

刘 彬,楚冬海. 超声波提取明日叶总黄酮的工艺研究[J]. 江苏农业科学,2016,44(2):338-339.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.099

# 超声波提取明日叶总黄酮的工艺研究

刘 彬, 楚冬海

(辽宁科技学院生物医药与化学工程学院, 辽宁本溪 117004)

**摘要:**研究了超声波提取明日叶总黄酮的最佳工艺。采用正交试验,以提取物中总黄酮得率为考察指标,优化提取工艺。试验设计的 4 因素中,提取时间对结果有极显著的影响,乙醇浓度对结果有显著的影响,提取功率和料液比对结果影响不显著。明日叶总黄酮的最佳提取工艺条件为:提取时间 25 min,乙醇浓度 80%,提取功率 60 W,料液比 1 g:20 mL。按照最佳提取工艺条件提取明日叶中的总黄酮,得率可达 1.56%。

**关键词:**明日叶;总黄酮;正交试验;超声波提取

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)02-0338-02

明日叶 (*Angelica keiskei* Koidzumi), 属伞形科 (Umbelliferae) 多年生草本植物,别称明日草、长寿草、还阳草,外形酷似芹菜,叶株高 50~150 cm,茎圆形,切开有黄色液体,叶互生,三出复叶,小叶掌状深裂或浅裂,细锯齿缘,种植 3 年后,夏季抽茎开花,花顶生,伞形花序,白色。明日叶性喜凉至温暖气候,忌高温高湿,生长室温为 12~22℃<sup>[1-2]</sup>。明日叶的主要成分有黄酮、香豆素、蛋白质、多种维生素及多种矿物元素<sup>[3-4]</sup>。原产于日本著名健康长寿之乡八丈岛,因其生命力强、生长快,有“今日摘叶,明日又长新芽之势”,故称为“明日叶”<sup>[5]</sup>。

明日叶具有抗人体衰老、抗溃疡、抗血栓、抗癌、降血压、降血脂、降血糖、降胆固醇的作用<sup>[6-7]</sup>。目前,国内对明日叶的开发尚处于初级阶段,对其总黄酮的提取工艺研究尚未见系统报道。在植物总黄酮提取工艺研究方面,与传统提取方法相比,超声波提取具有选择性高、快速高效、有效成分提取率较高、适于热不稳定物质的提取等优点。本试验利用超声波法对明日叶中黄酮的提取进行了研究,为其最佳提取工艺条件提供试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

明日叶地上部分茎叶(干燥)样品 0.5 kg,由辽宁省本溪市农业技术中心提供,经辽宁科技学院生药学专业葛会奇副教授鉴定为伞形科芹亚科当归属明日叶 (*Angelica keiskei* Koidzumi),粉碎并过 80 目筛备用。

### 1.2 仪器与试剂

主要仪器:721 型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)、旋转蒸发器(上海市亚荣生化仪器厂)、SHZ-D 循环水式真空泵(河南省巩义市英峪豫华仪器厂)、HH 数显恒

温电热恒温水浴锅(江苏省金坛市金城国胜实验仪器厂)、FW135 中药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)、KQ-300VDB 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

试剂:芸香苷对照品(中国食品药品检定研究院);无水乙醇、 $\text{AlCl}_3$ 、 $\text{NaNO}_2$ 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{NaOH}$ 、盐酸等试剂均为分析纯(天津市富宇精细化工有限公司)。

### 1.3 总黄酮含量测定方法

1.3.1 检测波长的选择和标准曲线的绘制 明日叶中主要有效成分为黄酮类化合物,因此试验选用芸香苷为对照品,用 1%  $\text{AlCl}_3$  显色,用分光光度法<sup>[8]</sup>对总黄酮含量进行测定。

精确量取 0.1 mg/mL 芸香苷对照品溶液 1.0 mL,置于 10 mL 容量瓶中,用体积分数 80% 的乙醇补足至 5 mL,加入 4 mL 1% 的  $\text{AlCl}_3$  溶液,用 80% 的乙醇定容,摇匀放置 10 min,在 200~600 nm 波长范围检测吸光度,确定其可见光区最大吸收波长为 409 nm。

