

## 莲心中总黄酮的提取工艺优化研究

林文珍<sup>1</sup>, 龚金炎<sup>2,3</sup>, 李利明<sup>4</sup>, 肖功年<sup>2,3</sup>, 葛青<sup>2,3</sup>, 计勤峰<sup>4</sup>

(1. 浙江熊猫乳业集团股份有限公司, 浙江 温州 325800; 2. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 杭州 310023;  
3. 浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室, 杭州 310023; 4. 嘉兴市乐丰年食品有限公司, 浙江 嘉兴 314016)

**摘要:** 以莲心为原料, 以总黄酮得率和提取物得率为指标, 考察提取温度、乙醇体积分数、提取时间和料液比 4 个主要因素, 通过单因素和正交试验, 研究莲心中总黄酮的最佳提取工艺。研究表明, 莲心中总黄酮的最佳提取工艺为: 乙醇体积分数 70%, 提取温度 90 ℃, 料液比 1 : 30, 提取时间 2.5 h; 在此工艺条件下, 总黄酮得率 1.669%, 提取物得率 30.748%。

**关键词:** 莲心; 黄酮; 得率; 工艺优化

中图分类号: TS201.2; R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2016)01-0053-05

## Optimization extraction of flavonoids from plumula nelumbinis

LIN Wenzhen<sup>1</sup>, GONG Jinyan<sup>2,3</sup>, LI Liming<sup>4</sup>, XIAO Gongnian<sup>2,3</sup>, GE Qing<sup>2,3</sup>, JI Qinfeng<sup>4</sup>

(1. Zhejiang Panda Dairy Corporation, Wenzhou 325800, China; 2. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China; 3. Zhejiang Provincial Key Laboratory for Chemical and Biological Processing Technology of Farm Produce, Hangzhou 310023, China;  
4. Jiaxing Lefengnian Food Co., Ltd, Jiaxing 314016, China)

**Abstract:** With plumula nelumbinis as experimental material and yield of total flavonoids and extracts as indexes, the effects of four independent variables in terms of ethanol concentration, extract temperature, extract time and solid-liquid ratio of flavonoids were studied. By single factor and orthogonal test, the optimum extraction conditions were as follows: ethanol volume fraction 70%, extract temperature 90 ℃, solid-liquid ratio 1 : 30 and extract time 2.5 h. Under these conditions, the flavonoids yield and extracts yield are 1.669% and 30.78%.

**Keywords:** plumula nelumbinis; flavonoids; extraction rate; process optimization

---

**收稿日期:** 2015-06-24

**基金项目:** 国家星火计划重大项目(2015GA710001); 嘉兴市科技计划项目(2014BY26010); 嘉兴市秀洲区科技计划项目(2014B001)

**作者简介:** 林文珍(1969—), 女, 浙江省苍南人, 工程师, 主要从事食品生产工艺研究开发与管理工作。

**通信作者:** 龚金炎, 副教授, 博士, 主要从事天然产物与功能性食品研究。

莲心为植物莲(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)成熟种子中的绿色幼叶及胚根,又称莲芯、莲子心等,其性味苦寒,入心、肺、肾三经,具有清心安神、交通心肾、涩精止血之功效<sup>[1]</sup>。莲心含有生物碱、黄酮、甾醇等多种活性成分,能降血压、抗心律失常、保护心肌、清热降火、降血糖<sup>[2-3]</sup>。黄酮广泛存在于植物界,具有抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、抗菌、抗炎等多种生理和药理活性的天然次生代谢产物活性<sup>[4-5]</sup>。莲心含金丝桃苷、木犀草素、芦丁等黄酮类化合物,具有良好的营养保健功效,且无毒副作用,可应用于食品加工和饮料制造业中<sup>[6-11]</sup>。本研究以总黄酮得率和提取物得率为指标,对莲心的醇提工艺进行优化,希望能为企业的实际生产提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

莲心:嘉兴市乐丰年食品有限公司;芦丁:美国 Sigma 公司,纯度为 98.5%;无水乙醇、甲醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠均为分析纯。

