

# 云南翠雀花根中总黄酮提取方法的研究

张虹<sup>1</sup>, 王景李<sup>1</sup>, 白红丽<sup>2</sup>, 李春燕<sup>1</sup>, 袁寒<sup>1</sup>, 郭俊明<sup>2</sup>

(1. 红河学院 生命科学与技术学院, 云南省高校农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室, 云南 蒙自 661100;

2. 云南民族大学, 民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室, 云南 昆明 650500)

**摘要:**以云南翠雀花根为试材, 采用索氏提取法、冷浸法和水提法, 分别以乙醇、甲醇和蒸馏水作为提取剂, 对云南翠雀花根中的总黄酮进行提取工艺研究。结果表明:云南翠雀花根中总黄酮提取量最高的方法为:索氏提取法, 其次为冷浸法, 最低为水提法;提取剂效果依次为:乙醇>甲醇>蒸馏水, 以乙醇浓度为70%时的提取量最高为2.71 mg/g。

**关键词:**云南翠雀花根;总黄酮;提取;研究

**中图分类号:**Q 946 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0153-02

云南翠雀花(*Delphinium yunnanense* Franch)属毛茛科多年生草本植物, 又名飞燕草、小草乌、月下参等, 以根入药。分布于贵州、云南的昆明、嵩明、楚雄、元江和文山等地<sup>[1]</sup>。生于海拔1 000~2 400 m的草坡或灌木丛<sup>[2]</sup>。是云南的一种常用民间草药, 其味苦、平, 性温热, 有毒, 能祛风除湿, 解寒止痛, 用于治疗胃痛、风湿关节痛、咳嗽等病症<sup>[1,3]</sup>。而黄酮类化合物具有多种生物活性和药理作用, 不仅对心血管系统有治疗作用, 且具有抗炎、抗菌及抗病毒等作用<sup>[4-5]</sup>。现以云南翠雀花为试材, 以不同浓度乙醇、甲醇和蒸馏水为提取剂, 采用索氏提取法、冷浸法和水提法, 提取云南翠雀花根中的总黄酮, 以期对云南翠雀花的药用研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试新鲜云南翠雀花购买于蒙自草药市场。将新鲜云南翠雀花根洗净, 晒干, 粉碎, 备用。供试试剂: 芦丁标准品, 乙醇、甲醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等, 均为分析纯。紫外分光光度计(UV-4802S型紫外-可见分光光度计, 上海尤尼柯仪器有限公司生产)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 标准曲线制备** 称取120℃干燥至恒重的无水芦丁10.0 mg, 用70%的乙醇或甲醇定容于50 mL容量瓶中, 摇匀, 得到浓度为0.20 mg/mL的标准品溶液备用。准确量取此液0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL于

25 mL容量瓶中, 分别加5%亚硝酸钠和10%硝酸铝溶液各0.3 mL, 放置6 min。加4%氢氧化钠溶液4.0 mL, 分别用70%的乙醇或甲醇稀释至刻度, 混匀, 放置15 min, 同时以试剂空白作参比。在510 nm波长处测定溶液的吸光度, 以吸光度A为纵坐标, 浓度C(mg/mL)为横坐标, 绘制标准曲线。分别得乙醇线性回归方程: $A=9.8929C-0.0009$ ,  $R^2=0.9994$ 。甲醇线性回归方程: $A=10.354C-0.0059$ ,  $R^2=0.9991$ 。

**1.2.2 样品提取液的制备** 索氏提取法: 分别称取云南翠雀花根粉4 g, 用滤纸包好, 置于索氏提取器中, 分别用浓度为60%、70%、80%、95%的乙醇或甲醇200 mL、85℃条件加热回流至提取液无色, 收集提取液后浓缩用相应浓度的乙醇或甲醇溶液定容至100 mL作为样品提取液。冷浸法: 称取4份云南翠雀花根粉4 g分别置于100 mL三角瓶中, 分别加入60%、70%、80%、95%乙醇100 mL, 浸泡3 h, 过滤, 滤液用相应浓度的乙醇定容至100 mL作为样品液。水提法: 称取云南翠雀花根粉4 g, 置于250 mL三角瓶中, 加入100 mL蒸馏水, 置于85℃恒温水浴锅中加热3 h, 过滤, 滤液用蒸馏水定容至100 mL, 作为样品液。

