

槐花中芦丁的碱提酸沉法研究

杨新河, 吕帮玉, 毛清黎

(孝感学院生命科学技术学院, 湖北孝感 432000)

摘要:探讨了碱提酸沉法提取槐花中的芦丁。通过系统地考察影响槐花中芦丁提取率的因素, 得到优化的提取工艺条件为: 槐花粗粉 20-40 目, 3%硼砂水溶液, 固液比 1:12, 饱和氢氧化钙调节 pH 为 9, 温度 95-100, 时间 30min, 提取 2 次; 结晶用盐酸调节 pH 为 3, 静置 4h。该法具有装置简单、操作方便、高效、费用和成本低等特点。

关键词:槐花, 芦丁, 碱提酸沉

Abstract:In this paper alkali extraction and acid precipitation of rutin from bud of *Sophora japonica* L was studied. The effects of factors on extraction yield were investigated systematically. The optimal conditions of extraction were: crushed dried buds particles between 20 and 40 meshes in size, the ratio of solid to 3% borax of 1:12, pH 8 adjusted with calcium hydroxide, extraction temperature between 95 and 100, extraction time 30 minutes and twice. The optimum condition of crystallization was: pH 3 adjusted with HCl, settle for 4 hours. The extraction technology uses simple apparatus with easy operation, high efficiency but low cost.

Key words:*Sophora japonica* L; rutin; alkali extraction and acid precipitation

中图分类号: TS255.1 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2007)04-0183-03

槐花为豆科植物槐树 *Sophora japonica* L 花器的干燥品, 芦丁为其主要有效成分, 花蕾中的含量为 14%左右。由于芦丁合成困难, 因此, 天然芦丁越来越受到人们的重视^[1,2]。目前采用碱提酸沉法从槐花中提取芦丁未见系统的研究报道, 笔者认为碱提酸沉法提取槐花中的芦丁较其它方法装置简单、操作方便、高效、费用和成本低。因此, 碱提酸沉法不失为工业化生产芦丁的首选工艺, 系统地研究其提取工艺来生产天然芦丁显得十分必要。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

芦丁 购于中国生物药品制品检定所; 槐花 购于孝感药都; NaNO_2 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 NaOH 、 HCl 、无水甲醇

均为分析纯。

SP-210UVPC 紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; 光电分析天平 TG328B 型, 上海第二天平仪器厂; 梅特勒-托利多 Delta 320 pH 计, 北京国华恒温水浴锅等。

1.2 标准曲线的绘制

先用无水甲醇将标准品芦丁配制成浓度为 1.128、0.94、0.752、0.564、0.376、0.188mg/mL 的标准溶液, 用移液管依次移取不同浓度的标准液 1mL 分别置于带刻度的 10mL 试管中, 各加甲醇至 5mL, 分别加入 5% NaNO_2 溶液 0.5mL, 摇匀, 室温放置 6min, 再加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.5mL, 摇匀, 室温放置 6min, 加 4% NaOH 溶液 4.0mL, 摇匀, 室温放置 15min, 在 500nm 波长下测定吸光度。同时以试剂空白作对照, 以吸光度 A 为纵坐标, 以浓度 C 为横坐标, 标准曲线方程: $C(\text{mg/mL}) = 0.9863A + 0.0021$ ($r = 0.9999$)。

1.3 索氏法提取槐花中芦丁

准确称取槐花粉末(20-40目)1.000g, 用 100mL 甲醇溶液进行索氏提取至无色, 提取液抽滤, 定容至 250mL。按上述 1.2 方法测定 A 值, 查出提取液中芦丁含量, 以此求出槐花中芦丁的总含量为 13.267% (以此作为槐花中芦丁的参照含量比较标准)。

1.4 提取方法

准确称取槐花粗粉 5.000g, 加入一定量 3%硼砂水溶液, 用石灰水调节到相应的 pH, 然后在相应的温度下提取一定的时间, 过滤, 滤渣重复提取, 将提取液合并。并用水稀释到 1000mL, 然后用移液管吸取 1mL 提取液, 按上述 1.2 方法测定 A 值, 查出提取液中芦丁含量, 以此求出槐花中芦丁的提取率。

1.5 精制过程

按照优化的工艺进行提取所得的提取液在不同的 pH 条件下静置相应的时间, 确定精制的最佳 pH 和静置时间。

2 结果与讨论

收稿日期: 2006-08-11

作者简介: 杨新河(1974-), 硕士, 主要从事天然产物化学研究。

2.1 颗粒大小对提取率的影响

准确称取颗粒大小不同的槐花粗粉 5.000g3 份, 分别加入 50mL3%硼砂水溶液, 然后用石灰水调节到 pH 为 9.5, 在 90 温度下提取 25min, 滤渣重复提取 1 次, 将提取液合并, 定容至 1000mL, 检测。考察槐米颗粒大小对提取率的影响, 结果见表 1。

