

DOI:10.11937/bfyy.201501036

紫萼玉簪根中总黄酮提取工艺优化

于 淼, 徐丽萍, 刘洪章, 刘树英

(吉林农业大学 生命科学学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:以紫萼玉簪根为试验材料,采用单因素结合正交实验方法,研究紫萼玉簪根中总黄酮的最佳提取工艺对玉簪属植物的影响。结果表明:超声波提取法提取紫萼玉簪根中总黄酮的最佳提取工艺为:乙醇浓度 80%,提取温度 80℃,提取时间 60 min,料液比 1:15,总黄酮得率 25.48 mg/g。

关键词:紫萼玉簪根;总黄酮;提取工艺

中图分类号:S 682.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)01-0136-04

玉簪属植物(*Hosta*)属百合科(Liliaceae)多年生宿根草本植物;原产于中国、韩国和日本^[1];生长性状耐寒、喜阴,忌强烈日光照射^[1-3]。中国原产 4 种玉簪,分别为玉簪(*Hosta plantaginea*)、紫萼玉簪^[4](*H. ventricosa*)、东北玉簪(*H. ensata*)、白粉玉簪(*H. albofarinosa*)^[5]。有研究表明,玉簪属植物中化学成分主要包括黄酮类、甾体皂苷类和生物碱类^[6]。据 2006 年版《中药大辞典》中记载,玉簪叶主治痈肿、疔疮等;玉簪花主治咽喉肿痛、小便不通、疮毒等;玉簪根主治消肿、解毒、止血等;现在药理学表明,玉簪属植物具有较高的药用价值^[7-8]。因此,对玉簪属植物的研究具有重要意义。该试验应用超声波提

取法,采用单因素试验、正交实验研究了紫萼玉簪根中总黄酮的最优工艺条件,以期玉簪属植物的药用开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

紫萼玉簪根于 2013 年 3 月 20 日采自吉林农业大学校园,芦丁标准品、石油醚、无水乙醇、硝酸铝、亚硝酸钠、氢氧化钠均为国产分析纯,实验室所用水均为蒸馏水。

KQ-100B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),T6 新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),RE-52C 旋转蒸发器(上海青浦仪器厂),SHB-III 循环水式真空泵(上海豫康科教仪器设备有限公司),JT202N 电子天平(上海精天电子仪器有限公司),GZX-9240 型电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司),台式低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂),HH-6 数显恒温水浴锅(金坛市科析仪器有限公司),立式冷藏柜,粉碎机,通风橱等。

第一作者简介:于淼(1989-),女,硕士研究生,研究方向为植物大分子结构与功能。E-mail:1053216177@qq.com。

责任作者:刘洪章(1957-),男,博士,教授,博士生导师,研究方向为长白山特色植物资源。E-mail:lhz999@126.com。

基金项目:农业部 948 资助项目(2012Z32);吉林省科技厅资助项目(20100254)。

收稿日期:2014-09-22

influence of four factors on the response value size order as follows: D(extraction time) > A(extraction temperature) > B(ethanol concentration) > C(solid-liquid ratio); purple cabbage anthocyanins extraction of optimum technological conditions for extracting temperature were 64℃, extracting time 3.4 hours, ethanol concentration 58%, solid-liquid ratio 1:10 g/mL. Under the optimum extraction conditions, the average yield of anthocyanins 109.873 mg/g, RSD < 5% and the theoretical value (110.243 mg/g) of the relative error was 0.34%. purple cabbage anthocyanins oxidation resistance test research showed that the purple cabbage anthocyanins had good removal effects to $\cdot\text{OH}$ and O_2^- , and in the certain concentration range of the two kinds of active free radical clearance rate and the concentration of the purple cabbage anthocyanins were positively correlated. Total antioxidant activity test results showed that when the concentration of the purple cabbage anthocyanins and vitamin C phase at the same time, their respective total antioxidant activity had the same change trend, there were no significant differences.

