

翻白草中熊果酸的微波提取工艺研究

陈毅挺,何雷玉,陈卫华,黄 露,张于驰,林 棋

(闽江学院 化学与化学工程系,福建 福州 350108)

摘 要: 采用单因素实验与正交实验法结合,以提取剂浓度、固液比、微波功率、微波提取时间为考察因素,以熊果酸提取率作为评价指标,优化了熊果酸的微波提取工艺. 最优微波提取条件为:90% 乙醇作为提取剂、料液比 1:20 g/mL、微波功率 250 W、微波提取时间 120 s.

关键词: 翻白草;熊果酸;微波提取

中图分类号: O657.36

文献标识码: A

文章编号: 1006-3757(2012)01-0019-05

翻白草 (*Potentilla discolor*), 又名鸡腿儿、天藕儿、独脚草等. 全草中含有黄酮、生物碱、萜类等化合物, 具有降血糖、治疗肺热咳嗽、泻痢、咳血、便血、崩漏等功效, 近年来其药用价值不断为人们所发现^[1-3]. 熊果酸又名乌索酸、乌苏酸, 属三萜类化合物 (分子结构式见图 1), 在自然界中分布很广, 具有镇静、抗氧化、抗炎、抗菌、抗糖尿病、抗溃疡、提高机体免疫功能等多种生物效应, 因而被广泛地用作医药和化妆品原料. 目前, 中药材中熊果酸的提取方式有多种, 如回流提取法^[4, 5]、渗漉法^[6]、超临界流体提取法^[7]、超声波提取法^[8, 9]、沉淀吸附法^[10]、微波提取法^[11] 等. 其中微波提取技术 (Microwave-assisted extraction, MAE) 是近年来发展较快的一种利用微波能来提高提取率的技术^[12-15], 该方法提取效率高, 所耗时间短. 本研究即利用微波提取技术, 讨论并建立翻白草中熊果酸的微波提取工艺.

1 仪器与试剂

常压微波合成萃取仪 (MCR-35, 巩义市予华仪器有限公司); 分析用研磨机 (IKA-A11 basic, 德国 IKA 公司); 电热恒温鼓风干燥箱 (DHG-9140A, 上海中友仪器设备有限公司); 电子分析天平 (BS-214D, 北京赛多利斯仪器系统有限公司); 循环水式

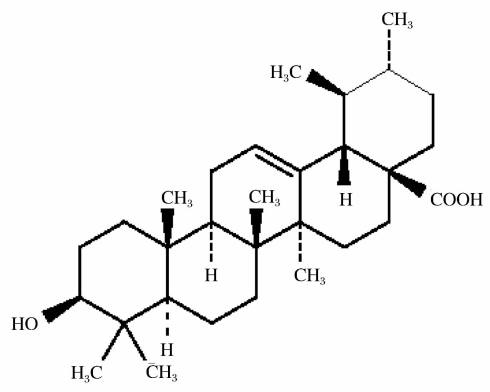


图 1 熊果酸结构式
Fig.1 Chemical structure of ursolic acid

真空泵 (SHZ-D(Ⅲ), 巩义市予华仪器有限公司); 智能数显恒温水浴锅 (HH-4, 巩义市予华仪器有限公司); 可见分光光度计 (721 型, 上海宇隆仪器有限公司); 傅里叶红外光谱仪 (FTIR-8400S, 日本岛津公司).

翻白草 (干燥全草), 购自福建省源盛医药有限公司; 熊果酸对照品, 购自中国食品药品检定研究院. 醋酸乙酯、冰乙酸、甲醇购自上海久亿化学试剂有限公司; 石油醚、无水乙醇、丙酮购自天津市福晨化学试剂厂; 高氯酸、香草醛购自广东汕头新宇化工厂; 所用

