

# 超声波法提取长白山野菊花中类黄酮的工艺研究

王立江

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

**摘要:**以长白山野菊花中类黄酮得率为指标,通过单因素试验和正交实验设计,对乙醇浓度、超声提取温度、超声提取时间、料液比因素进行优化,研究提取长白山野菊花中类黄酮的最佳工艺。结果表明:超声波法提取长白山野菊花中类黄酮的最佳提取条件为:乙醇浓度 60%,超声提取温度 70℃,超声提取时间 20 min,料液比 1:20 (g/mL);在此最佳条件下,类黄酮得率为 46.89 mg/g。

**关键词:**长白山野菊花;类黄酮;超声提取

**中图分类号:**R 284.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)11-0133-04

长白山野菊花属长白山地带多年生草本植物,为菊科植物野菊的干燥头状花序。其资源丰富,来源广泛,生于山坡、草地、灌丛、河边水湿地及田边、路旁。以色黄无梗、完整、气香、花未全开者为佳<sup>[1]</sup>。秋冬二季花初开放时采摘,晒干或蒸后晒干入药,因其性凉,味苦、辛,归肺肝经,收载于《中国药典》2005 年版 1 部,具有疏风清热、消肿解毒、降压、抑菌与抗病毒、抗炎和免疫、抗氧化等药理功效。应用现代中药化学的分析手段发现在野菊花中蕴含着丰富的类黄酮化合物,如木犀草素、木犀草素-7-葡萄糖苷、槲皮素、槲皮素苷类等<sup>[2]</sup>,体现在野菊花在降血压、改善心血管循环、清除超氧阴离子自由基、抗衰老、防护紫外线等方面的功效。此外,野菊花成分在中成药及单方制剂中应用非常广泛,常用于上呼吸道感染、扁桃体炎、高血压和冠心病等治疗,是一种临床历史长达上千年的常用中药<sup>[3]</sup>。

类黄酮是重要的一类植物次生代谢产物,广泛分布于植物界。主要有 3 种形态:游离态的黄酮苷元、黄酮苷(含 O-糖苷和含 C-糖苷)和与羧酸形成酯的形式<sup>[4]</sup>,由于分子结构中有酮基,其颜色又常呈黄色,故有黄酮之称。由于黄酮类物质的低毒性和高效性,近年来有关黄酮类化合物在心脑血管疾病和肿瘤治疗等方面的研究受到了越来越广泛的关注,成为了天然药物研究开发的热点。其多种多样的生物活性和药理作用,极具开发应用价值,已被广泛应用在医药、功能食品添加剂、兽药和农药等领域<sup>[5]</sup>。如对一些常见病和多发病有重要的治疗或预防作用。通过抗氧化和清除氧自由基而起到抗

癌、防癌功效,并能通过降低血糖、血脂、尿糖而治疗高血压、糖尿病及其并发症,还可增强机体的免疫系统功能而起到护肝效果<sup>[6]</sup>,也可通过其抗炎、抗过敏、抗病毒作用而治疗脓肿溃疡,并有止咳化痰、镇痛泻下之功效<sup>[7]</sup>。在抑菌方面,对金黄色葡萄球菌、白喉杆菌、链球菌、绿脓杆菌、炭疽杆菌、流感病毒,均有抑制作用。此外,内服并煎汤外洗,可用于皮肤瘙痒之证<sup>[8]</sup>。随着黄酮类物质的鉴定和提取技术已趋成熟,除在医药工业上已广泛应用其生理活性外,也把它作为功能性食品的添加剂、天然抗氧化剂、天然色素和天然甜味剂等应用于饮料、酒类、焙烤食品、糕点的生产<sup>[9]</sup>。但其中大部分物质仍是作为天然色素,其保健功能尚未得到充分开发。类黄酮一般为浅黄色或黄色,少数作为色素使用的颜色较深,高粱红、可可色素、红花黄、菊花黄、沙棘黄等。

