

周银丽, 王晓云, 白建波, 等. 芭蕉花中总黄酮的最佳提取工艺[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 257–259.

# 芭蕉花中总黄酮的最佳提取工艺

周银丽<sup>1,2</sup>, 王晓云<sup>3</sup>, 白建波<sup>1</sup>, 梦衡玲<sup>1</sup>, 胡先奇<sup>2</sup>, 张佳福<sup>1</sup>

(1. 红河学院云南省高校农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室, 云南蒙自 661100; 2. 云南农业大学农业生物多样性应用技术国家工程研究中心, 云南昆明 650201; 3. 江西中医学院药学院/江西省中药种质资源工程技术研究中心, 江西南昌 330004)

**摘要:**通过单因素试验分别研究乙醇浓度、料液比、提取时间、提取温度对芭蕉花总黄酮提取效果的影响, 得到的较好的提取条件为乙醇浓度 80%、料液比 1 g : 35 mL、提取温度 70 ℃、提取时间 3.0 h。据此进行  $L_9(3^4)$  正交试验, 结果表明在乙醇浓度 80%、提取时间 4.0 h、料液比 1 g : 40 mL、提取温度 70 ℃时提取效果最佳, 此时提取率为 1.53%。说明芭蕉花含有较高的总黄酮含量, 有较高的食用价值。

**关键词:**芭蕉花; 总黄酮; 正交试验; 最佳工艺

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)06–0257–02

芭蕉(*Musa basjoo*)是多年生草本植物, 花序顶生, 下垂, 苞片红褐色或紫色, 雄花生于花序上部, 雌花生于花序下部, 芭蕉花一般指雄花。在云南, 芭蕉花是较受欢迎的一种食品, 傣族、哈尼族、拉祜族、布朗族等兄弟民族都喜欢用芭蕉花做菜, 这些用来食用的芭蕉花主要是野生芭蕉花; 以野生芭蕉花为原料加工的小吃颇多, 主要有芭蕉花炒狗肉、芭蕉花蘸酱、素炒芭蕉花、肉末炒芭蕉花、包蒸芭蕉花、芭蕉花三鲜汤、芭蕉花蛤蜊肉、芭蕉花拌带丝等<sup>[1–2]</sup>。芭蕉花含较丰富的优质蛋白质和膳食纤维, 低脂肪、低热量, 10 种矿物质含量丰富, 呈现高钾低钠的特点<sup>[3]</sup>。本试验对芭蕉花中总黄酮的含量及提取工艺进行研究, 旨在为芭蕉花的综合利用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、仪器与试剂

材料: 新鲜的芭蕉花, 60 ℃下烘干, 粉碎, 备用。仪器: 722S 紫外可见分光光度计(上海分析仪器总厂)、电子天平、恒温水浴锅、高速离心机等。试剂: 芸香苷、无水乙醇、三氯化铝、三氯化铁、浓氨水、盐酸、镁粉、5% 亚硝酸钠、10% 硝酸铝等。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 标准曲线的绘制** 精确称取 120 ℃干燥至恒重的芸香苷 20 mg, 用 60% 乙醇定容于 100 mL 容量瓶中, 摇匀, 得到浓度为 0.2 mg/mL 的标准品溶液, 作为储备液备用。准确量取 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mL 于 25 mL 容量瓶中, 加 5% 亚硝酸钠和 10% 硝酸铝溶液各 4.0 mL, 分别用 30% 乙醇稀释至刻度, 混匀, 放置 16 min。用紫外分光光度计在

510 nm 处测定吸光度。以吸光度为纵坐标, 溶液浓度为横坐标绘制标准曲线, 根据标准曲线求出总黄酮浓度–吸光度回归方程, 计算总黄酮浓度。

**1.2.2 芭蕉花中总黄酮的提取** 分别取干燥粉碎后的芭蕉花粉 2 g, 在不同乙醇浓度、料液比、提取温度、提取时间下进行恒温水浴浸提, 过滤, 定容至 50 mL; 再取 5 mL 提取液加入到 25 mL 容量瓶中, 分别加 5% 亚硝酸钠和 10% 硝酸铝溶液各 4.0 mL, 分别用 30% 乙醇稀释至刻度, 混匀, 放置 16 min。用紫外分光光度计在 510 nm 处测定吸光度。

