

玉米须中总黄酮的提取及树脂精制

任顺成, 霄霖*

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

玉米须为禾本科玉蜀属植物玉米 *Zea mays* L. 的花柱和柱头。含有多种对人体有益的化学成分, 如挥发油、皂苷、生物碱、黄酮类、多聚戊糖、尿囊素、有机酸等。其味淡、性平, 有利尿、泄热、平肝、利胆之功效, 可用于治疗肾炎、胆结石、糖尿病、黄疸、麻疹、乳糜血尿、血崩等症^[1]。现代药理研究证明玉米须有显著的利尿^[2]、降血糖^[3]、抑菌^[4, 5]、降压^[6]、增强免疫^[6]、抗癌^[7]等功效。玉米须是我国传统的中药材, 全国各地均广泛栽培玉米, 因此, 作为玉米副产物的玉米须的资源十分丰富, 但对它的开发利用非常有限, 仅少量入药外, 大部分被白白丢弃。玉米须既有明显的药理价值, 又具备一定的食疗特征, 进行工业化开发利用前景相当广阔。当前对玉米须的临床及应用效果研究较多, 但对其活性成分研究极少。因此, 为了开拓农副产品的综合利用, 带动农村经济的繁荣, 本实验对玉米须总黄酮进行研究, 为对玉米须更好地开发利用, 寻找其临床疗效的依据奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器: 玉米须于 2002 年 5 月购自郑州中药店, 经河南省农业科学院鉴定为半马齿状型玉米的花柱。芦丁对照品 (上海试剂一厂), 其他试剂均为分析纯。S-8, AB-8, X-5, D3520, NKA, NKA-2, D16 树脂 (南开大学化工厂)。UV 755B 紫外-可见分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司), 恒温水浴锅 (江苏省医疗器械厂)。

1.2 树脂的预处理: 用乙醇充分浸泡, 乙醇洗至洗出液加适量水无白色浑浊, 去离子水洗尽醇, 最后用 5% HCl 溶液浸泡 3 h, 去离子水洗至 pH 值为中性, 接着用 5% NaOH 溶液浸泡 3 h, 去离子水洗至 pH 值为中性。

1.3 标准曲线的绘制^[8]: 用 50% 乙醇配制 1.022 mg/mL 芦丁对照品溶液。用时用 50% 乙醇稀释 5 倍 (0.204 4 mg/mL)。分别取稀释后的 0.204 4 mg/mL 芦丁对照品溶液 0, 1, 2, 4, 6, 8 mL 于 25 mL 量瓶中, 用 50% 乙醇补充到 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, 6 min 后再加入 5 mL 1 mol/L 氢氧化钠, 混匀, 用 50% 乙醇稀释至刻度, 10 min 后于 510 nm 波长处测定, 试剂为空白参比, 制标准曲线, 得回归方程: $Y = 0.0899X + 0.0006$, $r = 0.9998$ 。

1.4 大孔树脂对玉米须总黄酮的吸附分离特性研究^[9]

1.4.1 吸附率测定: 准确称取预处理好的树脂装入具塞磨口三角瓶中, 精密加入玉米须黄酮水溶液并置恒温水浴振荡器上振荡 24 h, 充分吸附后, 滤过, 测定滤液中剩余黄酮浓度, 按下式计算各树脂室温下的吸附率。

$$\text{吸附率} = \frac{\text{吸附液初始浓度} - \text{吸附液剩余浓度}}{\text{树脂质量}} \times \text{溶液体积}$$

1.4.2 解吸率测定: 取吸附饱和的树脂, 精密加入 95% 乙醇, 置恒温水浴振荡器上振荡 24 h, 滤过, 测定滤液中总黄酮浓度, 并计算室温下解吸率。

$$\text{解吸率} = \frac{\text{解吸液体积} \times \text{解吸液浓度}}{\text{树脂质量} \times \text{吸附率}} \times 100\%$$

1.4.3 树脂的吸附动力学特性测定: 根据吸附率和解吸率的测定比较, 选择较理想的树脂测定吸附速率。

2 结果与讨论

2.1 因素水平的确定: 根据单因素试验结果, 选用提取温度 (A)、乙醇浓度 (B)、提取时间 (C)、料液比 (D) 作为考察因素, 以提取液中总黄酮含量为考察指标, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表试验。因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水平	因 素			
	A/℃	B/%	C/h	D
1	60	50	1	1: 20
2	70	60	2	1: 30
3	80	70	3	1: 40

2.2 供试品溶液制备: 依正交试验序号, 取 2 g 玉米须, 进行回流提取, 提取完毕后, 滤过, 滤液用乙醇定容到 100 mL, 摇匀, 待测。

* 收稿日期: 2003-03-12

作者简介: 任顺成 (1963-), 男, 山东东明人, 讲师, 现在江南大学攻读食品科学博士学位, 主要从事天然产物的研发, 发表论文 10 余篇。
Tel (0510) 5869535 E-mail shunchengren@china.com