超声波法提取因其独特的提取机制与理想的提取效果,是近几年来新发展的提取类黄酮的方法。超声波法提取原理是其具有强大的传质作用和空化作用,使溶剂分子迅速渗透到组织细胞中,与溶质充分接触,可以显著提高有效成分的提取率,广泛用于黄酮类化合物的提取过程中<sup>[10]</sup>。

因此,为了更好地开展长白山野菊花的药材质量标准化研究,优化长白山野菊花中类黄酮的提取工艺,开发研究长白山野菊花中类黄酮化合物在保健食品、食品抗氧化剂以及医药方面的应用,该试验对长白山野菊花类黄酮成分有效部位进行了超声波提取工艺的研究。在单因素试验的基础上,采用正交方法优化长白山野菊花类黄酮的超声提取工艺参数,通过建立紫外分光光度法检测长白山野菊花中类黄酮的含量<sup>[13]</sup>。旨在为长白山野菊花的质量评价提供一种新的依据,为大批量生产长白山野菊花类黄酮提供理论依据。

**作者简介:**王立江(1972-),男,硕士,副教授,硕士生导师,研究方向为食品分析检测。

**基金项目:**吉林省教育厅资助项目(吉教科合字 2011-273)。

**收稿日期:**2012-01-21

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试长白山野菊花采自长白山地区路边。

主要试剂:芦丁对照品(吉林农业科技学院重点实验室提供);甲醇(分析纯);天津基准化学试剂有限公司;乙醇(分析纯);沈阳市新化试剂厂,纯净水(吉林地区生产)。

主要设备:AL204 型电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;Direct-Q3 型超纯水机,密理博(上海)贸易有限公司;KQ-50TDE 型高频数控超声波清洗器,舒美—昆山市超声仪器有限公司;UV-1700 型紫外分光光度计,上海实验仪器厂有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 工艺流程及操作要点 原料→干燥→粉碎→称量→浸泡→超声波提取→过滤→定容滤液→稀释→取液测吸光值。原料的干燥与粉碎:长白山野菊花采自长白山地区,自然风干至恒重后摘其花朵部分。应用小型人工粉碎机将其粉碎,待用。称量:应用电子天平,准确称取长白山野菊花样品 1.000 g,置于烧杯中。浸泡:向烧杯中加入相应量的分析纯乙醇溶液进行浸泡。超声波提取:将加入乙醇溶液的长白山野菊花浸泡液烧杯置于高频数控超声波清洗器中,进行超声波提取。过滤和定容滤液:将超声波提取后得到的提取液过滤到 25 mL 容量瓶中,加入分析纯乙醇溶液准确定容至刻度线,摇匀。稀释和测吸光值:取上步所得液 1 mL 用分析纯甲醇稀释 25 倍,在 360 nm 下用紫外分光光度计测其吸光值。

1.2.2 供试品溶液的制备 将干燥到恒重的长白山野菊花用小型粉碎机粉碎,用 AL204 型电子天平精确称取 1.000 g 长白山野菊花若干份,置于烧杯中,按照试验流程进行超声波提取,将提取液过滤后用乙醇定容滤液,至刻度线,摇匀,再用甲醇稀释溶液后得供试品溶液。

1.2.3 单因素试验 为系统考虑超声波提取的工艺参数,根据已有报道及实际情况,选用乙醇浓度、超声提取温度、超声提取时间、料液比进行单因素试验。在单因素试验的基础上确定正交实验工艺参数范围,进行正交实验,确定优化的提取工艺条件。乙醇浓度单因素试验:准确称取 1.000 g 样品,分别采用体积分数 30%、40%、50%、60%、70% 不同浓度的乙醇浸提,在超声波功率 80 W,超声温度 50℃,料液比 1:30(g/mL)的试验条件下提取类黄酮 30 min。时间单因素试验:准确称取 1.000 g 样品,在 80 W 超声波功率,超声温度 50℃ 条件下,用 50% 的乙醇溶液,料液比为 1:30(g/mL),分别在 10、20、30、40、50 min 下对长白山野菊花中的类黄酮进行提取。温度单因素试验:准确称取 1.000 g 样品,以浓度为 50% 的乙醇做提取剂,料液比 1:30(g/mL),超声功率 80 W,提取 30 min 的条件下,考察在 30、40、50、60、70℃ 这 5 种超声

