

河北香菊绿原酸提取工艺研究

刘灵娣, 谢晓亮, 高雪飞, 温春秀

(河北省农林科学院 经济作物研究所, 河北 石家庄 050051)

摘要:以河北香菊为试验材料,利用高效液相色谱法对绿原酸含量进行测定,研究比较了超声提取和索氏提取2种方法对绿原酸提取率的影响。结果表明:河北香菊绿原酸最佳提取工艺为:乙醇浓度为90%、提取温度为55℃、提取时间为120 min、料液比为1:20;乙醇浓度是影响河北香菊绿原酸提取率的最主要因素;通过对河北香菊绿原酸提取方法的比较,表明超声方法优于传统的索氏提取方法。

关键词:河北香菊;绿原酸;索氏提取;超声提取

中图分类号:S 682.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)21-0152-03

菊花为菊科植物菊(*Chrysanthemum morifolium* Ramat.)的干燥头状花序,是我国传统常用大宗中药材。菊花品种繁多,有着多种用途,除了做园林观赏外,以药用菊花和茶用菊花占较大比例,其作为药食同源的物品,近年来已被广泛用于保健茶饮和食品。河北香菊是河北省农林科学院药用植物研究中心发现、收集、筛选出的芳香型白菊材料,具有浓郁芳香,挥发油含量突出,绿原酸、黄酮类有效成分含量较高等特点^[1]。

作为香菊主要有效成分之一的绿原酸,是一种缩酚酸,含有羧基和邻二酚羟基,易溶于水、醇和丙酮等溶剂,属酚类化合物,是植物在有氧呼吸过程中,经莽草酸途径形成的一种苯丙素类化合物。绿原酸的药用历史悠久,具有抗菌、抗病毒等作用,对消化、血液系统和生殖系统疾病均有疗效^[2-3]。前人报道的植物绿原酸提取方法的研究均是利用其易溶于极性有机溶剂的特性来进行提取的^[4-6],关于菊花绿原酸提取缺乏系统研究。该试验研究了超声波提取和索氏提取方法对香菊绿原酸提取的影响,旨在确定香菊绿原酸的最佳提取工艺,为评价药材质量提供科学准确的方法和标准。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料是河北香菊的干燥头状花序,用万能粉碎

机将植物样品粉碎成粉末状,过2号筛备用。试验仪器:752PC型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);JA1003A型上皿电子天平(上海精密科学仪器有限公司);DK-98-11A型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);KQ5200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);L600低速自动平衡离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。药品与试剂:乙醇(分析纯);蒸馏水;绿原酸标准品,购于中国食品药品检定研究院(110753-200413)。

1.2 试验方法

1.2.1 标准曲线的绘制 精密称取5.2 mg绿原酸标准品放入50 mL容量瓶中,用浓度为0.2 mol/L的盐酸定容,得到浓度为0.104 mg/mL的绿原酸对照品溶液。精密吸取绿原酸对照品溶液0、0.5、1、2、4、6、8、10、12 mL分别置于50 mL的容量瓶中,用0.2 mol/L的盐酸定容至刻度,摇匀,在327 nm波长下比色测定,经测定标准曲线的回归方程为: $A=51.4X-0.0031$; $R^2=0.9997$ 。A为吸光值,X为绿原酸的浓度(mg/mL)。

1.2.2 香菊绿原酸的超声波提取试验 通过单因素试验,确定每个影响因子对香菊绿原酸含量的影响,在此基础上设计正交实验,找到香菊绿原酸超声波提取的最佳工艺。料液比对香菊绿原酸提取的影响:精确称取5份(0.250 g)干燥的香菊样品于干燥的三角瓶中,分别按料液比1:10、1:20、1:40、1:80和1:100加入55%的乙醇,60℃超声提取30 min,定容至50 mL。溶剂浓度对河北香菊绿原酸提取的影响:精确称取6份(0.250 g)香菊样品于干燥的三角瓶中,按料液比1:20分别加入0、25%、40%、55%、70%、85%乙醇,摇匀,在60℃超声提取30 min,定容至50 mL。温度对河北香菊绿原酸提取的影响:精确称取4份(0.250 g)香菊样品于干燥的三角

第一作者简介:刘灵娣(1978-),女,河北定州人,博士,助理研究员,现主要从事药用植物栽培育种研究工作。E-mail:nkyliulingdi@126.com。

责任作者:谢晓亮(1962-),男,河北清苑人,博士,研究员,现主要从事药用植物栽培育种研究工作。

基金项目:河北省科技支撑计划资助项目(06276408D)。

收稿日期:2012-06-14

瓶中,加入 85% 的乙醇,分别在 30、45、60 和 75℃ 超声提取 30 min,定容至 50 mL。提取时间对河北香菊绿原酸提取的影响:精确称取 5 份(0.250 g)香菊样品于干燥的三角瓶中,按料液比 1:20 加入 85% 的乙醇,60℃ 的条件下,分别振荡 10、30、50、70 和 90 min,定容至 50 mL。香菊绿原酸提取的正交实验:对乙醇浓度、提取温度、提取时间和料液比进行正交实验(表 1)。

