

# 中华苦苣菜总黄酮微波提取工艺研究

韩忠明<sup>1</sup>, 刘翠晶<sup>1</sup>, 胡顺波<sup>2</sup>, 郭洪丽<sup>2</sup>, 韩梅<sup>1</sup>, 杨利民<sup>1</sup>

(1. 吉林农业大学 中药材学院, 吉林 长春 130118; 2. 白山市食品药品检验所, 吉林 白山 134300)

**摘要:**以中华苦苣菜为试材,总黄酮提取率为评价指标,采用微波辅助提取,单因素和正交实验的方法研究了料液比、乙醇浓度、提取时间和提取温度对中华苦苣菜总黄酮提取率的影响。结果表明:在所考察的因素中,对中华苦苣菜中总黄酮提取率影响的主次顺序为:提取温度>提取时间>乙醇浓度>料液比,中华苦苣菜微波提取的最佳工艺条件为料液比为1:20,乙醇浓度为70%,提取温度为90℃,提取时间为5 min。与常规提取法相比,微波辅助提取技术具有提取时间短、提取率高等优点。

**关键词:**中华苦苣菜;黄酮;微波提取;正交实验

中图分类号:S 647 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2011)24-0207-04

中华苦苣菜(*Ixeris chinensis* (Thunb.) Nakai)为菊科小苦苣菜属多年生草本植物,又名苦菜、山苦菜等。广泛分布于我国东北、华东、西南地区,俄罗斯远东地区、朝鲜、日本亦有<sup>[1]</sup>,野生植物资源丰富。全草可以入药,具有清热解毒、解痉镇痛、凉血消肿、保肝抗炎等功效,用于治疗肺病、乳癌、痢疾肠炎等多种疾病<sup>[2]</sup>。该植物化学成分主要有黄酮、三萜、倍半萜和香豆素等化合物<sup>[3-5]</sup>,其中黄酮类化合物具有生物抗氧化性、抗衰老、治疗心脑血管、降血脂等药用保健功能<sup>[6]</sup>。从苦苣菜中提取总黄酮的传统方法主要是通过煎煮、回流等方式进行,普遍存在提取时间长、试剂用量大,提取率较低等问题<sup>[2,7-8]</sup>。而微波提取法是近年来发展起来的一种新型方法,具有选择性高、操作时间短、溶剂消耗量少、有效成分提取得率高等优点,在中药药效成分的快速提取中具有良好应用前景<sup>[9-12]</sup>。现利用微波辅助提取技术对中华苦苣菜中总黄酮提取进行研究,旨在为寻求高效快捷的中华苦苣菜总黄酮提取技术及进一步开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料采于吉林农业大学药用植物园,经吉林农业大学杨利民教授鉴定确认。芦丁对照品由中国药

品生物制品检定所提供。主要仪器:CEM-MARS 5 微波消解萃取仪,美国 CEM 公司;Agilent 1100 高效液相色谱仪(手动进样器、DAD 检测器、在线脱气机、四元泵和 Agilent 化学工作站),安捷伦科技有限公司;AUY 220 电子天平,日本岛津;HH-6 数显恒温水浴锅。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 标准曲线的测定** 精密称取芦丁对照品 10.0 mg,置于 50 mL 容量瓶中,加无水乙醇定容到刻度,摇匀。精密吸取此溶液 0、1、2、3、4 和 5 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中,加无水乙醇至 5 mL,各精密加入 4% NaNO<sub>2</sub> 溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min 后,加 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min 后,加入 10% NaOH 溶液 10 mL,用蒸馏水定容至刻度,摇匀,放置 15 min 后,以第 1 瓶做空白,在波长 510 nm 处测定吸光值。以吸光度(*y*)为纵坐标,芦丁浓度(*x*)为横坐标绘制标准曲线,回归方程为  $y = 14.704x - 0.0016$ ,  $R^2 = 0.9992$ 。

**1.2.2 单因素试验** 中华苦苣菜 45℃ 烘干至恒重,粉碎过 40 目筛。精密称定 0.5 g 干粉,乙醚回流 2 h 去除叶绿素,放入微波反应罐中,加入不同因素条件的乙醇,称重,按照不同提取时间、提取温度进行微波提取,提取结束后,将反应罐取出,乙醇补充重量,过滤,定容于 50 mL 容量瓶中,得供试品溶液按照 1.2.1 测定样品溶液的吸光度,以标准曲线法计算中华苦苣菜总黄酮含量,分别确定最适微波提取时间、温度、乙醇浓度和料液比。

