

孔庆新,李思阳,刘 凯,等.荔枝草中高车前苷的提取与分析[J].江苏农业科学,2014,42(12):304-306.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.103

荔枝草中高车前苷的提取与分析

孔庆新,李思阳,刘 凯,钦山清,顾启明,周红升

(江苏食品药品职业技术学院,江苏淮安 223003)

摘要:对荔枝草中高车前苷的提取工艺进行了研究,并对提取物进行了红外光谱和 HPLC 纯度分析,还对其清除 DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯基)的活性进行了检测。结果表明:在以 60% 乙醇为提取剂、浸提温度 60 ℃、浸提时间 2 h、提取 2 次、料液比 1 g:12 mL 的提取工艺条件下,荔枝草中高车前苷提取量为 1.41 g/kg。红外光谱分析显示荔枝草提取物是高车前苷,纯度为 98.2%。荔枝草提取物高车前苷对 DPPH 的 $EC_{50} = 3.07$ mg/L,对 DPPH 的清除率可达到 90% 以上,具有较强的抗氧化活性。

关键词:荔枝草;高车前苷;提取;正交试验;抗氧化

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0304-02

荔枝草为唇形科鼠尾草属植物荔枝草(*Salvia plebeia*)的全草,别称雪见草、青蛙草等;除甘肃、新疆、西藏、青海外,全国各地均有分布^[1]。据《纲目拾遗》记载,“荔枝草治咽喉十八症,消痈肿、杨梅、痔疮”^[1-2]。现代研究显示,荔枝草含高车前苷等成分,可生产荔枝草茶等保健食品,荔枝草的黄酮类提取物也可作为食品的抗氧化剂^[1-3]。高车前苷是荔枝草中富含的一种黄酮类化合物,药理研究表明,高车前苷具有止咳平喘、抑菌、祛痰及保肝、抗组胺等作用^[3]。目前,对荔枝草中高车前苷提取与分析的研究鲜有报道。本试验通过研究荔枝草高车前苷的提取、分离、纯化工艺研究,提取物的红外光谱分析、HPLC 纯度分析和 DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯基)活性检测,旨在为荔枝草的进一步开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

(1)试验材料。荔枝草中药饮片:购于江苏省淮安市某药房,经鉴定为荔枝草的干燥全草。(2)主要仪器。JFSO-100 型植物粉碎机、岛津紫外-可见分光光度计、Agilent 1100 高效液相色谱仪、FGS-40 型傅立叶红外光谱仪、RY-NSG-20L 固液浸提微型提取浓缩机、RY-JN 降膜真空浓缩机组、RY-JJG-30L 结晶釜、RE-52AA 型旋转蒸发仪、TGL-16G 型高速离心机(上海安亭科学仪器厂)、SHB-Ⅲ循环水式多用真空泵、MP-120-1 电子天平等。(3)主要试剂。98% 高车前苷对照品(上海纯优生物科技有限公司),DPPH(Sigma-Aldrich 公司),BHT(2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚,上海谱振生物科技有限公司),维生素 C、维生素 E(南京泽朗医药科技有限公司),乙醇、冰醋酸、醋酸乙酯、甲醇、石油醚、溴化钾等均为分析纯。

收稿日期:2014-02-17

基金项目:江苏省高等学校大学生实践创新训练计划(编号:201313104016Y)。

作者简介:孔庆新(1978—),男,山东乳山人,硕士,副教授,从事食品生物技术研究。Email:kongxuguang@126.com。

1.2 方法

1.2.1 分析方法 (1)高车前苷含量测定(HPLC 法)。色谱条件为:Hedera ODS-2 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),柱温 30 ℃,甲醇-0.5% 冰醋酸水溶液(1:1)为流动相,流速 1 mL/min,检测波长 335 nm^[3]。以高车前苷对照品进样量对峰面积进行线性回归,得回归方程 $y = 1\,023.1x - 4.405\,6$ ($r = 0.999\,9$),结果表明高车前苷在 0.3~1.8 μg 范围内线性关系良好。样品测定:分别取同体积对照品和样品,按照上述方法测定,用标准曲线法计算含量。(2)DPPH 标准曲线的绘制及 DPPH 自由基清除率的计算。称取 0.2535 g DPPH,用 95% 乙醇制成浓度为 253.5 mg/L 的 DPPH 贮备液。取 10.0 mL 贮备液至 500 mL 容量瓶中,用 95% 乙醇定容后摇匀,得到 DPPH 标准溶液(浓度为 5.070 mg/L)。分别取 DPPH 标准溶液 1、2、4、6、8、10 mL 于 10 mL 容量瓶中,用 95% 乙醇定容后摇匀,在 517 nm 处测定吸光度(D)。以 DPPH 质量浓度(C)对吸光度(D)进行线性回归,得回归方程 $D = 0.026C + 0.002$ ($r = 0.999\,6$),按照下式计算 DPPH 清除率^[4]。

