

提取工艺对丹参、五味子、香菇提取物 抗氧化活性影响研究

阙 斐, 冯文婕

(浙江经贸职业技术学院 应用工程系, 浙江 杭州 310018)

摘 要:以 3 种延缓衰老中药(丹参、五味子、香菇)提取物为试材,以清除 DPPH 自由基能力为指标,研究比较了提取溶剂、温度、时间等影响提取工艺的因素对 3 种提取物抗氧化活性的影响。结果表明:使用 90%、100%、100%乙醇溶液;提取温度 90、100、80℃;提取时间 2.5、2.5、0.5 h 分别提取丹参、五味子、香菇时,提取液 DPPH 清除率最高。在上述最佳工艺下,丹参、五味子、香菇提取液的多酚含量分别为 4.56、2.51、1.72 mg/mL,此时 DPPH 清除率分别为 89.12%、85.72%、91.07%,并未呈正相关关系,这可能是由于酚类不是起到抗氧化作用的唯一成分。该研究为深入研究延缓衰老中药的保健功能奠定了基础,为中药现代化开发提供参考。

关键词:提取工艺;丹参;五味子;香菇;延缓衰老;抗氧化活性

中图分类号:TS 201.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)18-0167-05

我国中草药资源非常丰富,从中草药开发高效的抗氧化成分对食品工业、医药工业发展均有重要意义^[1]。最早的本草学《神农本草经》中所载药物 120 种,其中 85 种注明有“耐老”、“增年”功效。目前已发现的中草药中抗氧化成分有黄酮类、皂苷类、萜烯、有机酸类等多酚物质,这些成分通过清除人体内自由基,从而达到保护机体、抗氧化损伤的作用^[2]。丹参、五味子、香菇属于可以延缓衰老的中药。

丹参具有改善心血管系统、促进组织修复与再生和降血脂的作用^[3],对超氧阴离子自由基和脂质自由基均有清除作用^[4]。五味子是我国卫生部公布的可用于保健食品的中草药,其果实有敛肺生津、补肾养心、收敛固涩之功效,是常用中药之一^[5]。香菇不仅有很好的营养价值,而且具有重要的医药价值,能促进和提高机体的免疫功能、增强体质以及抗癌作用^[6]。目前,对中药的抗氧化活性研究主要集中在功能性成分上,而提取工艺对中药抗氧化活性影响的研究很少。该试验清除 DPPH 自由基能力为指标,研究比较了提取工艺对中医常用的 3 种延缓衰老中药(丹参、五味子、香菇)水提物抗氧化活性的影响。试验结果可为中药开发保健食品、抗氧化剂

提供参考,同时为国家提倡的中药开发现代化贡献一份力量。

1 材料与方法

1.1 试验材料

五味子、丹参、香菇购自杭州方回春堂,DPPH 购自 Sigma,其余均为分析纯。

粉碎机(JJ-2 富华仪器有限公司);恒温水浴锅(HH-2 金坛市富华仪器有限公司);培养箱(DH250 西安明克斯检测设备有限公司);分光光度计(T6 系列,北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 不同溶剂提取中药 称取丹参、五味子、香菇各 10 g,放入圆底烧瓶,按照固液比 1:10 分别加入 100 mL 蒸馏水,70%、80%、90%、100%乙醇溶液放在恒温电热套上加热,控制温度 70℃,热回流提取 1 h,趁热过滤取滤液,冷却至室温,用蒸馏水定容到 100 mL,装瓶标记。

1.2.2 不同温度提取中药 称取香菇、丹参、五味子各 10 g,放入圆底烧瓶,按照固液比 1:10 加入 100 mL 蒸馏水,放在恒温电热套上加热,控制温度分别在 60、70、80、90、100℃,热回流提取 1 h,趁热过滤取滤液,冷却至室温,用蒸馏水定容到 100 mL,装瓶标记。

1.2.3 不同时间提取中药 称取香菇、丹参、五味子各 10 g,放入圆底烧瓶,按照固液比 1:10 加入 100 mL 蒸馏水,放在恒温电热套上加热,控制时间分别在 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h,热回流提取 1 h,趁热过滤取滤液,冷却至室温,用蒸馏水定容到 100 mL,装瓶标记。

第一作者简介:阙斐(1982-),女,四川成都人,硕士,讲师,现主要从事天然产物开发利用等研究工作。E-mail: trophyquefei@sina.com.

