

# 表面活性剂协同微波提取金荞麦总黄酮的工艺优选

李沙, 蒋闪闪, 姜英红, 张倩, 阮洪生\*

(黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319)

**[摘要]** 目的:优化金荞麦中总黄酮的提取工艺。方法:以微波功率、十二烷基硫酸钠质量分数、料液比和微波辐射时间为自变量,总黄酮提取量为因变量,通过对自变量各水平的多元线性回归,采用星点设计-响应面法优选提取工艺并进行预测分析。结果:最佳工艺条件为微波频率 175 W,十二烷基硫酸钠质量分数 1.28%,料液比 1:21 g·mL<sup>-1</sup>,微波辐射时间 3.6 min;金荞麦中总黄酮提取量达 1.06 mg·g<sup>-1</sup>,与热回流法、微波法、超声法相比,总黄酮提取量分别提高了 35%,14%,21%。结论:该工艺简便可行,具有省时节能、提取率高等优点,适用于金荞麦总黄酮的提取。

**[关键词]** 表面活性剂;微波提取工艺;金荞麦;总黄酮;星点设计-效应面法

**[中图分类号]** R283.6;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)09-0019-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014090019

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000047.html>

**[网络出版时间]** 2014-02-25 11:25

## Optimization of Surfactant Assisted Microwave Extraction Technology of Total Flavonoids from *Fagopyri Dibotryis Rhizoma*

Li Sha, JIANG Shan-shan, JIANG Ying-hong, ZHANG Qian, RUAN Hong-sheng\*

(College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize surfactant assisted microwave extraction process of total flavonoids from *Fagopyri Dibotryis Rhizoma*. **Method:** Taking microwave power, the concentration of sodium dodecyl sulfate (SDS), solid to liquid ratio and microwave extraction time as independent variables, extraction amount of total flavonoids as dependent variable, linear or nonlinear mathematic models were used to estimate relationship between independent variables and dependent variable, central composite design-response surface methodology were adopted to optimize extraction process, and prediction was carried out through comparing the observed and predicted values. **Result:** Optimum extraction conditions were as follows: microwave power 175 W, the concentration of SDS 1.28%, solid-liquid ratio of 1:21 g·mL<sup>-1</sup>, microwave extraction time of 3.6 min; Under these conditions, yield of total flavonoids could reach 1.06 mg·g<sup>-1</sup>. Compared with thermal reflux method, microwave method and ultrasonic method, extraction amount of total flavonoids with surfactant assisted microwave extraction process could increased 35%, 14% and 21%, respectively. **Conclusion:** Optimized process was simple and feasible, it had advantages of energy-saving, time-saving and high extracting rate, which could be used for extraction of total flavonoids from *Fagopyri Dibotryis Rhizoma*.

**[Key words]** surfactant; microwave extraction technology; *Fagopyri Dibotryis Rhizoma*; total flavonoids; central composite design-response surface methodology

**[收稿日期]** 20130823(015)

**[基金项目]** 黑龙江省教育厅面上项目(12511370);黑龙江八一农垦大学大学生创新创业训练计划项目(201230A)

**[第一作者]** 李沙, 学士, 从事制药工程研究, Tel:13936957189, E-mail:461601139@qq.com

**[通讯作者]** \*阮洪生, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药制剂、新药开发及药效物质基础研究, Tel:0459-6819132, E-mail:360535646@qq.com

