

# 微波辅助提取苦菜总黄酮的工艺优化

权美平

(渭南师范学院化学与生命科学学院, 陕西渭南 714000)

**摘要:** 用微波辅助提取技术提取苦菜总黄酮, 用亚硝酸钠-硝酸铝比色法测定黄酮含量。微波辅助提取苦菜总黄酮工艺进行研究。通过单因素和正交试验, 探讨了不同因素对乙醇提取苦菜黄酮提取率的影响, 确定了最佳的工艺参数。结果表明: 各因素对微波辅助提取苦菜黄酮提取率的影响程度由大到小为提取时间>料液比>乙醇浓度; 确定了微波处理苦菜总黄酮的最佳方案为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>, 即乙醇浓度 40%, 时间 8min, 料液比 1:30。在此条件下, 微波处理后苦菜黄酮得率可达 19.6 mg/g。

**关键词:** 微波辅助提取; 苦菜; 总黄酮; 提取方法

文章编号: 1673-9078(2013)5-1065-1067

## Optimization of Microwave Assisted Extraction of Total Flavone from *Sonchus oleraceus* L.

QUAN Mei-ping

(College of Chemistry and Life Scienc, Weinan Normal University, Weinan 714000, China)

**Abstract:** A new method for extracting total flavone from *Sonchus oleraceus* L. was developed by microwave assisted extraction and the flavone content was measured with NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> colorimetry. The effects of influential factors on total flavone ethanol concentration were discussed and the parameters were optimized by means of single factor test and orthogonal designed experiments. Results showed that the impact order of the influence factors was extraction time>solid/liquid ratio>ethanol concentration. The obtained optimum conditions for total flavone extraction were ethanol concentration 40%, dealing time 8min and the ration of material to solvent 1:30. The flavone yield under the optimum conditions was 19.6 mg/g.

**Key words:** microwave assisted extraction; *Sonchus oleraceus* L.; total flavone; extraction method

苦菜, 别名山苦菜、苦蕒、苦苣菜(*Sonchus oleraceus* L.)等, 系菊科(Compositae)苦苣属(*Sonchus*) 1~2 年生的草本植物。主要分布在我国东北、西北、华北、华中、华南等地区, 生长于山地草坡、路边及田野间, 资源十分丰富<sup>[1]</sup>。可全草入药, 味苦, 性寒。具有清热解毒, 凉血止血等作用。主治肠炎、痢疾、黄疸、咽喉肿痛、吐血、尿血等症<sup>[2]</sup>。文献报道<sup>[3-4]</sup>苦菜中含有的多种含有大量如黄酮、内酯、萜类、酚酸、多糖、及氨基酸等对人体有益的有效成分, 开发意义十分重大。黄酮类化合物具有抗氧化、抗过敏、抗炎、抗菌、抗突变、抗肿瘤、保肝作用, 保护心脑血管系统和抗病毒以及杀虫等广泛的生理活性, 且毒性较低, 还可以用作食品、化妆品的天然添加剂, 如甜味剂、抗氧化剂、食用色素等<sup>[5]</sup>, 故将苦菜作为黄酮的影响开发资源意义重大。

植物活性成分的提取的效率、质量及安全成为了

一个引人注目的问题, 成为人们关注的中心。因为传统提取植物中活性成分的方法效率低, 耗时、耗溶剂、耗能且其提取过程不安全及产物的活性成分的质量不高(尤其对于热敏性物质), 分离纯化难等造成了一些提取技术上的瓶颈, 以至于丧失了传统中草药的潜在优势。所以, 急需新的有潜力的提取技术来解决这一难题, 近年来微波辅助萃取, 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取及增压溶剂萃取等技术逐渐一期潜在的有点被人们关注。近年来, 微波因促进反应的高效性、强选择性、操作简便、副产物少、产率高及产物易提纯等优点得到了广泛应用<sup>[6-7]</sup>, 可有效提高天然产物活性成份提取效率<sup>[8-9]</sup>。本文以苦菜为原料讨论了微波辅助提取技术在苦菜黄酮中的应用。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料和试剂

苦菜原料: 采自渭南师院土操场。

主要试剂: 卢丁标品: 中国生物制品检定所, 其余所用试剂均为分析纯。

收稿日期: 2013-01-09

项目资助: 陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划项目 (2011JQ4014)