Keywords: purple cabbage; anthocyanins; extraction process; anti-oxidation

1.2 试验方法

1.2.1 提取工艺流程 紫萼玉簪根粉末→原料前处理→超声波提取→过滤→提取液→浓缩→萃取→干燥→紫萼玉簪根中总黄酮。

1.2.2 总黄酮标准曲线的绘制 精密吸取 0.1 mg/mL 芦丁标准品溶液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中,各加 80%乙醇溶液至 5 mL,加 5%NaNO₂ 溶液 0.3 mL,摇匀静置 6 min,再加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,加 4%NaOH 溶液 10 mL,摇匀静置 6 min,加入相同质量分数的乙醇溶液至刻度,摇匀 6 min 后,在 510 nm 波长下测定吸光度值,做 3 组平行试验,以 3 组吸光度的平均值(Y)为纵坐标,芦丁标准溶液的质量浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线。

1.2.3 紫萼玉簪根中总黄酮含量的测定 精密称取紫萼玉簪根的干燥粉末 1.0 g 放入 50 mL 的烧杯中,倒入 80%乙醇溶液,经超声波提取处理后,吸取适量的提取液,按 1.2.2 操作,测定吸光度值,并根据标准曲线和样品浓度计算总黄酮得率。总黄酮得率(mg/g) = (C × V)/W,式中,C=由芦丁标准曲线测得的总黄酮浓度(mg/mL),V=黄酮溶液体积(mL),W=紫萼玉簪根样品质量(g)。

1.2.4 单因素试验 未前处理与前处理的材料对总黄酮提取率的影响:称取经过处理和未处理过的紫萼玉簪根的干燥粉末 2 份,每份 1.0 g,分别加入 70%乙醇溶液 30 mL,在 70℃,100 W 超声功率下处理 30 min,过滤,稀释,测每组的 OD 值,平行 3 组试验。提取溶剂对总黄酮提取率的影响:称取 3 份 1.0 g 紫萼玉簪根干燥粉末,分别加入甲醇、乙醇、丙酮各 30 mL,在 70℃,100 W 超声功率下处理 30 min,过滤,稀释,测每组的 OD 值,平行 3 组试验。乙醇浓度对总黄酮提取率的影响:称取 6 份 1.0 g 紫萼玉簪根干燥粉末,分别加入 30%、40%、50%、60%、70%、80%乙醇 30 mL,在 70℃,100 W 超声功率下处理 30 min,过滤,稀释,测每组的 OD 值,平行 3 组试验。超声温度对总黄酮提取率的影响:称取 6 份 1.0 g 紫萼玉簪根干燥粉末,加入 70%乙醇 30 mL,分别在 30、40、50、60、70、80℃下,100 W 超声功率下处理 30 min,过滤,稀释,测每组 OD 值,平行 3 组试验。超声时间对总黄酮提取率的影响:称取 6 份 1.0 g 紫萼玉簪根干燥粉末,加入 70%乙醇 30 mL,在 100 W 超声功率,分别处理 30、40、50、60、70、80 min,过滤,稀释,测其 OD 值,平行 3 组试验。物料比对总黄酮提取率的影响:称取 6 份 1.0 g 紫萼玉簪根干燥粉末,分别按照物料比 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 加入 70%乙醇,在 100 W 超声功率,60℃下处理 30 min,过滤,稀释,测每组 OD 值,平行 3 组试验。

1.2.5 正交实验 根据单因素试验结果,精密称取紫萼玉簪根干燥样品 1.0 g,以乙醇浓度、提取温度、提取时间、料液比 4 个因素,采用 L₉(3⁴)正交表进行正交实验,具体设计见表 1。

表 1 正交实验的因素水平

Table 1 The factors and levels of orthogonality design

水平 Level	因素 Factor			
	A 乙醇浓度 Ethanol concentration/%	B 温度 Temperature/℃	C 时间 Time/min	D 料液比 Ratio of material to liquid
1	60	60	40	1:15
2	70	70	60	1:20
3	80	80	80	1:25

2 结果与分析

2.1 芦丁标准曲线

对数据作线性回归,得标准曲线 $y = 0.038x + 0.0137$, $R^2 = 0.9994$ 。

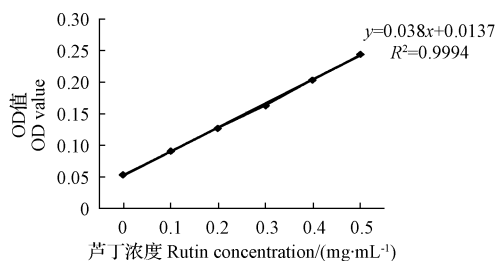


图 1 芦丁标准曲线

Fig. 1 Rutin standard curve

2.2 单因素试验结果

2.2.1 未经过处理的材料与经处理的材料对总黄酮提取率的影响 由图 2 可以看出,经过前处理材料的提取率明显高于未经过处理材料的提取率,原因可能是经过前处理的材料被除去了叶绿素、胡萝卜素等一些脂溶性色素,因此有利于总黄酮的提取,提取率升高。所以,超声波提取紫萼玉簪根中总黄酮时材料最好经过前处理。

