

文章编号:1674-2869(2011)11-0031-04

离子液体微波辅助提取葛根总黄酮

李 倩,张越非,钟 玲,池汝安^{*},赵慧平

(武汉工程大学绿色化工与制药学院,化工过程省部共建教育部重点实验室,
湖北省新型反应器与绿色化工工艺重点实验室,湖北 武汉 430074)

摘 要:采用微波辅助提取技术,以葛根总黄酮提取率为指标,以溴化 1-丁基-3-甲基咪唑([bmim]Br)水溶液为提取剂提取葛根总黄酮.分别考察了提取时间、提取温度、微波功率、提取液浓度以及固液比对葛根总黄酮提取率的影响.结果显示,葛根总黄酮提取最佳条件为:提取剂[bmim]Br 水溶液浓度为 1.0 mol/L,最佳固液比为 1:20,微波功率为 500 W,提取温度为 70 ℃,萃取时间 8 min,其粗黄酮的提取率为 8.05%.与传统的乙醇提取方法相比,萃取率要高 13.5%,使用的溶剂量少,微波功率低,快速高效,且提取率高.

关键词:离子液体;总黄酮;葛根;微波辅助提取

中图分类号:TQ041⁺.71.8

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2011.11.008

0 引 言

室温离子液体(Room temperature ionic liquids,ILS)是由有机阳离子和无机或有机阴离子构成,在室温或接近室温下(通常低于 100 ℃)呈液体状态的盐类^[1-2].因为离子液体是一种绿色溶剂,具有很高的极化率,对微波具有强的吸收和热转换能力,非常适合做微波辅助萃取的萃取溶剂^[3-5].另外,还具有溶解能力强、蒸汽压低、挥发性小、液态范围宽等独特的物理化学性质^[6].而传统的微波萃取溶剂,如甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、甲苯、乙醚等,因其具有较强的挥发性或毒性,在生产过程中会引起环境污染.

离子液体作为一种可设计的绿色溶剂,在液液萃取、液相微萃取、双水相萃取、固相萃取和膜分离等样品预处理方面的均有应用;近年来,离子液体在天然产物分离提取方面的应用也见报道^[7-8].Lu 等^[9]采用微波辅助萃取法,以 1-烷基-3-甲基咪唑为阳离子的离子液体的水溶液为溶剂,对莲子心中酚醛碱的提取进行了研究.李攻科等^[10]以离子液体的水溶液为提取剂,通过微波辅助法对石蒜中的石蒜碱、力克拉敏和加兰他敏生物碱等物质的提取进行了研究,并将提取效率与传统萃取法进行了比较,发现该方法快速高效且无污染.

葛根的主要成分是黄酮类物质,其中起最主要药理作用的是葛根素.葛根素具有降低心肌耗氧、扩张冠状动脉血管、改善心肌收缩功能、调节血压、解酒护肝等作用,尤其是对于心血管疾病有很好的疗效^[11].因此,本实验采用葛根黄酮为研究对象,研究极性水溶性[bmim]Br 作为提取溶剂在提取葛根总黄酮和葛根素中的作用.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 实验仪器 XH-100A 微波催化合成/萃取仪,北京祥鹄科技发展有限公司生产;DZF-6020 型真空干燥箱,巩义予华仪器有限公司生产;EL204 电子天平,梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司生产;UV-2450 型紫外分光光度计,日本岛津(Shimadzu)公司生产;Agilent 1100 系列高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司生产;旋转蒸发仪,上海嘉鹏科技有限公司生产,SHZ-D(III)循环水式真空泵,巩义市英峪予华仪器厂生产;真空干燥箱,上海实验仪器有限公司生产.

