

# 正交试验优化紫荆果总黄酮提取及其抗氧化性

陈园

郑州大学信息工程学院 河南 郑州

**摘要:** 为筛选紫荆果总黄酮的最佳提取工艺条件, 研究紫荆果总黄酮提取液对羟自由基(·OH)清除活性, 本文采用乙醇浸提法提取紫荆果中总黄酮, 考察乙醇浓度、料液比、浸提温度、浸提时间四个单因素对紫荆果总黄酮提取率的影响, 设计正交实验确定最佳提取工艺条件。与二丁基羟基甲苯(BHT)对照, 初步探究紫荆果总黄酮对羟自由基的清除活性。结果显示, 紫荆果总黄酮的提取率在料液比1:10, 浸提时间2h, 温度60℃, 乙醇浓度80%条件下为最高。对羟自由基清除活性高于同浓度的BHT, 且随浓度升高而增大。

**关键词:** 紫荆果 总黄酮 提取率 抗氧化性

**中图分类号:**

**文献标识码:**

**文章编号:**

## Flavonoids Extracted from *Cercis chinensis* Bunge Fruit with an Orthogonal Test and Its Antioxidant

School of Information Engineering/Zhengzhou University, Zhengzhou, China

Abstract

*Cercis chinensis*

℃

**Keywords** *Cercis chinensis*

黄酮类化合物是一类多酚类物质, 在自然界中广泛分布, 属于植物次级代谢产物。它是大多数自由基的清除剂, 有较强的抗氧化活性, 具有抗菌、消炎、清热解毒、镇静、利尿等作用。黄酮类化合物安全、无毒, 在医药、食品加工等方面已被广泛应用。

紫荆 *Cercis chinensis*, 属豆科植物, 因其木似黄荆而色紫, 故名。又名, 满条红、乌桑、箩筐树、紫金盘、扁头翁。根皮 紫荆根皮、木部 紫荆木、花 紫荆花、果实 紫荆果 供药用, 其树皮和木材可入药, 具有活血行气、清热解毒、消肿止痛等功效。紫荆花可用于治疗风湿骨痛、鼻中疳疮。紫荆果可治疗咳嗽。研究发现, 紫荆含有丰富的黄酮类化合物。目前为止, 已有从紫荆花和紫荆皮中提取总黄酮的研究, 尚未发现有关紫荆果中总黄酮的研究报道, 本研究对紫荆果中总黄酮的含量进行了测定, 并以总黄酮得率为考察指标 优化其醇沉提取工艺, 并初步探究提取物的抗氧化性质, 即对羟自由基的清除活性, 为紫荆在医药及食品等领域的应用提供数据参考。

### 1 材料与仪器

紫荆果, 采集于郑州人民公园, 洗净, 烘干, 粉碎(备用)。

无水乙醇、芦丁、二丁基羟基甲苯、水杨酸、氢氧化钠、硝酸铝、亚硝酸钠、硫酸亚铁、双氧水、氯化铁。均为市购, 优级纯。

电子天平(德国赛多利斯)、可见分光光度计(上海光学仪器厂)、型高速多功能粉碎机 上海硕光科技有限公司、电热恒温干燥箱(北京金志业仪器设备有限责任公司)、电热恒温水浴锅(北京三二八科学仪器有限公司)。

### 2 实验方法

#### 2.1 芦丁标准曲线的绘制

准确吸取 的芦丁标准液、

收稿日期:

修回日期:

作者简介: 陈园

女 硕士 讲师 研究方向 计算机应用

分别置于 容量瓶中,各加入 亚硝酸钠溶液 ,摇匀,静置 ;加 硝酸铝溶液 ,摇匀,静置 ;加 氢氧化钠溶液 ,用浓度为 的乙醇溶液定容至 ,摇匀,静置 。在 波长处以试剂空白为参比测定吸光度,绘制标准曲线得回归方程,  $A$   $C, R$  。