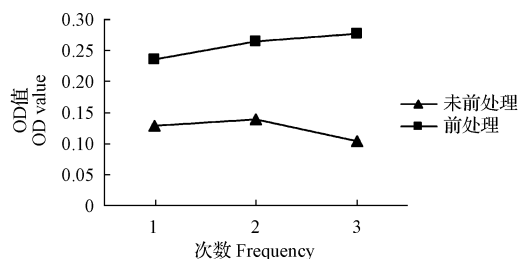


图 2 未经过处理的材料与经处理的材料对总黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effect of untreated materials and processed materials on extraction rate of total flavonoids

2.2.2 不同提取剂对总黄酮提取率的影响 由图 3 可以看出,甲醇提取溶剂的提取率最高,其次是乙醇,最后是丙酮。但由于甲醇、丙酮毒性大,而乙醇低毒、价廉、

沸点适中,便于回收利用,对植物细胞的穿透力较强,除蛋白质、果胶、淀粉等以外,大部分的有机化合物都能溶于乙醇,故该试验采用乙醇作为提取紫萼玉簪根中总黄酮的提取溶剂。

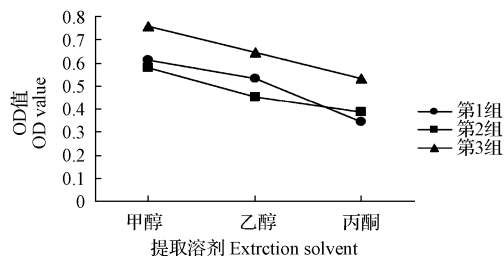


图3 不同提取剂对总黄酮提取率的影响

Fig. 3 Effect of different extraction solvent on extraction rate of total flavonoids

2.2.3 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响 由图4可以看出,随着乙醇浓度的增大,其提取率逐渐增大,在60%时达到最大,随后随着乙醇体积分数的增大其提取率反而降低了。原因可能是乙醇体积分数增大,紫萼玉簪根中水溶性小的黄酮,比如槲皮苷、柏黄酮等水溶性差而醇溶性好的成分在乙醇中溶解度增大,所以在开始阶段,随着乙醇体积分数的增大,提取率增大。而随着乙醇体积分数增加的同时醇溶性杂质的含量也随着增加,与黄酮竞争同溶剂乙醇相结合,使黄酮与溶剂结合的机会减少,从而导致其提取率减小,所以试验表明采用乙醇作为溶剂,利用超声波提取法提取总黄酮的最佳浓度为60%。

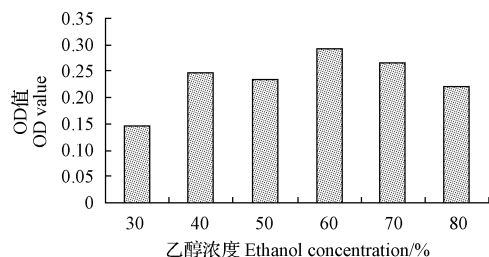


图4 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响

Fig. 4 Effect of the concentration of ethanol on extraction rate of total flavonoids

2.2.4 提取时间对总黄酮提取率的影响 由图5可以看出,提取时间在20~60 min时紫萼玉簪根中总黄酮的提取率增加而达到最大值,而80 min时,OD值下降,而后又随着时间的延长,总黄酮的提取率有所上升,但没有超过最大值。这可能是因为超声时间太长,部分对热不稳定的黄酮由于较长时间受热,导致其分解,从而使总黄酮的提取率下降。因此用超声波提取法提取总黄酮的最佳提取时间为60 min。

