

超声波提取芦荟中芦荟苷的工艺研究

吉惠杰,杨艳俊,薛俊礼,赵文卓

(吉林化工学院 化学与制药工程学院,吉林 吉林 132022)

摘要:为探讨提取芦荟中芦荟苷的最佳工艺条件,以芦荟苷含量为指标,超声波辅助法进行正交试验,确定芦荟苷提取工艺。结果表明:超声波提取的最佳工艺条件为:乙醇浓度 80%,料液比 1:55,超声温度 35℃,超声时间 40 min。在此条件下,用紫外分光光度法测定所提取芦荟苷的含量为 $8.520 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。芦荟苷正交提取工艺的研究结果可靠。

关键词:芦荟;芦荟苷;超声波提取;正交试验

中图分类号:TQ464.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)02-0094-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.02.0094

芦荟为百合科(Liliaceae)芦荟属(*Aloe*)多年生、常绿、肉质草本植物,是一种药食同源的绿色植物资源,其生理活性成分含量极其丰富,目前已经发现 130 多种^[1],对身体保健和疾病治疗发挥着神奇功效^[2]。祖国医学认为芦荟性寒、味苦,入肝、心、脾经。清肝热、通便,用于便秘、小儿疳积惊风、外治湿癣^[3],还可用于杀虫、妇女闭经及痔瘕等疾病^[4]。芦荟化学成分复杂,其中最主要的是芦荟苷,又称芦荟素,具有增强免疫功能、抗肿瘤^[5-6]、排毒通便^[7]、抗菌、抗胃损伤及保肝以及保护皮肤等功效^[8]。

传统的提取方法多为浸提法或醇提法,这些方法耗时长,提取物有效成分含量低。超声波是一种高频机械波,通过超声空化体系提供能量,可瞬间实现高温和高压^[9]。许多研究表明,利用超声波产生的强烈振动、高的加速度、强烈的空化效应及搅拌作用等,可加速植物材料中的有效成分进入溶剂,从而增加有效成分的提取率,缩短提取时间,还可避免高温对提取成分的影响^[10]。

1 材料与方法

1.1 材料

超声波清洗器(SK6200LH,上海科导超声仪器有限公司),紫外可见分光光度计(TU-1810型,北京普析通用仪器有限公司),旋转蒸发器(RE-52A型,上海亚荣生化仪器厂),循环水式真空泵(SHB-III A,上海豫康科教仪器设备有限公司),微量植物粉碎机(FZ102,上海申光仪器仪表有限公司),电子天平(BS-600L型,上海精天电子仪器有限公司)。

芦荟苷标准品(上海源叶生物科技有限公司,批号:20110223),芦荟干叶粉碎过筛(市售),无水乙醇、三氯甲烷、乙酸乙酯、乙醚、硫酸和氢氧化钠所用试剂均为分析纯。

1.2 方法

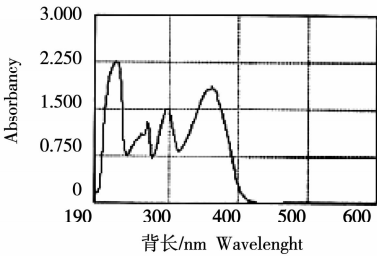
1.2.1 芦荟苷的提取方法 准确称取芦荟干粉 1.0 g,以一定浓度的乙醇作为提取剂,按不同料液比加入烧瓶中置于超声波仪中。在一定的超声时间和超声温度下进行提取。提取液旋转蒸发,浓缩液定容 50 mL,摇匀,移取 1 mL 提取液定容于 25 mL 容量瓶中,摇匀,静置,测吸光度,计算提取率。

1.2.2 芦荟苷含量测定方法 最大波长的确定:精密称取芦荟苷标准品 2 mg,以无水乙醇为溶剂,在烧杯中溶解,定容于 50 mL 容量瓶中,超声一定时间使其充分溶解,配成浓度为 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准品溶液。以未加对照品的试剂空白作参比,用紫外分光光度仪于波长 190~600 nm 扫描,确定最大吸收波为 360 nm。紫外扫描图谱见图 1。

标准曲线绘制:分别移取芦荟苷溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5 和 5.0 mL 定容于 10 mL 容量瓶中,超声一定时间使其混合均匀,稀释为 0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.006、0.007、0.008、0.009 和 0.010 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,在波长 360 nm 处测吸光度。以芦荟苷浓度作为横坐标,吸光度值作为纵坐标,绘制标准曲线见图 2,可得回归线方程: $y = 50.2x + 0.0006$, $R^2 = 0.9997$ 。