1.1.2 实验试剂 N-甲基咪唑,临海市凯合化工厂生产;溴代正丁烷,国药集团化学试剂有限公司生产;乙酸乙酯,国药集团化学试剂有限公司生产;无水乙醇,国药集团化学试剂有限公司生产;

收稿日期:2011-09-30

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21006075);湖北省自然科学基金重点项目(2008CDA060);武汉工程大学青年科学基金项目(Q201104)

作者简介:李 倩(1986-),女,湖北洪湖人,硕士研究生.研究方向:天然药物学.

指导老师:池汝安,男,教授,博士,博士研究生导师.研究方向:矿物加工,天然产物分离.*通信联系人

葛根,购于三九中药店,产地为湖北英山;葛根素对照品,南京替斯艾么中药研究所生产;整个实验过程中均采用二次蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 溴化 1-丁基-3-甲基咪唑的合成 溴化 1-丁基-3-甲基咪唑参考文献采用微波法进行合成^[12],合成过程中采用微波功率为 500 W,温度 80 ℃,间歇式加热,功率和温度过高会影响反应产率.反应结束后冷却到室温,得到淡黄色黏稠粗品,得到的初产品用乙酸乙酯洗涤、旋转蒸发、真空干燥后,得到淡黄色黏稠液体,产品收率为91.38%。

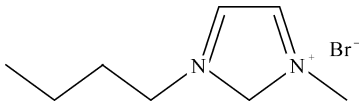


图 1 [bmim]Br 结构图

Fig.1 The Molecular Structure of [bmim]Br

1.2.2 葛根标准曲线 称取葛根素对照品 5.2 mg,用质量分数 95%乙醇溶解并定容于50 mL 容量瓶中,得 0.104 mg/mL 的葛根素标准溶液.准确吸取该标准溶液 0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 mL于 10 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释定容,得系列对照品溶液,以 1.0 mL 质量分数 95%乙醇加水至 10 mL 作空白对照,于 250 nm 处测定 A。

1.2.3 葛根总黄酮化合物的提取 将葛根块粉碎、过筛,得到粒径 0.250~0.850 mm 的样品.准确称取 0.5 g 过筛后的葛根样品,按固液比1:20 进行提取,提取温度为 60 ℃,微波功率为 500 W,提取 10 min,取出冷却后测量。

1.2.4 分析方法 葛根总黄酮的分析采用紫外分光光度法,以葛根素为对照品进行分析。

提取液中葛根素的分析采用高效液相色谱法,以葛根素为对照品,色谱条件见表 1。

表 1 色谱条件

Table 1 The conditions of chromatography

项目	色谱参数
色谱柱	InertsilODSC18 色谱柱 (250 mm×4.6 mm,5 μm)
流动相	甲醇-水(25:75)(v/v)
检测波长	250 nm
柱温	25 ℃
流速	1 mL/min
进样量	10 μL

2 结果与讨论

2.1 固液比对提取率的影响

液体中溶质的扩散系数不仅与物系的种类、

温度有关,且随溶质的浓度而变,而固液比对体系中溶质的浓度影响最大,因此合适的固液比不仅有利于溶质的溶出,还能提高溶剂的提取效率.实验采用浓度为 0.5 mol/L 的[bmim]Br 的水溶液,固定微波功率为 600 W,提取时间为 8 min,通过改变固液比的值,研究固液比对葛根总黄酮提取率的影响.结果如图 2 所示:当固液比从 1:10 到 1:20时,因为增加了提取液的用量,有利于葛根总黄酮的溶出,因此提取液中总黄酮量有明显的增加.但当固液比大于 1:20 后,提取液中黄酮总量基本保持不变,且当固液比大于 1:40 后,还出现了缓慢减少,综上可知即使继续增加溶剂的量,也无法提高葛根总黄酮的提取率,并且加大了溶剂的消耗量,也不利于后续的溶剂回收,不符合经济高效的要求,因此选择最佳固液比为 1:20。

