

超声波法提取迎春花 总黄酮含量的工艺研究

任雪峰^{a, b} 吴冬青^{a, b} 王永生^{a, b} 林敏^{a, b} 刘冬^b 周梅^b

^a(西部资源环境化学重点实验室 甘肃省张掖市甘州区北环路 87 号 734000)

^b(河西学院化学系 甘肃省张掖市甘州区北环路 87 号 734000)

摘 要 研究了超声波法对迎春花中总黄酮的提取条件。其最优提取条件为: 料液比 1:40, 超声波温度 20℃, 作用时间 20 min。在此条件下, 用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 显色法测定的总黄酮为 18.22%, $\text{RSD} = 1.48\%$ ($n = 5$)。

关键词 迎春花; 总黄酮; 超声波; 分光光度法

中图分类号: O 657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2010)01-0250-04

1 前言

迎春花 (*Jasminum nudiflorum* Lindl.) 为木犀科茉莉花属植物。中国长江流域各省均有栽培, 春季采花, 夏季采叶。叶苦、平, 解毒消肿并止血、止痛, 治疗跌打损伤、外伤出血、口腔炎、痈疖肿毒和外阴搔痒。花甘、涩、平, 清热利尿、解毒, 治疗发热头痛、小便热痛和下肢溃疡^[1]。研究表明, 迎春花含有黄酮类化合物^[2-4]。生物类黄酮具有保护心血管系统、抗菌及抗病毒、抗肿瘤、抗氧化清除自由基、镇痛、保肝等多种生物活性^[5], 特别是具有抗自由基及抗癌、防癌的作用, 因此使生物类黄酮在医药、食品等领域的应用具有广阔的前景^[6]。基于此, 黄酮的提取制备技术具有重要的经济和实用价值。

2 实验部分

2.1 材料

迎春花: 采收于张掖市河西学院校园内, 采收时间为 2008 年 3 月。

2.2 主要试剂

芦丁: (Rutin) 中国药品生物制品检定所; 无水乙醇, 亚硝酸钠, 硝酸铝, 氢氧化钠等各种试剂均为分析纯。实验水用水为蒸馏水, 所需仪器均经自来水、蒸馏水清洗备用。

2.3 主要仪器

GB204 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; RE-52A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); A S5150A 超声仪(上海东方仪器公司); SHB-III 型水循环式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); W FJ-2100 型分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司]。

甘肃省教育厅(0509-02)科研资助项目

联系人, 电话: (0936) 8282066; E-mail: rxfwy@vip.sina.com

作者简介: 任雪峰(1976—), 男, 甘肃省张掖市人, 讲师, 主要从事分析化学的教学工作。

收稿日期: 2008-12-10; 接受日期: 2009-12-22

2.4 实验方法

2.4.1 总黄酮提取工艺流程及含量的测定

将采收的迎春花自然凉干, 用研钵研碎, 过 60 目筛。称取一定量迎春花置于碘量瓶中, 按不同料液比, 加入一定量 65% 的乙醇, 在一定温度和一定时间下超声提取。冷却, 抽滤, 用少量相应浓度的提取剂超声提取数次, 合并滤液, 用旋转蒸发仪减压蒸馏至黄色粘稠状, 转移到 50mL 的容量瓶, 以 65% 的乙醇定容。以芦丁为标准品, 采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠法测定^[7]。

2.4.2 校准曲线的绘制

2.4.2.1 芦丁标准溶液的配制

准确称取芦丁标准试剂 0.0500g, 用 65% 的乙醇溶解, 转入 50mL 的容量瓶中, 用 65% 的乙醇定容。C = 1.0000mg/mL。然后用移液管吸取 10.00 mL 于另一 50mL 容量瓶中, 定容。C = 0.2000mg/mL。

2.4.2.2 校准曲线的绘制

精确吸取 0.2000mg/mL 的芦丁标准溶液 0.00, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00mL 分别置于 6 支 10mL 的容量瓶中, 并在容量瓶中加入 4mL 水, 再加入 0.3mL 5% 的亚硝酸钠溶液, 放置 6min, 然后再加入 10% 的硝酸铝溶液 0.30mL, 放置 6min, 再加入 4.00mL 5% 的氢氧化钠溶液后放置 15min, 以空白试剂为参比, 在 510nm 处测定吸光度, 所得校准曲线如图 1 所示。

