

玉米须总黄酮提取工艺及其降血糖作用研究

华心愉¹, 孙骏威², 朱 诚^{2*} (1. 沪江维多利亚学校, 香港特区; 2. 中国计量大学生命科学学院, 浙江杭州 310018)

摘要 [目的]研究玉米须总黄酮提取工艺及降血糖作用。[方法]以玉米须为材料,通过正交设计考察乙醇浓度、料液比、提取时间对玉米须总黄酮提取率的影响,确定最佳工艺条件;并以四氧嘧啶所致糖尿病小鼠为动物模型,研究玉米须提取物的降血糖作用。[结果]玉米须总黄酮提取最佳条件为 16 倍 70% 乙醇,回流 2 次,每次浸提 2 h。动物试验表明,玉米须提取物高剂量组能显著抑制四氧嘧啶所致糖尿病小鼠模型血糖的持续升高($P<0.05$)。[结论]玉米须提取物具有辅助降血糖作用。

关键词 玉米须;总黄酮;提取工艺;降血糖作用
中图分类号 R932 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)14-0117-03

Study on Extraction Technology of Total Flavonoids from Corn Silk and Its Hypoglycemic Effect
HUA Xin-yu¹, SUN Jun-wei², ZHU Cheng^{2*} (1. Victoria Shanghai Academy, Hongkong; 2. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018)
Abstract [Objective] The research aimed to study extraction technology of total flavonoids from corn silk and its hypoglycemic effect. [Method] With corn silk as material, the effects of different ethanol concentration, ratio of solid to liquid, extraction time and extraction times were taken to optimize extraction technology of total flavonoids from corn silk by orthogonal design. Also, the hypoglycemic effect of the alcohol extract of corn milk was studied in diabetic model rats induced by alloxan. [Result] The best extract technology was to distill with 16 times 70% ethanol, refluxed 2 times and extracted for 2 h. Also, the high dosage group of the extract had the significantly inhibition on rising the blood glucose of diabetic model rats induced by alloxan ($P<0.05$). [Conclusion] The extract of corn silk has the auxiliary hypoglycemic effect.
Key words Corn silk; Total flavonoids; Extraction technology; Hypoglycemic effect

玉蜀黍(*Zea mays* L.), 又名玉米, 为禾本科玉蜀黍属植物, 其花柱和柱头入药, 名玉米须, 其性平, 味甘, 具利尿消肿和平肝利胆之功效, 主治急(慢)性肾炎、水肿、急(慢)性肝炎、高血压、糖尿病、慢性副鼻窦炎、尿路结石、胆道结石等症, 还可预防习惯性流产^[1]。现代药理研究证明, 玉蜀黍具有显著的利尿、降血糖、抑菌、降压、增强免疫、抗癌等功效^[2]。经分析发现, 玉米须含有维生素 K3、 β -谷甾醇、豆甾醇、维生素 E 醌、黄酮类、多糖类、皂苷和生物碱等多种化学成分^[1-2]。黄酮类化合物是玉米须中主要化学成分之一, 而且其含量也很高。近年来对玉米须黄酮的药理作用研究较多, 但对玉米须黄酮降血糖作用研究较少。为了开发纯天然的辅助降血糖的保健食品, 该试验对玉米须总黄酮的乙醇提取工艺方法及辅助调节血糖功能进行了研究, 为玉米须黄酮开发成辅助降血糖保健食品提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 药材来源。玉米须, 购自安徽孟氏中药饮片有限公司, 经浙江省中药研究所余琪教授鉴定, 符合《中国药典》1977 年版规定。

1.1.2 试剂。芦丁, 供含量测定用, 按 $C_{27}H_{30}O_{16}$ 计, 本品含量为 92.8%, 中国食品药品检定研究院, 批号 10080-201408; 四氧嘧啶, 美国 SIGMA 公司产品; 盐酸二甲双胍片, 中美上海施贵宝制药有限公司; 葡萄糖测定试剂盒, 德国 Diasys Diagnostic Systems GmbH。试剂、试药均为分析纯。

1.1.3 仪器。日立 7020 全自动生化分析仪 (Hitachi High-technologies Corporation, Japan); UA-2500 紫外分光光度计 (SHIMADZU); RE-6000A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器

