

微波辅助云南鸡爪花根总黄酮提取工艺研究

李 丽¹, 李 羚¹, 禹 霞¹, 明桂峰²

(1. 保山学院 资源与环境学院, 云南 保山 678000; 2. 保山市第一中学, 云南 保山 678000)

摘 要:以云南鸡爪花根为原料,乙醇溶液为提取剂,采用单因素试验和正交实验相结合方法,研究了料液比、乙醇浓度、微波加热时间及微波加热功率等工艺参数对总黄酮得率的影响。结果表明:鸡爪花根总黄酮的最佳提取工艺为料液比 1:20 g/mL,乙醇浓度 50%,提取时间 60 s,微波功率 350 W,总黄酮平均得率为 2.21%。利用微波辅助法提取鸡爪花根总黄酮类物质,具有简单实用的特点,可大大缩短提取时间,达到省时、节能和高效的目的。

关键词:微波;鸡爪花根;总黄酮

中图分类号:S 681.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)15-0124-04

鸡爪花(*Jasminum duclouxii*)系木犀科素馨属植物丛林素馨,又名鸡爪藤、黑骨头,广泛分布于广西、云南,据云南蒙自等地实物鉴定,其花清香,在云南保山地区被用作花卉植物,资源丰富,根系较为发达,据《中华本草》记载:鸡爪花根有“清热明目,理气止痛,主眼睑肿,腹痛”等功能,云南民间也把其用作活血化瘀的药物。木樨科素馨属植物在中国民间有广泛的药用基础,其化学成分多样,已分离到挥发油、萜类、黄酮和环烯醚萜类成分^[1]。但是,对鸡爪花根相关化学成分提取及药用性能等相关研究目前尚鲜见报道。

黄酮类化合物是中草药的天然成分,具有多种生物功能^[2-3],随着对其功能的逐步认识,其越来越受到相关研究者的青睐。目前,植物黄酮类化合物的提取方法主要有碱溶酸沉法、水或有机溶剂浸取法、酶法、临界法、超声波提取法及微波提取等^[4-9]。史高峰等^[10]将微波辅助萃取用于甘草渣中总黄酮的提取,结果表明,该法比热回流法、超声辅助法提取率高。其中微波提取法为近年发展起来的新技术,因具有节能高效、产物易提纯、选择性强、环境友好等优点,被广泛应用于天然产物提取中^[11-12]。

该试验以云南鸡爪花根为原料,乙醇为提取剂,微波辅助提取总黄酮类化合物,以期探索出一条高效、环境友好的提取鸡爪花根总黄酮类物质的工艺路线,为开

发利用药物鸡爪花根资源提供有效工艺和理论依据,同时引起人们对民间药物鸡爪花根的认识和重视。

1 材料与方法

1.1 试验材料

鸡爪花根采自云南昌宁,清洗,切段,干燥,用旋风式粉碎磨粉碎,过 80 目筛,备用;芦丁为中国药品生物制品鉴定所的优级纯产品,所用试剂亚硝酸钠、氯化铝、氢氧化钠、乙醇等均为国产分析纯试剂;所用水为蒸馏水。

旋风式粉碎磨(杭州麦哲仪器有限公司),MW20-M605 微波炉(广东欧派集团有限公司),电子天平(奥豪斯仪器上海有限公司),722 型光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂制造),2XZ-1 型旋转式真空泵(南京真空泵厂)。

1.2 试验方法

1.2.1 鸡爪花根总黄酮样品液的制备 准确称取鸡爪花根原料 1.000 0 g,按 1:10 比例加石油醚脱脂脱色 2 次,每次 2 h。真空泵抽滤,自然条件下挥干残留的石油醚。加入体积分数为 50% 的乙醇 20 mL,放入微波炉中,在微波功率为 350 W 下进行间歇式微波加热,每提取 10 s 间歇 1 次,冷却后再加热,共加热提取 60 s。然后抽滤并用少量 50% 乙醇洗涤滤渣,取滤液,用体积分数为 50% 的乙醇定容至 50 mL 容量瓶中,得鸡爪花根总黄酮的样品液,避光保存。

1.2.2 单因素试验 选择对鸡爪花根总黄酮得率有影响的 4 个因素,即料液比(A)、乙醇浓度(B)、微波功率(C)和提取时间(D)进行单因素试验。①设定乙醇浓度

第一作者简介:李丽(1982-),女,云南昌宁人,硕士,讲师,研究方向为催化化学。E-mail:lili19820607@126.com.

