

# 正交设计优化藏红花苷提取工艺

宗春燕, 苏学军

(泰州职业技术学院, 江苏 泰州 225300)

**摘要:**为了优化藏红花苷的提取工艺,以藏红花苷的提取率为指标,在用单因素试验方法考察乙醇浓度、超声时间、超声温度、料液比对藏红花中藏红花苷提取率的基础上,应用正交试验优化藏红花苷提取工艺。结果表明:最佳的提取工艺是乙醇浓度 60%,超声时间 40 min,超声温度 40℃,料液比 1:30。在此条件下,藏红花中藏红花苷的提取率较高。

**关键词:**藏红花;藏红花苷;提取率;正交试验

**中图分类号:**R282 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)08-0081-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.08.0081

藏红花(*Crocus sativus* L.),又称番红花、西红花,藏语称它为卡奇鸽尔更,是鸢尾科番红花的干燥柱头<sup>[1]</sup>。自古以来,藏红花就作为药材、香料或染料在东西方得到广泛应用,但藏红花主要是柱头入药,产量低,资源有限,价格昂贵,又被称为“植物黄金”。对藏红花提取工艺的研究主要集中在柱头部分,藏红花提取物的主要有效成分是藏红花苷类成分、包括藏红花苷-I、藏红花苷-II、藏红花苷-III,以藏红花苷-I为主<sup>[2-4]</sup>。现代药理研究表明,藏红花的提取物具有抗氧化、提高免疫力,防治心血管疾病<sup>[5]</sup>,保肝<sup>[6]</sup>、抗癌的作用<sup>[7]</sup>,同时可应用于开发功能性食品、天然色素、保健性化妆品等,其市场应用前景广阔。本试验通过系统地考察各种因素水平对藏红花苷提取率的影响,并根据正交试验结果确定优化工艺条件,为藏红花苷的提取工艺提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精密实验设备有限公司);HKG-100A 高速粉碎机(姜堰市新康医疗器械有限公司);YP402N 电子天平(上海佑科仪器仪表有限公司);SHZ-88 水浴恒温振荡仪(金坛市医疗仪器厂);KQ-3200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);TG16G 高速离心机(盐城市凯特实验仪器有限公司);SHZ-DIII 循环水真空泵(巩义市予华仪器有

限责任公司);TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

供试藏红花购自泰州市同仁堂药房,所购买的藏红花按照《中国药典》的鉴定方法进行鉴别,鉴定为 *Crocus sativus* L. 的干燥柱头;西红花苷 I 标准品,分析标准级(REBIO R1);其它试剂均为分析纯试剂。

### 1.2 方法

**1.2.1 藏红花苷标准品的 UV 测定** (1)标准品溶液的制备。精密称取藏红花苷标准品 10 mg 于 100 mL 棕色容量瓶中,用 50%乙醇定容至刻度,摇匀,制得 10 mg·100 mL<sup>-1</sup> 标准品溶液,放到 4℃冰箱避光保存,供测试标准曲线用。再用移液枪移取 0.1 mL 上述标准溶液至 100 mL 棕色容量瓶,定容至刻度,制备成浓度为 0.1 μg·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液,放到 4℃冰箱避光保存,供测定最大吸收波长用。取 5 mL 对照品溶液,用紫外分光光度计从 380~600 nm 进行光谱扫描测定最大吸收波长。(2)标准曲线的绘制。精密移取 1、2、3、4、5、6、7、10 mL 的 10 mg·100 mL<sup>-1</sup> 标准品溶液至 25 mL 棕色容量瓶中定容至刻度,按照紫外分光光度法分别测定吸光度。

**1.2.2 藏红花苷的提取** 将藏红花置于 50℃的烘箱中烘干,用高速粉碎机粉碎,过 40 目筛。精密称取 0.3 g 藏红花粉末于 50 mL 烧杯中,按照试验预先设计的因素和水平用一定浓度和体积的乙醇溶液在 25℃下浸渍振荡 30 min、超声提取、离心 10 min(4 000 r·min<sup>-1</sup>),然后移取 1 mL 上清液于 100 mL 容量瓶中,用相应浓度的乙醇定容至刻度,摇匀,抽滤取滤液制成待测液,用一定量的待测液在 437 nm 处测定吸光度,通过标准曲

收稿日期:2017-06-18

基金项目:泰州职业技术学院 2016 年大学生创新创业训练计划资助项目(1121617044)

