

## 超声波辅助提取槐角总黄酮的工艺优选

倪帆呈<sup>1</sup>, 刘增辉<sup>2</sup>, 于楠楠<sup>1</sup>, 杨婷<sup>1</sup>, 周安祥<sup>1</sup>, 黄荣峰<sup>1</sup>, 徐燕<sup>1\*</sup>

(1. 安徽农业大学茶与食品科技学院, 合肥 230036; 2. 安徽省医学科学研究所, 合肥 230061)

**[摘要]** 目的:以槐角为原料,研究槐角中总黄酮的提取工艺。方法:采用超声波辅助提取技术,以总黄酮的得率为指标,通过单因素和正交试验确定超声波辅助提取槐角黄酮的最佳工艺条件。结果:选用 80% 乙醇为提取溶剂,料液比为 1 g:50 mL,温度 50 ℃,超声提取时间 45 min,超声功率为 250 × 70% W,总黄酮提取效果最佳,黄酮的得率为 3.04%。结论:以乙醇为溶剂,采用超声波辅助提取技术提取槐角总黄酮时间短、效率高、无需加热,可推广至大生产。

**[关键词]** 槐角;黄酮;超声波辅助提取

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0023-03

## Ultrasonic-assisted Extraction of Total Flavonoids from Fructus Sophorae

NI Fan-cheng<sup>1</sup>, LIU Zeng-hui<sup>2</sup>, YU Nan-nan<sup>1</sup>, YANG Ting<sup>1</sup>, ZHOU An-xiang<sup>1</sup>, HUANG Rong-feng<sup>1</sup>, XU Yan<sup>1\*</sup>

(1. College of Tea & Food Science and Technology, Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China;  
2. Anhui Academy of Medical Sciences, Hefei 230061, China)

**[Abstract]** **Objective:** Studied on ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from *Fructus Sophorae*. **Method:** Total flavonoids were extracted by ultrasonic-assisted technique, yield of total flavonoids as the index. The optimum parameters of the technology were obtained through single-factor and orthogonal test. **Result:** The optimum extraction process was as follows: ethanol concentration 80%, solid-liquid ratio 1 g:50 mL, extracting temperature at 50 ℃, extracting for 45 min under the ultrasonic power of 250 × 70% W. In this optimum extraction conditions, the yield of total flavonoids was 3.04%. **Conclusion:** The optimum extraction process was achieved, which is suitable for industrialization with short extraction time, high efficiency, without heating.

**[Key words]** Fructus Sophorae; flavonoids; ultrasonic-assisted extraction

槐角为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥成熟果实,始载于《神农本草经》,现为《中国药典》2010 年版收载。中医认为槐角具有清热泻火、凉血止血的功效<sup>[1]</sup>。槐角中含有多种化学成分,其中黄酮类和异黄酮类成分如槐角苷、槐角双苷、槲皮素、芦丁、染料木素和染料木苷等是其活性成分,具有降低转氨酶、雌激素样活性、降血脂、抗氧化、抗癌和抗骨质疏松等药理作用<sup>[2-4]</sup>。目前黄酮类化合物

的提取方法主要有有机溶剂、碱性稀醇或碱性水、超滤、超声波、微波和酶法等<sup>[5-6]</sup>。超声提取法具有提取时间短、效率高、无需加热等优点,近年来已广泛用于黄酮类化合物及其他天然活性成分的提取,如红枣核中总黄酮、银杏叶总黄酮、山楂总黄酮的提取及多糖的提取等<sup>[7-11]</sup>。槐角中含有丰富的黄酮,但对槐角黄酮的提取工艺研究较少且停留在水提,黄酮得率低。

本研究以乙醇为溶剂,采用超声波辅助提取技术提取槐角总黄酮,通过单因素试验结合正交试验对其提取工艺进行研究,以期筛选出最佳工艺条件,为其工业化生产提供依据。

### 1 材料

槐角,2009 年 12 月采自安徽农业大学校园内

**[收稿日期]** 20101208(002)

**[基金项目]** 安徽农业大学大学生创新基金(2010213)

**[通讯作者]** \*徐燕,博士,副教授,从事天然药物化学及茶叶生化研究,E-mail: yanxu@ahau.edu.cn

的国槐成熟的果实,经安徽中医学院药学院刘守金教授鉴定为槐 *S. japonica* L. 的干燥成熟果实。

试剂均为分析纯;芦丁对照品(购自中国药品生物检定所,批号 LD-20100920)。

JA3003A 型分析天平(上海精天电子仪器有限公司),UV-1600 型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司)。

## 2 方法与结果

**2.1 超声波提取槐角黄酮工艺** 将槐角干燥后粉碎,准确称取槐角粗粉 5.00 g,置于圆底烧瓶中,加入一定量的提取溶剂,在设定功率、温度和时间条件下进行超声波辅助提取,提取液过滤后减压浓缩至干,再用乙醇溶解、定容至 100 mL 量瓶中备用。