分别精确量取 0.1 mg/mL 芸香苷标准品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,置于 10 mL 容量瓶中,按照上述操作,在 409 nm 波长条件下测定吸光度,以芸香苷对照品浓度( $x$ )为横坐标、吸光度( $y$ )为纵坐标进行线性拟合,得到线性方程  $y = 0.0271x + 0.0393$ ,  $r^2 = 0.9981$ ,检测限为  $1 \times 10^{-5}$   $\mu\text{g/mL}$ 。

1.3.2 样品的提取制备 精确称取明日叶地上部分茎叶粉末 2.5 g,共计 9 份,置于 250 mL 磨口三角瓶中,参照文献<sup>[9,11]</sup>,采用  $L_9(3^4)$  正交设计超声波提取,固定提取次数为 3 次,抽滤,合并 3 次滤液,减压蒸馏,回收乙醇,将提取液用一定浓度的乙醇定容至 250 mL,摇匀,作为待测样品溶液<sup>[10]</sup>。

1.3.3 样品总黄酮含量测定 精确量取供试品溶液 1.0 mL,用 1%  $\text{AlCl}_3$  在 409 nm 处按照标准曲线的测定方法和步骤测定吸光度。根据回归方程计算样品中总黄酮的含量和相应的提取率。

## 2 结果与分析

### 2.1 总黄酮提取方法的选择

考虑到同属植物当归总黄酮在乙醇中溶解度较好,提取时间为 3.5 h 的条件下溶出量较大<sup>[9-10]</sup>,故考察了明日叶的 2 种提取方法:

收稿日期:2015-03-26

基金项目:辽宁省教育厅科研项目(编号:L2014502)。

作者简介:刘 彬(1978—),女,研究方向为制药工程。

通信作者:楚冬海,研究方向为天然药物化学。E-mail:86092904@qq.com。

回流法:取明日叶粉末 5 g,用 30 倍量的 80% 乙醇提取 3 次,每次 1 h,抽滤,合并 3 次滤液。

超声波法:取明日叶粉末 5 g,用 30 倍量的 80% 乙醇浸泡 3 次,每次 20 min,抽滤,合并 3 次滤液。

用以上 2 种提取方法提取明日叶总黄酮,依次测定其中总黄酮得率,得出回流法提取总黄酮的含量高(表 1),但回流法操作时间长加热温度高,不利于总黄酮的结构稳定。故选用超声波法作为明日叶总黄酮的提取方法,并通过下面正交试验选择最佳提取条件。

表 1 不同提取方法总黄酮的含量比较

提取方法	总黄酮得率(%)
回流法	1.63
超声波法	1.38

2.2 总黄酮提取的正交试验

选择超声波法作为提取方法,选定乙醇浓度、料液比、提取功率、提取时间作为考察因素,每个因素取 3 个水平,固定提取次数为 3 次,选用  $L_9(3^4)$  正交表进行试验<sup>[11]</sup>。因素水平见表 2,以提取物中总黄酮的得率为考察指标,结果见表 3。

表 2 正交试验因素水平

水平	因素			
	A:乙醇浓度(%)	B:料液比(g/mL)	C:提取功率(W)	D:提取时间(min)
1	70	1:15	60	15
2	80	1:20	80	20
3	90	1:25	100	25

表 4 正交试验方差分析

方差来源	离差平方和 SS	自由度 df	方差 S	F	P
A	0.008 097 636	2	0.004 048 818	20.776 744 92	<0.05
B(误差)	0.000 389 745	2	0.000 194 873		
C	0.001 564 667	2	0.000 782 334	4.014 590 73	>0.05
D	0.042 161 976	2	0.021 080 988	108.178 312 1	<0.01

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00, F_{0.01}(2,2)=99.0$ 。

的含量比正交试验中的任何一次实验的得率都高,平均得率为 1.56%,RSD 为 0.883%。表明正交试验所得到的上述最佳条件为超声波法提取明日叶总黄酮的最佳工艺。

