

金樱子总黄酮的超声提取工艺研究

【摘要】目的：研究金樱子总黄酮的最佳提取工艺。**方法：**以芦丁为对照品，以总黄酮含量为指标，采用超声提取法，对超声功率、超声时间、乙醇体积分数三个因素进行单因素分析试验，通过 Box-Behnken 设计-响应面法，得出金樱子总黄酮的最佳提取工艺。**结果：**最佳提取工艺条件为超声功率 400w，超声时间 40 min，乙醇体积分数 66 %。在该条件下，金樱子总黄酮平均含量为 49.52 mg/g，与预测值的误差为 2.5%，较为接近。**结论：**响应面优化得到的金樱子总黄酮的最佳提取工艺合理、可靠。

【关键词】金樱子；超声提取工艺；总黄酮；响应面法

Study on Ultrasonic Extraction Technology of Total Flavonoids from Rosa Laevigata

[Abstract] Objective: To study the best extraction technology of total flavonoids from Rosa laevigata. **Methods:** With rutin as the reference substance and the content of total flavonoids as the index, the ultrasonic extraction method was used, and the single factor analysis experiment was carried out on three factors: ultrasonic power, ultrasonic time and ethanol volume fraction. The optimum extraction technology of total flavonoids from Rosa laevigata was obtained by Box-Behnken design-response surface method. **Results:** The optimum extraction conditions were ultrasonic time 40 min, ultrasonic power 400w and ethanol volume fraction 66%. Under these conditions, the average content of total flavonoids in Rosa laevigata was 49.52mg/g, and the error with the predicted value was 2.5%. **Conclusion:** The optimum extraction process of total flavonoids from Rosa laevigata was reasonable and reliable.

[Keywords] Rosa laevigata Ultrasonic extraction process Total flavonoids
Response surface method

目 录

1 前言	1
2 材料与仪器	3
2.1 材料	3
2.2 仪器	3
3 方法与结果	4
3.1 对照品溶液的制备	4
3.2 供试品溶液的制备	4
3.3 检测波长的选择	4
3.4 标准曲线的建立	5
3.5 方法学考察	6
3.5.1 精密度试验	6
3.5.2 稳定性试验	6
3.5.3 重复性试验	7
3.5.4 加样回收率试验	7
3.6 单因素试验	8
3.6.1 超声功率	8
3.6.2 超声时间	9
3.6.3 乙醇体积分数	10
3.7 响应面优化	10
3.7.1 响应面试验	10

3.7.2 回归方程的建立及显著性分析	11
3.7.3 响应面交互作用分析	13
3.8 最佳工艺验证	14
4 讨论	15
4.1 显色剂的选择	15
4.2 对照品溶液浓度的选择	15
4.3 标准曲线浓度的选择	16
4.4 最佳提取工艺条件的修正	17
4.5 实验操作注意事项	17
5 结论	19
参考文献	20
致谢	22

1 前言

金樱子是一种常见的中药材，属于蔷薇科植物，科学名称为 *Rosa laevigata* Michx.。又称为“伪樱桃”、“山樱桃”等。主要分布于中国中南部地区。金樱子最早见于五代《蜀本草》，该书描述了金樱子的外在一特征：具刺 **Error! Reference source not found.**。相关记载中又有白玉带、下山虎、刺藤棘、刺郎子树、蜈蚣子树、糖罐子、三叶勒等之名 **Error! Reference source not found.**。金樱子药用部分为果实，果实较小，呈圆形或卵形，直径约 1 厘米左右，果皮为红色或暗红色。果实成熟后，可食用或制成药材使用，药用部分主要为果实中的种子。

