

# 微波法提取长白山野菊花类黄酮最佳工艺研究

王立江, 蒋 玥

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

**摘 要:**以长白山野菊花为试材,以微波处理强度、微波处理时间、料液比和提取液浓度为考察因素,通过单因素试验和正交优化实验,研究了微波法提取对类黄酮得率的影响。结果表明:微波法提取长白山野菊花类黄酮的最佳工艺条件为微波处理强度 600 W、微波处理 3 min、料液比 1:25、提取液乙醇的浓度为 70%。

**关键词:**类黄酮;长白山野菊花;微波提取;最佳提取工艺

**中图分类号:**TS 255.36 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)13-0159-04

长白山野菊花(*Chrysanthemum indicum* L. flowers)是生长于长白山地带的一种天然菊科植物,有药用作用的部分是其干燥的头状花序<sup>[1]</sup>,又称为“疟疾草”、“山菊花”、“苦蕒”等。野菊花在我国民间药用历史悠久,始载于唐《本草拾遗》;《名医别录》中记载其“苦、辛、微寒”,具有清热解毒、平肝的功效<sup>[2]</sup>。已有研究表明,野菊花具有广谱抗菌<sup>[3]</sup>、抗病毒、消炎<sup>[4]</sup>、抗癌等功效;富含黄酮类化合物、萜类、挥发油<sup>[5]</sup>及多种有机酸(绿原酸、棕榈酸等)等;同时野菊花还含有山萘酚甘油酯、叶绿素、维生素及硒、镍、锰等多种微量元素和胆碱、水苏碱、嘌呤、鞣质等。临床上利用野菊花治疗慢性盆腔炎、宫颈糜烂、慢性前列腺炎等均有显著功效。野菊花中类黄酮是野菊花各种药理作用的主要成分,类黄酮可以抑制脂质氧化<sup>[6]</sup>,使血小板凝集从而降血压、清除活性氧自由基<sup>[7]</sup>;其舒张血管的作用可以增加冠脉血流量,改善毛细管的通透性及脆性。目前临床还会用于治疗病毒性肝炎、前列腺炎、慢性咽炎等各种炎症及病毒性疾病、心血管疾病、高血压、传染性软疣及癌症等。

微波提取法是利用微波能来提高提取速率的一种新技术,它具有快速、节能、得率高的优点<sup>[8]</sup>。微波提取法在我国的中药检测、环境保护测定、天然香精香料开发、食品分析、化妆品<sup>[9]</sup>等领域日益受到重视。1992年陆续在美国、墨西哥、日本、西欧、韩国被广泛应用<sup>[10]</sup>,并在薄荷、海藻中提取有效物质均获得成功。目前微波提取技术主要有直接采用家电型微波炉对原材料进行处理、自制的具有压力和温度控制的微波提取设备和专门

制造的微波提取系统 3 种。

微波提取技术具有加热迅速且加热均匀性好、热量直接作用于介质分子、使物料整体同时被加热的特点。微波加热是选择性加热<sup>[11]</sup>,可提高提取效率以达到更好的提取效果,节省原料的消耗。热量损失少,效率高,高效节能并且易于控制。整个加热过程不产生余热和粉尘、无有害气体排放,安全环保<sup>[12]</sup>。现以长白山野菊花为试材,以微波处理强度、微波处理时间、料液比和提取液乙醇浓度为考察因素,通过单因素试验和正交优化实验,研究了微波法提取对类黄酮得率的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为长白山野菊花;试验仪器及设备:水浴锅,AL204 型电子天平,格兰仕微波炉,JH-210K 宇普食品加工机,TDL-4 型台式离心机,UV-1700 型紫外可见分光光度计,移液器。

### 1.2 试验方法

1.2.1 标准曲线的制定 取离心后的提取液 1.0 mL 于 25 mL 容量瓶中,用甲醇(分析纯)定容至 25 mL 后,静置 2 min,加入到洗净擦干的比色皿中,用 UV-1700 型紫外可见分光光度计,采用波长为 360 nm 的紫外光,测定提取液的吸光度。根据芦丁标准曲线可以直接得到类黄酮浓度,再根据定容的体积可求得类黄酮含量。芦丁标准曲线由吉林农业科技学院重点实验室提供,因实验室用的芦丁标准溶液是用甲醇(分析纯)制备,所以提取液也需要用甲醇(分析纯)定容,已制好的芦丁标准曲线的线性回归方程为: $Y=0.2976x-0.03100$ ,相关系数为  $R=0.99826$ ,说明 2 个变量间有很强的线性相关性。