## 2.2 紫荆果总黄酮的提取

将紫荆果洗净,干燥至恒重,磨碎,过 目筛。准确称取 的紫荆果粉末,用乙醇溶液做提取剂,水浴浸提,提取液过滤,用相同浓度的乙醇溶液洗涤并定容至 容量瓶中,即得总黄酮提取液。

用分光光度法在 波长处测紫荆果提取液的吸光度,按下式计算总黄酮提取率:

$$\text{总黄酮提取率} = \frac{C \times V}{M \times V}$$

式中:  $V$  为第二次定容后提取液的体积 ;  $V$  从母液中量取的提取液体积 ;  $C$  为提取液中总黄酮浓度;  $M$  为样品(紫荆果)质量。

## 2.3 紫荆果中总黄酮的提取单因素试验

乙醇浓度对总黄酮提取率的影响 准确称取 的紫荆果粉末,固定料液比为 ,改变提取剂乙醇浓度分别为 、 、 、 、 、 ,在  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴中浸提 ,将提取液冷却至室温过滤、洗涤、合并提取液和洗涤液,并用与提取剂相同浓度的乙醇溶液在 容量瓶中定容。在 波长处测其吸光度,做 组平行试验。将吸光度的平均值代入线性回归方程,计算提取液中总黄酮浓度和紫荆果中总黄酮提取率,选择较佳的提取剂浓度。

料液比对总黄酮提取率的影响 准确称取 的紫荆果粉末,固定提取剂乙醇的浓度为 ,提取温度  $^{\circ}\text{C}$ ,提取时间 ,改变料液比分别为: , , , , , 以总黄酮提取率为指标,考察料液比对紫荆果总黄酮提取率的影响。

浸提温度对总黄酮提取率的影响 准确称取 的紫荆果粉末,固定提取剂乙醇浓度为 ,料液比为 ,提取时间 ,提取温度分别为  $^{\circ}\text{C}$ 、  $^{\circ}\text{C}$ 、  $^{\circ}\text{C}$ 、  $^{\circ}\text{C}$ 、  $^{\circ}\text{C}$ 、  $^{\circ}\text{C}$ ,以总黄酮提取率为指标,考察提取温度对紫荆果总黄酮提取率的影响。

浸提时间对总黄酮提取率的影响 准确称取 的紫荆果粉末,固定提取剂乙醇的浓度为 ,料液比为 ,提取  $^{\circ}\text{C}$ ,浸提时间分别为 、 、 、 ,以总黄酮提取率为指标,考察提取时间对紫荆果总黄酮提取率的影响。

## 2.4 紫荆果总黄酮最佳提取工艺优化

在单因素试验结果基础上,以黄酮提取率为综合考察指标,选定料液比、浸提时间、浸提温度、乙醇浓度 因素 水平,设计 表进行正交试验,优化紫荆果中总黄酮提取工艺条件。

## 2.5 总黄酮对羟自由基的清除作用

参考 反应体系,加入不同体积的总黄酮提取液,在 波长处测定吸光度 。扣除提取液的本底吸收。按下式计算提取液中总黄酮对羟自由基的清除率,并以 (二丁基羟基甲苯)为对照,比较两种抗氧化剂对 的清除活性。