基金项目:浙江经贸职业技术学院横向课题资助项目(13HX06)。

收稿日期:2014-03-13

1.3 项目测定

1.3.1 抗氧化活性 抗氧化活性参照清除 DPPH 自由基方法进行检测^[7]。将 2 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH 自由基醇溶液加入到 2 mL 含有 50、100、200 μL 中药提取液和维生素 C 溶液中。室温放置 30 min, 在 517 nm 处测定吸光值, 吸光值越小, 表明自由基清除能力越强。清除率(%) = $(1 - A_1/A_0) \times 100\%$; 其中, A_0 : 空白在 517 nm 处吸光值; A_1 : 含提取液样品在 517 nm 处吸光值; 维生素 C 是蔬菜水果中常见的抗氧化活性成分, 该试验用维生素 C 作为阳性对照, 浓度为 0.1 g/mL。

1.3.2 总酚含量 中药提取液中的总酚含量以福林-酚法测定^[7], 采用没食子酸作为标样, 配成浓度分别为 1、2、3、4、5 mg/mL 的溶液, 用于制作标准曲线。提取液用 46 mL 蒸馏水进行稀释, 然后加入 1 mL 福林-酚试剂并混合均匀。3 min 后, 加入 3 mL 2% Na_2CO_3 溶液。置于室温 2 h, 其间每隔一段时间, 将混合液振动。然后于 760 nm 处测定吸光值。标准曲线为 $Y = 0.104X - 0.0452$, $R^2 = 0.9995$ 。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂提取对清除 DPPH 自由基能力的影响

2.1.1 溶剂对丹参清除 DPPH 自由基清除能力的影响

DPPH 自由基有单电子, 在 517 nm 处有一强吸收峰, 其醇溶液呈紫色的特性。当有自由基清除剂存在时, 由于与其单电子配对而使其吸收逐渐消失, 其褪色程度与其接受的电子数量呈定量关系, 因而可用分光光度计进行快速的定量分析^[8]。从图 1 可以看出, 用量为 200 μL 时, 清除 DPPH 自由基能力依次为维生素 C(94.15%) > 丹参(90%乙醇溶液, 88.77%) > 丹参(100%乙醇溶液, 84.31%) > 丹参(80%乙醇溶液, 82.15%) > 丹参(70%乙醇溶液, 82.00%) > 丹参(蒸馏水, 68.77%)。其中, 采用 80%、90%、100%乙醇溶液清除自由基能力差异不显著($P > 0.05$)。因此, 从经济角度考虑, 可采用 80%乙醇溶液提取。

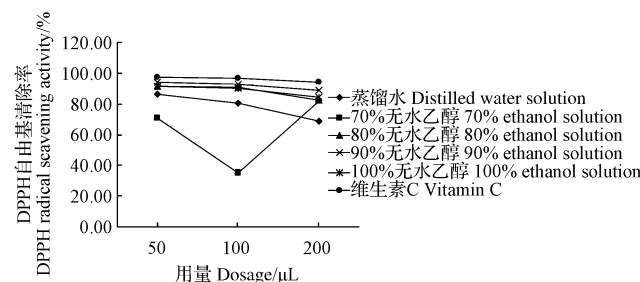


图 1 不同溶剂提取法对丹参清除 DPPH 自由基能力的影响

Fig. 1 The effect of extraction of *Salviae miltiorrhizae* Radix on clearing DPPH free radicals under different solvents

2.1.2 溶剂对五味子清除 DPPH 自由基能力的影响

从图 2 可以看出, 用量为 200 μL 时, 清除 DPPH 自由基能力依次为维生素 C(94.15%) > 五味子(100%乙醇溶液, 82.46%) > 五味子(90%乙醇溶液, 80.77%) = 五味子(80%乙醇溶液, 80.77%) > 五味子(70%乙醇溶液, 79.54%) > 五味子(蒸馏水, 76.62%)。随着乙醇溶液浓度的升高, 五味子的 DPPH 自由基清除能力降低。

