

“药食同源”植物葛根中总黄酮提取方法的研究进展

王海燕*, 赵晓宇, 王继双, 张隆龙

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘 要: 葛根是一种药食同源类植物, 在中药和食品工业中有着广泛应用。药食同源体现了食物的药用功能, 药食同源植物兼具了食物丰富的营养价值和中药的药用价值。葛根黄酮是葛根的主要活性成分。本文主要综述了葛根总黄酮的提取方法, 重点介绍了浸提法、超声辅助提取法、微波辅助提取法、超声波预处理微波萃取法、超临界流体萃取法、微生物酶解破壁法等提取方法, 并对提取葛根总黄酮的发展作出了展望, 以期对葛根的生产提供理论参考和指导。

关键词: 葛根; 黄酮; 提取方法

Research progress on extraction of total flavonoids from *Puerariae Radix*

WANG Hai-Yan*, ZHAO Xiao-Yu, WANG Ji-Shuang, ZHANG Long-Long

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: *Puerariae Radix* is a kind of “homology of medicine and food” plant, which is widely used in traditional Chinese medicine and food industry. Homology of medicine and food means that some foods and medicines are derived from the same source. Medicinal and edible traditional Chinese herbs have both nutritional and medicinal value. In this paper, the extraction methods of total flavonoids from *Puerariae Radix* were reviewed. The extraction methods such as soaking extraction, ultrasonic assisted extraction, microwave assisted extraction, ultrasonic pretreatment and microwave extraction, supercritical fluid extraction, and microbial enzymatic extraction were introduced. The development of extraction of total flavonoids from *Puerariae Radix* was prospected. The paper can give theoretical reference and guidance for the production of *Puerariae Radix*.

KEY WORDS: *Puerariae Radix*; flavonoid; extraction method

1 引 言

葛根(*Puerariae Radix* (Willd.) Ohwi)是豆科植物野葛的干燥根, 2002 年国家卫生部正式批准葛根为“药食同源”植物。它既有药用价值, 又有营养保健功效。因此, 近年来葛根被广泛应用于食品、药品等领域。2017 年卫计委最新公布了 101 种药食同源品种名单, “药食同源”有 3 个涵义: “药食同理”、“药食同用”和“药食两用”, 其中“药食两用”

是现代研究和开发的重点^[1-8]。黄酮是葛根的主要活性成分之一, 具有降低心肌耗氧量、增加冠状动脉与脑血管血流量、缓解心绞痛、抗心律失常、抗氧化和增强免疫力等多种药理作用, 对于高血压引起的头痛、头晕、耳鸣等症状有明显疗效^[9-13]。现阶段葛根总黄酮常见的提取方法有浸提法、超声辅助提取法、微波辅助提取法、超声波预处理微波萃取法、超临界流体萃取法、微生物酶解破壁法等。本文对上述几种提取方法的研究进展进行整理阐述与比较,

基金项目: 国家重点研发计划课题(2017YFF0211002)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2017YFF0211002)

***通讯作者:** 王海燕, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: summerwhy163@163.com

***Corresponding author:** WANG Hai-Yan, Ph.D, Associate Professor, National Institutes for Food and Drug Control, No 2, Tiantanxili, Dongcheng District, Beijing 100050, China. E-mail: summerwhy163@163.com

以期对葛根总黄酮的提取及大工业生产提供参考。

2 葛根总黄酮的提取方法

2.1 浸提法

浸提法是葛根黄酮最基础的提取方法,采用一定比例的溶剂加热浸提,从而提取出有效物质。对浸提法产率影响较大的因素有溶剂、溶剂体积分数、提取温度、提取时间、料液比等。

李洪雄等^[14-18]通过对浸提法提取葛根总黄酮的实验条件优化,发现乙醇溶剂的提取效率优于丙酮和水。

朱德艳^[19]采用乙醇回流浸提法在单因素实验基础上,选择乙醇体积分数、回流温度、料液比、回流时间4个因素作为考察因素,以葛根黄酮的提取率为评价指标进行了正交实验设计。该实验最佳提取条件为乙醇体积分数为70%,提取温度为90℃,提取时间为120 min,最适宜料液比为1:40(*m*:*V*)。

雷小丹等^[20-22]运用四元二次回归旋转组合设计法探讨了乙醇浸提法葛根黄酮的最佳提取工艺条件,与朱德艳^[19]的方法相比,该实验并未采用回流装置,最佳提取条件为料液比1:27.70(*m*:*V*)、提取温度80.86℃、乙醇浓度61.24%、提取时间1.97 h。最佳提取条件的不同可能是由于原材料的不同及提取方式的差异。乙醇浸提法与乙醇回流浸提法的提取率差异有待后续实验验证。