**1.2.3 总黄酮的鉴定** 在一定条件下对提取的总黄酮进行定性试验: (1) 盐酸–镁粉反应。取 1.0 mL 提取液于试管中, 加适量镁粉摇匀, 再加入浓盐酸数滴(一次性加入), 观察泡沫颜色。(2) 三氯化铝反应。取提取液点在滤纸上, 滴加 1% 三氯化铝乙醇溶液, 吹干, 观察颜色变化。(3) 三氯化铁反应。取几滴提取液于滤纸上, 滴加 1% 三氯化铁乙醇溶液, 观察颜色变化。(4) 氨显色反应。取乙醇提取液点在滤纸上, 将滤纸在浓氨水上熏 30 s, 观察颜色变化<sup>[4]</sup>。

### 1.2.4 提取率计算

$$\text{黄酮提取率} = \frac{C \times \text{稀释倍数} \times \text{提取液体积}}{\text{芭蕉花取样量} \times 10^3} \times 100\%$$

式中:  $C$  表示根据标准曲线计算出的溶液浓度, 稀释倍数为 5 倍, 提取液体积为 50 mL, 芭蕉花取样量为 2 g。

**1.2.5 单因素试验** 影响黄酮提取效果的因素很多, 如提取时间、乙醇浓度、提取溶剂、液料比、提取时间、提取次数等, 试验首先进行乙醇浓度、料液比、提取时间和提取温度的单因素试验, 研究其提取效果, 并确定各因素的最优水平。

**1.2.6 乙醇恒温浸提正交试验设计** 根据单因素试验结果, 每个因素选择 3 个水平, 用  $L_9(3^4)$  正交表进行正交试验<sup>[5]</sup>, 确定芭蕉花最佳提取工艺条件。

## 2 结果与分析

### 2.1 总黄酮的鉴定

表 1 结果可证明待测液中含有黄酮类化合物。

### 2.2 标准曲线回归方程

线性回归方程为  $D = 11.133C - 0.0134$ ,  $r^2 = 0.9989$ ,  $r =$

收稿日期: 2012–11–07

基金项目: 红河学院植物保护硕士点建设项目; 红河学院特色专业建设项目(编号: TS200801)。

作者简介: 周银丽(1976—), 女, 云南祥云人, 博士研究生, 副教授, 从事植物病害及植物病害复合侵染的研究。E-mail: zyl\_biology2@126.com。

通信作者: 胡先奇, 博士, 博士生导师, 教授, 主要从事植物病理学及植物线虫学研究。E-mail: xqhoo@126.com。

表 1 定性试验结果

反应类型	现象
盐酸-镁粉反应	呈紫红色
三氯化铝反应	可见光下呈灰蓝色
三氯化铁反应	呈紫色
氨显色反应	紫外光下有极明显的墨绿色荧光斑点

0.999,  $n = 7$ 。

2.3 单因素试验

2.3.1 乙醇浓度对芭蕉花总黄酮提取效果的影响 固定料液比为 1 g : 30 mL, 提取时间为 3.0 h, 提取温度为 80 ℃, 选择乙醇浓度分别为 50%、60%、70%、80%、90%, 研究乙醇浓度对芭蕉花总黄酮提取效果的影响。结果表明, 乙醇浓度在 50% ~ 80% 之间时, 总黄酮提取率不断提高; 乙醇浓度为 80% 时提取率达到最高, 为 1.39%; 随着乙醇浓度的进一步升高, 提取效果开始下降。因此芭蕉花总黄酮提取的最佳乙醇浓度为 80%。