化学试剂均为分析纯;实验用水均为去离子水。

2 实验方法

2.1 翻白草的预处理

翻白草用水清洗干净,于 30℃ 恒温干燥。使用研磨机充分粉碎后,搅拌混匀,置于塑料容器内密封待用。

2.2 翻白草中熊果酸的提取

取 2 g 翻白草粉末,按一定固液比加入适量的提取剂,置于微波合成萃取仪中,控制适当的微波功率进行微波提取。将提取液抽滤、减压蒸干后,得到黄绿色浸膏。加石油醚浸提 3 次,每次时间 15 min。除杂后浸膏加入 20 mL 无水乙醇,并用适量的 NaOH 溶液调节 pH 为 8~9,抽滤。所得滤液用适量的活性炭粉末在 80℃ 下回流 30 min,过滤。将滤液的 pH 通过稀盐酸调节至 3~4,用 20 mL 的乙酸乙酯萃取,取上层液蒸干。利用比色法确定其中熊果酸的含量,以考察提取剂浓度、固液比、微波功率、微波提取时间对提取效果的影响。

3 结果与讨论

3.1 最大吸收波长及标准曲线的绘制

精确称取熊果酸标准品 10 mg,溶解于无水乙醇中,再定容至 100 mL 的容量瓶中,得到熊果酸的储备液。准确吸取 1 mL 储备液于 10 mL 的容量瓶中,70℃ 水浴加热挥去溶剂,加入 0.4 mL 5% 香草醛—冰醋酸溶液以及 1.6 mL 高氯酸,在 70℃ 水浴中加热 15 min 后,用冰水冷却 2 min,用冰醋酸定容至刻度,摇匀,以随行试剂作参比,于波长 400~800 nm 处扫描溶液的吸收信号(见图 2),得到其最大吸收波长为 548 nm。

配制一系列熊果酸的标准溶液,按以上显色方法,测定 548 nm 处的吸光度,绘制标准曲线,求得回归方程为: $A = 0.0341C - 0.0827$, $r = 0.9964$ 。

3.2 提取物的红外检测

将所得提取物经红外光谱仪检测,所得谱图如图 3 所示。由图中可见,提取物的红外光谱图中具有羟基强峰 3413.77、2927.74 cm^{-1} ; 羧酸羰基 1689.53 cm^{-1} 及熊果酸型化合物的特征吸收峰。

3.3 单因素实验

3.3.1 提取溶剂的选择

使翻白草与提取溶剂的固液比为 1:20、提取温度为 60℃,提取时间为 10 min,分别用甲醇、乙醇、

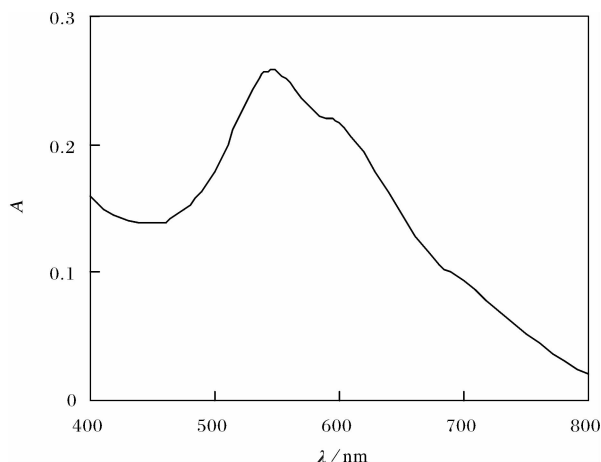


图 2 熊果酸的吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectra of ursolic acid