1.2.2 微波提取工艺流程 将长白山野菊花风干至恒重后,用食品加工机研磨成细粉,采用 AL204 型电子天平称取 1.0 g 粉末装入 250 mL 的锥形瓶中备用。在维

**第一作者简介:**王立江(1972-),男,硕士,副教授,硕士生导师,研究方向为食品分析检测。E-mail:wlj55568@126.com。

**基金项目:**吉林省教育厅科研资助项目(吉教科合字 2011-273)。

**收稿日期:**2013-03-07

形瓶中加入定量的蒸馏水后<sup>[14]</sup>,在微波炉中加热一定时间,取出加入一定量的乙醇,采用回流提取,提取温度为70℃、时间2 h;将提取液用滤纸过滤后,采用 TDL-4 型台式离心机,取适量提取液离心后待测定。

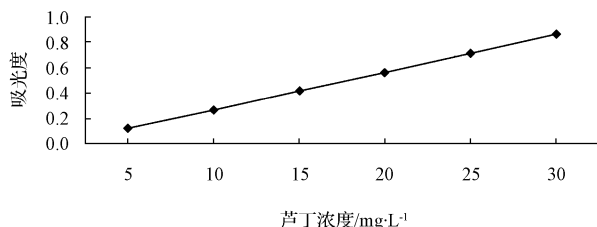


图1 芦丁标准曲线

Fig. 1 The standard curve of the Rutin standard samples

1.2.3 单因素试验 微波强度对类黄酮得率的影响:称取1.0 g 长白山野菊花粉末,装入250 mL 的锥形瓶中,以1:20 的料液比加入蒸馏水,分别选取0、300、600、900、1 200 W 5 组不同的微波处理强度,将野菊花料液处理4 min,加入浓度为70% 乙醇20 mL,以提取温度为70℃、时间2 h 进行回流提取,采用“1.2.1”方法测定吸光值,计算类黄酮得率,以确定最佳微波强度。微波处理时间对类黄酮得率的影响:称取1.0 g 野菊花粉末,装入250 mL 的锥形瓶中,以1:20 的料液比加入蒸馏水,在600 W 的微波强度下,分别处理2、3、4、5、6 min 后,加入浓度为70% 的乙醇20 mL,提取温度为70℃、时间2 h 进行回流提取,采用“1.2.1”方法测定吸光值,计算类黄酮得率,以确定最佳微波处理时间。提取液浓度对类黄酮得率的影响:称取1.0 g 长白山野菊花粉末,装入250 mL 的锥形瓶中,以1:20 的料液比加入蒸馏水,在600 W 的微波强度下处理4 min,分别加入20 mL 浓度为50%、60%、70%、80%、90% 的乙醇,在70℃ 下回流提取2 h,采用“1.2.1”方法测定吸光值,计算类黄酮得率,以确定最佳提取液浓度。提取液料液比对类黄酮得率的影响:称取1.0 g 长白山野菊花粉末,装入250 mL 的锥形瓶中,加入料液比分别为1:10、1:15、1:20、1:25、1:30<sup>[15]</sup> 的蒸馏水,在600 W 的微波强度下将野菊花料液处理4 min,加入浓度为70% 的乙醇20 mL,在70℃ 下回流提取2 h,采用“1.2.1”方法测定吸光值,计算类黄酮得率,以确定最佳料液比。

1.2.4 正交实验 为了确定提取长白山野菊花中类黄酮的最佳提取工艺条件及各因素对类黄酮提取的影响大小,在以上单因素试验的基础上,选取微波处理强度、微波处理时间、提取液乙醇浓度及料液比4 个影响因素,进行4 因素3 水平正交实验设计(表1)。

表1 正交实验设计

Table 1 The design of orthogonal test

水平	因素			
	A 微波处理时间 /min	B 料液比 /g : mL	C 提取液浓度 /%	D 微波处理强度 /W
1	3	1 : 15	60	300
2	4	1 : 20	70	600
3	5	1 : 25	80	900

