

不同提取方法对黄芩苷提取率的影响

吴史博 (南阳市质量技术监督检验测试中心, 河南南阳 473000)

摘要 [目的]探讨不同提取方法对黄芩苷提取率的影响。[方法]采用超高压处理,通过不同的提取压力、料液比、压力作用时间和乙醇浓度测定超高压条件下黄芩苷提取率,并与浸提法、煎煮法、回流法和微波法等传统的黄芩苷提取工艺进行比较。[结果]当提取压力为450 MPa、乙醇浓度为40%、压力作用时间为25 min、料液比为1:10时,黄芩苷提取效果达到最佳。[结论]超高压条件下,黄芩苷的提取率明显高于其他几种传统提取方法,这为利用超高压研究黄芩苷的提取提供了依据。

关键词 黄芩苷;提取方法;超高压;提取工艺

中图分类号 S567.23 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)15-0134-03

Effects of Different Extraction Methods on the Extraction Rate of Baicalin

WU Shi-bo (Calibration and Testing Center of the Quality and Technology Supervision Bureau of Nanyang, Nanyang, Henan 473000)

Abstract [Objective] The research aimed to discuss the effects of different extraction methods on the extraction rate of baicalin. [Method] The extraction rate of baicalin under ultra high pressure was determined by different extraction pressure, solid-liquid, pressure action time and ethanol concentration, and compared with the traditional extraction process of baicalin such as solvent extraction, decocting method, reflux method and microwave method. [Result] When the pressure was 450 MPa, the ethanol concentration was 40%, the pressure action time was 25 min and solid-liquid ratio was 1:10, the extraction effect of baicalin was the best. [Conclusion] Under ultra high pressure, the extraction rate of baicalin is significantly higher than that of other extraction methods. It also provides the basis for the study on the extraction rate of baicalin by the method of ultra high pressure.

Key words Baicalin; Extraction method; Ultra high pressure; Extraction process

黄芩苷是从黄芩根中提取分离出来的一种黄酮类化合物,具有抑菌、利尿、抗炎等生物活性,并且具有较强的抗癌反应等生理效能^[1],因此既可用于医药,也可作为良好的功能性美容化妆品原料。目前,从黄芩中提取黄芩苷的方法很多,一般有浸提法^[2-3]、煎煮法^[4]、回流法^[5-6]、超声法^[7]和微波提取法^[8]等,这些常规提取方法存在提取时间长、杂质溶出率高、溶剂倍量多、能耗高等缺点。随着现代科学技术的发展,超高压技术的不断完善,其不仅应用于食品加工中^[9],也广泛应用于中草药有效成分的提取^[10-11]。笔者尝试将超高压技术应用在黄芩苷提取工艺中,通过对压力、料液比、压力作用时间、乙醇浓度等的选择,优选出最佳的提取工艺,并对提取率及含量进行计算。

1 材料与方

1.1 试材 黄芩(购买于中药店);无水乙醇(分析纯,洛阳昊华化学试剂有限公司);黄芩苷标准品(中国药品生物制品检定所)。

1.2 仪器 超高压装置(内蒙古包头文天科技有限公司);分光光度计(上海精密仪器仪表有限公司);旋转蒸发器(上海科兴仪器有限公司);真空干燥箱(南京天煌机械有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 黄芩苷提取工艺。黄芩→粉碎→称量→提取→过滤→滤液浓缩→真空干燥→含量测定。

1.3.2 溶液的配制。

1.3.2.1 黄芩苷标准品溶液的制备。精确称取黄芩苷标准品50 mg,用50%乙醇溶液溶解并定容于100 mL容量瓶中,

配制0.5 mg/mL黄芩苷标液,冰箱4℃保存备用。

1.3.2.2 供试品溶液的制备。精确称取浓缩干燥后得到的黄芩苷粗品50 mg,用50%乙醇溶液溶解并定容于100 mL容量瓶,过滤,弃去最初滤液,吸取续滤液2.5 mL于100 mL容量瓶中,用50%乙醇溶液定容。

1.3.3 标准曲线的绘制。分别吸取标准品溶液0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mL于100 mL容量瓶中,用50%乙醇定容(浓度为2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5、20.0 μg/mL),在278 nm处用紫外可见分光光度计测其吸光度,以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.3.4 传统提取方法对黄芩苷提取率的影响。选择浸提法、煎煮法、回流法和微波法这4种常用的提取方法,考察在粒度40目、料液比1:10、乙醇浓度50%时,各种提取方法的提取效果。