收稿日期:2014-06-23

第一作者简介:吉惠杰(1973-),女,吉林省吉林市人,学士,实验师,从事精细有机合成与应用方面的研究。E-mail:jihuijie70@126.com。



NO.	WL(nm)	Abs	WL(nm)	Abs
1	360.0	1.843	312.0	0.828
2	294.0	1.510	274.0	0.732
3	266.0	1.299	262.0	1.071
4	220.0	2.259	238.0	0.777

图 1 芦荟苷标准品紫外光谱图

Fig. 1 Ultraviolet spectrum of the aloin standard

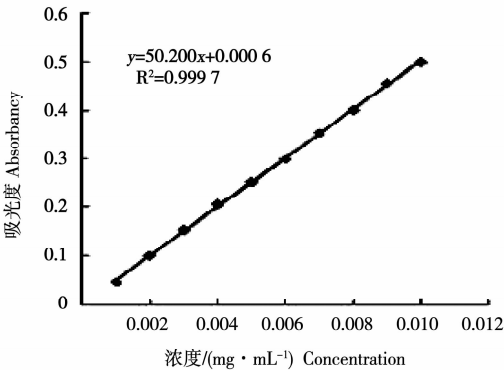


图 2 芦荟苷标准曲线

Fig. 2 Standard curve of aloin

1.2.3 超声时间对芦荟苷的提取效果的影响

精密称取 6 份 1.0 g 芦荟干粉,置于烧瓶中,按料液比 1:35 加入 60%乙醇溶液,超声温度为 25℃,分别超声 20、30、40、50、60 和 70 min。超声完毕

后过滤,将滤液于旋转蒸发仪上浓缩,浓缩液定容于 50 mL 容量瓶,充分摇匀,再移取 1 mL 定容于 25 mL 容量瓶,充分摇匀后在 360 nm 处测量吸光度值。

1.2.4 料液比对芦荟苷提取率的影响 精密称取 6 份 1.0 g 芦荟干粉,置于烧瓶中,按 1:15、1:25、1:35、1:45、1:55 和 1:65 料液比加入 60%乙醇溶液,超声温度 25℃,超声 50 min。超声完毕后过滤,滤液于旋转蒸发仪上浓缩,浓缩液定容于 50 mL 容量瓶,充分摇匀,移取 1 mL 定容于 25 mL 容量瓶,在 360 nm 处测吸光度值。

1.2.5 乙醇浓度对芦荟苷提取率的影响 精密称取 4 份 1.0 g 芦荟干粉,置于烧瓶中,按料液比 1:45 加入 60%、70%、80%、90%浓度的乙醇,超声温度为 25℃,超声 50 min。超声完毕后过滤,滤液于旋转蒸发仪上浓缩,浓缩液定容于 50 mL 容量瓶,充分摇匀,再移取 1 mL 定容于 25 mL 容量瓶,在 360 nm 处测吸光度值。

1.2.6 超声温度对芦荟苷提取率的影响 精密称取 4 份 1.0 g 芦荟干粉,置于烧瓶中,按料液比 1:45 加入 70%乙醇溶液,分别在 25、35、45 和 55℃下超声 50 min。超声完毕后过滤,滤液于旋转蒸发仪上浓缩,浓缩液定容于 50 mL 容量瓶,充分摇匀,再移取 1 mL 定容于 25 mL 容量瓶,在 360 nm处测吸光度值。

1.2.7 正交试验 根据单因素实验探索的结果,通过正交试验对超声波辅助提取芦荟苷工艺进行优化。选择 $L_9(3^4)$ 正交表优化提取实验工艺,因素、水平选择见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels design of orthogonal test

水平 Levels	A 超声时间/min Ultrasonic time	B 乙醇浓度/% Ethanol concentration	C 料液比/(g·mL ⁻¹) Ratio of material and liquid	D 超声温度/℃ Ultrasonic temperature
1	40	60	1:35	25
2	50	70	1:45	35
3	60	80	1:55	45

1.2.8 芦荟提取液的后处理 对芦荟进行提取后,测量紫外吸光度值,溶液集中到废液回收瓶中,用旋转蒸发仪进行减压蒸馏回收乙醇,将浓缩液先用三氯甲烷萃取至三氯甲烷层无色为止,去掉色素及游离的苷元等物质,再用乙酸乙酯萃取多次后,合并萃取后的乙酸乙酯,置旋转蒸发仪旋转蒸发回收乙酸乙酯,得到芦荟苷粗品,用少量乙