2.2.5 提取温度对总黄酮提取率的影响 由图6可以

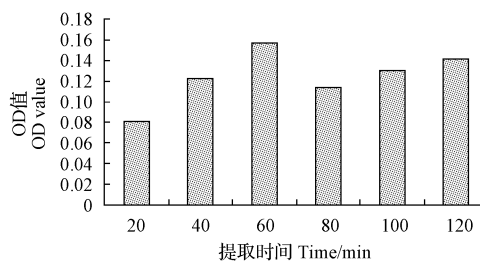


图5 提取时间对总黄酮提取率的影响

Fig. 5 Effect of extraction time on the extraction rate of total flavonoids

看出,随着温度的改变,提取率的改变也很大,提取温度达到70℃,紫萼玉簪根中总黄酮的提取率最高,即用超声波提取法提取总黄酮的最佳提取温度为70℃。

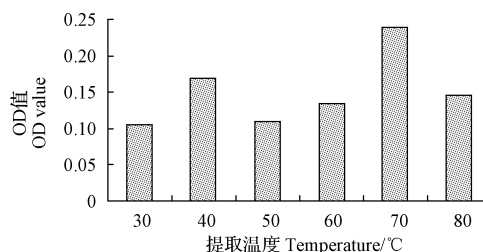


图6 提取温度对总黄酮提取率的影响

Fig. 6 Effect of temperature on the extraction rate of total flavonoids

2.2.6 料液比对总黄酮提取率的影响 由图7可以看出,当料液比从1:10增加到1:20时,总黄酮的提取率增加,而当料液比继续增加时提取率反而降低。原因可能是由于增大的溶剂用量对超声波能量的吸收增加,导致植物细胞对超声波的能量吸收减少,破壁不完全,黄酮从细胞中不能很好溶出,从而导致总黄酮提取率降低。因此利用超声波提取法提取总黄酮的最佳料液比是1:20。

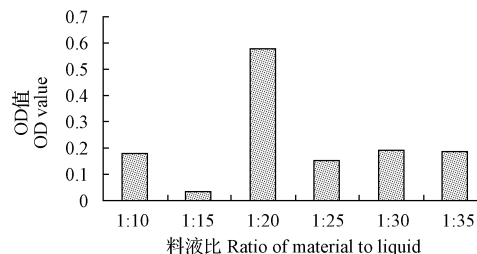


图7 料液比对总黄酮提取率的影响

Fig. 7 Effect of ratio of material to liquid on the extraction rate of total flavonoids

2.3 正交实验结果

由表2可以看出,影响总黄酮提取率因素的大小顺序为D>A>B>C,即料液比>乙醇浓度>提取温度>

提取时间。优化后的最佳条件是 $A_3B_2C_2D_1$, 即乙醇浓度为 80%, 提取温度为 70℃, 提取时间为 60 min, 料液比为 1:15 时最佳, 总黄酮得率为 25.48 mg/g。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交实验结果

Table 2 Result of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号 Test No.	A 乙醇浓度 Ethanol concentration	B 温度 Temperature	C 时间 Time	D 料液比 Ratio of material to liquid	吸光度值 Absorbance value
1	1	1	1	1	2.06
2	1	2	2	2	2.06
3	1	3	3	3	1.45
4	2	1	2	3	2.02
5	2	2	3	1	4.23
6	2	3	1	2	2.28
7	3	1	3	2	2.32
8	3	2	1	3	2.40
9	3	3	2	1	4.79
k1	1.86	2.13	2.25	3.69	
k2	2.84	2.90	2.96	2.22	
k3	3.17	2.84	2.67	1.96	
R	1.31	0.77	0.71	1.73	

2.4 验证实验

按 $A_3B_3C_2D_1$ 和 $A_3B_2C_2D_1$ 工艺条件进行了 2 组平行实验, 结果表明在 $A_3B_3C_2D_1$ 工艺条件下紫萼玉簪根中总黄酮的得率较高, 故 $A_3B_3C_2D_1$ 是最佳的提取工艺条件。

3 讨论与结论

目前对玉簪的研究多集中在其观赏价值^[4-5]方面, 而对化学成分^[6]、药理作用^[7-11]等方面报道较少。Jaromir 等^[12]认为玉簪属植物的主要化学成分为黄酮; Wang 等^[13]从玉簪中提取出生物碱类, 解红霞等^[7]、Yoshihiro 等^[14]从玉簪中提取出了甾体皂苷。解红霞等^[7]还从玉簪(*H. plantaginea*)花中分离出胡萝卜苷、正二十烷酸和棕榈酸-A-单甘油酯。

