。

粗提液干燥:将粗提液浓缩至1.2 g/mL,于真空干燥箱中干燥(温度为60℃,压力为-1.0 MPa)。

1.2.3 亚临界水提取条件

丛艳波等人^[10-12]的研究表明,在亚临界提取实验中,提取温度、时间、料液比等因素对黄酮类物质的得率影响较大,而压力对得率的影响较小,本文通过前期预实验也得出类似结论,此外,压力过高还会影响提取效果,导致黄酮类物质变性,并且可能损伤设备,因此,本文在实际研究中未继续探讨压力对于黄酮类物质提取得率的影响,根据预实验结果选择1.2 MPa作为提取压力进行实验。

本文通过单因素实验考察温度、时间、料液比三个因素对黄酮类物质得率的影响,并在单因素实验基础上,通过正交实验(三因素三水平)确定亚临界水提取油菜花粉中黄酮类化合物的最佳工艺参数。

1.3 统计分析

所有实验均平行3次,采用SPSS 18.0进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 提取时间的选择

在料液比1:25 g/mL、温度120℃、压力1.2 MPa的条件下,提取时间设定为:5、10、20、30、40 min,研究时间对黄酮类化合物得率的影响,实验结

果见图2。

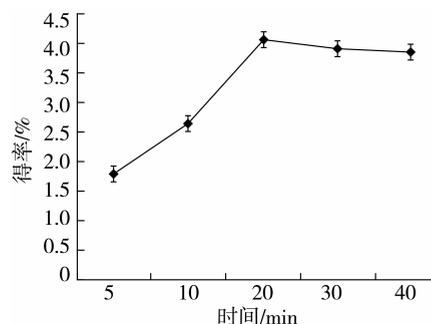


图2 提取时间对黄酮类化合物得率的影响

由图2可知,在5~20 min内,随着时间的增加,油菜花粉中黄酮的得率不断升高,在20 min达到最高,超过20 min后,得率呈下降趋势,原因可能是溶剂与溶质已成饱和状态,黄酮得率不再增加,另外,时间过长会导致黄酮类物质分解^[13]。因此,选择最佳提取时间为20 min。

2.1.2 提取温度的选择

在提取时间20 min、料液比1:25 g/mL、压力1.2 MPa的条件下,提取温度设定为:100、110、120、130、140℃,研究温度对黄酮类化合物得率的影响,实验结果见图3。

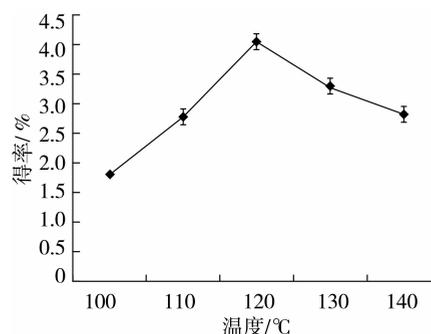


图3 提取温度对黄酮类化合物得率的影响

由图3可知,温度在100~120℃之间时,随着温度的增加,得率不断增加。但超过120℃后,得率下降,因为过热会导致黄酮类物质分解。另外,过热会导致油菜花粉中的蛋白和糖类起泡^[14],附着在油菜花粉表面,影响提取。因此选择最佳温度为120℃。

2.1.3 料液比的选择

在温度120℃、提取时间20 min、压力1.2 MPa的条件下,料液比设定为:1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 g/mL,研究料液比对黄酮类化合物得率的影响,实验结果见图4。

由图4可知,加水量在15倍到25倍之间,随着加水量的增加,得率增加,加水量为25倍时得率最高。但加水量大于25倍之后,得率开始下降。此

外,加水量过多会增加提取时加热的时间,而且会影响后续处理,因此,选择 1:25 g/mL 为最佳提取料液比。

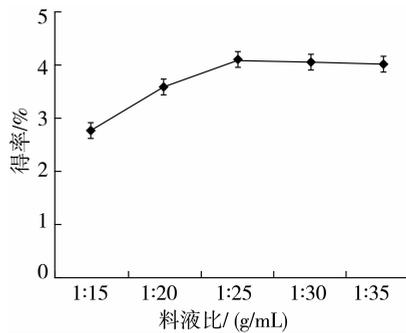


图4 料液比对黄酮类化合物得率的影响

2.2 正交实验结果

在单因素实验的基础上,以黄酮类化合物得率为考察指标,以温度、时间、料液比为考察因素进行 $L_9(3^3)$ 正交实验,并对实验结果进行分析,结果见表 1~表 3。

