

野菊花中总黄酮提取工艺及响应曲面优化研究

崔建强, 唐 静

(陕西国际商贸学院 医药学院, 陕西 西安 710246)

摘要:以野菊花中总黄酮为研究对象,以总黄酮提取率为评价指标,通过操作简单回流工艺提取总黄酮并对工艺条件优化。结果为:在料液比 1:20 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、乙醇浓度 70%、温度 60℃、提取 1.5 h,提取率为 2.77%。

关键词:野菊花;总黄酮;回流提取;响应面法

中图分类号:R282 **文献标识码:**A **文章编号:**0488-5368(2021)10-0081-04

Study on Extraction Technology and Response Surface Optimization of Total Flavonoids from Chrysanthemums

CUI Jianqian, TANG Jing

(School of Medicine, Shaanxi of International Trade & Commerce, Xi'an, Shaanxi 710246, China)

Abstract: Perennial plant are used to treat heart disease, high blood pressure, fight inflammation and bacteria, slow down aging and other symptoms. In this paper, the extraction rate of total flavonoids was used as an evaluation index, and the reflux extraction process of total flavonoids from *Chrysanthemum Indicum* L. was optimized by single factor and response surface test. The optimum extraction conditions were as follows: 1:20 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 70% ethanol concentration, 60℃ temperature for 1.5 h, the optimum extraction rate was 2.77%.

Key words: *Chrysanthemum indicum*; Total flavonoid; Reflux extraction; Response surface methodology

野菊花为菊科多年生草本植物,为菊科植物野菊花的头状花序^[1],是一种常见的菊科中草药植物。常见于山坡、路边、河边、海滨等潮湿润泽之地。其叶、花和全草都可入药。野菊花中主要成分是总黄酮,它的药理作用是多方面的,有免疫抗炎、抗肿瘤、清除自由基、降血脂^[2~6]等。本实验在单因素结果的基础上,以总黄酮提取率为评价指标通过响应曲面法进行优化。本次采用安全性高,操作简便的回流法对野菊花总黄酮的提取工艺进行研究,旨在获取此法总黄酮提取的最佳工艺。

1 实验

1.1 材料、试剂与仪器

野菊花为集市销售。

无水乙醇,天津河东红岩试剂厂,分析纯;芦丁标准品,上海源叶生物科技有限公司。紫外可见

光分光光度计,上海圣科仪器设备有限公司;分析天平,赛多利斯科学仪器北京有限公司;

1.2 总黄酮提取率的测定

配制一定浓度芦丁标准品溶液,紫外分光光度法测其吸光度,制定标准曲线,再测供试品溶液吸光度,将其值代入曲线中得出浓度,代入下述方程得出提取率。

$$y = 13.209x + 0.2418, R^2 = 0.9912,$$

$$\text{总黄酮提取率} = cNV / M \times 1000$$

式中:c为总黄酮浓度, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; V为定容体积, mL; M为野菊花样品质量, g; N为稀释倍数。

1.3 提取工艺优化

1.3.1 单因素试验 分别称取野菊花粉末 1 g,在其他条件不变下进行回流提取,依次考察乙醇浓度(50%至 90%)、料液比(1:10 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 至 1:30

收稿日期:2020-07-23 修回日期:2020-08-27

第一作者简介:崔建强(1979-),男,陕西西安人,从事药物化学研究。

$\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、提取时间(0.5 h 至 2.5 h)、提取温度(40℃至 80℃)的影响。

1.3.2 响应曲面法实验 根据 1.3.1 实验结果,选取波动较大的 3 个因素,运用响应曲面软件 Box-Behnken 实验,通过数据分析获取最佳提取工艺^[7~9]。