该试验采用单因素试验, 考察不同条件下紫萼玉簪根中总黄酮的提取率, 在此基础上结合正交实验设计确定了最佳工艺路线。初步得到了利用超声提取法提取紫萼玉簪根中总黄酮的最佳提取条件为: 乙醇浓度 80%, 提取温度 80℃, 提取时间 60 min, 料液比 1:15, 总黄酮得率 25.48 mg/g。各因素对总黄酮得率的影响程度依次为料液比>乙醇浓度>提取温度>提取时间。

故在试验操作时, 可综合考虑所期望的目标及试验条件, 选择适合的最佳提取工艺, 以期今后玉簪属植物的综合利用提供了科学依据。

参考文献

- [1] 张瑞麟, 卜秀莲, 樊祥昌, 等. 玉簪属植物在乌鲁木齐地区的引种及园林应用[J]. 新疆农业科学, 2007, 44(5): 575-578.
- [2] 段锦兰, 付宝春, 康红梅, 等. 玉簪属植物的引种评价及应用[J]. 山西农业科学, 2009, 37(5): 28-30.
- [3] 石秉路, 周玉迁, 何林霞, 等. 2 种玉簪属植物在大兴安岭地区引种及园林应用[J]. 中国园艺文摘, 2012(4): 24-25.
- [4] 李玉梅, 李三明, 叶永鹏. 森林野菜新资源[J]. 长江蔬菜, 2006(2): 8.
- [5] 李钱鱼, 夏宜平. 玉簪属植物种质资源及其园林应用现状[J]. 中国园林, 2004, 20(2): 77-79.
- [6] 薛培凤, 张金花, 解红霞, 等. 玉簪属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材, 2011, 34(4): 647-651.
- [7] 解红霞, 张金花, 张宏桂, 等. 蒙药玉簪花的化学成分研究[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(10): 733-735.
- [8] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006, 187.
- [9] Yoshihiro M, Aiko K, Minpei K. Steroidal glycosides from the underground parts of *Hosta plantaginea* var. *Japonica* and their cytostatic activity on leukaemia HL-60 cells [J]. Tokyo University of Pharmacy and Life Science, 1996, 44(2): 305-310.
- [10] Kim C S, Kim S Y, Moon E J. Steroidal constituents from the leaves of *Hosta longipes* and their inhibitory effects on nitric oxide production [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2013, 23: 1771-1775.
- [11] Yoshihiro M, Aiko K, Minpei K. Steroidal glycosides from the underground parts of *Hosta plantaginea* var. *Japonica* and their cytostatic activity on leukaemia HL-60 cells [J]. Tokyo University of Pharmacy and Life Science, 1996, 44(2): 305-310.
- [12] Jaromir B. Kaempferol glycosides from *Hosta ventricosa* [J]. Phytochemistry, 1990, 29(11): 3643-647.
- [13] Wang Y H, Zhang Z K, Yang F M, et al. Benzyl phenethylamine Alkaloids from *Hosta plantaginea* with inhibitory activity against tobacco mosaic virus and acetylcholinesterase [J]. J N at Prod, 2007, 70: 1458-1461.
- [14] Yoshihiro M, Yoshihiro K, Minpei K, et al. Steroidal saponins from the underground part of *Hosta longipes* and their inhibitory activity on tumour promoter-induced phospholipid metabolism [J]. Chem Pharm Bull, 1995, 43(7): 1190-1196.

Extraction Process of Total Flavonoids of *Hosta ventricosa* Roots

YU Miao, XU Li-ping, LIU Hong-zhang, LIU Shu-ying

(College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: Taking *Hosta ventricosa* roots as test materials, using single-factor and orthogonal experiment methods, the effects of optimum extraction technology of total flavonoids from *Hosta ventricosa* roots on hosta plants were researched. The results showed that ultrasonic extraction method *Hosta ventricosa* chromoco optimum extraction process as follows: 80% ethanol concentration, extraction temperature was 80℃, extraction time was 60 min, material-liquid ratio was 1:15, total extraction of flavonoids was 25.48 mg/g.

Keywords: *Hosta ventricosa* roots; total flavonoids; extraction process