金樱子是一种含有丰富药用成分的中药材，其主要化学成分包括有机酸、糖类、鞣花酸、维生素 C、维生素 E 等。其中，黄酮类化合物是其主要的药效成分之一，如芦丁、槲皮素、芹菜素等。据樊小瑞 **Error! Reference source not found.**等对金樱子的研究进展表明，金樱子黄酮类物质含量最多时可达 87 mg/g，成熟期之后则在 62 mg/g 左右。这些黄酮类成分具有多种药理作用，如抗炎、抗菌、抗肿瘤、降血压、降血脂、保护心血管和神经系统等。根据彭成 **Error! Reference source not found.**等的研究表明，金樱子总黄酮可以有效地抑制革兰氏阳性菌的生长，其中包括金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌等多种细菌。这种天然植物提取物具有极佳的抑菌特性，能够有效地控制细菌的繁殖和扩散。此外，金樱子还含有一定量的苯乙醇类成分，如香草酸和对羟基苯甲酸等，这些成分也具有抗菌、消炎、镇痛、保护肝脏等作用。因此，金樱子是一种非常有价值的中药材。研究发现金樱子果实的植物提取物可生物合成纳米银，作为抗菌抗癌药物具有潜在应用价值，证实了银离子可还原成单质银纳米颗粒 **Error! Reference source not found.**。金樱子的给药可降低免疫球蛋白 E (IgE)、Th2 相关细胞因子和促炎细胞因子的水平，口服和气管内给予金樱子可通过下调 MAPK 通路减少 Th2 相关细胞因子、促炎细胞因子和 IgE 的分泌来发挥抗哮喘作用 **Error! Reference source not found.**。此外，金樱子也具有抗氧化和抗癌作用，对 HT-29 人结肠恶性肿瘤细胞株具有抑制作用 **Error! Reference source not found.**。

目前,随着中药现代化研究的推进,越来越多的科研学者开始关注金樱子总黄酮这一天然植物提取物。近年来,越来越多的文献报道了金樱子总黄酮的研究成果,其中包括其清除自由基、抗氧化等多种生物活性作用。尤其是在糖尿病及其并发症治疗中,金樱子总黄酮的应用也逐渐得到了广泛关注和应用^{Error! Reference source not found.}^{Error! Reference source not found.}。其抗氧化能力与丁基羟基甲苯相当,并能够有效清除超氧阴离子自由基和抑制羟自由基对细胞膜的破坏^{Error! Reference source not found.}。除了上述作用,金樱子总黄酮还有保护肝脏的功效。^{Tao}^{Error! Reference source not found.}等的研究表明,金樱子总黄酮有保护肝脏的作用,对于预防和治疗肝脏疾病具有一定的潜力。具体来说,金樱子总黄酮还能够改善肝组织的病理和超微结构,从而减轻肝脏 I/R (缺血/再灌注) 损伤所致的氧化应激反应。它具有降低血清中多种酶活性的作用,包括 AST、ALT、LDH 和 MPO。因此,开发和利用金樱子资源具有重要的经济意义。这些研究结果无时无刻不都在说明金樱子总黄酮发挥着重要的作用。因此,在这个前提下,如何在节约成本减少损耗的条件下得到最大的总黄酮含量是一个重要的问题。

提取工艺可选择超声提取法,其为较为常见的总黄酮提取工艺,被广泛应用于食品、药品、化妆品等领域中。它高效、快速、环保、安全、可重复,可利用高频振动产生的声波来刺激物质分子,使其内部有效成分更好地融入提取溶剂中,从而更好的提取。

响应面法和正交实验法都是常用的实验方法,用于优化产品或过程的性能和参数。响应面法是一种统计方法,通过建立数学模型来预测和优化响应变量的值。它可以在较少实验次数的情况下确定影响响应变量的主要因素,并确定这些因素的最佳水平组合。响应面法相对于正交实验法的优点在于:响应面法可以在较少的实验次数内确定最佳参数组合,并且可以建立数学模型来预测和优化响应变量的值,从而节省了实验时间和成本,降低了试验误差。同时,响应面法可以优化产品性能,提高产品的质量和竞争力。因此,在实际应用中,如果需要优化产品性能或过程参数,且实验次数有限,那么响应面法是一种更好的选择。

虽然目前科学界关于金樱子的研究的文章不胜枚举,但是大部分都是其在临

床上的药理作用,而关于金樱子总黄酮的提取工艺的研究文章却寥寥无几。因此,基于前人的研究基础,本课题选择研究金樱子总黄酮的提取,而提取工艺选择常见的超声提取,分析方法为响应面法。

2 材料与仪器

2.1 材料

芦丁对照品（纯度 98.65%，批号 RP200213，成都麦德生科技有限公司），金樱子（批号 201101301，产地广东，康美药业股份有限公司），乙醇、三氯化铝、醋酸钠均为分析纯。

2.2 仪器

表 1 主要实验仪器设备

仪器名称	型号	生产厂家
双光束紫外-可见分光光度计	T2602S	上海佑科仪器仪表有限公司
数控超声波清洗器	KQ-500DE	昆山市超声仪器有限公司
万分之一电子分析天平	BSA224S	赛多利斯科学仪器有限公司
六两装高速万能粉碎机	QE-300	浙江屹立工贸有限公司

