

瓦松总黄酮的索氏提取工艺研究

王亚红¹, 王亚丽², 祝波¹

(1. 吉林化工学院 化学与制药工程学院, 吉林 吉林 132022; 2. 长春 120 急救中心, 吉林 长春 130000)

摘要:以市售瓦松为试材, 采用索氏提取法, 利用单因素试验和正交实验, 考察了料液比、提取时间、药粉目数、乙醇浓度 4 个因素对其总黄酮提取率的影响, 并优化了提取工艺。结果表明: 索氏提取法提取瓦松总黄酮的最佳工艺条件为料液比 1:15 g/mL, 提取时间 3 h, 目数 100 目, 乙醇浓度 75%, 在此条件下提取率为 0.63%。该方法提取量稳定、操作简单、可行。

关键词:瓦松; 总黄酮; 索氏提取法; 正交实验

中图分类号:Q 949.751.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0130-03

瓦松(*Orostachys fimbriatus*)为景天科瓦松的全草。全国各地均有分布, 生于屋顶瓦缝中或岩石上, 又被誉为“房上仙子”^[1]。传统医学认为瓦松性甘、平, 味酸; 具有养心安神、补肾健骨、养阴明目、补血调经、止血收敛等功效。可用于治疗各类出血、月经不调、头晕目眩、骨蒸劳热、肺热咳嗽等症。李丽^[2]研究证明, 瓦松有抗菌消炎、抗癌、强心、提高免疫活性的作用。瓦松中含有多种黄酮化合物^[3-4], 黄酮类物质是一种生理活性物质, 具有降低血压、防止动脉硬化和抗衰老等作用^[5]。该试验利用索氏提取器提取瓦松总黄酮, 采用正交实验设计法优化提取工艺, 以期对瓦松总黄酮提取工业化奠定一定基础。

第一作者简介:王亚红(1970-), 女, 硕士, 教授, 现主要从事天然药物的研究与开发工作。E-mail: wangyahong99999@163.com.

基金项目:吉林省教育厅重点计划资助项目(吉教科合字 2013 第 316 号)。

收稿日期:2013-12-10

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试瓦松购自吉林市江城大药房。

芦丁标准品购自中国药品生物制品检定所; 无水乙醇、甲醇、无水三氯化铝、醋酸钠、冰醋酸均为分析纯。

紫外可见分光光度计(752N, 上海精密科学仪器有限公司), 旋转蒸发器(RE-52A, 上海亚荣生化仪器厂), 电热恒温鼓风干燥箱(DNG-9076A, 上海精宏实验设备有限公司), 数显恒温水浴锅(HH-2, 国华电器有限公司), 电子分析天平(FA2004N, 上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 总黄酮的提取 称取一定目数的瓦松药粉 5.00 g 用滤纸包好, 置于索氏提取器中, 加入一定量不同浓度的乙醇, 按照一定时间回流提取 2 次, 合并 2 次提取液用减压旋转蒸发器浓缩。将浓缩液置于坩埚中, 用恒温水

Optimized Extraction Conditions and Stability of Purple Cabbage Pigment

WEN Yue-bing¹, ZOU Yu¹, HU Li-ming², TIAN Mi-xia¹

(1. College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian, Liaoning 116600; 2. Department of Quartermaster, Air Force Logistics College, Xuzhou, Jiangsu 221006)

Abstract: Taking purple cabbage as material, the optimum extraction conditions of purple cabbage pigment and effect of temperature, light, metal ions and food additives on pigment stability were studied. The results showed the optimum extraction conditions as follows: extractant, 30% ethanol; liquid-solid rate, 25:1 mL/g; extraction temperature, 30°C; extraction time, 40 min. Under these conditions, the largest color value of pigment extraction was 8.4 U/mL. Heat and light could reduce the stability of purple cabbage pigment. Some metal ions such as Cu²⁺, Fe²⁺ and Fe³⁺ could change its color. The pigment was relatively stable under glucose, sucrose, potassium sorbate and sodium benzoate solutions, but the citric acid might lead to increase in its color.

Key words: purple cabbage; pigment; extraction condition; stability

浴加热制成湿浸膏,在 60℃ 的电热鼓风干燥箱中干燥至恒重,称重得干浸膏质量。

1.2.2 总黄酮提取率计算 称取 0.03 g 干浸膏用 60% 乙醇溶解定容至 50 mL 容量瓶中,移取 2 mL 于 10 mL 容量瓶中用 60% 乙醇定容得供试品溶液,测定吸光度,依据标准曲线计算总黄酮提取率^[6],公式如下:

$$W\% = \frac{(y - 0.3989)}{85.002} \times \frac{10}{2} \times 50 \times \frac{m_2}{0.03} \times \frac{1}{m_1}$$