**2.2 芦丁标准曲线的绘制** 精确称取干燥至恒重的无水芦丁 35.00 mg 至 50 mL 量瓶中,用 60% 乙醇溶解、定容制成芦丁对照品溶液,精密量取 1, 1.5, 2, 2.5, 3 mL 于 25 mL 量瓶中,加入 5%  $\text{NaNO}_2$  试剂 0.5 mL 摇匀,静置 5 min;再加入 10%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  0.5 mL 摇匀,静置 6 min,然后再加入 4%  $\text{NaOH}$  5 mL 摇匀,静置 5 min,最后用 60% 乙醇溶液定容至刻度,摇匀静置 10 min。以蒸馏水为空白,在 510 nm 波长处测定吸光度。以芦丁质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标制作芦丁标准曲线,得回归方程  $Y = 9.9714X + 0.0062 (R^2 = 0.9997)$ 。

**2.3 槐角粗粉水分含量的测定** 按照 2010 年版《中国药典》一部附录 IX H 水分测定法 第一法(烘干法)。根据减失的质量,计算测得槐角粗粉的水分含量为 7.65%。

**2.4 槐角黄酮得率的计算** 取方法 2.1 中制备的样品提取液 5 mL 至 25 mL 量瓶中,按照方法 2.2 处理,测定吸光度,再根据芦丁标准曲线和槐角粗粉的水含量计算黄酮的得率。

$$\text{槐角黄酮得率} = \frac{C \times V \times X}{M(1 - w\%)}$$

$C$  为根据回归方程算得的稀释后样品溶液中黄酮浓度; $V$  为样品提取液第 1 次定容的体积; $X$  为稀释倍数; $M$  为槐角粗粉的质量; $w$  为槐角粗粉的水分含量。

**2.5 提取溶剂的选择** 称取 5.00 g 槐角粗粉 4 份,分别加入水或 60% 乙醇 100 mL,每组平行 2 份。在 70 °C 超声提取 30 min,结果醇提的总黄酮得率 1.91%,水提的总黄酮得率 1.74%;而且水提的多糖及黏液质等水溶性杂质较多,过滤困难,溶剂回收也

比较困难。因此选择乙醇作为提取溶剂。

## 2.6 单因素试验

**2.6.1 温度对黄酮得率的影响** 称取 5.00 g 槐角粗粉 5 份,分别加入 70% 乙醇 100 mL,微波处理温度分别为 40, 50, 60, 70, 80 °C,超声波功率为 250 W 30 min,结果随着提取温度的升高,黄酮的得率显著增加,但超过 50 °C 以后如果继续升温,黄酮的得率反而会呈现下降的趋势。因此,提取溶剂的温度 50 °C 时较为适宜。

**2.6.2 料液比对槐角黄酮得率的影响** 称取 5.00 g 槐角粗粉 5 份,分别加入 70% 乙醇 50, 100, 150, 250, 500 mL(即料液比分别为 1:10, 1:20, 1:30, 1:50, 1:100),70 °C 超声波功率 250 W 提取 30 min。结果料液比小于 1 g:50 mL 时,黄酮得率随料液比的增大而增加;料液比大于 1:50 时,黄酮得率随料液比的增大而趋于恒定。因此料液比为 1 g:50 mL 时较适宜。

**2.6.3 超声波功率对黄酮得率的影响** 称取 5.00 g 的槐角粉 5 份,加入 70% 乙醇 100 mL,料液比 1 g:50 mL,70 °C 超声提取 30 min,功率按照 100% 为 250 W,依次设定 50%, 60%, 70%, 80%, 100% 进行试验。结果槐角黄酮得率随着超声波功率的增大而增加,这是由于超声功率越大,空化现象越剧烈,媒质粒子的速度和加速度亦越大,界面扩散层上的分子扩散就越快,结果槐角黄酮的渗出速度就越大。但当超声功率达到一定值时,槐角内外渗透压达到平衡,再提高超声功率,黄酮的得率便趋于恒定。因此,较适宜的超声功率是 250 W。

**2.6.4 提取时间对槐角黄酮得率的影响** 称取 5.00 g 的槐角粉 5 份,加入 70% 乙醇 100 mL 即料液比 1 g:50 mL,70 °C,超声提取 30, 45, 60, 75, 90 min,功率为 250 W,结果表明随着提取时间的增加在 30 ~ 60 min 时黄酮得率在 2.08% 左右,无明显的增加,在 75 min 时达到最大 2.11%,但增加的幅度也不大,且 75 min 以后黄酮的得率有所下降,因此提取时间以 50 min 为宜。

**2.6.5 乙醇体积分数对黄酮得率的影响** 称取 5.00 g 的槐角粉 5 份,加入体积分数为 50%, 60%, 70%, 80%, 95% 的乙醇 100 mL 即料液比 1 g:50 mL,70 °C 超声提取 30 min,功率为 250 W,结果表明在乙醇体积分数小于 80% 时,黄酮得率随着乙醇体积分数的增加而增加,在乙醇体积分数为 80% 时,