### 1.2 试验仪器

中药粉碎机,上海淀久中药机械制造有限公司;HH-6 数显恒温水浴锅,常州澳华仪器有限公司;电子天平,上海精密科技仪器有限公司;GZX-9076MBE 电热鼓风干燥箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;721G 可见分光光度计,上海精密科技仪器有限公司;XW-80A 微型漩涡混合仪,上海沪西分析仪器有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 样品预处理

人工挑拣除去样品中的杂质,50℃干燥 4 h,中药粉碎机粉碎,过 60 目筛,备用。

#### 1.3.2 标准曲线的绘制

准确称取经 105℃干燥至恒重的芦丁标准品 15.0 mg(精确至 0.1 mg),甲醇溶解并定容至 100 mL,配成 0.15 mg/mL 的芦丁标准溶液。

标准曲线的绘制:分别取 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL 芦丁标准溶液至试管中,加入 30% 的乙醇溶液至 5 mL,再各加入 5% 的 NaNO<sub>2</sub> 溶液 0.3 mL,混匀后放置 5 min;接着加入 10% 的 Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液 0.3 mL,混匀后放置 6 min;然后各加入 1.0 mol/L 的 NaOH 溶液 4 mL,再用 30% 乙醇溶液定容至 10 mL,放置 10 min。以零管作为空白,510 nm 下测定吸光度值,以芦丁质量浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线。

#### 1.3.3 总黄酮得率的计算

准确吸取 1.0 mL 提取液至试管中,按照 1.3.2 方法测定提取液吸光度值,并按线性回归方程计算总黄酮含量,通过式(1)计算得率:

$$\text{总黄酮得率}(\%) = \frac{m_1 V}{m} \times 100. \quad (1)$$

式(1)中: $m_1$  为由吸光度值根据标准曲线计算出单位体积提取液中总黄酮质量,μg/mL; $m$  为提取用莲心粉末的质量,μg; $V$  为提取液总体积,mL。

#### 1.3.4 黄酮提取物得率的计算

取 5.0 mL 的提取液置于烘干后的称量皿中,在干燥箱中 105℃烘 2 h,至液体蒸发完全,放入干燥器冷却至室温,并称重,通过式(2)计算提取物得率:

$$\text{提取物得率}(\%) = \frac{(m_3 - m_2)V}{5W} \times 100. \quad (2)$$

式(2)中: $m_2$  为称量皿的质量,g; $m_3$  为提取物干燥后的质量,g; $V$  为提取液总体积,mL; $W$  为提取用莲心的质量,g。

#### 1.3.5 单因素试验

1.3.5.1 乙醇体积分数的单因素试验 取 5.0 g 莲心粉末加入圆底烧瓶中,分别加入 50%、60%、70%、

80%、90%乙醇溶液 100 mL, 70 ℃下回流浸提 2 h, 抽滤; 将滤渣在相同条件下进行第二次回流提取, 合并滤液, 用与浸提浓度相同的乙醇溶液定容至 250 mL, 摇匀待测。

1.3.5.2 提取温度的单因素试验 取 5.0 g 莲心粉末加入圆底烧瓶中, 加入 100 mL 的 70%乙醇溶液, 分别在 50、60、70、80、90 ℃下回流浸提 2 h, 抽滤; 将滤渣在相同条件下进行第二次回流提取, 合并滤液, 用与浸提浓度相同的乙醇溶液定容至 250 mL, 摇匀待测。

1.3.5.3 料液比的单因素试验 分别称取 10.00、6.67、5.00、4.00、3.33 g 莲心粉末, 加入圆底烧瓶中, 倒入 100 mL 的 70%乙醇溶液(即料液比 1:10、1:15、1:20、1:25 和 1:30), 70 ℃下回流浸提 2 h, 抽滤; 将滤渣在相同条件下进行第二次回流提取, 合并滤液, 用与浸提浓度相同的乙醇溶液定容至 250 mL, 摇匀待测。

1.3.5.4 提取时间的单因素试验 取 5.0 g 莲心粉末, 加入圆底烧瓶中, 倒入 100 mL 的 70%乙醇溶液, 在 70 ℃下分别回流浸提 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h, 抽滤; 将滤渣在相同条件下进行第二次回流提取, 合并滤液, 用与浸提浓度相同的乙醇溶液定容至 250 mL, 摇匀待测。

