

微波法提取沙棘叶总黄酮的工艺研究

杨喜花, 陈敏*, 张华珺, 李慧, 殷丽君

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要:目的 研究微波技术在沙棘叶总黄酮提取中的应用效果, 并为产业化生产提供试验性指导。方法 采用单因素试验和正交试验考察不同因素对微波技术提取沙棘叶总黄酮中的影响, 优选提取工艺条件。结果 微波技术提取沙棘叶总黄酮的最佳条件为提取 10 min, 微波提取功率 400 W, 乙醇体积分数为 75%, 料液比 1:25。结论 微波提取技术应用于沙棘叶总黄酮的提取, 具有省时、高效、节能等优点。

关键词:沙棘叶; 总黄酮; 微波; 提取

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)04-0535-03

Microwave extraction of total flavonoids from *Hippophae rhamnoides* leaves

YANG Xi-hua, CHEN Min, ZHANG Hua-jun, LI Hui, YIN Li-jun

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Key words: *Hippophae rhamnoides* L.; total flavonoids; microwave; extraction

沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 俗名醋柳、酸溜溜等, 是胡颓子科沙棘属的灌木亚乔木, 有很高的生态价值。我国的沙棘资源丰富, 占世界沙棘总面积的 90%。沙棘叶中富含黄酮类化合物, 从沙棘果和叶中提取的总黄酮具有抗心肌缺血、提高耐氧能力、降低血清胆固醇及增强免疫力等广泛的药理作用, 沙棘总黄酮在医疗、保健方面有着广阔的开发前景^[1~3]。

沙棘叶中总黄酮的提取研究主要是采用水浸提法、碱水浸提法以及溶剂回流提取法^[4~7], 这些方法提取时间长、提取率低。微波是一种非电离的电磁辐射, 被辐射物质的极性分子在微波电磁场中快速转向及定向排列, 从而产生撕裂和相互摩擦引起发热, 同时可以保证能量的快速传递和充分利用。微波提取技术的研究表明, 微波技术应用与天然产物的提取具有选择性高、操作时间短、溶剂耗量少、有效成分得率高的特点^[8,9]。本研究将微波技术应用于沙棘叶总黄酮的提取, 取得了很好的效果。

1 材料和仪器

沙棘叶采自山西省阳高县。芦丁对照品, 购于中国药品生物制品检定所; 其他试剂均为分析纯, 购于北京化工厂。

NJL07-3 型微波实验炉(南京杰全微波设备有限公司); Sartorius 电子分析天平(德国); 752 紫

外光栅分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); TU1901 紫外双光束分光光度计(北京普析通用有限责任公司)。

2 方法和结果

2.1 原料预处理: 将沙棘叶经过挑选、整理、去刺, 在 110℃ 下烘烤至干, 经粉碎后过 40 目筛。每次称取沙棘叶粉末 15 g, 用石油醚回流除去油脂、色素等杂质, 挥干后备用。

2.2 微波法提取沙棘叶总黄酮: 将经过处理的 15 g 样品放入与微波实验炉配套的双口烧瓶中, 加入乙醇溶液作为提取溶剂, 装好搅拌、冷凝装置, 设定参数, 即可进行提取。乙醇溶液容易挥发, 但是该设备接上冷凝装置后, 保证了溶剂的回流, 而且搅拌对有效成分的溶出起到了促进的作用。

2.3 检测波长的确定: 取适量芦丁对照品溶解于 95% 乙醇中, 用 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计在 190~500 nm 进行扫描, 确定其最佳吸收波长, 结果芦丁的 95% 乙醇溶液在 430 nm 处有最大吸收峰, 确定为最佳测定波长(图 1)。

2.4 标准曲线的制备: 精确称量芦丁对照品 5.0 mg, 用 95% 乙醇定容至 50 mL 量瓶中。分别取 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 于 5 mL 量瓶中, 各加入 1% AlCl₃ 溶液(溶剂为 95% 乙醇) 0.5 mL, 用 95% 乙醇定容至刻度, 放置 10 min, 于 430 nm 下测定其

收稿日期: 2005-07-08

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目(20306032)

作者简介: 杨喜花(1980-), 女, 山西省大同市人, 硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: 8005232916@sina.com