醇充分溶解后倒入表面皿中,水浴蒸干,将得到的物质刮取装瓶,即得到芦荟苷粗品,取少量芦荟苷粗品,加入适量乙醇,超声使其充分溶解。再取适量芦荟苷标准品用适量乙醇超声溶解,将两种溶液点板,在展开剂中展开,风干后在紫外灯(365 nm)下观察^[11]。

1.2.9 芦荟苷化学鉴定 取 0.1 g 芦荟粉末,加

10%硫酸水溶液 5 mL,置水浴中加热 2~10 min,趁热过滤,放冷。滤液中加入 2 mL 乙醚,振摇,静置 5 min。分取醚层溶液,加入 5%氢氧化钠溶液 1 mL,振摇,醚层由黄色褪为无色,碱水层显红色^[12]。

2 结果与分析

2.1 超声时间对芦荟苷提取率的影响

由图 3 可知,随着超声时间的增加,芦荟苷的提取率先增加,超过 50 min 则提取率明显下降,推测超声提取 50 min 时芦荟苷的提取液浓度已达到饱和状态,故 50 min 为最佳提取时间。

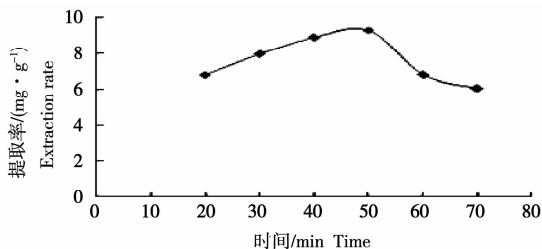


图 3 超声时间对芦荟苷提取率的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonic time on the extraction rate of aloin

2.2 料液比对芦荟苷提取率的影响

由图 4 可知,料液比小于 1:45 时,随着料液比的增加提取率随之增加,在 1:45 处出现拐点,料液比大于 1:45 时提取率趋于直线,考虑节省药品,确定料液比 1:45 为最佳料液比。

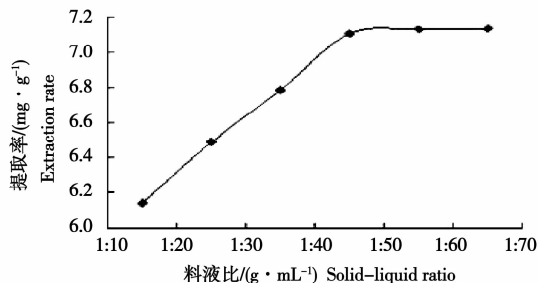


图 4 料液比对芦荟苷提取率的影响

Fig. 4 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of aloin

2.3 乙醇浓度对芦荟苷提取率的影响

由图 5 可知,乙醇浓度小于 70% 时,溶剂极性较小,不利于芦荟苷的溶出。乙醇浓度大于 70% 时,随着浓度的增加,芦荟苷的提取率明显下降。乙醇浓度为 90% 时,提取液呈现明显的绿色并且很澄清,因此推断乙醇浓度太大时,水分较低,不利于植物纤维的溶胀,降低了溶剂与提取物的反应,因此芦荟苷的提取率反而下降。选取

70%乙醇为最佳提取浓度。

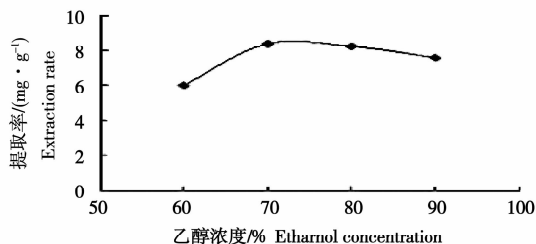


图 5 乙醇浓度对芦荟苷提取率的影响

Fig. 5 Effect of ethanol concentration on the extraction rate of aloin

2.4 超声温度对芦荟苷提取率的影响

由图 6 可知,35℃ 为芦荟苷的最佳超声提取温度。温度超过 35℃ 时,随着温度的增加,芦荟苷提取率明显下降,可能由于温度过高使乙醇挥发从而降低芦荟苷的提取率。

