

微波辅助提取络石藤总黄酮的工艺研究

赵晨晨¹, 承伟^{2*}, 王立冬²

1. 曲阜师范大学医院, 山东 曲阜 273165

2. 辽宁医学院药学院, 辽宁 锦州 121000

摘要: 目的 优选微波辅助提取络石藤总黄酮的工艺。方法 以总黄酮提取率为考察指标, 采用正交试验研究微波辅助提取络石藤总黄酮的工艺条件。结果 最佳提取工艺为微波功率 500 W、微波提取时间 30 min、反应温度 70 ℃、乙醇体积分数 70%、料液比 1:20; 在此条件下, 总黄酮的提取率为 3.94%。结论 优化后的工艺简便可行, 为络石藤总黄酮提取纯化工艺的产业化提供理论依据。

关键词: 络石藤; 总黄酮; 微波辅助提取; 正交试验; 提取工艺

中图分类号: R284.2; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)04-0718-03

Extraction of total flavonoids from *Trachelospermi Caulis et Folium* with microwave-assisted technique

ZHAO Chen-chen¹, CHENG Wei², WANG Li-dong²

1. Hospital of Qufu Normal University, Qufu 273165, China

2. College of Pharmacy, Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, China

Key words: *Trachelospermi Caulis et Folium*; total flavonoids; microwave-assisted extraction; orthogonal test; extraction technology

络石藤为夹竹桃科络石属植物络石藤 *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem. 的干燥带叶藤茎, 药材主产河南、安徽、湖北等地。其味苦, 微寒, 归心、肝、肾经, 主治风湿热痹、筋脉拘挛、腰膝酸痛等症^[1]。其主要成分为黄酮类、木脂素类以及三萜类化合物^[2]。黄酮类化学成分主要有木犀草素 (luteolin)、芹菜素 (apigenin)^[3]等。文献报道其乙醇提取物在体内外均具有较好的抗炎镇痛活性。由于络石藤应用较为广泛, 而且具有很高的药用价值, 对其进行深入研究应是非常重要的。黄酮的传统提取方法多采用乙醇浸提法。微波法是近 20 年来国内外迅速发展起来的植物药提取新技术, 与常规方法相比, 微波辅助提取具有选择性高、快速高效、适合热不稳定物质等优点^[4-6]。本实验研究了应用微波技术辅助提取络石藤总黄酮的工艺, 旨在为络石藤总黄酮提取工艺的产业化提供理论参考。

1 仪器与材料

XH-100A 型微波催化合成/萃取仪 (北京祥鹤科技发展有限公司); UV-2550 型紫外可见分光光

度计 (日本岛津); 芦丁对照品 (批号 100080-200808, 中国药品生物制品检定所); 络石藤购于安徽协和成药业饮片有限公司, 经辽宁医学院生药学教研室主任承伟教授鉴定为夹竹桃科植物络石藤 *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem. 的干燥带叶藤茎; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

精密称取在 120 ℃ 干燥至恒重的芦丁对照品约 10.6 mg, 用 30% 乙醇溶解, 定容至 50 mL 摇匀, 配成 0.21 mg/mL 的芦丁对照品溶液, 备用。

2.2 供试品溶液的制备

将络石藤洗净烘干, 粉碎并过 60 目筛, 备用。取络石藤粗粉约 10 g, 于 500 mL 烧瓶中加入适量乙醇溶液, 在一定温度下微波提取, 滤过, 残渣重复提取 1 次, 合并滤液作为供试品溶液。

2.3 测定波长的选择

精密量取“2.2”项下供试品溶液 1.0 mL 置于 25 mL 量瓶中, 按“2.4”项下方法显色后, 用紫外-可见分光光度计在 400~600 nm 波长测定吸收峰。

收稿日期: 2011-07-04

作者简介: 赵晨晨 (1985—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中草药提取。Tel: 15065470160 E-mail: zhaochenchen585@163.com

*通讯作者 承伟 Tel: 13841634367 E-mail: cheng2553807@126.com

结果确定最大吸收波长为 502 nm。

2.4 线性关系考察

精密量取 0.21 mg/mL 对照品溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 分别置 25 mL 量瓶中, 加入 5% 亚硝酸钠 1 mL 混匀, 放置 6 min; 加入 10% 硝酸铝 1 mL 摇匀, 放置 6 min, 加入 4% 氢氧化钠试液 10 mL 放置 15 min 后, 最后用 30% 乙醇溶液定容至刻度^[7], 用紫外-可见分光光度计在 502 nm 处测吸光度 (A) 值, 以芦丁质量浓度为横坐标 (X), A 值为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=0.01136X+0.01202$, $r=0.9998$; 结果表明芦丁在 8.48~42.20 $\mu\text{g/mL}$ 与 A 值呈良好的线性关系。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 精密量取 0.21 mg/mL 芦丁对照品溶液适量, 按“2.4”项下方法重复测定 6 次, 结果 A 值的 RSD 为 1.25%。