金荞麦具有清热解毒、排脓祛瘀的功效, 临床治疗肺痈吐脓、肺热喘咳、乳蛾肿痛等证<sup>[1]</sup>, 主要活性成分为原矢车菊素、槲皮素、表儿茶素-3-没食子酸酯等黄酮类化合物<sup>[2]</sup>。药理研究表明金荞麦总黄酮具有抗癌、抑制肿瘤细胞肺侵袭和转移、扩张血管、降低胆固醇、抑菌和杀菌等生物活性<sup>[2-3]</sup>。目前, 金荞麦总黄酮的提取方法主要采用乙醇回流法<sup>[4]</sup>, 该法存在提取时间长、能耗大等缺点。微波法具有提取时间短、提取率高、能耗低等优点, 已广泛应用于中药药效成分的提取<sup>[5]</sup>。表面活性剂通过降低固-液相的界面张力, 增加药效成分的溶解渗出能力, 已成为提取天然产物活性成分的辅助溶剂<sup>[6]</sup>。本实验以总黄酮提取量为指标, 采用表面活性剂与微波萃取法提取金荞麦中总黄酮, 通过星点设计-效应面法优选提取工艺, 为金荞麦资源的深度开发利用提供参考。

## 1 材料

CW-2000 型超声微波协同萃取仪(上海新拓微波溶样测试技术有限公司), TU-1800 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), FA2004N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。金荞麦药材由黑龙江康麦斯药业有限公司提供, 经黑龙江八一农垦大学孙跃春副教授鉴定为蓼科植物金荞麦 *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara 的干燥根茎; 芦丁对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 100080-200707), 十二烷基硫酸钠(SDS, 上海凌峰化学试剂有限公司), 水为去离子水, 试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 总黄酮的含量测定<sup>[7]</sup>

**2.1.1 标准曲线绘制** 精密称取干燥至恒重的芦丁对照品 12 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加 30% 乙醇溶解并稀释至刻度, 作为储备液。精密吸取储备液 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 加 5% 亚硝酸钠溶液 1.0 mL, 摇匀放置 6 min; 加 10% 硝酸铝溶液 1 mL, 放置 6 min; 加 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液 10 mL, 加 30% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 放置 15 min, 以相应试剂为空白, 于 500 nm 处测定吸光度(A)。以质量浓度(C)为横坐标, A 为纵坐标, 得回归方程  $A = 0.0147C - 0.0003$  ( $r = 0.9994$ ), 结果表明芦丁质量浓度在 0.0048 ~ 0.0288 g·L<sup>-1</sup> 与 A 呈良好线性关系。方法学试验表明精密度、重复性和稳定性均良好。

**2.1.2 金荞麦总黄酮的提取** 精确称取已通过 3

号筛的金荞麦粉末 5 g, 置于 250 mL 锥形瓶中, 加入一定体积水和一定质量分数的表面活性剂, 在超声-微波协同萃取仪中进行常压提取, 抽滤, 取续滤液作为供试品溶液。精密吸取适量供试品溶液置于 25 mL 量瓶中, 按 2.1.1 项下方法测定 A, 根据标准曲线计算样品中总黄酮含量。

### 2.2 提取工艺优选

**2.2.1 星点试验设计** 在单因素试验基础上, 选取对总黄酮提取率影响较显著的 4 个因素即微波功率、SDS 质量分数、料液比和微波辐射时间为考察对象, 每个因素确定 5 个水平, 共 29 个试验点。29 个试验点分为两类: 一类为析因点, 自变量取值在各因素所构成的三维顶点, 共有 24 个; 另一类是零点, 为区域的中心点, 零点试验重复 5 次, 用以估计试验误差。以总黄酮提取量为评价指标, 采用星点试验安排提取条件, 因素水平编码见表 1, 试验安排和结果见表 2。

表 1 金荞麦中总黄酮提取工艺星点试验因素水平

水平	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>
	微波功率 /W	SDS 质量 分数/%	料液比 /g·mL <sup>-1</sup>	微波辐射 时间/min
-1.682	150	0.5	1:10	1
-1	170	0.8	1:14	1.8
0	200	1	1:20	3
1	230	1.7	1:26	4.2
1.682	250	2	1:30	5

表 2 金荞麦中总黄酮提取工艺星点试验安排(n=3)