* 通讯作者 陈敏 Tel: (010) 62737650 E-mail: mincl9@163.com

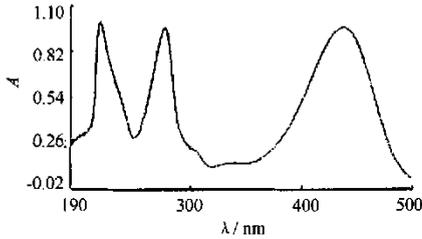


图 1 芦丁对照品的 95%乙醇双光束紫外扫描图

Fig. 1 UV-Spectrum of rutin reference substance in 95% ethanol

吸光值。得出线性回归方程为： $A = 25.971 C + 0.0044$ ， $r = 0.9999$ 。

2.5 沙棘叶总黄酮的测定及计算^[10]：将提取液滤过后浓缩，即得沙棘叶总黄酮粗品。将沙棘叶总黄酮粗品溶解于 95%乙醇中，稀释 1 250 倍，并加入 1% $AlCl_3$ 乙醇(95%)溶液显色，利用分光光度法在 430 nm 处测定其吸光度值，以芦丁为对照品，按下式计算其总黄酮的提取率。

$$\text{提取率} = \frac{\text{总黄酮质量浓度} \times \text{定容体积}}{\text{样品质量}} \times 100\%$$

2.6 各单因素对总黄酮提取率的影响：考察了微波功率对沙棘叶总黄酮提取的影响，选择 200、300、350、400、500 W 进行试验，结果表明在 200~350 W 提取率升高较快，350 W 之后提取率升高缓慢。可见随着微波功率的提高，加热速率增大，渗透、扩散、溶解速度加快，提取率升高。

考察了不同提取时间(4、7、10、13 min)对沙棘叶总黄酮提取的影响，试验结果表明在 4~7 min 提取率随时间变化明显，在 10 min 以后提取率升高缓慢。

考察了不同体积分数的乙醇对沙棘叶总黄酮提取的影响，选择 65%、75%、85%乙醇进行试验，提取率随体积分数的增加先升高后降低，75%乙醇提取效果最好。可见，只有在适宜极性的溶剂中，沙棘黄酮才能达到最大溶解度。

考察了料液比对沙棘叶总黄酮提取的影响，沙棘叶总黄酮的提取率随着提取溶剂的量的增加而增加。从 1:20 到 1:25 增加较大，从 1:25 到 1:30 增幅较小。原因是在一定范围内溶剂用量的增加有助于沙棘叶黄酮的浸出。溶剂用量少，提取不完全，但溶剂用量大会增大微波加热的负荷，而且溶剂用量增加。所以在正交试验中均选择 1:25 为提取沙棘叶总黄酮的最佳料液比。

考察了溶剂 pH 值为 8~10 对沙棘叶总黄酮提取的影响，结果表明 pH 值对微波加热提取沙棘叶万方数据

总黄酮的影响不大，因此在正交试验中不考虑该因素的影响。

2.7 正交试验及其结果：通过上述单因素试验，选择了对提取率影响性较大的微波时间、微波功率、乙醇体积分数为 3 个因素，其中变化幅度较大的区间设计 3 水平进行正交试验，正交试验结果及极差分析见表 1，方差分析见表 2。

表 1 正交试验结果

Table 1 Results of orthogonal test

序号	A 时间/min	B 功率/W	C 乙醇体积分数/%	D(空白)	提取率/%
1	1(4)	1(300)	1(65)	1	2.015
2	1	2(350)	2(75)	2	1.952
3	1	3(400)	3(85)	3	1.692
4	2(7)	1	2	3	2.275
5	2	2	3	1	1.885
6	2	3	1	2	2.376
7	3(10)	1	3	2	2.164
8	3	2	1	3	2.405
9	3	3	2	1	2.419
K_1	5.659 0	6.454 0	6.796 0	6.319 0	
K_2	6.536 0	6.242 0	6.646 0	6.492 0	
K_3	6.988 0	6.487 0	5.741 0	6.372 0	
R	0.443 0	0.081 7	0.351 7	0.057 7	

表 2 方差分析

Table 2 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	30.441	2	15.221	58.095	$P < 0.05$
B	1.178	2	0.589	2.248	
C	21.717	2	10.859	41.447	$P < 0.05$
D(空白)	0.524	2	0.262		

$$F_{0.05}(2,2) = 19.00 \quad F_{0.01}(2,2) = 89.00$$

由极差分析及方差分析结果可知，各因素影响顺序为 $A > C > B$ ，即时间 $>$ 乙醇体积分数 $>$ 功率，最佳条件为 $A_3B_3C_2$ ，即提取时间为 10 min，微波提取功率为 400 W，乙醇体积分数为 75%。空白列的 R 值小于各因素的 R 值，因此试验结果具有有效性。由方差分析结果可知，因素 A、C 影响显著。

2.8 微波提取与其他提取方法的比较：微波提取与超声循环提取、索氏提取的工艺条件及提取效果的比较见表 3。可见，由超声循环提取法以及索氏提取法相比，微波提取技术大大缩短了提取时间，而且提取率有所增加，可见，微波提取法节能、省时、高效，适合应用于工业化生产。

表 3 微波提取与其他提取方法的比较

Table 3 Comparison between microwave extraction and other methods

提取方法	乙醇体积分数	时间	料液化	提取率/%
微波辅助提取	75%	7 min	1:25	2.419
超声循环提取	75%	10 min	1:25	2.144
索氏提取	75%	6 h	—	1.978