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备

精密称取 2.4 mg 芦丁对照品，置 20 mL 容量瓶中，加入 70%乙醇溶液定容，摇匀，制成 0.12 mg/mL 的芦丁对照品溶液。

3.2 供试品溶液的制备

精密称取 0.1 g 金樱子粉末，置 50 mL 具塞锥形瓶中，加入 20 mL 70%乙醇溶液，在 40 °C 下以 350 w 超声功率进行 30 min 超声，过滤，精密吸取 10 mL 滤液置 20 mL 容量瓶，加入 70%乙醇溶液定容，即得供试品溶液。

3.3 检测波长的选择

精密吸取 1 mL 芦丁对照品溶液，置 10 mL 具塞试管中，加入 0.2 mol/L 的三氯化铝溶液 1.5 mL 及 1 mol/L 的醋酸钠溶液 2.0 mL，用 70%乙醇溶液定容，摇匀，以 70%乙醇溶液为空白对照，在 200 nm~600 nm 范围内进行扫描，见图 1。结果显示在波长 272 nm 处有最大吸收峰，因此确定检测波长为 272 nm。

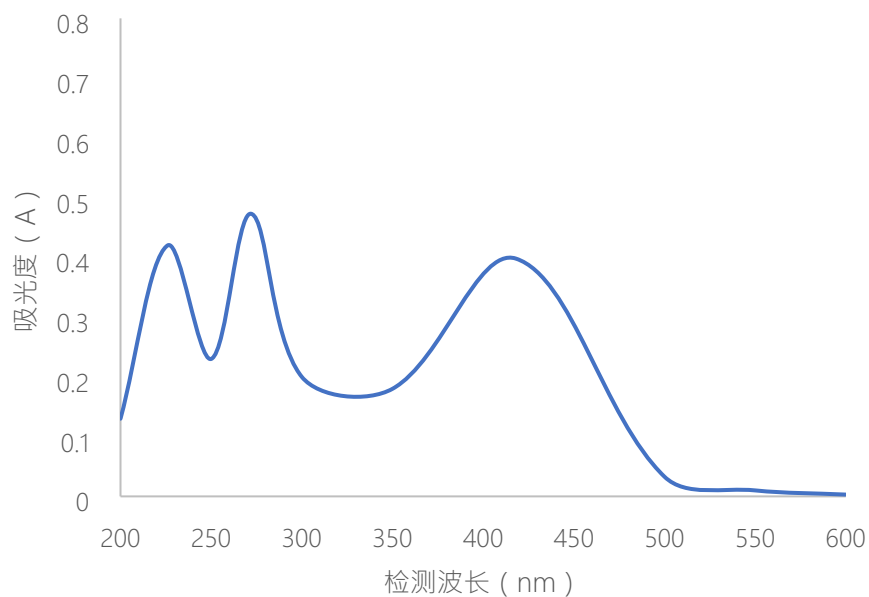


图 1 芦丁对照品吸收曲线

3.4 标准曲线的建立

精密吸取 0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8mL 芦丁对照品溶液,分别置 10 mL 具塞试管中,按照“3.3”项下方法进行显色,在 272 nm 波长处测定吸光度,结果见表 2。以吸光度(A)为纵坐标,以对照品浓度(C)为横坐标,绘制标准曲线,得见图 2。计算可得线性回归方程为: $y=36.486x-0.0313$, 相关系数 $R^2=0.9999$ 。表明芦丁对照品溶液在浓度为 0.008~0.018 mg/mL 范围内呈现良好的线性关系。

表 2 标准曲线的吸光度

取样量 (mL)	浓度 (mg/mL)	吸光度 (A)			平均吸光度 (A)
		1	2	3	
0.8	0.008	0.261	0.261	0.262	0.261
1.0	0.010	0.334	0.334	0.334	0.334
1.2	0.012	0.406	0.406	0.406	0.406
1.4	0.014	0.479	0.479	0.479	0.479
1.6	0.016	0.551	0.551	0.551	0.551
1.8	0.018	0.627	0.627	0.627	0.627