表 1 颗粒大小对提取率的影响

颗粒大小(目)	未过 20	20~40	过 40
提取率(%)	89.32	92.68	90.22

注: 提取率(%) = 提取液中芦丁的浓度(mg/mL) × 1000mL × 100% / (5.000 × 13.267% × 1000mg) (下同)。

由表 1 可见, 槐米颗粒为 20~40 目时, 提取效果最好, 芦丁提取率最高。槐米颗粒越小, 比表面积越大, 接触面积越大, 提取效果越好。但是当槐米颗粒小于 40 目时, 可能是其它物质浸出速度过快, 对芦丁的浸出有抑制作用, 并且提取液过滤困难, 混浊不清。如果槐米颗粒大于 20 目, 接触面积变小, 提取率降低。由此可见, 槐米的颗粒大小以 20~40 目为宜。

2.2 pH 对提取率的影响

准确称取槐花粗粉(20~40 目)5.000g6 份, 分别加入 50mL3%硼砂水溶液, 然后用石灰水调节 pH 分别为 6、7、8、9、10、11, 在 90 温度下提取 25min, 滤渣重复提取 1 次, 将提取液合并, 定容至 1000mL, 检测。考察 pH 对提取率的影响, 结果见表 2。

表 2 pH 对提取率的影响

pH	6	7	8	9	10	11
提取率(%)	61.68	81.37	89.67	93.89	71.28	57.56

由表可知, pH 为 9, 芦丁的提取率最高。当溶液 pH 较低时, 芦丁以分子的形式存在的比例随 pH 的降低而变大; 当 pH 较高时, 随 pH 的加大, 母核受到破坏的芦丁所占的比例加大及部分芦丁与钙离子生成络合物或生成钙盐而不溶于水。上述两种情况都有会直接导致芦丁的提取率降低, 因此, 溶液的 pH 宜控制在 9 左右, 可得到较高的提取率。

2.3 固液比对提取率的影响

准确称取槐花粗粉(20~40 目)5.000g6 份, 分别加入 30、40、50、60、70、80mL3%硼砂水溶液, 然后用石灰水调节到 pH 为 9, 在 90 温度下提取 25min, 滤渣重复提取 1 次, 将提取液合并, 定容至 1000mL, 检测。考察固液比对提取率的影响, 结果见表 3。

表 3 固液比对提取率的影响

固液比	1 6	1 8	1 10	1 12	1 14	1 16
提取率(%)	80.61	88.72	93.89	95.69	96.03	96.11

由表可知, 当固液比在 1 6~1 12 之间时, 随着固液比的加大, 芦丁的提取率增加明显; 但当固液比大

于 1 12 时, 随固液比的增大, 芦丁的提取率增加很小。这可能是因为槐花中的芦丁在溶液中的溶解有限, 考虑到固液比大于 1 12 时, 提取液中含的杂质提高, 会降低芦丁的纯度; 同时会增加生产成本。因此, 提取槐花中的芦丁应选择固液比 1 12 为宜。

2.4 提取次数对提取率的影响

准确称取槐花粗粉(20~40 目)5.000g4 份, 分别加入 60mL3%硼砂水溶液, 然后用石灰水调节到 pH 为 9, 在 90 温度下提取 25min, 分别提取 1、2、3、4 次。考察了提取次数对提取率的影响, 结果见表 4。

表 4 提取次数对提取率的影响

提取次数(次)	1	2	3	4
提取率(%)	83.51	95.69	96.39	96.45

由表可知, 提取次数为 2 次与 3 次相比较, 芦丁的提取率差别仅有 0.7%, 当提取次数超过 3 次时, 随提取次数的增加, 芦丁的提取率的增加可忽略不计。从产率、能耗和纯度方面综合考虑, 提取 2 次为宜。

2.5 提取时间对提取率的影响

准确称取槐花粗粉(20~40 目)5.000g6 份, 分别加入 60mL3%硼砂水溶液, 然后用石灰水调节到 pH 为 9, 在 90 温度下分别提取 15、20、25、30、35、40min, 滤渣重复提取 1 次, 将提取液合并, 定容至 1000mL, 检测。考察提取时间对提取率的影响, 结果见表 5。

表 5 提取时间对提取率的影响

提取时间(min)	15	20	25	30	35	40
提取率(%)	86.57	89.12	95.69	96.58	94.73	92.23

当提取时间小于 30min 时, 随提取时间的延长, 芦丁的提取率增加, 这主要是因为芦丁的充分溶出需要一定的时间作保证; 但当提取时间超过 30min 时, 随提取时间的进一步延长, 提取率反而降低, 这可能是因为高温条件下, 芦丁分解或氧化造成的。从效益考虑, 提取时间选择 30min。

2.6 提取温度对提取率的影响

准确称取槐花粗粉(20~40 目)5.000g6 份, 分别加入 60mL3%硼砂水溶液, 然后用石灰水调节到 pH 为 9, 在 75、80、85、90、95、100 温度下提取 30min, 滤渣重复提取 1 次, 将提取液合并, 定容至 1000mL, 检测。考察提取温度对提取率的影响, 结果见表 6。

表 6 提取温度对提取率的影响

提取温度()	75	80	85	90	95	100
提取率(%)	76.68	80.17	89.92	96.58	97.23	97.18

由表 6 可知, 当温度低于 95 时, 随提取温度的增加, 芦丁的提取率增加, 但温度在 95~100 时, 提取率基本相同, 这说明提取温度控制在 95~100 之

