

黄酮类化合物的提取纯化研究进展

张胜帮, 赵玲玲

(温州大学生命与环境科学学院, 浙江温州 325035)

摘要: 对黄酮类化合物提取分离技术的最新研究成果进行了综述, 着重介绍了超声波提取、超临界流体萃取和树脂纯化等技术在提取纯化黄酮类化合物中的应用, 并对黄酮类化合物提取纯化技术的应用前景和相关产品的开发前景进行了评价。

关键词: 黄酮类化合物; 超声波提取; 超临界流体萃取; 树脂纯化

中图分类号: TQ244.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-0375(2007)05-0025-05

黄酮类化合物广泛存在于植物的各个部位, 尤其是花、叶部位, 主要存在于芸香科、唇形科、豆科、伞形科、银杏科与菊科中。因多呈黄色而称生物类黄酮。许多研究已表明黄酮类化合物具有显著的生理药理活性, 除具有抗菌、消炎、抗突变、降压、清热解毒、镇静、利尿等作用外, 在抗氧化、抗癌、防癌、抑制脂肪酶等方面也有显著效果^[1]。它是大多数氧自由基的清除剂, 对冠心病、心绞痛等疾病的治疗效果显著。黄酮类化合物安全、无毒, 即是药品又是食品, 在医药、食品加工等方面已被广泛应用。

1 提取工艺的研究进展

最近几年, 随着对黄酮研究的日益深入, 对黄酮类化合物的研究也越发重视, 这促进了黄酮提取技术的发展。提取黄酮类化合物的方法主要有以下几种。

1.1 有机溶剂萃取法

对黄酮类化合物进行有机溶剂提取, 多数选用乙醇与甲醇作萃取溶剂。

1.1.1 乙醇提取工艺

李洪雄等^[2]对葛根黄酮进行乙醇提取研究, 得到7.43%的总黄酮。陈乃富^[3]用70%的乙醇对蕨菜浸提, 可得到约为蕨菜干重1/4的粗黄酮粉, 其含量达27.03%。发现蕨菜比银杏叶等的黄酮含量要高, 为蕨菜干重的7.28%。所以蕨菜是黄酮类化合物的良好来源。

田洪磊等^[4]研究了玉米苞叶总黄酮提取工艺。以乙醇为溶剂, 玉米苞叶总黄酮最佳提取工艺条件为: 料液比1:50, 乙醇浓度60%, 提取温度60℃, 提取时间35min, 最大提取率为1.225%。

1.1.2 甲醇提取工艺

韩志萍^[5]研究了用甲醇提取蕨麻中类黄酮的工艺条件。以甲醇为溶剂, 超声波提取蕨麻类黄酮的最佳工艺为: 半微量试样, 料液比1:20, 提取时间30min, 半微量超声波甲醇提取法比常规索

收稿日期: 2006-10-10

基金项目: 温州市科技计划(Y20060204); 温州市“551”人才培养基金

作者简介: 张胜帮(1964-), 男, 温州乐清人, 副教授, 学士, 研究方向: 食品资源开发与分析化学

氏提取法的提取率高出54%。

1.2 超声提取法

超声波具有空化作用,在超声波作用下,液体的内部产生强的冲击波和微射流,局部出现高温、高压,导致多重次级效应如击碎、乳化、扩散和强烈的机械振荡等,从而加快了体系的传质和传热速度;在萃取过程中,这种强大的冲击流能够有效地减小溶剂与水相之间的阻滞层,从而使溶质扩散加速,同时冲击流对动植物细胞组织产生一种物理剪切力,使之变形、破裂,并释放出内含物黄酮类化合物,这大大加速了萃取过程。

1.2.1 超声波方法提取植物根茎中的总黄酮

裴凌鹏等^[6]采用超声波方法从葛根中提取总黄酮,用正交法确定了超声波方法提取总黄酮的最佳工艺条件,即乙醇浓度70%,超声波提取25min,提取次数3次,温度25℃。

1.2.2 超声波方法提取植物叶中黄酮

周桂等^[7]以水为介质,对山楂叶进行超声波处理提取黄酮,其提取效果与常规水浸提法比较,结果表明,采用超声波能大幅度提高提取效率,提取率达86.0%。

张匀等^[8]研究了甘薯叶中黄酮类化合物的提取工艺,在单因素试验的基础上,利用正交试验确定了超声波法提取甘薯叶中黄酮类化合物的最佳工艺条件,即使用80%乙醇,超声提取45min,料液比1:40。