**1.2.3 正交实验及优选** 在中华苦苣菜总黄酮提取单因素试验基础上,对其总黄酮提取有影响的主要因

第一作者简介:韩忠明(1979-),男,博士,讲师,研究方向为中药栽培与质量评价。

责任作者:杨利民(1962-),男,博士,教授,博士生导师,现主要从事药用植物生态与资源可持续利用研究工作。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31070292);吉林农业大学博士启动基金资助项目(2011112)。

收稿日期:2011-09-14

素(提取时间、提取温度、乙醇浓度和料液比)进行 $L_9(3^4)$ 正交实验,确定中华苦苣菜总黄酮提取最佳条件。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对提取率的影响 在其它条件相同情况下研究分析了不同料液比(1:5、1:10、1:15、1:20和1:25)对总黄酮得率的影响。由图1可知,总黄酮含量依次为4.211%、5.123%、5.765%、5.782%和5.793%,当料液比达在1:15以下,总黄酮的提取率最高。说明一定比例的溶剂可将有效成分溶出完全,再增加料液比,萃取效果不明显。为节省原料,因此选择料液比为1:15。

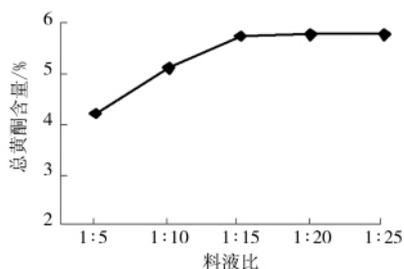


图1 料液比对总黄酮提取率的影响

2.1.2 乙醇浓度对提取率影响 在相同条件下分别研究了不同乙醇浓度(40%、55%、70%、85%和100%乙醇)对总黄酮含量影响。由图2可知,当乙醇浓度为70%时,总黄酮得率最大。

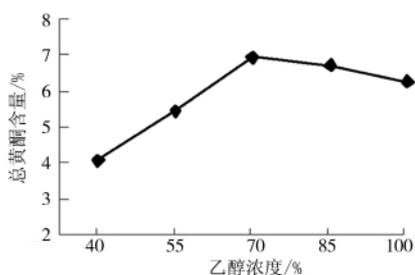


图2 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响

2.1.3 提取时间对提取率的影响 由图3可知,在其它条件相同情况下,选择时间1、2、3、4、5、6和7 min进行微波提取,总黄酮含量为4.596%、4.814%、5.476%、6.191%、6.826%、6.826%和6.844%,可见在1~5 min内中华苦苣菜总黄酮含量随着提取时间增加而提高,当提取时间超过5 min,总黄酮提取率增加缓慢。

2.1.4 提取温度对提取率的影响 在其它条件相同情况下,分别研究了不同提取温度60、70、80、90和

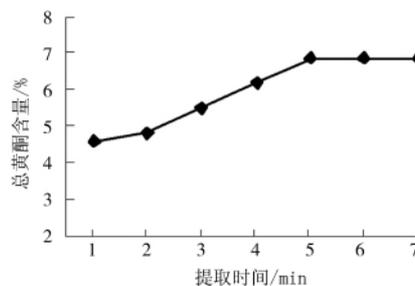


图3 提取时间比对总黄酮提取率的影响

100℃对总黄酮提取率的影响。由图4可知,在相同条件下随着提取温度不断升高提高率逐渐增加,当温度超过90℃,总黄酮含量增加缓慢。

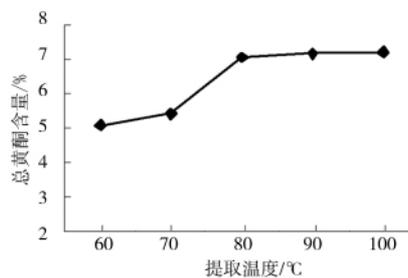


图4 提取温度对总黄酮提取率的影响

### 2.2 正交实验结果

根据单因素试验结果,以料液比(A)、乙醇浓度(B)、提取时间(C)和提取温度(D)为指标,进一步研究各因素对中华苦苣菜总黄酮提取的影响,采用 $L_9(3^4)$ 四因素三水平正交实验,确定中华苦苣菜提取的最佳工艺,各因素水平见表1。根据给定的具体进行正交实验,510 nm处测定吸光值,测定3次,结果取平均值(表2)。由极差分析得知,各因素作用主次分别为提取温度(D)>提取时间(C)>乙醇浓度(B)>料液比(A);说明提取温度是影响中华苦苣菜总黄酮提取的最重要因素。对各因素进行方差分析(表3),结果表明,提取时间和提取温度对中华苦苣菜中总黄酮提取影响达到极显著水平( $P<0.01$ ),而乙醇浓度对中华苦苣菜总黄酮的提取影响显著( $P<0.05$ )。其最佳提取工艺为 $A_3B_2C_3D_2$ ,即70%乙醇,1:20(g:mL)料液比,在90℃下提取5 min。