$$Y = (1 - C_t/C_0) \times 100\%$$

式中: Y 表示 DPPH 清除率; C_0 表示反应体系中 DPPH 起始浓度(mg/L); C_t 表示反应体系中 t 时刻的 DPPH 浓度(mg/L)。

1.2.2 试验方法 荔枝草中高车前苷的提取工艺:荔枝草饮片→粉碎→溶剂提取→过滤→减压浓缩→萃取→脱水→抽滤→硅胶柱分离→纯化(重结晶)→抽滤→干燥^[5-7]。

1.2.2.1 提取溶剂选择试验 根据荔枝草中高车前苷的提取工艺路线,取荔枝草饮片 5 kg,分别以乙醇、醋酸乙酯、甲醇、石油醚和水为提取溶剂(25 L/份),提取剂为 40%、50%、60%、70%、80% 等 5 个浓度梯度,60 ℃ 提取 2 h,按照“1.2.1”节方法测定高车前苷含量^[4-5]。

1.2.2.2 高车前苷提取正交试验 分别以提取温度、提取时间、提取次数、料液比 4 个因素作单因素试验,确定正交试验的因素水平(确定的试验因素水平见表 1);通过极差分析确定高车前苷最佳提取工艺^[4-5]。

1.2.2.3 荔枝草提取物的分析 (1)红外光谱分析。采用溴化钾压片法(溴化钾:样品 = 10:1)测定高车前苷对照品

表 1 荔枝草中高车前苷提取工艺正交试验水平

因素水平	A:温度 (℃)	B:时间 (h)	C:次数 (次)	D:料液比 (g/mL)
1	50	2.0	2	1:10
2	60	2.5	3	1:12
3	70	3.0	4	1:14

和荔枝草提取物的红外光谱^[5]。(2)HPLC 纯度分析。按照“1.2.1”节的色谱条件,用面积归一法对提取物进行纯度测定^[5]。(3)DPPH 活性检测。以 95% 乙醇为溶剂,将维生素 C、荔枝草提取物、BHT 和维生素 E 分别配置成 40 mg/L 抗氧化剂溶液。在容量瓶中加入 1.5 mL 的 DPPH 贮备液,分别加入 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5 mL 抗氧化剂溶液,加入 95% 乙醇至总体积为 10.0 mL,摇匀静置 40 min 后,测定吸光度,按照“1.2.1”节方法计算清除率^[4-5,8]。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂对高车前苷提取率的影响

由图 1 可知,随着提取溶剂浓度的升高,乙醇、醋酸乙酯、甲醇、石油醚 4 种溶剂的提取量都呈现先升高后降低的趋势。在 5 种提取溶剂中,乙醇的提取效果最好,水的提取效果最差。利用 60% 的乙醇,在 60 ℃ 条件下提取 2 h,高车前苷提取率可达 0.123 g/kg,原因可能是乙醇比其他溶剂极性大,对荔枝草饮片的组织、细胞的穿透力更强。

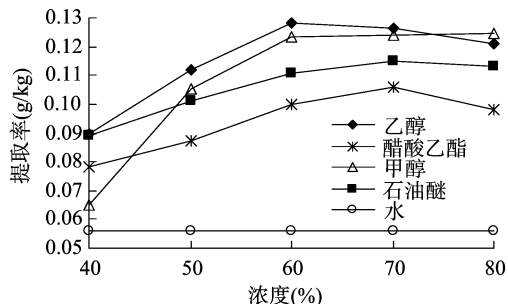


图1 提取剂对高车前苷提取率的影响

2.2 提取工艺对高车前苷提取效果的影响

由表 2 极差分析可知,各因素对荔枝草中高车前苷提取量的影响主次顺序为:提取温度 > 提取时间 > 提取次数 > 料液比。根据效应分析确定最佳提取组合为 $A_2B_1C_1D_2$,即提取温度 60 ℃,提取时间 2 h,提取次数 2 次,料液比 1 g:12 mL。经重复试验, $A_2B_1C_1D_2$ 组合提取率为 1.41 g/kg。

