

竹叶提取工艺的综合性评价

张永, 冯语婷, 马宁辉, 张彤, 王冰, 丁越*

(上海中医药大学 中药学院, 教学实验中心, 上海 201203)

[摘要] **目的:**建立竹叶的指纹图谱及其多指标成分的含量测定方法,采用主成分分析(PCA)和聚类分析对6种竹叶提取物的特征图谱进行综合性评价。**方法:**采用 Diamonsil Plus C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.025% 甲酸水溶液-乙腈梯度洗脱,流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,检测波长 350 nm,进样量 10 μL。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)和 SPSS 22.0 软件对6种竹叶提取物样品的监测结果进行分析。**结果:**6种竹叶提取物样品中4种成分(绿原酸、异荭草苷、荭草苷、异牡荆素)的质量浓度分别为 0.08~0.30, 0.24~1.64, 0.26~0.79, 0.16~0.79 g·L⁻¹。HPLC 指纹图谱共标定了11个共有峰,样品 S1~S6 的指纹图谱相似度均 > 0.89。聚类分析将6种竹叶提取工艺聚为3类;PCA 提取出了2个主成分,其累计贡献率达 98.9%。**结论:**6种竹叶提取物中绿原酸、异荭草苷、荭草苷和异牡荆素的含量差异性较大。聚类分析和 PCA 相互补充、互为佐证,二者与竹叶提取工艺指纹图谱的相似度评价相结合可用于竹叶提取工艺的优化,可为竹叶的工业开发提供参考。

[关键词] 竹叶; 提取工艺; 主成分分析; 聚类分析; 指纹图谱; 绿原酸; 碳苷黄酮

[中图分类号] R22;R283.6;R284;R94 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)17-0027-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181605

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180523.1612.019.html>

[网络出版时间] 2018-05-24 10:41

Synthetical Evaluation for Extraction Technology of Bamboo Leaves

ZHANG Yong, FENG Yu-ting, MA Ning-hui, ZHANG Tong, WANG Bing, DING Yue*

(*Experimental Center for Teaching and Learning, School of Pharmacy,*

Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the methods of HPLC fingerprint and quantitative determination of multi-components of bamboo leaves, the synthetical evaluation for six extraction technologies of bamboo leaves were developed by principal component analysis and hierarchical cluster analysis. **Method:** The optimal conditions of separation and detection were achieved on Diamonsil Plus C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with linear gradient elution of acetonitrile-0.025% formic acid water solution at a flow rate of 1 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 350 nm, the column temperature was 30 ℃. Similarity Evaluation System of Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (2012 edition) and SPSS 22.0 were used to analyze the data. **Result:** The content ranges of 4 components (chlorogenic acid, isoorientin, orientin, isovitexin) in six bamboo leaves extract were 0.08-0.30, 0.24-1.64, 0.26-0.79, 0.16-0.79 g·L⁻¹, respectively. A total of 11 common peaks were identified in the HPLC fingerprint and the similarities of the six extract were all > 0.89. Six extraction technologies of bamboo leaves were divided into 3 categories according to hierarchical cluster analysis. Two principal components were extracted, whose cumulative contribution rate was 98.9%. **Conclusion:** The contents of chlorogenic acid, isoorientin, orientin and isovitexin in six bamboo leaves extract have a great difference.

[收稿日期] 20171204(007)

[基金项目] 国家中医药管理局中药重点产品行业标准制定计划项目(ZYY-2017-131)

[第一作者] 张永, 硕士, 实验师, 从事中药质量标准与代谢研究, Tel:021-51322332, E-mail: zhangyong_zhongyao@126.com

[通信作者] * 丁越, 博士, 高级实验师, 从事中药制剂技术与中药制剂研究, Tel:021-51322325, E-mail: dingyue-2001@hotmail.com

Hierarchical cluster analysis and principal component analysis complement and support each other, combining with the similarity evaluation, which can be applied to the optimization of extraction technology of bamboo leaves. Meanwhile, the research can provide reference for industrial development of bamboo leaves.