表1 因素水平

水平	因素			
	A 料液比	B 乙醇浓度/%	C 提取时间/min	D 提取温度/°C
1	1:10	55	3	80
2	1:15	70	4	90
3	1:20	85	5	100

表2 微波法提取总黄酮正交实验结果

序号	A 料液比	B 乙醇浓度/%	C 提取时间/min	D 提取温度/°C	总黄酮含量/%
1	1	1	1	1	4.92
2	1	2	2	2	7.947
3	1	3	3	3	5.953
4	2	1	2	3	6.073
5	2	2	3	1	6.833
6	2	3	1	2	6.24
7	3	1	3	2	7.957
8	3	2	1	3	5.337
9	3	3	2	1	6.173
K1	18.82	18.95	16.497	17.926	
K2	19.146	20.117	20.193	22.144	
K3	19.467	18.366	20.743	17.363	
R	0.647	1.751	4.246	4.781	

表3 微波法提取总黄酮方差分析

变异来源	离差平方和	自由度	方差	F	P
变异来源	0.2091	2	0.1045	0.8123	0.46
料液比	1.588	2	0.794	6.169	0.01
乙醇浓度	10.667	2	5.334	41.442	<0.01
提取温度	13.649	2	6.824	53.024	<0.01
误差	2.3167	18	0.129		

### 2.3 验证试验

根据上述最佳提取工艺条件  $A_3 B_2 C_3 D_2$ , 对中华苦苣菜总黄酮含量进行测定, 总黄酮平均含量为 18.787% (表 4), 大于正交设计中含量, 并与传统回流提取法进行比较 (精密称取 0.5 g 中华苦苣菜粉末, 70% 乙醇 50 mL 回流提取 2 h, 定容 50 mL)。结果表明, 2 种提取方法之间存在显著差异 ( $P < 0.05$ ), 微波提取 5 min 总黄酮含量就超过了回流提取 2 h 效果, 大大缩短了总黄酮提取时间, 所筛选提取工艺条件稳定。

表4 验证试验结果

试验号	微波法/%	回流提取法/%
1	8.714	7.32
2	8.525	7.153
3	9.121	6.821
平均值	8.787 a	7.098 b
提取时间	5 min	2 h

### 3 结论

该试验通过单因素和正交实验优选出中华苦苣菜总黄酮提取的最优工艺为  $A_3 B_2 C_3 D_2$ , 即 70% 乙醇, 1 g:20 mL 料液比, 在 90°C 下提取 5 min, 提取效果较好。与常规回流提取法相比, 提取时间大大缩短, 提取时间为回流法的 1/24, 所得总黄酮含量显著提高, 并且具有良好的重复性和较高准确率, 提取工艺条件稳定, 作为

中药提取新工艺, 具有良好的应用前景和实际的指导意义。

### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 80 卷. 第 11 分册. 北京: 科学出版社, 1997: 251-252.
- [2] 周宏雷, 袁久荣. 中华苦苣菜化学成分的研究[J]. 中草药, 1996, 27(5): 267-268.
- [3] 王晓飞, 王晓静. 中华苦苣菜研究进展[J]. 齐鲁药事, 2006, 25(4): 238-239.
- [4] Khalil A T, Shen Y C, Guh J H, et al. Two New Sesquiterpene Lactones from *Ixeris chinensis*[J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53(1): 15-17.
- [5] Zhang S, Wang J, Xue H, et al. Three new guaianolides from *Siyekucui*(*Ixeris chinensis*) [J]. Journal of Natural Products, 2002, 65(2): 1927-1929.
- [6] 罗伟强, 黄润均, 邓光辉. 苦苣菜茎黄酮类化合物提取方法研究[J]. 广西民族学院学报(自然科学版), 2003, 9(1): 31-32.
- [7] 王晓飞, 王晓静. 中华苦苣菜化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(8): 1151-1152.
- [8] 程春萍, 任秀莲, 魏琦峰. 反相高效液相色谱测定中华苦苣菜中的木犀草素[J]. 内蒙古石油化工, 2004, 30(3): 19-21.
- [9] 王平, 柯敏, 王妙冬, 等. 微波提取温莪术挥发油及其成分分析[J]. 高校化学工程学报, 2008, 22(2): 229-233.
- [10] 韩忠明, 王云贺, 李轶雯, 等. 防风色原酮微波辅助提取及含量动态变化研究[J]. 中药材, 2011, 34(3): 140-143.
- [11] 张吉祥, 白晓杰, 周秋香. 正交实验法对黑米黑色素的微波提取工艺研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(3): 86-89.
- [12] 梁梓, 张维敏, 王容, 等. 微波辅助法对金针菇水溶性多糖提取工艺的研究[J]. 北方园艺, 2010(5): 178-180.

