

# 超声波辅助法对四川九节龙总黄酮提取工艺的研究

梁 梓, 汪 淑 芳, 范 晶, 刘 忠, 刘 芳, 张 维 敏

(乐山师范学院 化学与生命科学院, 四川 乐山 614004)

**摘 要:**在超声波条件下,通过单因素试验与正交实验研究了四川九节龙总黄酮提取的最佳条件。结果表明:料液比 1:40、超声功率 300 W、超声时间 10 min、水浴提取温度 80℃为九节龙黄酮的最佳提取条件,提取率为 5.68%。

**关键词:**九节龙;总黄酮;超声波辅助;最佳工艺;提取

**中图分类号:**S 567.23<sup>+</sup>9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)04-0156-03

九节龙 (*Ardisia pusilla* A. DC) 属紫金牛科 (Myrsinaceae) 紫金牛属 (*Ardisia*) 植物。主要分布在我国南部及四川等地。具有直立灌木和匍匐生根的根茎, 常见于海拔约 1 200 m 以下的山间林下或竹林下荫湿的地方。九节龙的全株及根可供药用, 其功能主要有清热利湿、活血化瘀、舒筋活络、强筋壮骨等<sup>[1]</sup>。

目前已经从紫金牛属植物中分离出苯酚类、苯醌类、黄酮类、香豆精类、皂苷类等药用活性成分<sup>[2-4]</sup>。其中黄酮类化合物是紫金牛属植物中重要的活性物质, 具有抗肿瘤, 治疗心脑血管, 调节内分泌等功能<sup>[5]</sup>。超声波提取法是一种较新的方法, 不破坏有效成分, 并且可以强化浸提的效率。现采用乙醇浸提, 超声波辅助提取,

研究九节龙总黄酮提取的最佳工艺, 为四川九节龙的药用价值评定和开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试材为九节龙叶片鲜品(于 2010 年 5 月采于乐山师范学院绿心林下, 采集全株叶片); 主要仪器与试剂有 K1901 紫外可见分光光度计, BSS224S 电子天平, 植物组织捣碎机, JY92-II 超声波细胞粉碎机; 芦丁标准品由 SIGMA 公司提供, 其它试剂均为国产分析纯。

### 1.2 试验方法

1.2.1 九节龙黄酮提取流程 新鲜九节龙叶片→除杂→烘干(70℃)→粉碎→过筛(40 目)→加入试剂→超声波处理→水浴浸提→浸提液离心→上清液稀释→在  $\lambda=510$  nm 处测其光吸收值。

**第一作者简介:**梁梓(1980-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为生物化学。

**收稿日期:**2011-12-19

[4] 李东, 孙健. 黄原胶的成胶特性及应用研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2009(4): 26-27.

[5] 吴娱, 赵玉梅, 雷晓娟. 结冷胶在七彩星悬浮饮料中的应用[J]. 食品科技, 2008(10): 246-248.

[6] 高志军, 高雪丽. 羧甲基纤维素钠对粒粒黄桃汁饮料悬浮效果研究

初报[J]. 中国农学通报, 2009, 22(11): 24-25.

[7] 张建荣, 舒云波, 马晓伟, 等. 阿拉伯胶剂的性质研究[J]. 农产品加工(学刊), 2009(4): 62-64.

[8] 刘志伟, 孟立, 姜华年. 粒粒黄桃汁饮料品质改良技术研究[J]. 食品科学, 2005(7): 7-9.

## Study on the Suspension of Granular Peach Juice Drinks

DING Pei-feng, SHI Zhong-lin

(Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000)

**Abstract:** With peach as the main material for beverages, by single factor experiments, the best processing program of grams, grams of xanthan gum, and sodium carboxymethyl were studied, through orthogonal test, the quantity and formula ratio of grams, grams of xanthan gum, and sodium carboxymethyl were studied too. The results showed that the optimal ratio of complex pectin : xanthan gum : sodium carboxymethyl cellulose were 2 : 4 : 7, the optimal amount of added pectin per 100 grams of beverage 0.075 grams, 0.150 grams of xanthan gum, sodium carboxymethyl cellulose 0.2625 grams.