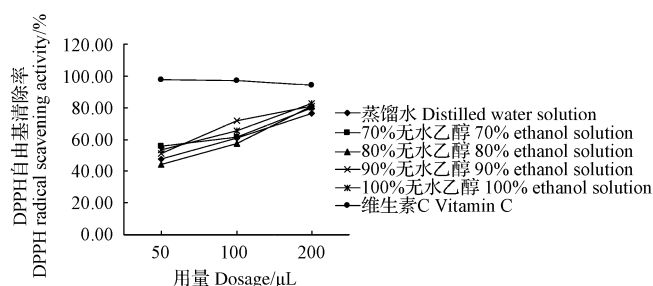


图 2 不同溶剂提取法对五味子清除 DPPH 自由基能力的影响

Fig. 2 The effect of extraction of *Schisandra chinensis* Fructus on clearing DPPH free radicals under different solvents

2.1.3 溶剂对香菇清除 DPPH 自由基能力的影响

从图 3 可以看出, 用量为 200 μL 时, 清除 DPPH 自由基能力依次为维生素 C(94.15%) > 香菇(100%乙醇溶液, 90.92%) > 香菇(90%乙醇溶液, 90.31%) > 香菇(80%乙醇溶液, 85.23%) > 香菇(蒸馏水, 84.00%) > 香菇(70%乙醇溶液, 81.08%)。其中, 采用 90%、100%乙醇溶液清除自由基能力差异不显著($P > 0.05$), 而采用 80%乙醇溶液提取法所测 DPPH 清除能力与采用蒸馏水提取法所测 DPPH 清除能力相接近。因此, 从经济成本角度考虑, 可采取 90%乙醇溶液作为溶剂提取香菇。

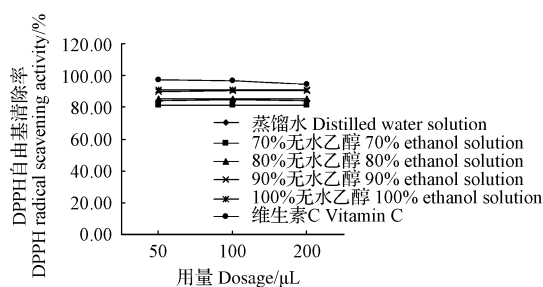


图 3 不同溶剂提取法对香菇清除 DPPH 自由基能力的影响

Fig. 3 The effect of extraction of *Lentinula edodes* on clearing DPPH free radicals under different solvents

2.2 不同温度提取对清除 DPPH 自由基能力的影响

2.2.1 温度对丹参清除 DPPH 自由基能力的影响

从图 4 可以看出, 用量为 200 μL 时, 清除 DPPH 自由基能力依次为维生素 C(94.15%) > 丹参(90℃, 71.23%) > 丹参(80℃, 70.62%) > 丹参(70℃, 44.15%) > 丹参(60℃, 37.54%) > 丹参(100℃, 16.46%)。因此, 提取温度控制在 80~90℃ 时, 丹参清除 DPPH 自由基能力较高。

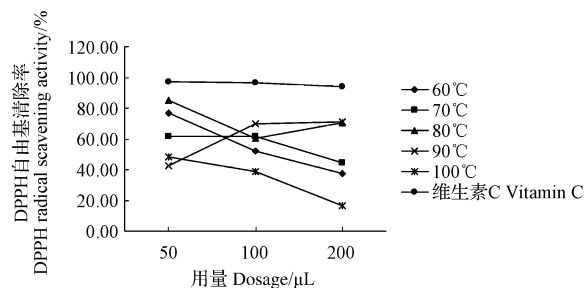


图4 不同温度提取对丹参清除 DPPH 自由基能力的影响

Fig. 4 The effect of extraction of *Salviae miltiorrhizae* Radix on clearing DPPH free radicals under different temperatures