厂); TC-15 恒温加热套 (海宁市华星仪器厂); LPG-8 喷雾干燥机 (常州奥凯干燥设备有限公司)。

1.1.4 试验动物。雄性 ICR 小鼠, 清洁级, 浙江省医学科学院实验动物中心提供。

1.2 试验方法

1.2.1 玉米须总黄酮的提取。玉米须烘干, 称取玉米须试品 100 g, 切断, 乙醇浸泡 2 h, 回流提取, 过滤, 浓缩, 得浸膏。

1.2.2 提取工艺技术条件。乙醇回流提取中影响玉米须总黄酮提取率的因素主要为乙醇浓度、料液比、提取时间^[3]。因常规植物提取一般为 2 次, 该试验也设置为 2 次。采用四因素三水平正交试验 (表 1), 优选最佳提取工艺。

表 1 正交试验因素水平
Table 1 The factor and level of orthogonal experiment

水平 Level	因素 Factor			
	A(乙醇浓度 Ethanol con- centration//%)	B(料液比 Ratio of solid to liquid)	C(提取时间 Extraction time//h)	D(空白 Blank)
1	50	1:10	1.0	1
2	70	1:16	1.5	2
3	90	1:22	2.0	3

1.2.3 总黄酮含量的测定。

1.2.3.1 标准曲线绘制。准确称取经 105℃ 干燥至恒重的芦丁对照品 4.75 mg, 加甲醇溶解并定容至 100 mL, 即得 47.5 μ g/mL 的芦丁标准溶液。

吸取芦丁标准液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 10 mL 比色管中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 于波长 360 nm、1 cm 比色皿比色, 求出回归方程为: $Y=0.03218X-0.004$ ($R^2=0.9999$) (图 1), 式中, Y 为吸光度, X 为芦丁浓度 (mg/mL)。

1.2.3.2 总黄酮的测定。取 1 mL 供试品溶液, 加 1 g 聚酰

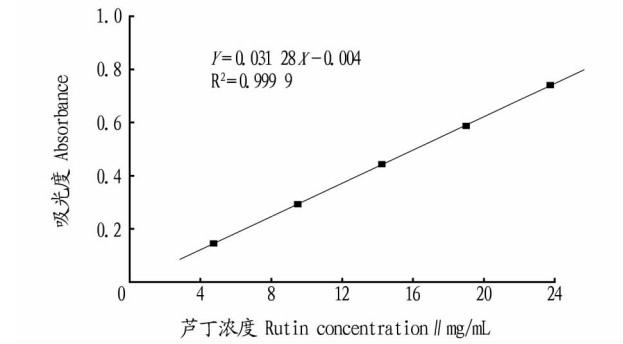


图1 芦丁标准曲线

Fig.1 Standard curve of rutin

胺粉吸附,于水浴上挥干后,转入层析柱。先用 20 mL 苯洗脱,弃去洗脱液,然后用甲醇洗脱,收集洗脱液,定容至 25 mL。按“1.2.3.1”方法测定。

1.2.4 玉米须提取物对小鼠血糖影响试验。

1.2.4.1 糖尿病小鼠模型的建立。ICR 小鼠 90 只,雄性,体重(20±2) g,适应性饲养 3 d 后,预留 10 只小鼠作为正常对照组,其余 80 只禁食 24 h(自由饮水)后,尾静脉注射四氧嘧啶 50 mg/kg 造模。5~7 d 后动物禁食 4 h,测血糖,血糖值 10~35 mmol/L 判定为高血糖模型成功动物。

1.2.4.2 玉米须提取物对糖尿病小鼠模型血糖影响试验。选取高血糖造模成功小鼠 50 只,按血糖值随机分成 5 组,分别为玉米须提取物高、中、低 3 个剂量组,二甲双胍阳性组,模型组。玉米须提取物高、中、低 3 个剂量组给药浓度分别为 40、20、10 g 生药/kg,阳性组给药浓度为 0.4 g/kg,小鼠灌胃体积为 0.02 mL/g 体重,模型组和正常组给予等体积蒸馏水。每天灌胃给药 1 次,连续 30 d,末次给药后禁食 4 h,测定空腹血糖。

1.2.4.3 玉米须提取物对正常小鼠血糖影响试验。ICR 小鼠 30 只,随机分为 3 个组,分别为玉米须提取物组、阳性组(二甲双胍)和对照组,每组 10 只,剂量分别为玉米须提取物组 40 g 生药/kg、二甲双胍组 0.4 g/kg、对照组等体积蒸馏水,小鼠灌胃体积为 0.02 mL/g 体重,每天灌胃给药 1 次,连续 30 d,末次给药后禁食 4 h,测定空腹血糖。