李云志等^[9]用乙醇作为溶剂,对元宝枫叶总黄酮的提取进行了超声辅助法与常规浸提法对比研究。用常规浸提法提取两次,第一次提取率为94.16%,第二次为1.36%;在超声辅助法的优化条件下提取两次,第一次提取率为96.29%,第二次提取率为3.11%。

高中松等^[10]研究了超声波提取桑叶中总黄酮的工艺。采用醇提法、超声提取法探讨了从桑叶中提取总黄酮类物质的最佳工艺:用浓度为70%的乙醇(料液比为1:15)浸泡3h,再用超声提取45min,桑叶中总黄酮类物质的提出率可达2.18%,并采用聚酰胺树脂为层析柱填充料,对桑叶黄酮的提取液进行了纯化。

张玉祥等^[11]进一步研究银杏叶中总黄酮的提取工艺,采用超声波提取法,并进行正交、优化实验,以总黄酮为评价指标,用分光光度法进行测定。实验证明,在功率80%条件下,超声提取3h,用10倍的溶酶提取一次为最佳工艺条件。与索氏提取法进行比较,超声提取的提取率提高了约1.5倍。超声波的功率对提取率的影响最大,超声时间次之。

张胜帮等^[12]采用超声波-醇提法,研究了提取淡竹叶中黄酮类化合物的各种影响因素,通过正交试验设计,寻找最佳提取条件。结果表明,以60%乙醇为溶剂,固液比为1:30,经20kHz超声波提取30min,再经70℃水浴回流3h为最佳,在最佳实验条件下得到2.27%的收率。在影响因素中,影响程度从大到小依次为:溶剂、回流温度、超声时间、超声强度、回流时间、溶剂浓度、固液比。

1.2.3 超声波提取植物花瓣中的黄酮

王晓等^[13]采用超声波技术对牡丹花黄酮进行提取,提取率可达91.5%,提取率提高了12.8%,时间仅为常规提取的1/10左右。

植物茎、叶与花经超声波处理后,细胞膜已经破碎,叶粒运动加速,这促进了其有效成分的溶出,因此用超声波法提取叶黄酮具有提取速度快、提取率高、节省溶剂、节约能耗等特点,是提取植物黄酮的一种理想方法。

1.3 超临界萃取法

用该技术提取天然产物有效成分成为人们研究的热点. 何扩等^[14]研究了CO₂超临界萃取法对提取分离银杏叶中药用成分的适用性和可操作性, 该方法对黄酮类化合物的提取率可达2.64%, 纯度达27.7%, 其纯度是用乙醇浸提法提取的2.43倍.

丁彩梅^[15]通过单因素和正交实验, 研究了双频超声交替强化超临界流体萃取黄酮类化合物的工艺: 萃取温度50℃, 萃取压力20MPa, 夹带剂用量2mL·g⁻¹, 超声频率20KHz, 超声功率150W.

谷玉洪等^[16]用超临界CO₂提取蜂胶中总黄酮, 对萃取物的处理, 方法简单方便, 萃取物中黄酮类成分含量高. SFE-CO₂萃取的最佳条件为: 粉碎粒度为20目, 萃取压力35MPa, 萃取温度40℃, 蜂胶与夹带剂用量比例为1:2. 方法可行, 适合工业化生产.

1.4 酶法提取

王邕等^[17]用酶解-溶剂法提取罗汉果中黄酮类物质, 结果黄酮提取物得率平均高达6.92g/100g. 邢秀芳研究了纤维素酶对葛根总黄酮提取的作用, 结果显示在纤维素酶的作用下, 葛根总黄酮的收率提高了13%.

1.5 微波法

利用磁控管所产生的超高频率的快速震动, 使内分子间相互碰撞、挤压利于有效成分的浸出, 反应具有高效性和强选择性等特点.

刘峙嵘等^[18]采用微波法提取银杏叶中黄酮类化合物, 与传统的乙醇水溶液法提取效果进行对照, 传统的抽提时间为11h, 而微波辐射5min后, 只需要抽提1.5h就可. 利用微波处理的提取率是用传统方法提取率的2.2倍. 所以微波法萃取黄酮类化合物省时、提取率高, 是一种有发展前景的新工艺.

1.6 碱性水提法

黄酮苷类有一定极性, 溶于水, 易溶于碱性水, 难溶于酸性水, 故可用碱性水进行提取, 再将碱性提取液调成酸性, 黄酮苷类即可沉淀析出. 王永宁等^[19]采用了碱性水提取和乙醇提取两种不同的方法, 对槐花中的黄酮类化合物进行提取研究后发现, 碱性水提取法的提取率比乙醇提取法的提取率高.

