

菊花中芦丁的提取及其活性研究

王国栋,李 双,李田霞

(武汉职业技术学院 生物工程学院,湖北 武汉 430074)

摘 要: 采用了超声提取法对菊花中抗氧化成分芦丁进行提取,确定了菊花中芦丁的最佳提取条件,并采用紫外可见分光光度法对菊花中芦丁的含量进行检测,同时运用磷钼酸盐法对芦丁的抗氧化活性进行了研究。结果表明:芦丁的最佳提取条件为用 60% 的乙醇超声波提取 60min,其活性与浓度有关,浓度越大活性越强,并且芦丁的活性明显强于同浓度下的 Vc。

关键词: 芦丁;菊花;抗氧化性;超声波法

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-931X (2017) 05-0103-03

一、引言

菊花不仅含有各种维生素和微量元素,而且含有丰富的生物活性物质,如黄酮、皂苷、甾体和萜类,具有良好的抗氧化、抗衰老、预防心脑血管疾病和防癌抗癌的功效^[1]。由此可见,菊花不仅具有药物价值,而且具有营养保健的功效。现代研究表明,黄酮类化合物是菊花提取液中含有最多的有效成分,而黄酮类化合物芦丁是其功效的主要活性成分^[2]。

芦丁不仅是一种天然的抗氧化剂,同时还具有降血糖、尿糖、血脂等药效^[3],所以对菊花中芦丁的提取及含量测量具有重要的意义。国内学者今年来对它的研究主要集中在提取工艺的改善和药理作用等方面。传统的提取工艺如热水提取、热醇提取等效率低,成本高;连续萃取过程繁琐。超声提取由于设备简单、操作方便、提取效率高、无需加热等优点,近年来已逐渐应用于中药有效成分的提取中^[4]。

本文采用超声波提取法对抗白菊中的芦丁进行了提取,对提取溶剂、溶剂的浓度、提取时间进行了

探索,得出了最佳提取条件;然后利用紫外可见分光光度法测量了芦丁的含量;最后采用高钼酸盐法,比较了不同浓度的芦丁与 Vc 的抗氧化性能,为芦丁的药理研究奠定了基础。

二、实验部分

(一)实验试剂

实验试剂见表 1。

表 1 实验试剂

试剂	纯度	生产厂家
无水乙醇	分析纯	天津凯通化学试剂有限公司
硝酸铝	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
抗坏血酸	分析纯	天津市化学试剂三厂
高钼酸铵	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
亚硝酸钠	分析纯	天津市化学试剂三厂
杭白菊		广州金正邦生物科技有限公司

(二)实验仪器

实验仪器见表 2。

收稿日期:2017-06-06

基金项目:武汉职业技术学院英才计划项目“药物分析 QC 精密仪器的应用”。

作者简介:王国栋(1996-),湖北武汉人,武汉职业技术学院生物工程学院 2015 级药物制剂专业学生,研究方向:药物分析检测;李双(1997-),湖北襄阳人,武汉职业技术学院生物工程学院 2015 级药物制剂专业学生,研究方向:药物分析检测;李田霞(1981-),女,山西永济市人,工学硕士,武汉职业技术学院生物工程学院副教授,研究方向:药物、生物制品的分析检测。

王
国
栋
，
李
双
，
李
田
霞
：
菊
花
中
芦
丁
的
提
取
及
其
活
性
研
究

表 2 实验仪器

仪器名称	型号	生产厂家
紫外可见分光光度仪	SP-1901UV	上海光谱仪器有限公司
电子分析天平	AUY120	上海台衡仪器仪表有限公司
数控超声波清洗器	KQ-100DE	昆山市超声仪器有限公司

(三)菊花中芦丁的提取

称取若干(0.6170g)干菊花搅成粉末,放在锥形瓶中,加 4mL60%的乙醇,密塞,超声提取 1h,放冷,离心 30min,将上清液抽滤,再用 0.45μm 微孔滤膜过滤。

(四)芦丁含量的测定^[5]

精确移取提取液 5mL 于 50mL 容量瓶中, 分别加入 5%亚硝酸钠溶液 1.50mL, 摇匀, 静置 6min; 再加 10%硝酸铝溶液 1.50mL, 摇匀, 静置 6min; 再加 1%氢氧化钠溶液 20mL, 用 60%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 静置 12min, 以试剂作空白参比液, 于 510nm 处测吸光度。