第一作者简介:宗春燕(1976-),女,江苏省泰兴市人,硕士,讲师,从事精细化学品的制备与工艺研究。E-mail:1034063972@qq.com。

线方程计算所测样品的浓度,并计算提取率。提取率计算公式:

$$x = \frac{C \times V \times n}{1000 \times m} \times 100\%$$

其中,C为藏红花苷浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ );V为溶剂体积(mL);n为稀释倍数;m为样品质量(mg)。

1.2.3 单因素试验 分别考察乙醇浓度为30%、40%、50%、60%和70%,超声时间为10、20、30、40和50 min,超声温度为30、40、50、60和70℃,料液比为1:20、1:30、1:40、1:50和1:60四个单因素的各水平对藏红花苷提取率的影响。乙醇浓度:准确称取0.3 g烘干的藏红花粉末样品5份,分别置于5个洁净的小烧杯中,保持超声温度为40℃、超声时间为30 min,料液比为1:40的条件下,分别使用浓度为30%、40%、50%、60%和70%的乙醇溶液浸取藏红花样品,按照上述提取工艺进行提取,计算各自的提取率。超声时间:在保持乙醇浓度为60%,超声温度为40℃,料液比为1:40的情况下,对超声时间进行单因素考察,依据提取工艺对5个样品进行超声时间的考察,超声时间分别为10、20、30、40和50 min,计算各自的提取率。超声温度:在保持乙醇浓度为60%,超声时间为40 min,料液比为1:40条件下,超声温度分别为30、40、50、60和70℃依据提取工艺研究提取率的变化情况。料液比:在保持乙醇浓度为60%,超声时间为40 min,超声温度为50℃的条件下,考察料液比对提取液浓度的影响,考察的料液比分别为1:20、1:30、1:40、1:50和1:60。

1.2.4 正交试验 根据1.2.3单因素试验结果设计四因素三水平,选用 $L_9(3^4)$ 的正交表进行正交试验,计算各次实验的提取率。根据正交试验的结果,利用极差分析法进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 藏红花苷标准品的UV测定

2.1.1 最大吸收波长的确定 取5 mL对照品溶液,用紫外分光光度计从380~600 nm进行光谱扫描测得最大吸收波长在437 nm处,因此取437 nm作为测定波长(见图1)。

2.1.2 标准曲线的绘制 以溶液中藏红花苷的浓度对吸光度进行线性回归,由Excel软件得线性方程为: $\text{Abs} = K1 \times (C) + K0$  其中 $K1 = 0.0156, K0 = 0.00569, R = 0.9998$ (见图2)。