2.3 荔枝草提取物的分析结果

2.3.1 红外吸收光谱分析结果 由图 2 可知,荔枝草提取物与高车前苷对照品的红外光谱比较接近,但在特征骨架振动区域内有少量差别,如某些吸收峰出现了少量位移。对各组分进行拓扑学比较后发现两者峰形基本相似,说明其所含物质相同,只是在量上有所差异。根据荔枝草提取物红外图谱推断:3 400 cm^{-1} (—OH),2 930 cm^{-1} (—CH₂—、—CH₃),1 735 cm^{-1} (烷基醛),1 460 cm^{-1} (Ar),1 294 cm^{-1} (Ar—O—C),900 ~ 690 cm^{-1} (Ar)。综上分析,荔枝草有—OH、—CH₂—、—CH₃—、烷基醛、苯环、Ar—O—C、芳烃等官能团,表明荔枝草提取物为黄酮类物质高车前苷。在本研究中,荔枝草提取物为混合物体系,而红外吸收光谱图是多种物质光谱叠加

表 2 荔枝草中高车前苷提取工艺正交试验结果

试验号	A:温度	B:时间	C:次数	D:料液比	提取率 (g/kg)
1	1	1	1	1	1.26
2	1	2	2	2	1.21
3	1	3	3	3	1.16
4	2	1	2	3	1.38
5	2	2	3	1	1.32
6	2	3	1	2	1.35
7	3	1	3	2	1.25
8	3	2	1	3	1.23
9	3	3	2	1	1.19
k_1	3.63	3.89	3.84	3.77	
k_2	4.05	3.76	3.78	3.81	
k_3	3.67	3.7	3.73	3.77	
R	0.42	0.19	0.11	0.04	

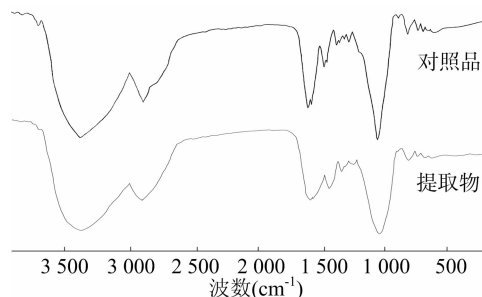


图2 高车前苷对照品和提取物的红外光谱

的最终结果,所以以上推断只能从整体上反映荔枝草可能的官能团组成,仍需采用其他分析手段进一步进行参照和对比。

2.3.2 HPLC 纯度分析结果 荔枝草中高车前苷保留时间为 27.2 min,高车前苷所占的峰面积比例为 98.2%,说明按照“1.2.2”节工艺路线荔枝草中高车前苷纯度在 98% 以上。

2.3.3 DPPH 活性检测结果 由图 3 可知,在 2 ~ 12 mg/L 范围内,4 种抗氧化剂的 DPPH 清除率与其浓度都呈线性关系;其中维生素 C: $Y = 11.76C - 1.048$, $r = 0.999$;高车前苷: $Y = 11.25C + 15.46$, $r = 0.995$;BHT: $Y = 2.171C - 0.933$, $r = 0.997$;维生素 E: $Y = 4.08x + 1.786$, $r = 0.996$ 。维生素 C、高车前苷、BHT 和维生素 E 对 DPPH 均有一定的清除作用,4 种抗氧化剂在 2 ~ 20 mg/L 浓度范围内的清除率 (Y) 随着抗氧化剂浓度的增大而增大。根据 4 种抗氧化剂的线性回归方程进行计算,维生素 C、高车前苷、BHT 和维生素 E 的 EC_{50} 分别为 4.34、3.07、23.46、11.82 mg/L;说明四种抗氧化剂清除自由基能力大小顺序为:高车前苷 > 维生素 C > 维生素 E > BHT。荔枝草高车前苷具有较强的抗氧化活性,对 DPPH 的清除率可

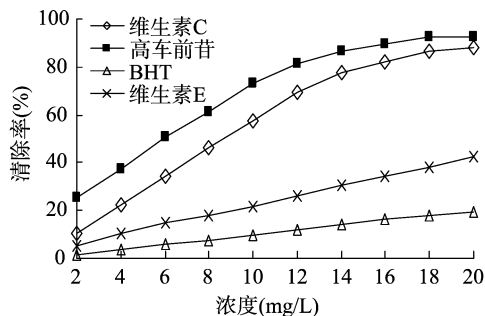


图3 DPPH 清除率曲线

杨月云,王小光,杨鹏坤,等. 超声波提取红玫瑰精油工艺优化[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):306-308.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.104

超声波提取红玫瑰精油工艺优化

杨月云,王小光,杨鹏坤,姜苗苗
(周口师范学院化学系,河南周口 466001)