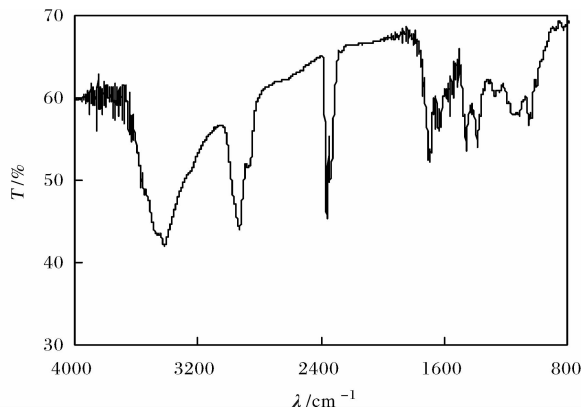


图 3 提取物的红外光谱

Fig. 3 Infrared spectrum of extract

乙酸乙酯、丙酮、氯仿作溶剂提取熊果酸,结果发现乙酸乙酯、甲醇和乙醇的提取率较高,丙酮和氯仿相对较低。从经济、安全、环保的角度,选择乙醇作为提取溶剂。

3.3.2 乙醇浓度的选择

固定固液比为 1:20、提取温度为 60℃、提取时间为 10 min,选取乙醇的浓度分别为 60%、70%、80%、90%、95%,考察乙醇浓度对提取效果的影响。结果如图 4。

由图 4 可知,熊果酸的提取率随着乙醇浓度的升高而增大,当乙醇浓度升高到 90% 后趋于平稳,从提取效果和节约成本的角度出发,选择 90% 乙醇作提取溶剂。

3.3.3 微波提取的条件选择

本研究中所使用的微波萃取仪有 2 种施加微波

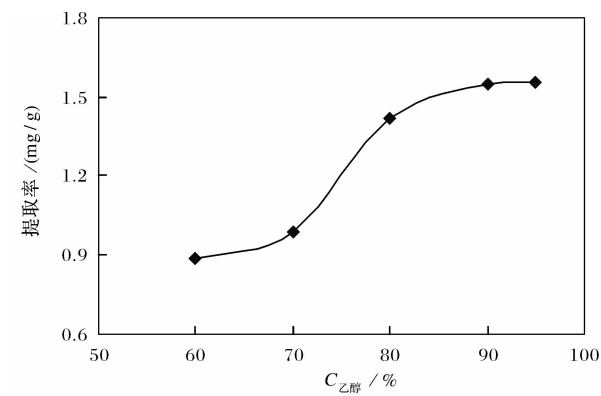


图 4 提取率与乙醇浓度的关系

Fig. 4 Relationship of extraction rate and ethanol concentration

的模式,一种是控制温度进行提取,此时维持溶液温度不变,而微波功率是不停变化的;另一种是控制微波功率进行提取,此时保持微波功率不变,而溶液的温度是在不停升高的。为获得效率高,成本低的提取效果,我们对这 2 种微波施加模式都进行了尝试。

3.3.3.1 微波提取的温度选择

固定乙醇浓度为 90%、固液比为 1:20、提取时间为 10 min,改变提取温度分别为 40、50、60、70、80℃,结果如图 5 所示。

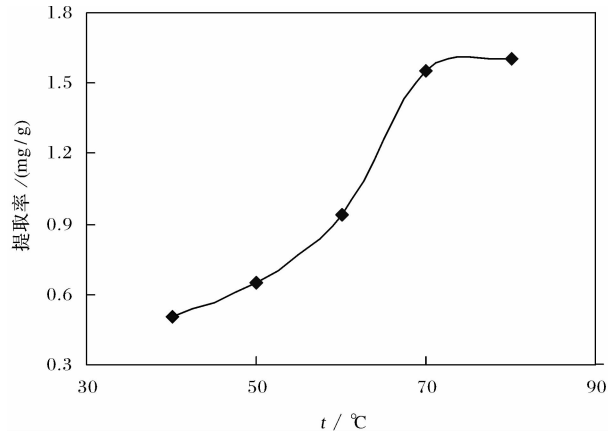


图 5 提取率与温度的关系

Fig. 5 Relationship of extraction rate and temperature

由图 5 可知提取率随温度的上升而提高,当温度到达 70℃后提取率趋于稳定。可能是由于温度越高使翻白草内部细胞破碎更剧烈,这更有利于熊果酸的提取,当温度达到 70℃,熊果酸的提取趋于饱和。故实验过程中应选择为 70℃。