作者简介: 权美平(1978-), 女, 讲师, 从事植物资源开发与利用的研究

1.2 主要仪器与设备

UV-755B 紫外线分光光度计, 上海分析仪器总厂; 恒温水浴锅, 上海爱朗仪器有限公司; DZF-150 恒温鼓风干燥箱, 郑州长城科工贸有限公司; RE-52AA 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; WD700 LG 微波炉, 乐金电子天津电器有限公司。

1.3 试验方法与实验设计

原料处理: 将洗净的苦菜在 40 °C 烘箱干燥 24 h 后, 粉碎过 40 目筛网备用。取 10 g 苦菜粉于干燥的烧杯中, 加入 100 mL 一定浓度乙醇, 静置后放入微波炉(功率为 800 W)。选择一定的辐照时间进行微波照射后, 将样品用冰水浴冷却, 再重复进行照射。最后将样品过滤, 滤渣重复上步骤进行再次微波乙醇提取, 合并两次滤液进行减压蒸馏去除乙醇得到苦菜浓缩液。

本试验主要讨论单因素乙醇浓度、料液比及处理时间和正交试验对苦菜总黄酮提取率的影响。

1.4 实验中主要指标的测定方法

黄酮含量的测定: 亚硝酸钠-硝酸铝络合分光光度法<sup>[10]</sup>。其原理是先用亚硝酸钠还原黄酮, 再加硝酸铝络合生成稳定的红橙色, 然后以芦丁作标准, 于 510 nm 比色定量测定。

标准曲线制备: 将 20mg 芦丁标准品移入小烧杯中, 加 95%乙醇溶解, 100mL 容量瓶中定容, 摇匀, 得 0.200 mg/mL 的芦丁标准液。分别移取 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0mL 的芦丁标准液于 8 个 100 mL 容量瓶中, 各加 1.0 mL 5% 的 NaNO<sub>2</sub> 溶液, 摇匀, 放置 6 min。再各加 1.0 mL 10% 的 Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液, 摇匀放置 6 min。继续加入 10.0 mL 4% 的 NaOH 溶液, 用水稀释到刻度, 放置 10 min。在 510 nm 处测定吸光度, 以浓度(μg/mL)为横坐标, Y 为纵坐标作标准曲线, 芦丁标准曲线回归方程为:  $Y=0.0119X-0.015$  ( $R^2=0.9992$ ), 其中 X 为黄酮浓度(μg/mL), Y 为吸光度。线性关系良好。

样品中黄酮含量测定: 准确移取 1.0 mL 的样品液于 100 mL 容量瓶中, 加 1.0 mL 5% 的 NaNO<sub>2</sub> 溶液, 摇匀, 放置 6 min。再加 1.0 mL 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液, 摇匀, 放置 6 min, 最后加入 10.0 mL 4% 的 NaOH 溶液, 用水稀释到刻度, 放置 10 min。在 510 nm 处测定吸光度。根据标准曲线换算, 计算总黄酮得率。总黄酮得率按下式计算: 总黄酮得率 (mg/g) = (黄酮浓度 × 黄酮溶液体积) / 样品重

2 结果与分析

2.1 芦丁标准曲线

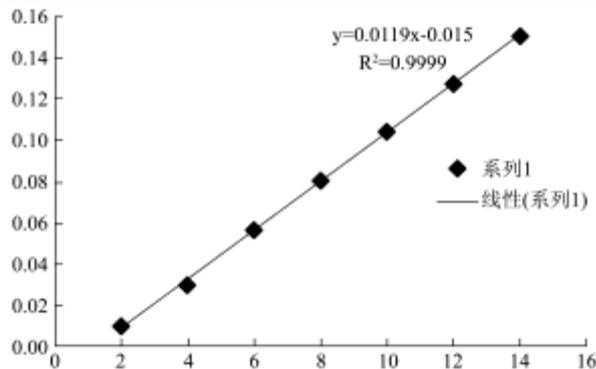


图 1 芦丁的标准曲线

Fig.1 The standard curve of rutin

2.2 单因素试验结果

以乙醇为提取溶剂, 以黄酮提取率为指标, 分别以乙醇浓度 (20%、30%、40%、50%、60%); 微波处理时间 (2 min、4 min、6 min、8 min、10 min); 和料液比 (1:5、1:15、1:25、1:35、1:45、1:55) 为梯度进行试验, 结果见下图。