**1.2.3 总黄酮含量的测定** 准确吸取样品提取液2.0 mL, 置于25.0 mL容量瓶中, 按1.2.1方法操作, 在510 nm波长下平行测定3次, 同时以样品空白作参比。根据回归方程, 计算总黄酮的浓度和总黄酮提取量。

**1.2.4 稳定性试验** 准确量取2.0 mL 70%乙醇的提取液, 按1.2.1方法操作, 放置1 h, 每隔10 min测定1次吸光度, 确定样品的稳定性。

**1.2.5 加标回收率试验** 取70%乙醇提取液2.0 mL置于25 mL容量瓶中, 加入芦丁标准品1.0 mg, 余下部分按1.2.1方法操作, 平行测定5次, 计算加标回收率。

**第一作者简介:**张虹(1962-), 女, 教授, 现主要从事生物技术等研究工作。E-mail: zh\_biology2@126.com.

**责任作者:**郭俊明(1962-), 男, 硕士, 教授, 现主要从事无机非金属材料及生物化学等研究工作。E-mail: guojunming@tsinghua.org.cn.

**基金项目:**国家民族事务委员会教育部共建民族药资源化学重点实验室开放基金资助项目(MZY1405)。

**收稿日期:**2014-03-13

## 2 结果与分析

### 2.1 索氏提取法提取结果分析

由表 1 可知,以甲醇为提取剂,随甲醇浓度不同,总黄酮提取量不同,其中甲醇浓度为 80% 时总黄酮提取量最高为 2.44 mg/g,其次是甲醇浓度 60%,甲醇浓度 70% 的提取量稍低于甲醇浓度 60% 的提取量,二者相差 0.21 mg/g,甲醇浓度为 95% 时的总黄酮提取量最低,为 1.21 mg/g。以乙醇为提取剂时,乙醇浓度为 70% 时总黄酮提取量最高为 2.71 mg/g,乙醇浓度 80% 的次之,乙醇 60% 的提取量次于乙醇 70% 浓度的,乙醇浓度 95% 时的总黄酮提取量最低,为 1.32 mg/g,乙醇浓度的总黄酮最高提取量与甲醇浓度总黄酮最高提取量相差 0.27 mg/g,与最低提取量相差 0.11 mg/g。

相同浓度下,除乙醇浓度 60% 时总黄酮提取量低于甲醇外,其余浓度均表现出乙醇的提取量高于甲醇,总体结果比较,乙醇的提取效果好于甲醇。

### 2.2 乙醇冷浸法的提取结果分析

由表 1 可知,冷浸法提取云南翠雀花根中总黄酮时,以乙醇作为提取剂,乙醇浓度 70% 时,总黄酮提取量最高 1.48 mg/g,乙醇 60% 次之,为 1.26 mg/g,乙醇 80% 和 95% 的总黄酮提取量与乙醇 60% 和乙醇 70% 时的总黄酮提取量相比,相差较大,乙醇 80% 的总黄酮提取量为 0.31 mg/g,最低为 95% 的乙醇浓度,提取量仅为 0.15 mg/g。

### 2.3 恒温水提法的提取结果分析

由表 1 可知,水提法的总黄酮提取量为 1.10 mg/g,低于乙醇和甲醇的最高总黄酮提取量。

表 1 云南翠雀花根总黄酮的提取结果

提取剂浓度/%		60	70	80	95	
总黄酮提取量 /mg·g <sup>-1</sup>	索氏提	乙醇	1.89	2.71	2.55	1.32
	取法	甲醇	2.26	2.05	2.44	1.21
	冷浸法	乙醇	1.26	1.48	0.31	0.15
	水提法	蒸馏水	—	—	—	1.10