[Key words] bamboo leaves; extraction technology; principal component analysis; cluster analysis; fingerprint; chlorogenic acid; flavonoid C-glycosides

竹叶在我国具有悠久的药用和食用历史,属于清热解毒药^[1]。竹叶资源丰富,广泛分布于我国长江流域以南地区。近年来有研究表明,竹叶中含有丰富的黄酮及其苷类,活性多糖类,特种氨基酸及其肽类,以醛、醇为主的芳香成分以及富含人体必需的 Fe, Ca, Si 等常量元素和 Mn, Cu, Mo, V, Ni 等微量元素,应用价值较大^[2-3]。竹叶作为我国一类新开发的天然植物资源,具有抗氧化^[4]、抗炎^[5]、抗菌^[6]及降血脂^[7]等生物学功效,且不含有任何有害成分和抗营养因子,现代社会常以竹叶为原料开发各种饮料和功能性产品^[8]。

竹叶提取物中的有效成分主要包括黄酮类和酚酸类。其中黄酮类化合物主要为荭草苷、异荭草苷、异牡荆素和牡荆素,酚酸类化合物则以绿原酸、香豆酸等为代表^[9]。黄酮类是竹叶中主要功能性成分,并以碳苷黄酮为主。目前,竹叶的提取方法各种各样^[10-14],如何合理选择并评价其工艺值得探索。本实验拟采用不同工艺制备竹叶提取物,建立 HPLC 测定不同样品中绿原酸、异荭草苷、荭草苷和异牡荆素含量的方法,运用相似度评价、主成分分析和聚类分析对不同样品的特征图谱进行分析,为竹叶的提取工艺优化提供参考。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), TDL-50B 型离心机(上海安亭科学仪器厂), BSA124 型电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司], THZ-92B 型气浴恒温振荡器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)。

竹叶药材(批号 17032401)购于浙江长兴县煤山镇竹叶基地,经上海中医药大学教学实验中心丁越高级实验师鉴定为禾本科植物毛竹 *Phyllostachys pubescens* 的干燥叶子;绿原酸、荭草苷、异荭草苷和异牡荆素对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 YM0524SA13, Y24J7K16725, YO1023SA13, YM0506HA14, 纯度均 > 98%), α -淀粉酶(国药集团化学试剂有限公司,批号 20160323), 纤维素酶(宁夏和氏璧生物技术有限公司), 水为屈臣氏蒸馏水, 甲醇、甲酸和乙腈为色谱

纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品的制备^[15-20]

2.1.1 水煎煮工艺 取竹叶粉末(过 4 号筛,下同)适量,加 8 倍量水浸泡 0.5 h,煎煮 2 次,每次 1.5 h,过滤,合并滤液并水浴浓缩至 $3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (以生药量计,下同),得样品 S1。

2.1.2 乙醇回流工艺 取竹叶粉末适量,加 8 倍量 66.7% 乙醇浸泡 0.5 h,回流提取 2 次,每次 1.5 h,过滤,合并滤液并减压浓缩至 $3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,得样品 S2。

2.1.3 水提醇沉工艺 取样品 S1 适量,加入一定量 95% 乙醇,使浓缩液乙醇体积分数达 70%,搅拌均匀,静置过夜,过滤,减压浓缩至 $3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,得样品 S3。

2.1.4 纤维素酶酶解工艺 取竹叶粉末适量,加 4 倍量 66.7% 乙醇浸泡 6 h,加入 4 倍量水和 $500 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 纤维素酶,于 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡 24 h(温度设定 $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$,下同),停止后静置 6 h,过滤,减压浓缩至 $3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,得样品 S4。

2.1.5 α -淀粉酶酶解工艺 取竹叶粉末适量,加 4 倍量 66.7% 乙醇浸泡 6 h,加入 4 倍量水和 $500 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ α -淀粉酶,于 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡 24 h,停止后静置 6 h,过滤,减压浓缩至 $3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,得样品 S5。