No.	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	总黄酮提取量/mg·g <sup>-1</sup>	
					试验值	预测值
1	-1	-1	-1	-1	0.378	0.352
2	1	-1	-1	-1	0.398	0.465
3	-1	1	-1	-1	0.399	0.449
4	1	1	-1	-1	0.762	0.701
5	-1	-1	1	-1	0.816	0.789
6	1	-1	1	-1	0.866	0.766
7	-1	1	1	-1	0.715	0.715
8	1	1	1	-1	0.789	0.829
9	-1	-1	-1	1	0.373	0.387
10	1	-1	-1	1	0.624	0.577
11	-1	1	-1	1	0.567	0.620
12	1	1	-1	1	0.868	0.949
13	-1	-1	1	1	0.729	0.743
14	1	-1	1	1	0.793	0.797

续表

No.	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	总黄酮提取量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	
					试验值	预测值
15	-1	1	1	1	0.817	0.804
16	1	1	1	1	1.018	0.997
17	-1.682	0	0	0	0.769	0.733
18	1.682	0	0	0	0.961	0.987
19	0	-1.682	0	0	0.596	0.661
20	0	1.682	0	0	0.982	0.908
21	0	0	-1.682	0	0.634	0.559
22	0	0	1.682	0	0.897	0.963
23	0	0	0	-1.682	0.628	0.666
24	0	0	0	1.682	0.881	0.834
25	0	0	0	0	1.023	1.025
26	0	0	0	0	1.029	1.025
27	0	0	0	0	1.027	1.025
28	0	0	0	0	1.011	1.025
29	0	0	0	0	1.025	1.025

**2.2.2 模型的建立及显著性检验** 运用 Design-Expert 7.0.0 软件对表 2 数据进行二次多元回归拟合,得回归方程  $Y = 1.03 + 0.076X_1 + 0.074X_2 + 0.12X_3 + 0.05X_4 + 0.035X_1X_2 - 0.034X_1X_3 + 0.019X_1X_4 - 0.043X_2X_3 + 0.034X_2X_4 - 0.02X_3X_4 - 0.06X_1^2 - 0.087X_2^2 - 0.096X_3^2 - 0.1X_4^2$  ( $R^2 = 0.9501$ ), 表明该回归模型的拟合情况良好。回归方程显著性检验见表 3,结果表明 4 个影响因素的一次项和二次项均对总黄酮提取量的线性效应极显著,交互项除  $X_2X_3$  项外均对总黄酮提取量的曲面效应作用不显著,表明各个影响因素与总黄酮提取率之间不是简单的线性关系。

**2.2.3 响应面分析** 依据回归方程,在保持 2 个因素编码值为 0 时,借助 Design-Expert 7.0.0 软件绘制另 2 个因素与响应值关系的三维响应面图,结果见图 1~6,表明各自变量对总黄酮的提取影响均显著且响应曲面陡峭,该回归模型存在最大值点, $X$  的代码值分别为  $-0.83, 0.07, 0.16, 0.56$ ,对应的实测值微波频率  $175 \text{ W}$ , SDS 质量分数  $1.28\%$ ,料液比  $1:21 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,微波辐射时间  $3.6 \text{ min}$ ,此时总黄酮提取量的最大估计值  $1.06 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

**2.3 验证试验** 为验证模型方程的适用性,按优选的工艺条件进行 3 次重复试验,计算总黄酮平均提取量  $1.01 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (RSD  $1.43\%$ ),与预测值相吻合,表明该模型准确度较好。采用不同方法提取金荞麦总黄酮,结果见表 4,表明与热回流法、微波法、超声法相比,表面活性剂协同微波法提取时总黄酮提取