浸提法具有操作简单、设备要求低的优点,适于工业生产。但操作时间长,提取温度高,这些是浸提法的明显缺陷。

2.2 超声辅助提取法

超声辅助提取法是在超声波的作用下,利用超声空化的湍流效应、微扰作用使微孔扩散及涡流作用得以强化的方法。超声空化产生的微射流对固体表面的剥离、凹蚀和粉碎作用增大了传质界面,可以使提取进程加快^[23]。影响提取效率的因素有固液比、乙醇浓度、超声功率、预处理时间、占空比等。

王辰等^[24]对超声提取葛根黄酮进行了工艺优化。最优条件为固液比1:25(*m*:*V*),乙醇浓度70%,超声功率240 W,超声波处理时间40 min。超声波处理时间与提取液用量对葛根黄酮提取率影响显著,且2者之间存在交互作用。

张喜梅等^[25]在提取葛根总黄酮时发现,采用超声处理可以提高提取率。超声输出功率、作用时间及预处理时间均影响提取率,而超声处理中的占空比对提取率影响不大。

超声提取的主动力是声空化,空化现象是指在超声波作用下,在液体中形成空腔的现象。这些空腔随声波的频率而伸张和压缩,当足够强度的超声波通过液体时,声

波负压半周期的声压幅值超过液体内部的静压强时,存在液体中的微小气泡就会迅速增大,而在相继而来的声波正压相中,气泡会突然绝热压缩,空腔尺寸变小,产生的压力可能使空腔闭合,闭合前的瞬间空腔及其周围微小的空间内出现热点,形成高温高压区,以便溶剂渗透到细胞内部,超声波产生的振动作用加强了胞内物质的释放、扩散及溶解。超声波破碎过程是一个物理过程,浸提过程中无化学反应发生,被浸提的化学成分结构和性质不会发生变化^[23]。与目前常规浸提法工艺相比,超声辅助提取法可节约大量时间与原材料,具有提取效率高、提取溶剂用量少、无需高温提取等优点。

2.3 微波辅助提取法

微波辅助提取法是指采用微波辐射待提取样品,使其超微结构特性遭到破坏的方法。影响微波辅助提取效率的主要因素为乙醇体积分数、固液比、微波作用时间、微波功率等。

马海乐等^[26-30]对微波辅助提取葛根总黄酮进行了实验研究。在乙醇体积分数为75%、固液比为1:20、微波作用时间为1 min、微波辅助作用强度为中高火时,葛根总黄酮的提取效果最理想,与不进行微波处理的对照组相比,施加微波辅助处理后葛根总黄酮的提取量能够提高50%以上。

微波提取主要是利用微波强烈的热效应,微波加热是一个内部加热过程,它不同于普通的外加热方式,而是同时直接作用于内部和外部的介质分子,使整个物料被同时加热,从而可克服传统的传导式加热方式所存在的温度上升较慢的缺陷。微波辅助提取具有萃取时间短、成本低、萃取效率高等优点,且适用面广,能大大提高提取物中黄酮类化合物含量,溶剂损耗较少。微波能是一种能量形式,它在传输过程中可对许多由极性分子组成的物质产生作用,并使其中的极性分子产生瞬时极化,并迅速生成大量的热能,导致细胞破裂,其中的细胞液溢出并扩散至溶剂中。从原理上说,传统的溶剂提取法都可加入微波进行辅助提取,从而成为高效的提取方法。

2.4 超声波预处理微波萃取法

超声波预处理微波萃取法是将超声辅助提取法和微波辅助提取法相结合的一种方法。顾仁勇等^[31,32]将超声和微波技术相结合,进行了超声波预处理微波萃取葛根总黄酮的工艺优化。在以80%的乙醇为提取溶剂、微波辐射功率300 W、微波辐射时间9 min、固液比1:25(*m*:*V*)、超声提取温度50℃、超声提取时间30 min的条件下,总黄酮的提取量最高。微波及超声条件对提取效率的影响较大,超声微波结合提取法经条件优化后,提取效率是微波或超声单独处理的2.7倍。该方法的提取效率要明显优于单一的超声辅助提取法及微波辅助提取法,具有进一步研究的

价值。

2.5 超临界流体萃取法

超临界流体萃取法是利用超临界条件下的液体作为萃取剂, 从液体或固体中萃取出特定成分, 以达到分离目的的技术^[33]。对该方法提取率影响较大的因素为萃取温度、压力、料液比等。