其中, $W\%$: 瓦松总黄酮提取率; y : 吸光度; m_2 : 所得干浸膏质量; m_1 : 称取瓦松的质量。

1.2.3 单因素试验 料液比对总黄酮提取率的影响: 称取 5 份 5.00 g 瓦松生药粉末, 设定目数 80 目, 提取时间 4 h, 乙醇浓度 75%, 分别按 1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 g/mL 的料液比提取, 考察料液比对总黄酮提取率的影响; 提取时间对总黄酮提取率的影响: 称取 5 份 5.00 g 瓦松生药粉末, 设定料液比 1:20 g/mL, 乙醇浓度 75%, 目数 80 目, 分别按 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 h 提取, 考察提取时间对总黄酮提取率的影响; 目数对总黄酮提取率的影响: 称取 5 份 5.00 g 瓦松生药粉末, 设定乙醇浓度 75%, 料液比 1:20 g/mL, 提取时间 3.5 h, 分别按 50、65、80、100、120 目提取, 考察目数对总黄酮提取率的影响; 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响: 称取 5 份 5.00 g 瓦松生药粉末, 设定提取时间 3.5 h, 料液比 1:20 g/mL, 目数 100 目, 分别按 70%、75%、80%、85%、90% 的乙醇浓度提取, 考察乙醇浓度对总黄酮提取率的影响。

1.2.4 正交实验 在单因素试验基础上, 以瓦松中总黄酮提取率作为考察指标, 选择料液比(A)、提取时间(B)、目数(C)、乙醇浓度(D)作为考察因素, 进行 $L_9(3^4)$ 正交实验, 因素与水平见表 1。

表 1 正交实验因素与水平

水平	因素			
	A 料液比/g·mL ⁻¹	B 提取时间/h	C 目数/目	D 乙醇浓度/%
1	1:15	3	80	75
2	1:20	3.5	100	80
3	1:25	4	120	85

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对总黄酮提取率的影响 由表 2 可知, 料液比为 1:20 g/mL 时, 提取率达到最大值, 随着料液比的减小, 总黄酮提取率呈下降趋势。所以选择 1:15、1:20、1:25 g/mL 进行正交实验。

2.1.2 提取时间对总黄酮提取率的影响 从表 3 可以看出, 随着提取时间增加, 提取率先增大后减小, 3.5 h

表 2 不同料液比下的提取率值

料液比/g·mL ⁻¹	1:10	1:15	1:20	1:25	1:30
浸膏质量/g	0.5132	0.6561	0.6213	0.6200	0.6339
吸光度	0.5200	0.5570	0.5710	0.5080	0.4060
提取率/%	0.3510	0.4900	0.4960	0.4360	0.3430

表 3 不同提取时间下提取率值

提取时间/h	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
浸膏质量/g	0.5244	0.6400	0.6140	0.5985	0.5959
吸光度	0.5170	0.5730	0.6000	0.6310	0.5590
提取率/%	0.3940	0.5370	0.5440	0.5600	0.4880

时提取率最大, 所以选择 3.0、3.5、4.0 h 进行正交实验。

2.1.3 目数对总黄酮提取率的影响 由表 4 可知, 随着目数增加, 提取率呈现先增大后减小趋势, 是因为目数达到一定程度后药粉颗粒过于细小, 互相粘接, 从而影响总黄酮从细胞中溶出。100 目时, 提取率达到峰值, 所以选择 80、100、120 目进行正交实验。

表 4 不同提取目数下提取率值

目数/目	50	65	80	100	120
浸膏质量/g	0.5976	0.5797	0.6110	0.5677	0.5204
吸光度	0.4220	0.4390	0.4530	0.5430	0.4670
提取率/%	0.3580	0.3630	0.3970	0.4540	0.3540

2.1.4 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响 由表 5 可知, 随着乙醇浓度增大, 提取率逐渐增大, 这可能是因为瓦松中黄酮类化合物种类多, 结合状态和极性也不同, 提取溶媒的浓度主要是根据被提物的性质和伴随的杂质来选择。乙醇浓度为 80% 时, 提取率最大, 所以选择 75%、80%、85% 进行正交实验。

表 5 不同乙醇浓度下的提取率值

乙醇浓度/%	70	75	80	85	90
浸膏质量/g	0.4528	0.4550	0.6596	0.4860	0.4707
吸光度	0.4140	0.4300	0.4570	0.4320	0.4290
提取率/%	0.2640	0.2760	0.4460	0.2960	0.2850

2.2 正交实验

表 6 极差分析表明, 最佳工艺条件组合为 $A_1B_2C_2D_1$, 各因素影响大小顺序为目数>乙醇浓度>料液比>提取时间。由于极差分析不能区分正交实验中试验条件改变引起的数据波动和试验误差引起的数据波动, 并且无法估计试验误差大小, 所以再进行方差分析。由表 7 可知, 目数和乙醇浓度对总黄酮提取有显著性影响, 提取时间和料液比对总黄酮提取没有显著性影响, 为了降低生产成本, 提取时间(B)选择 3 h。综上最佳提取工艺条件为 $A_1B_1C_2D_1$, 即料液比 1:15 g/mL, 提取时间 3 h, 目数 100, 乙醇浓度为 75%。