### 1.3.6 正交试验

在单因素研究基础上, 选取乙醇体积分数、提取温度、料液比和提取时间 4 个因素的较优工艺, 进一步研究莲心中的黄酮提取工艺。

## 2 结果与讨论

### 2.1 标准曲线

以芦丁质量浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为  $y=0.012\ 9x-0.029$ , 相关系数  $R^2=0.999\ 8$ , 标准曲线如图 1 所示。

### 2.2 单因素试验结果

#### 2.2.1 乙醇体积分数对莲心总黄酮得率和提取物得率的影响

由图 2 可知, 乙醇体积分数低于 70% 时, 总黄酮得率和提取物得率随着乙醇体积分数的增加而增加, 乙醇体积分数大于 70% 时, 两者开始下降, 即在乙醇体积分数为 70% 时总黄酮得率和提取得率最高, 莲心中的主要黄酮物质金丝桃苷、木犀草素、芦丁属于中等极性, 因此在乙醇体积分数 70% 时, 提取得率最大; 相比较而言, 提取物得率的升降幅度比总黄酮得率大一些。综合考虑, 最终选择乙醇体积分数为 60%、70%、80% 三水平作正交试验。

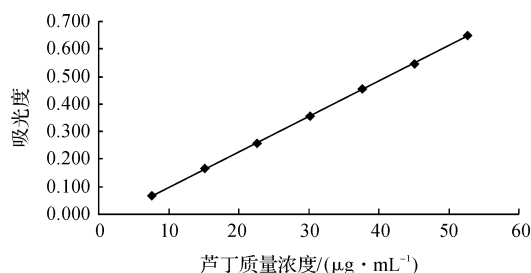


图 1 芦丁标准曲线

Fig. 1 Standard curve of rutin

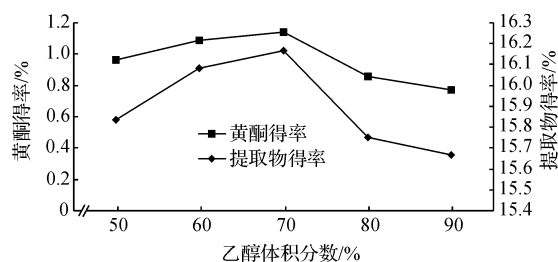


图 2 乙醇体积分数对莲心总黄酮和提取物得率的影响

Fig. 2 Effect of ethanol concentration on yield of total flavonoids and extracts

#### 2.2.2 提取温度对莲心总黄酮得率和提取物得率的影响

由图 3 可知, 总黄酮得率和提取物得率随着提取温度的升高而增加, 虽然增速不同, 但整体呈上升趋势, 且提取物得率的增幅比总黄酮得率的增幅大。总黄酮得率和提取物得率都在 90 ℃ 呈现最高值。考虑到水的沸点及提取温度太高的时候乙醇和水易挥发损失等问题, 选择提取温度为 70、80、90 ℃ 三水平作正交试验。

#### 2.2.3 料液比对莲心总黄酮得率和提取物得率的影响

由图 4 可知, 随着料液比的增大, 总黄酮得率和提取物得率逐渐增加并趋于稳定, 料液比对总黄酮得

率和提取物得率的影响效果趋势差不多,总黄酮得率和提取物得率都在料液比为 1 : 30 时出现最大值。综合考虑趋势及称取精确性等因素,最终选择料液比为 1 : 20、1 : 25、1 : 30 三个水平作正交试验。

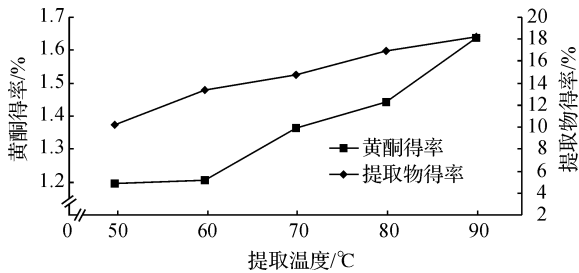


图 3 提取温度对莲心总黄酮和提取物得率的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on yield of totle flavonoids and extracts

