

戴 一,汪 晶,金欢欢. 莲房中总黄酮提取工艺的优化[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):310-311.

莲房中总黄酮提取工艺的优化

戴 一,汪 晶,金欢欢
(安徽新华学院药学院,安徽合肥 230088)

摘要:以紫外分光光度法测定莲房、莲子心中的总黄酮含量。结果表明,1 棵莲蓬中莲子心中总黄酮含量为莲房的 3 倍左右,但莲房干重约为莲子心的 10 倍,故莲房中总黄酮含量较高。以总黄酮提取率为指标,以提取次数、乙醇浓度、料液比和提取时间为因素,采用正交试验优化莲房中总黄酮的提取工艺。最佳提取工艺为 A₃B₁C₁D₃,即以 60% 乙醇,料液比 1 g : 8 mL,提取 3 次,每次 90 min。

关键词:莲房;莲子心;黄酮;对比分析
中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)11-0310-02

莲房是睡莲科植物莲(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)的干燥花托,是莲子生产过程中的副产物,苦涩、性温、消瘀、止血、去湿,治血崩、月经过多、胎漏下血、瘀血腹痛、产后胎衣不下、血痢、血淋、痔疮脱肛、皮肤湿疮。现代药理表明,莲房具有抗氧化作用^[1],对肝癌 SMMC-7721 细胞、黑色素瘤 B16 细胞增殖具有抑制作用^[2-3],莲房原花青素和银杏内酯联用能够改善东莨菪碱所致小鼠学习记忆障碍^[4],对 D-半乳糖所致脑衰老具有明显的保护作用^[5]。相关提取方面的研究多针对莲房原花青素^[6],而对总黄酮的研究报道较少。本研究首先比较了莲房与莲子心中所含总黄酮的量,在确定具有总黄酮开发价值的基础上对莲房总黄酮的提取工艺进行了正交试验优化,为莲房的科学利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

芸香苷对照品:中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,1198-101018;莲蓬:购于合肥芙蓉菜市场;其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

UV-4802S 型紫外可见分光光度仪:尤尼柯(上海)仪器有限公司生产;FA2004 型电子天平:上海民桥精密科学仪器有限公司生产;KQ118 超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司生产;LDZ4-0.8 离心机:北京医用离心机厂生产;DZF-6020 型真空干燥箱:上海三发科学仪器有限公司生产。

1.3 试验方法

1.3.1 标准曲线的绘制^[7] 精确称取在 120 ℃干燥至恒重的芸香苷对照品 11.9 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得芸香苷对照品溶液(浓度 0.476 mg/mL)。精确量取对照品溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,分别置 25 mL 量瓶中,各加水至 6 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加氢

氧化钠试液 10 mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min,在 500 nm 波长处测定吸光度。

1.3.2 莲房、莲子心供试品溶液的制备 精确称取莲子心 1.00 g,置圆底烧瓶中,加甲醇 50 mL,水浴回流提取,提取 2 次,每次 1 h,过滤,滤液合并,定容到 100 mL 容量瓶中,备用。精确称取莲房 1 g,置圆底烧瓶中,加甲醇 50 mL,水浴回流提取,提取 2 次,每次 1 h,过滤,滤液合并,定容到 100 mL 容量瓶中,备用。

1.3.3 莲房、莲子心总黄酮测定 取供试品溶液 6 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加浓度为 4.3% 的氢氧化钠试液 10 mL,蒸馏水定容至 25 mL,摇匀,放置 15 min,在 500 nm 波长处测定吸光度。