**Key words:** granular peach juice drinks; suspension; xanthan gum pectin; sodium carboxymethyl; cellulose

1.2.2 标准曲线制备 准确吸取浓度为 0.25 mg/mL 的芦丁标准液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中,另取 1.0 mL 蒸馏水作为调零。各加入 80% 的乙醇 5.0 mL,加入 5% 的亚硝酸钠 1.0 mL 摇匀,静置 6 min;加入 10% 的硝酸铝 1.0 mL 摇匀,静置 6 min;加入 4% 的氢氧化钠 10.0 mL,加入 80% 的乙醇至刻度,摇匀,放置 15 min,在  $\lambda=510$  nm 处测其光吸收值,以吸光值对芦丁浓度作标准曲线。

1.2.3 总黄酮含量测定 分别准确称取样品 1.0 g 于带塞的 25 mL 锥形瓶中,不同超声功率、超声时间处理,加入提取剂,分别在不同的固液比及不同水浴温度下浸提,提取液 2 000 r/min 离心 10 min 取上清液,取样 1.0 mL 于 25 mL 容量瓶中加入 80% 的乙醇 5.0 mL,其余步骤按芦丁标准曲线方法在  $\lambda=510$  nm 处测吸光值。根据回归方程得出黄酮浓度,带入公式计算总黄酮提取率。公式如下:  $Mn = C \times V \times 10^{-3}$ ; 黄酮含量(%) =  $(Mn/M) \times 100\%$ 。式中:  $Mn$ -样品中总黄酮的质量(g);  $C$ -样液中总黄酮的浓度(mg/mL);  $V$ -提取液总体积(mL);  $M$ -样品重量(g)。

1.2.4 总黄酮含量单因素测定 根据正交条件取九节龙样品相应份数,每份 1.0 g 于带塞的 25 mL 锥形瓶中,不同超声功率、超声时间处理,加入 40% 乙醇提取剂,分别在不同的固液比及不同水浴温度下浸提,提取液 2 000 r/min 离心 10 min 取上清液,取样 1.0 mL 于 25 mL 容量瓶中加入提取剂 5.0 mL,按 1.2.2 标准曲线方法测吸光度,计算总黄酮提取率。分别确定最佳超声功率、超声时间、料液比及水浴温度。

1.2.5 正交实验及优选 在单因素试验的基础上,对其黄酮提取有影响的主要因素(提取温度、料液比、超声功率、超声时间)进行  $L_9(3^4)$  正交实验确定最佳提取条件。

## 2 结果与分析

### 2.1 超声功率对九节龙总黄酮提取的影响

由图 1 可知,随着超声功率的增大,总黄酮提取量增加。这是因为超声波细胞粉碎机利用超声波在提取液中的分散效应,使提取液产生空化的作用,从而使九节龙细胞组织破碎。这是利用物理方法捣碎不破坏材料物质的成分,只改变了其物理状态,使细胞内容物大

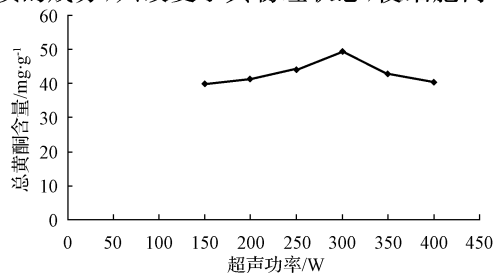


图1 超声功率对九节龙总黄酮提取的影响

量迅速扩散于提取液中。超声功率为 300 W 时,总黄酮得率达到最大,总黄酮含量为 49 mg/g,提取率为 4.9%;其后随着超声功率的增大,超声波处理时温度升高,破坏了溶解于提取液中的总黄酮类化合物,从而使黄酮提取量降低。因此,最佳超声功率为 300 W。

### 2.2 超声时间对九节龙总黄酮提取的影响

由图 2 可知,随着超声处理时间的增加,组织细胞破碎更完全,总黄酮提取量增加,10 min 时效果最好,总黄酮含量为 57 mg/g,提取率为 5.7%;随着超声处理时间延长,对总黄酮化合物有破坏作用,测定值降低。因此,最佳超声处理时间为 10 min。