2.3.2 料液比对芭蕉花总黄酮提取效果的影响 固定乙醇浓度为 60%, 提取时间为 3.0 h, 提取温度为 80 ℃, 选择料液比分别为 1 g : 20 mL、1 g : 25 mL、1 g : 30 mL、1 g : 35 mL、1 g : 40 mL, 研究料液比对总黄酮提取率的影响。结果表明, 当料液比在 1 g : 20 ~ 35 mL 范围内时, 提取率随着提取剂的增加而提高, 料液比为 1 g : 35 mL 时达到最大值, 提取率为 1.27%, 之后随着提取剂的增加提取率下降。因此芭蕉花总黄酮提取的最佳料液比为 1 g : 35 mL。

2.3.3 提取时间对芭蕉花总黄酮提取效果的影响 固定乙醇浓度为 60%, 料液比为 1 g : 30 mL, 提取温度为 80 ℃, 选择提取时间分别为 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 h, 研究提取时间对总黄酮提取率的影响。结果表明, 随着提取时间的延长, 提取率不断提高, 在 2.0 ~ 3.0 h 范围内提取时间对提取率的影响较大, 3.0 h 后提取时间对提取率几乎没有影响。因此, 芭蕉花总黄酮提取的最佳提取时间为 3.0 h, 此时提取率为 1.14%。

2.3.4 提取温度对芭蕉花总黄酮提取效果的影响 固定乙醇浓度为 60%, 料液比为 1 g : 30 mL, 提取时间为 3.0 h, 选择温度分别为 50、60、70、80、90 ℃, 研究提取温度对总黄酮提取率的影响。结果表明, 在 50 ~ 70 ℃ 之间, 随着提取温度升高, 提取率不断上升, 且上升的幅度很大; 在 70 ℃ 时达到最佳提取效果, 提取率为 1.36%; 70 ~ 90 ℃ 时, 提取率开始随温度的上升而下降。因此, 芭蕉花总黄酮提取的最佳温度为 70 ℃。

2.4 正交试验

2.4.1 正交因素的确定 总黄酮提取工艺的研究大多采用正交试验的方法<sup>[6-7]</sup>。在单因素试验中得到芭蕉花总黄酮提取的最佳乙醇浓度为 80%、最佳料液比为 1 g : 35 mL、最佳提取温度为 70 ℃、最佳提取时间为 3.5 h, 据此设计正交试验因素水平, 见表 2。

表 2 芭蕉花中总黄酮提取正交试验的因素及水平

水平	因素			
	A:乙醇浓度(%)	B:提取时间(h)	C:料液比(g : mL)	D:提取温度(℃)
1	75	3.0	1 : 30	65
2	80	3.5	1 : 35	70
3	85	4.0	1 : 40	75

2.4.2 正交试验结果分析 极差  $R$  越大, 说明该因素水平的改变对试验结果影响越大<sup>[8]</sup>, 因此极差的大小反映了因素对试验指标影响的程度。从表 3 的极差分析结果可知, 各因素对黄酮提取效果的影响为  $A > B > C \approx D$ , 各因素的最佳工艺组合是  $A_2B_3C_3D_2$ 。

表 3 芭蕉花中总黄酮提取正交试验结果

试验号	A:乙醇浓度	B:时间	C:料液比	D:温度	吸光度	黄酮含量(mg/mL)	提取率(%)
1	1	1	1	1	0.966	0.088	1.11
2	1	2	2	2	1.034	0.094	1.18
3	1	3	3	3	1.075	0.098	1.22
4	2	1	2	3	1.106	0.101	1.26
5	2	2	3	1	1.242	0.113	1.40
6	2	3	1	2	1.318	0.120	1.48
7	3	1	3	2	1.059	0.096	1.20
8	3	2	1	3	1.043	1.095	1.19
9	3	3	2	1	1.017	0.093	1.16
$k_1$	1.17	1.19	1.26	1.22			
$k_2$	1.38	1.26	1.20	1.29			
$k_3$	1.18	1.29	1.27	1.22			
$R$	0.21	0.10	0.07	0.07			

2.4.3 最佳工艺条件验证 按照表 3 确定的最佳工艺条件组合(即乙醇浓度为 80%、提取时间为 4.0 h、料液比为 1 g : 40 mL、提取温度为 70 ℃)进行 3 次验证性试验, 芭蕉花总黄酮提取率分别为 1.52%、1.53%、1.53%, 均高于单因素试验中的最高黄酮提取率。

