

文章编号:1673-1689(2006)03-0084-04

枳椇子总黄酮提取工艺及其解酒作用

张会香, 杨世军, 张 静

(桂林工学院 材料与化学工程系, 广西 桂林 541004)

摘 要: 分别用水和乙醇作为溶剂加热提取枳椇子中的总黄酮,用比色法测定黄酮的含量,分别以提取时间、加热温度、料液比、提取次数等因素进行正交试验。对两种提取方法进行比较,确定各因素对提取效果的影响并对其解酒作用进行研究。水提取法的最优条件是:100℃,料液比 1 g : 8 mL,加热 0.5 h,回流提取 3 次;醇提取法的最佳条件:80℃,料液比 1 g : 6 mL,加热 1.5 h,以体积分数 50%的乙醇回流提取 3 次。实验结果显示,醇提取法比水提取法效果更好,枳椇子提取液具有一定的解酒作用。

关键词: 枳椇子; 黄酮; 提取; 解酒

中图分类号:Q 949.756

文献标识码: A

Extraction and Determination of Total Flavon from the Seeds of *Hovenia Dulcis* Thunb

ZHANG Hui-xiang, YANG Shi-jun, ZHANG Jing

(Department of Materials and Chemical Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China)

Abstract: This paper focused on the methods of reflux extration and spectrophotometric technique for extraction and determination of total flavon from the seeds of *Hovenia dulcis* Thunb. The result showed that the best extration condition by alcohol was to use 50% alcohol at 80℃ for 1.5 hours with 3 cycles; the best extration condition by water was to work at 100℃ for 0.5 hours with 3 cycles. The extraction from the seeds of *Hovenia dulcis* Thunb showed the effect of antialcoholism.

Key words: *Hovenia dulcis* Thunb; flavones; extraction; determination

枳椇子系鼠李科植物枳椇 (*Hovenia dulcis* Thunb) 的干燥成熟带肉质花序轴的果实及种子,具有很好的药理作用,其功效主要为清热利尿、止渴除烦、解酒等。近年来,国内外学者对枳椇子药理作用及其机制进行了大量的研究,有文献报道称,枳椇子对急性酒精中毒有预防作用。研究发现,枳

椇子的主要化学成分为黄酮类(包括山奈酚、洋芹素、4',5,7-三羟基-3',5'-二甲氧基黄酮、杨梅黄素、槲皮素、双氢杨梅黄素)和蒽醌类化合物大黄素^[1]等。现代医学表明:黄酮类物质具有降低心肌耗氧量,使冠状动脉和脑血管中血流量增加,抗心律失常,软化血管,降低血糖、血脂,抗氧化,消除机体内

收稿日期:2005-09-19; 修回日期:2005-11-10.

作者简介:张会香(1975-),女,陕西西安人,讲师,工学硕士.

万方数据

自由基,抗衰老和增强机体免疫力的功能。

黄酮类化合物又称黄酮体、黄碱素,是植物界分布最广的一类成分,具有广泛的生理活性,不仅用于防治高血压及动脉硬化的辅助治疗剂,而且具有抗炎、抗菌、抗病毒及很强的保肝作用,其化学结构为2-苯基色原酮,分子中具有酚羟基,可与 Al^{3+} 在碱性溶液中显色,在一定浓度下,其浓度与吸光度符合比耳定律,可用这种方法进行定量研究。

作者对枳椇子中黄酮成分的提取工艺进行了研究,确定了其最优提取工艺参数,并对其解酒作用进行了初步的研究。

1 材料与方法

1.1 仪器

YHG-远红外恒温干燥箱,BS210S型电子天平,TU-1800S紫外可见分光光度计,水浴锅,旋转蒸发仪。

1.2 试剂

枳椇子:市售;芦丁,芸香叶苷:中国医药集团上海化学试剂公司产品;亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、无水乙醇、甲醇,均为AR。

试验动物:二级昆明种小白鼠,体重20~25 g,桂林医学院提供。

1.3 实验方法

1.3.1 芦丁标准曲线的绘制 取芦丁标准品适量于小烧杯中,于105℃恒温干燥2 h,精确称量0.2000 g,置于100 mL容量瓶中,用70 mL甲醇温热3~5 min,溶解后加甲醇定容至100 mL。从上述溶液中吸取10 mL于100 mL容量瓶,用甲醇定容至100 mL,即得芦丁标准液(200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。

分别取芦丁标准液0,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 mL于6支试管中,用甲醇补足5 mL,分别加入质量分数5%的 NaNO_2 溶液0.5 mL,摇匀放置6 min,然后再分别加入质量分数10%的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液0.5 mL,同样摇匀放置6 min,最后再加入质量分数4%的NaOH溶液4 mL,摇匀放置10~20 min,待测。