固定乙醇浓度为 90%、固液比为 1:20、提取温度恒定为 70℃,考察微波提取时间对提取效果的影响。

提取时间分别为 3、5、10、12、15 min,结果如图 6 所示。

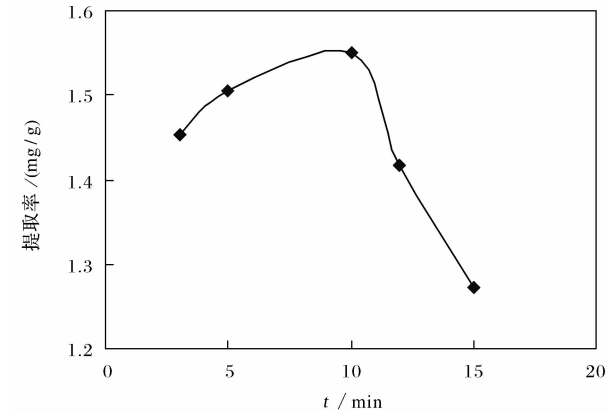


图 6 温度为 70℃时提取率与时间的关系

Fig. 6 Relationship of extraction rate and extraction time at 70℃

由图 6 可看出,随着提取时间的增加,提取率随之增大,当提取时间为 10 min 时提取率达到最大值,此后随时间的增加而减小。这可能是由于随着时间的增加,熊果酸出现分解的现象,从而使提取率下降。因此温度控制下微波时间应选择 10 min 为宜。

3.3.3.2 微波提取功率的选择

固定乙醇浓度为 90%、固液比为 1:20、提取时间 120 s、改变微波功率分别为 120、190、250、320、380 W,结果如图 7。

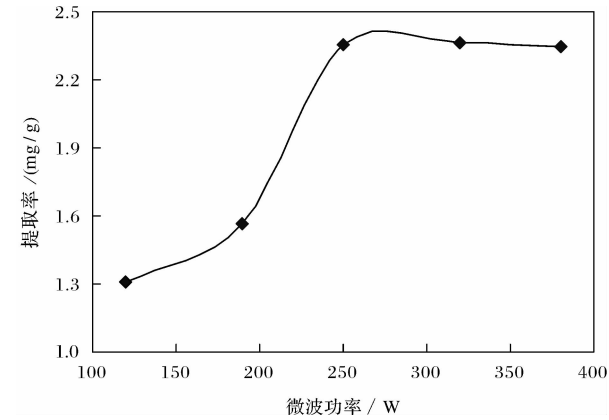


图 7 提取率与微波功率的关系

Fig. 7 Relationship of extraction rate and microwave power

由图 7 可知,提取率随着微波功率的增大而增大,但增大到一定程度后出现下降的趋势。这是因为微波功率越高,浸提物吸收微波能越多,强化了固液间的传质作用,因此提取率越高,但同时高功率微

波的持续施加使得体系的温度急剧升高,当温度升高到一定程度时,可能会导致部分熊果酸分解,反而使提取率出现轻微的下降. 因此选择微波功率为 250 W.

此后,固定乙醇浓度为 90%、固液比为 1:20、微波功率恒定为 250 W,提取时间分别为 30、60、90、120、150 s 时,结果如图 8.

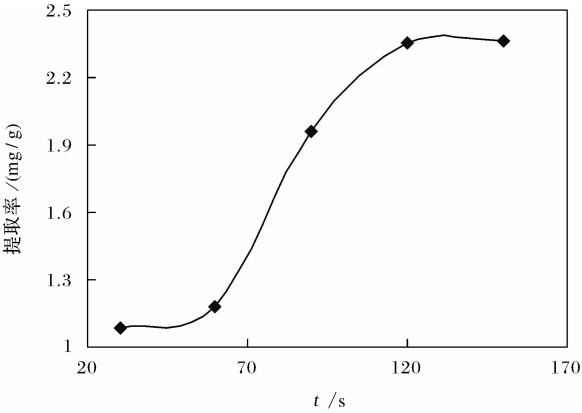


图 8 微波功率为 250 W 时提取率与时间的关系
Fig.8 Relationship of extraction rate and extraction time with 250 W

由图 8 可知,在恒定微波的持续施加下,提取率随时间的增多而增大,当时间到达 120 s 后提取率没有明显的上升.