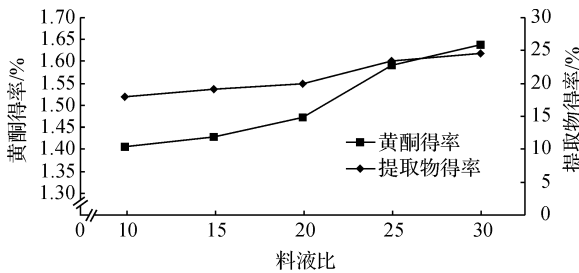


图 4 料液比对莲心总黄酮和提取物得率的影响

Fig. 4 Effect of material/liquid ratio on yield of totle flavonoids and extracts

2.2.4 提取时间对莲心总黄酮得率和提取物得率的影响

由图 5 可知,随着提取时间的增加,总黄酮得率和提取物得率也逐渐增加,从图中可以看出,提取物得率有趋于平稳的趋势,而总黄酮得率还有上升的趋势,试验中总黄酮得率和提取物得率都在 3.0 h 出现最大值,综合考虑能源消耗、时间和提取效率,最终选择 2.0、2.5、3.0 h 三水平作正交试验。

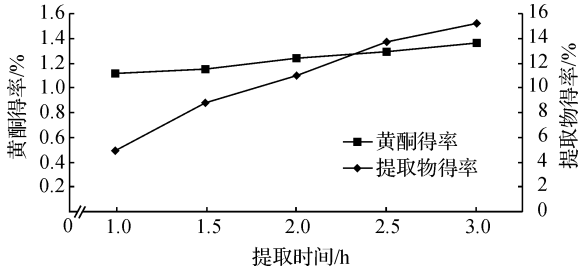


图 5 提取时间对莲心总黄酮和提取物得率的影响

Fig. 5 Effect of extraction time on yield of totle flavonoids and extracts

2.2.5 正交试验

根据单因素试验结果,设计了四因素三水平的正交试验(表 1),结果见表 2。

表 1  $L_9(3^4)$  正交试验设计表

Table 1 Orthogonal array design matrix of $L_9(3^4)$				
水平	乙醇体积分数/%	提取温度/°C	料液比/(g : mL)	提取时间/h
	A	B	C	D
1	60	70	1 : 20	2.0
2	70	80	1 : 25	2.5
3	80	90	1 : 30	3.0

表 2  $L_9(3^4)$  正交试验结果

Table 2 Orthogonal array experimental results of $L_9(3^4)$						
序号	A	B	C	D	总黄酮得率/%	提取物得率/%
1	1	1	1	1	0.929	23.831
2	1	2	2	2	1.061	26.039
3	1	3	3	3	1.179	26.748
4	2	1	2	3	1.098	26.434
5	2	2	3	1	1.202	26.499
6	2	3	1	2	1.257	27.249
7	3	1	3	2	0.971	23.874
8	3	2	1	3	0.994	23.915
9	3	3	2	1	1.047	24.479
K1	1.056	0.999	1.060	1.059		
K2	1.186	1.086	1.069	1.096		
K3	1.004	1.161	1.117	1.090		
总黄酮得率极差	0.182	0.162	0.057	0.037		
k1	25.539	23.713	24.998	24.936		
k2	25.727	25.484	24.651	25.721		
k3	24.089	26.159	25.707	24.699		
提取物得率极差	1.638	2.446	1.056	1.022		

由正交试验结果可知,各因素对莲心总黄酮得率的影响由大到小为:乙醇体积分数>提取温度>料液比>提取时间;各因素对莲心提取物得率的影响由大到小为:提取温度>乙醇体积分数>料液比>提取时间;莲心中黄酮提取的最佳提取工艺条件为  $A_2B_3C_3D_2$ ,即乙醇体积分数为 70%、提取温度为 90℃、料液比为 1:30、提取时间为 2.5 h。

