

道地药材月见草总多酚的提取工艺研究

牛佳雯, 雒江菡*, 张雨欣, 李婧, 糕昊

(哈尔滨商业大学细胞与分子生物学研究所, 黑龙江哈尔滨 150076)

摘要 以黑龙江道地药材月见草为原料, 乙醇为提取剂, 对月见草总多酚进行提取。以月见草总多酚提取量为考察指标, 考察浸提温度、乙醇浓度、料液比和提取时间对月见草总多酚提取量的影响, 优化提取工艺条件。结果表明, 月见草总多酚的最佳提取工艺为浸提温度 80 ℃、乙醇浓度 70%、料液比 1:30(g:mL)、提取时间 3 h, 此时, 吸光度为 0.632, 总多酚提取量为 4.47 mg/g; 通过方法学考察, 验证了该方法的重复性良好。

关键词 月见草; 总多酚; 提取工艺; 优化

中图分类号 R284.2 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2023)01-0166-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.01.037



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Extraction Process of Total Polyphenols from Genuine Medicinal Materials *Oenothera biennis*

NIU Jia-wen, LUO Jiang-han, ZHANG Yu-xin et al (Institute of Cell and Molecular Biology, Harbin University of Commerce, Harbin, Heilongjiang 150076)

Abstract This paper used *Oenothera biennis* as a raw material and ethano as extractant to extract total polyphenols. The total polyphenols extraction amount of *Oenothera biennis* was used as the index to estimate the effect of the extraction temperature, ethanol concentration, solid-liquid ratio and extraction time on extraction amount, the process conditions were optimized. The results showed that the best extraction condition of the total polyphenols from *Oenothera biennis* includes: the extraction temperature was 80 ℃, solvent was 70% ethanol, solid-liquid ratio was 1:30, extraction time was 3 h. At this time, the absorbance was 0.632, and the total polyphenol content was 4.47 mg/g. Methodological investigations demonstrated that the test repeatability was good.

Key words *Oenothera biennis*; Total polyphenols; Extraction process; Optimization

月见草(*Oenothera biennis* L.)为柳叶菜科月见草属下的一个种,是黑龙江省大庆市大同区典型的道地药材,大同区自然环境、土壤优势非常适宜月见草生长,药材品质好、有效成分含量高^[1],月见草被誉为“皇室御药”,可治疗多种疾病,在调节血液中的脂类物质,对高胆固醇、高血脂引起的冠状动脉栓塞、粥样硬化及脑血栓等症有显著疗效,是最有开发前景的物种之一^[2-4]。目前国内月见草种植已形成规模,其生态价值、药用和保健价值已被人们逐渐所认识。目前,从月见草的叶、根、茎、种子中已分离得到多种类型的化合物,主要为黄酮类化合物、萜类化合物、挥发油、鞣质和多酚等^[5]。对于这些成分的提取也有相对较成熟的工艺方法,但是对于月见草多酚提取的研究相对较少。多酚类物质具有很强的抗菌、抗氧化活性,能够预防糖尿病和心血管疾病、抑制癌细胞增殖等生理功能^[6-9]。该研究采用单因素试验考察浸提温度、提取时间、料液比和乙醇浓度对总多酚提取量的影响,采用正交试验优化月见草总多酚的提取工艺,以期为今后月见草的开发和应用提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试材。月见草,黑龙江省大庆市大同区典型的道地药材。没食子酸标准品(纯度≥98%),250 mg/瓶,北京万佳标准物质研发中心;福林酚试剂,100 mL/瓶,北京万佳标准物质研发中心;无水乙醇,500 mL/瓶,天津市天力化学试剂

有限公司;无水碳酸钠,500 g/瓶,天津市致远化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器。高速多功能粉碎机,天津泰斯特仪器有限公司;电子分析天平,赛多利斯(上海)贸易有限公司;数显恒温水浴锅,常州市恒久仪器制造有限公司;紫外可见分光光度计,上海谱元仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 没食子酸标准曲线的绘制。称取没食子酸标准品 0.025 g,加入蒸馏水溶解,用 500 mL 容量瓶定容,得质量浓度 0.05 mg/mL 没食子酸标准溶液。准确量取 0、0.10、0.20、0.30、0.50、0.80、1.00 mL 的没食子酸标准溶液,将标准液分别放在 50 mL 棕色容量瓶中,加入 4 mL 福林酚试剂,摇匀,加入 4 mL 的 10%Na₂CO₃ 溶液,充分混匀后定容,室温静置反应 1 h,于 765 nm 波长处测吸光度,不加没食子酸标准溶液为空白对照组。以标准液没食子酸的质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线^[10]。月见草总多酚提取量(mg/g)=标准曲线计算的总多酚浓度×提取液定容的体积/月见草药材质量。