2 种提取模式相比较,微波功率控制模式可获得更高的提取率(得率提高了近 50 %),更短的时间(从 10 min 缩短为 2 min). 这估计是由于温度控制模式下,微波的作用是不连续的,物系得不到持续的微波能,不利于熊果酸的提取. 而在微波功率控制下,微波的持续施加更有利于熊果酸的提取.

3.3.4 固液比的选择

固定乙醇浓度为 90 %、微波功率为 250 W、提取时间 120 s,改变固液比分别为 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25,结果如图 9.

由图 9 可知,随着溶剂量的增大,提取率呈现增大的趋势,当固液比增大到 1:20 时,提取率的升高开始变缓,故为了避免资源的浪费,实验选取固液比为 1:20.

3.4 正交实验

在单因素实验的基础上,以熊果酸的得率为指标,设计了四因素三水平的正交表,选取微波提取时间、固液比、微波功率为前 3 个因素,第 4 个因素作为误差项,实验得到的数据如表 1 所示.

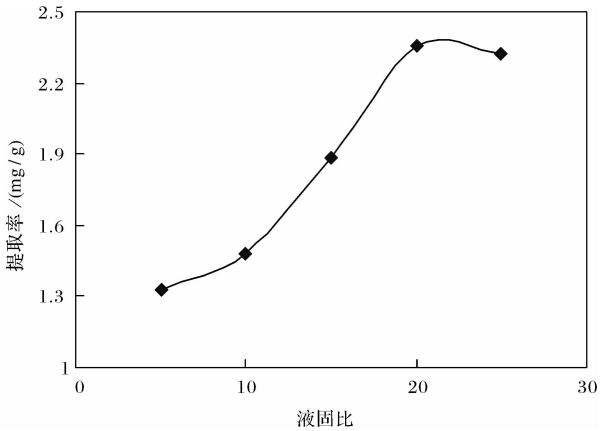


图 9 提取率与液固比的关系
Fig.9 Relationship of extraction rate and liquid - solid ratio

表 1 正交水平表及实验结果

Table 1 Orthogonal table and results of orthogonal tests					
因素	时间 /s	固液比	微波功率 /W	误差项	得率 / (mg/g)
实验 1	90	1: 15	180		1.036
实验 2	90	1: 20	250		1.963
实验 3	90	1: 25	320		1.792
实验 4	120	1: 15	250		1.930
实验 5	120	1: 20	320		2.342
实验 6	120	1:25	180		1.841
实验 7	150	1: 15	320		1.935
实验 8	150	1: 20	180		1.799
实验 9	150	1: 25	250		2.210
均值 1	1.597	1.634	1.559	1.863	
均值 2	2.038	2.035	2.034	1.917	
均值 3	1.981	1.948	2.023	1.840	
极 差	0.441	0.401	0.475	0.073	
F 值	43.125	33.375	55.250	1.000	

由表 1 中极差值可知 3 个因素影响熊果酸提取率的主次关系是:微波功率>微波提取时间>固液比;方差分析结果表明,微波提取时间、固液比、微波功率这 3 个因素的影响都有显著性意义($P < 0.05$). 最佳组合是:提取时间 120 s、固液比 1:20、微波功率 250 W,这与单因素实验的结果正好吻合,在此最佳条件下的提取率为 2.355 mg/g.

3.5 翻白草根茎叶中熊果酸含量的比较

由于在植物的不同部位,熊果酸的含量并不相同,因此在以上得到的最优条件下,分别对翻白草的

根、茎与叶中的熊果酸进行了提取,结果发现翻白草各部位中熊果酸的提取率不等,其中根、茎、叶中熊果酸含量分别为 2.118、0.930、2.664 mg/g。叶中熊果酸的含量最大,这可能与熊果酸在翻白草中的合成、运输、积累有关^[16],因此在提取翻白草中的熊果酸时应当注意叶部的利用。

4 结论

通过单因素实验以及正交实验相结合,优化了微波提取翻白草中熊果酸的工艺条件,其最佳的工艺条件是:90%乙醇为提取溶剂,固液比 1:20,微波功率 250 W,提取时间 120 s。

