

少花龙葵果总黄酮提取及抗氧化性研究

贤景春¹, 陈明真², 许智海¹

(1. 泉州师范学院化学与生命科学学院, 泉州 362000; 2. 北京师范大学泉州附属中学, 泉州 362000)

摘要: 采用乙醇浸提法研究少花龙葵果中黄酮类物质的提取及其抗氧化性能。探讨溶剂浓度、温度、时间、料液比对黄酮提取的影响, 并用正交试验优化了提取总黄酮的最佳提取条件。结果表明, 最佳条件是: 乙醇浓度为 60%, 提取温度为 70℃, 时间为 2.5 h, 料液比为 1:12(g:mL)。此条件下测得总黄酮含量为 3.68 mg·g⁻¹, 提取物对羟自由基有较好的清除效果。

关键词: 少花龙葵果; 黄酮; 自由基清除

中图分类号: Q946.8

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2013)01-0130-04

Extract of total flavone from fruit of *Solanum photeinocarpum* and analysis of its antioxidant activity

XIAN Jing-chun¹, CHEN Ming-zhen², XU Zhi-hai¹

(1. School of Chemistry and Life Science, Quanzhou Normal College, Quanzhou 362000;

2. Quanzhou Affiliated Middle School, Beijing Normal University, Quanzhou 362000)

Abstract: This paper aims to extract total quantity flavone from fruit of *Solanum photeinocarpum* and to study its resistance to oxidation. The effects of solution concentration, temperature, time and ratio of material to liquid on the extraction of total quantity of flavone were discussed. Meanwhile, optimal condition for extraction of total flavone from fruit of *Solanum photeinocarpum* were chosen through orthogonal experiment. As a result, using 60% ethanol as extractant, extraction for 2.5 h at 70℃ in a ratio of material to liquid 1:12, the yield of extraction can reach up to 3.68 mg·g⁻¹. Extracts from fruit of *Solanum photeinocarpum* have strong antioxidative effects.

Key words: fruit of *Solanum photeinocarpum*; flavone; scavenging of radicals

少花龙葵别名白花菜,为茄科一年生草本植物,多生长在果园、田野、路旁等地。主要分布在广东、广西、海南、贵州、福建、黑龙江、吉林等^[1]。少花龙葵果未成熟之前为绿色,成熟后为黑褐色,比黄豆粒稍大,酸甜可口,人们可作为果实食用。少花龙葵嫩叶可作蔬菜食用,全草可入药。具清热利湿、凉血解毒功效,常用作治疗高血压病、痢疾、扁桃体炎、肺热咳嗽、牙龈出血、眼疾及呼吸道疾病等^[2]。黄酮类化合物具有多种生物活性,在抗氧化、抗癌、防癌、抑制脂肪酶等方面也有显著效果^[3]。对少花龙葵果黄酮的提取目前还未见相关报道。作者通过单因素和正交试验,确定了龙葵果黄酮提取最佳条件,并讨论了提取物对羟自由基的抑制活性,

为少花龙葵果药用保健开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

少花龙葵果(采自泉州师范学院后山),芦丁(中国药品生物制品检定所),无水乙醇(西陇化工股份有限公司),亚硝酸钠、双氧水(上海联试化工试剂有限公司),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),水杨酸(天津市化工研究所)。电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);循环水真空泵(郑州长城科工贸有限公司);721E型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

收稿日期: 2012-08-29

基金项目: 泉州市科技计划项目(2007N4)资助。

作者简介: 贤景春,女,教授。E-mail: xjc019@yahoo.com.cn

1.2 方法

1.2.1 黄酮含量测定 标准工作曲线的制作。分别吸取 $0.10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的芦丁对照液 0.00 、 0.50 、 1.00 、 2.00 、 3.00 、 4.00 、 5.00 mL 于 10.00 mL 容量瓶中, 分别加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.50 mL , 摇匀, 静置 6 min 。加入 10% 硝酸铝溶液 0.50 mL , 摇匀, 静置 6 min , 再加入 4% 氢氧化钠溶液 4.00 mL , 用 30% 乙醇溶液定容至刻度, 摇匀, 静置 12 min , 于 510 nm 处测吸光度^[4]。标准工作曲线回归方程为: $A=0.01621+18.24198X$, $r=0.9992$ 。

