

少花龙葵茎总黄酮提取工艺及其抗氧化性研究

贤景春, 吴伟军

(泉州师范学院 化学与生命科学学院, 福建 泉州 362000)

摘要: 采用乙醇浸提法对 *Solanum photeinocarpum* 茎总黄酮的提取工艺及其抗氧化性能进行了研究, 探讨了溶剂浓度、温度、提取时间、料液比等因素对总黄酮含量提取的影响, 并采用正交实验对提取工艺进行优化。结果表明, 最佳提取工艺参数乙醇浓度为 40%, 提取温度为 80 °C, 时间为 1 h, 料液比 1:16 (g:mL)。在此条件下测得总黄酮含量为 4.39 mg/g, 提取物对羟自由基具有较好的清除效果。

关键词: 少花龙葵; 黄酮; 抗氧化性

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)04-0567-04

Extraction of total quantity flavone from *Solanum photeinocarpum* and its antioxidation activity

XIAN Jing-Chun, WU Wei-Jun

(College of Chemistry and Life Sciences, Quanzhou Normal College, Quanzhou 362000, China)

Abstract: Extraction of total quantity flavone from *Solanum photeinocarpum* and its antioxidation activity were studied. The method of extracting total quantity of flavone and the effect of concentration of menstruum, temperature, time, ratio of material to liquid discussed. Meanwhile, the best conditions for extraction were chosen after complete orthogonal analysis. The best parameters are 40% ethanol as extractant, temperature on 80 °C, extraction time by 1h, ratio of material to liquid on 1:16. In this case, the rate of extraction reached up to 4.39 mg/g. The extraction of *S. photeinocarpum* had the strong antioxidative effect on scavenging hydroxyl radical.

Key words: *Solanum photeinocarpum*; flavone; antioxidation activity

少花龙葵, 别名白花菜, 为茄科植物, 生长于山野、荒地和田间, 我国南方和北方都有分布。少花龙葵含有酚类、鞣质、生物碱、萜类内酯、糖及其苷类、氨基酸、蛋白质、皂苷和生物碱等(段志芳等, 2008)。具清热解毒、利尿散血消肿之功, 常用于痢疾、淋证、目赤、喉痛、疔疮等(邓汝铭等, 1999)。

龙葵中含有黄酮类化合物, 但对其黄酮提取的系统性研究目前还没有相关报道。黄酮具降低血管, 改善血管的通透性, 也可用于防治老年性高血压和脑溢血、抗肿瘤、有抗癌、免疫调节、降血糖、抗氧化、抗衰老、抗辐射等作用(黄兴贤等, 2011; 姜国芳

等, 2004)。本文以乙醇浸提法研究了少花少花龙葵黄酮最佳提取的工艺条件及其对羟自由基的清除作用, 为少花龙葵的开发和应用提供一定理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

少花龙葵(采自泉州师范学院山上); 芦丁(中国药品生物制品检定所); 硝酸铝(天津市水大化学试剂开发中心); 七水合硫酸亚铁(汕头市西陇化工有限公司); 亚硝酸钠、3%双氧水(上海联试化工试剂有限公

* 收稿日期: 2011-11-26 修回日期: 2012-04-18

基金项目: 泉州市科技计划项目(2007N4)[Supported by Quanzhou Science and Technology Planning Project(2007N4)]

作者简介: 贤景春(1955-), 女, 教授, 吉林镇赓人, 主要从事配位化学研究, (E-mail) xjc019@yahoo.com.cn.

司)。721E型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.2 总黄酮含量的测定

1.2.1 样品的浸提 将少花龙葵洗净晾干后取其茎,在60℃下烘干,粉碎,过60目。准确称取处理好的上述粉末1.00g,按照实验条件进行浸提,再对浸提后的样品进行冷却抽滤,残渣用乙醇溶液洗涤且与滤液合并,用乙醇溶液定容于50mL的容量瓶中备用。

1.2.2 标准工作曲线的制作 用移液管分别准确吸取0.10mg/mL的芦丁对照液0.00、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00mL于10.00mL容量瓶中,分别加入0.3mL5%亚硝酸钠溶液,摇匀,静置6min;再加入0.3mL10%硝酸铝溶液,摇匀,静置6min;再加入4.00mL4%氢氧化钠溶液,用乙醇溶液定容至刻度,摇匀,静置12min,以试剂作空白,于510nm处测吸光度。回归方程: $Y = -0.00467 + 12.90102X$, $R^2 = 0.9991$ 。