提取温度下对提取率的影响。料液比单因素试验:准确称取 1.000 g 样品,以浓度为 50% 的乙醇做提取剂,在超声功率 80 W,超声温度 50℃ 的条件下,超声提取 30 min,料液比分别为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 (g/mL)。这 5 种情况下进行长白山野菊花类黄酮的提取。将各单因素试验提取液过滤到 25 mL 容量瓶中,加入乙醇溶液准确定容至刻度线,摇匀。取液 1 mL 稀释 25 倍,在 360 nm 下测其吸光值。

1.2.4 正交实验 在单因素试验的基础上,以乙醇浓度、超声提取时间、超声提取温度、料液比为因素,以长白山野菊花类黄酮得率为考察指标,进行  $L_9(3^4)$  正交实验(表 1)。

表 1 正交实验因素及水平

水平	因素			
	A 乙醇浓度/%	B 提取时间/min	C 提取温度/℃	D 料液比/g·mL <sup>-1</sup>
1	50	20	50	1:20
2	60	30	60	1:30
3	70	40	70	1:40

1.2.5 类黄酮测定 对照品溶液配制:芦丁标准溶液由吉林农业科技学院重点实验室提供。标准曲线的绘制:精密吸取不同浓度芦丁对照品溶液,测其吸光值,得吸光度与浓度的回归方程: $A=0.02976C-0.03100$ ;  $r^2=0.99826$ (C-芦丁浓度 mg/L; A-吸光度)。结果表明,芦丁在 10~80 mg/L 范围内,吸光度与浓度线性关系良好。芦丁标准曲线见图 1。

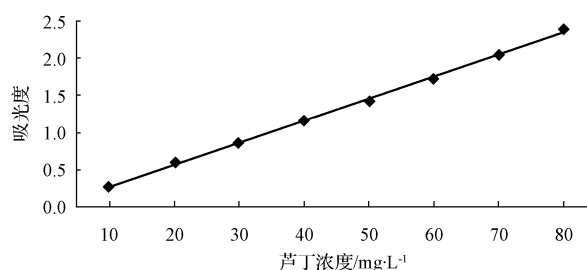


图 1 芦丁标准曲线

1.2.6 测吸光值计算得率 精密吸取各供试品溶液 1 mL 于 25 mL 容量瓶中,用甲醇(分析纯)定容至 25 mL 后,静置 2 min,用 UV-1700 型紫外可见分光光度计,采用波长为 360 nm 的紫外光,测定提取液的吸光度,由标准曲线方程计算出样品溶液质量浓度 C,再计算出样品中类黄酮含量,计算公式为:样品中类黄酮的含量(mg/g)=(C×V)/M,式中:C 为样液中类黄酮的浓度,mg/L;V 为样液的稀释体积,mL;M 为样品质量,g。

## 2 结果与分析

### 2.1 乙醇浓度对类黄酮得率的影响

从图 2 可以看出,随着乙醇浓度的增加,长白山野菊花类黄酮的得率逐渐增加,当乙醇浓度增至 60% 时类

黄酮得率最大,之后再增加乙醇的浓度,类黄酮的得率呈现下降的趋势。因此,乙醇的浓度选取 60% 为最佳提取浓度。

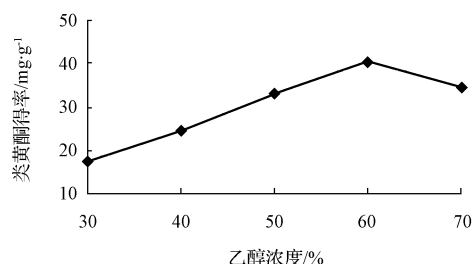


图2 乙醇浓度对类黄酮得率的影响

## 2.2 超声波提取时间对类黄酮得率的影响

由图3可知,在 10~30 min 内随着超声时间的延长,长白山野菊花类黄酮的得率逐步增加,在 30 min 时类黄酮的得率出现最大值,继续延长提取时间到 50 min 类黄酮得率有所下降。这是因为长时间超声作用下,原料中有效成分易发生降解而失活,杂质含量也随之增加。因此,超声最佳提取时间为 30 min。