2.2.2 温度对五味子清除 DPPH 自由基能力的影响

从图 5 可以看出,用量为 200 μL 时,清除 DPPH 自由基能力依次为维生素 C (94.15%) > 五味子 (100°C, 84.62%) > 五味子 (90°C, 76.92%) > 五味子 (70°C, 66.92%) > 五味子 (60°C, 63.08%) > 五味子 (80°C, 60.92%)。因此,随着提取温度不断下降,五味子的 DPPH 自由基清除能力降低,当温度在 100°C 时,五味子清除 DPPH 自由基能力最高。

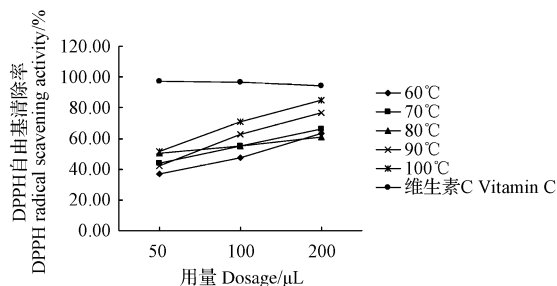


图5 不同温度提取对五味子清除 DPPH 自由基能力的影响

Fig. 5 The effect of extraction of *Schisandra chinensis* Fructus on clearing DPPH free radicals under different temperatures

2.2.3 温度对香菇清除 DPPH 自由基能力的影响 从图 6 可以看出,用量为 200 μL 时,清除 DPPH 自由基能力依次为维生素 C (94.15%) > 香菇 (80°C, 46.46%) > 香菇 (90°C, 38.92%) > 香菇 (70°C, 27.69%) > 香菇 (100°C, 26.00%) > 香菇 (60°C, 0)。因此,香菇在 80°C 提取温度下, DPPH 自由基清除率较高。

2.3 不同提取时间对清除 DPPH 自由基能力的影响

2.3.1 时间对丹参清除 DPPH 自由基能力的影响

从图 7 可以看出,用量为 200 μL 时,清除 DPPH 自由基能力依次为维生素 C (94.15%) > 丹参 (2.5 h, 76.77%) > 丹参 (2.0 h, 68.46%) > 丹参 (0.5 h, 64.92%) > 丹参 (1.5 h, 35.69%) > 丹参 (1.0 h, 27.54%)。因此,时间控制在 2.5 h,丹参清除 DPPH 自由基能力最高。其中,丹参 (2.0 h) 和丹参 (0.5 h) 清除自由基能力差异不显著 ($P > 0.05$)。

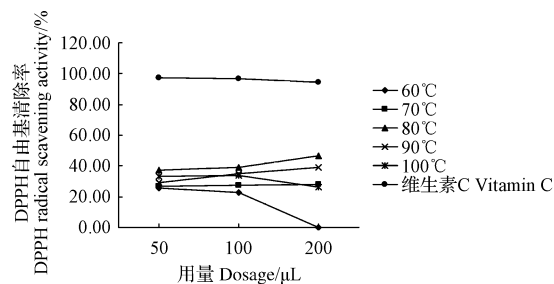


图6 不同温度提取对香菇清除 DPPH 自由基能力的影响

Fig. 6 The effect of extraction of *Lentinula edodes* on clearing DPPH free radicals under different temperatures

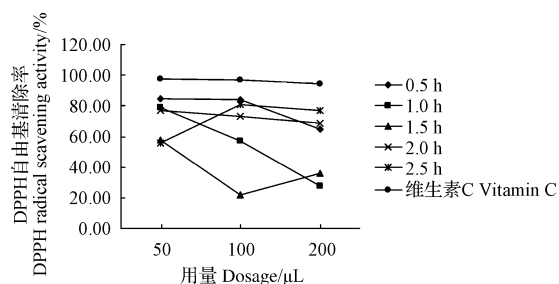


图7 不同时间提取对丹参清除 DPPH 自由基能力的影响

Fig. 7 The effect of extraction of *Salviae miltiorrhizae* Radix on clearing DPPH free radicals under different times