表 1 绿原酸正交设计因子和水平

Table 1 The factors and levels of orthogonal experiment with chlorogenic acid

水平	乙醇浓度	提取温度	提取时间	料液比
Level	Ethanol concentration	Extraction temperature	Extraction time	Material-liquid
	(LA)/%	(LB)/℃	(LC)/min	ratio(LD)
1	60	40	60	1:10
2	75	55	90	1:20
3	90	70	120	1:30

1.2.3 香菊绿原酸的索式提取试验 称取样品 1 g,加入 80 mL 乙醇,索氏提取,定容至 100 mL 容量瓶,从中吸取 1 mL 于 50 mL 容量瓶,用 0.2 mol/L 盐酸定容用于绿原酸测定。所用乙醇浓度分别为:35%、50%、65%、80%、95%,索式提取 1、3、5、7、9、11 h。

2 结果与分析

2.1 香菊绿原酸超声提取结果

2.1.1 料液比对香菊绿原酸提取的影响 以 55% 乙醇,在 60℃ 下以不同的料液比进行提取,依次为 10、20、40、80、100 倍,超声提取 30 min。由图 1(A)可以看出,当料液比为 1:20 时,绿原酸的提取效率最高,达 0.9%,再增加乙醇的量对其含量增加效果不大。

2.1.2 溶剂浓度对香菊绿原酸提取的影响 在 60℃,分别加入 0、25%、40%、55%、70%、85% 浓度的乙醇,超声提取 30 min。由图 1(B)可以看出,随着乙醇浓度的升高,绿原酸的提取量呈增加的趋势,在乙醇浓度 85% 时绿原酸的提取量最高,达到 0.95%。由方差分析结果可知,不同浓度乙醇对绿原酸的提取效果之间存在显著差异。

2.1.3 温度对香菊绿原酸提取的影响 加入 85% 的乙醇,分别在 30、45、60 和 75℃ 超声提取 30 min。由图 1(C)可以看出,绿原酸的提取量随着温度的升高而升高,在 60℃ 时达到最大,为 1.0%,之后温度再升高对绿原酸的增加效果不明显。

2.1.4 提取时间对香菊绿原酸提取的影响 以 85% 乙醇,料液比 1:20,60℃ 的条件下,分别超声提取 10、30、50、70 和 90 min。由图 1(D)可以看出,随着提取时间的增加,绿原酸的提取率增加,在 90 min 时达到最大,为 0.97%。

2.1.5 正交实验结果与分析 对表 2 进行分析可知,香

菊花序中绿原酸的最佳提取工艺为 LA₃LB₂LC₃LD₂,即:乙醇浓度为 90%、提取温度为 55℃、提取时间为 120 min、料液比为 1:20。由极差分析可知,各因素对绿原酸提取的影响程度大小依次为:LA>LC>LB>LD,即乙醇浓度影响最大,其次是提取时间,影响最小的是提取温度和料液比。

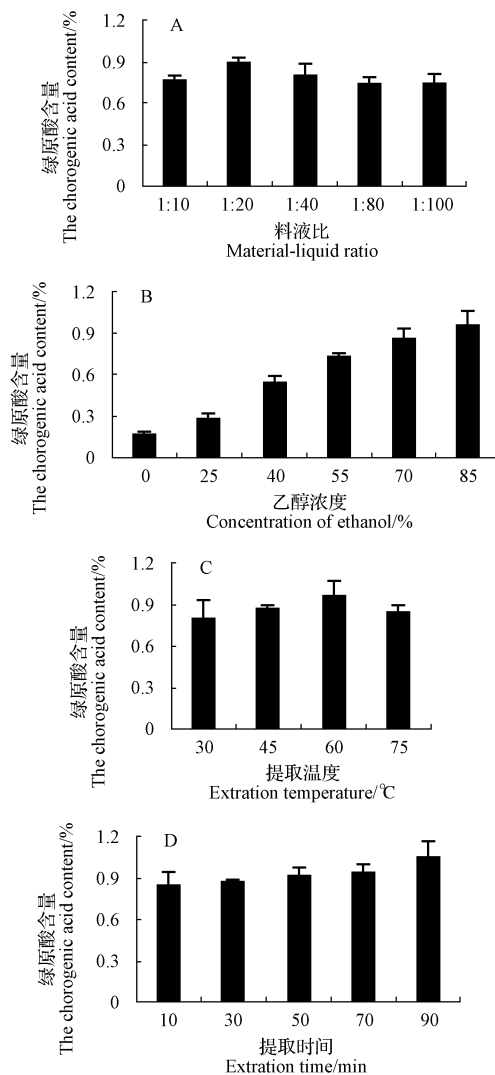


图 1 不同条件下提取绿原酸的量

(A 料液比;B 乙醇浓度;C 提取温度;D 提取时间)

Fig. 1 Effect of different conditions on the extraction percent of chlorogenic acid

(A material-liquid ratio;B concentration of ethanol;C extraction temperatures;D extraction time)