1.2.2 单因素试验。

1.2.2.1 浸提温度对月见草总多酚提取量的影响。精密称定 5 份 1.0 g 月见草粉末,置 100 mL 圆底烧瓶中,加 70%乙醇 30 mL,在 50、60、70、80、90 ℃水浴锅提取 3 h,抽滤,加入适量蒸馏水定容至 50 mL。从 5 支具塞试管中精密吸取 5 mL 滤液,分别置 25 mL 具塞试管中,编号 1~5,加 70%乙醇稀释并定容至刻度,摇匀。再从这 5 支试管中分别取出溶液适量放于比色皿中,空白对照选用 70%乙醇,在 765 nm 处测定吸光度,根据标准曲线计算月见草总多酚提取量,考察浸提温

基金项目 大学生创新创业训练计划项目(2021110240012)。

作者简介 牛佳雯(2001—),女,黑龙江佳木斯人,从事中草药活性物质筛选研究。*通信作者,高级工程师,博士,从事中药药理学研究。

收稿日期 2022-02-22

度对月见草总多酚提取量的影响。

1.2.2.2 乙醇浓度对月见草总多酚提取量的影响。精密称定 5 份 1.0 g 月见草粉末,置 100 mL 圆底烧瓶中,加 30 mL 60%、70%、80%、90%、100% 乙醇,70 °C 水浴锅提取 3 h,抽滤,加适量蒸馏水定容至 50 mL。从 5 支具塞试管中精密吸取滤液 5 mL,分别置 25 mL 具塞试管中,编号 16~20,加相应乙醇稀释并定容至刻度,且摇匀。再从这 5 支试管中分别取出溶液适量放于比色皿中,空白对照选用相应浓度的乙醇,在 765 nm 处测定吸光度,根据标准曲线计算月见草总多酚的提取量,考察乙醇浓度对月见草总多酚提取量的影响。

1.2.2.3 料液比对月见草总多酚提取量的影响。精密称定 5 份 1.0 g 月见草粉末,置 100 mL 圆底烧瓶,加 10、20、30、40、50 mL 70% 乙醇,70 °C 水浴锅提取 3 h,抽滤,加蒸馏水,并定容至 50 mL。从 5 支具塞试管中精密吸取滤液 5 mL,分别置 25 mL 具塞试管中,编号 11~15,向各试管中加 80% 乙醇稀释并定容至刻度,且摇匀。再从这 5 支试管中分别取出溶液适量于比色皿中,空白对照选用 70% 乙醇,在 765 nm 处测定吸光度,根据标准曲线计算月见草总多酚提取量,考察料液比对月见草总多酚提取量的影响。

1.2.2.4 提取时间对月见草总多酚提取量的影响。精密称定 5 份 1.0 g 月见草粉末,置 100 mL 圆底烧瓶,加 70% 乙醇 30 mL,70 °C 水浴锅提取 1、2、3、4、5 h,抽滤,向抽滤液中加入适量蒸馏水,并定容至 50 mL。从 5 支具塞试管中精密吸取滤液 5 mL,分别置 25 mL 具塞试管中,编号 6~10,加 70% 乙醇稀释并定容至刻度,并摇匀。再从这 5 支试管中分别取出适量的溶液放于比色皿,空白对照选用 70% 乙醇,在 765 nm 处测定吸光度,根据标准曲线计算月见草总多酚提取量,考察提取时间对月见草总多酚提取量的影响。

1.2.3 正交试验设计。在单因素试验基础上,选取浸提温度、提取时间、料液比、乙醇浓度 4 个变量为参考因素,选出对试验影响较大的 3 个水平,进行 4 因素 3 水平正交试验设计,正交试验因素水平见表 1。

2 结果与分析

2.1 没食子酸标准曲线的绘制 根据“1.2.1”中的线性关系考察配制溶液后,采用紫外分光光度法于 765 nm 波长处测定吸光度。以标准液没食子酸的质量浓度(mg/mL)为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线(图 1),得出回归方程为 $y=7.0097x+0.0048$ ($R^2=0.9993$)。