$$\text{清除率} ( )$$

式中: 为空白对照溶液吸光度; 为提取液吸光度; 为不加 提取液的本底吸光度。

## 3 结果与分析

### 3.1 紫荆果中总黄酮提取单因素实验及结果分析

乙醇浓度对总黄酮提取率的影响 乙醇浓度对总黄酮提取率影响见图 。

由图 可知,乙醇浓度在 之间,吸光度值逐渐增加,乙醇浓度在 之间,吸光度值逐渐降低。实验结果表明,当乙醇浓度为 时,吸光度值达到最大,总黄酮提取率最高。

即紫荆果中提取总黄酮，提取剂乙醇的最佳浓度为 。

料液比对总黄酮提取率的影响 料液比对总黄酮提取率影响见图 。

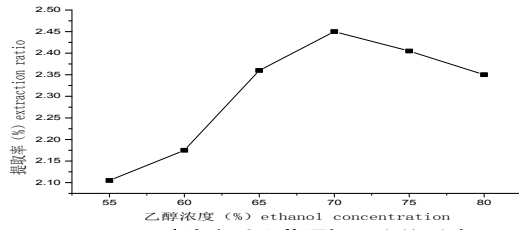


图 1 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响  
Fig.1 Effect of ethanol concentrations on the extraction ratio of flavonoids

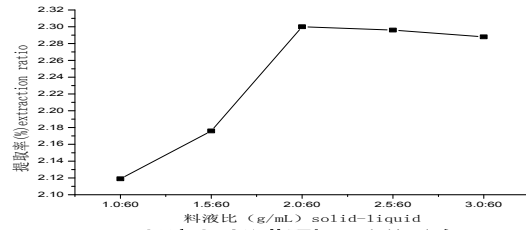


图 2 料液比对总黄酮提取率的影响  
Fig.2 Effect of solid-liquid ratio on the extraction ratio of total flavonoids

由图 可知，料液比为 时，测定提取液的吸光度值最大，即总黄酮提取率最高。

浸提温度对总黄酮提取率的影响 浸提温度对总黄酮提取率影响见图 。

由图 可知，在 ℃ ℃之间，总黄酮提取率随温度升高而增加，浸提温度高于 ℃，总黄酮提取率随着温度升高而降低，可能是由于提取物的热不稳定性，温度升高引起提取物热分解增加。

浸提时间对总黄酮提取率的影响 浸提时间对总黄酮提取率的影响见图 。

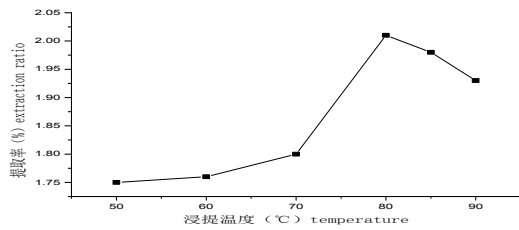


图 3 浸提温度对总黄酮提取率的影响  
Fig.3 Effect of temperatures on the extraction ratio of total flavonoids

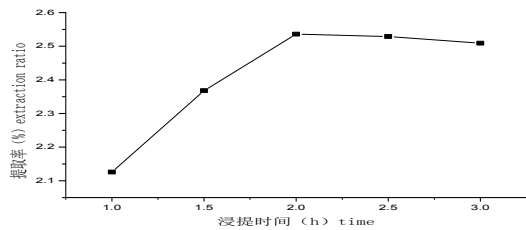


图 4 提取时间对总黄酮提取率影响  
Fig.4 Effect of leaching times on the extraction ratio of total flavonoids

由图 可知，总黄酮提取率开始随着时间延长而增加，当时间超过 后，总黄酮提取率不再增加，甚至随着时间延长而降低。探究其原因可能是随着时间延长提取剂乙醇的挥发损耗。实验结果显示紫荆果中总黄酮提取的较佳浸提时间为 。

### 3.5 正文实验及结果分析

因素水平见表 ， 正交实验结果见表 。

表 1 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交实验因素与水平设计  
Table 1 Factors and levels in the orthogonal test

水平	因素			
	料液比 ( )	浸提时间 ( )	浸提温度 (°C)	乙醇浓度 ( )

表 2 正交实验结果  
Table 2 The result of the orthogonal test

实验号	料液比	浸提时间	浸提温度 °C	乙醇浓度	提取率

从表 可以看出,本实验中 、 、 、 四个单因素的主次关系是 ,即 (浸提温度)为最重要的因素,其次是 (浸提时间),再次是 (料液比), (乙醇浓度),影响最小。正交实验结果显示,以总黄酮提取率为考察指标,最优实验条件组合是 。即料液比为 ,浸提时间为 ,浸提温度为 ℃,提取剂乙醇浓度为 。