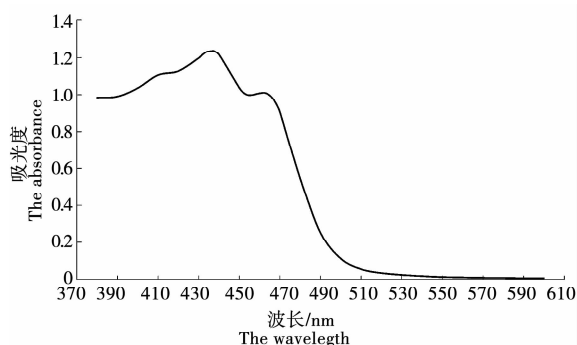


图1 紫外-可见光谱扫描图

Fig. 1 The scanning chart of ultraviolet-visible spectrum

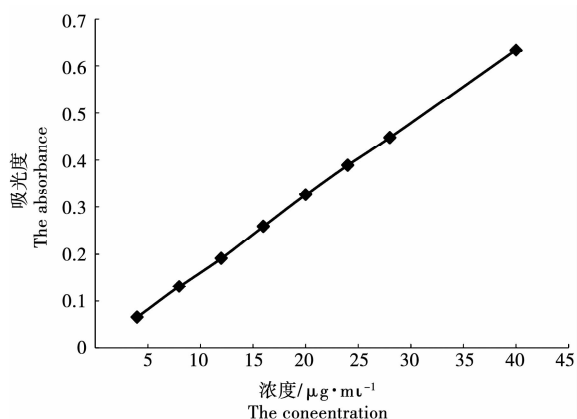


图2 标准曲线图

Fig. 2 The Standard cure chart

### 2.2 单因素试验结果

2.2.1 乙醇浓度 由图3可知,随着乙醇浓度的提高,提取效率相应增加,乙醇浓度为60%时达到最高,70%时反而下降,可能乙醇浓度过高破坏了提取物的结构。

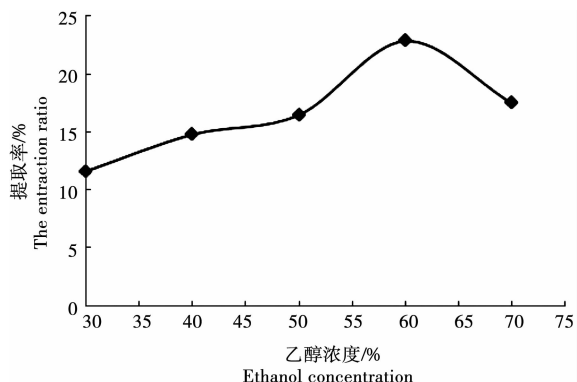


图3 乙醇浓度对藏红花苷提取率的影响

Fig. 3 Effects of ethanol concentration on extraction rate of crocin

2.2.2 超声时间 结果表明,提取时间在10~40 min区间提取率随时间的延长而增大,40 min

达到最大,但超过 40 min 后开始略微下降,可能长时间超声造成藏红花苷分解,所以超声 40 min 为优,不同超声时间下的提取率见图 4。

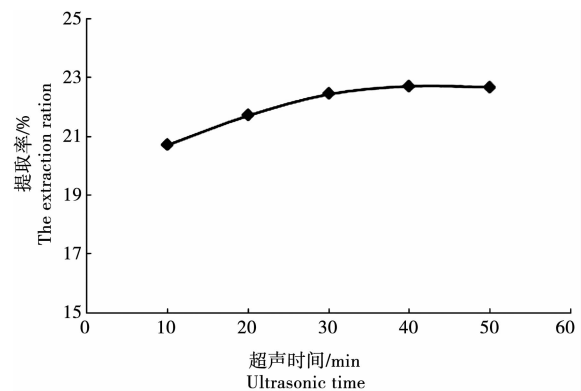


图 4 超声时间对藏红花苷提取率的影响

Fig. 4 Effects of extraction time on extraction rate of crocin

2.2.3 超声温度 由图 5 可知,温度在 30~50 ℃提取液的提取率随温度升高而增大,50 ℃以后,提取液的提取率呈现不规则的变化,为避免高温时藏红花苷分解,考虑到经济效应,选择的超声温度是 50 ℃为佳。

2.2.4 料液比 结果表明,料液比高于 1:40 之后提取液的提取率趋于下降,结合工业生产,料液比越大后处理越困难,故 1:40 为最佳料液比(见图 6)。

### 2.3 正交试验结果

2.3.1 正交试验的设计 以各单因素最佳水平的左右值设计正交表的水平,设计四因素三水平  $L_9(3^4)$  的正交表(见表 1)。

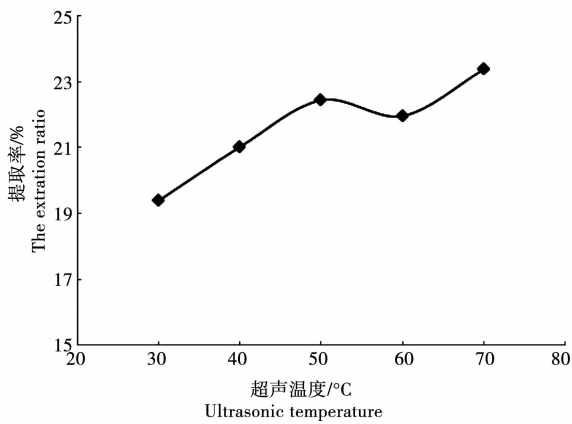


图 5 超声温度对藏红花苷提取率的影响

Fig. 5 Effects of extraction temperature on extraction rate of crocin

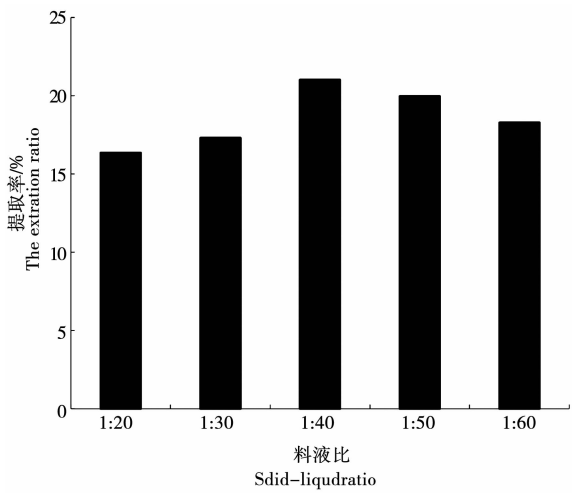


图 6 料液比对藏红花苷提取率的影响

Fig. 6 Effects of solid-liquid ratio on extraction rate of crocin

表 1 正交实验因素水平编码

Table 1 Factor and level coding of orthogonal design

水平 level	因素 Factor			
	A 乙醇浓度/%	B 料液比(g·mL)	C 超声温度/℃	D 超声时间/min
	Ethanol concentration	Solid-liquid ratio	Ultrasonic temperature	Ultrasonic time
1	40	1:30	40	30
2	50	1:40	50	40
3	60	1:50	60	50