取标准样溶液从400~600 nm扫描波长,以确定实验的最大吸收波长,结果见图1。

黄酮类物质经 Al^{3+} 显色后,在500 nm有一明显吸收峰,以下以500 nm的最大吸收峰为测量波长。将上述芦丁待测液于500 nm的吸收波长下测其吸光度A,结果见图2。

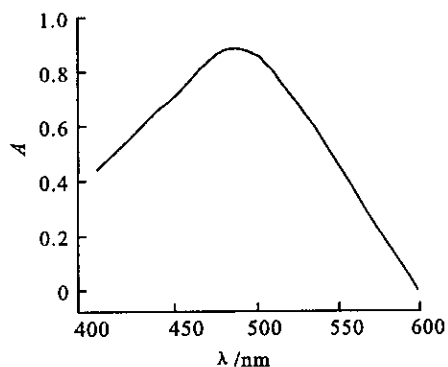


图1 芦丁标样紫外吸收光谱图

Fig. 1 TU-absorption spectra of standard sample

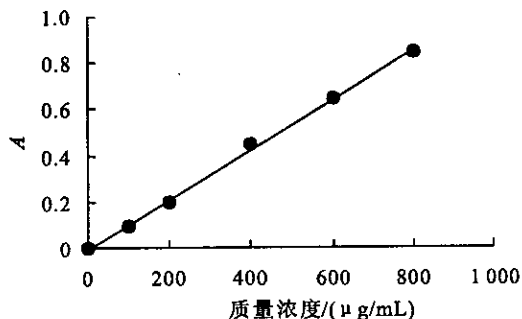


图2 芦丁吸光度标准曲线图

Fig. 2 Standard curve of the absorption capacity of standard sample

实验数据经回归后得到标准曲线为: $y=0.2153x-0.006(R^2=0.9987)$

根据标准曲线可以计算出黄酮类物质的实际含量。

1.3.2 提取方法 用电子天平称取枳椇子粉末10 g左右,置于圆底烧瓶中,再加入一定比例的溶剂,于一定温度恒温水浴中加热一定时间,提取液经真空浓缩过滤得滤液,待测。以制定芦丁标准曲线中相同的显色方法进行显色,在500 nm测定其吸光度。采用正交试验确定提取最佳工艺参数。

2 结果与分析

2.1 水提取法最佳条件的确定

根据单因素水平分析结果选取适当的因素水平,进行正交试验。选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验,因素水平如表1所示,正交试验结果见表2。

根据表2的极差分析,可以确定水提取法的最佳提取条件为 $A_3B_1C_3D_3$ 。因为此条件在正交试验中没有进行,所以在此条件下进行提取,测定后得出 $A_3B_1C_3D_3$ 条件下所提取出来的总黄酮质量分数为236.42 mg/hg大于表中最大值,证明此条件为最佳条件,即100℃、料水比为1 g:8 mL、0.5 h、

提取 3 次为最佳提取条件。

表 1 水提取法正交试验因素水平表

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal design of water extraction

水平	A 温度/ ℃	B 时间/ h	C 料水质量体积比/ (g : mL)	D 提取 次数
1	80	0.5	1 : 4	1
2	90	1.0	1 : 6	2
3	100	1.5	1 : 8	3

表 2 水提取法中正交试验结果及分析表

Tab. 2 The results of orthogonal test in water extraction

试验号	A	B	C	D	总黄酮 质量分数/ (mg/hg)
1	1	1	1	1	44.11
2	1	2	2	2	66.16
3	1	3	3	3	116.37
4	2	1	2	3	124.60
5	2	2	3	1	85.92
6	2	3	1	2	103.29
7	3	1	3	2	185.13
8	3	2	1	3	143.00
9	3	3	2	1	87.99
T ₁	226.64	353.84	294.4	218.02	
T ₂	313.81	294.08	278.75	354.58	
T ₃	416.12	307.65	387.42	383.97	

2.2 醇提取法

根据单因素水平分析结果选取适当的因素水平,进行正交试验。选用 L₉(3⁴)正交表进行正交试验,因素水平如表 3 所示。

表 3 醇提取法正交试验因素水平表

Tab. 3 Factors and levels of orthogonal design of alcohol extraction

水平	A 醇体积分数/%	B 温度/℃	C 时间/h	D 提取次数
1	50	60	0.5	1
2	70	70	1.0	2
3	30	80	1.5	3

试验结果如表 4 所示。通过极差分析,可以得出醇提取法的最优条件是:A₁B₃C₃D₃,即以乙醇体积分数 50%、80℃、1.5 h、提取 3 次为最佳提取工艺参数。万方数据