1.3.4 单棵莲蓬莲房、莲子心收成 取 10 棵莲蓬,取莲子及莲子心,莲房、莲子心晒干,称重,计算收成。

1.3.5 莲房总黄酮提取正交试验 以总黄酮提取率为指标,以提取次数、乙醇浓度、料液比、提取时间为试验因素。参照文献[8]进行 L₉(3⁴) 正交试验,因素及水平见表 1。分别称取 9 份干燥莲房 5.00 g,进行水浴回流提取,提取液合并,过滤,浓缩,真空干燥,得浸膏。精确称取 0.1 g 浸膏,放入 50 mL 容量瓶中,加 70% 甲醇定容,4 000 r/min 离心 5 min,作为供试品溶液。取供试品溶液 2 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 4.3% 氢氧化钠试液 10 mL,蒸馏水定容至 25 mL,摇匀,放置 15 min,在 500 nm 波长处测定吸光度。

表 1 莲房总黄酮提取工艺正交试验因素水平

水平	因素			
	A:提取次数	B:乙醇浓度(%)	C:料液比(g : mL)	D:提取时间(min)
1	1	60	1 : 8	30
2	2	70	1 : 10	60
3	3	80	1 : 12	90

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

以芸香苷对照品溶液的吸光度(*D*_{500 nm})为纵坐标(*y*)、浓

收稿日期:2013-04-26

基金项目:安徽省教育厅自然科学研究(编号:KJ2012Z136)。

作者简介:戴 一(1979—),男,安徽利辛人,硕士,执业药师、讲师,主要从事活性天然产物研究。E-mail:daiyiii@163.com。

度(mg/mL)为横坐标(x)作标准曲线。由图 1 可以看出,回归方程为 $y = 7.2854x - 0.024$ ($r = 0.9994$),说明芸香苷在 0.019 0~0.114 2 mg/mL 范围内线性关系良好。

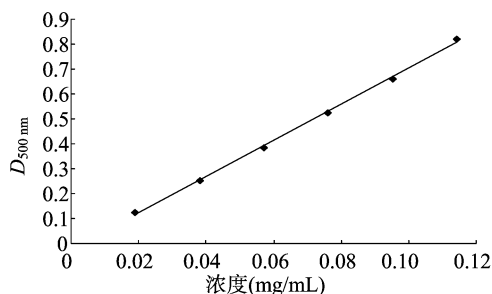


图1 芸香苷标准曲线

2.2 莲房、莲子心总黄酮含量

对莲房、莲子心总黄酮的 3 次试验含量测定结果,莲子心中总黄酮含量明显高于莲房,结果如图 2 所示,莲子心中总黄酮约是莲房中总黄酮含量的 3 倍。

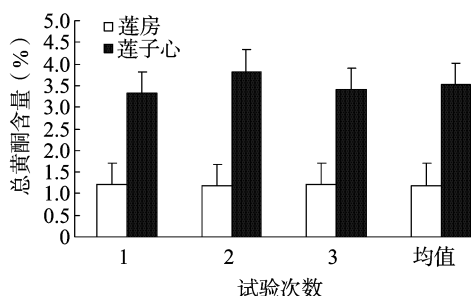


图2 莲房、莲子心总黄酮含量比较

取 10 棵莲蓬分离莲房、莲子心,计算得单棵莲蓬莲房干重与莲子心干重之比约为 10:1。对整棵莲蓬而言,莲房中总黄酮含量较高。

2.3 莲房总黄酮正交试验结果

按照正交试验设计,每次称取 5.00 g 干燥莲房,共 9 次,测定吸光度,计算总黄酮,结果如表 2 所示。

表2 莲房总黄酮提取工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

试验号	A:提取次数	B:乙醇浓度	C:料液比	D:提取时间	总黄酮提取率(%)
1	1	1	1	1	2.04
2	1	2	2	2	1.86
3	1	3	3	3	1.46
4	2	1	2	3	4.56
5	2	2	3	1	4.06
6	2	3	1	2	2.79
7	3	1	3	2	3.95
8	3	2	1	3	4.35
9	3	3	2	1	2.41
k_1	1.79	3.52	3.06	2.84	
k_2	3.80	3.42	2.94	2.87	
k_3	3.57	2.22	3.16	3.46	
R	2.01	1.30	0.22	0.62	