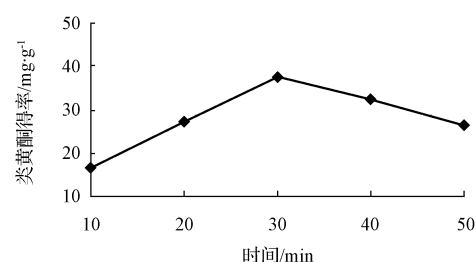


图3 超声波提取时间对类黄酮得率的影响

## 2.3 超声波提取温度对类黄酮得率的影响

由图4可知,随着超声温度的升高,长白山野菊花类黄酮得率逐渐增加,当温度达到 60℃ 时,温度继续升高,长白山野菊花类黄酮得率呈下降趋势。若温度过高,类黄酮有效成分的结构易受破坏,活性成分降低,同时杂质的浸出量也增加。因此,超声最佳提取温度为 60℃。

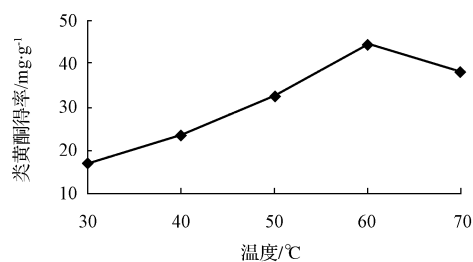


图4 超声波提取温度对类黄酮得率的影响

## 2.4 料液比对类黄酮得率的影响

由图5可知,长白山野菊花类黄酮得率随着料液比的增加而增加,但料液比达到 1:30 (g/mL) 时得率最大,之后再随着料液比的增加,得率逐渐降低,原因是由于已经浸提出的大量类黄酮对剩余类黄酮有协同浸提作用。溶剂相对用量过多,类黄酮得率反而下降。因此,试验料液比最佳为 1:30 (g/mL)。

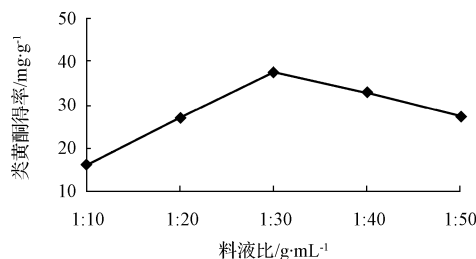


图5 料液比对类黄酮得率的影响

## 2.5 正交实验结果

从表2可以看出,每个因素对长白山野菊花类黄酮的得率都有一定的影响,各因素对类黄酮提取率影响相关性排列为:C>D>A>B,即:提取温度>料液比>乙醇浓度>提取时间。各因素的优先水平为:A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>,即乙醇浓度 60%,提取时间 20 min,提取温度 70℃,料液比 1:20 (g/mL)。但正交实验中不含 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub> 组合,且得率最高组合为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>,因此对以上 2 组进行验证试验。在 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub> 组合下长白山野菊花类黄酮得率为 46.89 mg/g 高于 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub> 组合下的 46.60 mg/g,且在 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub> 条件下,缩短了提取时间,节省了能源,降低了操作成本。

表2 正交实验结果

试验号	因素				得率 /mg·g <sup>-1</sup>
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	38.69
2	1	2	2	2	35.31
3	1	3	3	3	43.89
4	2	1	2	3	42.75
5	2	2	3	1	46.60
6	2	3	1	2	33.97
7	3	1	3	2	39.25
8	3	2	1	3	37.38
9	3	3	2	1	39.56
K <sub>1</sub>	116.89	119.69	109.04	124.85	
K <sub>2</sub>	123.32	119.29	117.62	108.53	
K <sub>3</sub>	116.19	117.42	129.74	124.02	
k <sub>1</sub>	38.96	39.90	36.35	41.62	
k <sub>2</sub>	41.11	39.76	39.21	36.18	
k <sub>3</sub>	38.73	39.14	43.25	41.34	
R	2.38	0.76	6.90	5.44	