2.3.2 时间对五味子清除 DPPH 自由基能力的影响

从图 8 可以看出,用量为 200 μL 时,清除 DPPH 自由基能力依次为维生素 C (94.15%) > 五味子 (2.5 h, 74.77%) > 五味子 (0.5 h, 72.62%) > 五味子 (1.0 h, 64.62%) > 五味子 (2.0 h, 57.08%) > 五味子 (1.5 h, 44.77%)。因此,随着时间的增加,五味子 DPPH 自由基清除能力降低,当提取时间控制在 2.5 h 时,丹参清除 DPPH 自由基能力最高。

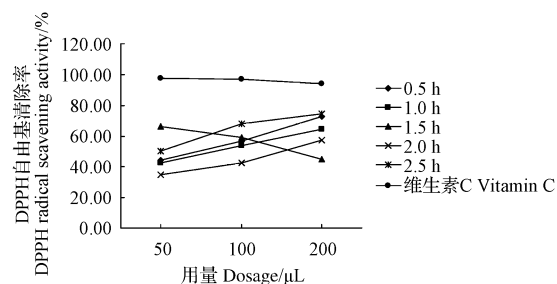


图8 不同时间提取对五味子清除 DPPH 自由基能力的影响

Fig. 8 The effect of extraction of *Schisandra chinensis* Fructus on clearing DPPH free radicals under different times

2.3.3 时间对香菇清除 DPPH 自由基清除能力的影响

从图 9 可以看出,用量为 200 μL 时,清除 DPPH 自由基能力依次为维生素 C (94.15%) > 香菇 (0.5 h, 82.92%) > 香菇 (1.0 h, 81.08%) > 香菇 (1.5 h,

80.31%) > 香菇 (2.0 h, 78.31%) > 香菇 (2.5 h, 77.08%)。因此,随着时间的增加,香菇 DPPH 自由基清除能力降低。

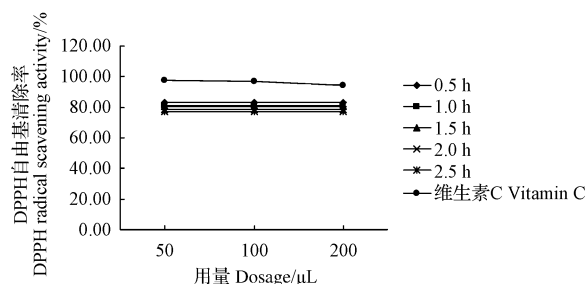


图9 不同时间提取对香菇清除 DPPH 自由基能力的影响

Fig.9 The effect of extraction of *Lentinula edodes* on clearing DPPH free radicals under different times

2.4 不同提取工艺下的总酚含量

酚类物质是强体外抗氧化剂,有预防心血管疾病、癌症、抗衰老等功能,大量文献将抗氧化能力与多酚含量进行关联比较^[9]。在上述能获得最高 DPPH 清除率的提取工艺下,丹参、五味子、香菇的总酚含量,及此时DPPH清除率如表1所示。丹参的总酚含量最高达 4.56 mg/mL;香菇的总酚含量最低为 1.72 mg/mL。但是,其 DPPH 的清除率却非常接近,这可能是由于酚类并不是起到抗氧化作用的唯一成分,如香菇中含有较多的多糖,香菇多糖具有较好的自由基清除能力^[10];除了多糖外,中药中

表1 不同提取工艺下的总酚含量和 DPPH 清除率

Table 1 Total phenol content and DPPH clearance rate under the different extraction technologies

种类	提取工艺	总酚含量	DPPH 清除率
Variety	Extraction technology	Total phenol content /(mg · mL ⁻¹)	DPPH clearance rate/%
丹参	90%乙醇溶液、90℃、2.5 h	4.56	89.12
五味子	100%乙醇溶液、100℃、2.5 h	2.51	85.72
香菇	100%乙醇溶液、80℃、0.5 h	1.72	91.07

Effect of Extraction Technology on the Antioxidant Activity of *Salviae miltiorrhizae* Radix, *Schisandra chinensis* Fructus and *Lentinula edodes*