2.5.2 稳定性试验 取“2.2”项下方法制备的供试品溶液, 按“2.4”项下方法每隔 10 min 测定 1 次, 共测 6 次, 结果 A 值的 RSD 为 1.34%, 表明络石藤提取液在 1 h 内稳定。

2.5.3 重复性试验 平行取络石藤粗粉 6 份, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 再精密量取供试品溶液 1 mL, 按“2.4”项下方法操作, 在 502 nm 处测定 A 值, 结果 A 值的 RSD 为 1.17%。

2.5.4 加样回收率试验 精密量取按“2.2”项制备的样品溶液 6 份, 分别加入一定量 0.21 mg/mL 芦丁对照品, 按“2.4”项下方法进行测定, 计算加样回收率。结果芦丁平均回收率为 98.56%, RSD 为 1.47%。

2.6 正交试验设计

采用正交试验法, 选择主要影响提取效率的微波功率 (A)、微波作用时间 (B)、反应温度 (C)、乙醇体积分数 (D)、料液比 (E) 作为考察因素, 以微波提取样品中总黄酮提取率为指标, 选用 $L_{16}(4^5)$ 正交表设计^[8]。按照正交表取络石藤粗粉约 10 g, 于 500 mL 烧瓶中加入 200 mL 一定体积分数的乙醇, 设定微波功率、微波作用时间、反应温度进行提取, 提取液滤过, 残渣重复提取 1 次, 合并滤液, 取滤液 1.0 mL 置于 25 mL 量瓶中, 按“2.4”项下的方法显色后测定 A 值。计算提取率。正交试验设计与结果见表 1, 方差分析见表 2。

表 1 正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of orthogonal test

试验号	A / W	B / min	C / °C	D / %	E	提取率 / %
1	300 (1)	15 (1)	50 (1)	40 (1)	1 : 15 (1)	3.16
2	300 (1)	30 (2)	60 (2)	50 (2)	1 : 20 (2)	3.46
3	300 (1)	45 (3)	70 (3)	60 (3)	1 : 25 (3)	3.69
4	300 (1)	60 (4)	80 (4)	70 (4)	1 : 30 (4)	3.37
5	400 (2)	15 (1)	60 (2)	60 (3)	1 : 30 (4)	3.50
6	400 (2)	30 (2)	50 (1)	70 (4)	1 : 25 (3)	3.51
7	400 (2)	45 (3)	80 (4)	40 (1)	1 : 20 (2)	3.21
8	400 (2)	60 (4)	70 (3)	50 (2)	1 : 15 (1)	3.58
9	500 (3)	15 (1)	70 (3)	70 (4)	1 : 20 (2)	3.89
10	500 (3)	30 (2)	80 (4)	60 (3)	1 : 15 (1)	3.54
11	500 (3)	45 (3)	50 (1)	50 (2)	1 : 30 (4)	3.35
12	500 (3)	60 (4)	60 (2)	40 (1)	1 : 25 (3)	3.29
13	600 (4)	15 (1)	80 (4)	50 (2)	1 : 25 (3)	3.37
14	600 (4)	30 (2)	70 (3)	40 (1)	1 : 30 (4)	3.52
15	600 (4)	45 (3)	60 (2)	70 (4)	1 : 15 (1)	3.45
16	600 (4)	60 (4)	50 (1)	60 (3)	1 : 20 (2)	3.33
K_1	3.420	3.480	3.337	3.295	3.433	
K_2	3.450	3.507	3.425	3.440	3.473	
K_3	3.518	3.425	3.670	3.515	3.465	
K_4	3.417	3.393	3.373	3.555	3.435	
R	0.101	0.114	0.333	0.260	0.040	