## 2 结果与分析

### 2.1 不同微波强度对类黄酮得率的影响

由图2 可以看出,提取液中类黄酮的含量在一定范围内会随微波强度的增加而上升。当微波强度由0 上升到600 W 时,类黄酮得率逐渐上升;达到600 W 时,提取的类黄酮含量最高。随后随着微波强度的上升,类黄酮得率开始下降。可能由于微波处理技术是将微波电磁能转化成热能,利用微波受热均匀的特点,辅助提取,从而提高类黄酮得率。但是当微波强度过高时,细胞受热温度升高过快、达到的温度过高且容易使溶液暴沸导致溶液溢出或者容器内溶液蒸干,都会影响类黄酮得率。从而使提取液中类黄酮含量下降。所以适宜的微波处理强度为600 W。

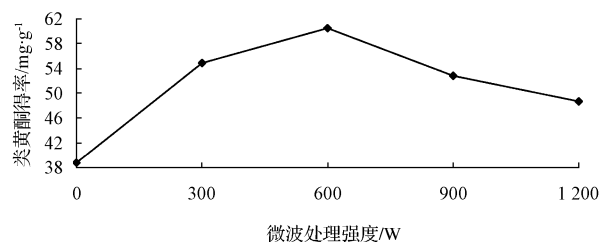


图2 微波处理强度对类黄酮得率的影响

Fig. 2 The influence of micro-wave treatment power on flavonoid extraction yield

### 2.2 微波处理时间对类黄酮得率的影响

从图3 可以看出,微波处理时间对长白山野菊花中类黄酮得率的影响也至关重要,微波处理的穿透力强,在短时间内便可以让料液中的极性分子吸收大量的热量,使类黄酮得率在短时间内提高。在操作中微波处理

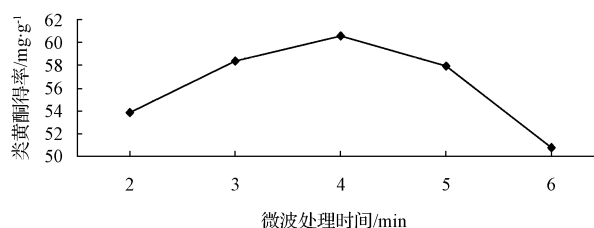


图3 微波处理时间对类黄酮得率的影响

Fig. 3 The influence of micro-wave treatment time on flavonoid extraction yield

时间过短,达不到微波处理的目的,提高得率的效果不明显;当时间达到 4 min 时达到最高点。如果采用更长时间处理野菊花,由于长时间的微波作用,微波的强热效应使野菊花加热过度,组织中的类黄酮被破坏分解,同时蛋白质发生变性,阻挡类黄酮的溶出以及加热时间过长,水分过分蒸发,导致类黄酮溶出减少,反而使类黄酮得率开始缓慢下降,所以适宜的微波处理时间为 4 min。

### 2.3 提取液浓度对类黄酮得率的影响

在提取类黄酮的过程中,乙醇作为一种提取剂,可溶解类黄酮。从图 4 可以看出,提取液乙醇的浓度对类黄酮得率影响较大,在浓度小于 70% 时,类黄酮得率随乙醇浓度的提高而上升,当浓度大于 70% 后,再提高乙醇溶液的浓度,会使叶绿素等物质溶出,类黄酮得率反而急剧下降。当乙醇浓度较小时,溶出的糖类、水溶性蛋白质等因提取液含水量较多而溶出较多,类黄酮得率较少,当浓度达到 70% 时类黄酮得率达到最高。所以适宜的乙醇提取浓度为 70%。

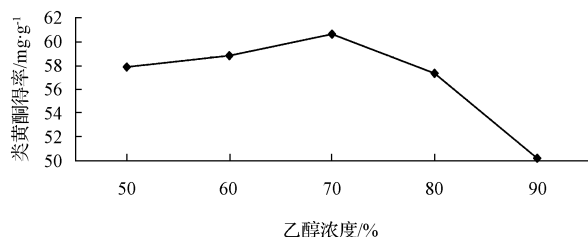


图 4 乙醇浓度对类黄酮得率的影响

Fig. 4 The influence of ethanol concentration on flavonoid extraction yield

### 2.4 料液比对类黄酮得率的影响

从图 5 可以看出,类黄酮得率随料液比的增加先上升后下降趋势。料液比越大,溶质与溶剂之间的浓度越大,有利于类黄酮向溶剂中扩散,所以溶剂量越大越有利于类黄酮的溶出;同时料液比较小时,在微波处理的过程中,水分蒸发,容易导致料液干涸,阻碍类黄酮的溶出;但是当料液比大于 1:20 时,溶剂量过大,也不利于

