

山楂叶总黄酮的微波辅助萃取研究

郭永学, 李楠, 仇燕来

(大连理工大学化工学院, 辽宁 大连 116012)

摘要:目的 以水为浸提剂,对微波辅助萃取山楂叶总黄酮的工艺条件进行了研究。方法 通过正交试验设计,在常规水提取方法上,增加微波处理过程。结果 通过试验对比,微波辅助萃取所用的溶剂量是传统水提取法的10%,所用的操作时间是传统方法的10%,提取效率高。结论 以水为溶剂,采用微波技术提取山楂叶总黄酮具有良好的应用前景。

关键词:山楂叶;总黄酮;微波辅助提取;正交试验

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)07-1011-03

Total flavones in *Crataegus pinnatifida* var. *major* by microwave-assisted extraction

GUO Yong-xue, LI Nan, ZHANG Yan-lai

(College of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116012, China)

Key words: *Crataegus pinnatifida* var. *major* N. E. Br. leaves; flavonoids; microwave-assisted extraction; orthogonal test

山楂为蔷薇科山楂属植物,山楂果实入药在我国有悠久历史,《本草纲目》记载此品“酸甘味温,消食积,补脾”。山楂叶中的黄酮成分在降血压、调血脂、增大心脏血流量和清除体内自由基等方面疗效显著^[1]。对山楂叶黄酮化合物的提取常用水提法或醇提法。水提法提取率低,时间长、用水量大,醇提法中乙醇用量大,成本较高。本实验以水为溶剂,用微波辅助提取技术,在短时间内完成了对山楂叶总黄酮的提取,对有效利用山楂叶资源做了有益的探索。

1 仪器和材料

Sanle WP700J17 型微波炉 (Sanle General Electric Corp), 722 光栅分光光度计 (上海第三分析仪器厂), 芦丁 (中国药品生物制品检定所), 其他试剂均为分析纯。

山楂叶原料于 2003 年 8 月采自山东省滕州地区,自然条件晒干,经本室李楠教授鉴定为山里红 *Crataegus pinnatifida* var. *major* N. E. Br. 的干燥叶。

2 方法与结果

2.1 总黄酮的测定^[2]

2.1.1 对照品溶液的制备:精密称取 120 °C 干燥至恒重的芦丁对照品 20 mg,置于 100 mL 量瓶中,加 60% 乙醇至刻度,摇匀。精密吸取 25 mL 上述溶液,置于 50 mL 量瓶中,加去离子水至刻度,摇均备用。

2.1.2 标准曲线的制备:精密吸取对照品溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,各加入 30% 乙醇使其为 5.0 mL。然后加 5% NaNO₂ 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min;加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min;加 1 mol/L NaOH 溶液 4 mL,加水 0.4 mL,摇匀,放置 15 min。以 30% 乙醇作参比,于 510 nm 波长处,测定吸光度。以吸光度为纵坐标,以质量浓度为横坐标,求得标准曲线方程 $Y = 5.375 X + 0.0109$, $r = 0.9993$,线性范围为 0~0.5 mg。

2.1.3 供试品黄酮含量的测定:精密吸取供试品溶液 5.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,加 5% NaNO₂ 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min;加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min;加 1 mol/L NaOH 溶液 4 mL,加水 0.4 mL,摇匀,放置 15 min。以 30% 乙醇作参比,于 510 nm 波长处测定吸光度,代入方程求得供试品溶液中黄酮的质量分数。

2.2 相对提取率的测定:称取干山楂叶粗粉 10 g,置于 500 mL 圆底烧瓶中,按固液比为 1:30 (g/mL) 加入 300 mL 水,在 80 °C 水浴中回流提取 3 次,第 1 次和第 2 次回流时间为 120 min,第 3 次回流 60 min。回流完毕后,趁热抽滤,测定吸光度值。试验平行 3 次,经计算山楂叶中总黄酮的质量分数为 102.1 mg/g。

收稿日期:2004-10-21

作者简介:郭永学(1973—),男,内蒙古赤峰市人,硕士研究生,主要从事天然活性物质的提取分离研究。

Tel: (0411) 84707141 E-mail: yongxueguo@163.com

以此为基础,对微波辅助提取试验中黄酮的相对提取率进行考察,以评价各因素的影响大小。

$$\text{相对提取率} = \frac{\text{微波辅助提取山楂叶总黄酮}}{\text{回流提取山楂叶总黄酮}} \times 100\%$$

2.3 单因素试验

2.3.1 微波功率对黄酮相对提取率的影响:取干燥山楂叶粗粉 5.0 g,置于 250 mL 烧杯中,按固液比为 1:40 (g/mL) 加入水 200 mL,浸泡 30 min,选取微波功率的档位分别在 A 档(解冻)、B 档(中火)、C 档(中高火)和 D 档(高火)的条件下作用 3 次,每次作用时间为 1 min,以防止一次作用时间太长,温度过高,导致黄酮分解。微波作用后于 80 ℃ 水浴 30 min,使黄酮尽量溶出,将浸提液进行抽滤、定容并测定黄酮,计算黄酮的相对提取率,结果见图 1。随着功率的增大,山楂叶总黄酮的相对提取率增大,在中高火条件下,相对提取率达到最大值为 82.5%,再进一步增加功率,其相对提取率有所下降。

