

# 微波辅助提取枳椇子黄酮工艺的优化

黎莉,吕萌,方继德,巨修练

(武汉工程大学化工与制药学院 绿色化工过程教育部重点实验室,  
环境与化工清洁生产实验教学中心(国家级),湖北 武汉 430074)

**摘要:**为优化微波辅助提取枳椇子总黄酮的工艺条件,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验,考察指标为总黄酮提取率,以枳椇子浸泡时间、微波辐射功率、微波作用时间和乙醇浓度为四因素,比较了传统热回流提取和微波辅助提取两种方法对枳椇子总黄酮的提取效率和工艺参数。结果表明:影响微波提取效果的因素顺序为乙醇质量分数>微波辐射功率>微波作用时间>浸泡时间,最佳微波辅助提取枳椇子总黄酮工艺条件为浸泡时间30 min,提取功率400 W,微波提取时间15 min,乙醇质量分数50%,在此条件下,总黄酮得率为2.18%。与传统的热回流提取法相比,微波辅助提取法提取效果接近,节约了溶剂,显著缩短了时间。微波辅助提取枳椇子总黄酮是一种快捷、有效并且绿色的提取方法,对枳椇子的进一步开发应用具有一定的指导意义。

**关键词:**微波辅助提取;总黄酮;枳椇子

**中图分类号:**TQ463+.24

**文献标识码:**A

**doi:**10.3969/j.issn.1674-2869.2012.12.004

## 0 引言

枳椇子为一种常用中药,主要化学成分为黄酮类包括(山奈酚、洋芹素、杨梅黄素、槲皮素、双氢杨梅黄素)和蒽醌类化合物大黄素等<sup>[1]</sup>。本课题组在前期研究中发现枳椇子乙醇提取物对黄嘌呤氧化酶有较强的抑制作用,而黄嘌呤氧化酶抑制剂可用于治疗痛风这一难治性疾病<sup>[2]</sup>。故本研究对枳椇子的提取工艺进行优化,为今后进一步研制开发治疗痛风的中药新制剂提供一定的实验依据。

传统的固-液浸提法仍然为提取枳椇子黄酮的主要方法,包括冷浸、渗漉、索氏提取法<sup>[3]</sup>等。但传统方法消耗原料多,提取时间过长,且产率较低,易造成污染。微波辅助提取(MAE)是一种新型的具有广阔前景并迅速发展的提取方法,具有高效和强选择性,提取时间短、能耗低、节约溶剂等优点<sup>[4-5]</sup>。

研究以枳椇子为考察对象,采用微波辅助法提取总黄酮,以总黄酮得率为考察指标,并通过正交试验确定提取枳椇子中黄酮的最佳工艺条件。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与材料

枳椇子购于武汉刘天宝大药房。经武汉工程

大学黎莉教授鉴定为鼠李科植物枳椇 *Hovenia acerba* Lindl. 的干燥种子;芦丁对照品(供UV法含量测定用,购自中国药品生物制品检定所);所用试剂全部为分析纯。NJL07-3型实验专用微波炉(南京杰金微波装置有限公司),T6新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 标准曲线的绘制** 精密称取(减压干燥)芦丁对照品5 mg,配置芦丁标准溶液质量浓度为0.200 mg·mL<sup>-1</sup>。

在六个25 mL容量瓶中分别精密加入芦丁标准溶液0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL。再加入1 mL质量分数5%亚硝酸钠溶液,充分混匀后静置6 min。加入1 mL质量分数10%硝酸铝试液,充分混匀后静置6 min。加入10 mL质量分数5%的氢氧化钠溶液,用乙醇定容,充分混匀后静置显色10 min。在波长510 nm处,以第一管为空白对照,分别测定供试品的吸光度。标准曲线方程为: $Y=11.963X-0.0081$ ,  $R^2=0.9999$ 。

**1.2.2 总黄酮的提取** 将枳椇子粉碎,过孔径0.180 mm筛。干燥后石油醚除脂,准确称取枳椇子样品5.00 g置于250 mL圆底烧瓶中,用乙醇溶液常温浸泡后,微波处理下进行回流。取出冷却并抽滤,滤液定容至100 mL作为待测液。

收稿日期:2012-11-13

基金项目:武汉工程大学研究生教育创新基金(2011-17)

作者简介:黎莉(1962-),女,湖北宜昌人,教授,博士,硕士研究生导师,研究方向:中药活性成分及制剂。

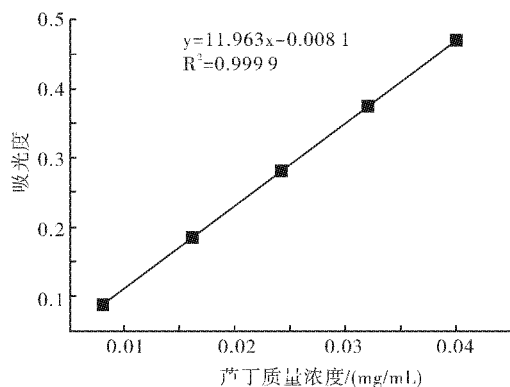


图 1 芦丁吸光度标准曲线图

Fig. 1 Standard curve of absorption capacity of standard sample

1.2.3 样品黄酮含量的测定 精确吸取 1 mL 待测液置于 25 mL 的容量瓶中,按照 1.2.1 方法测其吸光度,计算总黄酮提取率。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