2.2 单因素试验

2.2.1 浸提温度对月见草总多酚提取量的影响。从图 2 可以看出,随着浸提温度的升高,总多酚提取量呈现出先升高后逐渐降低的趋势。在浸提温度为 80 °C 时,月见草总多酚提取量达到最大值。这是由于随着浸提温度的提高,乙醇分子作为溶剂,运动速度加快,与月见草接触充分,加大月见草总多酚溶出量,但当温度超过 80 °C 以后,高温使提取物总多酚发生氧化,从而使月见草总多酚提取量降低,因此,提取的最佳浸提温度为 80 °C。

2.2.2 乙醇浓度对月见草总多酚提取量的影响。从图 3 可

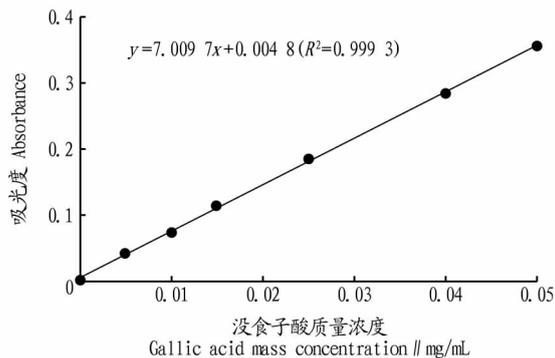


图 1 没食子酸标准曲线

Fig. 1 Standard curve of gallic acid

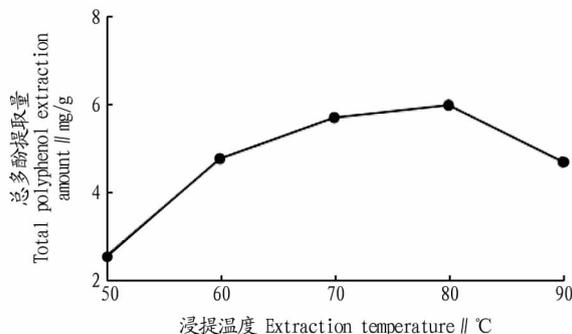


图 2 浸提温度对月见草总多酚提取量的影响

Fig. 2 Effect of extraction temperature on total polyphenol extraction amount of *Oenothera biennis*

以看出,随着乙醇浓度的提高,月见草总多酚提取量呈现出先升高后平稳的趋势。当乙醇浓度由 60% 增加至 70% 时,总多酚提取量明显提高,但当乙醇浓度超过 70% 以后,随着乙醇浓度的增加,提取量变化不大。主要是因为溶剂浓度越高,溶剂传质推动力越大,浸提效果越好;但使用过多的提取剂,会导致后续提取剂的回收成本及耗能增加,使经济效益下降,污染物的排放也会增加,所以,应该选择合适的提取剂浓度。根据以上分析,确定提取的最佳乙醇浓度为 70%。

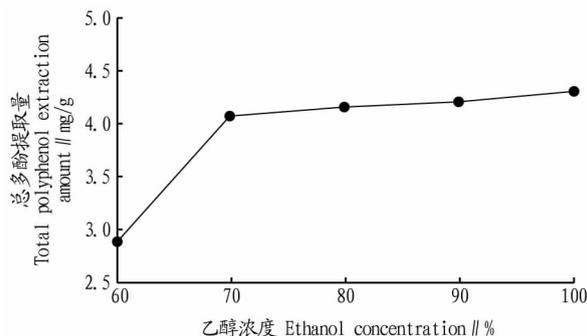


图 3 乙醇浓度对月见草总多酚提取量的影响

Fig. 3 Effect of ethanol concentration on total polyphenol extraction amount of *Oenothera biennis*

2.2.3 料液比对月见草总多酚提取量的影响。从图 4 可以看出,随着料液比的降低,月见草总多酚提取量呈现出先升高后平稳的趋势。料液比为 1:30 时,总多酚提取量最大,超过 1:30 以后总多酚提取量趋于稳定。这主要是由于 1:30

的料液比就能较充分地提取月见草中的多酚类物质,即使溶剂用量增加,总多酚提取量未见明显提高,反倒给后续的活性物质分离纯化及溶剂回收带来麻烦,成本增加。因此,确定提取的最佳料液比为1:30。

