

文章编号: 1000-5692(2005)01-0024-04

# 苦竹类竹种总黄酮提取工艺的比较

杨萍<sup>1,3</sup>, 钱俊青<sup>2</sup>, 胡永萍<sup>4</sup>

(1. 浙江林学院 浙江省现代森林培育技术重点实验室, 浙江 临安 311300; 2. 浙江工业大学药学院 浙江 杭州 310014; 3. 浙江林学院 竹类研究所, 浙江 临安 311300; 4. 杭州天目山药业股份有限公司, 浙江 临安 311300)

**摘要:** 对苦竹类竹叶总黄酮的提取工艺进行了研究, 确定了乙醇超声提取法的最佳提取工艺是: 75%乙醇, 1:15 料液比, 超声提取3次, 每次20 min。采用比色法测定苦竹类竹种的总黄酮质量分数, 结果表明苦竹类竹种均含有丰富的黄酮类物质, 其中小黄苦竹 *Oligostachyum fujinensis* 含总黄酮质量分数最高, 为 13.54 mg·g<sup>-1</sup>, 短穗竹(俗名苦竹) *Semiarundinaria densiflora* 最低, 为 7.24 mg·g<sup>-1</sup>。表5参12

**关键词:** 苦竹类; 总黄酮; 提取工艺

**中图分类号:** S718.4 **文献标识码:** A

苦竹类竹种是禾本科竹亚科多年生常绿植物, 在我国有较广泛的分布。苦竹类竹种用途广泛<sup>[1]</sup>, 竹秆、笋已被开发利用<sup>[2~4]</sup>, 但苦竹叶多被废弃。据《本草纲目》记载, 苦竹叶味苦, 冷, 无毒, 主治口疮目痛, 明目利九窍, 治不睡, 止消渴, 解酒毒, 发汗, 疗中风暗哑<sup>[5]</sup>。最新研究表明, 苦竹叶中含有大量的黄酮类化合物和生物活性多糖及其他有效成分。黄酮类化合物有明显的抗溃疡、解痉、抗菌、抗炎、降血脂和镇痛等生理作用, 还具有较强的清除生物体内超氧自由基的作用等<sup>[6,7]</sup>。竹叶黄酮以其巨大的资源优势, 良好的药理活性和极低的毒性作用, 将成为一种可以开发的新型药用的资源<sup>[8]</sup>。浙江省许多地方用苦竹叶入药已有很长的历史。因此, 研究苦竹类竹种的黄酮类物质含量可为进一步开发苦竹类植物提供理论依据。现将我们的研究结果报道如下。

## 1 实验材料

### 1.1 苦竹类竹种的采集

2003年5月采集于杭州植物园和安吉竹种园(表1)。

### 1.2 实验材料的处理

将竹叶用自来水清洗2次, 沥干, 立刻用微波杀青和干燥(高火, 间隙加热2~3次, 每次60 s), 剪碎, 在低温(2~8℃)下保存。实验前, 将竹叶样置于烘箱(60℃左右)中烘2 h, 粉碎20目筛, 备用。

收稿日期: 2004-04-09; 修回日期: 2004-07-08

基金项目: 浙江省科学技术厅资助项目(001102204)

作者简介: 杨萍, 硕士, 从事生物技术等研究。E-mail: yangping@zjfc.edu.cn

表 1 苦竹类竹种的总黄酮质量分数

Table 1 Total flavones contents of bitter bamboo and its relatives

序号	竹 种	总黄酮/ (mg·g <sup>-1</sup> )	序号	竹 种	总黄酮/ (mg·g <sup>-1</sup> )
1	大明竹 <i>Pleioblastus gramineus</i>	12.01	10	垂枝苦竹 <i>Pl. amarus</i> var. <i>pendulifolius</i>	11.25
2	川竹 <i>Pl. simonii</i>	10.98	11	长叶苦竹 <i>Pl. chino</i> var. <i>hisanchii</i>	9.96
3	宜兴苦竹 <i>Pl. yixingensis</i>	8.91	12	小黄苦竹 <i>Oligostachyum fujinensis</i>	13.54
4	硬头苦竹 <i>Pl. longifimbriatus</i>	10.32	13	螺节竹 <i>Pl. gramineus</i> f. <i>moitpiralis</i>	11.56
5	少穗竹 <i>Oligostachyum sulcatum</i>	12.23	14	短穗竹 <i>Seniarundinaria densiflora</i>	7.24
6	肿节竹 <i>Claviodum oedogonatum</i>	8.01	15	黄条金刚竹 <i>Pl. kongosensis</i> f. <i>caucasiensis</i>	9.57
7	烂头苦竹 <i>Pleioblastus</i> sp.	9.24	16	斑苦竹 <i>Pl. maculatus</i>	11.46
8	高舌苦竹 <i>Pl. altiligulatus</i>	10.54	17	油苦竹 <i>Pl. oleosus</i>	12.28
9	衢县苦竹 <i>Pl. juxianensis</i>	10.68			