2.1.1 浸泡时间对提取效果的影响 在微波功率 400 W,提取时间 20 min,乙醇质量分数 60% 的情况下,考察浸泡时间对枳椇子总黄酮得率的影响,结果如图 2 所示。

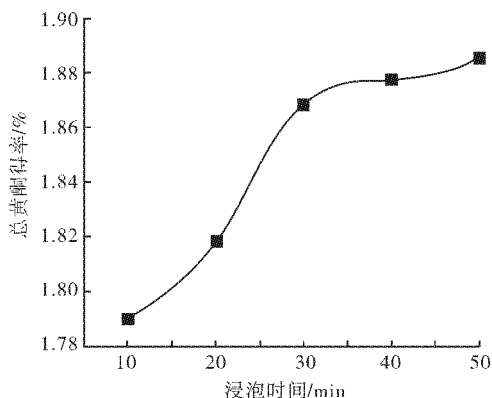


图 2 浸泡时间对提取效果的影响

Fig. 2 Influence of soaking time on the extraction yield of total flavonoids from seeds of *Hovenia acerba* Lindl.

由图 2 可知,随着浸泡时间的逐渐增加总黄酮得率也随之增加,但是在 30 min 后,增加的速率明显降低。

2.1.2 微波作用时间对提取效果的影响 其它因素不变,考察不同微波提取时间对枳椇子总黄酮得率的影响,结果如图 3 所示。

从图 3 可知,枳椇子总黄酮提取率随着时间的增加先增大后减小。总黄酮提取率在 20 min 时为最大,20 min 以后总黄酮提取率反而降低。

2.1.3 微波辐射功率对提取效果的影响 其

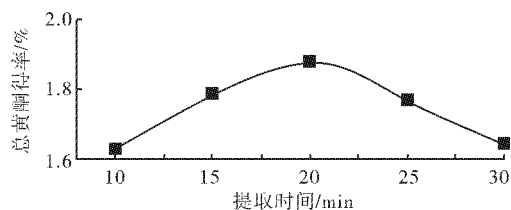


图 3 微波作用时间对枳椇子总黄酮提取率的影响

Fig. 3 Influence of microwave irradiation time on the extraction yield of total flavonoids from seeds of *Hovenia acerba* Lindl.

它因素保持不变,考察微波辐射功率对枳椇子总黄酮提取效果的影响,实验结果见图 4。

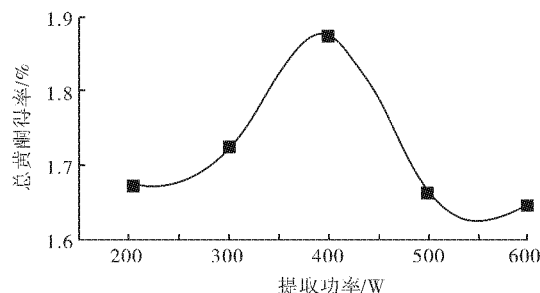


图 4 微波辐射功率对枳椇子总黄酮提取效果的影响

Fig. 4 Influence of irradiation power on the extraction yield of total flavonoids from seeds of *Hovenia acerba* Lindl.

由图 4 可知,枳椇子总黄酮提取率随着功率的提高先增加后减少。微波功率选择 400 W 时总黄酮提取率最高。

2.1.4 乙醇质量分数对提取效果的影响 其它因素不变,考察乙醇质量分数对枳椇子总黄酮提取效果的影响,实验结果见图 5。

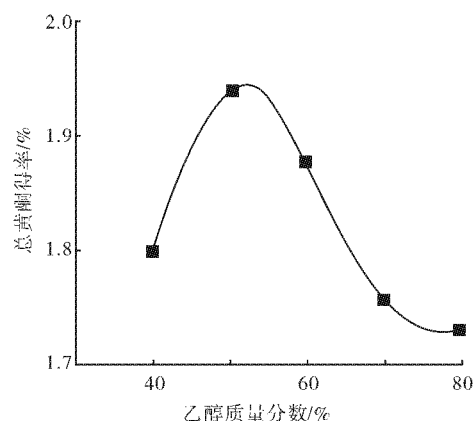


图 5 乙醇质量分数对枳椇子总黄酮提取效果的影响

Fig. 5 Influence of ethanol concentration on the extraction yield of total flavonoids from seeds of *Hovenia acerba* Lindl.

