

锦灯笼果实总黄酮提取工艺

徐保利,管慧洁,李慧,王冰*

(辽宁中医药大学,辽宁大连 116600)

[摘要] 目的:研究锦灯笼果实总黄酮的最佳提取工艺。方法:在单因素基础上,通过正交试验考察乙醇体积分数、料液比、提取时间以及提取次数 4 个因素对锦灯笼果实总黄酮提取量的影响,用紫外-可见分光光度计对锦灯笼果实总黄酮含量进行测定,得到最佳提取工艺。结果:锦灯笼果实总黄酮最佳提取工艺为乙醇体积分数 60%、料液比 1:30、提取时间 30 min、提取 3 次,平均提取量 $2.00 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结论:乙醇超声法可以用于锦灯笼果实总黄酮的提取,其中料液比对总黄酮提取量的影响最大。

[关键词] 锦灯笼;总黄酮;提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0033-03

Extraction Technology for Total Flavonoids from Fruits of *Physalis alkekengi*

XU Bao-li, GUAN Hui-jie, LI Hui, WANG Bing*

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To study on optimum extraction technology for total flavonoids from fruits of *Physalis alkekengi*. **Method:** Based on single factor test, investigated influence of four factors to extract of total flavonoids from *P. alkekengi* by orthogonal design test. The four factors were concentration of ethanol, ratio of solid to liquid, extraction time and extraction times. Got optimal extraction technology by determined the content of total flavonoids from fruits of *P. alkekengi* UV-visible spectrophotometer. **Result:** The optimum extraction technology was as follows: extracted 3 times with 30 times amount of 60% ethanol for 30 minutes each times. The average extract of total flavonoids was $2.00 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. **Conclusion:** Total flavonoids from fruits of *P. alkekengi* can be extracted with ethanol by ultrasonic wave. Ratio of liquid to solid was the most significant factor.

[Key words] *Physalis alkekengi*; total flavonoids; extraction technology

锦灯笼为茄科酸浆属植物酸浆 *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino 的干燥宿萼或带果实的宿萼,秋季果实成熟,宿萼呈红色或橙红色时采收,干燥^[1]。始见《神农本草经》^[2]被列为中品,书中云“酸浆,味酸平,主热烦满,定志益气,利

水道,产难,吞其实,利产,一名醋浆,生川泽”。《新修本草》^[3]中云“酸浆,味酸,平寒,无毒。……子作房,房中有子如梅李大,皆黄赤色,小儿食之,能除热,亦主黄病,多效”。锦灯笼宿萼药用作用明显,其果实单用也可起到治疗疾病的作用,现代研究表明锦灯笼果实中含有玉蜀黍黄素、苷类、黄酮、草酸等化合物^[4],其中黄酮类化合物具有多方面的生物活性。目前有对锦灯笼宿萼中总黄酮提取方法与测定的报道^[5-7],关于锦灯笼果实中黄酮的提取与测定方法尚未报道,本研究以黄酮提取量为考察指标,在单因素的基础上,采用正交试验优化锦灯笼果实总黄酮提取的最佳方法。

[收稿日期] 20110306(004)

[第一作者] 徐保利,博士研究生,从事药用植物种质资源及质量评价研究, Tel:18609842415, E-mail:xubaoli1981@hotmail.com

[通讯作者] *王冰,教授,博士生导师,从事药用植物种质资源及质量评价研究, Tel:0411-87586003, E-mail: YZBwang@lnutcm.edu.cn

1 仪器与试药

HITACHI U-3010 型紫外分光光度计(日本日立)。

芦丁对照品(贵州迪大生物科技有限公司,纯度 >98%,批号 200707),锦灯笼成熟果实采集于沈阳市苏家屯区白清寨乡,经辽宁中医药大学药用植物教研室王冰教授鉴定为茄科 *P. alkekengi* 的成熟果实,所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 锦灯笼果实中总黄酮提取