## 2 实验方法

### 2.1 标准曲线的绘制

称取芦丁标准品(中国生物制品检定所提供) 0.075 2 g, 用体积分数为 30%乙醇定容至 200 mL, 备用。分别取上述芦丁标准溶液 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL 于 6 只 25 mL 容量瓶中, 用体积分数为 30%乙醇补充至 12.5 mL, 加入 0.7 mL 5%亚硝酸钠, 摇匀, 放置 5 min 后加入 0.7 mL 10%硝酸铝, 6 min 后再加入 5 mL 1 mol·L<sup>-1</sup>氢氧化钠溶液, 混匀, 用体积分数为 30%乙醇稀释至刻度, 10 min 后于 510 nm 处测吸光度, 试剂为空白参比。以芦丁质量浓度为纵坐标, 吸收度为横坐标, 绘制标准曲线<sup>[9]</sup>。

### 2.2 提取方法

采用的提取方法有: 索氏抽提法<sup>[9]</sup>, 乙醇浸提法<sup>[10]</sup>, 热水浸提法<sup>[10]</sup>, 乙醇超声提取法。

称取一定质量的干燥竹叶, 放入超声波发生器, 加入 10~15 倍原料质量体积分数为 65%乙醇溶液, 搅拌充分混合后, 打开超声波发生器, 调节好功率进行提取。

### 2.3 竹叶黄酮超声提取最佳工艺摸索

采用乙醇超声提取法, 根据初步试验结果, 选用  $L_9(3^4)$  表, 以直接影响竹叶总黄酮质量分数的乙醇体积分数、提取次数、料液比和超声时间为试验因素, 每个因素取 3 个水平(表 2), 对竹叶黄酮乙醇超声提取工艺进行研究。

### 2.4 苦竹类竹种的总黄酮质量分数测定

取样品粗粉约 5 g, 精密称量, 加 30 mL 体积分数为 75%乙醇, 超声提取 3 次, 每次 20 min, 滤过, 合并滤液, 定容至 10 mL 容量瓶中。精密吸取 2 mL 于 25 mL 容量瓶中, 按标准曲线测定。

表 2 乙醇超声工艺因素水平

Table 2 Factor and level of alcohol-UW-extracting technology

水平	A 乙醇体积分数/%	B 提取次数	C 料液比	D 超声时间/min
1	55	1	1:5	10
2	75	2	1:10	20
3	95	3	1:15	30

## 3 结果与分析

### 3.1 芦丁标准工作曲线及工作曲线方程的回归

用最小二乘法作线性回归, 得芦丁质量浓度  $y$  与吸光度  $x$  的标准曲线回归方程式为:  $y = 36.03x - 0.04$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明芦丁在 7.52~37.60 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

### 3.2 提取方法的比较

采用前述的 4 种方法对竹叶中总黄酮进行提取, 所得结果见表 3。由表 3 可见乙醇超声提取法提取总黄酮质量分数最高, 索氏抽提法次之, 热水浸提法最低。索氏抽提法用于工业化生产时耗时过

长,耗能过大,而且抽提所用的溶剂甲醇对人体有毒。超声辅助提取比乙醇浸提法总黄酮质量分数高,操作简单易行,溶剂可回收利用,因此该方法为最佳的提取方法。

### 3.3 竹叶黄酮超声提取最佳工艺

正交试验结果见表3,方差分析结果见表4。直观分析可知,级差最大的为A因素,其次分别为B因素、C因素和D因素,说明对总黄酮提取影响最大的为乙醇体积分数,其次分别为提取次数、料液比和超声时间。从方差分析结果(表5)可知:A因素、B因素和C因素有显著差异,D因素无显著差异( $P>0.05$ )。最佳提取工艺为 $A_2B_3C_3D_2$ ,即用15倍量体积分数为75%乙醇超声提取3次,每次20 min。

### 3.4 苦竹类竹种总黄酮质量分数

苦竹类竹种经最佳工艺(15倍量体积分数为75%乙醇超声提取3次,每次20 min)提取,测定其总黄酮质量分数(重复3次),结果见表1。

结果表明:苦竹类竹种17个样品中都含较为丰富的黄酮化合物,不同竹类的黄酮质量分数明显不同,其中小黄苦竹质量分数最高,为 $13.54 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,短穗竹质量分数最低,为 $7.24 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

## 4 讨论

竹叶黄酮类化合物提取较佳工艺最用15倍量体积分数为75%乙醇超声提取3次,每次20 min,其中影响因子最大的为乙醇体积分数,其次分别为提取次数、料液比和超声时间。但对提取物的纯化分离没有进一步研究,可以考虑采用吸附树脂和超临界等先进的方法提取物进一步精制。

苦竹类竹种(17个样品)都含较为丰富的黄酮化合物,不同竹种的黄酮质量分数明显不同。该结果与文献报道的每克竹叶中总黄酮

质量分数基本相符<sup>[11]</sup>。比色法结果较高效液相(HPLC)法高<sup>[12]</sup>,其原因可能是用比色法在波长510 nm处测定黄酮类化合物的吸光度时选择性较差,一些杂质在该波长处亦有一定的吸收,以致其测定结果较HPLC法偏高。此结果为今后苦竹类竹种药用物质的开发提供了理论依据。

