

• 药剂与工艺 •

甘草中甘草酸的微波萃取

王巧娥, 沈金灿, 于文佳, 王小如*

(厦门大学 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要:目的 研究利用微波萃取技术提取甘草中甘草酸的方法。方法 采用正交试验考察提取温度、提取时间、微波功率对甘草酸含量和提取总时间的影响, 确定微波萃取甘草中甘草酸的最佳工艺条件。在优选出的微波萃取最佳工艺条件下, 考察了提取溶剂对甘草酸含量的影响, 并与超声波提取法、室温冷浸法和索氏提取法比较。结果 微波提取的最佳条件为以 0.5% 氨水为提取溶媒, 微波功率为 2 000 W, 体系温度升至 60 ℃ 后保温提取 40 min。微波萃取 54 min 与索氏提取 4 h、室温冷浸 44.3 h 的甘草酸得率相当。结论 微波萃取具有快速、高效、节能、选择性好的特点, 可用于中草药有效成分的提取, 值得推广应用。

关键词: 甘草; 甘草酸; 微波萃取; 高效液相色谱

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2003)05-0407-03

Microwave extraction of glycyrrhizic acid from *Glycyrrhiza uralensis*

WANG Qiao'e, SHEN Jin'can, YU Wen'jia, WANG Xiaoru

(Key Laboratory of Analytical Science, Ministry of Education, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: **Object** A novel microwave heated extraction (MHE) method was studied for the extraction of glycyrrhizic acid from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. **Methods** Several factors, such as temperature, time and microwave power were investigated and the appropriate MHE conditions were obtained from the orthogonal test. Under the optimum conditions, the optimal solvent was selected and the MHE was compared with ultrasonic extraction, leaching at room temperature and Soxhlet extraction. **Results** The optimum conditions of MHE is extracting for another 40 min in 0.5% ammonia water after heated to 60 ℃ by microwave of 2 000 W. Yield of glycyrrhizic acid was about equal to that of Soxhlet extraction for 4 h, and that of leaching at room temperature for 44.3 h. **Conclusion** The MHE method is fast, efficient, energy-saving and high-selective, which is recommendable to the application to active compounds extraction from Chinese herbal medicines.

Key words: *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; glycyrrhizic acid; microwave extraction; HPLC

甘草具有补脾益气、解毒保肝、润肺止咳、调和诸药的功效, 主要成分为甘草酸^[1]。甘草酸又是高甜度的甜味剂和解毒剂, 且具有很强的增香效能, 已成为一种十分重要的食品和化妆品添加剂^[2]。目前, 国内的甘草酸提取存在费时、收率低, 产量、质量无法提高的缺点。因此, 寻找一种提取率高、能耗少、快速而又适合工业生产的甘草酸提取工艺已十分必要。

Pan 等用家用微波炉研究了甘草中甘草酸的微波辅助萃取技术^[3], 表明微波辅助萃取甘草中的甘草酸具有节能、高效、溶剂用量少等特点。本实验采用中型微波萃取设备研究了微波萃取甘草中甘草酸的最佳工艺条件, 为微波用于甘草酸的工业化提取

开辟了途径。

1 材料和仪器

内蒙产乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (中国亿利资源集团公司提供, 经中国亿利资源集团药材分公司奥文祥鉴定, 适当粉碎后备用), 甘草酸单铵盐对照品(中国亿利资源集团公司李秉经理提供, 纯度为 98%), 化学试剂均为分析纯, 水为去离子水, 用于 HPLC 分析的试剂为色谱纯。

WCD2S-1 型微波萃取设备(南京三乐微波技术发展有限公司生产, 提取罐容积为 20 L), Agilent 1100 LG-MS 联用仪, MIKRO 22R 冷冻离心机, UL 超声波发生器, 索氏提取器。

* 收稿日期: 2002-09-13

基金项目: 福建省中药质量标准重点项目(2000F001)

作者简介: 王巧娥(1976—), 女, 山东省菏泽市人, 厦门大学化学系在读博士研究生, 1998年毕业于山东轻工业学院化工系, 获学士学位, 2001年获四川大学轻工与食品学院硕士学位, 主要从事中草药有效成分的提取、分离和质量标准研究。

Tel: (0592) 2184510 E-mail: wqech@sohu.com

* 通讯作者 Tel: (0592) 2186401

2 方法与结果

2.1 供试液的制备: 取甘草生药 1.0 kg, 投入微波萃取罐, 加提取溶媒 20 L, 启动搅拌机, 设定提取温度, 开启微波, 萃取至设定时间后停止。取适量提取液过滤, 即得, 备用。

2.2 色谱条件: Kromasil C₁₈ 柱, 乙腈水(均含 0.05% 三氟乙酸)梯度洗脱, 梯度条件(乙腈含量): 15% (0 min) → 40% (15 min) → 80% (25 min), 流速: 0.8 mL/min, DAD 检测器, 检测波长: 260 nm, 检测温度: 室温(25 ℃)。