微波功率控制的提取模式相比较于温度控制的提取模式,提取率更高,提取时间更短,因此,采用该模式可节约生产成本。

在最优提取条件下,对翻白草不同部位中的熊果酸含量进行了比较,发现叶中熊果酸的含量最高,其次是根和茎,这对于更高效、合理的利用翻白草具有一定的指导作用。

参考文献:

- [1] Jin Q, Nan J X, Lian L H. Antitumor activity of leaves from *Potentilla discolor* on human hepatocellular carcinoma cell line HepG-2[J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2011, 9(1): 61-64.
- [2] 孙海峰,杨婷,郭冷秋,等.翻白草降糖作用有效部位的研究[J]. *植物研究*, 2010, 30(3): 360-364.
- [3] 马瑛,温少珍.翻白草治疗 II 型糖尿病 50 例疗效观察[J]. *中草药*, 2002, 33(7): 644.
- [4] 王建明,马灵,刘春风.山楂中熊果酸的提取纯化工艺考察[J]. *中国药师*, 2011, 14(1): 52-54.

- [5] 李钊,王亚楠,万梓龙,等.山楂中熊果酸与齐墩果酸提取和纯化工艺的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(7): 141-144.
- [6] 罗宪堂,陈丽华,李昶.山香圆含片的制备工艺研究[J]. *中成药*, 2003, 25(4): 276-278.
- [7] 蒋盛岩,赵良忠,余有贵,等.夏枯草叶熊果酸超临界流体萃取工艺的研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(11): 294-297.
- [8] 冷桂华. RP-HPLC 测定烧仙草不同部位中的齐墩果酸和熊果酸[J]. *光谱实验室*, 2011, 28(4): 2111-2114.
- [9] 李大伟,毕良武,赵振东,等.迷迭香叶中鼠尾草酸超声波辅助提取的优化[J]. *林产化学与工业*, 2011, 31(3): 60-64.
- [10] 任秀莲,魏琦峰,周春山,等.沉淀吸附法提取苦丁茶中的熊果酸[J]. *中南大学学报(自然科学版)*, 2004, 35(4): 599-603.
- [11] 喻苏青,陈凯,娄家豪,等.正交设计优化山茱萸总苷的微波提取工艺[J]. *浙江工业大学学报*, 2011, 39(4): 403-406.
- [12] 马长雨,杨悦武,祝国光,等.微波萃取在中药提取和分析中的应用[J]. *中草药*, 2004, 35(11): 附 8-10.
- [13] 傅荣杰,冯怡.微波萃取技术在中药及天然产物提取中的应用[J]. *中国中药杂志*, 2003, 28(9): 804-807.
- [14] 黄旭初,侯娟,张建军,等.金银花中绿原酸的微波预处理提取及检测[J]. *分析测试技术与仪器*, 2008, 14(1): 14-18.
- [15] 汪艳娟,朱倩倩,叶蕪芝,等.微波提取龙须藤多糖的最佳条件研究[J]. *分析测试技术与仪器*, 2011, 17(2): 92-96.
- [16] 邹俊利.翻白草的研究进展[J]. *黑龙江医药科学*, 2006, 29(4): 104-105.

Microwave-assisted Extraction of Ursolic Acid in *Potentilla Discolor*

CHEN Yi-ting, HE Lei-yu, CHEN Wei-hua, HUANG Lu, ZHANG Yu-chi, LIN Qi

(Chemistry and Chemical Engineering Department of Minjiang University, Fuzhou 350108, China)

Abstract: The single factor experiment and orthogonal experiment were used to optimize the process, using extractant concentration, solid-liquid ratio, microwave power and extraction time as the investigation factors, and the extraction rate of ursolic acid in *Potentilla discolor* as the assessment index. The optimum conditions for the process were as follows: 90% ethanol was used as the extractant, the ratio of raw material to extractant was 1:20, and the extraction time was 120 s at a microwave power level of 250 W.

Key words: *Potentilla discolor*; ursolic acid; microwave extraction

Classifying number: O657.36