基金项目:保山学院科研教研基金重点资助项目(13BZ012)。

收稿日期:2015-01-20

体积分数 50%、微波功率 350 W、提取时间 60 s,选择料液体积比 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:40、1:50 g/mL。②设定料液比 1:20 g/mL、微波功率 350 W、提取时间 60 s,分别选择体积分数为 30%、40%、50%、60%、70%的乙醇作为溶剂。③设定乙醇浓度体积分数 50%、料液比 1:20 g/mL、提取时间 60 s,选择 5 种不同微波功率 70、210、350、490、700 W。④设定乙醇浓度体积分数 50%、料液比 1:20 g/mL、微波功率 350 W,选择 5 种提取时间 40、50、60、70、80 s。⑤得到最佳固液比、乙醇浓度、微波功率、提取时间后,按 1.2.1 法进行考察间隔时间对鸡爪花根总黄酮提取的影响,并计算总黄酮得率。

1.2.3 正交实验 为进一步综合考察各因素的相互影响及得出最佳的提取工艺条件,根据单因素试验结果,选择 4 个单因素的较优水平,按 $L_9(3^4)$ 设计进行正交实验,因素和水平如表 1 所示。

表 1 正交实验因素和水平

Table 1 The factors and levels of orthogonal experiment

水平 Level	A 料液比 Solid-liquid ratio /(g·mL ⁻¹)	B 乙醇浓度 Ethanol volume fraction/%	C 微波功率 Microwave power /W	D 提取时间 Microwave irradiation time/s
1	1:15	40	210	40
2	1:20	50	350	50
3	1:25	60	490	60

1.3 项目测定

芦丁标准品溶液的配制:精密称取充分干燥至恒重的芦丁 0.057 2 g,置于 100 mL 容量瓶中,用 50%乙醇溶解并定容到刻度,得到浓度为 0.057 2 g/L 的芦丁标准品溶液。芦丁标准溶液最大吸收波长的测定:精密量取芦丁标准溶液 0.5 mL 于 25 mL 比色管,加 50%乙醇至 12 mL,加入 0.7 mL 5% NaNO_2 溶液,摇匀;放置 5 min 后,加入 0.7 mol 10% AlCl_3 溶液摇匀,放置 6 min 后,再加入 5 mL 4% NaOH 溶液,摇匀;用 50%乙醇稀释至刻度,10 min 后,于 400~600 nm 波长范围内扫描,以空白试剂作参比,在 505 nm 波长处有最大吸收。因此,采用 505 nm 为测定波长。芦丁标准曲线的绘制:分别取上述芦丁标准溶液 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL 于