表 4 醇提法中正交试验结果及分析表

Tab. 4 The results of orthogonal test in alcohol extraction

试验号	A	B	C	D	总黄酮 质量分数/ (mg/hg)
1	1	1	1	1	71.46
2	1	2	2	2	154.99
3	1	3	3	3	294.93
4	2	1	2	3	104.36
5	2	2	3	1	83.88
6	2	3	1	2	134.06
7	3	1	3	2	149.82
8	3	2	1	3	220.66
9	3	3	2	1	121.76
T ₁	521.383	25.644	26.18	277.1	
T ₂	322.345	9.53	381.11	438.87	
T ₃	492.24	550.75	528.63	619.95	

2.3 浓缩提取液的吸光度测定

取提取液减压蒸馏,得浓缩液,以此浓缩液为样本,经 Al³⁺显色后在 500 nm 测其吸光度,计算其黄酮质量浓度为 447.29 μg/mL。

2.4 体外解酒试验

取上述浓缩提取液与白酒以一定比例混合,并以纯水作对照,采用 GB5009.48—85(比重法)测定乙醇体积分数,研究枳椇子提取液在体外解酒作用,结果见表 5。

表 5 体外解酒试验结果

Tab. 5 Result of level of alconol concentration test

测试溶液	乙醇体积分数/%
酒精	56
浓缩液	0
V(酒精):V(浓缩液)=60:40	28
V(酒精):V(浓缩液)=70:30	30
蒸馏水	0
V(酒精):V(蒸馏水)=60:40	37
V(酒精):V(蒸馏水)=70:30	38

根据体外解酒试验,可以看出试验中提取出来的枳椇子总黄酮具有较明显的解酒作用。

2.5 动物实验

取小鼠 12 只,随机分为对照组和试验组,禁食 12 h 后,灌酒 17 mL/kg(以体重计),15 min 后试验组灌浓缩提取液 37 mL/kg,对照组灌蒸馏水,灌胃

体积同试验组。各组在灌酒后 30,60,90,120,150,180 min 时分别在小鼠眼底静脉采血,测定血醇体积分数^[8]。

表 6 枳椇子总黄酮提取液对醉酒小鼠血中乙醇体积分数的影响($\bar{X}\pm S$)₆

Tab.6 The effects of total flavon from the Hovenia dulcis. Thunb on the alcohol concentration in mice blood						
(μL/mL)						
组别	时间/min					
	30	60	90	120	150	180
对照	2.362±0.709	3.735±0.764	5.022±0.678	5.680±0.774	5.320±0.931	4.979±0.805
试验	1.990±0.738	3.212±0.665	3.788±0.546*	3.672±0.709**	3.591±0.978*	3.333±0.781*

注: * $P<0.05$, * * $P<0.01$ 。

由表 6 可知,在 30 min 和 60 min 时,试验组血

醇虽小于对照组,但差异无显著性($P>0.05$),然而在 90、150、180 min 时,两组相比差异均显著($P<0.05$),且在 120 min 时两者相比差异极显著($P<0.01$),说明枳椇子总黄酮提取液具有降低醉酒动物血中乙醇浓度的作用。

3 讨 论

黄酮类化合物在甲醇中的溶解度最高,显色反应灵敏度也最高,但是考虑到甲醇的毒性及易挥发性,所以测定方法中采取乙醇和水作为溶剂进行试验,结果发现其灵敏度比甲醇略低,但并不影响测定的结果。通过体外解酒试验和动物实验,可以看出枳椇子总黄酮具有较明显的解酒作用,但要了解其解酒机理,还需进一步研究。

参考文献:

[1] 沙美,丁林生. 枳椇子的化学成分研究[J]. 中国药科大学学报,2001,32(6):418—420.
[2] 赵丽娟,王翠艳. 葛根总黄酮的两种不同提取方法比较[J]. 鞍山钢铁学院学报,2002,25(2):96—100.
[3] 于村,俞莎. 保健食品中总黄酮测定方法的研究[J]. 中国卫生检验杂志,2002,12(4):401—402.
[4] 任发政,罗云播. 枳椇子影响乙醇代谢机理研究[J]. 食品科学,2002,23(12):58—60.
[5] 田新玲,晏佩霞. 分光光度计法测定天然植物中黄酮含量[J]. 仪器仪表与分析监测,2003,(3):254—256.
[6] 嵇扬,陆红. 枳椇子药理研究概况[J]. 中医药学报,2002,30(1):54—56.
[7] 张洪,叶丽萍. 枳椇子有效部位的初步研究[J]. 广东药学报,2003,19(2):111—115.
[8] 刘志民. 现代实用毒物分析[M]. 北京:人民卫生出版社,1984.

(责任编辑:朱 明)