# 江油不同质地土壤对附子苗期生长的影响

罗 霞<sup>1</sup>, 侯大斌<sup>1</sup>, 代婧秋<sup>1</sup>, 陈利蓉<sup>2</sup>

(1. 西南科技大学 生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010; 2. 安县晓坝镇农技站, 四川 绵阳 622633)

**摘 要:**采取盆栽试验,对江油附子主要种植区中 6 个不同质地土壤类型的养分状况和种植于该 6 个土壤类型之上的附子苗期状况进行研究。结果表明:砂壤土和壤土土壤肥力高,更适合附子的种植,砂土和粘土上的附子生长状况相对较差,建议通过科学的土壤改良,合理施肥,精耕细作来改变砂土和粘土的质地,提高其土壤肥力,以更好地满足附子的生长需要。

**关键词:**江油;土壤质地;附子;苗期生长

**中图分类号:**S 567. 23<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)24-0210-04

附子(*Radix aconiti Lateralis Preparata*)为毛茛科乌头属乌头的侧根加工品<sup>[1]</sup>,是著名的川产道地药材,在四川江油已有 1 000 多年的种植历史。具有回阳救逆、温补肾阳、祛寒止痛之功效<sup>[2]</sup>。江油附子主要种植于江油太平、漳明等镇,土壤属于涪江冲积土,由于种植区位置离涪江河有远有近,土壤质地存在较大的差异。土壤质地是反映土壤物理特性的一个综合指标,是影响土壤肥力的一个极其重要的因素。土壤质地常

常决定土壤的蓄水、导热、保肥、供肥、保温、通气、微生物种类等性能的主要因素之一,而土壤的这些性能在生产上又起着重要的作用<sup>[3]</sup>。因此,不同土壤质地对附子生长会产生不同的影响。现从不同质地土壤对附子苗期生长的影响进行研究,以期合理利用土壤资源和实行因土种植附子提供一些基础资料。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试土壤沿江油涪江两岸采集,均取自各地农田。土壤采集的基本信息见表 1,供试附子品种为江油主栽品种南瓜叶型。

### 1.2 试验方法

盆栽试验于 2010~2011 年在西南科技大学校内试验区进行,盆上口半径 15 cm,下口半径 6 cm,盆高 25 cm,选择大小均匀的块根,于 2010 年 12 月 4 日栽种,每盆栽种 2 株。附子栽种时施足底肥,生长期间进

第一作者简介:罗霞(1986-),女,四川遂宁人,在读硕士,研究方向为药用植物。

责任作者:侯大斌(1965-),男,博士,教授,现主要从事植物分子生物学及药用学研究工作。

基金 项 目: 国 家 “ 十 一 五 ” 科 技 支 撑 计 划 资 助 项 目 (2007BAD89B15);四川省科技攻关资助项目(2006YZGG12)。

收稿日期:2011-09-24

## Studw on Extracting Technology of Falconoid by Microwave from *Ixeris chinensis*

HAN Zhong-ming<sup>1</sup>, LIU Cui-jing<sup>1</sup>, HU Shun-bo<sup>2</sup>, GUO Hong-li<sup>2</sup>, HAN mei<sup>1</sup>, YANG Li-min<sup>1</sup>

(1. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 2. Baishan Institute for Drug and Food Control, Baishan, Jilin 134300)

**Abstract:** Taking *Ixeris chinensis* (Thunb.) Nakai as material, the rate of falconoid extraction indicators as the evaluation standard, and the effects of the feed-liquid rate, ethanol concentration, extraction temperature and time on the total falconoid contents were studied by single factor and orthogonal test in order to investigate the extraction process conditions of by microwave from *I. chinensis*. The results showed that the influence of factors on the extraction rate of falconoid was the order of extraction temperature > extraction time > ethanol concentration > the feed-liquid rate, and the optimal microwave extraction condition of falconoid from *I. chinensis* by microwave was as follows: the feed-liquid rate was 1:20; the ethanol concentration was 70%, the extractive temperature was 90°C and the extractive time was 5 min. This extracting technology of falconoid by microwave was found to be a rapid and efficient extraction method with short time and high production yield compared with conventional extraction.

**Key words:** *Ixeris chinensis*; falconoid; microwave extraction; orthogonal test