1.3.5 超高压提取对黄芩苷提取率的影响。

1.3.5.1 提取压力对黄芩苷提取率的影响。在室温条件下,当压力作用时间为20 min、乙醇浓度为40%、料液比为1:10时,考察不同提取压力(300、350、400、450、500、550 MPa)对黄芩苷提取率的影响。

1.3.5.2 压力作用时间对黄芩苷提取率的影响。在室温条件下,当提取压力为450 MPa、料液比为1:10、提取溶剂为40%乙醇时,考察不同的压力作用时间(5、10、15、20、25、30 min)对黄芩苷提取率的影响。

1.3.5.3 乙醇浓度对黄芩苷提取率的影响。在室温条件下,当提取压力为450 MPa、压力作用时间为20 min、料液比为1:10时,考察不同的乙醇浓度(30%、40%、45%、50%、55%、60%)对黄芩苷提取率的影响。

1.3.5.4 料液比对黄芩苷提取率的影响。在室温条件下,当提取压力为450 Mpa、压力作用时间为20 min、乙醇浓度为

50% 时,考察不同的料液比(1:6、1:8、1:10、1:12、1:14)对黄芩苷提取率的影响。

1.3.6 黄芩苷样品含量的测定。取不同提取方法得到的黄芩苷粗品,按照“1.3.2.2”方法制备供试品溶液,于 278 nm 波长处测其吸光度,由回归方程计算出对应浓度,并按照下式计算黄芩苷提取率。

$$\text{黄芩苷提取率} = \frac{[\text{对应浓度}(\mu\text{g}/\text{mL}) \times 100 \times 40]}{\text{样品重量}(\text{mg}) \times 100\%}$$

1.3.7 正交试验设计。在单因素试验的基础上,选取对黄芩苷提取效果有显著影响的因素,采用 $L_9(3^4)$ 进行正交试验设计(表 1),考察压力、压力作用时间、乙醇浓度、料液比对黄芩苷提取效果的影响。

表 1 正交试验设计因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal design

水平 Level	因素 Factor			
	A(提取压力 Extraction pressure MPa)	B(压力作用时间 Pressure action time min)	C(乙醇浓度 Ethanol concentration %)	D(料液比 Solid-liquid ratio)
1	400	15	40	1:8
2	450	20	50	1:10
3	500	25	60	1:12

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制 按照“1.3.3”操作,通过对标准品的测定,以浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得出黄芩苷的回归方程为 $Y = 0.202X + 0.004 (r = 0.9992)$,表明黄芩苷在浓度 2.5 ~ 20.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时线性关系良好。

2.2 传统提取方法对黄芩苷提取率的影响 由图 1 可知,回流法与煎煮法的提取率相对较高,分别为 12.7% 和 12.3%;微波法次之,提取率为 9.8%;浸提法提取率最低,仅为 7.6%。

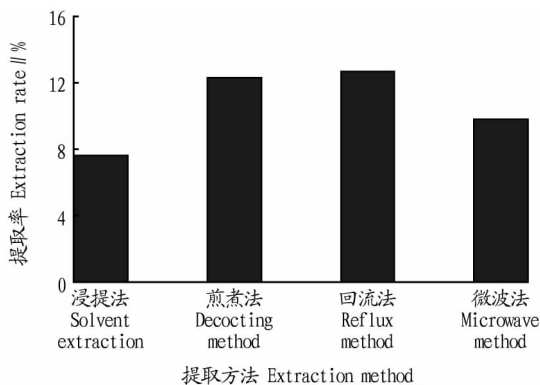


图 1 传统提取方法对黄芩苷提取率的影响

Fig. 1 Effect of traditional extraction method on extraction rate of baicalin

2.3 超高压提取对黄芩苷提取率的影响

2.3.1 提取压力对黄芩苷提取率的影响。从图 2 可以看出,当压力在 300 ~ 450 MPa 时,提取率随压力的升高而显著增大,并在 450 MPa 时达到最大,提取率为 15.6%。随着压力的继续升高,其提取率缓慢下降。因此,最适宜的提取压力是 450 MPa。