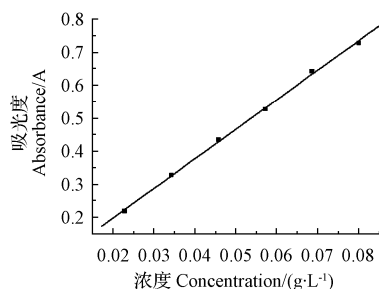


图 1 芦丁标准曲线

Fig. 1 The standard curve of rutin

6 支 25 mL 比色管,加入各种试剂,同时以试剂空白为参比,在波长为 505 nm 处测其吸光度。以浓度 C 对吸光度 A 回归,得回归方程: $A = 8.950\ 58C + 0.020\ 36$, $r = 0.999\ 36$ 。总黄酮含量的测定:准确量取 2.00 mL 样品溶液至于 25 mL 容量瓶中,按绘制标准曲线的方法测定吸光度,对照回归方程得到总黄酮浓度,然后计算出鸡爪花根总黄酮含量。黄酮得率(%)=(提取液中黄酮含量/样品质量)×100。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 料液比对总黄酮得率的影响 由图 2 可知,当料液比较小小时,总黄酮得率随着料液比的增加而增大,其主要原因可能是溶液体积增大时,使得胀破细胞里的黄酮得以充分溶解出来。当料液比超过 1:20 g/mL 时,总黄酮得率逐步下降,这可能是因为:一方面随着溶剂大量的加入,增强了对微波的吸收,则原料对微波的吸收随之减少;另一方面系统温度也随之受到一定影响,研究表明^[12]温度也是影响黄酮提取率的重要因素,因而总黄酮得率随之下降。因此,确定最佳料液比为 1:20 g/mL。

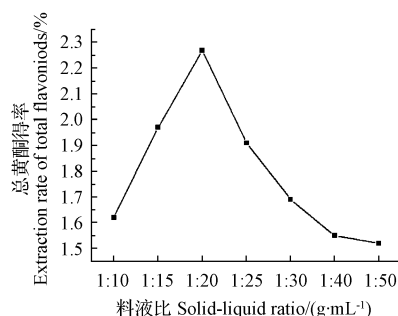


图 2 料液比对总黄酮得率的影响

Fig. 2 The effect of solid-liquid ratio on extraction rate of total flavonoids

2.1.2 乙醇浓度对总黄酮得率的影响 由图 3 可知,当乙醇浓度小于 50%时,随着乙醇浓度的增加,总黄酮得

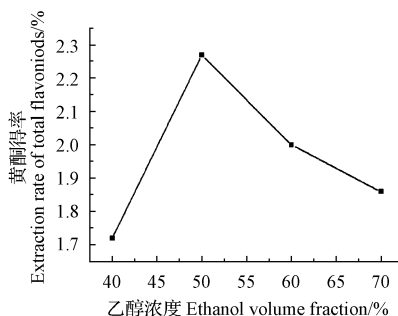


图 3 乙醇浓度对总黄酮得率的影响

Fig. 3 The effect of ethanol volume fraction on extraction rate of total flavonoids

率也增加;当体积分数为 50% 时,得率最高,这可能是因为在一定乙醇浓度范围内,黄酮类物质溶解度随着溶液浓度的增大而增大,当体积分数大于 50% 时,随着乙醇体积分数的增加得率下降;其原因可能有 2 方面:一是乙醇溶液的浓度较大会溶出较多杂质;二是溶剂浓度增大则含水量减少,溶液极性减少,升温速率慢,不利于黄酮提取。因此,确定最佳乙醇体积浓度为 50%。

2.1.3 微波功率对总黄酮得率的影响 由图 4 可知,当微波功率在 70~350 W 时,得率随功率的增大而增大,原因可能是,功率增大加热速率也增大,分子运动、物质渗透、扩散和溶解速度加快,有利于黄酮类物质溶出。当功率超过 350 W 后,得率下降,可能是因为功率较大时,温度高对鸡爪花总黄酮物质产生破坏,溶解出杂质也增多,导致得率下降。试验中还发现,当微波功率较大时溶剂很容易挥发损失,也不利于黄酮的提取。因此,确定最佳微波提取功率为 350 W。

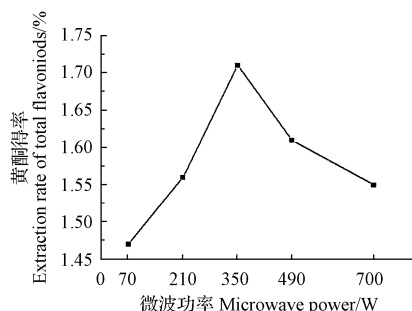


图 4 微波功率对总黄酮得率的影响

Fig. 4 The effect of microwave power on extraction rate of total flavonoids

2.1.4 微波时间对总黄酮得率的影响 由图 5 可知,当提取时间为 60 s 时得率达最大,延长或减少提取时间,都不利于总黄酮的提取,原因可能是加热时间过短时,温度较低,不利于黄酮的提取,而时间过长时产生过高温度,导致黄酮物质分解,而且时间过长,溶剂也可能大量挥发,还会发生暴沸。试验选最佳提取时间为 60 s。