样品黄酮含量测定。取 4.00 mL 提取液置于 10 mL 的容量瓶中, 按照 1.2.1 方法测定吸光度^[5]。

1.2.2 总黄酮提取方法 称取处理过的(洗涤、杀青、干燥、粉碎、过 60 目筛)少花龙葵果粉末 1.0000 g , 置于平底烧瓶中, 在不同(浸提温度, 乙醇浓度, 温度, 料液比)的条件下提取。冷却, 抽滤后得滤液, 用乙醇溶液定容至 100 mL 。

1.2.3 提取物对·OH 自由基的清除作用 A_0 值测定。参照 Fenton 反应方法建立反应体系模型^[6]。取 $8.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的双氧水溶液 1 mL 和 $9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫酸亚铁溶液 1 mL , 混合后加入 1 mL $9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水杨酸—乙醇溶液, 用蒸馏水定容至 10 mL 。在 37°C 的恒温水浴锅中反应 15 min , 冷却后在 510 nm 处测其吸光度 A_0 值。

A_X 值测定。将提取配制成 $(1, 2, 3, 4) \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列待测溶液。移取 0.5 mL 待测液加入反应体系, 测定吸光度 A_X 值^[7]。

清除率($\%$)= $(A_0 - A_X) / A_0 \times 100$ (A_0 为试剂空白液的吸光度, A_X 为加提取液时的吸光度)。

1.2.4 正交试验 对黄酮提取影响明显的乙醇浓度、提取温度、提取时间、料液比等因素进行单因素试验的基础上, 选择 $L_9(3^4)$ 正交试验^[9]对总黄酮提取工艺进行优化, 其因素水平见表 1。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels of experiment

水平 Level	A 料液比/ $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Ratio of material to liquid	B 温度/ $^\circ\text{C}$ Temperature	C 时间/h Time	D 浓度/ $\%$ Concentration
1	1:12	50	1.5	50
2	1:14	60	2.0	60
3	1:16	70	2.5	70

2 结果与分析

2.1 乙醇浓度对黄酮提取的影响

在提取温度为 70°C , 料液比为 $1:10$, 提取时间 2 h 的条件下, 乙醇浓度对黄酮提取的影响如图 1 所示。

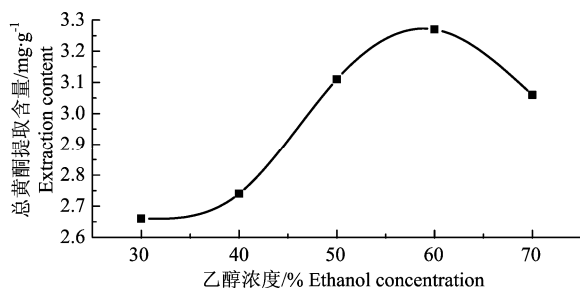


图 1 乙醇浓度对黄酮提取的影响

Figure 1 Effects of ethanol concentration on total flavone extraction

由图 1 可知, 随着乙醇浓度的提高, 黄酮含量也增加, 但浓度超过 60% 后提取含量下降。这是因为各种苷类物质由于极性与结构等性质, 易溶于(甲醇、乙醇、乙醚等)有机溶剂中, 所以在乙醇浓度