3 结论与讨论

通过单因素试验研究各因素对芭蕉花总黄酮提取效果的影响, 得到各因素的最优水平为乙醇浓度 80%、料液比 1 g : 35 mL、提取温度 70 ℃、提取时间 3.0 h; 在此基础上选择适宜的因素水平进行正交试验, 得到芭蕉花总黄酮提取的最佳工艺条件为乙醇浓度 80%、提取时间 4.0 h、料液比 1 g : 40 mL、提取温度 70 ℃, 此时提取率为 1.53%, 各因素对提取率影响大小为乙醇浓度 > 提取时间 > 料液比  $\approx$  提取温度。

已有的研究表明, 植物的花中含有丰富的类黄酮物质。Ganugapati 等研究表明香蕉花富含类黄酮, 且有抗糖尿病的功能<sup>[9]</sup>。Coutinho 等报道景天科高凉菜属的花富含 T 细胞抑制类黄酮, 可能在治疗炎症性疾病上有重要作用<sup>[10]</sup>。Zhou 等研究发现, 枇杷花含有丰富的黄酮类和酚类物质, 且在花的不同发育阶段和不同的组织中含明显不同, 花完全开放时花瓣中黄酮类和酚类物质含量最高<sup>[11]</sup>。Grassi 等利用动物模型进行研究, 结果表明饮食结构中的类黄酮物质能延迟动脉粥样硬化斑块的发展<sup>[12]</sup>。黄酮类化合物还具有抗肿瘤、免疫调节、抑菌、抗病毒、抗辐射等多种药理作用<sup>[13]</sup>。因此, 芭蕉花有较好的食用价值。

参考文献:

[1] 张家荣. 滇南芭蕉饮食文化[J]. 西部大开发, 2006(8): 49-50.  
[2] 周 玲. 药用食疗芭蕉花[J]. 花木盆景: 花卉园艺, 2003(9): 42.

潘永芳,郑国栋,张清峰. 超声法提取菝葜中绿原酸的工艺研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):259-261.

# 超声法提取菝葜中绿原酸的工艺研究

潘永芳,郑国栋,张清峰

(江西农业大学江西省天然产物与功能食品重点实验室,江西南昌 330045)

**摘要:**用超声波法提取菝葜中的绿原酸,考察乙醇浓度、料液比、超声功率、超声时间 4 个因素对绿原酸得率的影响,通过单因素试验和正交试验确定了提取的最佳工艺条件。 $L_9(3^4)$  正交试验结果表明,各因素对菝葜中绿原酸得率的影响大小顺序为乙醇浓度 > 超声功率 > 超声时间 > 料液比;绿原酸提取的最佳工艺为乙醇浓度 50%,料液比 1 g : 30 mL,超声功率 135 W,超声时间 35 min,绿原酸的得率高达 1.324%。

**关键词:**菝葜;绿原酸;超声提取;正交设计

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0259-03

菝葜是百合科菝葜属植物菝葜的根茎,别称王瓜草、金刚藤、金刚树,主要分布于热带地区,在我国主要分布于长江以南各省区<sup>[1]</sup>。菝葜根、茎、叶均可入药,长期以来被广泛用于治疗筋骨酸痛、小便淋漓、带下量多、疔疮痈肿等症<sup>[2]</sup>,具有抗炎、抗风湿、抗肿瘤、降血糖、预防动脉粥样硬化等作用<sup>[3-4]</sup>。随着检测和提取方法的迅速发展,国内外已从菝葜中得到了多种类型的化学物质,主要以甾体皂苷类、氨基酸、芪类、黄酮类,其中黄酮类主要是以黄酮、二氢黄酮、黄酮醇为主<sup>[5-7]</sup>。