2 黄酮类化合物的纯化

有关黄酮类化合物分离、纯化的研究报道很多, 以树脂法为多.

2.1 重结晶法

重结晶法利用黄酮类化合物不溶于酸, 易溶于热水、乙醇和丙酮的性质, 将黄酮类化合物粗提取液先进行酸析, 再用乙醇或者丙酮溶解提取, 浓缩或氨化成盐析出, 再用活性炭脱色, 反复重结晶即可得到纯品.

2.2 树脂法

吸附树脂是一类有机高分子聚合物吸附剂, 具有物理化学稳定性高、吸附选择性独特、不受无机物存在的影响、再生简便、解吸条件温和, 使用周期长、节省费用等优点.

2.2.1 大孔树脂吸附法

刘健伟等^[20]优化骨碎补总黄酮提取分离与纯化方法. 骨碎补总黄酮提取物经 D101-1 树脂纯化后, 提取物中总黄酮的含量可达到 66.0%, 而上柱纯化前总黄酮的含量只有 24.5%.

张境等人^[21]研究了用多种大孔树脂分离纯化枸杞叶总黄酮的工艺,结果表明,HPD100型大孔树脂对枸杞叶总黄酮有良好的吸附分离性能,可以得到纯度为35%的总黄酮。

刘火安等^[22]利用大孔树脂从葛根中分离纯化总黄酮,找到分离效果最好的SP70,其最佳工艺处理后的葛根总黄酮的含量可达80%以上,表明大孔吸附树脂SP 70分离纯化总黄酮效果较好,适合工业生产。

田景振等^[23]研究了大孔树脂分离纯化淫羊藿总黄酮的工艺条件及树脂前处理的方法。经DM130型大孔吸附树脂吸附处理后,总干燥物中淫羊藿总黄酮含量达75.39%。确定了DM130型大孔吸附树脂分离纯化淫羊藿总黄酮的吸附性能和洗脱参数,且工艺简单,成本低,易于工业化生产。

2.2.2 树脂分离纯化黄芩总黄酮

周小华^[24]利用D241树脂分离纯化黄芩总黄酮。与酸沉淀法相比较,经过除去果胶,总黄酮纯度由33.34%提高到74.9%,经过D241树脂分离纯化,其纯度达到91.5%,产品收得率3.54%。应国清等^[25]对银杏叶总黄酮的提取工艺进行研究,采用新型大孔吸附树脂D201对银杏叶总黄酮进行吸附及洗脱性能实验,总黄酮含量达71%以上,该法成本低,操作简单,树脂可重复利用,有较好的工业化前景。

3 展 望

全球对植物提取物制品的需求量日益增多,全球植物药市场2006年产值将突破350亿美元,近年来上市的保健产品中,很大一部分其主要功效成分都属于黄酮类化合物,涉及功能食品的许多方面,如防衰、防癌、提高免疫力、降脂、降压食品等,产品外观覆盖到液体、固体和半流体等多种形式,如银杏叶袋泡茶、苦芥速食粉、山楂叶冲剂、蜂胶胶囊、黄酮类口香糖、黄酮类牙膏、沙棘汁等,其中以蜂胶、银杏、山楂、沙棘、荞麦、柑橘皮、茶叶、淡竹叶等黄酮类化合物加工品为最多,占黄酮类化合物功能食品的80%以上。由于黄酮具有防治心脑血管疾病、防癌抗癌等药理作用,许多国家正在开发相关产品,前景十分看好。

近年来,人们用超声波提取植物中的黄酮化合物、生物碱、苷类等有效成分,该方法具有能耗低、效率高、不破坏有效成分的特点;大孔树脂是一种新型高效的分离纯化材料,能选择性吸附中药及其复方的有效成分,从而达到提取精制的目的,对具体分离物要选择合适的树脂;超临界流体萃取是20世纪70年代兴起的一种新的分离技术,它具有传质速度快、溶解能力强、低温操作、节能等优点,用这些技术提取天然产物有效成分成为人们研究的热点,在黄酮新产品开发和利用中,前景十分看好。