间合理。

2.7 硼砂的作用

按照优化的工艺,在其它参数不变的前提下,将3%硼砂水溶液换成水溶液进行提取,计算提取率仅为88.68%,这表明是否加入硼砂对提取率的影响很大。经分析可知,硼砂可以起到缓冲pH和与芦丁的邻二酚羟基络合防止芦丁被氧化分解变质,并可使芦丁的溶解度增加的作用,从而提高产率及产品质量。

2.8 结晶 pH 的选择

按照优化的工艺进行提取,用盐酸将滤液 pH 分别调至 1、2、3、4、5、6,静置 5h,过滤得到沉淀物芦丁,按照 1.2 方法检测 A 值,计算芦丁最终的提取率,确定结晶的最佳 pH,结果见表 7。

表 7 结晶 pH 的选择

结晶 pH	1	2	3	4	5	6
提取率(%)	63.41	90.67	96.48	87.36	68.67	62.69

由表 7 结果可见,溶液 pH 为 3 时,提取率最高,当 pH 低于 3 时,提取率随 pH 的降低而降低,这主要是因为强酸性条件下芦丁参与生成络盐的比例随 pH 的降低而加大;而 pH 大于 3 后,提取率随 pH 的增加而降低,这主要是由于芦丁本身以离子形式存在的比例随 pH 的增加而增加。因此,结晶 pH 应控制在 3 左右为宜。

2.9 结晶时间的选择

按照优化的工艺进行提取,用盐酸将滤液 pH 调至 3,分别静置 1、2、3、4、5、6h,根据提取率来确定结晶时间,结果见表 8。

表 8 结晶时间的选择

结晶时间(h)	1	2	3	4	5	6
提取率(%)	75.63	86.77	93.49	96.41	96.48	96.51

由表可知,当结晶时间在 4-6h 之间时,芦丁的提取率变化很小,考虑到生产周期,结晶时间选择为 4h。

3 结论

碱提酸沉法优化的提取工艺为槐花粗粉 20~40 目,3%硼砂水溶液为提取剂,固液比 1:12,然后用饱和的氢氧化钙调节 pH 为 9,在 95~100 温度条件下提取 30min,同法重复提取 1 次,合并滤液,冷却,用盐酸调节 pH 至 3,静置 4h,过滤,沉淀用水冲洗至中性,干燥得到芦丁产品。此法具有装置简单、操作方便、高效、费用和成本低等特点,芦丁产品可作为保健食品、营养食品和功能食品的原料,应用前景良好。因此,本研究工艺为开发利用槐花提取天然芦丁提供了一条实用的途径。

参考文献:

- [1] 蔡锦山,于正英.从荞麦中提取芦丁—维生素 P[J].生物学杂志,1999,16(2):35-37.
- [2] 萨燕平,彭定芳.超声辐射从槐米中提取芦丁[J].云南化工,1996(4):25-26.

(上接第 182 页) 络体系,辅以单甘酯乳化稳定产品中的脂肪,添加 0.2%的 Textre 淀粉可提高产品的滑口感,提高产品的品质。使用此复配稳定剂,可使产品的成本大大降低,且产品稳定性良好。

2.3 产品甜度的确定

在巧克力牛奶中,必须添加一定的甜味剂才能使巧克力香气表现得非常完美,本实验以白糖为甜味剂,以三个不同的添加量来进行口味测试,其结果如表 4。

表 4 甜味剂对产品口感的影响

实验号	蔗糖添加量 (%)	口感
1	7	产品不够厚实,香气一般,不够甜
2	8	产品口感厚实,香气浓郁,甜味适中
3	9	产品口感厚实,香气浓郁,甜味太重

巧克力牛奶蔗糖用量为 8%时,口感最好。

3 结论

3.1 实验证明,复合稳定剂可使巧克力牛奶形成均一稳定的摇溶体系,复合稳定剂的配比为 K-卡拉胶

0.015%,微晶纤维素 0.13%、单甘酯 0.1%。该稳定剂可使产品具有非常纯厚的口感。

3.2 DELFI 巧克力粉口感细腻,脂香浓郁、纯正,特别适合制作巧克力牛奶,其用量为 1%。

3.3 产品蔗糖添加量以 8%最好,产品甜而不腻,并使奶香与脂香达到完美的结合。

3.4 该产品以多种原料调配而成,其主要风味取决于可可粉及稳定剂。可可中含的可可碱和咖啡碱,可带来令人愉快的苦味;可可中的单宁有淡淡的涩味;可可中还含可可脂和少量的有机酸。可可的苦、涩、酸、滑,配以鲜牛奶、蔗糖等辅料,经特殊工艺处理,使巧克力奶不仅保持了可可特有的滋味,而且令它具有更加协调和愉悦的口感。

参考文献:

- [1] 黄来发.食品增稠剂[M].北京:中国轻工业出版社,2000.
- [2] 谢继志.液态乳制品科学与技术[M].北京:中国轻工业出版社,1999,8.