(五)芦丁的抗氧化活性研究

在 4 个 50mL 容量瓶中分别加入 10.00 mL 质量浓度为 0.10、0.50、1.0g/L 的 60%的乙醇芦丁溶液、1.0g/L 抗坏血酸水溶液, 然后在各容量瓶中加入 10mL 0.6mol/L H₂SO₄ 溶液、10mL 0.028mol/L Na₃PO₄ 溶液和 10mL 0.004mol/L (NH₄)₆Mo₇O₂₄ 溶液, 加入蒸馏水定容, 摇匀, 置 95℃水浴中加热反应, 每 30min 取出冷至室温, 以试剂空白参比, 测定 30min、60min、90min 时 659nm 波长下吸光度。

三、结果与讨论

(一)提取溶剂的选择

分别以蒸馏水、60%的乙醇、甲醇进行提取, 时间为 1h。然后在 510nm 下测定提取液吸光度。数据如表 3 所示。

表 3 不同溶剂对提取率的影响

溶剂种类	水	乙醇(60%)	甲醇
吸光度 A	0.1345	0.2849	0.3052
样液中芦丁含量 c/mg/mL	0.0947	0.2389	0.2583

由表 3 可知, 芦丁提取率为: 甲醇>乙醇>水。水提取率较低, 甲醇和乙醇作提取剂, 提取率均较高, 但考虑到甲醇的毒性, 选用乙醇作提取剂。

(二)溶剂浓度的选择

分别采用 40%、60%和 95%的乙醇提取 1h, 提取液定容后于 510nm 下测定吸光度, 数据如表 4 所示。

乙醇的浓度对菊花中芦丁的提取有较大影响, 一般认为乙醇浓度增加有利于黄酮类化合物的提取, 但并非绝对, 主要跟黄酮类化合物的结构有关,

高浓度的乙醇适合于黄酮苷元类化合物的提取, 低浓度的乙醇适合黄酮苷类化合物的提取。由表 4 可见, 乙醇浓度在 60%时, 芦丁提取率最高。故选用 60%乙醇为提取液。

表 4 乙醇浓度对提取率的影响

乙醇浓度(%)	40	60	95
吸光度 A	0.1569	0.2849	0.1152
样液中芦丁含量 c/mg/mL	0.1162	0.2389	0.0762

(三)提取时间的选择

菊花处理后, 用 60%的乙醇分别在 30min、45min、60min、75min 下进行提取, 定容后, 于 510nm 下测定吸光度, 数据如表 5 所示。

表 5 浸提时间的影响

浸提时间 t/min	30	45	60	75
吸光度 A	0.1584	0.2406	0.2849	0.2852
样液中芦丁含量 c/mg/mL	0.1118	0.1964	0.2389	0.2392

从表 5 中可以看出, 浸提时间越长, 样液吸光度越高。其原因可能是时间越长, 越有利于物料中活性成分的溶出, 但时间超过 30min 后, 吸光度增大不明显, 因此, 最佳提取时间为 60min。

(四)工作曲线的绘制

取 0.10mg/mL 芦丁标准液 0.50、1.00、2.00、3.00、4.00mL 于 50.00mL 容量瓶中, 分别加入 5%亚硝酸钠溶液 1.50mL, 摇匀, 静置 6min; 再加 10%硝酸铝溶液 1.50mL, 摇匀, 静置 6min; 再加 4%氢氧化钠溶液 20mL, 用 60%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 静置 12min, 以试剂空白为参比, 于 510nm 下测吸光度。结果如图 1 所示。

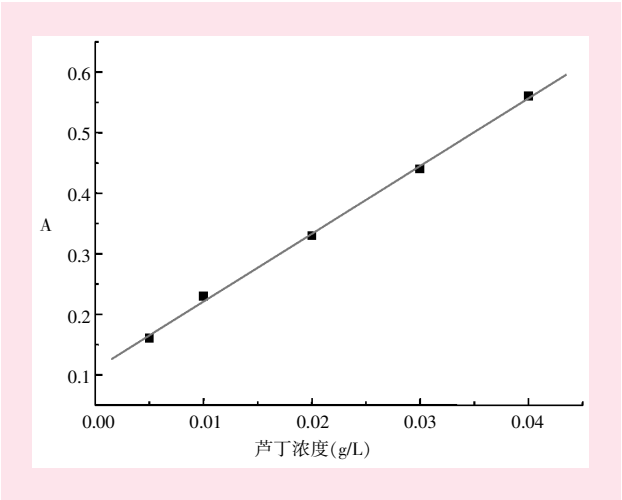


图 1 芦丁标准溶液的工作曲线

由图 1 可知, 芦丁标准溶液的工作曲线为 $A=0.109+11.2c$, $R=0.9993$ 。说明在 0.005–0.04g/L 的芦丁溶液中芦丁浓度 c 与吸光度 A 之间有很好的线性关系。

