

滁菊多糖与黄酮联合提取工艺研究

殷培峰 王春晓 向玉勇

滁州学院生物与食品工程学院, 安徽 滁州 239000

摘要: 为高效获取滁菊活性物质多糖与黄酮, 采用水提辅助超声获得多糖与黄酮, 在料液浓度、提取时间、提取温度、提取次数单因素实验基础上, 采用正交实验优化提取工艺条件, 确定多糖与黄酮联合提取工艺条件。结果显示最佳条件为: 料液浓度 0.05 g/ml, 提取时间为 70 min, 提取温度为 70 °C, 提取次数 3 次, 此条件下多糖与黄酮的提取得率最高, 多糖含量 56.03 mg/g, 黄酮含量 4.82mg/g, 得率分别为 10.03% 和 4.82%。

关键词: 滁菊; 多糖; 黄酮; 联合提取

Extraction Methods of *Chuzhou Chrysanthemum* Polysaccharides and Flavonoids

Yin,Peifeng Wang,Chunxiao Xiang,Yuyong

School of Biological Science and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou, Anhui, 239000, China

Abstract: The ultrasonic-assisted extraction was used to efficiently extract the active substances of polysaccharides and flavonoids from *Chuzhou chrysanthemum*. Orthogonal experiment was conducted to optimize the extraction rate of polysaccharides and flavonoids on the basis of single factor experiment, including solid-liquid concentration, extraction time, extraction temperature and extraction times. The results show that liquid-to-solid ratio: 0.05 g/ml, ultrasonic time: 70 min, extraction temperature: 70 °C, repeat 3 times. Under these conditions, the polysaccharides and flavonoids extraction yield were 56.03 mg/g and 4.82 mg/g, the rates were 10.03% and 4.82% respectively.

Keywords: *Chuzhou chrysanthemum*; Polysaccharides; Flavonoids; Joint extraction

DOI: 10.62639/sspis20.20250201

滁菊属于菊目, 菊科植物, 主产于滁州, 为中国“四大名菊”之一, 清朝被纳为贡品, 故有“滁州贡菊”之称, 为地理标志保护产品。滁菊性微寒, 味辛、苦、甘, 具有清热解毒、平肝明目之功。现代药理检测表明, 滁菊中含有黄酮、多糖、挥发油, 人体必须的氨基酸、谷氨酸、赖氨酸及锌、硒等十种天然微量元素^[1]。

滁菊黄酮类化合物总量比其他菊花高 32%~61%, 具有抗氧化、抗肿瘤等多种生理功能, 常采用回流提取、超声辅助、微波提取等分离方法进行提取。因黄酮苷元易溶于甲醇、乙醇、丙酮等有机溶剂, 黄酮苷易溶于水, 难溶于有机溶剂, 可采用水溶液、弱碱水溶液和醇溶液作为提取剂进行提取。刘巧利^[2]利用醇溶液联合超声辅助提取从菊花中提取黄酮, 提取率为 10.93%。姜自红^[3]等比较水和醇溶液提取滁菊黄酮差异, 发现醇提得率为 34.08 mg/g, 水提得率为 26.00 mg/g。

目前从滁菊中提取多糖多采用热水浸提法、超声波辅助提取法。戴缘缘^[4]等果胶酶和纤维素酶复合酶处理滁菊, 再用水提法提取多糖, 滁菊多糖得率可达 $(13.95 \pm 0.16)\%$ 。于士军^[5]等发现滁菊水溶性多糖为 α -型吡喃构成的酸性蛋白聚糖, 对羟基自由基、超氧自由基和 DPPH 自由基的清除能力。

单一的提取某种成分会造成原料浪费, 联合提取多糖与黄酮可提高滁菊的利用率。根据多糖

与黄酮的性质, 可采用大孔树脂进行分离, 去离子水洗脱多糖, 乙醇洗脱黄酮, 李宁^[6]使用响应面法联合提取苦荞子中黄酮和多糖, 多糖的得率为 12.40%、黄酮的得率为 1.20%。本研究通过超声辅助联合提取滁菊中多糖与黄酮, 能够降低成本, 增强滁菊的综合开发利用效率。