表 6

正交实验结果

正交实验	A 料液比 /g · mL ⁻¹	B 提取时间 /h	C 目数 /目	D 乙醇浓度 /%	吸光度	浓度 /mg · mL ⁻¹	提取量 /mg	提取率 /%
1	1 : 15	3.0	80	75	0.546	0.01918	24.83	0.50
2	1 : 15	3.5	100	80	0.594	0.02105	31.50	0.63
3	1 : 15	4.0	120	85	0.464	0.01599	19.58	0.32
4	1 : 20	3.0	100	85	0.489	0.01696	21.34	0.43
5	1 : 20	3.5	120	75	0.561	0.01976	22.91	0.46
6	1 : 20	4.0	80	80	0.485	0.01680	17.60	0.35
7	1 : 25	3.0	120	80	0.563	0.01984	22.74	0.45
8	1 : 25	3.5	80	85	0.411	0.01392	17.10	0.34
9	1 : 25	4.0	100	75	0.608	0.02159	26.53	0.53
K1j	1.52	1.38	1.19	1.49				
K2j	1.24	1.43	1.59	1.43				
K3j	1.32	1.27	1.30	1.16				
极差 R	0.32	0.16	0.40	0.33				
优水平	A ₁	B ₂	C ₂	D ₁				

表 7

方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	0.014	2	13.90	19.00	
B(误差项)	0.001	2	1.00	19.00	
C	0.029	2	28.50	19.00	*
D	0.021	2	20.60	19.00	*

2.3 工艺验证试验

为进一步考察上述最佳工艺条件的稳定性和合理性,按该工艺条件进行 4 次重复性试验。由表 8 可知,求得提取率的平均值为 0.63%,RSD=1.61%。说明在此条件下提取,重复性好,可行性强。

表 8 验证性试验结果

试验序号	1	2	3	4
浸膏质量/g	0.6171	0.5976	0.6205	0.6012
吸光度	0.685	0.711	0.688	0.697
提取率/%	0.62	0.62	0.64	0.62

3 结论

该试验通过单因素试验和正交实验对瓦松总黄酮的索氏提取工艺条件进行了优化。影响瓦松总黄酮提取的主次因素依次为目数>乙醇浓度>料液比>提取

时间,其中目数及乙醇浓度对提取率的影响有显著性差异,综合各种因素,选定瓦松总黄酮提取的最佳方案为 A₁B₁C₂D₁,即 100 目瓦松药粉、料液比 1 : 15 g/mL 75% 乙醇索氏提取 3 h,在该条件下提取率为 0.63%。该提取工艺设备简单、稳定、可行,适于工业化生产,将为瓦松的研究开发提供一定的依据。

参考文献

- [1] 曲伟红,赵建国. 瓦松愈伤组织诱导研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(11):2832-2833.
- [2] 李丽. 瓦松多糖的含量测定[J]. 中国民族医药杂志,2012(5):46-47.
- [3] Lee J H, Lee S J, Park S, et al. Characterisation of flavonoids in *Orostachys japonicus* A. Berger using HPLC-MS/MS; Contribution to the overall antioxidant effect[J]. Food Chemistry,2011,124(4):1627-1633.
- [4] Choi S Y, Chung M J, Seo W D, et al. Inhibitory Effects of *Orostachys japonicus* Extracts on the Formation of N-Nitrosodimethylamine[J]. Agric Food Chem,2006,54:6075-6078.
- [5] 田永利,许志宇,葛林,等. 总黄酮类化合物含量测定方法和药理作用研究进展[J]. 河北医药,2010,32(15):2094-2096.
- [6] 祝波,王亚红. 正交优化超声波法提取瓦松总黄酮工艺的研究[J]. 中成药,2012,34(12):2426.

Study on Soxhlet Extraction Technology of Total Flavonoids From *Orostachys fimbriatus*

WANG Ya-hong¹, WANG Ya-li², ZHU Bo¹

(1. College of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Jilin Institute of Chemical Technology, Jilin, Jilin 132022; 2. Changchun Emergency Center, Changchun, Jilin 130000)

Abstract: To study and optimize the extraction procedure of total flavonoids from *Orostachys fimbriatus* (commercially available), the single factor experiment and orthogonal experiment were applied to investigate the influence of factors like solid-liquid ratio, extraction time, powder mesh and ethanol concentrate upon the yield of the total flavonoids by Soxhlet extraction method. The results showed that the optimal conditions were 1 : 15 g/mL of solid-liquid ratio, 3 h of extraction time, 100 meshes of *Orostachys fimbriatus* powder, 75% of ethanol concentration. In this condition, yield of the total flavonoids was 0.63%. The procedure is simple, stable and efficient.

Key words: *Orostachys fimbriatus*; total flavonoids; Soxhlet extraction method; orthogonal experiment