(五)菊花中芦丁含量的测定

在 510nm 下, 以试样空白为参比, 测定菊花提

取液的吸光度为 0.285, 得出菊花中芦丁的含量为 0.157mg/g。

(六) 芦丁与 Vc 抗氧化性的比较

采用高钼酸铵法分别研究了不同浓度的芦丁的抗氧化性, 并与 Vc 进行了对照, 结果如图 2 所示。

由图 2 可以看出不同质量浓度的芦丁对 Mo^{6+} 均有不同程度的还原能力, 其抗氧化性随着质量浓度的增加而增大。在整个反应过程中, 0.20g/L 芦丁的抗氧化性一直比 0.2g/L 的 Vc 强。0.1g/L 的芦丁在反应时间达到 60min 后, 其抗氧化性也比 0.2g/L 的 Vc

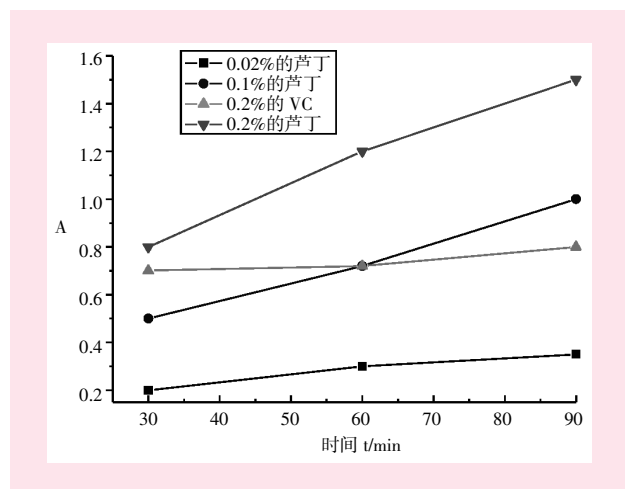


图 2 不同抗氧化物质的活性比较

四、结论

本文通过实验得出芦丁的最佳提取条件为用 60% 的乙醇超声波提取 60min。提取的芦丁采用紫外可见分光光度法进行检测, 做出的标准曲线为 $A=0.109+11.2c$, $R=0.9993$, 得出菊花中芦丁的含量为 0.157mg/g。通过比较表明芦丁抗氧化活性与浓度有关, 浓度越大活性越强, 并且芦丁的抗氧化性明显强于同浓度下的 Vc, 且在较长的时间内发挥

参考文献:

- [1] 朱兆富, 朱素梅, 沈喜海. 果树叶片黄酮抗氧化剂的分离及其作用研究[J]. 西部粮油科技, 2013, 27(4): 48.
- [2] 陶昌华. 夏季良药: 野菊花[J]. 医药与保健, 2012, 12(8): 38.
- [3] 李卓, 王新琪. 桑叶中芦丁的提取及含量测定[J]. 华南理工大学学报, 2014, 15(8): 38.
- [4] 郭孝武. 一种提取药材中化学成分的方法. 超声提取法[J]. 天然产物研究和开发, 2011, 11(3): 37.
- [5] 房芳, 张广强, 谢新年. 用分光光度法进行黄酮类化合物含量测定的研究[J]. 中医药学刊, 2015, 12(2): 17.

[责任编辑: 张 磊]

Extraction and Activity of Rutin in Chrysanthemum

WANG Guo-dong, LI Shuang, LI Tian-xia

(College of Bioengineering, Wuhan Polytechnic, Wuhan 430074, China)

Abstract: The antioxidant rutin was extracted from chrysanthemum by the method of ultrasonic extraction and the optimum extraction conditions of rutin were determined. The content of rutin in chrysanthemum was detected by UV-visible spectrophotometry. The antioxidant activity of rutin was studied by molybdate method. The results showed that the best extraction conditions of rutin were ultrasonic extraction with 60% ethanol for 60 minutes, the activity was related to the concentration. The greater the concentration, the stronger the activity. And the activity of rutin was significantly stronger than that of Vc at the same concentration.

Key words: rutin; chrysanthemum; antioxidation; ultrasonic extraction