2.2.1 乙醇浓度对苦菜黄酮提取率的影响

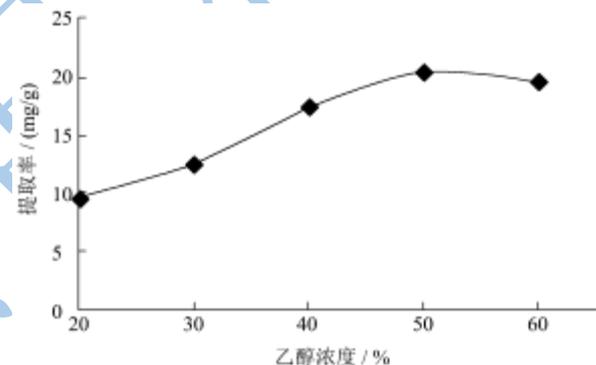


图 2 乙醇浓度对黄酮提取率的影响

Fig.2 Effect of ethanol concentration on flavone extraction efficiency

由图 2 可知, 随着乙醇浓度升高, 苦菜黄酮提取率增加。但当乙醇浓度达到 50%, 再提高浓度, 对黄酮提取率影响不大, 所以选取 50% 为适宜

2.2.2 微波处理时间对苦菜黄酮提取率的影响

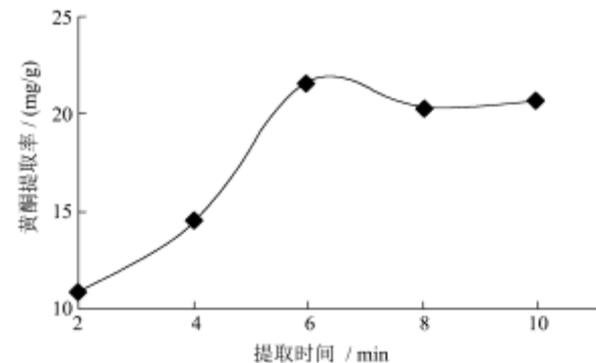


图 3 时间对黄酮提取率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on flavone extraction efficiency

由图 3 可知, 随处理时间延长, 苦菜黄酮提取率增加, 6min 后, 提取率增加变化不明显, 故选取 6 min 为宜。

### 2.2.3 料液比对苦菜黄酮提取率的影响

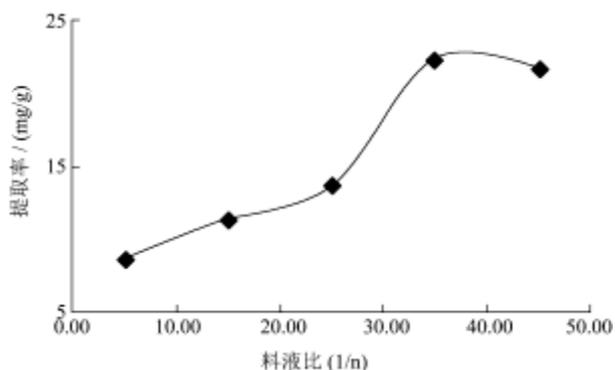


图 4 料液比对黄酮提取率的影响

Fig.4 Effect of solid-liquid ratio on flavone extraction efficiency

由图 4 可知, 随着乙醇用量的增大, 苦菜黄酮提取率增大, 当料液比达到 1:35 时, 提取率基本达到最大, 此后再增加料液比, 提取率增加不明显, 因此确定料液比为 1:35。

### 2.2.2 正交试验结果

表 1 正交试验及结果

Table 1 Orthogonal test and result

试验号	A (乙醇浓度/%)	B (时间/min)	C [料液比/(g/mL)]	D 空列	提取率/(mg/g)
1	1 (40)	1 (4)	1 (1:30)	1	11.3
2	1	2 (6)	2 (1:40)	2	16.8
3	1	3 (8)	3 (1:50)	3	20.2
4	2 (50)	1	2	3	14.8
5	2	2	3	1	21.6
6	2	3	1	2	18.6
7	3 (60)	1	3	2	14.9
8	3	2	1	3	19.5
9	3	3	2	1	20.8
k <sub>1</sub>	16.1	13.667	16.467		17.9
k <sub>2</sub>	18.333	19.3	17.467		16.767
k <sub>3</sub>	18.4	19.867	18.9		18.167
R	2.3	6.2	2.433	1.4	

在以上单因素试验的基础上, 采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)进行正交试验, 各因素水平设置及正交试验结果见表 1。

