

朱德艳.  $\beta$ -环糊精辅助提取葛根黄酮的工艺研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(11): 317-318.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.113

# $\beta$ -环糊精辅助提取葛根黄酮的工艺研究

朱德艳

(荆楚理工学院生物工程学院, 湖北荆门 448000)

**摘要:**为研究  $\beta$ -环糊精辅助提取葛根黄酮的新工艺, 以  $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD)为辅助材料, 提取葛根中葛根黄酮, 同时测定葛根黄酮的提取率, 并与传统提取工艺进行比较。结果表明,  $\beta$ -CD 辅助提取新工艺的葛根黄酮提取率明显优于传统提取工艺。 $\beta$ -CD 辅助提取新工艺具有安全性高、无污染、成本低等特点, 具有广阔的应用前景。

**关键词:**葛根; 总黄酮;  $\beta$ -环糊精; 提取工艺

**中图分类号:** R284.2      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2014)11-0317-02

葛根含有葛根苷、葛根苷元、葛根素等黄酮类物质, 具有抗菌、活血化痰、扩张冠状动脉血管和脑血管、降低心肌耗氧量、改善心肌收缩功能、促进血液循环、增强机体免疫力等药理与保健作用<sup>[1-3]</sup>。葛根黄酮作为许多药物与保健品的主要功能成分, 具有重要的价值, 其提取与功能应用的研究是目前的热点之一。为了增加葛根黄酮在水中的溶解性能, 本试验采用  $\beta$ -环糊精来作为葛根黄酮类水提取辅助剂。 $\beta$ -环糊精是由 7 个葡萄糖残基以 -1,4-糖苷键连接成环状, 呈上宽下窄、两端开口、中空“桶状”结构, 葛根黄酮类可以进入  $\beta$ -环糊精的筒状结构内形成溶解度较大的包合物, 有文献报道, 采用  $\beta$ -环糊精作为辅助性材料提取银杏、金银花、沙棘、丹参、虎杖和广枣等物质中的黄酮成分, 取得了较好的结果<sup>[4-9]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料与化学试剂

葛根来自湖北省仙之灵食品有限公司(自然晾干, 粉碎);  $\beta$ -环糊精, 化学纯(河南省孟州市华兴生物化工有限责任公司); 芸香苷标准品(中国药品生物制品检定所), 批号为 100080-200707, 其他试剂均为分析纯。

### 1.2 主要仪器与设备

754E 型紫外-可见分光光度计(上海第三分析仪器有限公司); 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); 电热恒温

鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 总黄酮含量的测定** 芸香苷标准溶液的配制<sup>[10]</sup>: 精确称取干燥至恒重的无水芸香苷对照品 10.0 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加 30% 乙醇适量, 超声波使其溶解, 放冷后加 30% 乙醇至刻度, 摇匀, 即得浓度为 200  $\mu$ g/mL 的芸香苷标准溶液。

供试品溶液的制备: 取葛根粗粉 2 g, 加 60% 乙醇溶液 40 mL, 加热回流 2 h, 提取 2 次, 过滤, 合并 2 次滤液, 用 60% 乙醇定容至 100 mL, 即得供试品溶液。

测定波长的选择: 取芸香苷标准溶液 2.0 mL, 加 30% 乙醇至 6 mL, 加 5% 亚硝酸钠溶液 1.0 mL, 摇匀, 放置 10 min, 加 10% 硝酸铝溶液 1.0 mL, 摇匀, 放置 10 min, 再加 10% 氢氧化钠溶液 10 mL, 加 30% 乙醇至 25 mL, 摇匀, 放置 10 min, 以相应试剂作空白, 于分光光度计在 370~700 nm 波长范围进行扫描, 结果表明在 500 nm 处有最大光吸收。

标准曲线的绘制: 精确量取芸香苷标准溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 各加 30% 乙醇至 6.0 mL, 加 5% 亚硝酸钠溶液 1.0 mL, 混匀, 放置 6 min, 加 10% 硝酸铝溶液 1.0 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加 10% 氢氧化钠溶液 10 mL, 摇匀, 放置 10 min, 以 30% 乙醇溶液为空白, 按照紫外-可见分光光度法, 在 500 nm 处测定吸光度, 以吸光度为横坐标, 浓度为纵坐标, 绘制标准曲线。

供试品溶液中总黄酮含量的测定: 吸取供试品溶液 1 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 按照标准曲线制备项下的方法测定吸光度, 利用标准曲线计算出供试品溶液中总黄酮含量。

### 1.3.2 $\beta$ -环糊精对葛根总黄酮提取率的影响

取葛根粗

收稿日期: 2014-01-14

基金项目: 湖北省荆门市科技项目(编号: 2012YD05)。

作者简介: 朱德艳(1977—), 女, 湖北恩施人, 硕士, 副教授, 研究方向为生物制药技术。E-mail: zhudeyan@163.com。

[2] 郑红花, 罗德生, 罗丽芳, 等. 大鼠实验性肝损伤时山梨醇脱氢酶 SOD 活性及 MDA 含量变化[J]. 咸宁医学院学报, 2000, 14(4): 232-234.

