

牛蒡根总黄酮的提取工艺优选

郝宁*, 管莹, 李艳辉, 鲁巍巍, 李宏博
(沈阳农业大学, 沈阳 110866)

[摘要] 目的:优化牛蒡根总黄酮的超声提取工艺。方法:以总黄酮提取率为指标,采用单因素考察乙醇体积分数、料液比、粉碎粒度、提取次数、超声时间、温度及功率对牛蒡根总黄酮提取工艺的影响;选取乙醇体积分数、提取时间、超声功率及粉碎粒度为考察因素,通过正交试验法优化牛蒡根总黄酮超声提取条件,并使用 SPSS 软件对试验数据进行统计分析。结果:乙醇体积分数、超声时间、超声功率和粉碎粒度是影响牛蒡根总黄酮提取效果的主要因素。优选的提取工艺为牛蒡根最粗粉加 20 倍量 60% 乙醇提取 3 次,每次 40 min,超声功率 60 W,温度 60 ℃。结论:优选的提取工艺稳定可行,可推广于大生产应用。

[关键词] 牛蒡根; 总黄酮; 超声提取

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0043-03

Optimization of Extraction Technology of Total Flavonoid from Root of *Arctium lappa*

HAO Ning*, GUAN Ying, LI Yan-hui, LU Wei-wei, LI Hong-bo
(Shenyang Agricultural University, Shenyang110866, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of total flavonoid from root of *Arctium lappa*. **Method:** With extraction rate as index, effect of different factors on extraction technology was investigated by single factor test, including the concentration of ethanol, solid-liquid ratio, crush size, extraction times, ultrasonic time, temperature and power; Orthogonal test was use to optimize ultrasonic extraction conditions of total flavonoid from root of *A. lappa* with extraction time, ethanol concentration, ultrasonic power and crush size as factors, and test data was statistical analysing by SPSS software. **Result:** Ethanol concentration, ultrasonic time, ultrasonic power and crush size were main factors, which influencing extraction effect of total flavonoid. Optimum extraction technology was as follows: crush size of *A. lappa* root of the most coarse powder, extracted 3 times with 20 the amount of 60% ethanol at 60 ℃, 40 min each time, ultrasonic power 60 W. **Conclusion:** Optimized extraction technology was stable and feasible, it could be suitable in industrial production.

[Key words] root of *Arctium lappa*; total flavonoid; ultrasonic extraction

牛蒡根既是营养丰富的蔬菜,又是药用价值很高的中药材,具有祛风热、消肿毒的功效^[1],在《名医别录》、《药性论》、《本草拾遗》等典籍中多有记载^[2],有“东洋人参”的美誉^[3]。目前,关于其含有的膳食纤维、多糖、菊糖、类胡萝卜素等营养成分的

文献报道较多^[4-7],而对具有较高药用价值的黄酮类成分研究较少^[8],仅有胡喜兰等^[9]对总黄酮的含量进行测定。本试验采用单因素和正交试验相结合的方法优化牛蒡根总黄酮的提取工艺^[10],为牛蒡根的进一步开发利用提供试验依据。

1 材料

754 型紫外-可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司),牛蒡根采于沈阳农业大学药用植物园,为一年生牛蒡根,经沈阳农业大学宁伟教授鉴定为菊科植物牛蒡 *Arctium lappa* L. 的根。芦丁对照品(中

[收稿日期] 20120913(007)

[通讯作者] * 郝宁, 硕士, 讲师, 从事中药鉴定与品质评价研究, Tel: 024-88487143, E-mail: nnhaoning@sina.com

国药品生物制品检定所,批号 100080-200707),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总黄酮含量测定

2.1.1 标准曲线的制备^[11] 精密称取芦丁对照品适量,加 70% 乙醇配成 $0.216 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液。精密吸取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加 70% 乙醇至 5 mL,加 5% 亚硝酸钠 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,加 10% 硝酸铝 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,加 4% 氢氧化钠 4 mL,加水至刻度,摇匀,静置 15 min 后于 510 nm 处测定吸光度(A)。以对照品质量浓度为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $A = 0.1316C + 0.0703 (R^2 = 0.9997)$,线性范围 $0.043 \sim 0.259 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.1.2 供试品溶液制备 精密称取牛蒡根粉末 2.00 g,置锥形瓶中,精密加入适量溶剂,超声提取一定时间,滤过,用少量溶剂淋洗药渣,水浴蒸干得浸膏,浸膏加适量溶剂,超声助溶,定容于 25 mL 量瓶中,精密吸取溶液 1 mL,按 2.1.1 项下方法处理,即得。