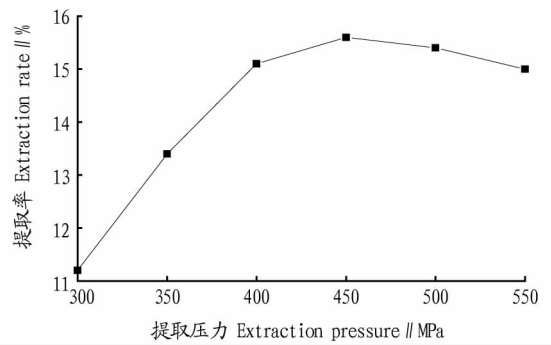


图 2 提取压力对黄芩苷提取率的影响

Fig. 2 Effect of extraction pressure on extraction rate of baicalin

2.3.2 压力作用时间对黄芩苷提取率的影响。从图 3 可以看出,随着压力作用时间的延长,提取率逐渐增大,当压力作用时间为 20 ~ 25 min 时,提取率增至最大,均达 15.3%。在 25 min 之后,提取率随时间的增加有一定程度的下降。因此,最佳的压力作用时间是 25 min。

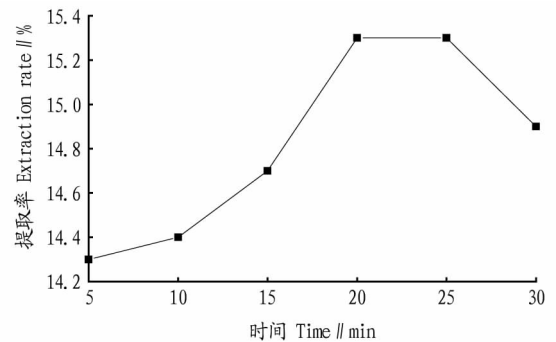


图 3 压力作用时间对黄芩苷提取率的影响

Fig. 3 Effect of pressure action time on extraction rate of baicalin

2.3.3 乙醇浓度对黄芩苷提取率的影响。从图 4 可以看出,乙醇浓度在 30% ~ 55% 时,提取率随乙醇浓度的增加而增大,并在浓度为 50% 时达到最大值。当浓度增加至 55% 时,其提取率不变;继续增加乙醇浓度,黄芩苷的提取率会有明显下降。因此,最适宜的乙醇浓度为 50%。

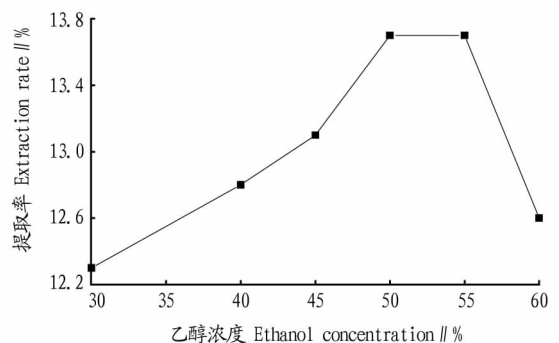


图 4 乙醇浓度对黄芩苷提取率的影响

Fig. 4 Effect of ethanol concentration on extraction rate of baicalin

2.3.4 料液比对黄芩苷提取率的影响。从图 5 可以看出,当料液比为 1:6 ~ 1:10 时,随料液比的减小,黄芩苷提取率逐渐增大,在 1:10 时提取率达到最大;之后,提取率逐渐下

降。因此,最佳的料液比为 1:10。



图5 料液比对黄芩苷提取率的影响

Fig.5 Effect of solid-liquid ratio on extraction rate of baicalin

2.4 正交试验 从表2可以看出,各因素对黄芩苷提取效果的影响从大到小依次为A、C、B、D,即提取压力的影响最大,其次是乙醇浓度和压力作用时间,料液比的影响最小;提取黄芩苷的最佳工艺是 $A_2B_3C_1D_1$,即提取压力为450 MPa、压力作用时间为25 min、乙醇浓度为40%、料液比为1:8。考虑到在主要影响因素相同的情况下,料液比对黄芩苷的影响

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果

Table 2 $L_9(3^4)$ orthogonal test design and results

试验号 No.	A	B	C	D	黄芩苷提取率 Extraction rate of baicalin // %
1	1	1	1	1	12.97
2	1	2	2	2	8.69
3	1	3	3	3	14.18
4	2	1	2	3	13.27
5	2	2	3	1	15.60
6	2	3	1	2	16.43
7	3	1	3	2	12.66
8	3	2	1	3	14.56
9	3	3	2	1	15.03
k_1	11.95	12.97	14.65	14.53	
k_2	15.10	12.95	12.33	12.59	
k_3	14.08	15.21	14.15	14.00	
R	3.15	2.26	2.32	1.94	