2 结果与讨论

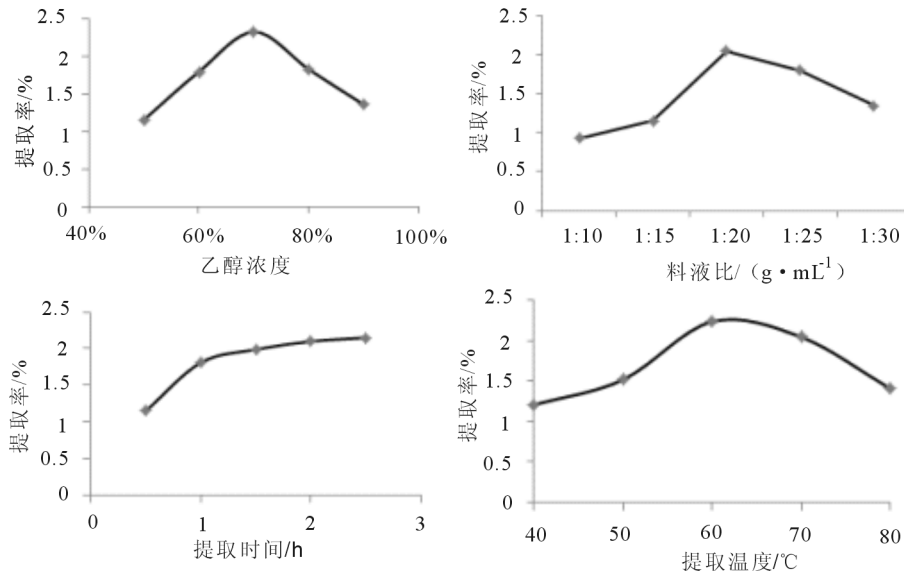


图 1 单因素实验结果

2.2 响应曲面法实验结果

2.2.1 实验设计

表 1 Box-Behnken 试验设计的因素与水平

水平	因素		
	乙醇体积分数 /%	料液比 /($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	提取温度 /°C
-1	60	1:15	50
0	70	1:20	60
1	80	1:25	70

依据上述的几个单独因素所做提取总黄酮实验的结果,设置提取温度、料液比和乙醇浓度 3 个因素为自变量,设置响应值为提取率,进行响应面设计。因素水平表及响应面设计数据见表 1 和表 2。

2.2.2 方差分析 利用响应面软件对表 2 数据分析,最后得到: $Y=2.73+0.13A-0.084B-0.11C-0.098AB-0.010AC-0.10BC-0.56A^2$

2.1 单因素实验结果

从图 1 可以看出,a、b、d 三个单因素图,从第一个水平点开始提取率逐渐增大,至第三个水平点达到最优,第四、第五个水平点缓慢下降。c 单因素图提取率波动最小,随着时间不断的延长,提取率缓慢升高,1.5 h 后提取率基本稳定,故选 1.5 h 为提取最优时间。其他 3 个因素通过响应曲面法优化。

$-0.44B^2-0.53C^2$ ($R^2=0.9886, P<0.0001$)。检验回归方程模型和各项参数的显著性结果如表 3 所示。

表 2 响应曲面法试验结果

序号	A 乙醇浓度 /%	B 料液比/ ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	C 提取温度 /°C	提取率 /%
1	80	1:25	60	1.60
2	80	1:20	70	1.68
3	70	1:15	50	1.90
4	70	1:20	60	2.75
5	60	1:25	60	1.61
6	70	1:20	60	2.71
7	70	1:20	60	2.77
8	60	1:20	70	1.35
9	70	1:20	60	2.75
10	60	1:20	50	1.58
11	70	1:25	50	1.82
12	70	1:25	70	1.60
13	80	1:15	60	2.03
14	70	1:20	60	2.68
15	70	1:15	70	1.72
16	60	1:15	60	1.65
17	80	1:20	50	1.95

表 3 响应曲面回归方程模型的方差分析

方差来源	平方和	均方	自由度	F 值	P 值	显著性
模型	4.07	0.45	9	108.31	<0.000 1	极显著
A-乙醇体积	0.14	0.14	1	34.24	0.000 6	显著
B-料液比	0.056	0.056	1	13.43	0.008 0	显著
C-提取温度	0.10	0.10	1	24.23	0.001 7	显著
AB	0.038	0.038	1	9.10	0.019 5	
AC	4×10^{-4}	4×10^{-4}	1	0.096	0.766 0	
BC	4×10^{-4}	4×10^{-4}	1	0.096	0.766 0	
A ²	1.34	1.34	1	321.33	<0.000 1	极显著
B ²	0.83	0.83	1	199.28	<0.000 1	极显著
C ²	1.17	1.17	1	280.07	<0.000 1	极显著
残差	0.029	4.179×10^{-3}	7			
失拟项	0.024	7.992×10^{-3}	3	6.05	0.057 3	不显著
纯误差	5.280×10^{-3}	1.320×10^{-34}	4			