2.1.1 芦丁对照溶液的制备 将芦丁对照品在 120℃ 烘干至恒重,准确称取 23 mg 在 70% 乙醇中溶解,定容于 100 mL 量瓶,得 0.23 g·L⁻¹ 的标准溶液,备用。

2.1.2 标准曲线的绘制 精确吸取芦丁对照溶液 1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0 mL,分别置于 25 mL 比色管中,加 5% 亚硝酸钠 0.7 mL,摇匀,放置 5 min;加 10% 硝酸铝 0.7 mL,摇匀,放置 6 min;加 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠 5 mL,用乙醇定容,摇匀,放置 10 min。于 510 nm 测定吸光度(A),试剂空白参比,以吸光度为纵坐标,芦丁对照品质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $A = 0.1698C + 0.0026$ ($r = 0.9997$),表明在 0.23 ~ 1.61 g·L⁻¹ 线性关系良好。

2.1.3 测定样品中总黄酮含量^[6] 取锦灯笼果实干燥粉末 1 g,精密称定,置索氏提取器中用石油醚(60~90℃),脱脂至无色,精密称取脱脂后的锦灯笼果实干燥粉末 1 g,用 70% 乙醇,按料液比 1:30 的比例浸泡 24 h,超声提取 45 min,定容至 25 mL,备用。准确吸取定容后的提取液 12.5 mL,放置于 25 mL 比色管中,加 5% 亚硝酸钠 0.7 mL,摇匀,放置 5 min;加 10% 硝酸铝 0.7 mL,摇匀,放置 6 min;加 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠 5 mL,乙醇定容,摇匀,放置 10 min,试剂空白参比,于 510 nm 测定吸光度,计算总黄酮质量浓度。

2.1.4 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液和样品各 5 份。按照 2.1.2 和 2.1.3 项下方法显色,在 510 nm 处测定 A,计算 RSD 1.12%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取同一供试品,分别在 2,4,6,8,10 h,按照 2.1.3 项下方法显色,在 510 nm 处测定 A,计算 RSD 1.34%,表明样品 10 h 内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验 精密称取锦灯笼果实粉末 5 份,按照 2.1.3 项下方法提取和显色,测定 A,计算 RSD 1.15%,表明方法重复性良好。

2.1.7 加样回收率试验 精密称取锦灯笼果实粉末 5 份,分别加入已知质量浓度的芦丁对照品,按照 2.1.3 项下方法提取和显色,测定相应 A,计算平均回收率为 99.23%,RSD 0.78%。

2.2 锦灯笼果实总黄酮定性分析 吸取 2.1.3 提取的溶液滴一滴在滤纸上,在可见光下呈黄色,在紫外灯下呈灰褐色并有荧光斑点;取样品溶液 1 mL,滴加 1% 氢氧化钠溶液,溶液呈红色;取样品溶液滴到滤纸上,滴加 1% 三氯化铝乙醇溶液,再紫外灯下显天蓝色荧光;取样品溶液 1 mL 再试管中加镁粉,再加入浓盐酸数滴,无显色;取样品溶液 1 mL 滴加 1% 三氯化铁溶液,溶液产生绿色沉淀。综合以上显色反应表明,锦灯笼果实粉末提取物中含有黄酮类化合物,可能含有查耳酮、橙酮和黄酮醇。

2.3 单因素试验

2.3.1 乙醇体积分数对提取量的影响 按照 2.1.3 项下的方法,分别用 50% 乙醇,60% 乙醇,70% 乙醇,80% 乙醇,90% 乙醇浸泡,测定总黄酮提取量,结果分别为 1.08,1.58,1.43,1.37,1.26 mg·g⁻¹。

2.3.2 料液比对提取量的影响 按 2.1.3 项下的方法,分别用 1:20,1:30,1:40,1:50,1:60 不同的料液比,测定总黄酮提取量,结果分别为 1.02,1.26,1.27,1.27,1.28 mg·g⁻¹。