### 3 结 语

由单因素和正交试验结果可知,莲心中总黄酮提取的最佳提取工艺条件为  $A_2B_3C_3D_2$ ,即乙醇体积分数为 70%、提取温度为 90℃、料液比为 1:30、提取时间为 2.5 h。通过 3 次验证试验,莲心中总黄酮得率和提取物得率分别为 1.660% 和 30.759%,1.671% 和 30.744%,1.677% 和 30.740%,平均值为 1.669% 和 30.748%,均高于单因素和正交试验中的任何一组,该方案较优。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2005:193.
- [2] 吴芳彤,肖贵平,范娟娟. 超声波辅助提取莲心黄酮类物质的工艺研究[J]. 农产品加工:学刊,2012(11):73.
- [3] 肖贵平. 莲心菊花保健饮料的研制[J]. 农学学报,2012,2(3):44.
- [4] 龚金炎,张英,吴晓琴. 黄酮类化合物抗病毒活性的研究进展[J]. 中草药,2008,39(4):623.
- [5] 龚金炎,洪辉,吴晓琴,等. 黄酮类化合物的促氧化作用及其细胞毒性研究进展[J]. 中草药,2008,39(12):1905.
- [6] 肖贵平. 建莲莲心的保健功效及其在食品中的应用[J]. 亚热带农业研究,2009,5(3):207.
- [7] 杨明,黄剑波,胡文娥. 微波、超声波提取莲子芯黄酮方法比较[J]. 食品研究与开发,2008,29(4):70.
- [8] 余其凤,周文富. 莲子心总黄酮的微波辅助提取研究[J]. 化学与生物工程,2011,8(2):43.
- [9] 蔡定建,柳茶花,钟鸿鸣,等. 莲子心中黄酮类物质的提取和测定[J]. 中国酿造,2010(1):132.
- [10] 肖贵平. 响应面法优化莲心黄酮类物质微波提取工艺的研究[J]. 热带作物学报,2011,32(11):2163.
- [11] 刘大群,冯启利,吕锋. HPLC 法检测莲心水提取液中生成的沉淀对其主要保健组分——黄酮类物质的影响[J]. 饮料工业,2006,9(6):37.

(上接第 52 页)

#### 参考文献:

- [1] 刘树文. 合成香料技术手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000:396.
- [2] KOMARNENI S, RAJHA R K, KATSUKI H. Microwave-hydrothermal processing of titanium dioxide [J]. Materials Chemistry and Physics,1999, 61(1):51.
- [3] 卢帆,陈敏. 溶胶凝胶法制备粒径可控纳米二氧化钛[J]. 复旦学报(自然科学版),2010,49(5):595.
- [4] 董成,王刚,侯鑫,等. Sol-gel 法制备  $SO_4^{2-}/ZrO_2-SiO_2$  及催化合成对硝基苯甲酸甲酯的研究[J]. 化学研究与应用,2014, 26(4):518.
- [5] 夏启斌,李忠,奚红霞,等.  $TiO_2$  的微波辐射 Sol-Gel 法制备及其光催化性能[J]. 华南理工大学学报(自然科学版),2003,31(11):94.
- [6] 付贤智,丁正新,苏文悦,等. 二氧化钛基固体超强酸的结构及其光催化氧化性能[J]. 催化学报,1999,20(3):322.
- [7] 姜艳玲,王九思,刘剑,等. 固体超强酸  $SO_4^{2-}/TiO_2-Fe_2O_3$  的制备及其光催化性能[J]. 兰州交通大学学报,2008, 27(6):166.
- [8] 高远,徐安武. 固体超强酸催化剂  $SO_4^{2-}/TiO_2$  的制备及其光催化氧化性能[J]. 广东有色金属学报,2002,12(2):93.
- [9] 杨柯,刘阳,尹虹. 纳米二氧化钛的制备技术研究[J]. 中国陶瓷,2004,40(4):10.
- [10] 徐骏,王刚,董成,等. Sol-gel 法制备  $S_2O_8^{2-}/ZrO_2-SiO_2$  及其微波辐射下催化合成乙酸正丁酯的研究[J]. 化学研究与应用,2015,27(7):1063.