注: $P < 0.01$ 为显著差异 $P < 0.000 1$ 为极显著差异。

表 3 中的结果显示了模型的 P 值为极显著差异, R^2 为 0.9886, 说明显著水平很高。失拟项的 P 值为不显著, 表示预测和实际不相符的概率很小。 R^2_{adj} 为 0.9739, 表示可以解释 97.39% 的情况。 CV 值为 5.84%, 说明可信度很高, 可以反映出真

实情况。提取率影响的顺序 A 乙醇体积 > C 提取温度 > B 料液比。

2.2.3 响应面交互作用分析 将实验 3 个因素两两交互分析, 总黄酮提取率的趋势图如图 2 所示。

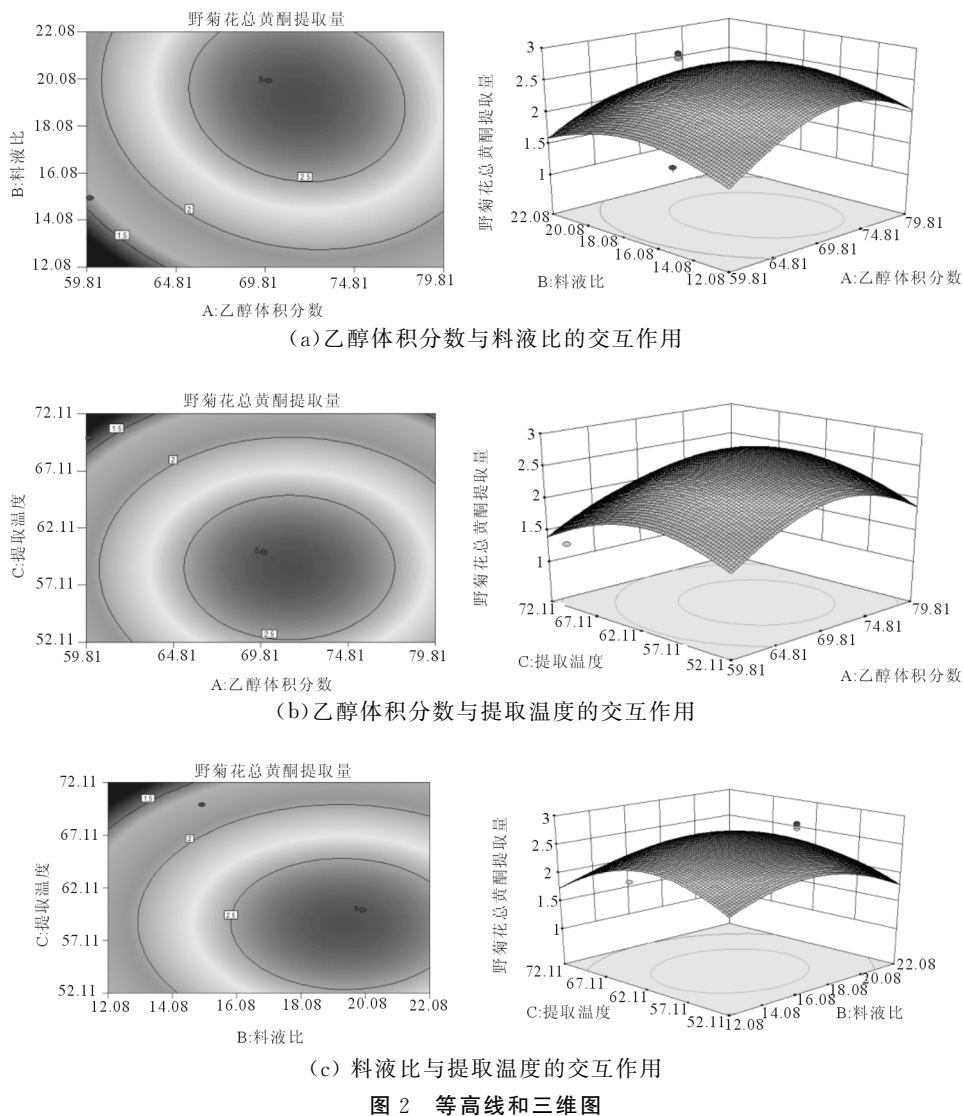


图 2 等高线和三维图

从图 2a 可以看出,乙醇体积分数整个坡面较料液比的坡面更陡峭一些,变化幅度更大,表明乙醇体积分数对野菊花总黄酮的提取率影响更大。从图 2b 可以看出,乙醇体积分数比提取温度的坡面较陡峭,则乙醇体积分数比提取温度的影响更大。从图 2c 可知,提取温度比料液比的坡面更陡峭,提取温度比料液比影响大。由此可得最佳提取条件为乙醇浓度 71.59%,料液比 1:19.3 g·mL⁻¹,提取温度 58.67℃。