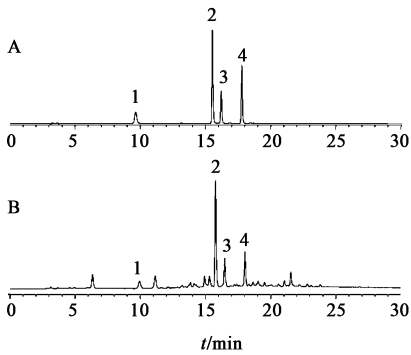
2.1.6 纤维素酶和 α -淀粉酶酶解工艺 取竹叶粉末适量,加 4 倍量 66.7% 乙醇浸泡 6 h,加入 4 倍量水和 $500 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 纤维素酶,于 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡 24 h,停止后静置 6 h,过滤,在滤渣中加入与滤出液等量的 30% 乙醇和 $500 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ α -淀粉酶,于 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡 24 h,停止后静置 6 h,过滤,减压浓缩至 $3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,得样品 S6。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸、异荭草苷、荭草苷、异牡荆素对照品适量,分别置于不同的 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度分别为 1.511, 2.487, 1.124, 1.815 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品储备液。精密量取上述对照品储备液各 1.0 mL,置同一 10 mL 量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取竹叶粉末 1.0 g,精密

称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,加入 80% 乙醇 25 mL,超声提取 30 min,取出放冷,3 000 r·min⁻¹离心 3 min,上清液加水稀释 1 倍,以 15 000 r·min⁻¹离心 10 min,上清液过滤,取续滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。取样品 S1 ~ S6 各 0.5 mL,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,静置,取上清液,3 000 r·min⁻¹离心 3 min,上清液加水稀释 1 倍,15 000 r·min⁻¹离心 10 min,上清液过滤,取续滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 色谱条件和系统适应性 Diamonsil Plus C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.025% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 5 min, 10% B; 5 ~ 30 min, 10% ~ 40% B),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 350 nm,进样量 10 μL。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 绿原酸; 2. 异荭草苷; 3. 荭草苷; 4. 异牡荆素

图1 样品 S2 的 HPLC 色谱

Fig.1 HPLC chromatogram of sample S2

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系考察 取混合对照品溶液适量,依次稀释成 8 个不同质量浓度,按 2.4 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得绿原酸、异荭草苷、荭草苷、异牡荆素的回归方程分别为 $Y = 12\ 157X - 2.381$ ($r = 1.000$), $Y = 30\ 701X + 6.155$ ($r = 1.000$), $Y = 25\ 967X + 0.645$ ($r = 1.000$), $Y = 26\ 350X + 6.669$ ($r = 1.000$), 线性范围依次为 1.2 ~ 151.1, 1.9 ~ 248.7, 0.9 ~ 112.4, 1.4 ~ 181.5 mg·L⁻¹。

2.5.2 日内精密性 分别取高、中、低 3 种不同质量浓度的混合对照品溶液,按 2.4 项下色谱条件连续测定 6 次,结果绿原酸、异荭草苷、荭草苷、异牡荆素峰面积的 RSD 0.1% ~ 0.9%。

2.5.3 日间精密性 分别取高、中、低 3 种不同质量浓度的混合对照品溶液,按 2.4 项下色谱条件每天进样 1 次,连续进样 6 d,结果绿原酸、异荭草苷、

荭草苷、异牡荆素峰面积的 RSD 1.4% ~ 4.7%。

2.5.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.4 项下色谱条件测定,结果绿原酸、异荭草苷、荭草苷、异牡荆素峰面积的 RSD 0.1% ~ 1.3%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.5 重复性试验 精密称取同批竹叶粉末 6 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.4 项下色谱条件测定,结果绿原酸、异荭草苷、荭草苷、异牡荆素的质量分数分别为 0.043%, 0.112%, 0.040% 和 0.044%, RSD 0.5% ~ 4.5%,表明该方法重复性良好。

2.5.6 加样回收试验 在已知指标成分含量的竹叶粉末样品中精密加入低、中、高 3 个不同质量的绿原酸、异荭草苷、荭草苷和异牡荆素对照品 ($n = 3$),按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.4 项下色谱条件测定,计算回收率,见表 1。