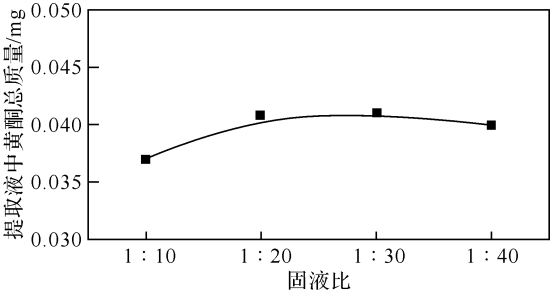


图 2 固液比对提取黄酮总量的影响

Fig.2 Effect of solid-liquid ratio on the extraction of flavonoids

2.2 提取温度对提取效果的影响

从理论上讲,提取温度越高,分子运动越剧烈,越有利于溶质的扩散,但温度过高不但增加能耗,而且对天然产物的稳定也不利,因此需要考察不同的温度对葛根中总黄酮溶出率的影响.实验准确称取 0.5 g 葛根样品,采用 10 mL 0.5 mol/L 的[bmim]Br 水溶液作为提取剂,在微波功率600 W,提取时间 8 min 的条件下,测定不同温度下提取液中总黄酮的浓度,结果如图 3 所示.当温度从室温到 70 ℃变化时,随着提取温度的提高,提取液中葛根总黄酮浓度明显的增大,而温度达到 70 ℃左右时,总黄酮浓度趋于稳定.继续提高提取温度,提取液中总黄酮量明显下降,可能是因为当提取温度过高时,会导致部分葛根总黄酮分解.考虑要经济高效为前提,最佳提取温度为70 ℃。

2.3 提取时间对提取效果的影响

准确称取 0.5 g 葛根样品,采用 10 mL 0.5 mol/L 的[bmim]Br 水溶液作为溶剂,在微波功率 600 W,提取温度 70 ℃的条件下,改变提取时间,研究提取时间对葛根中总黄酮溶出率的影响.结果发现(见图 4),[bmim]Br 水溶液溶出葛根

黄酮的速度很快,加热初(提取 2 min 时)就能明显观察到溶液中有黄酮溶出,而且随着时间增加,葛根黄酮质量浓度也在缓慢增加,到 8 min 最大值时,比 2 min 时的黄酮质量浓度高出 9%;而当提取时间超过 10 min 后,提取液中总黄酮的质量浓度有稍许下降,这可能是由于微波的强热效应,使葛根总黄酮部分发生分解,导致了总量的下降.因此,提取时间宜在 8 min 左右.

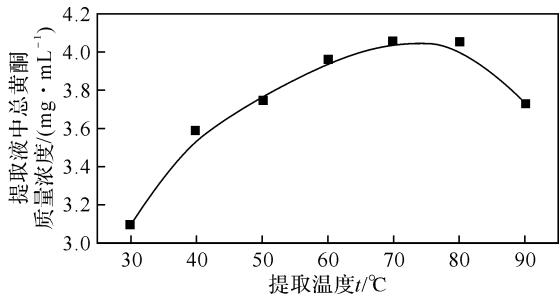


图 3 提取温度对提取液中黄酮浓度的影响

Fig. 3 Effect of temperature on the extraction of flavonoids

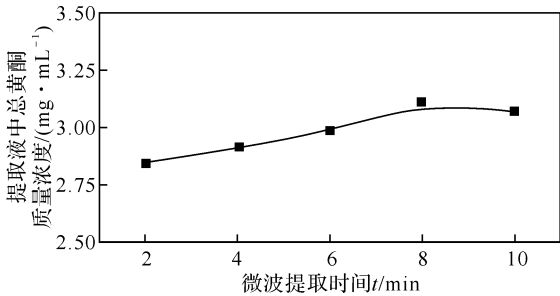


图 4 提取时间对提取液浓度的影响

Fig. 4 Effect of time on the extraction of flavonoids

2.4 功率对提取效率的影响

微波加热功率过低,提取液升温缓慢,功率过高温度又不容易控制,因此必须微波功率对提取效果的影响.实验采用 10 mL 0.5 mol/L 的离子液体提取 0.5 g 葛根,固定微波萃取时间为 8 min,提取温度为 70 $^{\circ}\text{C}$,改变微波功率,测量提取液中的葛根总黄酮质量含量.结果如图 5 所示,微波提取功率为 500 W 时黄酮提取率最高,且此时提取液温度平稳上升,有利于提取.