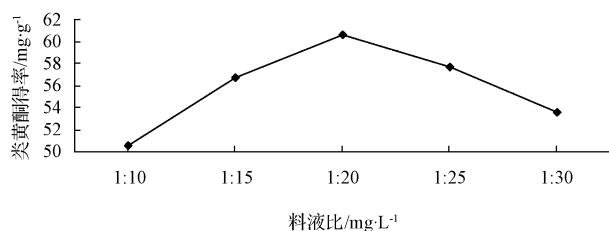


图 5 料液比对类黄酮得率的影响

Fig. 5 The influence of ratio of solid to liquid on flavonoid extraction yield

已溶出的类黄酮对未浸出黄酮的协同浸提作用,从而在料液比大于 1:20 时,使类黄酮得率下降。所以最适宜的料液比为 1:20。

### 2.5 正交实验结果

从表 2 分析可知,在正交实验中利用同一水平试验之和  $K$  求得各水平试验的平均值  $k$ 。根据  $k$  计算因素列的极差  $R$ ,  $R$  表示该因素在其取值范围内试验指标的变化幅度。 $R = k_{\max} - k_{\min}$ 。

根据每个因素的极差  $R$  不同,说明各因素对类黄酮的得率均有一定的影响。各因素对长白山野菊花中类黄酮得率影响相关性排列为:微波处理强度>料液比>微波处理时间>提取液浓度;说明在微波法提取长白山野菊花的试验中微波处理强度对类黄酮的得率影响最大,其次为料液比和微波处理时间,对类黄酮得率影响最小的是乙醇的浓度。

根据各试点以外的试验组合的平均得率分析,长白山野菊花中类黄酮提取工艺条件最佳组合为  $A_1 B_3 C_2 D_2$ ,即微波处理时间为 3 min、料液比为 1:25、提取液(乙醇)浓度为 70%、微波处理强度为 600 W。

表 2 正交实验极差分析结果

Table 2 Result of orthogonal test

试验号	因素				得率 /mg·g <sup>-1</sup>
	A 微波处理 时间/min	B 料液比	C 提取液 浓度/%	D 微波处理 强度/W	
1	3	1:15	60	300	53.67
2	3	1:20	70	600	58.35
3	3	1:25	80	900	55.44
4	4	1:15	70	900	48.65
5	4	1:20	80	300	53.25
6	4	1:25	60	600	56.93
7	5	1:15	80	600	53.33
8	5	1:20	60	900	49.36
9	5	1:25	70	300	57.59
$K_1$	167.46	155.65	159.96	164.51	
$K_2$	158.83	160.96	164.59	168.61	
$K_3$	160.28	169.96	162.02	153.45	
$k_1$	55.82	51.88	53.32	54.84	
$k_2$	52.94	53.65	54.86	56.20	
$k_3$	53.43	56.65	54.01	51.15	
$R$	2.88	4.77	1.54	5.05	

### 2.6 验证试验

根据正交实验结果可知,各因素对长白山野菊花中类黄酮得率影响相关性排列为:微波处理强度>料液比>微波处理时间>提取液(乙醇)浓度。通过正交试验确定最佳提取工艺条件为:即微波处理时间为 3 min、料液比为 1:25、提取液(乙醇)浓度为 70%、微波处理强度为 600 W;不在试验组内,因此在此条件下进行 3 次重复试验,类黄酮得率分别为:60.31、59.84、60.19 mg/g,平均值为 60.11 mg/g,根据 3 次重复试验得到的类黄酮得率高于正交实验及单因素试验的每组结果。

### 3 结论

微波提取工艺是一种新型提取工艺技术,可以有效节省提取时间,降低成本;长白山野菊花是药用性很高且来源普遍的植物。该试验采用普通微波炉处理,以水为溶剂进行野菊花中类黄酮的提取后又利用传统索氏提取处理料液,大幅度提高了野菊花中类黄酮的得率。该试验结果表明,长白山野菊花中类黄酮提取的最佳微波提取工艺条件为:微波处理时间为 3 min、野菊花粉末与提取液比为 1:25、提取液乙醇的浓度为 70%、微波处理强度为 600 W。

#### 参考文献

- [1] 陈正雄. 中药黄酮类的研究Ⅷ. 野菊花成分的研究(第一报)[J]. 药学报, 1962(6):370.
- [2] 刁兴彬, 蒋海强. 野菊花黄酮类抗氧化成分的提取工艺研究[J]. 湖北中医学院学报, 2010, 12(6):31-34.
- [3] 朱庆书, 赵文英. 超声提取野菊花总黄酮及其抑菌活性的研究[J]. 化学与生物工程, 2008, 25(12):72-74.
- [4] 翟金兰, 刘忆冬, 马菁, 等. 恰玛古中类黄酮的微波萃取工艺研究[J]. 食品与发酵科技, 2010, 46(3):94-97.
- [5] 蒋雨, 陈安均, 于新, 等. 响应面法优化微波提取野菊花抑菌物质工

艺[J]. 食品科学, 2010, 31(22):59-63.