1.2.3 总黄酮测定方法 由于黄酮类物质能与铝离子生成紫红色络合物,以蒸馏水为空白组,采用可见分光光度法测定其含量(李胜华等,2008)。从浸提液中用移液管量取1mL于10mL的容量瓶,向其加入0.3mL的NaNO₂溶液,静置6min,再加入0.3mL的Al(NO₃)₃溶液静置6min,最后加入4mLNaOH溶液静置12min后,在510nm处测其吸光度A。

1.2.4 提取条件优化 对植物黄酮提取,不同条件下测得的提取率不同,影响因素较多。在提取过程中,主要考虑了溶剂浓度、提取温度、提取时间和料液比4个主要因素。确定适宜水平后,进行正交试验,对提取条件进一步优化,确定最佳提取工艺(王敏等,2006)。

表1 因素水平表

Table 1 Factor and level of experiment

水平 Level	A 浓度 Concentration (%)	B 温度 Temperature (°C)	C 时间 Time (min)	D 料液比 Ratio of material to liquid (g : mL)
1	30	60	60	1 : 12
2	40	70	90	1 : 16
3	50	80	120	1 : 20

1.2.5 抗氧化性试验 参照Fenton反应的方法(林丹英等,2007),在10mL的容量瓶中依次加入9mmol/L的硫酸亚铁,8.8mmol/L双氧水,9mmol/L的水杨酸—乙醇溶液各1mL,加蒸馏水定

容,并在37℃的超级恒温槽恒温15min,取出在510nm处测吸光度A₀。取5个同样为10mL的容量瓶,依次分别加入9mmol/L的硫酸亚铁,8.8mmol/L双氧水,9mmol/L的水杨酸—乙醇溶液各1mL,再分别加入0.5、1、1.5、2、2.5mL的少花龙葵茎提取液,加蒸馏水定容至10mL,在37℃恒温15min,在510nm处测吸光度A_x。清除率=(A₀-A_x)/A₀×100%。

2 结果与分析

2.1 乙醇浓度对黄酮提取的影响

用40%、50%、60%、70%、80%的乙醇溶液,在温度为60℃,料液比为1:15(g:mL),浸提90min,乙醇浓度对黄酮提取的影响如图2所示。由图可知,随着乙醇浓度的提高,黄酮含量是先增加后减小,当乙醇浓度为40%时出现峰值,较适浓度范围为30%~50%。

2.2 料液比对黄酮提取的影响

料液比为1:8、1:12、1:16、1:20、1:24g/mL,温度为60℃,乙醇浓度为50%,时间90min,料液比对黄酮提取的影响如图2所示。随着料液比的提高,黄酮提取量先增加后减小,在料液比为1:12时出现了最大值。

2.3 提取时间对黄酮提取的影响

在温度为60℃,乙醇浓度50%,料液比为1:15,提取30、60、90、120、150min。提取时间对黄酮提取量的影响如图1所示。随着提取时间的延长,黄酮提取量先增加后减小,在提取时间为90min时最大值。

2.4 温度对黄酮提取的影响

在乙醇浓度50%,料液比为1:15,时间为90min,温度为40、50、60、70、80℃的条件下提取,温度对黄酮提取的影响见图1。可以看出,随着提取温度的提高,总黄酮的提取量先增加后减小,在提取温度为70℃时为最大。

2.5 正交试验结果

正交试验结果见表2。从表2可看出,不同因素对总黄酮提取影响的大小顺序是:C(时间)>B(温度)>D(料液比)>A(乙醇浓度)。最佳工艺是:A₂B₃C₁D₂,乙醇浓度40%,温度80℃,提取时间60min,料液比1:16。为了考察最佳条件的可靠性和合理性,在此条件下,进行三组平行实验,测得黄酮

