

藏药绿萝花中总黄酮含量的提取工艺研究

李文茂, 石玉平, 刘春缨, 韩世芬, 王永宁

(青海师范大学 化学系, 青海 西宁 810000)

摘要:以藏药绿萝花为试材,以乙醇为提取剂,采用回流提取法,按正交实验设计,研究了绿萝花中总黄酮提取的最佳工艺。结果表明:影响绿萝花中总黄酮提取的因素大小依次为:料液比>提取时间>乙醇浓度,最优的提取工艺是料液比为1:12,提取时间90 min,乙醇浓度75%,绿萝花中总黄酮含量达0.976%。

关键词:绿萝花;总黄酮含量;最佳工艺

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)05-0144-03

藏药绿萝花(*Scindepus aureus*)属天南星科(Araceae)绿萝属多年生常绿藤本植物,别名马蹄金、黄金葛、石柑子,是青藏高原寒冷地带特有的植物。性微寒,具有浓烈的香气。西藏绿萝花对糖尿病、高血压、冠心病、血管炎症等疾病有治疗作用。竺琴等^[1]研究发现,绿萝花的乙醇提取物不仅对 α -葡萄糖苷酶的活性有较强的抑制作用,而且其自由基清除功能也较强,使其在降低血糖和抗氧化的应用方面有较高的开发利用价值。黄酮类物质是绿萝花中重要有效成分,以黄酮为母核而衍生的黄酮类化合物广泛存在于花草、水果、蔬菜等绿色天然植物中,天然黄酮具有多种生物活性和药理作用,在医药工业方面,可作为消炎、抗菌、抗病毒和健胃消食类药物的主要成分;黄酮类化合物具有抗氧化、抗衰老、降血脂、抗肿瘤等生物功效,又由于它来自天然

植物,毒性低,相对安全,所以被广泛用作食品添加剂,如食品抗氧保鲜剂、天然色素、天然甜味剂等^[2-5]。目前黄酮类化合物的提取技术主要有超声波辅助溶剂提取法、微波辅助溶剂提取法、固相萃取法、解析-热提取法等^[6]。植物中黄酮类化合物含量的测定方法有紫外分光光度法、荧光光度法和高效液相色谱法等,这些方法均需昂贵仪器设备。因此该试验采用准确性高、操作快速简便的乙醇回流提取法对绿萝花中的总黄酮的提取条件进行优化研究,并采用分光光度法对绿萝花中黄酮类物质进行测定,以期绿萝花总黄酮含量的提取提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试绿萝花产自西藏自治区;芦丁(中国药品生物制品鉴定所),亚硝酸钠、硝酸铝(均为分析纯,北京化工厂);氢氧化钠、乙醇、石油醚(均为分析纯,天津市富宇精细化工有限公司)。试验仪器:722S分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);RE-52A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂产品);76-1A型恒温水浴锅(上海比朗仪

第一作者简介:李文茂(1988-),男,青海民和人,硕士,研究方向为生物无机化学。

责任作者:石玉平(1956-),女,教授,研究方向为分析化学。
E-mail:Wangyn-51@263.net.

收稿日期:2012-11-12

Effects of Salicylic Acid on the Metabolism of Saccharide in Cut Flower of *Dianthus caryophyllus* Senescence

Ji Yue¹, JIANG Juan²

(1. College of Life Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002; 2. College of Life Science, Hubei Normal College, Huangshi, Hubei 435002)

Abstract: Taking red *Dianthus caryophyllus* as materials, the effects of salicylic acid on the metabolism of Saccharide in carnation senescence in vase-life were studied. The results showed that SA could promote isocitrate lyase activity and the content of soluble sugar and gluconeogenesis, promoted the glycolate oxidase activity significantly and oxidants of cell.

Key words: *Dianthus caryophyllus*; senescence; salicylic acid

器有限公司产品);FW135 型高速中药粉碎机(上海岩征生物科技有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 绿萝花的预处理 准确称取用 FW135 型中药粉碎机粉碎、过 60 目筛、自然干燥后的绿萝花粉末 15 g,置于圆底烧瓶中,加入石油醚 130 mL,加热回流 30 min,旋转蒸发仪回收石油醚^[7],残留的石油醚在 65℃ 恒温水浴锅中挥干,即得绿萝花预处理器。

1.2.2 乙醇回流提取法的正交设计 以总黄酮百分含量为指标,采用乙醇回流提取法,设计正交实验。考察料液比、乙醇浓度、提取时间 3 因素,取 3 水平,设计正交实验 $L_9(3^3)$,优化最佳提取工艺条件,因素水平设计见表 1。

表 1 正交实验设计因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment			
水平 Levels	A 料液比/g·mL ⁻¹	因素 Factors B 乙醇浓度/%	C 提取时间/min
1	1:8	75	90
2	1:10	85	120
3	1:12	95	150