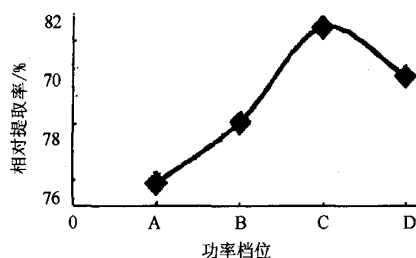


图 1 微波功率对黄酮相对提取率的影响

Fig. 1 Effects of macrowave power on relative extracting rate of flavonoids

2.3.2 微波作用时间对黄酮相对提取率的影响:取干燥山楂叶粗粉 5.0 g,按固液比 1:40 (g/mL) 浸泡 30 min,在微波功率的档位为 C 档(中高火)的条件下,间歇作用时间分别为 1、2、3、5、7、9 min,处理后计算相对提取率,结果见图 2。山楂叶总黄酮的相对提取率随着微波作用时间的变化规律是先迅速增大后下降,接着又有缓慢上升趋势,微波作用时间为 3 min 时,相对提取率达最大值(92.17%)。再延长作用时间其相对提取率开始下降。

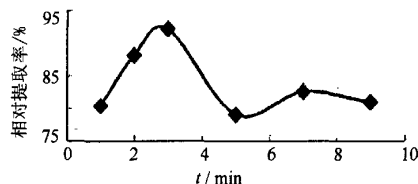


图 2 微波作用时间对黄酮相对提取率的影响

Fig. 2 Effects of macrowave action time on relative extracting rate of flavonoids

2.3.3 溶剂用量对黄酮相对提取率的影响:干燥山楂叶粗粉 5.0 g,按固液比分别为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 (g/mL),加入相应量的水,浸泡 30 min,在微波功率的档位为 C 档(中高火)的条件下,间歇作用 3 min,结果见图 3。山楂叶总黄酮的相对提取率总体看随着固液比的增加而增大,其主要原因是溶液体积增大时,可以使黄酮从胀破的细胞里充分溶解出来。当固液比达到 1:40 时,其相对提取率最高(84.09%),再增加浸提剂的量,山楂叶总黄酮的相对提取率反而下降,其原因可能是浸提剂对微波能的吸收增加,导致细胞液对微波能吸收减少,细胞壁的破裂不完全,总黄酮不能从细胞中充分溶出。

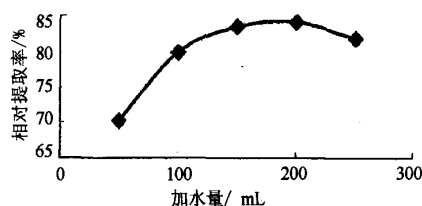


图 3 溶剂用量对黄酮相对提取率的影响

Fig. 3 Effects of solvent volume on relative extracting rate of flavonoids

2.3.4 山楂叶粒度对黄酮相对提取率的影响:取干燥山楂叶粗粉 5.0 g,将其分别粉碎为半叶粉(10 mm × 10 mm)、粗粉(5 mm × 5 mm)和细粉(1 mm × 1 mm),加水 200 mL 浸泡 30 min,选取微波功率的档位为 C 档(中高火)的条件下,间歇作用 3 min,结果见图 4。山楂叶的粒度对相对提取率有相当大的影响,其中以粗粉的相对提取率为最高,细粉的提取率和半叶粒度的提取率相差不大,这可能是与粒度过大,使细胞内容物和浸提剂接触面积减小,粒度过细,加热过程中部分淀粉类物质糊化,影响黄酮的溶出速率有关。

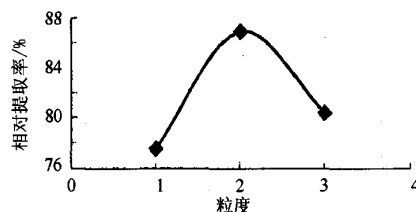


图 4 山楂叶粒度对黄酮相对提取率的影响

Fig. 4 Effects of granularity on relative extracting rate of flavonoids

2.3.5 水浴浸泡时间对黄酮相对提取率的影响:取干燥山楂叶粗粉 5.0 g,加入 200 mL 水,在微波功率的档位为 C 档(中高火)的条件下,间歇作用 3

min, 在水浴中浸泡时间分别为 0、10、30、60、120 min, 处理后计算黄酮的相对提取率, 结果见图 5。总黄酮的相对提取率随着在 80 ℃ 水浴时间的延长而逐渐提高, 但水浴时间超过 30 min 以后, 黄酮的相对提取率趋于稳定, 从节约成本角度考虑, 水浴加热只需 30 min。