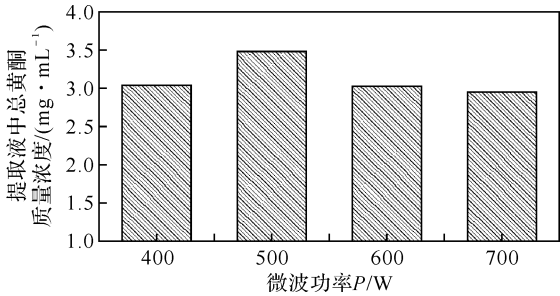


图 5 微波功率对提取效率的影响

Fig. 5 Effect of microwave power on the extraction of flavonoids

2.5 [bmim]Br 的浓度对提取率的影响

由于纯的 [bmim]Br 为淡黄色粘稠液体, [bmim]Br 水溶液的粘度会随着浓度的增加而增大,提取剂的浓度过大,不但会增加成本,而且还会影响后续的固液分离,因此需要对 [bmim]Br 的浓度的影响进行研究.实验固定提取固液比为 1:20,萃取温度为 70 $^{\circ}\text{C}$,微波功率 500 W,萃取时间为 8 min,研究不同提取剂浓度对提取液中总黄酮质量含量的影响.结果如图 6 所示,当 [bmim]Br 浓度从 0.2 mol/L 逐渐增加到 1.0 mol/L,总黄酮的萃取量明显增加,当离子液体浓度大于 1.0 时,提取液中总黄酮的质量浓度基本保持不变,这说明即使继续增大溶剂浓度,葛根总黄酮的溶出量也不会有很大的提高,并且继续增大提取液的浓度,提取液的粘度会明显增大,分离提取液会产生损失,这一现象与课题组前期工作比较类似^[12].因此,从萃取成本及操作上的综合考虑,最终选择 1.0 mol/L [bmim]Br 溶液作为微波辅助提取葛根总黄酮的溶剂.在最佳条件下得到葛根黄酮的得率为 8.05%.

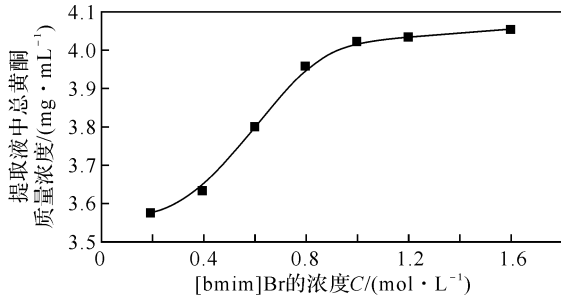


图 6 提取液浓度对提取效率的影响

Fig. 6 Effect of the concentration of [bmim]Br solution on the extraction of flavonoids

2.6 离子液体与传统提取剂乙醇的比较

最后本实验采用 [bmim]Br 水溶液在最优化的条件下提取葛根黄酮,并与质量分数为 80% 乙醇溶液做萃取剂^[13]的提取效果进行比较,所得提取液分别用紫外分光光度法测定其葛根总黄酮的含量.通过比较可以得出,用 [bmim]Br 溶液作为提取剂比乙醇作为提取剂提取液黄酮总量要高 13.5%,同时,采用高效液相色谱对两种溶剂提取后的溶液进行分析,测定提取溶液中葛根素的含量,发现采用 [bmim]Br 溶液提取的提取液中葛根素的含量比乙醇提取液中葛根素含量高 15.6%.