一、材料方法

(一) 试验材料

滁菊栽种于滁州市城郊实验基地, 盛花期采集, 蒸汽杀青, 热泵干燥, 低温保存备用。

(二) 试剂和仪器

试验试剂: 芦丁标准品, 分析纯葡萄糖、乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、蒽酮、硫酸、大孔树脂。

试验仪器: 千分之一天平 (SF400), 真空冷冻干燥机 (HX-10-50B), 粉碎机 (ALE-DX800), 数码超声提取器 (CJ-100SD), 紫外分光光度计 (L6), 真空泵抽滤装置 (SHZ-D), 大孔树脂层析柱 (CXZ)。

二、试验方法

(一) 工艺流程

将滁菊粉碎过 40 目筛, 热水超声浸提滁菊, 通过抽滤使上清液与残渣分离, 得到上清液, 将

(稿件编号: IS-25-1-1021)

作者简介: 殷培峰 (1979-), 男, 汉, 山东费县, 滁州学院生物与食品工程学院学院, 博士研究生, 主要研究方向为生物活性物质提取及性质研究。

上清液经过大孔树脂, 用去离子水洗脱多糖, 再用 70% 乙醇洗脱黄酮, 洗脱后的多糖与黄酮经旋转蒸发浓缩后冷冻干燥, 得到多糖与黄酮提取物^[7]。

大孔树脂进行预处理、装柱、平衡, 去离子水洗脱, 滁菊浸提液装入大孔树脂柱中, 用去离子水洗脱多糖, 70% 乙醇洗脱黄酮。

(二) 多糖黄酮含量测定方法

多糖的测定根据蒽酮-硫酸比色法^[8], 以葡萄糖溶液质量浓度 (ug/mL) 为横坐标, OD (620 nm) 为纵坐标, 得标准曲线方程: $y=12.955x-0.0075$, $R^2=0.999$

黄酮的测定根据芦丁标准品测定法^[9], 以芦丁溶液质量浓度 (ug/ml) 为横坐标, OD 值为纵坐标, 得标准曲线方程: $y=19.4x-0.008$, $R^2=0.9999$ 。

(三) 提取工艺条件的单因素实验

滁菊多糖与黄酮的提取率为指标, 各因素基本提取设置为料液浓度 0.04 g/ml, 提取温度 40

℃, 提取时间为 60 min, 提取次数 2 次, 测出不同的料液浓度下滁菊多糖与黄酮的提取率。料液浓度 0.02 g/ml、0.04 g/ml、0.06 g/ml、0.08 g/ml、0.10 g/ml, 提取温度 50 ℃、60 ℃、70 ℃、80 ℃、90 ℃, 提取时间 20 min、40 min、60 min、80 min、100 min, 提取次数 1、2、3、4、5 次。

(四) 提取工艺条件的优化实验

在滁菊多糖与多糖提取工艺条件的单因素实验基础上, 分别选取料液浓度、提取温度、提取时间按这三因素, 取三水平, 使用 L9(3*4) 进行正交实验, 通过实验测定数据分析获得最佳条件。

三、结果与分析

(一) 提取工艺各个因素对滁菊生物活性物质提取效果的影响

1. 对滁菊多糖与黄酮提取效果的影响

在滁菊多糖与黄酮提取工艺条件的单因素实验中, 料液浓度、提取时间、提取温度对滁菊多糖与黄酮的提取效果的影响如下图显示。

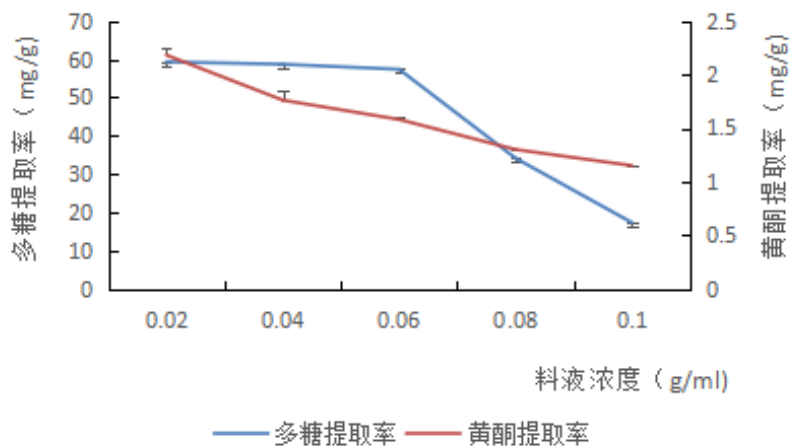


图 1 料液浓度对滁菊多糖与黄酮提取率的影响

由图 1 可知, 滁菊多糖与黄酮的提取率随着料液浓度的增大而降低, 当料液浓度低于 0.06 g/ml 时, 多糖提取率相差不大, 呈缓慢下降趋势, 当料液浓度高于 0.06 g/ml 时, 多糖提取率下降。随着料液浓度的增大黄酮提取率一直在降低, 故