表 1 的结果表明: 各因素对微波辅助提取苦菜黄酮提取率的影响程度由大到小为 B>C>A, 即依次是提取时间、料液比、乙醇浓度。

正交试验方差分析结果见表 2。

表 2 可知, 因素 B 有显著性差异, 故选取黄酮得率最高水平 B<sub>3</sub>; 因素 A、C 没有显著性差异, 说明乙

醇浓度和料液比在正交设计的范围内对提高黄酮得率无显著性影响, 其水平可根据实际情况进行选择, 因此, 从经济角度考虑, 最后确定微波处理苦菜黄酮的最佳工艺参数是 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>, 即乙醇浓度 40%, 时间 8 min, 料液比 1:30, 正交表中无此项组合, 故以此为条件进行再次试验, 结果为微波提取苦菜黄酮的得率 19.6 mg/g。

表 2 正交试验方差分析表

Table 2 Variance analysis of orthogonal test

因素	偏差平方和	自由度	F 值	Fa 值	显著性
A	10.282	2	3.101	19.000	
B	70.496	2	21.259	19.000	*
C	8.976	2	2.707	19.000	
D	3.316	2	1.000	19.000	
误差	3.32	2			

### 3 讨论

试验选择乙醇为提取剂, 通过单因素试验初步确立乙醇浓度超过 65% 时, 提取液中颜色过深, 将叶绿素也被提取出来从而呈现绿色或墨绿色, 但此色泽影响测定结果, 故选取低于 65% 的乙醇进行。如果操作中颜色还是不理想, 采用 60~80 °C 的石油醚对样品液进行处理再行测定, 使得结果更稳定、可靠。

微波处理可直接作用于分子, 使分子的热运动加剧, 温度升高。微波热效应可穿透到介质内部, 可以快速破坏细胞壁, 具有加热时间短、加热均匀、产品质量好、较易实现自动化控制等一系列优点, 使中草药中的有效成分更快的分离提取出来<sup>[1]</sup>。比传统方法的提取时间大为减少, 效果显著, 本研究的实验结果证实与刘全平<sup>[2]</sup>, 张梦军<sup>[3]</sup>研究结果相一致, 故可探索微波处理技术在植物提取领域方面的应用。

### 4 结论

本实验用亚硝酸钠-硝酸铝比色法测定黄酮含量, 通过单因素和正交试验, 结果表明: 微波处理苦菜黄酮的最佳工艺参数是 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>, 即乙醇浓度 40%, 时间 8 min, 料液比 1:30。在此条件下, 微波处理后苦菜黄酮得率可达 19.6 mg/g。

### 参考文献

[1] 姚玉霞. 苦苣菜、小根蒜营养成分分析[J]. 营养学报, 2003, 25(2):173-174  
 [2] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海出版社, 1986  
 [3] 渠桂荣, 王素贤, 吴立军. 裂叶苣荬菜中化学成分的研究[J].

- 中国中药杂志,1993,18(2):101-102
- [4] 渠桂荣,刘建,王素贤.裂叶苣荬菜黄酮成分的研究[J].中草药,1995,26(5):233-235
- [5] 胡爱军,刘蓉,王一鸣,等.苦菜的护色及其饮料的配方研究[J].现代食品科技,2000,26(10):1111
- [6] 张力学,丁金昌,谷亨杰.微波技术在有机合成中的应用[J].合成化学,1996,10(2):72-74
- [7] Vivekananda Mandal, Yogesh Mohan, S Hemalatha. Microwave Assisted Extraction-An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research [J]. Pharmacognosy Reviews, 2007, 1(1): 7-18
- [8] 曾里,刘世贵.微波技术应用于银杏黄酮浸提的研究[J].四川大学学报,2004,41(4):33-36
- [9] 李嵘,金美芳.微波法提取银杏叶黄酮苷的新工艺[J].食品科学,2000,21(2):39-41
- [10] 黄锁义,黎海妮,余美料,等.益母草总黄酮的提取及鉴别[J].时珍国医国药,2005,16(5):398-399
- [11] Pare J R J, Belanger J M R, Stafford S S. Microwave-Assisted Process (MAPTM): a new tool for the analytical laboratory [J]. Trends in Analytical Chemistry, 1994, 13(4): 176-184
- [12] 刁全平,侯冬岩,回瑞华.辽宁苦菜中总黄酮含量及抗氧化性能分析[J].鞍山师范学院学报,2011,13(2):33-35
- [13] 张梦军,金建锋,李伯玉.微波辅助提取甘草黄酮的研究[J].中成药,2002,24(5):334-336