表3 4种方法提取的总黄酮质量分数

Table 3 Total flavones contents of four extracting methods

提取方法	总黄酮质量分数/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
索氏抽提法	8.15
乙醇浸提法	7.20
热水浸提法	4.67
乙醇超声提取法	11.70

表4 正交试验与结果

Table 4 Cross experiment and result

实验号	1	2	3	4	总黄酮质量分数/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	3.52
2	1	2	2	2	7.10
3	1	3	3	3	7.44
4	2	1	2	3	9.95
5	2	2	3	1	13.40
6	2	3	1	2	13.08
7	3	1	3	2	7.81
8	3	2	1	3	10.35
9	3	3	2	1	10.82
$K_1$	18.06	21.28	26.95	27.74	
$K_2$	36.43	29.85	27.87	27.99	
$K_3$	28.98	31.34	28.65	27.74	
$k_1$	6.02	7.09	8.98	9.25	
$k_2$	12.14	10.28	9.29	9.33	
$k_3$	9.66	10.45	9.55	9.25	
R	6.12	3.36	0.57	0.08	

表5 方差分析

Table 5 Variance analysis

因素	平方和	自由度	均方	F值	P值
A	56.9117	2	28.4559	4.0651286	$<0.01$
B	21.4476	2	10.7238	1.5139714	$<0.01$
C	0.4827	2	0.2414	34.4857	$<0.05$
D	0.0139	2	0.0070	1	$>0.05$
误差	0.0139	2	0.0070		

说明:  $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$ ,  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

## 参考文献:

- [1] 张琼珊, 罗龙发, 吴宏业, 等. 苦竹是个优良的经济竹种[J]. 竹子研究汇刊, 1998, 17(4): 51—52.
- [2] 管大耀, 汤陈棋. 苦竹利用现状和发展措施[J]. 中国林副特产, 1996, 39(4): 53.
- [3] 张良, 陈郑滨. 山地之宝——苦竹[J]. 植物杂志, 2002, 27(2): 26—27.
- [4] 刘发万, 杨敏杰, 龚亚菊, 等. 笋中之宝——苦竹笋[J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(2): 526—527.
- [5] 张佐玉, 张喜. 竹子在中医药和保健品开发中的潜力[J]. 世界科学技术, 2000, 2(3): 56—59.
- [6] 余学军, 刘力, 金爱武, 等. 苦竹叶制茶主要营养成分的变化[J]. 浙江林学院学报, 2003, 20(1): 63—66.
- [7] 张英, 吴晓琴, 俞卓裕. 竹叶和银杏叶总黄酮含量及其自主基活性的比较研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(4): 254—257.
- [8] 李水福, 王如伟, 陈琴鸣. 浅谈竹类的药用现状及开发利用前景[J]. 中国药业, 2002, 11(11): 53.
- [9] 冯涛, 曹东旭, 吕晓玲. 竹叶总黄酮含量的测定[J]. 中国食品添加剂, 2002, (6): 85—87.
- [10] 蔡健, 华景清, 王薇, 等. 黄酮提取工艺研究进展[J]. 淮阴工学院学报, 2003, 12(5): 82—84.
- [11] 邬建敏, 贾之慎, 唐云湖. 竹类黄酮化合物总量及芦丁含量的测定[J]. 浙江农业大学学报, 1998, 24(4): 339—343.
- [12] 张廷之, 侯镜德, 徐秀珠. 反相高效液相色谱法测定毛竹叶中总黄酮[J]. 理化检验: 化学分册, 2001, 37(3): 117—118.

## A comparative study of total flavone contents in Ku bamboos

YANG Ping<sup>1,3</sup>, QIAN Jun-qing<sup>2</sup>, HU Yong-ping<sup>4</sup>

(1. Key Laboratory for Modern Silvicultural Technology of Zhejiang Province, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, Zhejiang, China; 3. Bamboo Research Institute, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 4. Hangzhou Tianmushan Pharmaceutical Co., Ltd., Lin'an 311300, Zhejiang, China)

**Abstract:** Techniques for extraction of total flavones from leaves of Ku bamboos were studied. The best alcohol-UW extracting method was as follows: leaves : extraction liquid (75% alcohol) = 1 : 15; UW extracting for three times and 20 minutes each time. Total flavones contents of Ku bamboo relative species were measured with the colorimetric method. The results indicated that Ku bamboo relative species were rich in total flavones, of which *Oligostachyum fujinensis* was highest in the content of flavones (13.54 mg · g<sup>-1</sup>) and *Semiarundinaria densiflora* was the lowest (7.24 mg · g<sup>-1</sup>). [Ch, 5 tab., 12 ref.]

**Key words:** Ku bamboos; total flavones; extraction techniques

## 张齐生院士出席“2004 中国浙江生态省论坛”

由国家环境保护总局、浙江省人民政府主办的“2004 中国浙江生态省论坛”于 2004 年 10 月 12 ~ 13 日在杭州举行。中国工程院院士、浙江林学院院长张齐生应邀在会上作了题为《区域生态和谐是生态省建设中一个应当引起重视的问题》的报告。报告以新颖的理念和独到的见解为推进生态省建设提出了很好的建议。

(科技处)