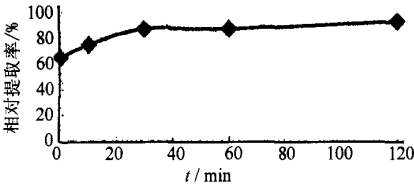


图 5 水浴时间对黄酮相对提取率的影响

Fig. 5 Effects of pyrogenation time on relative extracting rate of flavonoids

2.3.6 浸提液 pH 对黄酮相对提取率的影响: 干燥山楂叶粗粉 5.0 g, 加水 200 mL, 浸提液 pH 分别调到 2、4、7、9, 浸泡时间为 45 min, 选取微波功率的档位为 C 档(中高火)的条件下, 间歇作用 3 min, 处理计算黄酮的相对提取率, 结果见图 6。总黄酮的相对提取率随着浸提液 pH 变化出现最小值, 其相对提取率在酸性和碱性条件下都有明显提高, 其原因可能是与黄酮类物质的水解有关。

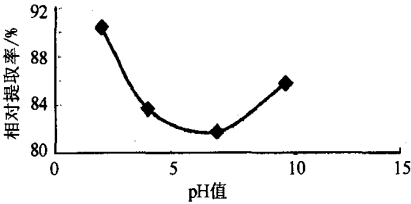


图 6 浸提剂 pH 对黄酮相对提取率影响

Fig. 6 Effects of solvent pH value on relative extracting rate of flavonoids

2.4 正交试验: 在单因素试验基础上, 选取对提取率影响较大的 4 个因素; 微波作用功率(A)、微波作用时间(B)、物料的粒度(C)、提取剂用量(D)作为考察因素, 因素水平安排见表 1。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素			
	A	B/min	C	D
1	中火	1	细粉(0.5 mm×0.5 mm)	1:20
2	中高火	2	粗粉(2 mm×2 mm)	1:30
3	高火	3	半叶粉(10 mm×10 mm)	1:40

按照 $L_9(3^4)$ 正交试验要求, 称取相应粒度的干燥山楂叶粉 5.0 g, 置于 250 mL 烧杯中, 加入相应量

的水浸 30 min, 在相应的功率下, 用微波间歇辐射相应时间后, 在 80 ℃ 水浴 30 min, 抽滤后测定吸光度, 计算相对提取率, 数据处理及直观分析见表 2。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Table 2 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A	B	C	D	相对提取率/%
1	1	3	2	1	82.94
2	1	1	3	2	61.20
3	1	2	1	3	79.29
4	2	2	3	1	72.74
5	2	3	1	2	81.40
6	2	1	2	3	79.29
7	3	1	1	1	76.40
8	3	2	2	2	87.17
9	3	3	3	3	80.25
k_1	74.48	72.30	79.03	77.36	
k_2	77.81	79.74	83.13	76.59	
k_3	81.27	81.53	71.40	79.61	
R	6.80	9.23	11.74	3.01	

结果表明, 影响程度从强到弱依次是: 山楂叶粒度、微波萃取时间、微波作用功率和浸提剂的用量, 其中山楂叶粒度是最为显著的因素。微波萃取的优化工艺条件是 $A_3B_3C_2D_3$, 即: 微波的功率是高火档、微波累计作用时间是 3 min、山楂叶的粉碎度是粗粉(2 mm×2 mm)和萃取剂的用量是按固液比为 1:40 (g/mL)。选定 pH 2 和正交试验的优化工艺做了 3 次平行验证, 平均相对提取率是 96.34%。

3 讨论

微波辅助提取山楂叶总黄酮和传统水提法相比, 优点明显, 主要表现在用水量少, 是传统方法用水量的 10% 左右; 操作时间短, 是传统方法的 10% 左右; 提取效率高, 可达 96.34%; 节约热能, 符合绿色环保要求, 设备简单, 适合大规模工业化生产。

微波照射时间不宜过长, 以 2~3 min 为宜, 超过此时间段, 会使相对提取率下降。浸提液中加入少量酸(盐酸)或碱(氢氧化钠)都会使黄酮的相对提取率升高, 但加碱容易导致黄酮类化合物在空气中被氧化, 加酸一定要适量, 实验表明过多加酸会使黄酮的浸出受到抑制。

References:

[1] Li G H, Sun J Y, Yang Z N, et al. Experimentl studies on antihyperlipidemia effects of two compositions from hawthorn in mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (1): 50-52.

[2] Yuan X M, Liu G X, Hu Z Z. Colorimetric determination of flavones in hawthorn and its products [J]. *Food Ferment Ind* (食品与发酵工业), 1996 (4): 27-32.