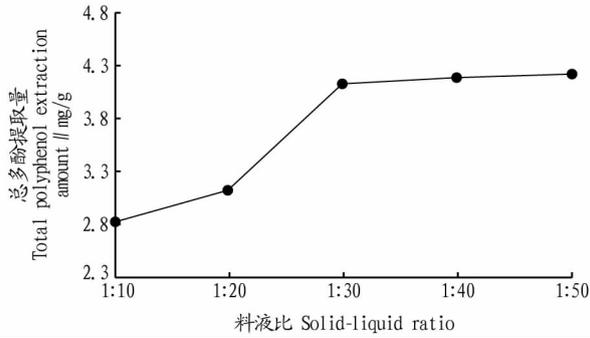


图4 料液比对月见草总多酚提取量的影响

Fig. 4 Effect of solid-liquid ratio on total polyphenol extraction amount of *Oenothera biennis*

2.2.4 提取时间对月见草总多酚提取量的影响。从图5可以看出,随着提取时间的延长,月见草总多酚提取量呈现出先升高而后逐渐降低的趋势。当提取时间为4 h时,总多酚提取量最大,之后由于提取时间的延长,浸提液中多酚类物质长时间与空气接触,发生氧化作用,从而导致总多酚提取量降低,但提取时间由3 h延长至4 h以后,总多酚提取量增加并不明显。考虑到节能原因,并结合以上分析,确定提取的最佳提取时间为4 h。

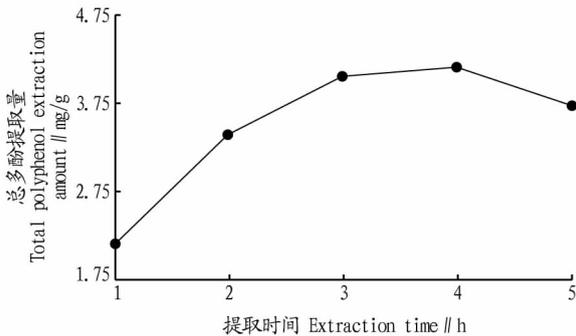


图5 提取时间对月见草总多酚提取量的影响

Fig. 5 Effect of extraction time on total polyphenol extraction amount of *Oenothera biennis*

2.3 正交试验 为了进一步优化提取工艺条件,在单因素试验基础上进行 $L_9(3^4)$ 正交试验(表1)。正交试验结果与分析如表2所示。从表2可以看出,各因素对月见草总多酚提取量的影响从大到小依次为 $A>B>D>C$,即浸提温度的影响最大,其次是乙醇浓度、提取时间,料液比的影响最小。方差分析结果表明,浸提温度对总多酚提取效果影响显著,而料液比对多酚提取效果影响并不明显。试验得出月见草总多酚的最佳提取工艺为 $A_3B_2C_2D_2$,即浸提温度80℃、乙醇浓度70%、料液比1:30、提取时间3 h,此时,吸光度为0.632,总多酚提取量为4.47 mg/g。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验。用移液管吸取1.0 mL没食子酸配制

的对照品溶液,置于25 mL具塞试管中,向其中加入95%乙醇溶液定容至刻度并振荡摇匀,用紫外分光光度计在765 nm处重复测定吸光度6次,计算得出其RSD为0.13%,表明精密度良好。

表1 正交试验因素和水平

Table 1 Orthogonal test factors and levels

水平 Level	A(浸提温度 Extraction temperature /℃)	B(乙醇浓度 Ethanol concentration//%)	C(料液比 Solid-liquid ratio)	D(提取时间 Extraction time//h)
1	60	60	1:20	2
2	70	70	1:30	3
3	80	80	1:40	4

表2 正交试验结果与分析

Table 2 Results and analysis of orthogonal test

试验号 Test No.	A	B	C	D	总多酚提取量 Total polyphenol extraction amount /mg/g
1	1	1	1	1	2.662
2	1	2	2	2	3.689
3	1	3	3	3	2.997
4	2	1	2	3	3.325
5	2	2	3	1	3.368
6	2	3	1	2	3.596
7	3	1	3	2	3.789
8	3	2	1	3	4.381
9	3	3	2	1	3.661
k_1	3.116	3.259	3.547	3.230	
k_2	3.430	3.813	3.558	3.692	
k_3	3.944	3.418	3.385	3.568	
R	0.828	0.554	0.173	0.462	

2.4.2 稳定性试验。移液管取同一供试品溶液1.0 mL,置于25 mL具塞试管中,加100%乙醇定容。分别经过0、1、2、3、4、5 h后,采用紫外分光光度计在765 nm处分别测定吸光度,每次测定需重复操作3次,计算得出其RSD为0.98%,表明样品溶液在5 h内检测稳定。

2.4.3 重复性试验。取同一批1.0 mL月见草总多酚提取液5份,按“1.2.1”方法制备供试品溶液,765 nm处测定吸光度,计算吸光度平均值为0.630,总多酚提取量为4.46 mg/g,表明该试验重复性良好。