1.3 数据分析 数据统计用 SPSS 16.0 软件进行,计数资料

采用卡方检验,计量资料进行描述性统计和方差分析。数据以 $\bar{x} \pm SD$ 表示。

2 结果与分析

2.1 提取工艺技术条件 由表 2 可看出,各因素对玉米须黄酮得率的影响从大到小依次为乙醇浓度、料液比、提取时间;最佳的提取工艺为 70% 乙醇,料液比 1:16,提取 2 次,每次 2 h。提取得到的总黄酮含量为 14.8 g/kg 生药。

2.2 玉米须总黄酮对四氧嘧啶所致高血糖模型小鼠空腹血糖的影响 由表 3~4 可知,玉米须提取物 40 g 生药/kg 剂量连续灌胃给予正常小鼠 30 d,对正常小鼠的血糖几乎没有影响;阳性组(二甲双胍)0.4 g/kg 剂量能显著降低正常小鼠的血糖($P<0.05$)。玉米须高剂量组(40 g 生药/kg)能显著抑制四氧嘧啶所致的糖尿病小鼠模型血糖的持续升高($P<0.05$),中剂量组(20 g 生药/kg)具有抑制四氧嘧啶所致的糖尿病小鼠模型血糖的持续升高趋势;阳性组(二甲双胍)0.4 g/kg 剂量能极显著降低四氧嘧啶所致的糖尿病小鼠模型的血糖($P<0.01$)。表明玉米须提取物具有一定的辅助降血糖作用。

表 2 不同处理对玉米须总黄酮提取率的影响

Table 2 Effect of different treatments on the extraction rate of total flavonoids in corn milk

序号 No.	因素 Factor				总黄酮提取率 Extraction rate of total flavonoids//%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.61
2	1	2	2	2	0.93
3	1	3	3	3	0.84
4	2	1	2	3	1.21
5	2	2	3	1	1.48
6	2	3	1	2	1.40
7	3	1	3	2	0.87
8	3	2	1	3	0.89
9	3	3	2	1	0.97
k_1	0.79	0.90	0.97	1.02	
k_2	1.36	1.10	1.04	1.07	
k_3	0.91	1.07	1.06	0.98	
R	0.57	0.20	0.10	0.09	

表 3 玉米须提取液对四氧嘧啶所致高血糖模型小鼠血糖的影响

Table 3 Effect of extract of corn silk on blood glucose in diabetic model rats induced by alloxan

组别 Group	剂量 Dose g 生药/kg	动物数 Number of animals//只	给药前血糖 Blood sugar before administration mmol/L	给药后血糖 Blood sugar after administration // mmol/L
玉米须 - 高 Corn silk - high	40	10	20.63 ± 5.88	27.37 ± 6.96 *
玉米须 - 中 Corn silk - medium	20	10	20.83 ± 5.91	33.53 ± 4.72
玉米须 - 低 Corn silk - low	10	10	20.36 ± 5.91	36.70 ± 2.81
阳性组 Positive group	0.4	10	21.03 ± 5.09	8.55 ± 1.30 **
模型组 Model group	0	10	20.92 ± 5.99	38.08 ± 9.57
对照组 Control group	0	10	7.15 ± 0.78	8.07 ± 0.69 **

注: *、* * 分别表示与模型组比较差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)
Note: *, * * were significantly difference($P<0.05$) and extremely significant difference($P<0.01$) compared with model group, respectively

表 4 玉米须提取物对正常小鼠血糖的影响
Table 4 Effect of extract of corn silk on blood glucose in normal rats

组别 Group	剂量 Dose g 生药/kg	动物数 Number of animals// 只	给药前血糖 Blood sugar before administration mmol/L	给药后血糖 Blood sugar after administr- ation// mmol/L
玉米须 Corn silk	40	10	6.18 ± 1.24	6.24 ± 0.86
阳性组 Positive group	20	10	6.12 ± 1.18	5.39 ± 0.97 *
对照组 Control group	0	10	6.20 ± 1.39	6.36 ± 0.58

注：* 表示与对照组比较差异显著($P < 0.05$)
Note: * showed significantly difference($P < 0.05$) compared with control group