吕程丽等^[34]采用 CO₂ 超临界流体萃取法提取葛根总黄酮进行了研究, 并进行了正交实验优化。在萃取温度为 50 °C、萃取压力为 35 MPa、料液比为 280:330 (*m*:*V*) 条件下萃取效率最高。

超临界流体萃取分离是依据压力和温度对超临界流体溶解能力的影响而进行的。在超临界状态下, 将超临界流体与待分离的物质接触, 使其有选择性地按极性大小、沸点高低和分子量大小的成分依次萃取出来。对应各压力范围所得到的萃取物不是单一的, 可控制条件得到最佳比例的混合成分, 然后借助减压、升温的方法使超临界流体变成普通气体, 被萃取物质则完全或基本析出, 从而达到分离提纯的目的, 应用超临界流体萃取法提取分离黄酮类物质, 具有萃取速度快、效率高、操作简单、产品中无残留有机溶剂等优点^[35-37]。

2.6 微生物酶解破壁法

微生物酶解破壁法是用微生物代谢物酶破坏细胞壁, 从而降低传质阻力、增加提取效率的方法^[38,39]。

王星敏等^[40-42]采用黑曲霉和康宁木霉对提取葛根总黄酮的工艺进行优化, 在加入 5% 的黑曲霉并采用超声协同处理条件下提取效率最高。该条件下的提取效率高于黑曲霉单一发酵处理, 而黑曲霉单一处理的提取效率高于超声波单一处理和康宁木霉处理。

该法提取效率明显高于单一超声提取, 为葛根黄酮的提取提供了新的思路。不过该法需要严格的无菌环境, 并需要十几个小时的发酵过程, 增大了该法工业化的难度。

3 总结与展望

综上所述, 浸提法由于设备需求较为简单, 所以在大规模生产上仍然具有很大的优势, 也是现阶段提取葛根总黄酮的主要方法。采用超声辅助提取法与微波辅助提取法, 均能提高提取效率, 缩短提取时间, 二者结合能够更有效的提高提取效率。虽然采用超声及微波法辅助提取法前期投入比浸提法大, 但是在后期生产过程中提取效率和提取时间显著优化, 具有良好的发展前景, 是相关产业发展的方向。超临界流体萃取法提取速度快、纯度高、无残留, 但是投入成本较高, 产量相对有限, 适于科研机构实验室使用。微生物酶解法耗时较长, 且需要严格的无菌环境, 投入产出比较低, 不适合大规模工业生产, 但该法为葛根产业的发展提供了新思路, 即可以采用生物方法来

提高生产效率, 后续实验可以从优化发酵时间与生产工序等方面进行改良。

经过对上述各方法的比较研究, 建议工业提取总黄酮的方法, 可在传统浸提的基础上, 采用微波、超声波辅助提取, 同时将生物方法逐渐优化条件用于提取中, 不断开发新方法提高葛根总黄酮提取效率, 为葛根的有效利用提供理论依据和实际生产指导作用。