2.6 样品的测定 取样品 S1 ~ S6 的供试品溶液,按 2.4 项下色谱条件测定,见表 2。结果显示不同样品中绿原酸、异荭草苷、荭草苷和异牡荆素的含量存在较大差异。6 种竹叶提取工艺在提取碳苷黄酮成分时,其成分含量排序为 S6 > S2 > S4 > S5 > S1 > S3,样品 S2, S4, S5 和 S6 可聚为 I 类;样品 S1 和 S3 可聚为 II 类。绿原酸含量排序为 S5 > S4 > S6 > S2 > S1 > S3,也可将 6 种工艺划分为 2 类,其中样品 S2, S4, S5 和 S6 可聚为 I 类;样品 S1 和 S3 可聚为 II 类。综上分析,可将 6 种竹叶提取工艺划分为两大类, I 类包括酶解工艺(样品 S4, S5 和 S6)和乙醇回流工艺(S2),能够较好地提取碳苷黄酮或绿原酸。II 类包括水煎煮工艺(S3)和水提醇沉工艺(S3),仅能够提取少量碳苷黄酮或绿原酸。

2.7 指纹图谱的建立及综合性评价

2.7.1 共有峰的确定 将 6 个不同样品的 HPLC 分别以 AIA 格式导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版),设定样品 S2 色谱图为参照图谱,对保留时间的色谱峰进行多点校正,自动匹配,时间宽度 0.1 min,经系统自动匹配,生成对照指纹图谱 R。利用数据匹配功能,样品 S1 ~ S6 在对照指纹图谱上标定了 11 个共有指纹峰(占总峰面积 90% 以上)。11 个特征峰分离度良好,具有指纹图谱特征且能够较全面地反映竹叶质量,故拟定为竹叶工艺比较的活性成分群。通过与对照品比对,发现有 4 个成分在各样品图谱中均有发现,保留时间与对照品的保留时间均一致,故确定 2 号峰为绿原

表 1 绿原酸、异荭草苷、荭草苷、异牡荆素的加样回收试验

Table 1 Recovery tests of chlorogenic acid, isoorientin, orientin and isovitexin in bamboo leaves

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
绿原酸	0.213 5	0.158 7	0.378 8	104.16	103.23	0.7
	0.213 3	0.158 7	0.378 8	104.28		
	0.213 9	0.158 7	0.378 8	103.91		
	0.213 7	0.220 9	0.441 8	103.26		
	0.213 8	0.220 9	0.441 8	103.21		
	0.213 9	0.220 9	0.441 8	103.17		
	0.213 8	0.238 0	0.457 2	102.27		
	0.213 4	0.238 0	0.457 2	102.44		
	0.213 5	0.238 0	0.457 2	102.39		
	异荭草苷	0.560 0	0.543 0	1.107 1	100.76	98.22
0.559 4		0.543 0	1.107 1	100.87		
0.561 0		0.543 0	1.107 1	100.57		
0.560 5		0.567 8	1.120 3	98.59		
0.560 8		0.567 8	1.120 3	98.54		
0.561 1		0.567 8	1.120 3	98.49		
0.560 9		0.678 6	1.207 5	95.28		
0.559 6		0.678 6	1.207 5	95.48		
0.560 0		0.678 6	1.207 5	95.42		
红草苷		0.201 7	0.170 2	0.376 7	102.82	102.12
	0.201 5	0.170 2	0.376 7	102.94		
	0.202 1	0.170 2	0.376 7	102.59		
	0.201 9	0.205 4	0.415 6	104.04		
	0.202 0	0.205 4	0.415 6	103.99		
	0.202 1	0.205 4	0.415 6	103.94		
	0.202 1	0.275 9	0.472 6	98.04		
	0.201 6	0.270 0	0.472 6	100.37		
	0.201 7	0.270 0	0.472 6	100.33		
	异牡荆素	0.223 2	0.195 9	0.421 5	101.23	99.55
0.223 0		0.195 9	0.421 5	101.33		
0.223 6		0.195 9	0.421 5	101.02		
0.223 4		0.222 0	0.450 4	102.25		
0.223 5		0.222 0	0.450 4	102.21		
0.223 6		0.222 0	0.450 4	102.16		
0.223 6		0.261 2	0.472 1	95.14		
0.223 1		0.261 2	0.472 1	95.33		
0.223 2		0.261 2	0.472 1	95.29		