2.3 总黄酮的测定:取 5 mL供试品溶液于 25 mL量瓶中,用乙醇补充至 12.5 mL,按标准曲线制备方法测定,以不加显色剂的待测试液为空白(以消除其他色素的干扰) 测定结果见表 2

表 2 L₉(3⁴)正交试验方案和结果

Table 2 Results of L ₉ (3 ⁴) orthogonal design					
试验序号	A	B	C	D	总黄酮含量 %
1	1	1	1	1	0.48
2	1	2	2	2	0.60
3	1	3	3	3	0.52
4	2	1	2	3	0.65
5	2	2	3	1	0.69
6	2	3	1	2	0.49
7	3	1	3	2	0.77
8	3	2	1	3	0.75
9	3	3	2	1	0.66
K ₁	1.60	1.90	1.72	1.83	
K ₂	1.83	2.04	1.91	1.86	
K ₃	2.18	1.67	1.98	1.92	
k ₁	0.53	0.63	0.57	0.61	
k ₂	0.61	0.68	0.64	0.62	
k ₃	0.73	0.56	0.66	0.64	
R	0.20	0.12	0.09	0.03	

由表 2可见按极差的大小决定因素的主次顺序: A> B> C> D, A是主要因素,取含量最高水平 A₃; B和 C是居中因素,取含量最高水平 B₂和 C₃; D是次要因素,但在生产过程中,既要考虑到单位质量的玉米须体积大,浸泡过程中膨胀也大,吸收浸泡液较多,又要考虑节省浸提液,取水平 D₂较好,从而确定最优工艺参数为 A₃B₂C₃D₂,即温度 80℃、乙醇浓度 60%、浸出时间 3 h 料液比为 1∶ 30

2.4 大孔树脂对玉米须总黄酮的吸附分离:用 7种树脂对玉米须总黄酮粗提液进行处理,在初始浓度为 0.33 mg/mL的条件下,测定其吸附后平均浓度(即树脂充分吸附后,吸附液的剩余浓度),得不同树脂对玉米须总黄酮的吸附率,结果见表 3 可见,树脂 S-8 AB-8 X-5 D3520和 NKA具有较大的吸附率

表 3 各种树脂对玉米须总黄酮的吸附率

Table 3 Adsorption rate to corn silk total flavonoids with different macroporous resins		
种类	平衡浓度 / (mg· mL ⁻¹)	吸附率 / (mg· g ⁻¹)
S-8	0.020	5.51
AB-8	0.042	5.10
X-5	0.049	4.99
D3520	0.060	4.81
NKA	0.059	4.82
NKA-2	0.207	2.23
D16	0.240	1.68

用 50 mL 95% 乙醇在室温条件下进行静态解

吸,各种树脂的解吸率测定结果见表 4 可见 S-5, AB-8, D3520树脂具有较高的解吸率

表 4 95% 乙醇对各种树脂上玉米须总黄酮的解吸率

Table 4 Desorption rate to corn silk total flavonoids on different macroporous resins with 95% ethanol			
种类	解吸前吸附 黄酮量 /mg	解吸液黄酮浓 度 / (mg· mL ⁻¹)	解吸 率 %
S-8	11.02	0.074	33.7
AB-8	10.20	0.186	91.2
X-5	9.98	0.020	89.8
D3520	9.62	0.171	88.8
NKA	9.64	0.093	48.5
NKA-2	4.46	0.061	68.6
D16	3.36	0.052	76.8

通过以上分析可知 AB-8 X-5和 D3520不仅具有较大的吸附率,而且具有较高的解吸率 选择较为合适的 AB-8 X-5和 D3520树脂进行吸附动力学实验 静态吸附动力学曲线见图 1,玉米须总黄酮吸附率与时间的关系见图 2

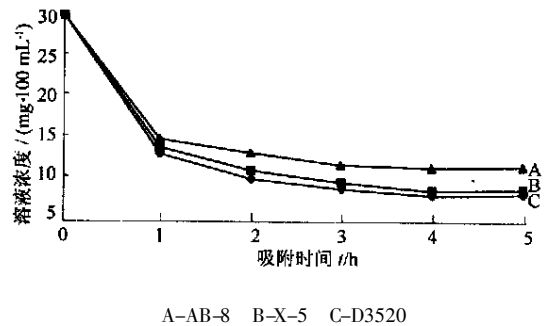


图 1 3种树脂的静态吸附动力学曲线

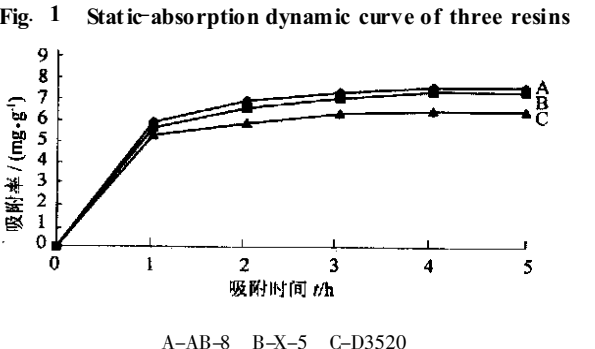


图 2 3种树脂对玉米须总黄酮吸附率与时间的关系

从静态吸附动力学曲线可以看到,3种树脂对玉米须总黄酮的吸附为快速平衡型,在 4 h内基本达到平衡,起始阶段吸附量都较大,但从总体上来看,AB-8树脂的吸附率始终优于另外两种树脂