[3] 顾毅, 时德, 赵渝. 肿瘤与静脉血栓形成的关系研究进展[J]. 中国癌症杂志, 2002, 12(1): 85-88.

[4] 何叶喧. 中草药牛膝、茜草纤溶酶的筛选与分离纯化[D]. 保定: 河北大学, 2006.

[5] 欧阳富, 刘远, 肖辉辉, 等. 接骨木中木脂素类化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 3(10): 1225-1227.

[6] 秦岐行. 苦碟子治疗心血管疾病活性成分筛选[D]. 长春: 长春理工大学, 2012.

[7] 肖能庚, 余瑞元, 袁明秀, 等. 生物化学实验原理和方法[M]. 2版. 北京: 北京大学出版社, 2005: 262-270.

[8] 夏广清, 宋金枝, 刘伟. 穿龙薯蓣纤溶酶分离及活性检测[J]. 通化师范学院学报: 自然科学, 2013, 34(2): 42-43, 86.

[9] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册[M]. 北京: 科学出版社, 2000.

[10] 顾昌玲, 朱宝成, 周艳芬, 等. 延胡索纤溶酶的分离纯化及部分性质[J]. 中国生化药物杂志, 2008, 29(2): 81-84, 88.

粉 11 份,每份 5 g,分别加入  $\beta$ -CD 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 g,各加蒸馏水 100 mL,浸泡 30 min,加热回流 2 h,过滤,滤液定容至 100 mL,精确量取提取液 25 mL 置于 50 mL 量瓶中,加 60% 乙醇定容,摇匀,作为供试品溶液。精确量取供试品溶液 1.0 mL,置于 25 mL 量瓶中,同法处理后,在 500 nm 处测定吸光度并计算葛根黄酮提取率。

1.3.3  $\beta$ -CD 辅助提取工艺与传统工艺的比较

1.3.3.1  $\beta$ -CD 辅助提取法 称取葛根粗粉 5 g,加入  $\beta$ -CD 2.5 g,加蒸馏水 100 mL,浸泡 30 min,加热回流 2 h,以纱布趁热滤过,药渣再加入  $\beta$ -CD 2.5 g,加蒸馏水 100 mL,回流 2 h,滤过,合并 2 次滤液,置于 250 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,得提取液。

葛根黄酮提取率 =  $\frac{\text{提取液中黄酮质量(g)}}{\text{葛根粉质量(g)}} \times 100\%$ 。

1.3.3.2 水提取法 称取葛根粗粉 5 g,加蒸馏水 100 mL,浸泡 30 min,煮沸回流 2 h,过滤,药渣再加蒸馏水 100 mL,继续提取 2 h,过滤,合并滤液,定容至 250 mL,摇匀,得提取液。

1.3.3.3 乙醇提取法 称取葛根粗粉 5 g,加 60% 乙醇 100 mL,加热回流提取 2 h,过滤,药渣再加蒸馏水 100 mL,继续回流提取 2 h,过滤,合并滤液,加 60% 乙醇定容至 250 mL,摇匀,得提取液。

1.3.3.4 铅盐沉淀法 称取葛根粗粉 5 g,加入醋酸铅 2.0 g,加蒸馏水 100 mL,浸泡 30 min,加热回流 2 h,以纱布趁热滤过,药渣再加入醋酸铅 2.0 g,加蒸馏水 100 mL,回流 2 h,滤过,合并 2 次滤液,置于 250 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,得提取液。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的制备

以吸光度为纵坐标(y)、浓度为横坐标(x),绘制标准曲线,结果如图 1 所示。结果显示,芸香苷标准品浓度在 0.01 ~ 0.05 mg/mL 范围内线性关系良好,得到回归方程为  $y = 10.971x + 0.0024$ ,  $r = 0.9993$ 。