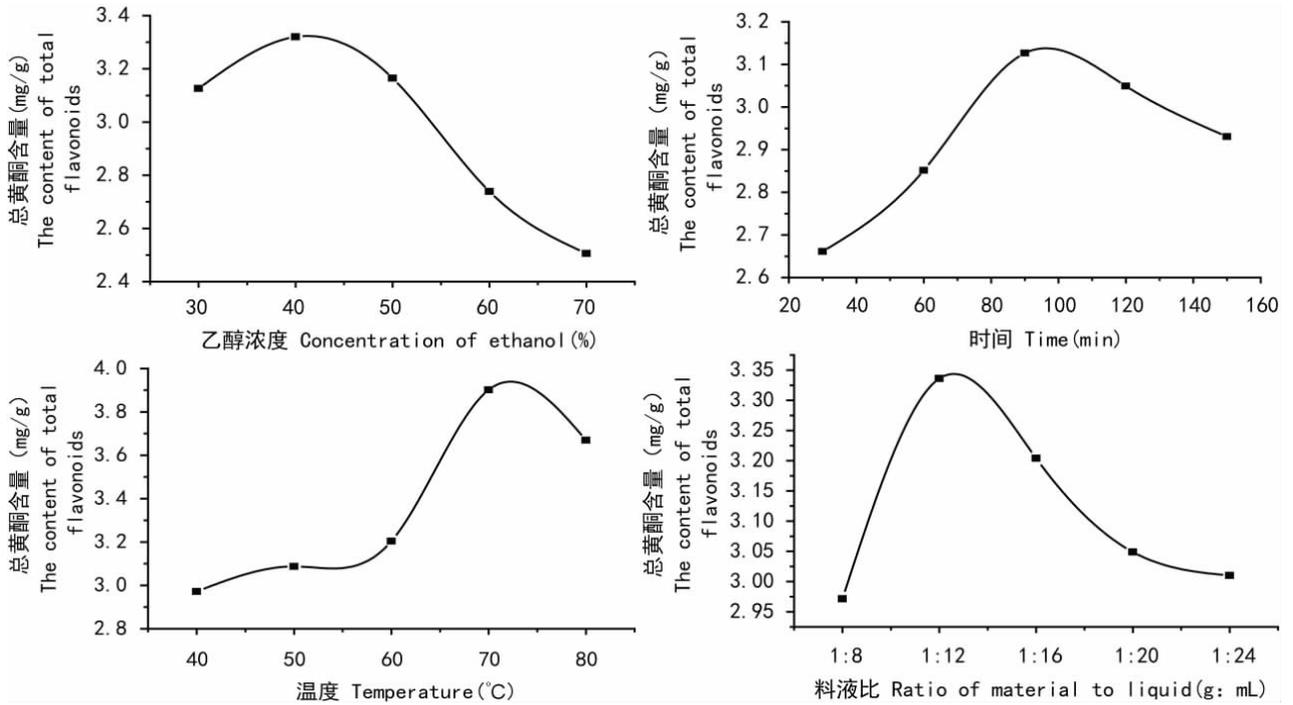


图 1 浓度、时间、温度、料液比对黄酮提取的影响

Fig. 1 Effects of ethanol concentration, time, temperature and rate of solid to solution on total flavone extraction

表 2 正交试验结果

Table 2 The result of the orthogonal test for extraction

编号 No.	A	B	C	D	黄酮含量 Content of flavonoids (mg/g)
1	1	1	1	1	4.289
2	1	2	2	2	4.057
3	1	3	3	3	3.785
4	2	1	2	3	3.979
5	2	2	3	1	3.747
6	2	3	1	2	4.522
7	3	1	3	2	3.747
8	3	2	1	3	3.783
9	3	3	2	1	4.250
K ₁	12.131	12.051	12.594	12.286	
K ₂	12.248	11.587	12.286	12.326	
K ₃	11.780	12.557	11.279	11.547	
k ₁	4.044	4.017	4.198	4.095	
k ₂	4.083	3.862	4.095	4.109	
k ₃	3.927	4.186	3.760	3.849	
R	0.156	0.324	0.438	0.260	

平均提取量为 4.392 mg, 优化结果比较理想。

2.6 对羟基自由基的清除作用

按照 1.2.5 的方法测定了提取物对羟基自由基的清除作用, 结果见图 2。当黄酮浓度为 0.0228 mg/mL 时, 清除率可达 70.30%, 说明清除能力较强, 比一般的二色补血草花、大蓟刺儿菜花高, 与金色补血草花、大蓟刺儿菜花要高些(吴冬青等, 2008)。