2.3 HPLC 工作曲线的制作^[4]: 取 2 mg/mL 甘草酸单铵盐贮备液(0.5% 氨水配置) 3 mL, 稀释至 50 mL, 得 0.12 mg/mL 的甘草酸对照品溶液。分别进样 2, 4, 6, 8, 10 μL, 以甘草酸的峰面积对甘草酸质量绘制工作曲线, 得回归方程: $Y = 588.17X + 3.06, r = 0.9999$ 。甘草酸质量在 0.24~1.20 μg 时与峰面积线性关系良好。

2.4 甘草酸含量的 HPLC 法测定: 提取液离心, 上清液稀释 7 倍(稀释液生药浓度为 0.009 g/mL)。吸取 5 μL 进样, 按上述色谱条件测定。

2.5 最佳提取条件的选择: 选择影响甘草酸提取过程的主要因素——温度、微波功率、提取时间, 确定不同的水平, 以水为提取溶媒, 以甘草中甘草酸含量和提取总时间为指标, 采用 L₉(3⁴) 正交试验方案。试验因素水平和结果分别见表 1、2。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A 温度/℃	B 时间/min	C 微波功率/W
1	40	20	667
2	50	40	1 333
3	60	60	2 000

对该生产过程而言, 为提高生产效率, 节约能耗, 降低成本, 要求在保证甘草酸提取率较高的前提下, 提取总时间尽可能短, A₃B₂C₃ 是较优的组合。

2.6 提取溶媒的选择: 分别以水、10% 乙醇、0.5% 氨水(含 10% 乙醇)和 0.5% 氨水为提取溶媒, 按确定的最佳工艺条件提取, 结果见表 3。

由表 3 可见, 其他条件相同时, 含 10% 乙醇的 0.5% 氨水提取率最高, 氨水次之, 而水最低。考虑到生产成本, 选择 0.5% 氨水作为微波提取甘草酸的溶剂。

2.7 不同提取方法的比较: 以 0.5% 氨水为提取溶媒, 微波萃取、室温冷浸提取、超声波辅助提取和索氏提取甘草中甘草酸的结果见表 4, 微波萃取物的色谱图见图 1。

表 2 L₉(3⁴) 正交试验设计表及结果

Table 2 Arrangement and results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A	B	C	甘草酸含量/%	提取总时间/min		
1	1	1	1	1.84	45		
2	1	2	2	1.58	46		
3	1	3	3	1.73	65		
4	2	1	2	1.44	42		
5	2	2	3	1.80	53		
6	2	3	1	1.84	93		
7	3	1	3	1.53	37		
8	3	2	1	2.00	87		
9	3	3	2	1.87	83		
K ₁	甘草酸含量	5.16	4.82	5.67	156	124	225
K ₂		5.09	5.36	4.89	188	186	171
K ₃		5.28	5.44	5.07	207	241	155
R		0.12	0.62	0.78	51	117	70
最优组合	A ₃ B ₃ C ₁			A ₁ B ₁ C ₃			

表 3 不同提取溶媒对甘草酸含量影响

Table 3 Effect of yield of glycyrrhizic acid extracted by different solvents

提取溶媒	甘草酸含量/%
水	1.76
10% 乙醇	1.96
0.5% 氨水(含 10% 乙醇)	2.47
0.5% 氨水	2.53

表 4 微波萃取、室温冷浸提取、超声波辅助提取和索氏提取的比较

Table 4 Comparison among MHE, leaching at room temperature, ultrasonic extraction and Soxhlet extraction

提取方法	甘草质量/g	溶媒用量/mL	提取时间	甘草酸含量/%
索氏提取	4.0	65.2	4 h	2.49
室温冷浸	1.0	16.3	44.3 h	2.49
超声波提取	1.0	16.3	40 min	2.67
微波萃取	1 000	16 300	54 min	2.47

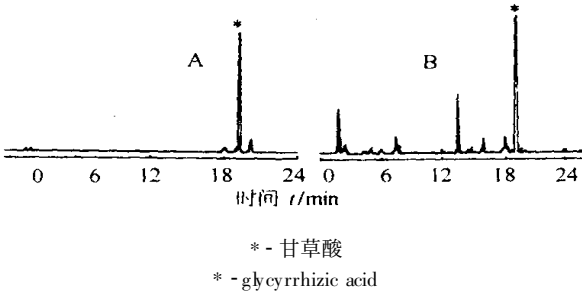


图 1 甘草酸(A)和微波萃取甘草(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC chromatograms of glycyrrhizic acid (A) and *G. uralensis* by microwave extraction (B)

表 4 的结果表明, 微波萃取 54 min 时, 甘草酸的得率与索氏提取 4 h、室温冷浸 44.3 h 时相当, 说明微波萃取具有快速、节能的优势。另外, 从图 1 不难发现, 微波萃取液中甘草酸的含量较高, 杂质也较少, 说明微波萃取还具有选择性好的特点。虽然超