2.1.3 精密度试验 精密吸取芦丁对照品溶液 1 mL,按 2.1.1 项下方法处理,平行测定 6 份,计算 RSD 1.61% ($n = 4$)。

2.1.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,按 2.1.1 项下方法处理,测定其在不同时间点的 A,结果 A 在 0~60 min 基本不变,RSD 0.31%,说明供试品溶液在 60 min 内稳定。

2.1.5 重复性试验 称取同一批样品粉末,按 2.1.2 项下方法处理,平行测定 6 份,计算 RSD 1.57%。

2.1.6 回收率试验 取已知总黄酮含量的样品 1 g,加 $0.216 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的芦丁对照品溶液适量,按 2.1.2 项下方法处理,平行测定 6 份,计算平均回收率 99.36%,RSD 0.07%,说明该方法可行。

2.2 单因素试验考察

2.2.1 乙醇体积分数 精密称取牛蒡根细粉适量,分别加体积分数为 95%,80%,70%,60%,50% 的乙醇进行超声提取(50 °C,80 W)40 min,料液比 1:10,按上述方法进行测定。结果总黄酮提取率分别为 0.70%,1.15%,1.17%,1.16%,0.75%,故选择 70% 乙醇。

2.2.2 料液比 精密称取牛蒡根细粉适量,加 70% 乙醇超声提取(50 °C,80 W)40 min,料液比分别为 1:05,1:10,1:15,1:20,1:25,1:30,按上述方

法进行测定。结果总黄酮提取率分别为 0.96%,1.01%,1.28%,1.47%,1.47%,1.47%,因此选取 1:20 的料液比最为适合。

2.2.3 超声时间 精密称取牛蒡根细粉适量,加 20 倍量 70% 乙醇进行超声提取(50 °C,80 W),提取时间分别为 20,30,40,50,60,70 min,按上述方法进行测定。结果总黄酮提取率分别为 0.86%,0.86%,0.93%,1.19%,1.18%,1.16%,故选择提取 50 min。

2.2.4 超声温度^[12-13] 精密称取牛蒡根细粉适量,加 20 倍量 70% 乙醇进行超声提取(80 W)50 min,提取温度分别为 30,40,50,60,70,80 °C,按上述方法进行测定。结果总黄酮提取率分别为 0.88%,1.02%,1.12%,1.13%,1.11%,1.09%,故选择提取温度 60 °C。

2.2.5 超声功率 精密称取牛蒡根细粉适量,加 20 倍量 70% 乙醇进行超声提取(60 °C)50 min,超声功率 40,60,70,80,100 W,按上述方法进行测定。结果总黄酮提取率分别为 0.85%,0.83%,1.01%,1.11%,1.02%,故选择超声功率 80 W。

2.2.6 粉碎粒度^[14] 精密称取等量牛蒡根最粗粉(10 目)、粗粉(24 目)、中粉(65 目)、细粉(80 目)、最细粉(100 目)适量,分别加 20 倍量 70% 乙醇进行超声提取(80 W,60 °C)50 min,按上述方法进行测定。结果总黄酮提取率分别为 3.34%,3.62%,3.31%,2.72%,2.69%,故选择牛蒡根粗粉。

2.3 正交试验设计 在单因素试验基础上,选择对牛蒡根总黄酮提取率具有极显著性差异的 4 个主要影响因素进行正交试验,即乙醇体积分数、提取时间、超声功率、粉碎粒度。以总黄酮提取率为指标,按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,测定总黄酮含量,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 牛蒡根总黄酮提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积 分数/%	B 提取时间 /min	C 超声功率 /W	D 粉碎粒度 /目
1	80	60	100	10
2	70	50	80	24
3	60	40	60	65

由直观分析可知,各影响因素主次为 $A > B > D > C$ 。以极差最小的 C 因素为误差项进行方差分析,结果表明因素 A 对总黄酮提取率的影响具有显著意义,因素 B, D, C 无显著意义,故确定最佳提取