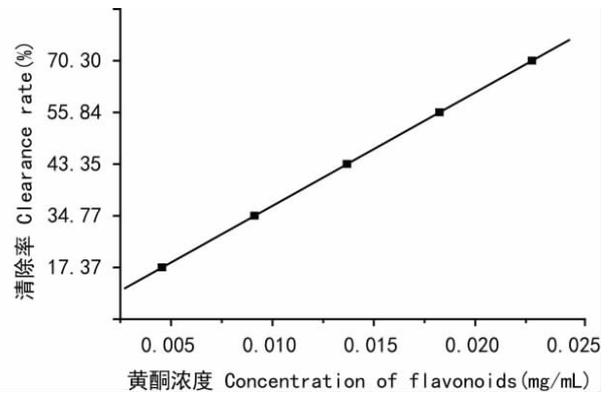


图 2 少花龙葵提取物对自由基的清除效果

Fig. 2 Scavenging effect of *Solanum photeinocarpum* extraction on hydroxyl radical

3 结论

本研究表明, 少花龙葵中含有较多的黄酮类化合物。浓度、温度、时间和料液比对黄酮提取均有较大影响。影响的大小顺序为: 时间 > 温度 > 料液比 > 乙醇浓度。最佳工艺是: 乙醇浓度 40%, 温度 80°C, 提取时间 60 min, 料液比 1:16。少花龙葵茎提取物的抗氧化性进行证实, 该植物对羟基自由基有很好的清除作用, 进一步为少花龙葵可作为新的天然植物药用资源提供了科学依据。

参考文献:

- 邓汝铭, 黄瑞松, 苏青, 等. 1999. 少花龙葵的生药研究[J]. 广西中医药, 5(22): 44-47
- Duan ZF(段志芳), Huang LH(黄丽华). 2008. Research on the chemical components and their inhibition on nitrosation of the extracts from *Solanum photeinocarpum* Nakamura et Odashima(少花龙葵化学成分预试及抑制亚硝化反应研究)[J]. *Lishizhen Med & Mat Med Res* (时珍国医国药), 19(8): 1 992-1 994
- Huang XX(黄兴贤), Zou R(邹蓉), Hu XH(胡兴华), et al. 2011. Comparison of total flavonoids content in 14 species of *Camellia* sect. *Chrysantha*(十四种金花茶组植物叶总黄酮含量比较)[J]. *Guihaia*(广西植物), 31(2): 281-284
- Huang SY(黄锁义), Li HN(黎海妮), Yu ML(余美料), et al. 2005. Extraction and distinguishing of the total flavone from *Leonurus*(益母草总黄酮的提取及鉴别)[J]. *Lishizhen Med & Mat Med Res* (时珍国医国药), 16(5): 398-399
- Jiang GF(姜国芳), Xie ZB(谢宗波), Le CG(乐长高). 2004. Advanced research on flavonoids in *Ginkgo biloba* leaves(银杏叶黄酮类化合物的研究进展)[J]. *Lishizhen Med & Mat Med Res* (时珍国医国药), 15(5): 306-308
- Li SH(李胜华), Wu XJ(伍贤进), Yu JP(郁建平), et al. 2008. Study on extraction technics and content variety trends of total flavonoids in *Lithocarpus polystachyus* Rehd(多穗柯总黄酮提取工艺及其含量动态变化研究)[J]. *Food Sci* (食品科学), 29(6): 139-141
- Lin DY(林丹英), You TT(尤婷婷), Huang SY(黄锁义). 2007. Extracting of total flavanone from *Chrysanthemi coronarii* Herba and its effects on scavenging of hydroxyl radicals(茼蒿总黄酮提取及对羟自由基清除作用)[J]. *Chin Wild Plant Res* (中国野生资源), 26(5): 57-59
- Wang ZJ(王自军), Deng H(邓红). 2004. Extraction and determination of total flavonoids in herbal *Lophatheri*(淡竹叶中总黄酮的提取与含量测定)[J]. *Gansu J Trad Chin Med* (甘肃中医), 17(7): 35-36
- Wang M(王敏), Gao JM(高锦明), Wang J(王军), et al. 2006. Extracting technology of total flavones in powder of *Fagopyrum tataricum* stem and leaf by enzymatic treatment(苦荞茎叶粉中总黄酮酶法提取工艺研究)[J]. *Chin Herbal Med* (中草药), 37(11): 1 645-1 648
- Wu DQ(吴冬青), An HG(安红钢), Qi Y(齐亚), et al. 2008. Study on extract method of flavonoids from flowers of nine omcinal plants and their ability on scavenging hydroxyl radicals(九种药用植物花黄酮类物质提取及对羟自由基清除能力的研究)[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 20: 514-517
- (上接第 515 页 Continue from page 515)
- Chen XY(陈晓远), Gao ZH(高志红), Liu ZH(刘振华). 2009. Effects of nitrogen forms and water stress on growth and nitrogen accumulation and distribution of rice plants(供氮形态和水分胁迫对水稻生长及氮素积累和分配的影响)[J]. *Acta Agric Boreal Sin* (华北农学报), 24(6): 116-122
- Chen XY(陈晓远), Luo YP(罗远培), Shi YC(石元春). 1998. The response of crops to water stress(作物对水分胁迫的反应)[J]. *Ecol Agric Res* (生态农业研究), 6(4): 12-15
- Cui YL(崔运来), Li YH(李远华), Yu F(余峰). 2001. High efficiency water and nitrogen management in paddy rice(水稻高效利用水肥试验研究)[J]. *Irrig & Drain* (灌溉排水), 20(1): 20-24
- Gu SL(顾世梁), Zhu QS(朱庆森), Yang JC(杨建昌), et al. 2001. Analysis on grain filling characteristics for different rice types(不同水稻材料籽粒灌浆特性的分析)[J]. *Acta Agron Sin* (作物学报), 27(1): 7-14
- Hu JM, Jiang LG, Xu SH, et al. 2011. Post-anthesis translocation, accumulation and remobilization of dry matter and grain growth characteristics in high quality indica rice[J]. *J Southern Agric*, 42(1): 16-21
- Liang YC(梁永超), Hu F(胡锋), Yang MC(杨茂成). 1999. Mechanisms of high yield and irrigation water use efficiency of rice in plastic film mulched dryland(水稻覆膜旱作高产节水机理研究)[J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 32(1): 26-32
- Liu XJ(刘小军), Cao J(曹静), Li YD(李艳大), et al. 2010. A knowledge model for precision water management in rice(水稻水分精确管理的知识模型研究)[J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 43(8): 1 571-1 576
- Qin HD(秦华东), Xiao QZ(肖巧珍), Liang TH(梁天锋), et al. 2011. Effect of different moisture management modes on root growth characteristics of cast transplanting rice in seedling standing period under no-tillage(不同水分管理模式下免耕抛秧水稻立苗期根系生长特性)[J]. *Guihaia*(广西植物), 31(5): 636-640
- Sheng HJ(盛海君), Shen QR(沈其荣), Zhou CL(周春霖). 2003. Yield and quality of rice cultivated in upland soil(旱作水稻产量和品质的研究)[J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 26(4): 13-16
- Tadashi T, Takeshi H, Masao O. 1996. Filling percentage of rice spikelets as affected by availability of non-structural carbohydrates at the initial phase of grain filling[J]. *Jpn J Crop Sci*, 65(3): 445-452
- Tardieu F, Davies WJ. 1993. Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants[J]. *Plant Cell & Environ*, 16: 341-349
- Yang JC(杨建昌), Wang W(王维), Wang ZQ(王志琴), et al. 2000. The characteristics of water requirement and water-saving irrigation indices of dry-raised rice seedlings in paddy field(水稻旱秧大田期需水特性与节水灌溉指标研究)[J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 33(2): 34-42
- Zhang RP(张荣萍), Ma J(马均), Wang HZ(王贺正), et al. 2008. Effects of different irrigation regimes on some physiology characteristics and grain yield in paddy rice during grain filling (不同灌水方式对水稻结实期一些生理性状和产量的影响)[J]. *Acta Agron Sin* (作物学报), 34(3): 486-4
- Zhong LJ(钟连进), Cheng FM(程方民). 2003. Varietal differences in amylose accumulation and activities of major enzymes associated with starch synthesis during grain filling in rice(水稻籽粒灌浆过程直链淀粉的积累及其相关酶的品种类型间差异)[J]. *Acta Agron Sin* (作物学报), 29(3): 452-456
- Zhu QS(朱庆森), Cao XZ(曹显祖), Luo YQ(骆亦其). 1988. Growth analysis in the process of grain filling in rice(水稻籽粒灌浆的生长分析)[J]. *Acta Agron Sin* (作物学报), 14(3): 182-192