1.2.3 芦丁标准溶液的制备 精确称取在 120℃ 干燥至恒质量的芦丁 25.0 mg,用体积分数为 60% 的乙醇溶液溶解,定容至 250 mL 容量瓶中,摇匀,得质量浓度为 100 mg/L 的芦丁标准溶液。

1.2.4 显色方法及最大吸收峰的确定 采用亚硝酸钠、硫酸铝、氢氧化钠显色体系进行显色分析。分别准确吸取不同量的芦丁标准溶液,置于 25 mL 的容量瓶中,用体积分数为 60% 的乙醇稀释至 12.5 mL;加入 0.7 mL 质量分数为 5% 的亚硝酸钠溶液并摇匀,放置 5 min 后,加入 0.7 mL 质量分数为 10% 的硫酸铝溶液并摇匀,放置 6 min 后,再加入 5 mL 浓度为 1.0 mol/L 的氢氧化钠溶液并混匀,用体积分数 60% 的乙醇溶液定容至刻度,放置 10 min 后,在 200~600 nm 波长范围内进行光谱扫描。

1.2.5 标准曲线的绘制和回归方程的建立 分别精密吸取芦丁标准溶液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL,分别置于 25 mL 容量瓶中,按 1.2.4 显色方法显色,以试剂空白为参比溶液,用紫外可见分光光度计在波长 510 nm 处测定芦丁标准系列的吸光度(A)值^[8]。

1.2.6 绿萝花中黄酮的提取 准确称取质量为 15 g 的绿萝花粉末,按照 1.2.1 方法预处理,再按照 1.2.2 的正交设计添加提取剂,在 70℃ 的恒温水浴锅中回流提取 2 h,趁热抽滤,回流提取 2 次,合并滤液,即得绿萝花总黄酮提取液,避光保存。

1.2.7 绿萝花中总黄酮含量的测定 精密吸取 2.0 mL 绿萝花总黄酮提取液,置于 25 mL 容量瓶中,按 1.2.4

的方法显色,以试剂空白作参比溶液,在波长 510 nm 处测吸光度 A,计算总黄酮百分含量。

2 结果与分析

2.1 最大吸收峰

光谱扫描结果表明,在 510 nm 处有最大吸收峰。

2.2 标准曲线及回归方程

以吸光度 A 为纵坐标,芦丁溶液浓度 C 为横坐标,得标准曲线,进行回归分析,建立回归方程(图 1)。图 1 结果表明,其线性回归方程为: $y=0.089x-0.0773$ ($R=0.9956$),其中 x 为芦丁溶液的浓度, y 为吸光度值。说明吸光度值与相应的芦丁溶液浓度呈良好的线性相关。

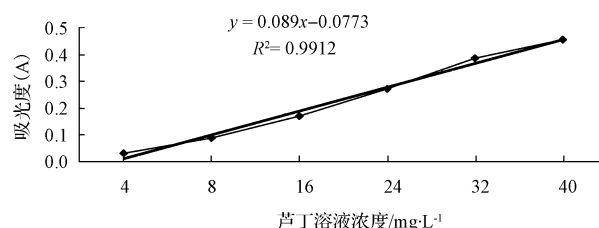


图 1 浓度与吸光度标准曲线

Fig. 1 Standard curve of concentration and absorbance

表 2 标准系列溶液的吸光度

Table 2 Absorbency of standard series solution

芦丁溶液浓度/mg·L ⁻¹	4	8	16	24	32	40
吸光度(A)	0.031	0.091	0.169	0.273	0.385	0.457

2.3 正交实验最佳提取条件

I_1 中, $2.745=0.894+0.915+0.936$, $2.764=0.894+0.920+0.950$, $2.813=0.894+0.961+0.958$ 。 I_1/k 中, $0.915=2.745/3$, $0.921=2.764/3$, $0.938=2.813/3$ 。

表 3 正交实验结果

Table 3 Results of orthogonal experiment

因素				
	料液比/g·mL ⁻¹	乙醇浓度/%	提取时间/min	总黄酮含量/%
1	1:8	75	90	0.894
2	1:8	85	120	0.915
3	1:8	95	150	0.936
4	1:10	75	120	0.920
5	1:10	85	150	0.939
6	1:10	95	90	0.961
7	1:12	75	150	0.950
8	1:12	85	90	0.958
9	1:12	95	120	0.976
I_1	2.745	2.764	2.813	
I_2	2.820	2.812	2.811	$y=8.449$
I_3	2.884	2.873	2.825	$y/n=0.939$
K	3	3	3	
I_1/k	0.915	0.921	0.938	
I_2/k	0.940	0.937	0.937	
I_3/k	0.961	0.958	0.942	

由表 4 可知, $0.046 > 0.037 > 0.005$, 即影响绿萝花中总黄酮提取的因素大小是: 料液比 $>$ 乙醇浓度 $>$ 提取时间, 最优的提取工艺是料液比为 1 : 12, 提取时间 120 min, 乙醇浓度 95%。