参考文献

- [1] 刘勇, 肖伟, 秦振娟, 等. “药食同源”的诠释及其现实意义[J]. 中国现代中药, 2015, 17(12): 1250-1252.
- [2] Liu Y, Xiao W, Qin ZX, *et al.* Annotation of drug and food are the same origin and its realistic significance [J]. Mod Chin Med, 2015, 17(12): 1250-1252.
- [3] Mao QC, Wang XH, Zhe YZ, *et al.* Melanin nanoparticles derived from a homology of medicine and food for sentinel lymph node mapping and photothermal in vivo cancer therapy [J]. Biomaterials, 2016, 6(91): 182-199.
- [4] Zuo YY, Peng C, Liang Y, *et al.* Black rice extract extends the lifespan of fruit flies [J]. Food Function, 2012, 3(12): 1271-1279.
- [5] Huang F, Jie Q, Liu J, *et al.* Antiaging effects of astaxanthin-rich alga *Haematococcus pluvialis* on fruit flies under oxidative stress [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(32): 7800-7804.
- [6] Vallo M, Leibfritz D, Moncol J, *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39(1): 44-84.
- [7] Wong CC, Li HB, Cheng KW, *et al.* A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay [J]. Food Chem, 2006, 97(4): 705-711.
- [8] Zhang HX, Yu NC, Huang GF, *et al.* Neuroprotective effects of purslane herb aqueous extracts against *D*-galactose induced neurotoxicity [J]. Chem Biol Int, 2008, 170(3): 145-152.
- [9] Zhang YW, Luo HL, Liu K, *et al.* Antioxidant effects of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis*) extract during aging of longissimus thoracis muscle in Tan sheep [J]. Meat Sci, 2015, 105: 38-45.
- [10] Biesaga M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids [J]. Chromatogr A, 2011, 1218: 2505-2012.
- [11] Jonathan L, Christophe Furman. Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylated flavonoids [J]. Free Radical Biol Med, 2000(9): 900-902.
- [12] Hollman PCH, Katan MB. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability [J]. Food Chem Toxicol, 1999, 37(9-10): 937-937.
- [13] Debnath T, Park PJ, Nathn CD, *et al.* Antioxidant activity of gardenia jasminoides ellis fruit extracts [J]. Food Chem, 2011, 128(3): 697-703.
- [14] Fan YJ, Ge ZF, Luo AX. *In vitro* antioxidant activity of polysaccharide from gardenia jasminoides ellis [J]. J Med Plants Res, 2011, 5(14): 2963-2968.
- [15] 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(3): 113-116.
- [16] LI HX, Peng ZY, Zou HY. Study on extracting total *Radix Puerariae* flavonoids [J]. J Jishou Univ (Nat Sci Ed), 2006(3): 113-116.
- [17] Ye L, Wang H, Duncan SE, *et al.* Antioxidant activities of vine tea (*Ampelopsis grossedentata*) extract and its major component dihydromyricetin in soybean oil and cooked ground beef [J]. Food Chem,