工艺为 $A_3B_3C_3D_1$, 即乙醇体积分数 60%, 提取时间 40 min, 超声功率 60 W, 粉碎粒度 10 目。

表 2 牛蒡根总黄酮提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	总黄酮提取率/%
1	1	1	1	1	1.59
2	1	2	2	2	1.24
3	1	3	3	3	1.65
4	2	1	2	3	2.14
5	2	2	3	1	2.64
6	2	3	1	2	2.62
7	3	1	3	2	2.38
8	3	2	1	3	2.81
9	3	3	2	1	3.08
K_1	4.48	6.11	7.02	7.31	
K_2	7.40	6.69	6.46	6.24	
K_3	8.27	7.35	6.67	6.60	
R	1.26	0.41	0.19	0.36	

表 3 提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	7.887	2	3.944	49.29	<0.05
B	0.783	2	0.391	4.89	<0.05
C	0.160	2	0.080	1.00	<0.05
D	0.584	2	0.292	3.65	>0.05
E(误差)	0.302	18	0.01		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

2.4 验证试验 取 3 份等量牛蒡根药材, 按上述最佳提取工艺进行验证试验, 测定牛蒡根总黄酮的含量, 结果总黄酮平均提取率为 4.42%, RSD 0.33%, 表明优选的工艺路线稳定可靠。

2.5 提取次数的选择 精密称取牛蒡根最粗粉适量, 分别加 20 倍量 60% 乙醇超声提取 (60 °C, 60 W) 1, 2, 3 次, 每次 40 min, 按上述方法测定总黄酮含量。结果总黄酮提取率分别为 4.42%, 6.10%, 7.15%, 故选择提取 3 次为宜。

3 讨论

与传统提取方法相比, 超声提取具有操作简单、省时、提取效率高等优点^[15], 具有良好的应用前景。使用 SPSS 统计软件对正交试验结果进行数据处理, 操作方便、直观、快捷, 结果更准确^[16]。

牛蒡根可药食两用, 具有抗衰老、抗菌、抗肿瘤、降血糖、降血压以及对急慢性肾炎的治疗和抑制血小板等方面的作用^[17]。但其保健作用及药用价值并未得到充分开发, 本试验对牛蒡根中总黄酮的提

取工艺进行了考察, 为今后进一步开发牛蒡根的保健作用及药用价值提供实验依据。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科技出版社, 1986: 431.
- [2] 邵世光, 赵忠顺. 牛蒡根的药用研究进展[J]. 中医药学报, 2006, 34(1): 24.
- [3] 刘丹赤, 尹玲, 邵长明. 牛蒡的研究与开发进展[J]. 北方园艺, 2007, (8): 41.
- [4] 苗敬芝, 高淑云, 曹泽红, 等. 酶解牛蒡提取膳食纤维工艺研究[J]. 食品科学, 2008, 29(10): 199.
- [5] 罗巖辉. 均匀设计法优化超声波提取牛蒡多糖工艺的研究[J]. 河南师范大学学报, 2008, 36(1): 115.
- [6] 钟丹, 张建新, 张世恒. 超声波提取牛蒡菊糖的工艺研究[J]. 西北农业学报, 2008, 17(2): 297.
- [7] 马利华, 秦卫东, 戴晓娟. 超声波-微波协同提取牛蒡中类胡萝卜素[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(1): 81.
- [8] Alupului A, Lavric V. Obtaining and characterizing flavonoids and polyphenolic acids from *Cynara scolymus* L. (Artichoke) leaves and *Arctium lappa* L. (Burdock) roots [J]. Lucrari Stiintifice-Universitatea de Stiinte Agronomice si Medicina Veterinara Bucuresti. Seria B Horticultura, 2008, 51: 541.
- [9] 胡喜兰, 王国卫, 高英. 牛蒡根中活性成分的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 113.
- [10] 徐保利, 管慧洁, 李慧, 等. 锦灯笼果实总黄酮提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 33.
- [11] 王汉卿, 王文苹, 闫津金, 等. 超声提取枸杞叶中总黄酮提取工艺及其不同采收期含量变化研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 44.
- [12] 涂华, 陈碧琼, 张燕军. 天然类黄酮物质的提取工艺研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 277.
- [13] 苏秀芳, 秦健梅. 超声辅助法提取剑叶龙血树根总黄酮提取的工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 97.
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: XII.
- [15] 程远征, 张丽平, 孙嘉斌, 等. 正交试验优选牛蒡根中总黄酮的提取工艺[J]. 化工时刊, 2010, 24(3): 27.
- [16] 何秋月. SPSS 在 $L_9(3^4)$ 正交试验数据处理中的应用[J]. 中国中医药, 2005, 12(12): 27.
- [17] 蒋淑敏. 牛蒡化学成分和药理作用的研究现状[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(10): 941.

[责任编辑 仝燕]