2.2.4 回归模型验证 在该模型下预测的使提取量最大的实验设计是用 70%乙醇,料液比 1:20 g·mL⁻¹,提取温度在 60℃,提取 1.5 h。做三组验证试验,总黄酮提取率为 2.70%,接近理论值。结果表明该提取率有效。

3 结论

本次研究以总黄酮提取率为主要指标,采用单因素和响应面优化实验得到,料液比 1:20 g·mL⁻¹、70%乙醇浓度、60℃提取 1.5 h 为最佳的实验结果,总黄酮提取率有 2.77%,最后进行了三组验证试验得出该方案提取总黄酮的含量平均值为 2.70%,结果表明该提取率有效。为提取野菊花中

总黄酮提取鉴定了提供了理论依据。

参 考 文 献:

- [1] 吴晓丽.野菊花超临界二氧化碳萃取物的抗炎活性及其机理研究[D].广州:广州中医药大学,2014.
 - [2] 郑璐璐,张贵君,王晶娟,等.野菊花药效组分抗炎的生物效应研究[J].天津中医药,2011,28(03):251-253.
 - [3] 王保伟,李俊,程文明,等.野菊花总黄酮对酒精性脂肪肝大鼠的防治作用[J].安徽医科大学学报,2011,46(10):1 022-1 025.
 - [4] 全文婕.野菊花体外抗肿瘤活性部位的研究[D].衡阳:南华大学,2017.
 - [5] 曹小燕,杨海涛.野菊花总黄酮清除自由基的活性[J].江苏农业科学,2014,42(10):307-309.
 - [6] 王淑静,李源馨.野菊花总黄酮降血脂作用的实验研究[J].现代食品,2017(03):123-125.
 - [7] 崔建强,刘荣.响应面法优化花生壳中木犀草素超声提取工艺[J].陕西农业科学,2019,65(02):11-14.
 - [8] 崔建强,问娟娟.响应曲面法优化微波提取花生壳中总黄酮工艺研究[J].陕西农业科学,2020,66(02):16-19,25.
 - [9] 崔建强,赖普辉.响应曲面法优化野菊花中总黄酮的超声提取工艺[J].化学与生物工程,2017,34(11):30-34,48.
-
- (上接第 25 页)
- [3] 石柏林,吴家森,钟泰林.6种槭树属植物种子特性及其发芽试验[J].浙江林业科技,2006,26(03):38-40.
 - [4] 桂勇武,郭成宝,高年春.4种引进彩叶树种的播种育苗技术研究[J].江苏农业科学,2006(06):271-272.
 - [5] 孟庆法,高红莉,赵凤兰,等.河南省野生槭树种子育苗试验研究[J].安徽农业科学,2009,37(27):13 309-13 311,13 373.
 - [6] 禹发成,韩彩萍.青榨槭播种育苗技术试验研究[J].陕西农业科学,2011(06):107-108.
 - [7] 彭火辉,管帮富,陈华玲,等.4种槭树种子特征及播种技术研究[J].江西农业学报,2014,26(04):19-22.
 - [8] 张景根,史绍林.槭树科树种引种繁育研究进展[J].防护林科技,2017(09):975-980.
 - [9] 孟庆法,高红莉,王洪友.珍稀濒危树种庙台槭结实特性及播种育苗试验研究[J].河南科学,2017,35(11):1 773-1 777.
 - [10] 赵晓斌.血皮槭大田种子育苗实用技术研究[J].林业科技通讯,2019(03):52-54.
 - [11] 陈香波,吕秀立,刘杨,等.极度濒危树种羊角槭花部形态特征及开花动态[J].植物研究,2019,39(03):95-97.
 - [12] 吴静,侯静,马秋月,等.4种槭树属树种种子休眠原因及解除方法[J].西南林业大学学报,2013,33(02):48-51.