声场的介入可有效强化甘草酸的提取过程, 缩短提取时间, 提高提取率, 但超声波提取只适合实验室研究, 而不适合大批量的工业生产^[5,6]。

3 讨论

微波是频率介于 300 MHz 和 300 GHz 之间的电磁波, 微波加热是利用微波场中介质的偶极子转向极化与界面极化的时间与微波频率吻合的特点, 促使转动介质能级跃迁, 加剧热运动, 将电能转化为热能。微波加热克服了一般加热过程的热传导、热辐射造成的热量损失, 热效率较高, 升温快速均匀, 大大缩短了萃取时间, 提高了萃取效率。此外, 在微波场中, 介电常数不同的物质, 其吸收微波能的能力不同, 从而使基体物质的某些区域或萃取体系中的某些组份被选择性加热, 因而可使目标组份选择性地从基体或体系中分离出来^[7,8]。本实验正是基于对微波提取的特点, 将该技术应用于甘草酸的提取, 并与其他方法作了比较。结果表明, 采用微波萃取技术提取甘草中的甘草酸, 在实际生产过程中具有安全、节能、快速、高效和选择性好的特点, 值得推广应用。

致谢: 本实验得到了中国亿利资源集团公司李秉经理和厦门大学| 开元区高新技术研究开发基地王文慎经理的帮助, 在此| 并表示感谢。

References:

- [1] Wang C L, Han Y S, Wang Y, *et al.* Original exploratory of acting on dedoxication adjusting many medicine of glycyrrhiza [J]. *Stud Trace Elements Health* (微量元素与健康研究), 1996, 13 (3): 31-32.
- [2] Huang Y L. Extraction of glycyrrhizin from licorice [J]. *Guangzhou Food Ind Sci Technol* (广州食品工业科技), 1997, 13 (3): 16-17.
- [3] Pan X J, Liu H Z, Jia G H, *et al.* Microwave assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root [J]. *Biochem Eng J*, 2000, 5: 173-177.
- [4] Cao A L, Chang S M, Zhang J M, *et al.* Investigation of the content of glycyrrhizic acid in licorice [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1998, 13 (2): 280-281.
- [5] Zhao X, Li B T, Liu X, *et al.* Study on strengthening extraction of glycyrrhizic acid by ultrasound field [J]. *Food Sci Technol* (食品科技), 2000, 5: 38-39.
- [6] Gao S L, Wang X M. Extraction and determination of triterpene and flavonoid constituents isolated from the *Glycyrrhiza* [J]. *J Anhui Univ - Nat Sci* (安徽大学学报·自然科学版), 2000, 24 (4): 70-74.
- [7] Chen M, Yuan D X, Xu P X. Research progress on microwave extraction [J]. *J Instrum Anal* (分析测试学报), 1999, 18 (2): 82-86.
- [8] Zhang D J, Liu C B, Xiu Z L, *et al.* Application of microwave technology to the extraction of active constituents in plants [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (9): S v vi.

正交试验法优选槐米中槲皮素的提取工艺

何 勤¹, 徐雄良¹, 柯尊洪², 张志荣¹, 李立立^{1*}

(1. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 2. 成都康弘科技实业(集团)有限公司, 四川 成都 610041)

摘要: 目的 优选槐米中槲皮素的提取工艺。方法 采用正交试验法, 以提取物中槲皮素的含量和槲皮素的提取率为指标进行试验。结果 优选出从槐米中提取槲皮素的最佳工艺为: 用 10 倍量的 0.05% 氢氧化钠溶液煮沸 4 次, 每次 20 min, 调节 pH 值至 6, 取沉淀加 10 倍量的 4% 硫酸溶液煮沸水解 1 h。结论 该工艺可提高槐米中槲皮素的提取率和纯度。

关键词: 槐米; 槲皮素; 正交试验

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2003)05-0409-04

Orthogonal test for optimization of quercetin extracting procedure from bud of *Sophora japonica*

HE Qin¹, XU Xiong-liang¹, KE Zui hong², ZHANG Zhi rong¹, LI Li li¹

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Chengdu Kanghong Science & Technology Industry (Group) Co., Ltd., Chengdu 610041, China)

Abstract: **Object** To select the optimum extracting procedure for quercetin from bud of *Sophora japonica* L. **Methods** The optimum extracting procedure was selected with the content and extraction efficiency of quercetin from bud of *S. japonica* by orthogonal test design. **Results** The optimum extracting procedure was

* 收稿日期: 2002-08-16

基金项目: 四川省重点科技项目: 中药制剂现代化研究(01SG008-01)

作者简介: 何 勤(1968—), 女, 四川广元人, 博士, 副教授, 研究方向为中西药物新制剂和新剂型。

Tel: (028) 85502532 Fax: (028) 85456898 E-mail: qinhe317@vip.sina.com