综合以上分析可知,AB-8树脂对玉米须总黄酮具有良好的静态吸附动力学特性,较其他种类树脂适宜于对玉米须总黄酮的研究和工业化生产。

3 结论

由上述结果分析得出,玉米须总黄酮的乙醇提取最佳工艺为:乙醇浓度 60%,料液比 1:30,水浴温度 80℃,提取时间 3 h AB-8树脂对玉米须总黄酮吸附量大,易解吸,是一种理想的玉米须总黄酮吸附剂

References

- [1] Wu Z Y. *Compendium of New China (Xinhua) Herbal* (新华本草纲要) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1990.
- [2] Wang D, Guo R. Studies on diuretic action of corn silk [J]. *Nei Mongol J Tradit Chin Med* (内蒙古中医药), 1991, (2): 38.
- [3] Li W, Chen Y L, Yang M. Studies on decreasing blood sugar of corn silk [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1995, 26 (6): 305.
- [4] Ji L L, Fan Y M. Antimicrobial activities of maize silk extracts against food spoilage and food-born pathogens [J]. *Food Sci* (食品科学), 2000, 21(12): 131-134.
- [5] Joseph N N. Inhibition of *Aspergillus flavus* growth by silk extracts of resistant and susceptible [J]. *Corn J Agr Food Chem*, 1996, 44: 1982-1983.
- [6] Tang L H, Ding X L, Yiu L F. Bio-active substances from corn silk-corn silk polysaccharide (CSPS) and its immunological enhancing function [J]. *J Wuxi Univ Light Ind* (无锡轻工大学学报), 1995, 14(4): 319-324.
- [7] Ma H, Gao L. Study on effect of corn silk extract (ESM) on K562 and SGS cell [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 1998, 14(1): 28-29.
- [8] Liang Y S, Zhang Q F. Determination of total flavonoids in *populus canadensis* mench [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1987, 7(6): 347-350.
- [9] Pan J, Chen Q, Xie H M. Performance of absorption and separation of the macroreticular resin for *Pueraria* isoflavone [J]. *Transactions Chin Society Agr Eng* (农业工程学报), 1999, 15 (1): 236-240.

解热镇痛栓的质量控制研究

石森林¹,何三民^{2*}

(1. 浙江中医学院,浙江 杭州 310053; 2. 金华市中心医院,浙江 金华 321000)

解热镇痛栓主要由茶叶、甘草、冰片等药组成,具有发汗解热、镇惊安神之功效,临床主要用于治疗小儿高热不退。为了保证药品质量,本实验进行了其质量控制方法的研究

1 试药与仪器

甘草药材由张昌禧教授鉴定为 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、冰片购自浙江省金华市医药站药材公司;解热镇痛栓及缺味栓剂由浙江中医学院制剂室提供;薄层用硅胶 G(青岛海洋化工厂)。咖啡因对照品(国家麻醉品实验室提供);冰片对照品、甘草对照药材(中国药品生物制品检验所)。冰醋酸、甲醇等试剂均为分析纯,水为重蒸馏水。

Waters 高效液相色谱仪,510型 HPLC 泵,UGK型手动进样器,TCM型柱温控制器,484型紫外检测器。G-R4R数据处理器(日本岛津公司);Zordox ODS 色谱柱(150 mm×4.6 mm), (Dupont); Lambda 12紫外可见分光光度计(PE);Mettler AE 163电子分析天平。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 冰片的 TLC鉴别:取解热镇痛栓 2粒,进行微量升华,白色升华物用乙醇适量溶解,作为供试液;另取冰片对照品适量加乙醇溶解,制成 5 mg/mL 的对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 5 μL 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚-醋酸乙酯(85:15)为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 5% 香草醛-硫酸,热风吹 5~10 min,于日光下观察,结果见图 1-A

2.1.2 甘草的 TLC鉴别:取本品及缺甘草阴性栓各 2枚,剖开,内容物以适量蒸馏水溶解(超声处理),离心,滤过,滤液各以蒸馏水补足至 1 mL 作为供试液及阴性对照液;另取甘草对照药材用适量水煎煮 30 min,滤过,取 1 mL 滤液作为对照品溶液。吸取上述溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(30:2:2:4)为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 10% 硫酸乙醇溶液。在 105℃ 烘至斑点清晰,置紫外灯(365 nm)下检视,结果见图 1-B

* 收稿日期: 2003-03-15

作者简介:石森林(1971-),浙江浦江人,浙江中医学院讲师,上海中医药大学中药药剂学在职博士,从事中药新剂型、新技术及新制剂研制。Tel (0571) 86613524 E-mail pjtstone@163.com