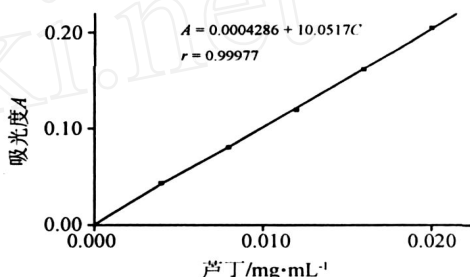


图 1 芦丁对照品校准曲线

2.4.3 总黄酮提取率的计算

$$\text{总黄酮提取率}(\%) = \frac{\text{提取物中多糖质量}}{\text{原料的质量}} \times 100.$$

2.4.4 单因素试验

本试验采用超声时间(10, 15, 20, 25, 30, 35, 40min), 超声温度(10, 15, 20, 25, 30, 35, 40℃)及料液比(1:30, 1:40, 1:50, 1:60, 1:70, 1:80)对迎春花总黄酮提取率的影响进行研究。

3 结果与讨论

3.1 单因素的确定

3.1.1 超声时间对提取效果的影响

称取 0.05g 迎春花粉末, 分别用超声处理 10、15、20、25、30、35、40min, 其他条件一定, 提取液按照 2.4.2 进行测定, 结果如图 2 所示。

从图 2 可以看出, 随着超声时间的加长总黄酮得率升高, 但在时间达到 25min 之后多糖得率趋于平衡。因此, 超声时间以 25min 为宜。

3.1.2 超声温度对提取效果的影响

称取 0.05g 迎春花粉末, 分别于 10、15、20、25、30、35、40℃ 进行处理, 其他条件一定, 提取液按照 2.4.2 进

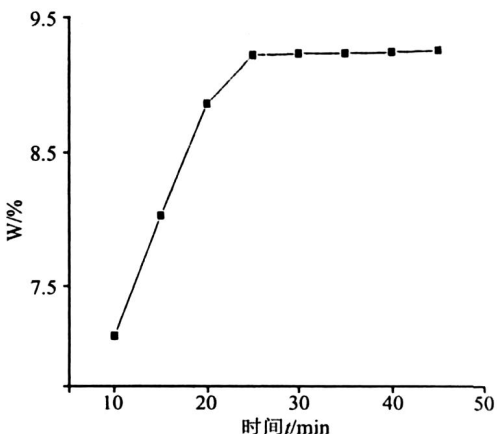


图 2 超声时间对迎春花总黄酮提取率的影响

行测定, 结果如图 3 所示。

从图 3 可以看出, 随着超声温度的升高总黄酮得率升高, 但在温度达到 20 之后总黄酮得率反而降低。因此, 超声提取时温度以 20 为宜。

3 1 3 料液比对提取效果的影响

称取 0.05g 迎春花粉末, 分别用料液比为 1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70 的 65% 的乙醇对迎春花总黄酮进行提取, 其他条件一定, 提取液按照 2.4.2 进行测定, 结果如图 4 所示。

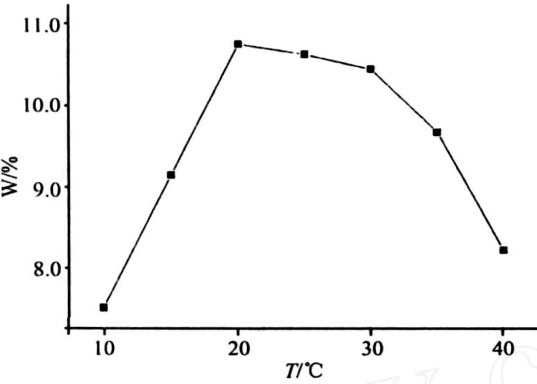


图 3 超声温度对迎春花总黄酮提取率的影响

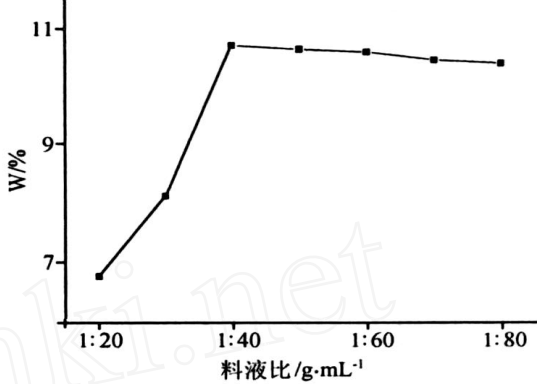


图 4 料液比对迎春花总黄酮提取率的影响

从图 4 可知, 随着料液比增加, 总黄酮得率增加, 但在料液比达到 1:40 之后总黄酮得率趋于稳定, 因此, 料液比以 1:40 为宜。

3 2 正交试验结果

根据单因素试验结果, 选择超声温度, 超声时间及料液比为参考因素, 以迎春花总黄酮的提取率为指标, 采用 $L_9(3^3)$ 正交试验设计, 对迎春花总黄酮的提取条件进行优化(表 1 及表 2)。