绿原酸是一种多酚类化合物,异名咖啡鞣酸,是植物在有氧呼吸过程中产生的丙素类化合物<sup>[8]</sup>。绿原酸具有多种生物活性,包括降血压、抗肿瘤、抗菌以及抗氧化作用等<sup>[9]</sup>。最近,我们在研究菝葜提取物的抗氧化和细胞增殖的影响时,发现菝葜中含有较高的绿原酸<sup>[10]</sup>。然而,菝葜中绿原酸含量及其提取工艺的研究还未见报道。本试验研究超声波法提取菝

葜中绿原酸的工艺,用紫外分光光度法进行测定,并运用正交试验对相关工艺参数进行优化,以确定最佳的提取条件,为今后进一步提取分离纯化菝葜中绿原酸提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

KQ3200DA 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司提供;电子天平,上海精密科学仪器有限公司提供;电热恒温干燥箱,宁波机电工业研究设计院;UV752 紫外可见分光光度计,上海佑科仪器仪表有限公司。

### 1.2 试剂与材料

菝葜购自福建宁化,粉碎后过 40 目筛,得到菝葜粉末。绿原酸标准品,中国药品生物制品检定所。无水乙醇,天津永大化学试剂有限公司。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 绿原酸标准曲线的绘制** 称取绿原酸标品 1.4 mg,用 60% 的乙醇溶解定容到 10 mL 的容量瓶中配成 140  $\mu\text{g/mL}$  的绿原酸标准溶液,分别吸取 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 的标准溶液到 10 mL 的容量瓶中,定容到刻度,用紫外分光光度计在 328 nm<sup>[11]</sup> 处测定吸光度,再以吸光度  $D$  值为纵坐标,以绿原酸浓度为横坐标绘制标准曲线(图 1),得回归方程: $y = 0.0599x + 0.0004$ ,  $r^2 = 0.9997$ 。

收稿日期:2012-11-09

作者简介:潘永芳(1990—),女,江西万载人,硕士研究生,研究方向为天然产物的分离提取。E-mail: qinfengp@163.com。

通信作者:郑国栋,博士,副教授,研究方向为天然产物的分离提取和功能食品等。Tel: (0791) 83813420; E-mail: zrs150716@yahoo.com.cn。

[3] 殷建忠,周玲仙,王琦. 云南产 11 种野生食用鲜花营养成分分析评价[J]. 食品研究与开发,2010,31(3):163-165.

[4] 姚小敏,覃成箭,羊金梅,等. 茶叶中总黄酮的提取、鉴别及其含量测定[J]. 右江民族医学院学报,2005(6):779-781.

[5] 陈丛瑾,黄克瀛,李德良,等. 植物中黄酮类化合物的提取方法研究概况[J]. 生物质化学工程,2007,41(3):42-46.

[6] 查慧颖,石玉平,任世霞. 软儿梨果肉中黄酮类化合物的提取及含量测定[J]. 北方园艺,2012(10):42-44.

[7] 赵文亚. 红枣皮渣中总黄酮提取工艺的研究[J]. 中国食品添加剂,2011(3):82-85.

[8] 张丕德,龙晓英. 正交设计与数据分析在药学研究中的应用(I)[J]. 广东药学院学报,2009,25(5):546-551.

[9] Ganugapati J, Baldwa A, Lalani S. Molecular docking studies of banana flower flavonoids as insulin receptor tyrosine kinase activators

as a cure for diabetes mellitus[J]. Bioinformation, 2012, 8(5): 216-220.

[10] Coutinho M A, Muzitano M F, Cruz E A, et al. Flowers from *Kalanchoe pinnata* are a rich source of T cell - suppressive flavonoids[J]. Natural product communications, 2012, 7(2): 175-178.

[11] Zhou C H, Sun C D, Chen K S, et al. Flavonoids, phenolics, and antioxidant capacity in the flower of *Eriobotrya japonica* Lindl[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 12(5): 2935-2945.

[12] Grassi D, Aggio A, Onori L, et al. Tea, flavonoids, and nitric oxide-mediated vascular reactivity[J]. The Journal of nutrition, 2008, 138(8): 1554S-1560S.

[13] 曹纬国,刘志勤,邵云,等. 黄酮类化合物药理作用的研究进展[J]. 西北植物学报,2003,23(12):2241-2247.