3 结论

该研究通过单因素试验和正交试验确定了月见草总多酚提取的最佳工艺:浸提温度80℃、乙醇浓度70%、料液比1:30、提取时间3 h,此时,吸光度为0.632,总多酚提取量为4.47 mg/g;通过精密度试验、稳定性试验、重复性试验3种方法学考察,验证了该试验的重复性良好,该试验结果可为植物中多酚类化合物的提取奠定一定的理论基础。

参考文献

- [1] 周启仙,刘忠颖.月见草经济价值及栽培技术探讨[J].绿色科技,2019(21):119-120.
- [2] 刘玉芬.北药月见草栽培技术浅析[J].园艺与种苗,2017,37(9):55-56.

通过构建农产品双渠道供应链收益共享契约模型,探讨了收益共享契约参数变化情况下的供应链协调问题。双渠道供应链协调的最终目的是使分散状态下供应商和零售商的最优决策等于集中状态下供应链系统的最优决策,因此通过设计收益共享契约参数实现了传统销售渠道与网络销售渠道的协调。为了实现双渠道供应链协调,零售商需将其传统销售渠道收益的大部分共享给供应商,以换取较低的批发价格;供应商愿意提供较低的批发价格,而不愿共享较多的网络销售渠道收益。该研究通过收益共享契约协调农产品双渠道供应链,未来将考虑通过多契约组合的形式进一步研究农产品双渠道供应链协调的相关问题。

参考文献

- [1] 陈远高,刘南. 存在差异性产品的双渠道供应链协调研究[J]. 管理工程学报,2011,25(2):239-244.
- [2] VISWANATHAN S. Competing across technology-differentiated channels: The impact of network externalities and switching costs [J]. Management science,2005,51(3):483-496.
- [3] 杨亚,范体军,张磊. 新鲜度信息不对称下生鲜农产品供应链协调[J]. 中国管理科学,2016,24(9):147-155.
- [4] 陈军,但斌. 生鲜农产品的流通损耗问题及控制对策[J]. 管理现代化,2008(4):19-21.
- [5] 王冲,陈旭. 农产品价格上涨的原因与流通改革的思路探讨[J]. 中国软科学,2012(4):11-17.
- [6] 王冲,唐曼萍,王莉莉. 基于 Stackelberg 博弈的生鲜农产品供应链决策研究[J]. 软科学,2013,27(4):99-101,105.
- [7] 熊峰,彭健,金鹏,等. 生鲜农产品供应链关系契约稳定性影响研究:以冷链设施补贴模式为视角[J]. 中国管理科学,2015,23(8):102-111.
- [8] 林略,杨书萍,但斌. 收益共享契约下鲜活农产品三级供应链协调[J]. 系统工程学报,2010,25(4):484-491.
- [9] 邱慧,李雷,杨怀珍. 考虑产出率影响销售价格的农产品供应链利益协调模型[J]. 系统科学学报,2022,30(2):81-85.

(上接第161页)

- [8] 金心怡,孙云,孙威江,等. 清香型乌龙茶生产加工新技术专题(一)清香型乌龙茶品质特征与发展现状[J]. 中国茶叶,2007,29(1):12-13.
- [9] 李丹阳,韩明红,王妮妮,等. 不同季节红茶的感官品质及内含成分分析[J]. 落叶果树,2016,48(6):20-22.
- [10] 顾谦,陆锦时,叶宝存. 茶叶化学[M]. 合肥:中国科学技术大学出版社,2002:78-79.
- [11] 王辉,刘亚芹,周汉琛,等. 不同萎凋处理的红茶加工过程中氨基酸和儿茶素组分的动态变化研究[J]. 中国茶叶加工,2018(4):29-34.
- [12] 陈昌辉,杜晓,齐桂年. 工夫红茶主要内含成分与品质的相关性分析[J]. 食品科技,2011,36(9):83-87.