- [6] 朱飞娥, 田自华, 张子义. 甘草总黄酮微波法提取工艺的研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2008(5):1-2.
- [7] 唐传核, 彭志英. 类黄酮的最新研究进展(Ⅰ)— 抗氧化研究[J]. 中国食品添加剂, 2001(5):12-16.
- [8] 郭振库, 王旭兵. 微波提取技术的研究方向探讨[J]. 材料导报, 2007, 21(11A):28-33.
- [9] 李峰, 金美芳. 微波法提取银杏黄酮甙的新工艺[J]. 食品科学, 2000, 21(2):39-41.
- [10] Cook N C, Sammam S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources (review) [J]. Nutritional Biochemistry, 1996 (7):66-76.
- [11] 陶能国, 张继红, 张妙玲, 等. 微波法提取枸杞中类胡萝卜素的工艺研究 [J]. 湘潭大学自然科学学报, 2008, 30(2):49-51.
- [12] 张熊祿. 微波法从柑桔皮中提取类黄酮[J]. 工艺技术, 2005, 26(3):119-121.
- [13] 李姣娟, 黄克瀛, 龚建良, 等. 微波法提取川桂叶总黄酮工艺条件的研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 128(8):71-75.
- [14] 胡国庆. 微波法提取桑叶黄酮工艺条件的研究[J]. 淮北煤师院学报, 2003, 24(2):32-34.
- [15] 龚建良, 李姣娟, 陈丛瑾. 微波法提取油茶叶总黄酮的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(35):11372-11374.

## Study on Optimum Extraction Technology of Total Flavonoid from *Chrysanthemum indicum* L. Flower in Changbai Mountain by Microwave

WANG Li-jiang, JIANG Yue

(Jinlin Agriculture Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

**Abstract:** Taking *Chrysanthemum indicum* L. in Changbai Mountain as material, the microwave power, treatment time, ratio of solid to liquid, ethanol concentration as factors, the effect of microwave extraction on flavonoid yield was studied by single factor test and orthogonal experiment. The results showed that the optimum conditions of microwave extraction were as follows: the ratio of solid to liquid was 1:25 at 600 W microwave power for 3 min and the concentration of alcohol was 70%.

**Key words:** flavonoid; *Chrysanthemum indicum* L.; microwave extraction; optimum extraction technology

## 野菊花

野菊花为菊科多年生草本植物野菊的头状花序,外形与菊花相似,野生于山坡草地、田边路旁。以色黄无梗、完整、气香、花未全开者为佳。野菊花含可广泛用于治疗疔疮痈肿、咽喉肿痛、风火赤眼、头痛眩晕等病症;同时又有很好的降压作用,可用于高血压病的辅助治疗。野菊花不仅让人悦目,采摘下的菊花还可制成保健茶。每年 10 月底菊花茂盛之时,产于浙江桐乡县和湖州市的杭白菊及产于黄山之巅的黄山贡菊被采摘下来,经过蒸气杀青之后,晒干至含水率 70% 以下,手捻花瓣即成粉碎时,便可备用。还有产于安徽亳州的亳菊、滁州的滁菊、产于四川中江的川菊和产于浙江德清的德菊都有很高的药效,中医认为野菊花有清热解毒之功效,现代临床则广泛用于治疗痈肿疮毒、湿疹、宫颈炎、前列腺炎、肛窦炎等;疏风清热、解毒消肿、疏肝破血;性寒,味甘苦,抗病毒,去风湿,止头痛,明目。清胆热、退肝火、明目、治头痛、感冒、去疔疮;退肝火、治头痛、感冒、去疔疮、润肺气。但野菊花性微寒,常人长期服用或用量过大,可伤脾胃阳气,如出现胃部不适、胃纳欠佳、肠鸣、大便稀烂等胃肠道反应,故脾胃虚寒者及孕妇不宜用。