较小时, 浓度增加黄酮提取率加大。当浓度超过 60% 以后, 可能是某些脂溶性物质溶出增加, 影响了黄酮的溶解^[8]。

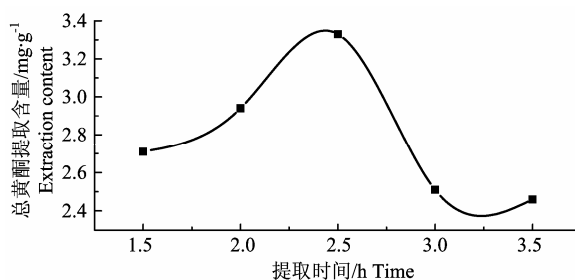


图 2 时间对黄酮提取的影响

Figure 2 Effects of time on total flavone extraction

2.2 时间对黄酮提取的影响

在提取温度为 70°C , 料液比为 $1:10$, 乙醇浓度为 60% 的条件下, 提取时间对少花龙葵果实中黄酮提取的影响如图 2 所示。当提取时间为 2.5 h 时, 提取效果最好。这可能是因为时间较短, 黄酮类物质还未充分溶出。而时间太长, 提取液的有效成分已达平衡, 其他杂质也会溶出, 造成提取率下降^[8]。

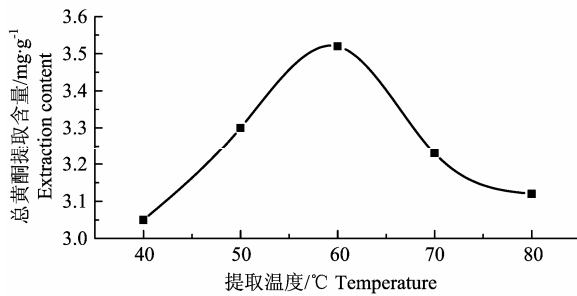


图 3 温度对黄酮提取的影响

Figure 3 Effects of temperature on total flavone extraction

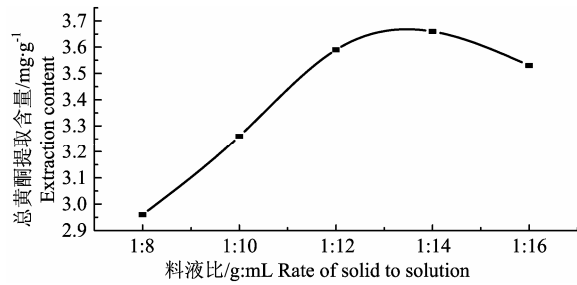


图 4 料液比对黄酮提取的影响

Figure 4 Effects of rate of solid to solution on total flavone extraction

2.3 温度对黄酮提取的影响

在乙醇浓度为 60%，料液比为 1:10，提取时间为 2 h 的条件下，温度对黄酮提取的影响如图 3 所示。由图 3 可知，在温度较低时，随着温度的升高，提取含量增大，在 60℃ 出现峰值。当温度超过 60℃ 后，总黄酮得率有所下降。

2.4 料液比对提取含量的影响

在提取温度为 70℃，乙醇浓度为 60%，提取时间为 2 h 的条件下，料液比对黄酮提取的影响如图 4 所示。结果表明：料液比为 1:14 的提取效果达到最佳，再扩大料液比，黄酮含量反而会减小。

2.5 正交试验结果分析

正交试验结果见表 2。从表 2 可以看出，各因素对提取效果影响的大小顺序是：D>A>C>B，即乙醇浓度对提取效果的影响最大，其次为料液比和提取时间，提取温度影响最小，最佳工艺为 A1B3C3D2，在此条件下进行 3 次平行试验，结果见表 3。

表 2 L9 (3⁴)的正交试验结果及极差分析

Table 2 Orthogonal experiment L9 (3⁴) and analytical results

序号 No.	A	B	C	D	黄酮含量/mg·g ⁻¹ Flavone content
1	1	1	1	1	3.406
2	1	2	2	2	3.661
3	1	3	3	3	3.417
4	2	1	2	3	3.318
5	2	2	3	1	3.433
6	2	3	1	2	3.564
7	3	1	3	2	3.591
8	3	2	1	3	3.343
9	3	3	2	1	3.432
K ₁	10.484	10.315	10.313	10.271	
K ₂	10.315	10.387	10.361	10.766	
K ₃	10.366	10.413	10.441	10.078	
k ₁	3.495	3.438	3.438	3.424	
k ₂	3.438	3.462	3.453	3.589	
k ₃	3.455	3.471	3.480	3.359	
R	0.057	0.033	0.042	0.065	