2.3.3 提取时间对提取量的影响 按 2.1.3 项下的方法,分别提取 20,30,40,50,60 min,测定总黄酮提取量,结果分别为 1.15,1.25,1.26,1.27,1.27 mg·g⁻¹。

2.3.4 提取次数对提取量的影响 按 2.1.3 项下的方法,分别提取 1,2,3,4 次,测定总黄酮提取量,结果分别为 1.16,1.29,1.31,1.32 mg·g⁻¹。

2.4 正交试验考察 根据单因素考察结果,选定乙醇体积分数(A)、料液比(B)、提取时间(C)、提取次数(D)4 个因素,采用 L₉(3⁴) 正交表安排试验,因素与水平见表 1,正交试验结果见表 2。

从表 2 可知,各因素对锦灯笼果实总黄酮提取量的影响强弱顺序为 B > A > C > D,即料液比 > 醇浓度 > 提取时间 > 提取次数。因此选定锦灯笼果实总黄酮最佳提取工艺为 A₂B₂C₂D₂,即乙醇体积分数 60%、料液比 1:30、提取时间 30 min、提取次数 3 次。

表1 锦灯笼果实中总黄酮提取因素水平

水平	A 乙醇体积 分数/%	B 料液比	C 提取 时间/min	D 提取 次数/次
1	50	1:20	20	2
2	60	1:30	30	3
3	70	1:40	40	4

表2 灯笼果实中总黄酮提取正交试验安排与结果

No.	A	B	C	D	黄酮提取量 /mg·g ⁻¹
1	1	1	1	1	1.03
2	1	2	2	2	1.94
3	1	3	3	3	1.37
4	2	1	2	3	1.78
5	2	2	3	1	1.80
6	2	3	1	2	1.24
7	3	3	3	2	1.30
8	3	1	1	3	1.25
9	3	2	2	1	0.91
K ₁	1.447	1.370	1.173	1.247	
K ₂	1.607	1.663	1.543	1.493	
K ₃	1.153	1.173	1.490	1.467	
R	0.454	0.490	0.370	0.246	

2.5 验证试验 为进一步考察提取工艺的可靠性,精确称取3份药材,按上述最佳提取工艺进行验证试验,测定总黄酮提取量分别为1.98,2.03,1.99 mg·g⁻¹。

3 讨论

本试验所测锦灯笼果实中总黄酮的含量要高于文献[5-7]中宿萼中总黄酮的含量,这可能是因锦灯笼果实的产地、采集、保存和处理方法的差异造成,而以上因素对于锦灯笼果实中总黄酮含量的影响还须进一步验证。锦灯笼果实长期作为北方人秋季一种喜爱的水果食用,其药用及保健价值并未得到充分开发,本试验对锦灯笼果实中总黄酮的提取方法进行了考察并对其含量进行测定,为今后进一步开发锦灯笼果实的药用和保健价值提供依据。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:337.
- [2] 孙星衍.神农本草经[M].太原:山西科学出版社,1990:1048.
- [3] 苏敬撰.新修本草[M].尚志钧辑校.合肥:安徽科学技术出版社,1981:224.
- [4] 张娜,别智敏,秦文静,等.酸浆的化学成分及生理功效[J].吉林医药学院学报,2008,29(2):105.
- [5] 敬思群,郑力,苏俊.酸浆宿萼总黄酮和多糖的提取及含量测定[J].食品研究与开发,2008,29(6):82.
- [6] 敬思群,阿伊努尔,艾合买提江.酸浆宿萼总黄酮提取工艺的研究[J].新疆大学学报:自然科学版,2009,25(1):88.
- [7] 杨文菊,敬思群,杨洁.新疆酸浆宿萼总黄酮含量测定方法的研究[J].新疆大学学报:自然科学版,2007,24(3):339.

[责任编辑 仝燕]