表 2 6 种竹叶提取物中指标成分的含量测定

Table 2 Determination of 4 components in six bamboo leaves extract

样品	绿原酸	异荭草苷	荭草苷	异牡荆素
S1	0.080 1	0.263 4	0.304 8	0.203 7
S2	0.155 7	1.482 3	0.788 7	0.769 5
S3	0.069 0	0.237 9	0.260 7	0.163 8
S4	0.295 2	1.406 7	0.563 4	0.639 6
S5	0.302 4	1.419 0	0.542 7	0.641 7
S6	0.283 2	1.641 0	0.715 8	0.787 8

适宜,故选为参照峰。

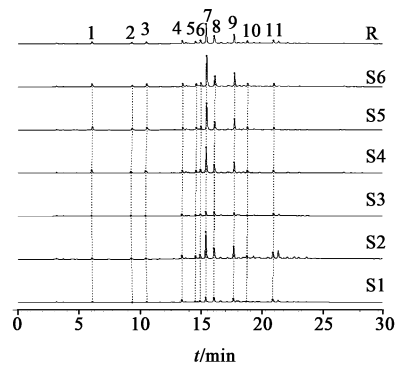


图 2 6 种竹叶提取物样品的 HPLC 指纹谱和对照指纹谱 (R)

Fig.2 HPLC fingerprints of six bamboo leaves extract and their control fingerprint (R)

2.7.2 相似度评价 计算 6 种竹叶提取物样品的 HPLC 指纹图谱相似度,以生成的 R 为对照,样品 S1 ~ S6 有 11 个共有峰,S1 ~ S6 指纹图谱相似度排序为 S6 (0.997) > S5 (0.994) = S4 (0.994) = S2 (0.994) > S3 (0.922) > S1 (0.899),其中样品 S2, S4, S5 和 S6 相似度均 > 0.99,聚为 I 类;工艺 S1 和 S3 相似度均 < 0.93,聚为 II 类。说明指纹图谱相似度评价结果与有效成分含量分析结果基本一致。

2.7.3 主成分分析 (PCA) [21] 将上述 6 种竹叶提取物中 11 个共有峰的峰面积经标准化数据处理后的结果进行分析,导入 SPSS 22.0 软件。KMO 和 Bartlett 检查结果表明数据适合进行 PCA。采用考察特征值 $\lambda > 1$ 和累积方差贡献率 > 85% 来确定最佳主成分,提取主成分 2 个。第 1 主成分特征值 8.1,贡献率 73.7%;第 2 主成分特征值 2.8,贡献率 25.2%;2 个主成分累计贡献率 98.9%,说明这 2 个主成分可表达竹叶提取物的全部化学成分的 98.9%,可用这 2 个主成分新变量代替原有的 11 个变量。其中第 1 主成分贡献率最大 (73.7%),而第

酸,7 号峰为异荭草苷,8 号峰为荭草苷,9 号峰为异牡荆素,见图 2。其中 7 号峰分离度良好,保留时间

1 主成分中变量的权重值最大的分别为 7~9 号峰,与指标成分含量测定结果基本一致,说明这 3 个色谱峰在区分竹叶提取工艺的指纹图谱占了决定性作用。以第 1 主成分和第 2 主成分的得分为变量,绘制主成分得分图,见图 3。结果发现 6 种竹叶提取工艺被很好聚为了四类, I 类包括样品 S4, S5 和 S6,均为酶解工艺; II 类包括样品 S2,乙醇回流工艺; III 类包括 S1,水煎煮工艺; IV 类包括 S3,水提醇沉工艺。