效果较弱,而且规模化提取加工的需要,选用 $A_2B_3C_1D_2$ 作为黄芩苷的超高压提取条件,即提取压力为450 MPa、压力作用时间为25 min、乙醇浓度为40%、料液比为(1:10)。

3 结论与讨论

试验结果表明,超高压提取黄芩苷的最佳工艺是提取压力450 MPa、压力作用时间25 min、乙醇浓度40%、料液比1:10。对照黄芩苷的传统提取方法与超高压提取方法可以看出,在传统提取工艺中回流法效果明显,但其提取率(12.7%)明显低于超高压提取方法所得到的提取率(16.43%)。这主要是因为超高压提取技术在萃取过程中,溶剂利用细胞的通透性(或渗透性),快速进入细胞内部,与细胞内的有效成分充分结合,在很短的时间内达到溶解平衡;卸压时以同样的压差冲出细胞,从而达到高效萃取的目的。并且经超高压处理后,蛋白质、淀粉等已经变性,方便了溶液的分离、纯化。

参考文献

- [1] GAO Z H, HUANG K X, YANG X L, et al. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *Biochimica et biophysica acta-General subjects*, 1999, 1472(3): 643-650.
- [2] 王彩芳, 张红岭, 代桂丽, 等. 正交实验优选黄芩中黄芩素提取工艺[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(10): 2509-2510.
- [3] 张红医, 赵书军, 成谦, 等. 中药黄芩苷提取方法的优化[J]. *河北大学学报(自然科学版)*, 2006, 26(4): 390-395.
- [4] 雷泞菲, 彭书明, 周嘉峪, 等. 黄芩中黄芩苷提取工艺的研究[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(11): 2664-2665.
- [5] 李芳, 戴跃玲, 廖克俭. 微波辅助乙醇回流法提取黄芩苷[J]. *辽宁化工*, 2010, 39(1): 8-11.
- [6] 蒋荣珍, 欧阳小光, 黄斌, 等. 星点设计-效应面法优选黄芩提取工艺的研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2009, 16(S1): 33-34.
- [7] 王胜男, 徐源梅, 李红玉. 超声循环提取黄芩中黄芩苷的工艺研究[J]. *中华中医药学刊*, 2008, 26(6): 1332-1334.
- [8] 韩忠明, 郭洪丽, 常波, 等. 黄芩中黄芩苷微波提取工艺研究[J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(12): 2840-2841.
- [9] 刘延奇, 吴史博. 超高压对食品品质的影响[J]. *食品研究与开发*, 2008, 29(3): 137-141.
- [10] 陈瑞战, 张守勤, 刘志强. 超高压技术在中药有效成分提取中的应用[J]. *中草药*, 2007, 38(12): 1905-1908.
- [11] 励建荣, 韩晓洋. 超高压提取桑叶芦丁[J]. *分析化学*, 2008, 36(3): 365-368.

本刊提示 《安徽农业科学》是全国为数不多各大数据库同时收录的农业刊物之一。面向全国,融学术性、指导性于一体,既刊登作物育种与栽培、植物保护、土壤肥料、园艺、林业、蚕桑、烟草、茶叶、畜牧兽医、水产及其他农业相关科学的研究报告、综述、研究简报;也发表农业经济、农业科技管理、农业发展战略及农业产业化等方面的研究论文、调查报告和对策性文章等。

文稿题名下写清作者及其工作单位名称、邮政编码;第一页地脚注明第一作者简介,格式如下:“作者简介:姓名(出生年-),性别,籍贯,学历,职称或职务,研究方向”。

来稿请用国家统一的法定计量单位的名称和符号,不要使用国家已废除了的单位。如面积用 hm^2 (公顷)、 m^2 (平方米),不用亩、尺²等;质量用t(吨)、kg(千克)、mg(毫克),不再用担等;表示浓度的ppm一律改用mg/kg、mg/L或 $\mu L/L$ 。

参考文献只列主要的、公开发表的文献,序号按文中出现先后编排。著录格式(含标点)如下:(1)期刊——作者(不超过3人者全部写出,超过者只写前3位,后加“等”)。文章题名[J]。期刊名,年份,卷(期):起止页码。(2)图书——编著者.书名[M]。版次(第一版不写)。出版地:出版者,出版年:起止页码。(3)论文集——析出文献作者.题名[C]//。主编.论文集名。出版地:出版者,出版年:起止页码。