注:总黄酮提取率(%)为每 100 g 剪碎的莲房药材提取的总黄酮量 g(相当于芸香苷)。

由表 2 极差可见,各因素对总黄酮提取率的影响大小为 $A > B > D > C$,对结果进行方差分析,结果见表 3。

表3 莲房总黄酮提取工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验方差分析结果

方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F	P
A	7.29	2	3.65	105.03	<0.01
B	3.15	2	1.57	45.32	<0.05
D	0.73	2	0.37	10.52	
误差	0.07	2	0.03		

以莲房总黄酮的提取率为指标,表 2、表 3 结果表明,提取次数有极显著差异,选择提取 3 次;乙醇浓度有显著差异,结合加权分析,选择 60% 乙醇;而料液比对总黄酮提取率影响较小,当作误差,为节约成本选择 1 g:8 mL,提取时间结合加权分析选择提取 90 min。最终选择最佳工艺为 $A_3B_1C_1D_3$,即 60% 乙醇,料液比 1 g:8 mL,提取 3 次,每次 90 min。

3 结论

莲房为莲蓬的主要部分,但常作为莲子生产过程的副产物而舍弃。莲蓬中所含莲子心具有较大的药用价值,研究表明莲子心富含黄酮^[9],但莲子心在莲蓬中的比例较少,较难获得,莲房则较易获得,莲房、莲子心分属于莲蓬不同部位,具有相似成分。研究表明,莲房也富含黄酮。本试验通过比较莲房、莲子心中总黄酮,结果莲子心中总黄酮的含量约为莲房的 3 倍,但 1 棵莲蓬中莲房重则为莲子心的 10 倍左右,莲房中总黄酮值得进一步研究。采用传统回流提取,正交试验优化提取次数、乙醇浓度、料液比、提取时间对莲房中总黄酮提取率的影响。结果表明提取次数对结果影响极显著,选择提取 3 次,乙醇浓度对结果影响显著,结合极差分析选择 60% 乙醇,提取时间选择 90 min;料液比影响较小,考虑到环保节约成本选择 8 倍量。正交试验最佳因素水平为 $A_3B_1C_1D_3$ 。即以 60% 乙醇,料液比 1 g:8 mL,提取 3 次,每次 90 min。研究结果为莲房中总黄酮的开发提供了技术依据。

参考文献:

- [1] 郑丽璠,吴岩斌,吴建国,等. 莲房不同溶剂提取物对 DPPH 自由基的清除作用[J]. 福建中医药,2012,43(1):54-56.
- [2] 梁慧敏,时小燕,随裕敏,等. 莲房花青素诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡的研究[J]. 中国实用医药,2011,6(19):37-38.
- [3] 段玉清,周密,张海晖,等. 莲房原花青素对黑色素瘤 B16 细胞的抑制作用[J]. 中国药学杂志,2009,44(2):103-106.
- [4] 张丽,许继超,荣爽,等. 莲房原花青素和银杏内酯联用对东莨菪碱所致小鼠记忆获得性障碍的改善作用[J]. 华中科技大学学报:医学版,2009,38(3):355-358.
- [5] 蒋文,唐瑛,王晓昆,等. 莲房原花青素对衰老小鼠脑组织中一氧化氮及一氧化氮合酶的影响[J]. 华南国防医学杂志,2009,23(4):22-24.
- [6] 崔倩,蒋益虹,戴蕾,等. 莲房原花青素的提取纯化技术研究[J]. 食品工业科技,2011,32(8):238-241.
- [7] 夏稼红,陶冉,范乃兵,等. 紫外分光光度法测定莲子心总黄酮的含量[J]. 南京中医药大学学报:自然科学版,2008,24(2):116-118.
- [8] 谢远红. 芹菜总黄酮提取工艺研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(9):256-258.
- [9] 张俊生,陈莉华,杨顺清,等. 超声波辅助乙醇提取莲子心总黄酮及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2012,33(3):220-223.