滁菊多糖与黄酮联合提取工艺选料液浓度为 0.06 g/ml 时为宜。在料液浓度达到一定浓度时, 多糖与黄酮溶出量达到最大值, 后随着料液浓度得增大, 滁菊多糖与黄酮并未溶出, 导致多糖与黄酮得提取率在降低。

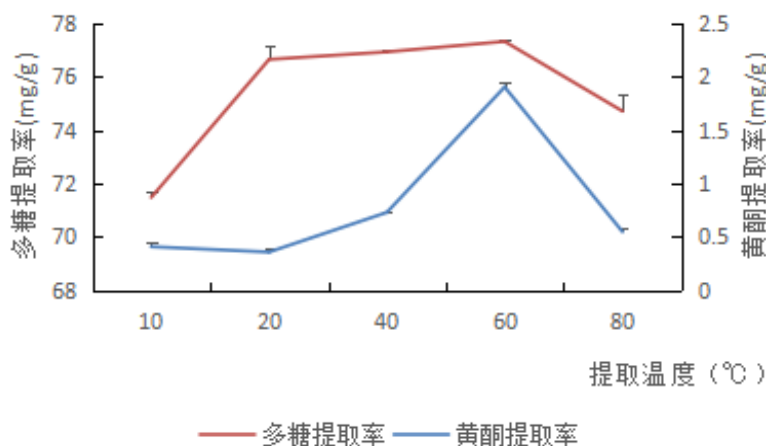


图 2 提取温度对滁菊多糖与黄酮提取率的影响

由图 2 可知, 滁菊多糖与黄酮的提取率随着提取温度的变化有显著差异, 一开始温度越高多糖与黄酮的溶解性越强, 提取率逐渐升高, 在提取温度为 60 ℃ 时, 多糖和黄酮的提取率最高, 后快速降低。温度过高容易破坏多糖结构, 黄酮

的核心色原酮被破坏, 故影响其得率, 故提取温度在 60 ℃ 时, 多糖结构可能被破坏从而导致滁菊多糖的提取率降低。在温度为 60 ℃ 时, 黄酮的提取率最高, 故滁菊中多糖与黄酮联合提取工艺的提取温度为 60 ℃ 时为宜。

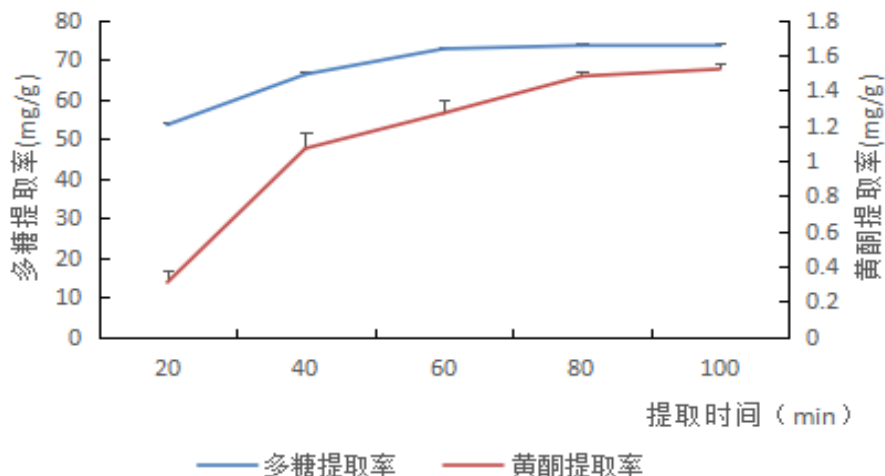


图 3 提取时间对滁菊多糖与黄酮提取率的影响

由图 3 可知, 滁菊多糖与黄酮的提取率随着提取时间的增加而增加, 在 80 min 以上, 多糖和黄酮的提取率缓慢增加, 提取率相差不大, 故研究滁菊中多糖与黄酮联合提取工艺的提取时间选 80 min 为宜。

