

薜荔叶及花序托中总黄酮的提取工艺

吴文珊 纪小苹 王扬飞 方玉霖

(福建师范大学生物工程学院, 福州 350007)

The extraction technology of total flavonoides from the leaves and receptacle of inflorescence of *Ficus pumila* L. WU Wen-shan, JI Xiao-ping, WANG Yang-fei, FANG Yu-lin, (Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007), *J. Plant Resour. & Environ.* 2000, 9(2): 55~56

Abstract: Using orthogonal test, a systematic study was carried on the extraction technology of total flavonoides from the leaves and the receptacle of inflorescence of *Ficus pumila* L., favourable parameters of this technology were selected out. The best conditions to extract total flavonoides are: 1:40 ethanol solution of 70%, at 70~75°C for four hours. Under the same condition, more total flavonoides can be extracted from leaves than receptacle of inflorescence. The effects of different reagents on total flavonoid extracting are also reported.

关键词: 薜荔; 总黄酮; 正交试验

Key words: *Ficus pumila* L.; total flavonoides; orthogonal test

中图分类号: Q947.737.4; Q946.83 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2000)02-0055-02

薜荔 (*Ficus pumila* L.) 为桑科 (Moraceae) 榕属 (*Ficus* L.) 植物, 广布我国长江以南各省区。《本草纲目》记载木莲即薜荔, 有壮阳固精, 消肿散毒, 止血, 下乳, 治久痢肠痔等功效^[1]。中国科学院药物研究所在抗肿瘤药物的筛选中曾发现薜荔有一定效果^[1]。作者在对薜荔进行成分预试验中发现, 其叶和花序托的黄酮类物质的含量颇高, 而黄酮类化合物是一类生理活性较强的化合物, 近年来在医疗、保健及食品上的应用越来越广泛。为了充分开发利用薜荔, 扩大黄酮的提取资源, 对薜荔叶和花序托的总黄酮提取工艺进行了研究, 获得了相应的工艺参数, 为大规模生产提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 仪器与设备 751型分光光度计; 回流装置; 旋转蒸发器; 恒温水浴锅; 砂芯层析柱。

1.1.2 试剂 芦丁标样(上海试剂二厂); 5% NaNO₂; 10% Al(NO₃)₃; 1 mol/L NaOH; 聚酰胺(80目, 以70%乙醇预处理)。

1.1.3 植物材料 薜荔叶采自福建省永泰县葛岭(雌株); 雌花序托采自福州市郊。80°C烘干, 粉碎, 过40目筛, 备用。

1.2 方法

1.2.1 样品处理

(1) 回流提取: 取过筛后的叶或花序托粉末各1g, 置于回流装置中, 选用L9(3⁴)正交表, 按表1、表2各实验组合中的加乙醇量、提取温度和提取时间加热回流提取, 过滤, 滤液冷却至室温, 减压回收乙醇, 用60%乙醇定容至100mL。

(2) 聚酰胺柱层析: 准确吸取提取液4mL, 加200mg聚酰胺粉, 搅匀, 转移到装有400mg聚酰胺粉的砂芯层析柱

中, 用乙醇梯度洗脱: 60%乙醇(20mL)→75%乙醇(20mL)→95%乙醇(20mL)→无水乙醇(20mL)。收集各级洗脱液, 用30%乙醇定容至100mL, 备测。

1.2.2 标准曲线的制备 精确配制浓度为0.1mg/mL的芦丁标液, 分别取0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0mL于6只具塞试管中, 加30%乙醇使成5.0mL。加5% NaNO₂溶液0.3mL, 摇匀, 放置6min; 加10% Al(NO₃)₃溶液0.3mL, 摇匀, 放置6min; 加1mol/L NaOH溶液4mL, 加蒸馏水0.4mL, 摇匀, 放置10~15min, 于510nm波长处测定吸收度A^[2], 用最小二乘法进行线性回归, 得回归方程 $A = 1.1C + 3.4 \times 10^{-3}$, 其线性范围为0~0.5mg, 相关系数 $r = 0.998$ 。

1.2.3 样液测定 精确吸取5.0mL样液三份于3支具塞试管中, 各加5% NaNO₂溶液0.3mL, 摇匀, 放置6min; 加10% Al(NO₃)₃溶液0.3mL, 摇匀, 放置6min; 加1mol/L NaOH溶液4mL, 加蒸馏水0.4mL, 摇匀, 放置10~15min, 同时作试剂空白; 以试剂空白为对照, 于510nm波长处测定吸收度, 查标准曲线, 即得所取样液中黄酮含量mg数。

1.2.4 计算结果

$$\text{样品中的黄酮量(以芦丁计)}(\%) = \frac{CV_1V_3}{WV_2V_4} \times \frac{1}{10}$$

式中C为样液含黄酮量(mg), V₁为抽提体积(mL), V₂为聚酰胺处理时取样体积(mL), V₃为聚酰胺处理后定容体积(mL), V₄为显色反应测定取用样液体积(mL), W为称样量(g)。

收稿日期: 1999-11-28

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(课题号9810011)

作者简介: 吴文珊, 女, 1966年9月生, 福建人, 学士, 讲师, 主要研究方向为植物学。

2 结果与分析

2.1 不同抽提因素对薛荔叶和花序托总黄酮提取率的影响

选用 L9(3⁴) 正交表, 按表 1 和表 2 实验的加乙醇量、提取时间、提取温度提取薛荔叶和花序托总黄酮。每个实验各做 3 个重复, 取平均值。结果见表 1 和表 2。