3 讨论

玉米须作为传统的中药,其辅助降血糖的作用受到了广泛关注,玉米须的水提液^[3]和醇提液^[4]均具有降血糖的作用,也对其中的组分进行了研究,发现总黄酮^[5]、总皂苷^[6-7]和多糖^[8]均具有降血糖的作用。该研究结果也表明,玉米须的总黄酮具有降低四氧嘧啶所致高血糖模型小鼠血糖的作用,这可能是由于总黄酮可以提高超氧化物歧化酶(SOD)活性,从而降低膜脂过氧化产物丙二醛的含量,进而缓解四氧嘧啶对胰岛β-细胞损伤,甚至可促进已损伤的β-细胞的修复,增强胰岛的分泌功能,从而减轻高血糖症状^[5,9]。除了对总黄酮的降血糖作用外,该试验还研究了玉米须总黄酮的提取工艺,得到其最优工艺为70%乙醇、料液比1:16,提取2次,每次2h。该研究中没有采用超声波或微波的处理方法,这是因为薄南南等^[10]的研究显示常规、超声、微波3种提取方法得到的总黄酮含量并无区别。当然,该研究采用的玉米须总黄酮提取方法没有涉及到提取温度的影响,这将在下一步研究中进行详细的研究。

参考文献

[1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996.
[2] 匡轩, 匡芮, 朱海涛. 玉米须的化学成分及药理保健功能[J]. 中国食物与营养, 2007(4): 46-48.
[3] 宋烨, 王明彦, 宋成武, 等. 玉米须水煎液对1型、2型糖尿病小鼠降血糖活性的研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(11): 2627-2630.
[4] 郑杰, 籍保平, 何计国, 等. 玉米须醇提物对链脲菌素诱导糖尿病小鼠的血糖影响[J]. 农产品加工(学刊), 2006(8): 34-38.
[5] 景怡, 景荣琴, 胡天惠. 玉米须总黄酮对糖尿病高脂血症大鼠血脂、血糖水平的影响及抗氧化作用[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(2): 85-86.
[6] 苗明三, 孙艳红, 史晶晶, 等. 玉米须总皂苷对糖尿病模型大鼠生化指标的影响[J]. 中药药理与临床, 2006, 22(3/4): 80-81.
[7] 苗明三, 孙艳红. 玉米须总皂苷降糖作用研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(7): 711-712.
[8] 赵文竹. 玉米须多糖结构鉴定及其降血糖活性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2011.
[9] 李凤林, 余蕾. 玉米须黄酮的提取及其降糖作用[J]. 中国食品添加剂, 2009(3): 121-124.
[10] 薄南南, 傅桦. 玉米须中总黄酮的提取及含量测定[J]. 首都师范大学学报(自然科学版), 2009, 30(4): 44-47.

(上接第108页)

8月上中旬采收。具体采收时期可根据当年季节具体情况确定,但都必须以达到药材采收质量标准为首要前提。

该研究结果表明,2012—2014年均表现出中午采收单株干重最高,早上采收的单株干重略低,下午采收的单株干重显著降低。其中,中午采收的药材含水率最高,早上和下午含水率显著降低。3个年度早上、中午、下午采收的所有样品中,绿原酸含量为1.87%~2.97%,木犀草苷含量为0.06%~0.14%,均高于药典标准^[1]。一天中早上采收的金银花绿原酸含量最高,中午居中,下午最低;木犀草苷含量也表现相同的规律。可见,四川大邑县采收的金银花绿原酸和木犀草苷含量在一天中随着时间的推移表现递减趋势,这一结果与前人报道^[6-8]吻合。鉴于3个年度早上、中午、下午采收的所有样品中,绿原酸含量、木犀草苷含量均明显高于药典标准,故大邑县金银花GAP基地全天均可采收符合

药典规定的金银花药材。但以早上采收品质最佳,中午采收产量最高,如生产基地人工条件允许,尽量在早上和中午集中完成采收,如果确因人工不足,也可在下午继续采收剩余部分药材,但产量和品质将有所下降。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典:一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.
[2] 刘晶, 张燕丽, 付起凤, 等. 金银花最佳采收期的研究[J]. 中医药信息, 2011, 28(3): 49-50.
[3] 刘志阳. 金银花采收期的试验研究[J]. 陕西林业科技, 2010(1): 24-25.
[4] 李桂兰, 刘洁, 毕胜. 山东金银花的采收加工与贮存养护[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(1): 124-125.
[5] 王永香, 吴云, 孟瑾, 等. 江苏东海县金银花不同花期绿原酸和木犀草苷动态变化研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2013, 15(9): 1975-1979.
[6] 徐李, 曾忠良, 徐晓玉, 等. 不同采收时间、花期及干燥方法对秀山金银花中绿原酸含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(6): 2938-2939.
[7] 马卫华. 金银花的采收加工[J]. 山西农业, 2005(7): 58.
[8] 汪治, 肖聪颖, 梅树模, 等. 湘蕾金银花最佳采收时间和干燥方法的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(3): 612-613.