表 3 回归模型方差分析

方差来源	SS	$f$	MS	$F$	$P$
$X_1$	0.13	1	0.13	28.37	0.0001
$X_2$	0.12	1	0.12	26.9	0.0001
$X_3$	0.32	1	0.32	71.63	<0.0001
$X_4$	0.055	1	0.055	12.41	0.0034
$X_1X_2$	0.019	1	0.019	4.34	0.0561
$X_1X_3$	0.019	1	0.019	4.21	0.0593
$X_1X_4$	0.006	1	0.006	1.36	0.2632
$X_2X_3$	0.03	1	0.03	6.69	0.0215
$X_2X_4$	0.018	1	0.018	4.18	0.0601
$X_3X_4$	0.0065	1	0.0065	1.48	0.2433
$X_1^2$	0.055	1	0.055	12.34	0.0034
$X_2^2$	0.12	1	0.12	26.31	0.0002
$X_3^2$	0.14	1	0.14	31.69	<0.0001
$X_4^2$	0.15	1	0.15	34.38	<0.0001
模型	1.18	14	0.084	19.02	<0.0001
失拟项	0.062	10	0.0062	123.38	0.0002
误差	0.0002	4	0.00005	-	-
总离差	1.24	28	-	-	-
拟合度	0.9501	-	展望拟合度	0.7083	-
校正拟合度	0.9001	-	信噪比	14.082	-