表 4 正交实验极差分析

Table 4 Results by analytical approach (analysis of variance) of orthogonal experimental theory

序号	因素		
	料液比	乙醇浓度	提取时间
1	—0.024	—0.018	—0.001
2	0.001	—0.002	—0.002
3	0.022	0.019	0.003
T	0.046	0.037	0.005

2.4 方法稳定性试验

准确吸取 2.0 mL 绿萝花总黄酮提取液, 置于 25 mL 的容量瓶中, 按 1.2.4 方法显色, 并每隔 1.0 min 测 1 次吸光度, 设定时间为 100 min。结果表明, 显色反应结束 10 min 后, 在室温不大于 25℃ 的环境中, 提取溶液的吸光度值保持稳定, 故该试验的稳定性能满足正常的试验研究。

2.5 方法精密度试验

准确吸取 5.0 mL 芦丁标准溶液和绿萝花总黄酮提取液各 6 份, 分别置于 25 mL 的容量瓶中, 按 1.2.4 方法显色, 以试剂空白作参比溶液, 在波长 510 nm 处测定吸光度。精密度试验结果显示, 芦丁标准溶液, $RSD = 0.9\%$; 绿萝花总黄酮提取液, $RSD = 1.1\%$ 。结果表明, 该试验方法有较好的重复性, 能满足正常测定精度的要求。

2.6 回收率试验

准确吸取 2.0 mL 已知总黄酮含量的绿萝花总黄酮提取液各 5 份, 置于 25 mL 的容量瓶中, 作为底液, 再分别准确加入 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 芦丁标准溶液, 按 1.2.4 方法显色, 然后以试剂空白作参比溶液, 在波长

510 nm 处测定吸光度, 计算回收率。结果表明, 平均回收率为 101.24%。

2.7 剔除干扰物质的方法

在用乙醇作提取剂, 回流提取前先用石油醚回流提取可以有效的剔除绿萝花中脂溶性色素及其它组分对比色测定的干扰。

3 结论与讨论

该试验结果表明, 影响绿萝花中总黄酮提取的因素大小是: 料液比 $>$ 提取时间 $>$ 乙醇浓度, 最优的提取工艺是料液比为 1 : 12, 提取时间 90 min, 乙醇浓度 75%。绿萝花中总黄酮含量达 0.976%。以乙醇为提取剂回流提取绿萝花中的总黄酮并用分光光度法测定吸光度值来测定总黄酮含量, 其准确性、重复性、线性关系和回收率均能满足科研和生产的要求, 而且操作快速简便, 可用于对实际样品中黄酮类化合物的分析。

参考文献

- [1] 竺琴, 张焜, 杜志云, 等. 西藏绿萝花提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制及抗氧化作用[J]. 中药材, 2009, 32(1): 89-92.
- [2] 李洪玉, 孙静芸, 戴诗文. 竹叶黄酮提取物的生产工艺条件研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2004, 21(5): 371-372.
- [3] Massaeli H, Sobrattee S, Pierce G N. The importance of lipid solubility in antioxidant and free radical generating system for determining lipoprotein peroxidation[J]. Free Radical Biology Medicine, 1999, 26: 1524-1530.
- [4] 许钢, 张虹, 胡健. 竹叶黄酮的提取方法[J]. 分析化学, 2000, 28(8): 1055.
- [5] 吴耀辉, 龚燕飞, 陈建华. 粉单竹竹叶黄酮提取工艺的初步研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2010(6): 30.
- [6] 王丽梅, 余龙江, 崔永明, 等. 桂花黄酮的提取纯化及抑菌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008(20): 717-720.
- [7] 陈家鹏. 西藏绿萝花中黄酮和还原糖含量测定研究[J]. 中国民族民间医药, 2010(13): 2-3.
- [8] 林春蕊. 野菊花总黄酮的含量测定[J]. 广西植物, 2002, 22(5): 467-468.

Study on Extracting Process of Flavonoids from *Scindapsus aureus* (Linden ex Andre) Engl

LI Wen-mao, SHI Yu-ping, LIU Chun-ying, HAN Shi-fen, WANG Yong-ning
(Department of Chemistry, Qinghai Normal University, Xining, Qinghai 810000)

Abstract: Taking *Scindapsus aureus* (Linden ex Andre) Engl as material and ethanol as extraction agent, the best extracting process of flavonoids from *Scindapsus aureus* (Linden ex Andre) Engl were studied by ethanol refluxing extraction method based on orthogonal experiment. The results showed that the power of the three factors influencing the flavonoid extraction from *Scindepus aureus* were liquid-solid ratio, extraction time, ethanol concentration. In the optimal extraction process, the liquid-solid ratio was 1 : 12, extraction time was 90 min and ethanol concentration was 75%. Under these conditions, the flavonoid content in *Scindepus aureus* could reach 0.976%.

Key words: *Scindapsus aureus* (Linden ex Andre) Engl; flavonoids content; optimal process