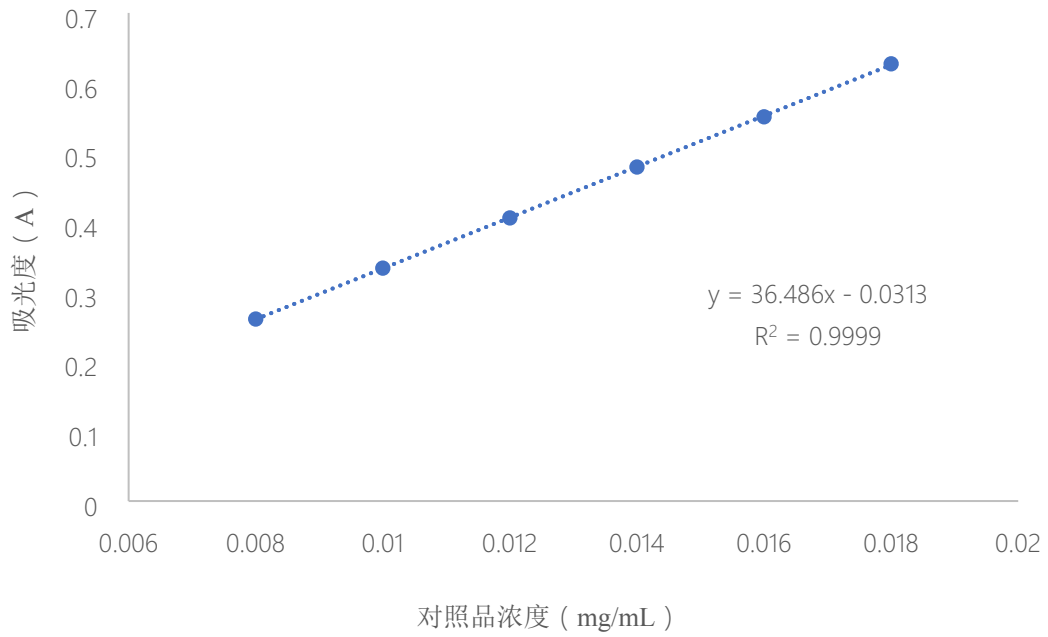


图 2 标准曲线建立

3.5 方法学考察

3.5.1 精密度试验

精密吸取 1 mL 芦丁对照品溶液，按照“3.3”项下方法进行显色，在 272 nm 波长处测定吸光度 A。平行测定 6 次，计算得到 RSD 值为 0.14%，见表 3，结果表明实验仪器精密度良好。

表 3 精密度试验结果

序号	吸光度(A)	RSD(%)
1	0.376	0.14
2	0.376	
3	0.376	

4	0.376
5	0.377
6	0.377

3.5.2 稳定性试验

精密称取 6 份 0.1 g 金樱子粉末，置 50 mL 具塞锥形瓶中，按“3.2”项下方法制备供试品溶液。精密移取供试品溶液 1 mL，置 10 mL 具塞试管中，按“3.3”项下方法进行显色，分别在 0、1、2、3、4、5 h 时在 272 nm 波长处测定吸光度 A，计算 RSD 值为 1.46%，见表 4。结果表明供试品溶液中在 5 h 内稳定性良好。

表 4 稳定性试验结果

时间 (h)	吸光度(A)	RSD(%)
0	0.387	
1	0.392	
2	0.380	
3	0.381	1.46
4	0.392	
5	0.392	

3.5.3 重复性试验

精密称取 6 份 0.1 g 金樱子粉末（批号：201101301），置 50 mL 具塞锥形瓶中，按“3.2”项下方法制备供试品溶液。精密移取供试品溶液 1 mL，置 10 mL 具塞试管中，按“3.3”项下方法进行显色，在 272 nm 波长处测定吸光度 A，并计算金樱子总黄酮平均含量为 45.44 mg/g，RSD 值为 0.14%，见表 5。结果表明该方法重复性良好。

表 5 重复性试验结果

序号	称样量 (g)	吸光度 (A)	总黄酮含量 (mg/g)	平均含量 (mg/g)	RSD(%)
1	0.1006	0.386	45.48		
2	0.1012	0.389	45.53		
3	0.1036	0.398	45.43		
4	0.1040	0.400	45.47	45.44	0.14
5	0.1025	0.393	45.38		
6	0.1035	0.397	45.37		

3.5.4 加样回收率试验

精密称取 6 份已知含量的金樱子粉末（批号：201101301），按 1:1 比例加入芦丁对照品，分别置 50 mL 具塞锥形瓶中，按“3.2”项下方法制备供试品溶液。精密移取供试品溶液 1 mL，置 10 mL 具塞试管中，按“3.3”项下方法进行显色，在 272 nm 波长处测定吸光度。计算得到平均加样回收率为 100.99%，RSD 为 1.38%，见表 6。结果表明该方法的准确度良好。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/535112223343011134>