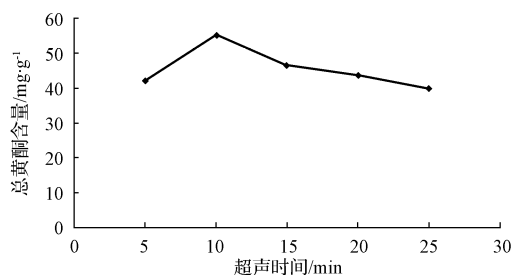


图2 超声时间对九节龙总黄酮提取的影响

### 2.3 料液比对九节龙总黄酮提取的影响

由图 3 可知,随着料液比的增加,总黄酮提取量也增大,在料液比值达到 1:40 时总黄酮提取量达到最大值为 41.46 mg/g,提取率达到 4.15%;此后,随着料液比的增大,总黄酮提取率变化不大,越见趋于稳定,即一定比例的溶剂已将有效成分基本溶出。从提取效果和减少溶剂考虑,因此,选取最适料液比为 1:40。

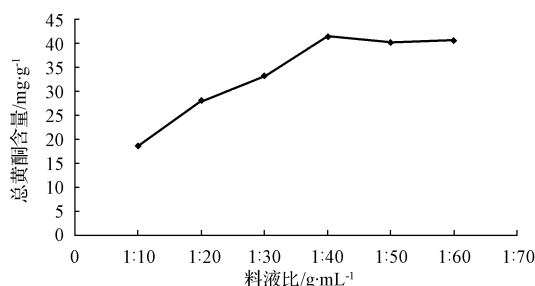


图3 料液比对九节龙总黄酮提取的影响

### 2.4 水浴温度对九节龙总黄酮提取的影响

由图 4 可知,随着水浴提取温度的升高,总黄酮的提取量亦随之增加,但增加较缓慢;当温度升到 60~70℃ 时,总黄酮提取量增大很明显,这是因为随着温度的升高,分子运动速度加快,渗透、扩散、溶解速度加快,同时高温可以引起细胞膜结构的变化,使总黄酮类化合物迅速溶解到提取剂中,因此,随着提取温度的升高,黄酮提取量增加;70℃ 后,总黄酮提取量是缓慢持续增加趋势;但当温度达到 90℃ 时,40% 的乙醇提取液接近沸腾状态,乙醇提取液消耗量很大,考虑到经济性,采用 80℃ 水浴提取,总黄酮含量为 43 mg/g,提取率为 4.3%。

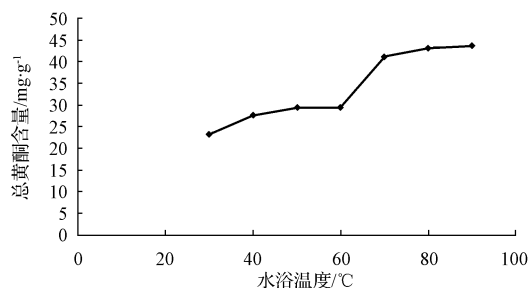


图4 水浴温度对九节龙总黄酮提取的影响

## 2.5 超声波辅助处理正交实验

影响九节龙总黄酮提取结果的主次因素依次为A>D>C>B,即料液比为影响九节龙总黄酮提取结果的主要因素,其次是超声功率、超声时间和提取温度。正交实验结果及极差分析显示最佳的提取工艺条件为