2.2 香菊绿原酸索式提取结果

由表 3 可以看出,在不同的乙醇浓度下,随着索式提取时间的延长,绿原酸的提取率呈增加的趋势,其中,35%、65%和 95%乙醇浓度处理在提取时间达到 7 h 后,绿原酸含量达最高值,分别为 0.51%、0.53%和 0.73%;50%和 80%乙醇浓度处理在提取时间达到 5 h 后,绿原酸含量达最高值,分别为 0.55%和 0.63%。由表 3 还可

表 2 $L_9(4^3)$ 绿原酸正交实验结果Table 2 Results of orthogonal experiment $L_9(4^3)$ with chlorogenic acid

试验处理	因素 Factor				绿原酸含量
Examination treatments	LA/%	LB/℃	LC/min	LD	Chorogenic acid content/%
1	60	40	60	1:10	0.75
2	60	55	90	1:20	0.82
3	60	70	120	1:30	0.84
4	75	40	90	1:30	0.85
5	75	55	120	1:10	1.03
6	75	70	60	1:20	0.83
7	90	40	120	1:20	1.16
8	90	55	60	1:30	1.00
9	90	70	90	1:10	0.95
K1	2.41	2.76	2.58	2.73	
K2	2.71	2.85	2.62	2.81	
K3	3.11	2.62	3.03	2.69	
优水平	LA3	LB2	LC3	LD2	
R	0.23	0.08	0.15	0.04	

表 3 索式提取绿原酸结果

Table 3 Results of methods of soxhelt's extraction of chorogenic acid

乙醇浓度		提取时间				
Concentration of	Extraction time/h					
ethanol/%	1	3	5	7	9	11
35	0.17Cc	0.32De	0.35Bc	0.51ABb	0.35Bb	0.33Cd
50	0.24BCc	0.46Bb	0.55Aab	0.42Bb	0.41Bb	0.40BCc
65	0.33Bb	0.42BCc	0.47ABb	0.53ABb	0.50ABb	0.49Bb
80	0.24BCc	0.38Cd	0.63Aa	0.42Bb	0.51ABb	0.50Bb
95	0.45Aa	0.64Aa	0.60Aa	0.73Aa	0.67Aa	0.70Aa

注:同列内平均值后相同小写或大写字母表示差异未达到 5% 或 1% 显著水平。

Note: Figures followed by the same small letters or capital are not significantly different at the 5% or 1% levels, respectively.

看出,在相同的提取时间内,随着乙醇浓度的提高,绿原酸的提取率增大,各处理均以 95% 浓度处理的绿原酸含量为最高。

3 结论与讨论

通过研究 2 种提取方法对香菊绿原酸提取效果的影响,结果表明,超声波正交实验设计方法提取的绿原酸含量范围在 0.75%~1.16%,而索式提取法提取的绿原酸含量范围仅在 0.17%~0.73%,由此可以看出,超声提取法能在短时间内获得较高的绿原酸提取率;同时,采用超声波提取解决了索式提取步骤繁琐的问题,故在提取香菊绿原酸时采用超声提取为最佳方法,最佳提取工艺为:乙醇浓度为 90%、提取温度为 55℃、提取时间为 120 min、料液比为 1:20。

参考文献

- [1] 刘灵娣,谢晓亮,李存东,等. 河北香菊与药用菊花的植物学特征及主要化学成分的比较[J]. 河北农业大学学报,2008,31(1):53-55,70.
- [2] 张鞍灵,马琼,高锦明,等. 绿原酸及其类似物与生物活性[J]. 中草药,2001,32(2):173-176.
- [3] 高春荣,胡锦蓉,孙君社. 金银花中绿原酸的提取工艺[J]. 中国农业大学学报,2003,8(4):5-8.
- [4] 戴敏,刘青云,李道中,等. 菊花解热、降压作用的物质基础[J]. 中药材,2001,24(7):505.
- [5] 李跃中,纵伟,董海丽. 超声辅助提取菊花中绿原酸的工艺研究[J]. 安徽农学通报,2008,14(9):194,56.
- [6] 陈刚,侯世祥,胡平,等. 金银花提取物中绿原酸的稳定性研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(3):223-225.

Study on the Extraction Technology of Chlorogenic Acid in 'Hebeixiangju'

LIU Ling-di, XIE Xiao-liang, GAO Xue-fei, WEN Chun-xiu

(Institute of Industrial Crops, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang, Hebei 050051)

Abstract: In this experiment soxhlet extraction method and ultrasonic extraction method were compared by extracting chlorogenic acid from 'Hebeixiangju' and the content was tested using high performance liquid chromatographic method. The results showed that the content of chlorogenic acid was the best when ethanol concentration was 90%, extraction temperature 55℃, extraction time 120 min, material-liquid ratio 1:20. And among those extractions ethanol concentration was the most important factor. The ultrasonic extraction method was superior to the traditional soxhlet extraction method.

Key words: 'Hebeixiangju'; chlorogenic acid; soxhelt extraction method; ultrasonic extraction method