QUE Fei, FENG Wen-jie

(Department of Applied Engineering, Zhejiang Economic and Trade Professional Technology Institute, Hangzhou, Zhejiang 310018)

Abstract: Taking three kinds of anti-aging medicine (*Salviae miltiorrhizae* Radix, *Schisandra chinensis* Fructus, *Lentinula edodes*) extract as materials, and the clearing DPPH free radicals as target. The effect of extraction technology on the antioxidant activity of *Salviae miltiorrhizae* Radix, *Schisandra chinensis* Fructus, *Lentinula edodes* were studied. The results showed that the highest DPPH radical scavenging activities of *Salviae miltiorrhizae* Radix, *Schisandra chinensis* Fructus, *Lentinula edodes* extracts were achieved when ethanol solutions of 90%, 100%, 100%; temperature of 90, 100, 80℃; time of 2.5, 2.5, 0.5 h were used respectively. Under the optimization conditions, the total phenols contents of the

含有的一些氨基酸也可能起到抗氧化作用^[11]。

3 结论

该研究表明,3种抗衰老中药具有明显的抗氧化活性。从提取溶剂来说,丹参、五味子、香菇分别使用90%、100%、100%乙醇溶液提取时,DPPH清除率最高;从提取温度来说,丹参、五味子、香菇分别在90、100、80℃提取时,DPPH清除率最高;从提取时间来说,丹参、五味子、香菇分别在2.5、2.5、0.5 h提取时,DPPH清除率最高。在上述最佳工艺下,丹参、五味子、香菇提取液的多酚含量分别为4.56、2.51、1.72 mg/mL,此时的DPPH清除率分别为89.12%、85.72%、91.07%,并未呈正相关关系。这可能是由于酚类不是起到抗氧化作用的唯一成分,多糖、氨基酸等也可能起到抗氧化作用。

参考文献

- [1] 谷利伟,翁新楚.食用天然抗氧化剂研究进展[J].中国油脂,1997,22(3):37-40.
- [2] 李八方.功能食品与保健食品[M].青岛:青岛海洋大学出版社,1997:961.
- [3] 候微,魏忠宝,姜艳玲,等.五味子根茎体外抗氧化活性评价[J].吉林中医药,2010,12(12):84-86.
- [4] 孙利芹,姜爱莉,林剑.丹参抗氧化成分的提取及其活性研究[J].中国油脂,2004,12(4):52-54.
- [5] 刘丽,赵春苏,马永全,等.五味子抗氧化和抑菌[J].仲恺农业工程学院学报,2011,4(3):67-70.
- [6] 宋力,王红军,常梁梁,等.香菇中抗氧化成分的提取工艺研究[J].食品科学,2012,12(2):243.
- [7] 阙斐,赵娜.5种降血脂茶抗氧化活性的比较研究[J].江苏农业科学,2011,47(1):263-265.
- [8] 赵振军,胡贤春,周黎,等.普洱茶水浸出物对DPPH·清除能力的研究[J].湖北农业科学,2011,50(22):4686-4688.
- [9] 陈亮,李医明,陈凯先,等.植物多酚类成分提取分离研究进展[J].中草药,2013,44(11):1501-1507.
- [10] Lonseny T,何国庆,尹源明,等.香菇多糖提取条件的优化研究[J].科技通报,2006,22(3):342-344.
- [11] 张晖,唐文婷,王立,等.抗氧化肽的构效关系研究进展[J].食品与生物技术学报,2013,32(7):673-679.