表1 提取紫金牛黄酮正交实验结果

试验号	因素				水平组合	总黄酮含量 /mg·g <sup>-1</sup>
	A 料液比 /g·mL <sup>-1</sup>	B 提取温度 /°C	C 超声时间 /min	D 超声功率 /W		
1	1:30	60	10	200	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub>	44.91
2	1:30	70	15	300	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	45.42
3	1:30	80	20	400	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub> D <sub>3</sub>	44.69
4	1:40	60	15	400	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	52.08
5	1:40	70	20	200	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub>	51.37
6	1:40	80	10	300	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub>	56.84
7	1:50	60	20	300	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	48.93
8	1:50	70	10	400	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub>	49.16
9	1:50	80	15	200	A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub>	48.91
K <sub>1</sub>	135.02	145.92	150.91	145.19		
K <sub>2</sub>	160.29	145.95	146.41	151.19		
K <sub>3</sub>	147.00	150.44	144.99	145.93		
k <sub>1</sub>	45.007	48.640	50.303	48.397		
k <sub>2</sub>	53.430	48.650	48.803	50.397		
k <sub>3</sub>	49.000	50.147	48.330	48.643		
R	8.423	1.507	1.973	2.000		

注: \* k<sub>1</sub>、k<sub>2</sub>、k<sub>3</sub>为同一水平总黄酮得率的平均值,R为极差。

A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>,即料液比为1:40、提取温度为80℃、超声时间为10 min、超声功率为300 W。总黄酮含量为56.84 mg/g,提取率为5.68%。

## 3 结论

超声波辅助提取九节龙总黄酮的最佳工艺条件为:料液比为1:40、提取温度为80℃、超声时间为10 min、超声功率为300 W,总黄酮含量为56.84 mg/g,提取率为5.68%。

九节龙总黄酮的提取率与同科块根紫金牛总黄酮提取率为5.75%,相比无明显差异<sup>[6]</sup>,但明显高于其它植物(益母草总黄酮提取率为0.28%<sup>[7]</sup>,野菊花总黄酮提取率为2.86%<sup>[8]</sup>,乌药叶总黄酮提取率为3.31%<sup>[9]</sup>)。

## 参考文献

- [1] 赵亚,刘合刚.紫金牛属植物研究近况[J].中草药,1999(3):5.
- [2] 卢文杰,陈家源,金松,等.块根紫金牛化学成分的研究[J].华西药科学杂志,1996,11(4):226.
- [3] 尹鲁生,范俊源.矮地茶挥发油化学成分的研究[J].中草药,1989,20(10):528.
- [4] 王晓娟,张清华.毛茛紫金牛(九节龙)化学成分的研究[J].中国中药杂志,1990,15(3):38.
- [5] Chen R, Li M, Zhou G, et al. Contents of major bioactive flavonoid in proprietary traditional Chinese medicine products and reference herb of Radix Scutellariae[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2009(3):1-9.
- [6] 罗宝丽,将运生,唐辉韦,等.块根紫金牛总黄酮提取工艺优化和不同产地部位的含量比较[J].基因组学与应用生物学,2011(1):57-61.
- [7] 黄锁义,黎海妮,余美料,等.益母草总黄酮的提取及鉴别[J].时珍国医国药,2005,16(5):398-399.
- [8] 朱庆书,赵文英.超声提取野菊花总黄酮及其抑菌活性的研究[J].化学与生物工程,2008,25(12):71-74.
- [9] 邵留,沈益绿,郑曙明,等.斑地锦总黄酮的提取及抑菌作用[J].西南农业大学学报(自然科学版),2005,27(6):902-905.

(该文作者还有王容,工作单位同第一作者。)

Study on the Ultrasonic Wave Assisted Extraction of Total Flavonoids from *Ardisia pusilla*

LIANG Zi, WANG Shu-fang, FAN Jing, LIU Zhong, LIU Fang, ZHANG Wei-min, WANG Rong  
(College of Chemistry and Life Science, Leshan Teachers College, Leshan, Sichuan 614004)

**Abstract:** The experiment was used ultrasonic wave assisted method for the extraction of the total flavonoids from *Ardisia pusilla*. The extraction of the total flavonoids from *Ardisia pusilla* were carried on by single factor experiment and orthogonal experiment. The results showed that optimum condition for the extraction was as follows: solid-to-liquid ratio was 1:40, ultrasonic power was 300 W, ultrasonic time was 10 min and extraction temperature was 80℃, and extraction rate was 5.68%.

**Key words:** *Ardisia pusilla*; total flavonoids; ultrasonic wave assisted; best technology; extraction