3 结论与讨论

利用超声波提取方法,设计了 4 因素 3 水平的正交试验,研究了 4 种因素对明日叶中总黄酮提取的影响,结果表明超声波提取技术与传统的回流法相比较具有提取时间短、总黄酮得率相近等优点。根据试验结果,最终确定提取工艺如下:提取时间为 25 min,乙醇浓度为 80%,提取功率为 60 W,料液比为 1 g:20 mL。

明日叶茎叶中含有黄酮类物质,本研究选用正交试验法优化试验条件,为天然黄酮类化合物的获得提供另一种可利用资源,同时也为明日叶药用成分的进一步开发利用提供依据。

参考文献:

[1] 孙 赫,钟进义,孟 扬,等. 明日叶查尔酮对小鼠肝癌细胞 PCNA 和 BCL-2 蛋白表达影响[J]. 现代生物医学进展,2011,11(9):1659-1662.

表 3  $L_9(3^4)$  正交试验设计以及结果

序号	A	B	C	D	提取物中总黄酮得率(%)
1	1	1	1	1	1.188 8
2	1	2	2	2	1.295 3
3	1	3	3	3	1.452 8
4	2	1	2	3	1.555 2
5	2	2	3	1	1.278 1
6	2	3	1	2	1.464 3
7	3	1	3	2	1.289 6
8	3	2	1	3	1.523 8
9	3	3	2	1	1.195 5
$k_1$	1.312 3	1.344 5	1.392 3	1.220 8	
$k_2$	1.432 5	1.365 7	1.348 7	1.349 7	
$k_3$	1.336 3	1.370 9	1.340 2	1.510 6	
R	0.120 2	0.026 3	0.052 1	0.289 8	

对于总黄酮的提取,通过直观分析,B 因素影响不显著,故以 B 因素作为误差进行方差分析,结果见表 4。

根据表 2 和表 3 可以看出乙醇用量、提取功率对指标影响不显著,乙醇浓度对指标有显著影响,极显著的因素为提取时间。由极差计算可知  $R_D > R_A > R_C > R_B$ ,因此,影响明日叶中总黄酮提取得率的各因素主次顺序为  $D > A > C > B$ 。分析各因素对总黄酮的综合影响,并考虑到提取成本,最佳提取方案为  $A_2B_2C_1D_3$ 。

2.3 最佳提取条件的验证

按照上述确定的最佳条件,做 5 次平行试验,得出总黄酮

[2] 樊 琛,曾庆华,王 会,等. 金银花总黄酮的提取[J]. 江苏农业科学,2014,42(10):255-256.

[3] 王亦敏. 明日叶中查耳酮的分离纯化工艺研究[J]. 中国民族民间医药,2011,20(1):53-54.

[4] 李晓芬,周学进,张公信,等. 大孔吸附树脂对竹叶兰中总黄酮的分离纯化[J]. 湖北农业科学,2011,50(14):2939-2942.

[5] 李盈蕾,陈建华,陈丽娟,等. 大孔吸附树脂纯化大米草总黄酮的研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(5):1182-1184.

[6] 陈燕芹,刘 红,蔡 丽. 蕨菜总黄酮的提取及抗氧化性[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):299-301.

[7] 杨庆利,毕 洁,禹山林,等. 应用大孔树脂纯化花生壳总黄酮[J]. 食品科学,2009,30(20):44-48.

[8] 刘 晨,刘安军,马艳弘,等. 蓝莓酒渣花色苷的超声波辅助提取工艺及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2015,43(1):242-247.

[9] 王芙蓉,吴冬青,安红钢,等. 当归总黄酮提取工艺及体外抗氧化性研究[J]. 中兽医医药杂志,2010,29(5):11-15.

[10] 郭晓青,吴金鸿,周焱富,等. 明日叶叶水溶性总黄酮提纯工艺[J]. 食品科学,2012,33(22):27-32.

[11] 魏元锋,刘新国,韩建伟,等. HP20 树脂纯化黄芩总黄酮的研究[J]. 湖北中医杂志,2007,29(2):50-51.