(上接第168页)

- [3] SINGH R,TRIVEDI P,BAWANKULE D U,et al. HILIC quantification of Oenotheralanoesterol A and B from *Oenothera biennis* and their suppression of IL-6 and TNF- α expression in mouse macrophages[J]. Journal of ethnopharmacology,2012,141(1):357-362.
- [4] SINGH S,KAUR R,SHARMA S K. An updated review on the *Oenothera* genus[J]. Journal of Chinese integrative medicine,2012,10(7):717-725.
- [5] 马文君,齐宝坤,李杨,等. 超声辅助水酶法提取月见草籽油的研究[J]. 中国食物与营养,2015,21(4):54-58.
- [6] 李瑞,梁永林,阙欢,等. 响应面法优化云南核桃分心木多酚提取工艺

- [10] 赵霞,吴方卫. 随机产出与需求下农产品供应链协调的收益共享合同研究[J]. 中国管理科学,2009,17(5):88-95.
- [11] 但斌,陈军. 基于价值损耗的生鲜农产品供应链协调[J]. 中国管理科学,2008,16(5):42-49.
- [12] 陈军,但斌. 基于实体损耗控制的生鲜农产品供应链协调[J]. 系统工程理论与实践,2009,29(3):54-62.
- [13] DUMRONGSIRI A. A supply chain model with direct and retail channels [J]. European journal of operational research,2008,187(3):691-718.
- [14] CHIANG W Y K,CHHAJED D,HESS J D. Direct marketing, indirect profits: A strategic analysis of dual-channel supply-chain design[J]. Management science,2003,49(1):1-20.
- [15] TSAY A A,AGRAWAL N. Channel conflict and coordination in the E-commerce age[J]. Production and operations management,2004,13(1):93-110.
- [16] CATTANI K,GILLAND W,HEESE H S,et al. Boiling frogs:Pricing strategies for a manufacturer adding a direct channel that competes with the traditional channel [J]. Production and operations management,2006,15(1):40-56.
- [17] 邱若臻,黄小原,葛汝刚. 信息共享条件下供应链在线与传统销售渠道协调定价[J]. 管理工程学报,2009,23(4):74-78.
- [18] YAN R L,PEI Z. Retail services and firm profit in a dual-channel market [J]. Journal of retailing and consumer services,2009,16(4):306-314.
- [19] 晏妮娜,黄小原,刘兵. 电子市场环境供应链双源渠道主从对策模型[J]. 中国管理科学,2007,15(3):98-102.
- [20] 谢庆华,黄培清. Internet 环境下混合市场渠道协调的数量折扣模型[J]. 系统工程理论与实践,2007,27(8):1-11.
- [21] CHIANG W Y K. Product availability in competitive and cooperative dual-channel distribution with stock-out based substitution[J]. European journal of operational research,2010,200(1):111-126.
- [22] CHEN J,ZHANG H,SUN Y. Implementing coordination contracts in a manufacturer Stackelberg dual-channel supply chain[J]. Omega,2012,40(5):571-583.
- [23] XU G Y,DAN B,ZHANG X M,et al. Coordinating a dual-channel supply chain with risk-averse under a two-way revenue sharing contract [J]. International journal of production economics,2014,147:171-179.
- [24] 唐润,彭洋洋. 考虑时间和温度因素的生鲜食品双渠道供应链协调[J]. 中国管理科学,2017,25(10):62-71.

- [13] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 3版. 北京:中国农业出版社,2003:76-187.
- [14] ROBERTS E A H,MYERS M. The phenolic substances of manufactured tea. VI. The preparation of theaflavin and of theaflavin gallate[J]. Journal of the science of food and agriculture,1959,10(3):176-179.
- [15] 孙红,唐良生. 绿茶品质与茶多酚、氨基酸、水浸出物含量关系的分析[J]. 茶叶通讯,1985(2):21-25.
- [16] 钟兴刚,黄怀生,郑红发,等. 保靖黄金茶-优质红茶适制性分析研究[J]. 茶叶,2015,41(4):188-191.
- [17] 徐燕,朱创,郇玲玲,等. 红茶化学成分及生理活性的研究进展[J]. 安徽农业大学学报,2020,47(5):687-696.

- [J]. 西南林业大学学报,2021,41(2):159-165.
- [7] 黄雅,陈华国,周欣,等. 黔产接骨草中总多酚的含量测定及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2017,29(2):255-263.
- [8] 李月,纪乃茹,李健,等. 红毛藻多酚提取工艺优化及抗氧化活性[J]. 食品工业科技,2021,42(7):156-161.
- [9] WANG B N,LIU L G,HUANG Q Y,et al. Quantitative assessment of phenolic acids,flavonoids and antioxidant activities of sixteen jujube cultivars from China[J]. Plant foods for human nutrition,2020,75(2):154-160.
- [10] 曾媛媛,全涛,黄昆仑. 石菖蒲多酚的提取工艺、组成成分分析及生物活性评价的研究进展[J]. 食品工业科技,2021,42(20):384-390.