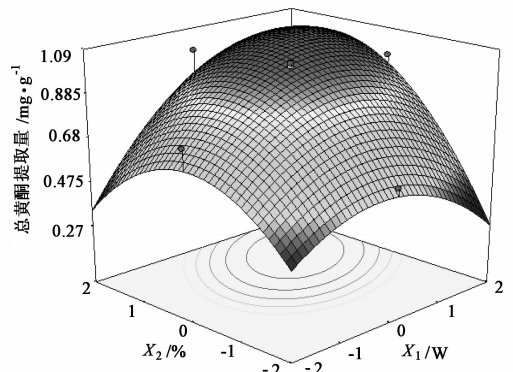


图 1 微波功率和 SDS 质量分数对总黄酮提取量的响应面

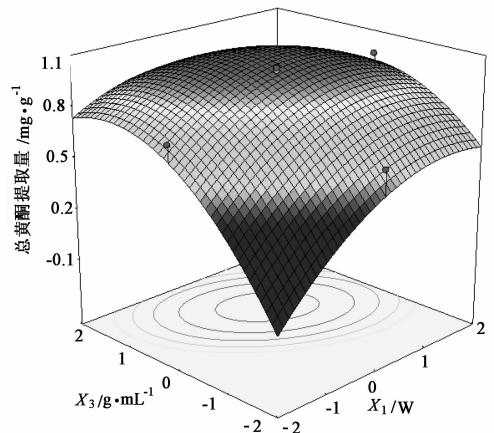


图 2 微波功率和料液比对总黄酮提取量的响应面

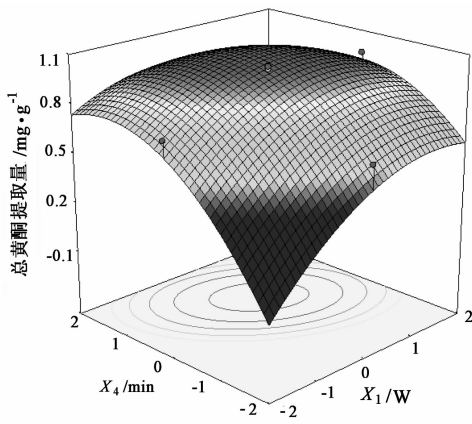


图 3 微波功率和微波辐射时间对总黄酮提取量的响应

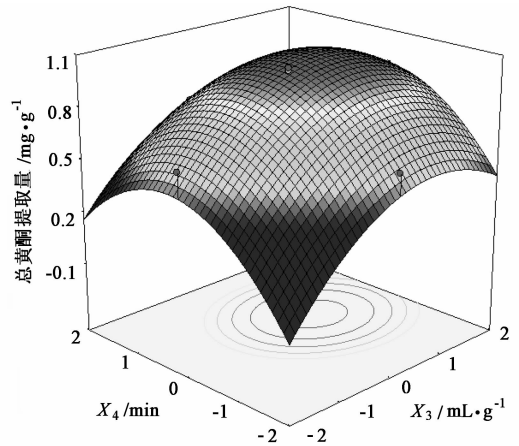


图 6 料液比和微波辐射时间对总黄酮提取量的响应面

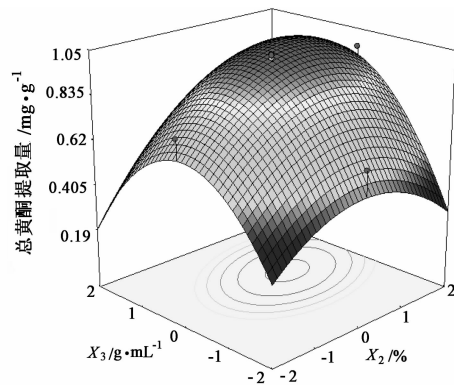


图 4 SDS 质量分数和料液比对总黄酮提取量的响应面

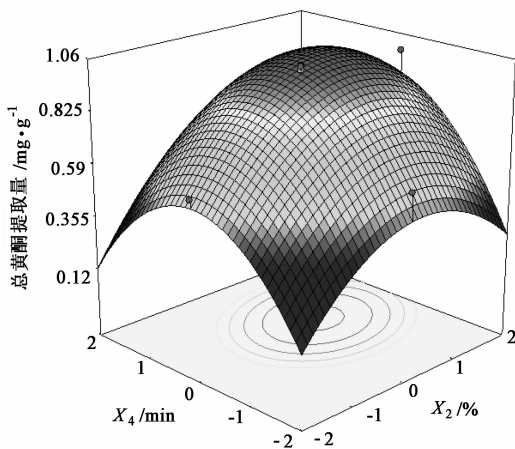


图 5 SDS 质量分数和微波辐射时间对总黄酮提取量的响应面

量分别提高了 35% ,14% ,21% 。

### 3 讨论

理论上表面活性剂的浓度越大,胶束结构越易形成,增溶作用越明显,但当表面活性剂达到临界胶束浓度后,形成的胶束数量不会增加,增溶作用也不会再增加,故试验中确定表面活性剂的最适质量分数为 1.28%。表面活性剂协同微波法采用溶有少量表面活性剂的水代替高体积分醇或其他有机溶

表 4 不同提取工艺对金荞麦总黄酮提取量的影响 (n = 3)

提取方法	溶剂	提取时间 /min	总黄酮提取量 /mg·g <sup>-1</sup>
回流	去离子水	30	0.67
微波	去离子水	3.6	0.89
超声	去离子水	30	0.82
表面活性剂协 同微波	含 1.28% SDS 的去离子水	3.6	1.04

注:料液比均为 1:21 g·mL<sup>-1</sup>。

剂,避免了有机溶剂的大量消耗和污染,具备提取时间短、提取率高、生产成本低等优点。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:203.
- [2] 林静,刘群,李艳冬,等. 金荞麦愈伤组织诱导及其总黄酮含量测定方法的建立[J]. 西南民族大学学报:自然科学版,2010,36(2):230.
- [3] 赵钢,唐宇,王安虎. 金荞麦的营养成分分析及药用价值研究[J]. 中国野生植物资源,2002,21(5):39.
- [4] 王文忠,田跃,吴旭,等. 二次回归正交设计法优化金荞麦总黄酮的提取工艺[J]. 中药材,2012,35(11):1861.
- [5] 赵永明,张敬,王哲,等. 土木香根中土木香内酯和异土木香内酯的微波辅助提取工艺优化[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):30.
- [6] 韩刚,史国友,孙海燕,等. 表面活性剂对大黄总蒽醌提取率的影响[J]. 中草药,2005,36(10):1498.
- [7] 滕坤,阮洪生,武子敬,等. 星点设计-响应面法优选藤梨根中总黄酮的提取工艺研究[J]. 中国现代应用药学,2012,29(7):610.

[责任编辑 刘德文]