表 3 验证结果

Table 3 Verification results

序号 No.	工艺条件 Condition	黄酮含量/mg·g ⁻¹ Flavone content	平均含量/mg·g ⁻¹ Average content
1	温度 70℃；时间 2.5 h	3.66	
2	乙醇浓度 60%	3.69	3.68
3	料液比 1:12 (g:mL)	3.70	

2.6 对羟基自由基的清除作用

参照 1.2.3 方法测定了提取物对 ·OH 的清除作用见图 5。从图 5 可看出，龙葵果提取液对由 ·OH

有很好的清除作用。随提取液浓度的增加，对自由基的清除能力也增大，且在该浓度范围内清除率与浓度呈线性关系。

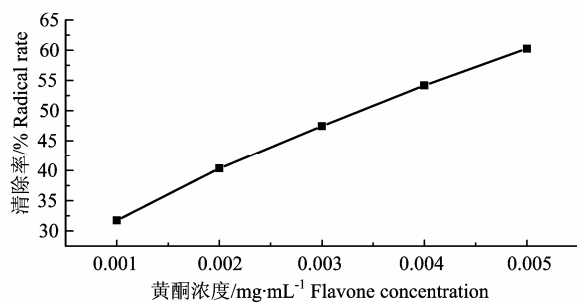


图 5 对羟基自由基的清除效果

Figure 5 Scavenging effects on hydroxyl radical

3 结论

通过单因素和正交试验, 确定最佳提取工艺为 $A_1B_3C_3D_2$, 即乙醇浓度 60%, 提取温度 70°C , 时间 2.5 h, 料液比 1:12 (g:mL)。在优化组合 $A_1B_3C_3D_2$ 条件下, 进行了 3 次平行验证性试验, 总黄酮平均提取含量为 $3.68 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 比正交试验结果中的较优组 $3.661 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 得率高, 表明此工艺为最优组合。和一般植物相比, 少花龙葵果提取液对 $\cdot\text{OH}$ 清除效果较强, 当黄酮浓度为 $0.005 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 清除率就达到了 60.27%。高于百合皂苷、人参皂苷和柿子醇提取物^[10-11], 说明少花龙葵果在生物医药方面具有开发应用前景。

参考文献:

- [1] 甘志勇. 野生少花龙葵稀土元素的分析[J]. 广西热带农业, 2009, 4: 22-24.
- [2] 段志芳, 黄丽华. 少花龙葵化学成分预试及抑制亚硝化反应研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1992-1994.
- [3] 宫玉婷, 王钰, 阿不都拉·阿巴斯. 梓树果实中黄酮类化合物提取工艺研究[J]. 食品科学, 2008, 29(4): 193-195.
- [4] 黄锁义, 黎海妮, 余美料, 等. 益母草总黄酮的提取及鉴别[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(5): 398-399.
- [5] 杨青, 任风莲. 黄花菜中黄酮的提取及其对羟自由基的作用[J]. 食品科学, 2004, 25(06): 141-143.
- [6] 李瑞光, 刘邻渭, 郑海燕, 等. 芦苇黄酮提取液体外抗氧化特性研究[J]. 西北农业学报, 2009, 18(4): 310-314.
- [7] 金鸣, 蔡亚欣, 李金荣, 等. 邻二氮菲- Fe^{2+} 氧化法检测 H_2O_2 下 Fe^{2+} 产生的羟自由基[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(6): 553-555.
- [8] 宫玉婷, 王钰, 阿不都拉·阿巴斯. 梓树果实中黄酮类化合物提取工艺研究[J]. 食品科学, 2008, 29(4): 193-195.
- [9] 黄秀香, 赖红芳, 刘云英. 正交设计法优选石南藤黄酮苷的提取工艺[J]. 应用化工, 2009, 38(7): 1040-1042.
- [10] 吴晓斌, 任风莲, 邱昌桂, 等. 百合皂苷的提取、纯化及其对自由基的清除作用[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(6): 777-780.
- [11] 徐胜龙, 杨建雄. 柿子醇提取物的体外抗氧化研究[J]. 食品科学, 2008, 29(4): 131-134.