- 2015, 172: 416–422.
- [16] Ying Z, Han X, Li J. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves [J]. Food Chem, 2011, 127(3): 1273–1279.
- [17] Zhao S, Kwok KC, Liang H. Investigation on ultrasound assisted extraction of saikosaponins from radix bupleuri [J]. Sep Purif Technol, 2007, 55(3): 307–312.
- [18] Nishizawa C, Takeshita K, Ueda J, *et al.* Hydroxyl radical generation caused by the reaction of singlet oxygen with a spin trap, DMPO, increases significantly in the presence of biological reductants [J]. Free Radic Res, 2004, 38(4): 385–392.
- [19] 朱德艳. 乙醇回流法提取葛根黄酮的工艺优化研究[J]. 中国酿造, 2015, 285(11): 145–148.
- Zhu DY. Optimization of flavonoids extraction technology from *Puerariae Radix* [J]. China Brew, 2015, 285(11): 145–148.
- [20] 雷小丹, 邱朝坤, 刘晓宇, 等. 葛根黄酮提取工艺条件优化的响应面分析[J]. 食品科技, 2011, 239(09): 223–226.
- Lei XD, Qiu ZK, Liu XY, *et al.* Response surface analysis of extraction technology for flavonoids from *Puerariae Radix* [J]. Food Sci Technol, 2011, 239(9): 223–226.
- [21] Prasain JK, Jones K, Kirk M, *et al.* Profiling and quantification of isoflavones in kudzu dietary supplements by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Agric Food Chem, 2003, 51: 4213–4218.
- [22] He XL, Tan TW, Xu BZ, *et al.* Separation and purification of puerarin using β -cyclodextrin-coupled agarose gelmedia [J]. J Chromatogr A, 2004, 1022: 77–82.
- [23] 黄可龙, 李进飞, 刘素琴. 超声场强化中药有效成分提取动力学模型[J]. 化工学报, 2004, 55(4): 646–648.
- Huang KL, Li JF, Liu SQ. Kinetic model for ultrasonic enhancement of extraction process of Chinese traditional medicine [J]. J Chem Ind Eng, 2004, 55(4): 646–648.
- [24] 王辰, 高玲. 超声波辅助提取葛根黄酮的工艺研究[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2009, 6(4): 61–64.
- Wang C, Gao L. Research on ultrasonic wave-assisted extraction of flavonoids from *Puerariae Radix* [J]. J Yangze Univ (Nat Sci Ed), 2009, 6(4): 61–64.
- [25] 张喜梅, 程亮光, 李琳, 等. 超声提取葛根总黄酮成分的研究[J]. 声学技术, 2006(2): 110–112.
- Zhang XM, Cheng LG, Li L, *et al.* Extraction of total flavones from *Puerariae Radix* with ultrasound [J]. Tech Acoust, 2006(2): 110–112.
- [26] 马海乐, 王超, 刘伟民. 葛根总黄酮微波辅助萃取技术[J]. 江苏大学学报(自然科学版), 2005(2): 98–101.
- Ma HL, Wang C, Liu WM. Microwave-assisted extracting of flavonoids from *Puerariae Radix* [J]. J Jiangsu Univ (Nat Sci Ed), 2005(2): 98–101.
- [27] Pan J, Niu G, Liu Z. Microwave-assisted extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* Bunge with analysis by high-performance liquid chromatography [J]. Chromatogr A, 2001, 922: 371–375.
- [28] Ganzler K, Salgo A, Valko K. Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography [J]. J Chromatogr A, 1986, 371(1): 299–306.
- [29] Pare JRJ, Belanger JMR, Stafford SS, *et al.* Production technology of puerarin beverages: US, 5002784[P]. 1991.
- [30] Li QH, Fu CL. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein [J]. Food Chem, 2005, 92(4): 701–706.
- [31] 顾仁勇, 朱爱华, 王文熙, 等. 超声波预处理微波萃取葛根总黄酮的工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 407(10): 57–60.
- Gu RY, Zhu AH, Wang WX, *et al.* Process optimization for extraction of total flavonoids from *Puerariae Radix* by ultrasonic followed by microwave treatment [J]. Food Sci, 2011, 407(10): 57–60.
- [32] 麻明友, 肖卓炳, 吴显明, 等. 葛根总黄酮的超声微波双辅助萃取研究[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 242–245.
- Ma MY, Xiao ZB, Wu XM, *et al.* Microwave and ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Puerariae Radix* [J]. Food Sci, 2009, 373(24): 242–245.
- [33] 于娜娜, 张丽坤, 朱江兰, 等. 超临界流体萃取原理及应用[J]. 化工中间体, 2011, 8(8): 38–43.
- Yu NN, Zhang LK, Zhu JL, *et al.* The principles and characteristics of supercritical fluid technology and its application [J]. Chem Intermediat, 2011, 8(8): 38–43.
- [34] 吕程丽, 欧阳玉祝, 梅杰, 等. CO₂超临界萃取葛根总黄酮的研究[J]. 食品与发酵科技, 2009, 153(5): 21–23.
- Lv CL, Ouyang YZ, Mei J, *et al.* Study on extraction of the flavonoids from *Puerariae Radix* by CO₂ supercritical [J]. Food Ferment Technol, 2009, 153(5): 21–23.
- [35] 李莉, 刘成梅, 田建文, 等. 现代提取分析技术在黄酮类化合物中的应用[J]. 食品科技, 2006(4): 42–44.
- Li L, Liu CM, Tian JW, *et al.* Application of modern extraction and analysis technology in flavonoids [J]. Food Sci Technol, 2006(4): 42–44.
- [36] Yao WX, Cheng XM, Zhang YQ. Determination of flavonoid compounds in ginkgo biloba leaves with SFE and HPLC [J]. Chin Chem Lett, 1995, 6(7): 589–592.
- [37] Mishima K, Wada N, Uchiyama H, *et al.* Extraction and separation of baicalein and baicalin from scutellaria root using supercritical CO₂ [J]. Proc Symp Solvent Extr, 1995, 15–16.
- [38] Kazuhiro H, Makoto M, Kaoru N, *et al.* Phenolic glucosides from the root of *Puerariae Radix* [J]. Phytochem, 1997, 46(5): 921–928.
- [39] Kriakosyan A, Kaufman PB, Warber S, *et al.* Quantification of major isoflavones and L-canavanine in several organs of kudzu (*Pueraria montana*) and in starch samples derived from kudzu roots [J]. Plant Sci, 2003, 164: 883–888.
- [40] 王星敏, 殷钟意, 郑旭煦, 等. 微生物酶解破壁提制葛根黄酮的工艺[J]. 食品科学, 2011, 399(2): 28–31.
- Wang XM, Yin ZY, Zheng XX, *et al.* Microbial fermentation for cell disruption in combination with ultrasonic treatment for the extraction of total flavonoids from *Puerariae Radix* tubers [J]. Food Sci, 2011, 399(2): 28–31.
- [41] Xie JH, Shen MY, Xie MY, *et al.* Ultrasonic assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of cyclocarya paliurus (Batal) Iijinskaja polysaccharides [J]. Carbohydr Polym, 2012(89): 177–184.
- [42] Pingret D, Fabiano-Tixier AS, Bourve-Llec L, *et al.* Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace [J]. J Food Eng, 2012, 111(1): 73–81.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



王海燕, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: summerwhy163@163.com