## 3 结论

该试验应用超声波法提取长白山野菊花中类黄酮,

具有高效便捷、易于控制、提取时间较短的特点。经过对试验的操作与分析,最后得到最佳工艺组合  $A_2B_1C_3D_1$ ,即乙醇浓度 60%,提取时间 20 min,提取温度 70℃,料液比 1:20(g/mL)为最佳提取工艺。在此条件下,超声波法提取长白山野菊花中类黄酮的得率最大,为 46.89 mg/g。

### 参考文献

- [1] 张永明,黄亚菲,陶玲,等.不同产地野菊花挥发油化学成分比较研究[J].中国中药杂志,2002,27(4):265-267.
- [2] 刘建萍.中药野菊花的研究概况[J].天津药学,2007,19(4):66-68.
- [3] 高美华,李华,张莉,等.野菊花化学成分的研究[J].中药材,2008,34(5):628-632.
- [4] 黄盛治,曹帅,王丽,等.青玉米须总黄酮的提取工艺研究[J].吉林化工学院报,2009,26(1):20-22.
- [5] Wang Y F, Gong Z Y, Fang M. Study on extraction technology of flavonoids in *Malus hupehensis* leaves [J]. Journal of Wuhan Poly Technic

University, 2008, 27(13):12-16.

- [6] 任顺成.玉米须黄酮类测定方法的研究[J].食品科学,2004,25(3):139-142.
- [7] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:化学工业出版社,2005:219,596.
- [8] 裴凌鹏,惠伯棣,金宗濂,等.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(7):203,207.
- [9] 汤建萍,周春山,涂秋云.微波辅助提取荔枝核黄酮类化合物及其抗氧化性研究[J].天然产物研究与开发,2007(4):130-133.
- [10] 董嘉德.超声波在中药提取中的应用[J].中国药业,2002,11(11):55.
- [11] 钟方丽,王晓林,张义兰,等.超声波辅助提取紫苑总黄酮的工艺研究[J].安徽农业科学,2010,38(16):8662-8664.
- [12] 马厉芳,吴春霞,阿不都拉·阿巴斯.超声波提取紫草叶中总黄酮的工艺研究[J].食品科学,2007,28(10):275-277.
- [13] 胡静丽,陈健初,杨梅叶.黄酮类化合物最佳提取工艺研究[J].食品科学,2003,24(6):50-52.

## Study on Ultrasonic Extraction Technology of Flavonoids from *Chrysanthemum indicum* Flower of Changbai Mountain

WANG Li-jiang

(Jinlin Agriculture Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

**Abstract:** Taking flavonoids content extracted from the wild *Chrysanthemum indicum* in Changbai Mountain as indexes, by single factor experiment and orthogonal test design, the ethanol concentration, ultrasonic extraction temperature, ultrasonic extraction time, material liquid optimize were optimized, in order to study the best extraction condition of flavonoids from wild *Chrysanthemum indicum*. The results showed that the best ultrasonic extraction conditions of flavonoids from the wild *Chrysanthemum indicum* in Changbai Mountain were ethanol concentration 60%, ultrasonic extraction temperature 70℃, ultrasonic extraction time 20 min, material to liquid ratio 1:20(g/mL). Under the best condition, the flavonoids content was 46.89 mg/g.

**Key words:** wild *Chrysanthemum indicum* in Changbai Mountain; flavonoids; ultrasonic extraction

## 类黄酮

类黄酮(Flavonoids)是植物重要的是一类次生代谢产物,一类植物色素的总称,为三元环化合物,它以结合态(黄酮苷)或自由态(黄酮苷元)形式存在于水果、蔬菜、豆类和茶叶等许多食源性植物中。类黄酮具有保护心脏的功效。人们已认识到:低密度脂蛋白对人体有害易导致冠心病,而类黄酮可以抑制有害的低密度脂蛋白的产生,还有降低血栓形成的作用。调查证实,类黄酮摄入量低者,冠心病死亡率较高,反之,则冠心病的死亡率低。