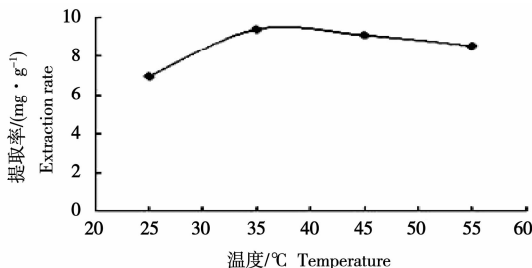


图 6 超声温度对芦荟苷提取率的影响

Fig. 6 Effect of ultrasonic temperature on the extraction rate of aloin

2.5 正交试验

以芦荟苷提取率为考核指标, $L_9(3^4)$ 正交试验结果与分析见表 2。各因素的影响大小顺序为 $B>C>A>D$, 且以 $B_3C_3A_1D_2$ 为最佳工艺条件, 即乙醇浓度为 80%, 料液比为 1:55, 超声温度为 35℃, 超声时间为 40 min。在此工艺条件下提取, 提取率为 $8.520 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.6 验证试验

对正交试验最佳条件进行重复试验(见表 3), 实验结果重复性较好, 平均为 $8.520 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 比正交试验最高得率 $8.426 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 高, 表明正交试验得到的最佳试验条件可靠。

2.7 芦荟提取液的后处理

由图 7 可以看出, 两个斑点迁移率基本一致, 判断其属于同一物质, 但左侧斑点上方有明显的拖尾现象, 说明含有其它成分。

3 结论

通过对比乙醇浓度、料液比、超声时间及超声

表 2 正交试验方案及结果
Table 2 Results of orthogonal experiments

序号 No.	A 超声时间/min Ultrasonic time	B 乙醇浓度/% Ethanol concentration	C 料液比/(g·mL ⁻¹) Ratio of material and liquid	D 超声温度/℃ Ultrasonic temperature	含量/(mg·g ⁻¹) Content
1	1	1	1	1	6.783
2	1	2	2	2	7.978
3	1	3	3	3	8.426
4	2	1	2	3	6.534
5	2	2	3	1	7.754
6	2	3	1	2	8.053
7	3	1	3	2	7.131
8	3	2	1	3	7.256
9	3	3	2	1	8.003
K ₁	23.187	20.448	22.092	22.540	
K ₂	22.341	22.988	22.515	23.162	
K ₃	22.390	24.482	23.311	22.216	
R	0.846	4.034	1.219	0.496	
优水平	A ₁	B ₃	C ₃	D ₂	

表 3 验证试验
Table 3 Validation test

序号 No.	乙醇浓度/% Ethanol concentration	料液比/(g·mL ⁻¹) Ratio of material and liquid	超声温度/℃ Ultrasonic temperature	超声时间/min Ultrasonic time	含量/(mg·g ⁻¹) Content
1	80	1:55	35	40	8.376
2	80	1:55	35	40	8.501
3	80	1:55	35	40	8.526
4	80	1:55	35	40	8.675

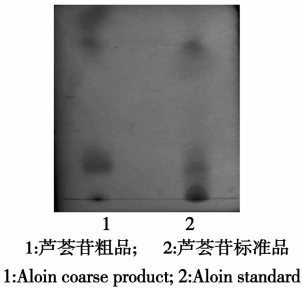


图 7 芦荟苷薄层色谱图
Fig. 7 Aloin thin layer chromatogram

温度对芦荟苷提取率的影响,选择这 4 个因素采用四因素三水平正交试验。结果表明,芦荟苷提取的最佳条件为乙醇浓度为 80%,料液比为 1:55,超声温度为 35℃,超声时间为 40 min。在此条件下的芦荟苷提取率为8.520 mg·g⁻¹。

参考文献:

[1] Dagne E,Bisrat D,Viljoen A,et al. Chemistry of *Aloe species*. current organic chemistry[J]. 2000,4(10):1055.
[2] 岳银屏,吴强,邢旭. 芦荟的稳定性研究[J]. 食品工业科技,

2006,27(10):85.
[3] 刘玉魁,郭赢霞,赵作连,等. 药用芦荟中芦荟苷的提取分离及含量测定[J]. 医学导报,2009,26(4):413-414.
[4] 王莲,吕芳,张荣泉. 植物芦荟的化学成分、药理作用及应用的研究进展[J]. 天津药学,2009,21(2):63-64.
[5] 陈国和,刘玉鑫,张新申,等. 芦荟的化学成分及其分离和分析[J]. 化学研究与应用,2002,4(2):133-135.
[6] 孙海燕,王绿娅,吕树. 芦荟的化学成分与应用概况[J]. 中国药物应用与监,2004(2):40-41.
[7] 罗秉俊,杨芳芳. 库拉索芦荟凝胶加工过程中芦荟苷的控制[J]. 中国农村科技,2009(3):78-79.
[8] 马稳,宋力. 超声提取芦荟中芦荟苷的工艺研究[J]. 食品工艺科技杂志,2008(9):191-194.
[9] 李培,陈少明. 超声波辅助萃取芦荟中蒽醌类化合物工艺研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(11):5867.
[10] 裴正玲,孙婷婷. 黄锁义超声波提取芦荟总黄酮及其鉴别[J]. 微量元素与健康研究,2007,24(1):26-27.
[11] 曾云瑾. 芦荟甙含量测定方法概况[J]. 蛇志,2006,18(3):210-212.
[12] 刘玉魁,郭迎霞,赵作连,等. 药用芦荟中芦荟苷的提取分离及含量测定[J]. 医药导报,2007,26(4):413-414.