摘要:采用超声波萃取法提取红玫瑰精油。在单因素试验基础上,运用正交试验设计对红玫瑰精油的提取工艺进行优化,考察了超声频率、料液比、原料粒度、超声萃取时间对红玫瑰精油提取率的影响。结果表明,影响红玫瑰精油提取率的因素从大到小依次为超声频率、原料粒度、超声波萃取时间、料液比;最佳优化工艺条件为超声频率 60 kHz、料液比 1 g:50 mL、原料粒度 80 目、超声波萃取时间 30 min,该条件下玫瑰精油得率可达 0.61%。

关键词:红玫瑰精油;超声波萃取;正交试验

中图分类号: R284.2;O657.63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0306-03

玫瑰精油是一种高级、昂贵的香料^[1-2],被誉为“精油皇后”,具有保湿、抑菌、延缓衰老的功效^[3],还有减压、安眠、抗抑郁等作用,被广泛应用于食品、化妆品、医药等行业。目前提取红玫瑰精油的方法有水蒸汽蒸馏法^[4-6]、有机溶剂萃取法^[7-8]、吸附提取法、超临界 CO₂ 萃取法等^[9]。水蒸汽蒸馏法用时较长,且挥发油在高温下容易分解;有机溶剂萃取法得到的精油杂质多且精油得率较低;超临界 CO₂ 萃取法对试验设备要求较高,投资较大^[10-11]。本研究采取超声波萃取法提取红玫瑰精油,并利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法对红玫瑰精油进行分析,以期对红玫瑰的综合利用提供理论依据。

收稿日期:2014-03-01

基金项目:周口师范学院青年科研基金(编号:zksyqn201320A);周口师范学院大学生科研创新基金(编号:zksydxs2013017)。

作者简介:杨月云(1983—),女,河南扶沟人,硕士,讲师,从事食品分析研究。E-mail:yueyunyang@163.com。

达到 90% 以上。

3 结论

在 5 种提取溶剂中,乙醇的提取效果最好,60% 乙醇在 60 ℃ 条件下提取 2 h,高车前苷提取率可达 0.123 g/kg。

最佳组合为 A₂B₁C₁D₂,即提取温度为 60 ℃、提取时间 2.0 h、提取 2 次、料液比为 1 g:12 mL,在此组合下高车前苷提取量为 1.41 g/kg。

荔枝草有—OH、—CH₂—、—CH₃—、烷基醛、苯环、Ar—O—C—芳烃等官能团,表明荔枝草提取物为黄酮类物质高车前苷,高车前苷纯度为 98.2%。

荔枝草提取物高车前苷对 DPPH 的 EC₅₀ = 3.07 mg/L,具有较强的抗氧化活性,对 DPPH 的清除率可达到 90% 以上。

参考文献:

[1]孔庆新.荔枝草保健茶的制作工艺研究[J].食品工业科技,

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂 玫瑰花采于河南省周口市商水县玫瑰花园,采摘后去梗茎洗净备用。

所用试剂均为分析纯,试验用水为去离子水。

1.1.2 仪器 超声波萃取仪(型号 KQ-500);真空干燥箱(型号 DZF-6020);电子天平(型号 FA1104N,品牌为梅特勒-托利多);气相色谱-质谱联用仪(型号 PolarisQ ITQ1100,品牌为美国赛默飞世尔)。

1.2 试验方法

玫瑰花瓣经 20% 盐水浸渍后干燥至恒重,将干燥后的花瓣剪成片状,用粉碎机粉碎,过筛得到不同粒度的花瓣颗粒。取预处理过的玫瑰花瓣颗粒 1 g 加入萃取剂,放入超声波萃取仪进行萃取,将萃取液过滤,在冰水浴中除去溶剂,用无水硫酸钠干燥后得到玫瑰精油,称质量后计算得率,计算方法如下:

2013,34(4):293-295,299.

[2]卢汝梅,杨长水,韦建华.荔枝草化学成分的研究[J].中草药,2011,42(5):859-862.

[3]葛婷婷,程建明. HPLC 测定荔枝草提取物中高车前苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(23):59-61.

[4]孔庆新,祝冬青.蚕豆衣中原花青素的提取与分析[J]. 食品科技,2009,34(12):258-260,264.

[5]彭苗苗,方芸,胡巍.荔枝草中高车前苷的提取分离和光谱色谱特征图谱的建立[J]. 现代中药研究与实践,2010,24(2):31-33.

[6]张源源,田友清,丁平.醇水法浸提荔枝草总黄酮的工艺研究[J]. 化工时刊,2010,24(2):31-34.

[7]王晓明,于娇,陈虹,等.不同采收期荔枝草中黄酮成分含量的动态变化研究[J]. 中国野生植物资源,2010,29(4):34-36,53.

[8]刘清,李玉,姚惠源.大麦提取物的体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2007,28(2):131-132,136.