表1 因素水平表

因素水平	A 温度/°C	B 时间/min	C 料液比/(g/mL)
1	110	10	1:20
2	120	20	1:25
3	130	30	1:30

表2 正交实验结果

实验号	A 温度/°C	B 时间/min	C 料液比/(g/mL)	得率 /%
1	110	10	1:20	2.09
2	110	20	1:25	2.77
3	110	30	1:30	2.34
4	120	10	1:25	2.68
5	120	20	1:30	4.04
6	120	30	1:20	3.53
7	130	10	1:30	2.18
8	130	20	1:20	2.54
9	130	30	1:25	3.12
K_1	2.400	2.317	2.720	
K_2	3.417	3.117	2.857	
K_3	2.613	2.997	2.853	
R	1.017	0.800	0.137	

表3 方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
温度	1.724	2	47.889	19.000	*
时间	1.117	2	31.028	19.000	*
料液比	0.036	2	1.000	19.000	
误差	0.04	2			

注: * 表示有显著性($P < 0.05$)。

由极差实验结果得知,各提取因素对黄酮类化合物得率影响的主次顺序为:温度 > 时间 > 料液比。经过正交实验分析后,可以得出提取油菜花粉黄酮类化合物的最优方案为 $A_2B_2C_2$,即温度 120 °C,时间 20 min,料液比 1:25 g/mL。在正交实验中得到的理论最佳工艺条件下,测定油菜花粉黄酮类化合物得率,并做 3 组平行验证实验。验证实验表明:在最佳条件下,平均得率高达 $4.12\% \pm 0.05\%$,并与本课题组前期做的醇提工艺进行对比(乙醇提取破壁油菜花粉中黄酮类化合物得率为 $3.49\% \pm 0.03\%$),得出亚临界水提取能有效地提高黄酮类物质得率。

3 结论

本实验采用亚临界水提取油菜花粉中的黄酮类物质,得率达到 $4.12\% \pm 0.05\%$,较醇提得率明显提高。亚临界水提取技术高效节约、绿色环保,目前尚未有亚临界水提取油菜花粉中黄酮的研究。因此,本研究对油菜花粉中黄酮类物质的制备及生产具有重要的指导意义。

参考文献:

- [1]冯慧,焦士蓉,唐远谋,等. 油菜花粉研究进展[J]. 食品工业, 2011,9:108-111.
- [2]郭娟丽,张培成,张智武. 油菜花粉的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2009,10:1235-1237.
- [3]汪磊,朱波,王国泽,等. 油菜花粉保健功能研究进展[J]. 粮食与油脂,2012,10:5-8.
- [4]孙毅,杨义芳,杨必成,等. 油菜蜂花粉生理活性及作用机制研究进展[J]. 中国蜂业,2010,9:5-9.
- [5]杨必成,杨义芳. 花粉治疗前列腺疾病的物质基础研究进展[J]. 中草药,2009,1:144-149.
- [6]杨必成,刘海,杨义芳,等. 油菜花粉中黄酮类化合物的提取与分析[J]. 中草药,2011,12:2451-2455.
- [7]陈赞,李建国,章丽娟,等. 亚临界水萃取技术及其在天然产物分析中的应用[J]. 中药材,2009,4:636-641.
- [8]阮征,胡筱波,赖富饶,等. 油菜花粉中黄酮类物质提取工艺的优化研究[J]. 食品科学,2007,7:133-137.
- [9]胡筱波,徐明刚,吴谋成,等. 温差破壁法对油菜蜂花粉中主要营养成分含量的影响[J]. 食品科学,2005,10:120-124.
- [10]丛艳波,张永忠,刘潇. 亚临界水提取槐角中总异黄酮的研究[J]. 中草药,2010,5:717-720.
- [11]周丽,张博雅,张永忠. 亚临界水提取葛根中总异黄酮的研究[J]. 中草药,2012,3:492-495.
- [12]尹立影,张永忠. 亚临界水法提取红三叶中的总异黄酮[J]. 草业科学,2012,10:1627-1630.
- [13]郭娟,杨日福,范晓丹,等. 肉桂精油的亚临界水提取[J]. 林产化学与工业,2014,34(3):92-98.
- [14]刘淑兰,张永忠,姚琪,等. 亚临界水法提取大豆酱渣饼中总异黄酮的研究[J]. 中国油脂,2010,11:64-67.