AlCl₃比色法测定箬叶总黄酮含量

乐 薇,吴士筠

(武汉工商学院 环境与生物工程学院,湖北 武汉 430065)

摘要:为研究一种测定箬叶黄酮含量简便且标准的方法,以箬叶为试材,建立了 AlCl₃比色法测定箬叶提取液中总黄酮的测定方法,考察了乙醇的浓度、AlCl₃的加入量、pH 以及显色时间等对显色物吸光度的影响。结果表明:AlCl₃法测定箬叶总黄酮的溶剂为 50%乙醇,适宜酸度为 pH 5~6,显色剂 AlCl₃用量为 0.025 mol·L⁻¹,显色时间 20 min,测定波长 415 nm,以芦丁为标样,回归方程 $A=0.0246c+0.0181$,相关系数 $R^2=0.9992$,方法的回收率为 97.94%~103.8%,相对标准偏差为 2.4%。

关键词:箬叶;总黄酮;AlCl₃;比色法

中图分类号:R284 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)02-0098-04 **DOI:**10.11942/j.issn1002-2767.2015.02.0098

生物类黄酮是植物次级代谢产物,具有调节血脂、消除氧自由基、抗氧化、抗肿瘤和抗病毒等生理活性^[1-3],因此受到国内外学者的广泛关注,成为研究的热点问题^[4-6]。箬叶为禾本科竹亚科箬竹属植物叶的总称,主要分布于我国长江以南各省区,自古以来就是端午节标志食品-粽子的包装物^[7]。现代药理分析发现,箬叶杀菌、防腐、抗癌等多种作用显著,可广泛应用于医药、食品及日化用品等^[8-9]。黄酮为箬叶的重要活性成分^[10],但研究报道较少,为加快箬叶黄酮的开发利用,有必要对箬叶黄酮的

含量进行快速有效的监测。测定黄酮类化合物的方法主要有薄层色谱法^[11]、分光光度法^[12]、荧光法^[13]和 HPLC^[14]法等。由于分光光度法具有设备投资小、操作简便和易于工业推广等优点,因此考虑选用分光光度法作为箬叶类黄酮含量的检测方法。分光光度法测定类黄酮的方法主要有 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 显色法和 AlCl₃显色法,经研究发现凡是具有邻苯二羟基的物质均能用 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 显色法进行显色定量,准确度不高,后者对测定总黄酮的专属性较强^[15],故拟采用 AlCl₃显色-分光光度法测定箬叶类黄酮,并对方法的精密度、准确度和稳定性等性能进行考察,为箬叶黄酮含量测定提供一种简便准确的方法。

收稿日期:2014-10-10
基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(2013C111)
第一作者简介:乐薇(1979-),女,湖北省沙市人,硕士,副教授,从事生物分析方面研究。E-mail:yuewei11@126.com。

Study on Extraction Technology of Alion from *Aloe* by Ultrasonic

Ji Hui-jie,YANG Yan-jun,XUE Jun-li,ZHAO Wen-zhuo

(College of Chemical and Pharmaceutical Engineering,Jilin University of Chemical Technology,Jilin,Jilin 132022)

Abstract:In order to investigate the optimum conditions to extract aloin from *Aloe*,taking aloin content as an indicator,the effect of ultrasonic-assisted extraction on aloin in *Aloe* were studied,and the optimal extraction conditions was determined.The results showed that the optimum conditions for ultrasonic extraction: ethanol concentration was 80%,solid-liquid ratio was 1:55,uhrasonic temperature was 35℃ and uhrasonic time was 40 min.Determination of aloin by UV spectrophotometry,the extraction rate could reach 8.520 mg·g⁻¹ under these conditions.The results of orthogonal extraction process of aloin were reliable.

Keywords:*Aloe*; aloin; ultrasonic-assisted extraction; orthogonal