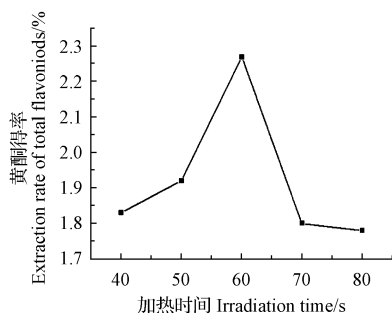


图 5 微波加热时间对总黄酮得率的影响

Fig. 5 The effect of microwave irradiation time on extraction rate of total flavonoids

2.1.5 间隔时间对总黄酮得率的影响 得到最佳固液比、最佳乙醇浓度、最佳微波功率和最佳提取时间后,在其最佳条件下考察间歇时间对总黄酮得率的影响。由图 6 可知,总黄酮得率随间隔时间的增大而减小,原因可能是间隔时间过长时产生过高温度,导致黄酮类物质分解,而且时间过长,溶剂挥发量也随之增大,不利于提取。所以间隔时间取 10 s 为最佳。

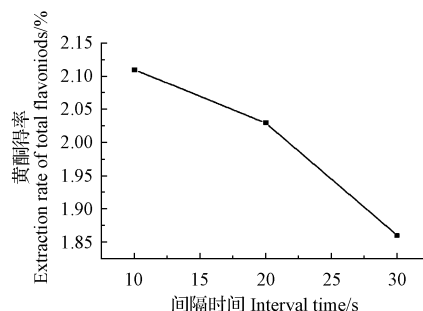


图 6 间隔时间对总黄酮得率的影响

Fig. 6 The effect of microwave irradiation interval time on extraction rate of total flavonoids

2.2 正交实验结果

由表 2 可以看出,对鸡爪花根总黄酮得率的影响大小依次为料液比(A)>微波功率(C)>乙醇浓度(B)>提取时间(D)。微波辅助提取的优化工艺条件是 $A_2B_2C_2D_3$, 即料液比为 1:20 g/mL,乙醇浓度为 50%,提取时间 60 s,微波功率为 350 W。按此工艺条件下进行了 3 次验证试验,总黄酮得率分别为 2.18%、2.19%、2.25%,平均 2.21%。

表 2 正交实验设计及结果分析

Table 2 Results and analysis of orthogonal experiment

试验号 Test No.	因素 Factor				黄酮得率 The rate of total flavonoids /%
	A 料液比 Solid-liquid rate /(g · mL ⁻¹)	B 乙醇浓度 Ethanol volume fraction /%	C 微波功率 Microwave power /W	D 提取时间 Microwave irradiation time /s	
1	1:15	40	210	40	1.68
2	1:15	50	350	50	1.99
3	1:15	60	490	60	1.91
4	1:20	40	350	60	1.95
5	1:20	50	490	40	1.92
6	1:20	60	210	50	1.80
7	1:25	40	490	50	1.62
8	1:25	50	210	60	1.69
9	1:25	60	350	40	1.74
k_1	1.86	1.75	1.72	1.78	
k_2	1.99	1.87	1.89	1.80	
k_3	1.68	1.82	1.82	1.85	
R	0.31	0.12	0.17	0.07	

2.3 对比试验

由表 3 可知,在其它条件相同的情况下,与超声波辅助法相比,微波辅助法大大减少了时间消耗和能量消耗,并且提取得率也有一定提高。故该技术具有一定的优势。

表 3

微波辅助提取与超声波辅助提取比较

Table 3

Comparison of microwave extraction with the ultrasonic technology

方法 Extraction method	乙醇浓度 Ethanol volume fraction/%	料液比 Solid-liquid ratio/(g·mL ⁻¹)	提取时间 Extraction time/s	黄酮得率 Extraction rate of total flavonoids/%
微波辅助法 Microwave assisted method	50	1:20	60	2.21
超声波辅助法 Ultrasonic assisted method	50	1:20	1200	2.11