2.3.2 正交试验结果 由表 2 可知,以提取率为考察指标,各试验因素的主次为:料液比、超声时间、乙醇浓度、超声温度,提取工艺中料液比和超声时间两个因素对藏红花苷提取率的影响较大,其次是乙醇浓度,对提取率影响最小的是超声温度。正交试验结果显示,提取藏红花苷的最优工

艺方案是  $A_3B_1C_1D_2$ ,即乙醇浓度 60%、料液比 1:30、超声温度 40 ℃、超声时间 40 min,此条件下重复工艺条件得到的提取率为 26.37%,经验证试验比正交试验中 7 号工艺( $A_3B_1C_3D_2$ )提取率略大。考虑到超声温度对提取率的影响最小,为降低工业提取能耗,选择 40 ℃为最佳提取温

度,优化工艺 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>是有效的。

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal design and experiment results					
试验号 No.	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	23.60
2	1	2	2	2	22.51
3	1	3	3	3	21.33
4	2	1	2	3	23.69
5	2	2	3	1	21.45
6	2	3	1	2	22.28
7	3	1	3	2	26.13
8	3	2	1	3	23.70
9	3	3	2	1	21.55
K <sub>1</sub>	22.48	24.47	23.19	22.20	
K <sub>2</sub>	22.47	22.55	22.58	23.64	
K <sub>3</sub>	23.79	21.72	22.97	22.91	
R	1.32	2.75	0.61	1.44	

3 结论

由于藏红花是名贵的药材,其药理活性主要成分是藏红花苷类,以藏红花苷的提取率为主要

考察指标,单独考察了乙醇浓度,超声时间、超声温度、料液比 4 个因素 20 个水平的单因素试验,并以单因素的考察结果为依据设计 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验,确定从藏红花中提取藏红花苷的最佳工艺为液料比 1:30,超声时间 40 min,乙醇浓度 60%,超声温度 40 ℃,为工业生产藏红花苷的提取提供一定的依据。

参考文献:

[1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴:第 16 册[M]. 北京:科学出版社,1980.

[2] 张蕾,周帼雄,周素娣. 不同引种产地西红花的含量测定[J]. 中国中药杂志,1997,22(11):657-659.

[3] 缪玉山,黄根林,倪冲,等. 反相高效液相色谱法对不同来源西红花药材中西红花苷-1、苷-2 的定量分析[J]. 中国医院药学杂志,2002,22(11):654-656.

[4] 刘璇,钱之玉,付健. 西红花甙-Ⅰ 的高效液相色谱测定[J]. 中国药科大学学报,1996,27(12):734-736.

[5] 周新春,周瑞. 藏红花治疗血瘀型冠心病心绞痛的研究[J]. 辽宁中医杂志,1997,24(6):283-284.

[6] 陈静,王灵台. 西红花治疗慢性病毒性肝炎和肝炎后肝硬化的疗效观察[J]. 中成药,1998,20(11):21-22.

[7] 吴强,施诚仁,沈敏,等. 藏红花浸出液通过 CD95/CD95-L 途径诱导神经母细胞瘤发生凋亡[J]. 中华小儿外科杂志,2003,24(4):353-356.

Optimization of Extraction of Crocin from *Crocus sativus* L. by Orthogonal Design

ZONG Chun-yan, SU Xue-jun

(Taizhou Polytechnic Institute, Taizhou, Jiangsu 225300)

**Abstract:** To study the optimal extraction condition of crocin from *Crocus sativus* L. Taking the total extraction ratio of crocin from *Crocus sativus* L. as an index,orthogonal design which was based on the single factor method including the concentration of ethanol,ultrasonic time,ultrasonic temperature and solid-liquid ratio was employed to optimize the extraction technique. The results showed that the optimized condition was as follows:the concentration of ethanol was 60%,ultrasonic time was 40 minutes,ultrasonic temperature was 40 ℃ and solid-liquid ratio was 1:30. Under the optimal extraction condition,the total extraction ratio of crocin from *Crocus sativus* L. was much higher.

**Keywords:** *Crocus sativus* L. ;crocin; extraction ratio; orthogonal design

欢迎刊登广告