由图 5 可知,枳椇子总黄酮得率随着乙醇质量分数的增大先增大后减小。当乙醇质量分数为 50% 时总黄酮提取率最高。另外乙醇质量分数不宜太低,否则容易将枳椇子中的多糖提取出来,使

提取液变得粘稠,非常容易爆沸而不易受到控制,同时也是后续过滤变得非常困难.当乙醇质量分数为 40% 是提取时就极易爆沸,故在后续正交试验中选用乙醇质量分数为 50%、60%、70%.

## 2.2 正交试验法优化微波提取工艺

根据单因素实验结果,确定微波功率、提取时间、乙醇质量分数、浸泡时间对枳椇子总黄酮提取率均具有影响,因此以此四个因素进行正交试验优化,正交试验因素和水平如表 1 所示.

表 1 正交实验设计

Table 1 The design of orthogonal test method

水平	微波功率/W	提取时间/min	乙醇质量分数/%	浸泡时间/min
	A	B	C	D
1	300	15	50	30
2	400	20	60	40
3	500	25	70	50

由表 2 可知,  $R_C > R_A > R_B > R_D$ , 这说明对总黄酮提取效果影响最大的因素是乙醇质量分数,其次为微波辐射功率、微波作用时间,影响最小的因素是浸泡时间.由方差分析可知,微波功率和乙醇质量分数对枳椇子总黄酮提取率影响显著,而提取时间,浸泡时间对枳椇子总黄酮提取率影响不明显.因此最佳条件选为乙醇质量分数 50%,提取功率 400 W,提取时间 15 min,浸泡时间 30 min.经验证对比试验,在最优条件下,枳椇子总黄酮的得率为 2.18%,比正交实验中最大值还高,因此确定为最优提取工艺条件.

表 2 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 正交试验设计与直观分析

Table 2 Results of orthogonal tests

编号	A	B	C	D	总黄酮/%
1	1	1	1	1	2.06
2	1	2	2	2	1.81
3	1	3	3	3	1.64
4	2	1	2	3	1.93
5	2	2	3	1	1.81
6	2	3	1	2	2.15
7	3	1	3	2	1.68
8	3	2	1	3	2.04
9	3	3	2	1	1.8
k1	5.51	5.67	6.25	5.67	
k2	5.89	5.66	5.54	5.64	
k3	5.52	5.59	5.13	5.61	
R	0.130	0.027	0.373	0.020	

## 2.3 微波提取法与传统热回流提取法比较

微波提取法与热回流提取法工艺条件及提取效果的比较如表 4 所示.

由表 4 可知,比较微波提取法最佳提取工艺与热回流提取法最佳提取工艺<sup>[6]</sup>,发现微波提取法所需时间比热回流提取法明显降低,仅为热回流提取法的 1/6,乙醇质量分数要求也比热回流提取法溶剂浓度略低,并且总黄酮提取率与热回流提取率相近.由此可见,微波法提取枳椇子更高效,且节约了成本.

表 3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	显著性
A	0.031	2	$1.55 \times 10^{-2}$	31.00	$P < 0.05$
B	0.001	2	$5 \times 10^{-4}$	1.00	$P > 0.05$
C	0.214	2	$10.7 \times 10^{-2}$	214.00	$P < 0.01$
D	0.001	2	$5 \times 10^{-4}$	1.00	$P > 0.05$

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

表 4 提取方法对枳椇子总黄酮提取效果的影响

Table 4 Influence of different method on the extraction yield of total flavonoids from seeds of *Hovenia acerba* Lindl.

提取方法	时间/min	乙醇浓度/%	总黄酮得率/%
微波提取	15	50	2.18
热回流	120	60	2.37

## 3 讨 论

微波辅助提取枳椇子黄酮的最佳工艺条件为乙醇质量分数 50%,提取功率 400 W,提取时间 15 min,浸泡时间 30 min.在此条件下,枳椇子总黄酮得率为 2.18%.与传统的热回流法相比较,微波辅助提取法更高效,提取时间短、能耗低、节约溶剂,值得推广应用.

## 参考文献:

- [1] 沙美,丁林生.枳椇子的化学成分研究[J].中国药科大学学报,2001,32(6):418-420.
- [2] 黎莉,戴立珍,杨靖,等.中药提取物中黄嘌呤氧化酶抑制剂的筛选[J].武汉工程大学学报,2010,32(3):43-46.
- [3] 文为,张洪,曾嵘.枳椇子总黄酮提取工艺的优化[J].医学导报,2008,27(1):77-79.
- [4] Chan Chung Hung, Rozita Yusoff. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants[J]. Journal of Chromatography A, 2011,1218: 6213-6225.
- [5] 吴聪华,程华,李琳玲,等.药用植物黄酮类化合物的提取方法[J].武汉工程大学学报,2011,33(9):34-38.
- [6] 姚小华,高英,李卫民.枳椇子中总黄酮的含量测定[J].辽宁中医药大学学报,2008,10(5):151-152.

(下转第 20 页)