3 结论

鸡爪花根中总黄酮的微波提取工艺受料液比、乙醇体积分数、微波功率、提取时间和间隔时间的影响,通过单因素试验和正交实验得出了最佳提取工艺条件为料液比 1:20 g/mL,乙醇浓度为 50%,微波功率 350 W,提取时间 60 s,间隔时间为 10 s。此条件下鸡爪花根总黄酮得率为 2.21%。

微波辅助法与超声波辅助法相比,具有方便、省时、节能、提取率高等优点,是一种高效优质的植物总黄酮提取技术。对鸡爪花根的相关研究目前还较少,具有较好的研究意义,比如其化学成分的分析、提取以及其抗氧化、抗菌性能的测试等都有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 赵桂琴,毛晓霞,苏占辉. 素馨花中黄酮苷类化学成分研究[J]. 中国新药杂志,2012,21(7):791-794.
- [2] 刘成海,游海. 天然产物有效成分的分离与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2002.
- [3] 李楠,刘元,侯滨滨,等. 黄酮类化合物的功能特性[J]. 食品研究与开

发,2005,26(6):139-141.

[4] 赵象忠. 天梯山人参果黄酮有机溶剂提取工艺的研究[J]. 中国食物与营养,2014,20(3):47-51.

[5] 刘金香,王水兴,范青生. 碱溶酸沉法提取银杏叶总黄酮[J]. 安徽农业科学,2008,36(26):11386-11388.

[6] 易建华,朱振宝. 响应面优化酶法提取芹菜黄酮工艺研究[J]. 食品科学,2009,30(10):92-96.

[7] 高荫榆,游海,陈琴,等. 蜂胶黄酮类化合物超临界萃取工艺研究[J]. 食品科学,2002,23(8):154-157.

[8] 王丽霞,刘坤. 超声波辅助提取玉米须黄酮工艺[J]. 北方园艺,2014(6):137-139.

[9] 陈伟,刘青梅,杨性民,等. 微波技术在杜仲黄酮提取工艺中的应用研究[J]. 食品科学,2006,27(10):285-288.

[10] 史高峰,邓丽,李永红,等. 微波辅助混合溶剂提取甘草渣中总黄酮的工艺[J]. 食品研究与开发,2011,10(32):42-45.

[11] 周达,罗成,鲁晓翔,等. 玫瑰花总黄酮微波辅助提取及抗氧化性研究[J]. 食品工业科技,2010,4(4):269.

[12] 韩忠明,刘翠晶,胡顺波. 中华苦荬菜总黄酮微波提取工艺研究[J]. 北方园艺,2011(24):207-210.

[13] 龚磊,黄小容,龚其海,等. 微波辅助提取瑞香狼毒总黄酮工艺条件的优化[J]. 郑州大学学报(医学版),2013,48(2):242-244.

Study on Extraction of Total Flavonoids From the Root of *Jasminum duclouxii* by Microwave-Assisted Route

LI Li¹, LI Ling¹, YU Xia¹, MING Guifeng²

(1. Department of Resource and Environment, Baoshan College, Baoshan, Yunnan 678000; 2. The First Middle School of Baoshan, Baoshan, Yunnan 678000)

Abstract: Taking *Jasminum duclouxii* as test materials, the technology of extraction of the total flavonoids from the root of *Jasminum duclouxii* was studied to provide a reference for its further study and utilization, taking the root of *Jasminum duclouxii* as material, and alcohol as extractant, the effect of solid-liquid ratio, ethanol concentration, extracting time and microwave power on the extraction of the total flavonoids from the root of *Jasminum duclouxii* was investigated using the methods of single factor test and orthogonal design test of L₉(3⁴). The results showed that the highest extraction rate (2.21%) of the total flavonoids in the root of *Jasminum duclouxii* could be obtained under conditions of solid-liquid ratio 1:20 g/mL, 50% ethanol, extracting time 60 seconds, microwave power 350 W. The microwave-assisted extraction of flavonoids from *Jasminum duclouxii* was simple and practical, which was time saving, energy conserving and high efficient.

Keywords: microwave; root of *Jasminum duclouxii*; total flavonoids