从表 1 和表 2 的相差计算和因子与得率的关系中可见, 各因子的最优水平组合是 A₄B₂C₃D₃, 因此, 确定薛荔叶和花序托提取总黄酮的最适条件均为 70~75℃ 的提取温度, 70% 乙醇, 40 倍于样品的乙醇用量, 4 h 的提取时间。4 种因素中提取温度和乙醇用量两因素对叶和花序托浸提液中总黄酮的含量有较显著的影响。

表 1 不同抽提因素对薛荔叶总黄酮提取率的影响 [L9(3⁴)]

Table 1 Effects of different factors on total flavonoid extraction rate from the leaves of *Ficus pumila* L. [L9(3⁴)]

组合 Compose	因素 ¹⁾ Factors ¹⁾				总黄酮提取率 (%) Total flavonoid content of leaves
	A	B	C	D	
1	50~55	60	2	1:20	3.50
2	50~55	70	3	1:30	3.93
3	50~55	80	4	1:40	4.18
4	70~75	60	3	1:40	4.50
5	70~75	70	4	1:20	4.40
6	70~75	80	2	1:30	4.00
7	90~95	60	4	1:30	4.05
8	90~95	70	2	1:40	4.36
9	90~95	80	3	1:20	3.87
I _j	11.61	12.05	11.86	11.77	
II _j	12.90	12.69	12.30	11.98	I _j + II _j + III _j = 36.79
III _j	12.28	12.05	12.63	13.04	
I _j	3.87	4.016	3.95	3.92	
II _j	4.30	4.23	4.10	3.99	I _j + II _j + III _j = 12.26
III _j	4.09	4.016	4.21	4.35	
R _j	0.43	0.21	0.26	0.43	

¹⁾A: 提取温度 extracting temperature (°C); B: 乙醇浓度 ethanol concentration (%); C: 浸提时间 extracting time (h); D: 乙醇用量 ethanol capacity (mL).

2.2 不同提取剂对薛荔叶和花序托总黄酮提取的影响

采用表 1 和表 2 中薛荔叶和花序托总黄酮的最佳提取条件, 以蒸馏水为对照, 用 70% 甲醇、70% 乙醇为提取液提取总黄酮, 结果见表 3。

从表 3 可以看出, 不同提取剂对薛荔和花序托总黄酮的提取得率影响显著, 以 70% 乙醇为提取剂效果最佳。

实验表明, 薛荔叶及花序托总黄酮的提取以 70% 乙醇为提取剂效果较好。影响薛荔叶和花序托总黄酮乙醇提取的条件一致, 二者可放在一起浸提, 浸提温度及乙醇用量对提

取率影响较大。薛荔资源丰富, 薛荔叶和花序托的总黄酮含量较高, 因此进一步开展薛荔黄酮对人体生理生化作用机理的研究, 定能发挥薛荔黄酮更大的价值。

表 2 不同提提因素对薛荔花序托总黄酮提取率的影响 [L9(3⁴)]

Table 2 Effects of different factors on total flavonoid extraction rate from the receptacle of inflorescenc of *Ficus pumila* L. [L9(3⁴)]

组合 Compose	因素 ¹⁾ Factors ¹⁾				总黄酮提取率 (%) Total flavonoid content from the receptacle of inflorescence
	A	B	C	D	
1	50~55	60	2	1:20	1.66
2	50~55	70	3	1:30	1.90
3	50~55	80	4	1:40	2.02
4	70~75	60	3	1:40	2.77
5	70~75	70	4	1:20	2.55
6	70~75	80	2	1:30	1.93
7	90~95	60	4	1:30	2.22
8	90~95	70	2	1:40	2.35
9	90~95	80	3	1:20	1.52
I _j	5.58	6.65	5.94	5.73	
II _j	7.25	6.80	6.19	6.05	I _j + II _j + III _j = 18.92
III _j	6.09	5.47	6.79	7.14	
I _j	1.86	2.21	1.98	1.91	
II _j	2.42	2.27	2.06	2.01	I _j + II _j + III _j = 6.30
III _j	2.03	1.82	2.26	2.38	
R _j	0.57	0.45	0.28	0.47	

¹⁾A: 提取温度 extracting temperature (°C); B: 乙醇浓度 ethanol concentration (%); C: 浸提时间 extracting time (h); D: 乙醇用量 ethanol capacity (mL).

表 3 不同提取剂对薛荔叶和花序托总黄酮提取率的影响

Table 3 Effects of different reagents on total flavonoid extracting from leaves and receptacle of inflorescenc in *Ficus pumila* L.

提取剂 Extracting reagents	叶中总黄酮 Total flavonoid in leaves		花序托中总黄酮 Total flavonoid in receptacle	
	含量 Content (%)	得率 Extract rate (%)	含量 Content (%)	得率 Extract rate (%)
	蒸馏水 H ₂ O	3.29	100	0.61
70% 甲醇 70% methanol	4.27	130	1.01	166
70% 乙醇 70% ethanol	5.11	155	3.15	516

参考文献

- [1] 曾广方, 姚天荣. 薛荔化学成分的研究[J]. 药学报, 1965, 12(9): 577~583.
- [2] 元晓梅, 蒋明蔚, 胡正芝. 聚酰胺吸附——硝酸铝显色法测定山楂制剂中总黄酮含量[J]. 食品与发酵工业, 1996, (4): 27~32.

(责任编辑: 惠 红)