参考文献

- [1] 肖诗明,张忠,李勇,等.苦荞麦麸皮中黄酮的提取工艺条件研究[J].食品科学,2006,27(1):156-158.
- [2] 李洪雄,彭志远,邹海英.葛根黄酮的提取与应用[J].吉首大学学报(自然科学版),2006,27(3):113-116.
- [3] 陈乃富,张莉.蕨菜黄酮类化合物的提取与分析[J].中国林副特产,2004,(6):1-4.
- [4] 田洪磊,田呈瑞,詹萍.玉米苞叶总黄酮提取工艺研究[J].粮食与油脂,2006,(1):24-26.
- [5] 韩志萍.青海蕨麻中类黄酮的提取及其抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2006,27(1):35-37.
- [6] 裴凌鹏,李文卅,唐粉芳.葛根总黄酮成分的超声提取及抗氧化作用[J].北京联合大学学报(自然科学版),2003,17(3):25-27.

- [7] 周桂, 邓光辉, 梁达文. 超声波水提取山楂叶中黄酮的研究[J]. 西南农业大学学报, 2005, 27(5): 605-607.
- [8] 张匀, 栾雨时, 张华微. 甘薯叶中黄酮类化合物的提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(6): 92-94.
- [9] 李云志, 曾凡骏, 李帆. 元宝枫叶总黄酮的提取研究[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(1): 28-32.
- [10] 高中松, 丁文, 高亮. 超声波提取桑叶中总黄酮的工艺研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(4): 116-119.
- [11] 张玉祥, 邱蔚芬. 银杏叶超声波提取工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 7(5): 784-785.
- [12] 张胜帮, 赵玲玲. 淡竹叶中黄酮类化合物的提取研究[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 255-258.
- [13] 王晓, 江婷, 程传格, 等. 超声波强化提取牡丹花黄酮[J]. 山东科学, 2004, 17(3): 13-15.
- [14] 何扩, 李玉锋, 张秀媛, 等. 超临界流体萃取银杏叶黄酮类物质的研究[J]. 山西食品工业, 2005, (4): 2-5.
- [15] 丁彩梅, 丘泰球, 陆海勤. 双频超声强化超临界流体萃取黄酮类化合物[J]. 化学工程, 2005, 33(6): 67-71.
- [16] 谷玉洪, 罗蒙, 徐飞, 等. 超临界CO₂提取蜂胶中总黄酮的工艺研究[J]. 中草药, 2006, 37(3): 380-383.
- [17] 王邕, 黎海彬, 白先放, 等. 酶解-溶剂法提取罗汉果中黄酮类物质的研究[J]. 食品科技, 2006, (7): 125-127.
- [18] 刘峙嵘, 俞自由, 方裕勋, 等. 微波萃取银杏叶黄酮类化合物[J]. 东华理工学院学报, 2005, 28(2): 151-154.
- [19] 王永宁, 卢挺, 石玉平. 槐花中黄酮类物质提取研究[J]. 青海师范大学学报(自然科学版), 2003, (4): 49-51.
- [20] 刘健伟, 陈勇, 熊富良, 等. 骨碎补总黄酮提取和大孔吸附树脂纯化的工艺研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(16): 1222-1224.
- [21] 雍晓静, 刘钢, 张境. 应用大孔树脂分离纯化枸杞叶总黄酮的研究[J]. 宁夏大学学报, 2005, 26(2): 148-150.
- [22] 刘火安, 王伯初, 戴传云, 等. 利用大孔树脂从葛根中分离纯化总黄酮[J]. 中国药学, 2006, 15(2): 121-126.
- [23] 葛淑兰, 田景振. 大孔吸附树脂对淫羊藿总黄酮的分离纯化工艺研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(5): 365-367.
- [24] 周小华, 陈器. D241树脂分离纯化黄芩总黄酮的研究[J]. 离子交换与吸附, 2002, 18(1): 36-44.
- [25] 应国清, 王玉姣, 易喻, 等. 银杏叶黄酮类化合物的分离纯化[J]. 中国生化药物杂志, 2006, 27(1): 43-45.

Advance in Researches on Extraction and Purification of the Flavonoid Compounds

ZHANG Shengbang, ZHAO Lingling

(School of the Biological and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou, China 325035)

Abstract: This paper reviews the research of new trends of the extraction and separation results in the flavonoid compounds, focusing on the research and development of the ultrasonic extraction, supercritical fluid extraction and purification of flavonoid compounds by resins. The evaluation was also posed for the application prospects of the flavonoid compounds extraction and purification technologies and application development prospects of the related products.

Key words: Flavonoid compounds; Ultrasonic extraction; Supercritical fluid extraction; Resin Purification

(编辑: 王一芳)