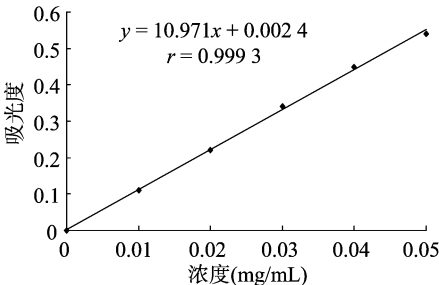


图1 芸香苷标准曲线

2.2  $\beta$ -CD 对葛根总黄酮提取率的影响

取葛根粗粉 11 份,按“1.3.2”节处理后,在 500 nm 处测定吸光度并计算葛根黄酮提取量。由图 2 可见,随着  $\beta$ -CD 加入量增加,葛根黄酮的提取率逐渐增加,当  $\beta$ -CD 加入量为 2.5 g 时,葛根黄酮提取率达到最大值,当  $\beta$ -CD 加入量超过 2.5 g 后,由于  $\beta$ -CD 与葛根黄酮所形成的部分包合物可能以沉淀形式析出,导致测定的提取率偏低。

2.3  $\beta$ -CD 辅助提取工艺与传统工艺的比较

分别精确量取上述 4 种提取液 25 mL,置于 50 mL 量瓶

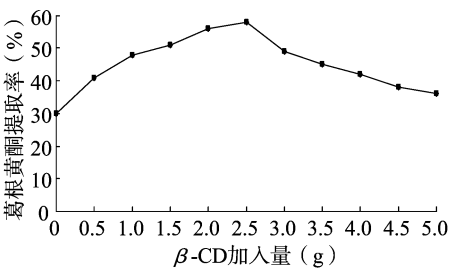


图2  $\beta$ -CD对葛根总黄酮提取率的影响

中,加 60% 乙醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。精确量取供试品溶液 1.0 mL 置于 25 mL 量瓶中,同法处理后于 500 nm 波长处测吸光度,计算各种方法的葛根黄酮提取率。结果(表 1)表明,4 种提取法中,采用  $\beta$ -CD 辅助提取法所得葛根黄酮提取率最高,其次为乙醇提取法,水提取法最差。

表 1 4 种不同提取工艺试验的结果比较

提取方法	提取率(%)
$\beta$ -CD 辅助提取法	89.91
水提取法	75.85
乙醇提取法	85.31
铅盐沉淀法	81.23

$\beta$ -CD 可使葛根黄酮提取率提高,主要是由于在提取过程中, $\beta$ -CD 与葛根黄酮形成包合物<sup>[11]</sup>,从而增加了葛根黄酮的溶解度以及从葛根中溶出的速度。与传统提取法比较, $\beta$ -CD 辅助提取法的葛根黄酮提取率显著提高。此外,该提取工艺生产成本低,安全性高,无环境污染,设备要求低,也适合工业化规模生产,是一种具有潜在应用价值的葛根黄酮提取新工艺。但新工艺在提取物中引入了一定量的  $\beta$ -CD,如何去它,值得今后继续深入研究。

参考文献:

[1] 范礼理,赵德化,赵敏琦,等. 葛根异黄酮抗心率失调作用[J]. 药学学报,1985,20(4):647-651.  
[2] 裴凌鹏,常 铮,金宗濂. 葛根黄酮改善老龄小鼠抗氧化功能的研究[J]. 营养学报,2004,26(6):505-506.  
[3] 袁怀波,糜漫天,陈宗道,等. 葛根黄酮提取物对 HL-60 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 肿瘤防治研究,2007,34(9):671-674,736.  
[4] 徐志红,李 磊,武法文,等. 环糊精对黄酮的包合作用及其在银杏黄酮提取中的应用[J]. 精细化工,2005,22(10):762-765.  
[5] 周春晖,李 俊. $\beta$ -环糊精辅助提取金银花中总黄酮的工艺研究[J]. 中成药,2010,32(10):1796-1798.  
[6] 吴春芝,谷福根,师 帅,等.  $\beta$ -环糊精辅助提取沙棘总黄酮工艺研究[J]. 中国药业,2012,21(14):65-67.  
[7] 马坤芳,王德旺,任 勇. $\beta$ -环糊精选择性提取虎杖化学成分及体外抗内毒素活性研究[J]. 上海中医药杂志,2008,42(8):81-82.  
[8] 张振海,刘 力,徐德生. 环糊精辅助提取丹参工艺的研究[J]. 中成药,2005,27(3):264-266.  
[9] 谷福根,韩 磊,孟根达来,等.  $\beta$ -环糊精选择性提取广枣总黄酮的工艺研究[J]. 中药新药与临床药理,2011,22(1):110-114.  
[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2005:171-172.  
[11] 任晓文,王玉丽,张士俊,等.  $\beta$ -环糊精对黄酮类结构包合作用的理论研究[J]. 中草药,2008,39(9):1308-1312.