### 2.4 稳定性试验

稳定性试验结果表明,1 h 内测得吸光度的 RSD=1.05%,表明在 1 h 内样品稳定性好。

### 2.5 加标回收率试验

其平均回收率为 100.8%,相对标准偏差 RSD 为 1.14%,测定结果准确可靠,测定精密度符合要求。

## 3 结论与讨论

该试验采用索氏提取法、冷浸法和水提法 3 种提取方法进行比较,索氏提取法的提取效果最好,冷浸法次之,水提法最差,这与彭程程等<sup>[6]</sup>的研究结果一致。

甲醇在 80% 时的云南翠雀花根中总黄酮提取量最高,乙醇在 70% 的提取量最高,甲醇和乙醇 95% 时提取量均为最低,蒸馏水的总黄酮提取量,低于乙醇和甲醇。总体结果比较提取剂效果依次为:乙醇>甲醇>蒸馏水。乙醇和甲醇为提取剂时,在高浓度 95% 时提取量最低,这可能是在提取时醇浓度过高,容易导致挥发性过大,同时一些醇溶性杂质、色素、亲脂性强的成分溶出增加,与多酚、黄酮类物质竞争和醇结合,从而导致提取量下降<sup>[7-8]</sup>。

## 参考文献

- [1] 云南省药物研究所. 云南天然药物图鉴[M]. 3 卷. 昆明:云南科技出版社,2008.
- [2] 关文灵,李世锋. 云南野生翠雀属花卉资源[J]. 亚热带植物科学, 2002,31(增刊):61-64.
- [3] 梁妍,郝小燕,杨小生. 云南翠雀花中生物碱成分研究[J]. 中成药, 2009,31(5):795-796.
- [4] 裴凌鹏,惠伯棣,金宗濂. 黄酮类化合物的生理活性及其制备技术研究进展[J]. 食品科学,2004,25(2):203-205.
- [5] 刘玉芬,夏海涛,杨树平. 紫外分光光度法测定剑麻花中总黄酮的含量[J]. 食品科学,2005,26(9):418-419.
- [6] 彭程程,王青山,赵国祥,等. 黄酮类化合物的研究进展[J]. 农产品加工(学刊),2010(5):38-43.
- [7] 董捷,张红城,李洁,等. 八种蜂花粉醇提物中总多酚和总黄酮含量测定[J]. 食品工业科技,2008(11):80-82.
- [8] 阮征,胡筱波,赖富饶. 油菜花粉中黄酮类物质提取工艺的优化研究[J]. 食品科学,2007,28(7):133-137.

## Study on the Extraction Method Total Flavonoids in Root of the *Delphinium yunnanense*

ZHANG Hong<sup>1</sup>, WANG Jing-li<sup>1</sup>, BAI Hong-li<sup>2</sup>, LI Chun-yan<sup>1</sup>, YUAN Han<sup>1</sup>, GUO Jun-ming<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Higher Quality and Efficient Cultivation of Crops and Safety Control in Yunnan, College of Life Science and Technology, Honghe University, Mengzi, Yunnan 661100; 2. Key Laboratory of Ethnic Medicine Resource Chemistry, State Ethnic Affairs Commission and Ministry of Education, Yunnan University of Nationalities, Kunming, Yunnan 650500)

**Abstract:** Root of the *Delphinium yunnanense* were used as materials, the total flavonoids in root of the *Delphinium yunnanense* were extracted by Soxhlet extraction, water extraction, cold-maceration using alcohol, methyl alcohol and distilled water as solvent. The results showed that the extraction of total flavonoids was the highest by Soxhlet extraction, followed by cold-maceration, the extraction of total flavonoids was the lowest by water extraction. The extraotion effects order was alcohol>methyl alcohol>distilled water. The alcohol 70% as extractant, the extraction effect of total flavonoids was the highest 2.71 mg/g.

**Key words:** *Delphinium yunnanense* root; total flavonoids; extraction; study