黄酮得率较高为 2.48%,超过此乙醇体积分数时,则出现明显的下降趋势。因此,乙醇体积分数应选定在 80% 为宜。

**2.7 正交试验** 在单因素的基础上选取提取温度 *A*、料液比 *B*、超声波功率 *C*、时间 *D*、乙醇体积分数 *E* 为考察因素,以黄酮得率为指标,采用  $L_{16}(4)^5$  进行正交试验,因素水平选取如表 1 所示。

表 1 槐角总黄酮的提取工艺因素水平

水平	A 温度 / $^{\circ}\text{C}$	B 料液比 / $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	C 超声波功率 /%	D 时间 /min	E 乙醇体积分数 /%
1	40	1:10	70	30	50
2	50	1:20	80	45	60
3	60	1:30	90	60	70
4	70	1:50	100	75	80

由表 2 可得出,各因素对槐角黄酮得率的影响主次顺序依次为料液比 > 时间 > 温度 > 乙醇体积分数 > 超声波功率。最佳水平的组合为  $A_2B_3C_1D_2E_4$ ,即 80% 乙醇,料液比 1 g:50 mL,提取 45 min,提取温度  $50^{\circ}\text{C}$ ,超声波功率为总功率的 70%。

表 2 槐角总黄酮的提取工艺正交试验及安排

No.	A	B	C	D	E	黄酮得率 /%
1	1	1	1	1	1	1.056
2	1	2	2	2	2	2.46
3	1	3	3	3	3	2.593
4	1	4	4	4	4	2.953
5	2	1	2	3	4	1.741
6	2	2	1	4	3	2.557
7	2	3	4	1	2	2.537
8	2	4	3	2	1	2.986
9	3	1	3	4	2	1.258
10	3	2	4	3	1	2.186
11	3	3	1	2	4	2.782
12	3	4	2	1	3	2.312
13	4	1	4	2	3	1.528
14	4	2	3	1	4	2.457
15	4	3	2	4	1	2.683
16	4	4	1	3	2	2.855
$K_1$	2.265	1.396	2.313	2.090	2.228	
$K_2$	2.455	2.415	2.299	2.439	2.277	
$K_3$	2.135	2.649	2.324	2.344	2.248	
$K_4$	2.381	2.776	2.301	2.363	2.483	
<i>R</i>	0.320	1.380	0.025	0.349	0.255	

表 3 总黄酮正交提取工艺的方差分析

变异来源	<i>MS</i>	<i>f</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>A</i>	0.236	3	0.219	
<i>B</i>	4.717	3	4.370	<0.05
<i>C</i>	0.002	3	0.002	
<i>D</i>	0.275	3	0.255	
<i>E</i>	0.167	3	0.155	
误差	5.40	15		

注:  $F_{0.05}(3,15) = 3.29$ 。

### 3 结论

应用超声波辅助提取槐角黄酮是可行的,在超声时间、料液比、温度和超声功率、乙醇体积分数等 5 个考察因素中,料液比的影响最大。按最佳条件进行 3 次平行的验证试验,结果黄酮平均得率为 3.04%。相比较一般的水煎煮法不仅黄酮得率高而且时间短、效率高。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2005: 247.
- [2] 王景华,唐于平,楼凤昌.槐角化学成分与药理作用[J].国外医药·植物药分册,2002,17(2):58.
- [3] 王永红,龙晓莉,何菲,等.槐角总黄酮对高脂血症大鼠降血脂及抗氧化能力的实验研究[J].第四军医大学学报,2009,30(22):2677.
- [4] WANG Z L, SUN J Y. Pharmacological studies of the large-scaled purified genistein from *Huaijiao* (*Sophora japonica*-Leguminosae) on anti-osteoporosis [J]. *Phytomedicine*, 2006, 13(2): 718.
- [5] 梁单,张保存.黄酮类化合物提取和分离方法研究进展[J].周口师范学院报.2007,24(5):87.
- [6] 赖毅勤,周宏兵.近年来黄酮类化合物提取和分离方法研究进展[J].食品与药品,2007,9(4):54.
- [7] 张春兰,张锐利,熊素英,等.超声波辅助提取红枣核中总黄酮的研究[J].安徽农业科学,2010,38(12):6503.
- [8] 刘海鹏,刘延成,马东升,等.超声波/回流法银杏叶总黄酮提取的研究[J].化学工程师,2005,119(8):49.
- [9] 霍丹群,张文.超声波法与热提取法提取山楂总黄酮的比较研究[J].中成药,2004,26(12):1063.
- [10] 包怡红,秦蕾.沙棘叶多糖的超声波辅助提取及抑菌作用研究[J].食品与发酵工业,2010,35(6):161.
- [11] 朱彩平,李波.超声波辅助提取平菇多糖的工艺研究[J].中药材,2009,32(10):1620.

[责任编辑 仝燕]