按照正交实验所确定的最佳提取条件进行验证性实验,做三次平行实验,计算得到紫荆果中总黄酮提取率为 。

### 3.6 紫荆果中总黄酮对羟基自由基的清除作用

紫荆果中总黄酮对羟基自由基的清除实验结果见图 。

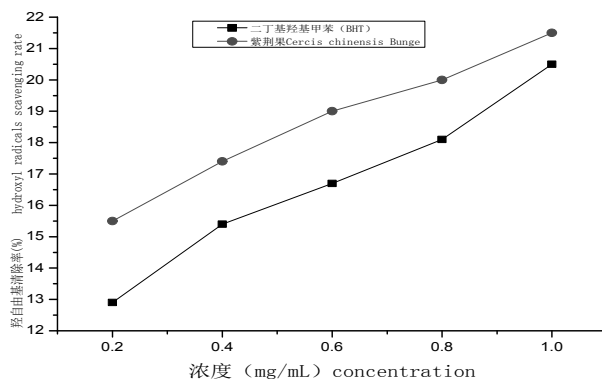


图 5 紫荆果总黄酮对羟基自由基的清除率

Fig.5 The rate of hydroxyl radicals scavenged by flavonoids in *Cercis chinensis* Bunge fruit

由图 可知:紫荆果中的总黄酮提取液对羟基自由基 ( ) 有清除能力,随着提取液浓度增加,清除率也逐渐增加。当加入与提取液相同体积的同浓度 情况下,紫荆果中的总黄酮提取液对羟基自由基 ( ) 的清除率要高于 (二丁基羟基甲苯)对羟基自由基 ( ) 的清除率。

## 4 讨论

本论文利用乙醇单次浸提紫荆果中总黄酮,采用分光光度法测得总黄酮含量为 。与文献中报道的通过醇沉法提取纯化紫荆花中黄酮类化合物,测得总黄酮回收率为 。提取液的抗氧化实验结果显示,紫荆果中总黄酮对羟基自由基有较强的清除活性。紫荆果与花、皮一样 , 同样具有较高的利用价值,有待开发。

## 5 结论

紫荆果总黄酮最佳提取条件为:料液比 , 浸提时间 , 浸提温度 ℃,提取剂乙醇浓度 。在此条件下总黄酮提取率可高达 。

本文还对紫荆果总黄酮提取液抗氧化性质做了初步探究,将紫荆果中的总黄酮提取液和 对羟基自由基 ( ) 清除活性作了比较。结果显示,紫荆果提取液对羟基自由基 ( ) 的清除能力略高于 (二丁基羟基甲苯)。

## 参考文献

宋秋华 张 磊 梁 飞 等 黄酮类化合物提取和纯化工艺研究进展 山西化工  
 幸宏伟 玫瑰花醇提取物对油脂的抗氧化作用 重庆工商大学学报 自然科学版  
 蔡碧琼 蔡珠玉 张福娣 等 稻壳中黄酮提取物的抗氧化性质研究 江西农业大学学报  
 谢棒祥 张敏红 生物类黄酮生理功能及其应用研究进展 动物营养学报  
 张胜帮 赵玲玲 黄酮类化合物的提取纯化研究进展 温州大学学报 自然科学版 ( )  
 钱正清 最新中药大辞典 北京 中国中医药出版社  
 徐美奕 韩雅莉 陈志红 紫荆花总黄酮提取工艺的优化研究 时珍国医国药  
 徐美奕 韩雅莉 东野广智 等 紫荆花总黄酮的分离纯化与光谱分析 中药材  
 李君玲 紫荆皮总黄酮超声提取工艺优化 江苏农业科学