3 讨论

微波提取技术用于沙棘叶总黄酮的提取是可行的,它具有省时、高效、节能等优点,提取效率优于超声循环提取以及索氏提取法,微波提取沙棘叶总黄酮的最佳工艺条件为:提取时间为 10 min,微波功率为 400 W,乙醇体积分数为 75%,料液比为 1:25。该工艺条件的研究为沙棘叶总黄酮提取的工业化生产建立了理论性基础,具有实际的指导意义。

References:

[1] Hollman P C H, Hertog M G L, Katan M B. Analysis and health effects of flavonoids [J]. *Food Chem*, 1996, 57 (1): 43-46.
 [2] Zhao E L, Zhang H R, Gai Q Q, et al. Determination of sea buckthorn flavone and study of its antioxidant effect [J]. *Chem Res Appl* (化学研究与应用), 2003, 15 (2): 284-286.
 [3] Tian C J, Nan P, Chen J K, et al. Volatile composition of Chinese *Hippophae rhamnoides* and its chemotaxonomic implications [J]. *Biochem Sys Ecol*, 2004, 32: 431-441.
 [4] Liu X J, Wang Y H, Li P, et al. Extraction of total flavones

from marc of sea buckthorn [J]. *J Beijing Univ Chem Tech* (北京化工大学学报), 2004, 31 (1): 18-21.
 [5] Huang Z Y, Wang H B, Liu Z W. Optimum extraction technology of flavonoids in sesame leaves [J]. *Transactions CSAE* (农业工程学报), 2004, 20 (6): 201-204.
 [6] Zhang M J, Qin R H, Nie J Y, et al. Extraction of flavones from leaves of *Ginkgo biloba* L. by microwave technique and optimized by experimental design and optimization [J]. *Acta Acad Med Mil Tert* (第三军医大学学报), 2004, 16 (14): 1272-1274.
 [7] Yang Q Y. *Chemistry of Natural Medicine* (天然药物化学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004.
 [8] Zhao E L, Gai Q Q, Zhang H R. Investigation of microwave assisted extraction of sea buckthorn flavonoids [J]. *Food Ferment Ind* (食品发酵与工业), 2004, 30 (12): 148-150.
 [9] Yue M E, Jiang T F, Shi Y P. Fast determination of flavonoids in *Hippophae rhamnoides* and its medicinal preparation by capillary zone electrophoresis using dimethyl-β-cyclodextrin as modifier [J]. *Talanta*, 2004, 62: 695-699.
 [10] Xiao X F, Liao X F, Cui Y J, et al. Study on the new extraction methods of the flavonoids in *Lithocarpus polysachyus* Rehd [J]. *Food Sci* (食品科学), 2004, 25 (5): 112-115.

八味锡类散质量标准的研究

罗晓健¹, 张任², 何雁²

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

摘要:目的 制定八味锡类散质量控制方法。方法 采用 TLC 法对方中的冰片、牛黄进行了定性鉴别;采用 HPLC 法对方中青黛的靛蓝进行了测定。结果 本品定性鉴别薄层色谱特征明显,专属性强;靛蓝在 0.218~8.72 μg/mL 具有良好的线性关系($r=0.9999$),平均回收率为 100.66%,RSD 为 0.88%。结论 该方法可以准确地進行定性、定量检测,有效地控制八味锡类散的质量。

关键词:八味锡类散;薄层色谱;靛蓝;高效液相色谱

中图分类号:R286.02 文献标识码:B 文章编号:0253-2670(2006)04-0537-03

Quality standard for Bawei Xilei Powder

LUO Xiao-jian¹, ZHANG Ren², HE Yan²

(1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

Key words: Bawei Xilei Powder; TLC; indigo; HPLC

八味锡类散是由西瓜霜、寒水石、牛黄、珍珠(豆腐炙)、青黛、硼砂、硃砂(炙)、冰片 8 味中药制成的粉末状制剂,具有清热解毒、消肿止痛之功效,适用于内有蕴热、外感时邪引起的瘟疫白喉、咽喉肿痛、喉闭乳蛾,兼治结肠溃疡等^[1]。收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 12 册(WS3-B-2272)。该标准中仅有性状及检查项,无定量项。为了提高产品质量控制水平,本实验对方中冰片、牛黄

进行了薄层色谱鉴别,建立青黛中靛蓝的测定方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(Agilent 1100 型,DAD 检测器,Instrument 数据处理软件),CSF-1B 超声波清洗器(上海超声波仪器),AL104 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],AUW2200D 电子天平(日本岛津)。冰片对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0743-8902)、胆酸对照品(中国药品生物制

收稿日期:2005-08-08

作者简介:罗晓健(1960—),男,教授,研究方向为中药新剂型。Tel: (0791) 7119619 E-mail: Luoxj98@126.com