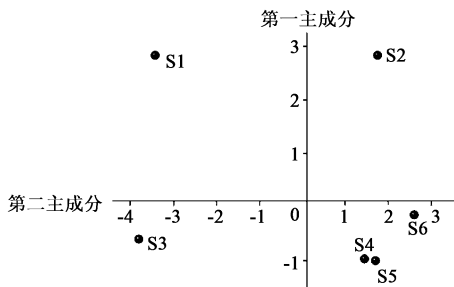


图 3 6 种竹叶提取物样品的 PCA 得分
Fig. 3 PCA score of six bamboo leaves extract

2.7.4 聚类分析^[22] 对 6 种竹叶提取物共有峰的峰面积采用组间平均数联结法,以夹角余弦为样品相似度的距离公式进行系统聚类分析,见图 4。结果发现当欧氏距离为 3 时,所有样品聚类分析为三大类。I 类包括样品 S4, S5 和 S6; II 类包括样品 S2; III 类包括样品 S1 和 S3。其中 I 类均为酶解工艺; II 类为乙醇回流工艺; III 类为水煎煮工艺和水提醇沉工艺。系统聚类分析结果与 PCA 结果基本一致,并与相似度评价、有效成分含量测定结果相互得到验证。

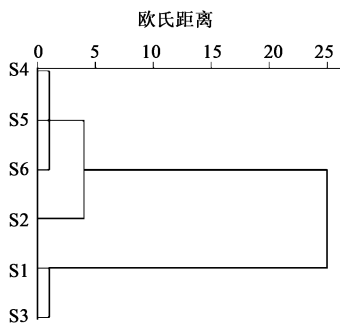


图 4 6 种竹叶提取物样品的聚类分析
Fig. 4 Hierarchical cluster analysis of six bamboo leaves extract

3 讨论

预试验考察了甲醇-水,乙腈-水,乙腈-0.1% 磷酸水溶液,乙腈-0.025% 甲酸水溶液 4 种流动相体系。结果表明以乙腈-0.025% 甲酸水溶液为流动

相,所得色谱峰的峰形较好、分离效果较佳,故选用乙腈-0.025% 甲酸水溶液为流动相。

本实验采用 HPLC 测定 6 种竹叶提取物样品中 3 种碳苷黄酮(荜草苷、异荜草苷和异牡荆素)和 1 种酚酸类成分(绿原酸)的含量,结果表明 6 种样品中上述 4 个成分的含量有较大差异。为了更好地评价 6 种竹叶提取工艺,在含量测定的方法上进一步建立的其 HPLC 指纹图谱。共标定 11 个共有峰,指认了其中的 4 个成分,通过“中药色谱指纹图谱相似度评价软件”(2012 版)对 6 种竹叶提取工艺进行了评价。结果表明在所建立的 HPLC 指纹图谱中既存在共性又存在差异,11 个共有峰相对保留时间基本一致且在 6 种竹叶提取工艺的指纹图谱中均有发现,但共有峰的相对峰面积则存在着较大的差异,结合相似度结果表明 6 种竹叶提取物在化学组成上存在一致性,但成分相对含量仍存在一定差异。指纹图谱能够在整体上对竹叶的提取工艺进行综合评价,弥补了指标成分含量测定结果有时易受对照品及色谱分离结果的限制。同时,该方法也存在一些缺点,本研究所建立的指纹图谱是基于含量测定的色谱条件设定的,各色谱峰相对比较集中,而且无法保证获得较多信号强且分离效果好的共有峰。

竹叶提取工艺研究常选择某一或数个指标作为考察指标进行工艺优化^[16,23-24]。由于竹叶成分较为复杂,因此在研究提取工艺时选择 1 个或几个指标成分远远不够。中药指纹图谱由于涵盖的信息量大,能更加全面地反映提取工艺的整体效果。考虑到实验数据繁琐,各色谱峰权重系数难以确定,给提取工艺的综合评价带来了一定的困难。故本文采用 PCA,在不丢失原来主要信息的前提下,将原来的 11 个指标组合成 2 个能充分反映竹叶样品总体信息的指标(涵盖了原始色谱峰 98.9% 的信息),且提取出了在竹叶不同提取物指纹图谱中起决定性作用的 3 个有效成分。聚类分析结果则将 6 种竹叶提取工艺划分为三类,使得竹叶提取工艺得到了良好的划分。聚类分析和 PCA 相互补充、互为佐证,与相似度评价和指标成分含量测定有机结合起来,为竹叶提取工艺的优化提供了科学依据。

[参考文献]

[1] 黎贵卿. 几种竹叶和滇桂艾纳香化学成分、提取工艺及抗氧化活性的研究[D]. 南宁:广西大学,2007.
[2] 赖焯,陈其兵. 竹叶提取物的化学成分及其生理功能研究进展[J]. 福建林业科技,2013,40(1):214-220.