表 1 迎春花总黄酮提取正交实验表

水平	超声时间A (min)	超声温度B ()	料液比C (g/mL)
1	20	15	1:30
2	25	20	1:40
3	30	25	1:50

表 2 正交试验结果分析 $L_9(3^3)$

编号	因素			总黄酮提取率(%)
	A 超声时间(min)	B 超声温度()	C 料液比(g/mL)	
1	1	1	1	11.60
2	1	2	2	18.48
3	1	3	3	15.68
4	2	2	3	17.07
5	2	3	1	14.18
6	2	1	2	15.66
7	3	3	2	17.67
8	3	1	3	16.57
9	3	2	1	10.90
K ₁	45.76	43.83	36.68	
K ₂	46.91	46.45	51.81	
K ₃	45.14	47.53	49.32	
k ₁	15.25	14.61	12.23	
k ₂	15.64	15.48	17.27	
k ₃	15.05	15.84	16.44	
R	0.59	1.23	5.04	

表 3 正交试验方差分析表

因素	偏差平方和(ss)	自由度(f)	方差(s)	方差比(F)	F 临界值	显著性
超声时间	0.540	2	0.270	1	$F_{1-0.05}(2, 2) = 19$	
超声温度	2.399	2	1.200	4.444		
料液比	43.815	2	21.908	81.141		*
误差	0.540	2	0.270			

以迎春花总黄酮的提取率为考察指标,由表 2 的 R 值可以看出,各因素对实验结果影响的大小顺序为 $C > B > A$;表 3 的方差分析表明因素对指标的影响的 $C > B > A$,即料液比影响最大,超声温度次之,超声时间对实验结果影响最小。从极差和方差分析的结果可以看出,最佳提取工艺条件为 $A_1B_2C_2$ 。

3.3 重现性试验

根据 3.2 的分析结果,依照提取工艺 $A_1B_2C_2$ 进行提取实验,迎春花样品平行提取 5 次,实验结果精密度良好,结果见表 4。

表 4 重现性试验结果

提取次数	1	2	3	4	5	$\bar{x}$	s	RSD (%)
提取率 (%)	18.42	17.94	17.83	18.50	18.29	18.22	0.27	1.48

4 结论

应用超声波技术,采用 $L_9(3^3)$ 正交优化实验方案研究表明,影响迎春花总黄酮超声波提取的主要因素是料液比和超声温度,其次是超声时间,主次顺序为 $C > B > A$ 。优选方案为 $A_1B_2C_2$,即料液比 1:40,超声波温度 20℃,作用时间 20min,在此条件下进行了 5 份样品的提取,所得总黄酮平均提取率为 18.22%,RSD = 1.48%,说明本方法提取率高,稳定性好。

参考文献

[1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 330.
[2] 张仕信, 张仕秀, 宋关斌等. 迎春花植物茎叶中黄酮类物质初步研究[J]. 生物技术, 2004, 14(4): 30—31.
[3] 唐琳, 张庆, 崔文新. 迎春花黄色素的提取工艺研究[J]. 山东师范大学学报, 2006, 21(1): 133—135.
[4] 杨伟波, 卢成瑛, 陈功锡等. 迎春花研究进展[J]. 食品科学, 2008, 29(4): 474—477.
[5] 徐向容, 王文华, 李华斌. 荧光法测定 Fenton 反应产生的羟自由基[J]. 分析化学, 1998, 26(12): 1460—1463.
[6] 陈丛瑾, 黄克瀛, 王贵武等. 香椿叶总黄酮不同提取方法的比较[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(3): 57—60.
[7] 孙慧丽, 艾来提·苏里坦, 买吾兰·买提努尔等. 黄花柳中总黄酮含量的研究[J]. 新疆农业科学, 2008, 45(1): 84—87.

Study on Ultrasonic Extraction Process of Total Flavonoids from *Jasminum nudiflorum* Lindl

REN Xue-Feng^{a, b} WU Dong-Qing^{a, b} WANG Yong-Sheng^{a, b}
LIN Min^{a, b} LIU Dong^b ZHOU Mei^b

^a(Key Laboratory of Resources and Environment Chemistry of West China, Zhangye, Gansu 734000, P. R. China)
^b(Department of Chemistry, Hexi University, Zhangye, Gansu 734000, P. R. China)

Abstract The optimal process of extracting total flavonoids from *jasminum nudiflorum* lindl was studied by single factor test and orthogonal test. The optimum conditions for extracting the total flavonoids assisted by ultrasonic wave are as follow: material-liquid ratio 1:40, ultrasonic temperature 20℃ and ultrasonic time 20min. The optimized method is stable and efficient, the rate of total flavonoids extracted is up to 18.22%. The RSD in a duplicate test is 1.48% (n= 5).

Key words *Jasminum nudiflorum* Lindl; Total Flavonoids; Ultrasonic Wave; Spectrophotometry