(二) 正交试验结果与分析

根据单因素实验结果设计正交实验方案并进行正交实验, 在正交实验时需准确记录实验数据, 并且根据实验数据进行数据分析, 从而得出滁菊联合提取多糖与黄酮的最优工艺。

从滁菊中提取多糖时的料液浓度、提取时间、提取温度的影响因素大小为 $B > A > C$, 即提取时间 $>$ 料液浓度 $>$ 提取温度, 最佳组合为 $A_1B_3C_3$, 即料液浓度为 0.05 g/mL, 提取时间为 70 min, 提取温度为 70 ℃。从滁菊中提取黄酮时的料液浓度、提取时间、提取温度的影响因素大小为 $B > C > A$, 即提取时间 $>$ 提取温度 $>$ 料液浓度, 最佳组合为 $A_1B_3C_3$, 即料液浓度为 0.05 g/mL, 提取时间为 70 min, 提取温度为 70 ℃。本试验研究从滁菊中联合提取多糖与黄酮的最佳工艺, 综合多糖与黄酮的联合提取工艺数据结果可知, 最佳工艺为 $A_1B_3C_3$, 即料液浓度为 0.05 g/mL, 提取时间为 70 min, 提取温度为 70 ℃。

(三) 最佳工艺验证

取 5 g 滁菊粉与 100 mL 去离子水混合, 再将滁菊溶液置于 70 ℃ 的数码超声波清洗机中水浴 70 min, 之后通过抽滤得滁菊上清液经过大孔树脂洗脱色素, 用去离子水洗脱多糖, 再用 95% 乙醇洗脱黄酮, 多糖溶液与黄酮溶液用紫外分光光度计分别测定含量, 得到的试验结果为多糖为 56.03 mg/g, 黄酮为 4.82 mg/g。此实验条件得到的滁菊多糖与黄酮含量都较高, 为滁菊中联合提取多糖与黄酮的最优工艺。

四、结论

综合实验及实际生产, 选择料液浓度为 0.02 g/mL, 提取时间为 60 min, 提取温度为 60 ℃ 的生产工艺, 不仅可以有效的滁菊中联合提取多糖与黄酮, 而且有效的降低了生产成本, 更加符合生产需要。

参考文献:

- [1] 瞿璐, 王涛, 董勇喆, 等. 菊花化学成分与药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(01): 98-104.
- [2] 刘巧利, 王柳云, 严建业, 等. 山楂中总黄酮和多糖的提取工艺研究 [J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(09): 162-165.
- [3] 姜自红, 安晓婷, 梁建军. 5 种茶用菊不同提取方法总黄酮含量的比较 [J]. 湖南文理学院学报 (自然科学版), 2019, 31(2): 27-29, 63.
- [4] 戴缘缘, 吴学风, 孟飞, 等. 复合酶辅助提取滁菊多糖工艺条件优化 [J]. 玉溪师范学院学报, 2017, 33(12): 25-29.
- [5] 于士军, 王睿, 祁婉玲, 等. 响应面法优化超声波提取滁菊水溶性多糖工艺及其红外光谱分析 [J]. 安徽农业大学学报, 2019, 46(4): 595-602.
- [6] 李宁, 马绍英, 张允, 等. 响应面法优化苦荞籽中黄酮和多糖的联合提取工艺 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(12): 5222-5230.
- [7] 钟姣姣, 李万林. 超声波辅助提取菊花中总黄酮工艺条件研究 [J]. 皮革与化工, 2014, 31(03): 17-20+33.
- [8] 刘凡, 黄勇, 廖森泰, 肖更生, 邹宇晓, 施英, 穆利霞, 刘军, 沈维治. 应用响应面法优化桑叶多糖、黄酮和生物碱联合提取工艺条件 [J]. 蚕业科学, 2013, 39(03): 568-575.
- [9] 刘汉珍, 肖新, 毛斌斌, 等. 滁菊叶中黄酮类成分的提取工艺优化 [J]. 安徽科技学院学报, 2011, 25(05): 33-36.