- [3] 章萍萍,孙汉巨,娄秋艳,等. 竹叶内酯的提取及纯化工艺研究[J]. 食品与营养科学,2015,4(3):76-86.
- [4] 陈宇,董映雪,郑璐,等. 竹叶黄酮类物质的抗氧化性能研究[J]. 赤峰学院学报:自然科学版,2015,31(12):4-8.
- [5] 张盛. 竹叶黄酮的抗炎作用及物质基础研究[D]. 武汉:湖北中医药大学,2016.
- [6] 陈海光,于立梅,黄东雨. 竹叶黄酮的提取工艺及抑菌作用研究[J]. 仲恺农业工程学院学报,2010,23(3):50-53.
- [7] 周朋朋,周勇,吴伟伟,等. 竹叶提取物的活性成分及在食品中的应用前景[J]. 安徽农业科学,2017,45(3):90-91.
- [8] 冯康康,张璐璐,张科,等. 竹叶饮料研究进展[J]. 广东化工,2015,42(2):76-77.
- [9] 李元会. 四种竹种竹叶化学成分月动态变化及黄酮提取工艺研究[D]. 雅安:四川农业大学,2016.
- [10] 方菊. 竹叶黄酮的提取分离有抑菌效果研究[D]. 合肥:合肥工业大学,2012.
- [11] 贾可敬. 竹叶黄酮提取、纯化及抗氧化活性研究[D]. 株洲:中南林业科技大学,2014.
- [12] 张珊珊,朱文娴,赵晓红,等. 超临界 CO₂ 萃取北方地区早园竹叶中总黄酮的工艺优化[J]. 食品科学,2011,32(6):143-147.
- [13] 朱万强,张清榕. 超声波法提取赤水河流域竹叶黄酮工艺研究[J]. 遵义师范学院学报,2015,17(1):99-102.
- [14] 陈玮. 纤维素酶法提取竹叶黄酮的机理研究[D]. 合肥:合肥工业大学,2013.
- [15] 杨卫东,费学谦,王敬文. 不同溶剂对竹叶提取物抑菌作用的影响[J]. 食品工业科技,2006,27(1):77-79.
- [16] 吴华勇,黄赣辉,顾振宇,等. 响应曲面法优化竹叶总黄酮的提取工艺研究[J]. 食品科学,2008,29(11):196-200.
- [17] 李慧力,陶文亮,吴钰娟,等. 酶法提取竹叶中总黄酮的工艺研究[J]. 贵州农业科学,2010,38(10):185-187.
- [18] 奚奇辉,李士敏. 纤维素酶在竹叶总黄酮提取中的应用[J]. 中草药,2004,35(2):166-167.
- [19] 罗志刚,杨景峰,罗发兴. α -淀粉酶的性质及应用[J]. 食品研究与开发,2007,28(8):163-167.
- [20] 王淳,刘丽梅,宋志前,等. 治疗心血管疾病常用中药组分提取分离方法研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(22):169-175.
- [21] 孙振球. 医学统计学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2010:354.
- [22] 蔡晓洋,张思荻,曾俊,等. 基于主成分分析和聚类分析的栀子种质资源评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(14):30-37.
- [23] 林娜,尹礼国,董媛媛. 硬头黄竹叶黄酮提取工艺优化[J]. 江苏农业科学,2012,40(1):240-241.
- [24] 杨兰,吴肖,甘羿. 响应面法优化竹叶精油的微波辅助提取工艺[J]. 食品工业科技,2010,31(8):280-282.

[责任编辑 刘德文]