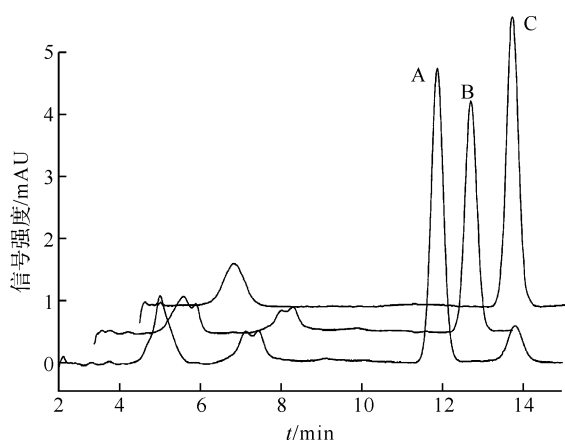


图 7 葛根提取液的 HPLC 分析色谱图

Fig. 7 The chromatogram of flavonoids in Radix Puerariae

注:A 为用乙醇提取的色谱图谱;B 为离子液体提取色谱图;
C 为葛根素标准品色谱图。

3 结 语

以离子液体[bmim]Br 水溶液为溶剂,研究 [bmim]Br 水溶液在微波条件下提取葛根总黄酮的提取率。实验结果表明:1.0 mol/L [bmim]Br 的水溶液为溶剂,固液比 1:20,微波功率 500 W,在 70 ℃微波辅助萃取 8 min,其总黄酮的得率为 8.05%。

与本课题组前期的工作比较,发现离子液体微波辅助萃取葛根黄酮具有以下优点:萃取时间短,溶剂量少,提取率高。

参考文献:

- [1] Young J C. Microwave-assisted extraction of the fungal metabolites ergosterol and total fatty acids [J]. J Agric Food Chem, 1995, 43(11): 2904-2910.
- [2] 李核,李攻科,张展霞,等.微波辅助萃取技术的进展 [J]. 分析化学, 2003, 31(10): 1261-1268.

- [3] Zhai Y J, Sun S, Wang Z M, et al. Microwave extraction of essential oils from dried fruits of *Illicium Verum* Hook f and *Cuminum Cyminum* L. using ionic liquid as the microwave absorption medium [J]. Journal of Separation Science, 2009, 32(20): 3544-3549.
- [4] Du F Y, Xiao X H, Li G K. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of trans-resveratrol from *Rhizma Polygoni Cuspidati* [J]. J Chromatogr A, 2007, 1140(1/2): 56.
- [5] Rogers R D, Seddon R. Ionic liquids-solvents of the future[J]. Science, 2003, 302(5646): 792-793.
- [6] Huddleston J G, Willauer H D, Rogers R D, et al. Room temperature ionic liquids as novel media for clean liquid-liquid extraction [J]. Chemical Communications, 1998(16): 1765-1766.
- [7] 冯年平,郁成. 中药提取分离技术原理与应用[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2005: 363-369.
- [8] Smirnova S V, Torocheshnikova I I, Fornanovsky A A, et al. Solvent extraction of amino acids into a room temperature ionic liquid with dicyclohexano-18-crown-6[J]. Anal Bioanal Chem, 2004, 378(5): 1369.
- [9] Lu Y B, Ma W Y, Hu R L, et al. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction of phenolic alkaloids from the medicinal plant *Nelumbo Nucifera Gaertn*[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1208(1/2): 42-46.
- [10] 杜甫佑,肖小华,李攻科. 离子液体微波辅助萃取大蒜中生物碱的研究[J]. 分析化学, 2007, 35(11): 1570-1574.
- [11] 文颖娟,邓中甲. 葛根功效的理论探讨[J]. 北京中医药, 2008, 27(2): 136-138.
- [12] 张越非,甘琳,池汝安,等. 离子液体微波辅助提取土茯苓中黄酮的研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(8): 1975-1977.
- [13] 甘琳,周芳,张越非,等. 葛根总黄酮提取工艺的比较[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(4): 929-931.

(下转第 42 页)