表 2 方差分析结果

Table 2 Analysis of variance

因素	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	0.026	3	0.008 7	5.200	
B	0.033	3	0.011 0	6.600	
C	0.271	3	0.090 3	54.200	$P < 0.05$
D	0.157	3	0.052 3	31.400	$P < 0.05$
E	0.005	3	0.001 7	1.000	
误差	0.010	3			

$$F_{0.05}(3, 3) = 9.280 \quad F_{0.01}(3, 3) = 29.500$$

$$\text{总黄酮提取率} = CV_k V_0 / (10^6 W V)$$

C 为测定液的质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$), V_k 为测定用量瓶的体积 (mL), V 为测定取样体积 (mL), W 为样品质量 (g), V_0 为样液总体积 (mL)

由表 1、2 可知, 各因素对提取率影响的大小顺序为反应温度 > 乙醇体积分数 > 微波作用时间 > 微波功率 > 料液比, 反应温度的影响最大, 料液比影响最小。由直观分析和极差分析结果初步认为提取

络石藤总黄酮的最佳工艺为 $A_3B_2C_3D_4E_2$, 即在料液比 1 : 20、70%乙醇、微波功率 500 W、反应温度 70 $^{\circ}\text{C}$ 条件下提取 30 min。

2.7 验证试验

精密称取 3 份干燥的络石藤粉末 10.0 g, 按最佳工艺平行操作 3 次, 按“2.4”项下方法测定 A 值, 根据回归方程计算出总黄酮的提取率。结果, 总黄酮平均提取率为 3.94%, RSD 为 1.56%。总黄酮提取率均高于其他各正交试验值。

2.8 微波提取与传统提取方法的比较

选择超声波提取与加热回流提取两种实验方法分别进行单因素试验和正交试验, 确定最佳提取工艺及提取率。

微波提取与超声波提取、加热回流提取工艺条件及提取效果的比较见表 3。可见, 微波提取与超声波提取相比, 提高了提取率; 而与加热回流提取相比, 明显缩短了提取时间, 节省提取溶剂, 并且提高了提取率。

表 3 微波辅助提取与传统提取方法的比较

Table 3 Comparison between microwave-assisted extraction and traditional extraction method

提取方法	反应温度 / $^{\circ}\text{C}$	乙醇体积分数 / %	提取时间 / min	料液比	提取率 / %
微波	70	70	30	1 : 20	3.94
超声 ^[9]	70	60	30	1 : 15	3.22
加热回流	70	75	90	1 : 25	2.88

3 讨论

微波提取主要是利用微波强烈的热效应。微波加热过程实质上是介质分子获得微波能并转化成热能的过程。采用微波辅助提取络石藤总黄酮的工艺方法与传统工艺方法相比, 具有节时、节能、操作简单、提取率高等特点。并且乙醇毒性小、价格便宜、可回收反复使用, 是理想的提取溶剂。

通过正交试验法和紫外分光光度法, 优选了络石藤中总黄酮的微波最佳提取工艺。实验表明, 反应温度、乙醇浓度对提取总黄酮影响较大, 而料液比、微波功率和微波作用时间的影响不明显。因此将微波辅助提取络石藤总黄酮的优化工艺定为微波功率 500 W、提取时间 30 min、乙醇体积分数 70%、反应温度 70 $^{\circ}\text{C}$ 、固液比 1 : 20。在此条件下, 络石藤总黄酮提取率为 3.94%, 且 3 批实验结果较为接近, 说明优化的工艺基本稳定, 适合络石藤总黄酮的提取。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 谭兴起, 陈海生, 周 密, 等. 络石藤中的三萜类化合物 [J]. 中草药, 2006, 37(2): 171-174.
- [3] 富 乐, 赵毅民, 王金辉, 等. 络石藤黄酮类化学成分研究 [J]. 解放军药学学报, 2008, 24(4): 299-301.
- [4] 叶 春, 阙建全, 谭书明, 等. 微波辅助提取鱼腥草叶总黄酮的工艺研究 [J]. 中国酿造, 2009(1): 134-137.
- [5] 金 时, 杨 梅, 孔 羽, 等. 木豆叶中黄酮微波提取工艺研究 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2235-2239.
- [6] 陈 双, 史俊燕, 钟 洁. 微波辅助提取小麦麸皮总黄酮技术研究 [J]. 食品与药品, 2009, 11(3): 18-20.
- [7] 马陶陶, 张群林, 李 俊, 等. 三氯化铝比色法测定中药总黄酮方法的探讨 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(1): 54-56.
- [8] 伍晓春. 正交试验优选蔓荆子总黄酮微波辅助提取纯化工艺 [J]. 中国药房, 2009, 20(24): 1867-1869.
- [9] 赵晨晨, 王立冬, 承 伟, 等. 超声波辅助提取络石藤总黄酮的工艺研究 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(4): 2080-2081.