多效唑对脱毒怀地黄生长发育、产量及品质的影响

陈明霞^{1,2}, 李向武¹, 李明军^{1,2}, 李敬敬^{1,3}, 王冰¹, 张晓丽^{1,2}

(1. 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007; 2. 河南省高校道地中药材保育及利用工程技术研究中心, 河南 新乡 453007;

3. 平顶山理工学校, 河南 平顶山 467091)

摘要:以继代培养的怀地黄脱毒试管苗“85-5”为试材,研究了多效唑不同喷施浓度和处理次数对脱毒怀地黄生长发育、产量和品质的变化规律。结果表明:随着多效唑喷施浓度和处理次数的增加,怀地黄脱毒苗的株高、叶面积和冠幅都呈现逐渐下降的趋势;随着多效唑喷施浓度和次数的增加,怀地黄产量和品质呈现先上升后下降的趋势;多效唑 200 mg/L 处理 2 次是最佳喷施浓度和喷施次数,此时脱毒怀地黄产量最高,为 5 682.67 kg/667m²;梓醇和毛蕊花糖苷含量较大,分别为 8.33 mg/g 和 0.55 mg/g。

关键词:脱毒怀地黄;多效唑;生长发育;产量;品质

中图分类号:S 482.8⁺99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)18-0171-04

怀地黄 [*Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* (Chan et Seih) Hsiao] 属玄参科地黄属多年生草本植物^[1],主产于河南焦作市的修武、武陟、温县、孟县、博爱等地(古怀庆府),习称“怀地黄”,是我国著名的“四大怀药”之一。怀地黄在明、清时代被列为进贡皇帝的贡品,素有“怀参”之称^[2]。怀地黄块根肥厚,肉质,呈块状、圆柱状或纺锤状,以块根入药,为我国传统大宗中药材。

多效唑(Paclobutrazol, PP₃₃₃)是一类常用的高效低毒植物生长调节剂。它能够阻碍内源赤霉素(GA)的合成^[3],延缓植物的生长,抑制植物茎枝伸长,使茎秆粗壮。此外,还可促进植物分枝、分蘖、生根、成花及坐果,增加

叶片叶绿素、蛋白质和核酸的含量,提高光合速率和抗氧化酶的活性,增强植物的抗寒性和抗旱性^[4-6]。其化控效果主要是影响营养物质的再分配和再利用,抑制地上部分生长,减少基部的营养积累,促进营养物质向根部输送和分配。多效唑在许多作物上已有应用^[7-10],在怀地黄生产应用上尚鲜见报道。该试验对多效唑不同喷施浓度和喷施次数处理后脱毒怀地黄生长发育、产量和品质的变化规律进行研究,以期对脱毒怀地黄生产应用提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为“河南省高校道地中药材保育及利用工程技术研究中心”继代培养的怀地黄脱毒试管苗“85-5”。

1.2 试验方法

2012 年的大田试验在河南省温县赵堡镇实验基地进行。将怀地黄脱毒试管苗经快繁生根、移栽驯化后移栽入大田,称怀地黄脱毒苗,用不同浓度的 PP₃₃₃ 在怀地黄脱毒苗块茎膨大期进行处理,于 7、8、9 月记录其株高、冠幅、功能叶面积和叶片数等形态指标,11 月收获后进行产量和品质测定,采用高效液相色谱法测定梓醇及毛蕊花糖苷含量。每个处理 3 次重复,详见表 1。在怀地黄全生长期进行常规的浇水、施肥和病虫害防治与管理。

第一作者简介:陈明霞(1973-),女,河南南阳人,博士,副教授,现主要从事植物组织培养教学及药用植物生物技术应用等研究工作。E-mail:chenmx1973@gmail.com。

责任作者:李明军(1962-),男,河南温县人,博士,教授,现主要从事植物生理学教学及植物生物技术应用等研究工作。E-mail:limingjun2002@263.net。

基金项目:河南省科技创新杰出人才计划资助项目(114200510013);河南省教育厅科技研究重点资助项目(13A180521);博士启动基金资助项目(01046500020);大学生创新资助项目(20120221)。

收稿日期:2014-05-27

three herbs extracts were 4.56, 2.51, 1.72 mg/mL, respectively, and DPPH radical scavenging activities were 89.12%, 85.72%, 91.07%, which were not related. Phenols were not the only ingredients which contribute to the antioxidant activity.

Keywords: extraction technology; *Salviae miltiorrhizae* Radix; *Schisandra chinensis* Fructus; *Lentinula edodes*; anti-aging; antioxidant activity