

文章编号 :1006 - 544X(2001)03 - 0276 - 04

超声波提取银杏叶中总黄酮

刘 峥

(桂林工学院材料与化学工程系, 广西桂林 541004)

摘 要: 采用超声波从银杏叶中提取总黄酮, 用均匀设计法确定了超声波提取总黄酮的最佳工艺条件为: 乙醇浓度 (φ) = 67%, 超声波提取 67 min, 浸泡 39 h, V (浸取剂) : m (银杏叶) = 60 mL : 1 g。对提取液中的脂溶性杂质、水溶性杂质分别采用超声波 - 水法, 聚酰胺柱法除去, 用红外、热分析对产品进行了评价, 其图谱与芦丁标准图谱相似。

关键词: 超声波; 提取; 银杏叶; 黄酮

中图分类号: R284.2

文献标识码: A^①

研究表明, 利用超声波产生的强烈振动、高的加速度、强烈的空化效应、搅拌作用等, 都可以加速药物有效成分进入溶剂, 从而提高提出率, 缩短提取时间, 并且免去高温对提出成分的影响^[1~4]。银杏叶含黄酮类化合物, 具有防心血管疾病的功能。早在 20 世纪 60 年代, 国外就开始了银杏叶加工利用研究。我国在 70 年代初, 也开始了银杏黄酮的提取工艺及其制药的研究^[5~10]。几十年来各种提取工艺层出不穷。本文利用超声波提取法来提取银杏叶中的总黄酮, 旨在探索一种快速简便、得率高的新银杏叶总黄酮提取方法。

1 实验

1.1 主要仪器和试剂

KQ-250 超声波清洗器 (昆山市淀山湖检测仪器厂); 电热恒温培养箱 HG303-5A (南京实验仪器厂); 7210 分光光度计 (上海分析仪器厂)。芸香叶苷, 即芦丁, 上海化学试剂公司; 干银杏叶采自桂林市兴安县高尚乡; 无水乙醇, 化学纯试剂。

1.2 总黄酮质量的测定

参照文献 [6], 以芦丁为标准样, 利用分光光度法测定总黄酮质量。

1.3 索氏提取法提取银杏叶中总黄酮

准确称量 1.5 g 银杏叶, 于索氏抽提器中用甲醇抽提 8 h, 减压浓缩回收甲醇并转入 50 mL 容量瓶中, 用甲醇定容。按 1.2 实验方法测其总黄酮质量, 并计算得率。

1.4 超声波提取银杏叶中总黄酮

称取 2 g 左右的银杏叶碎片, 用一定体积分数的乙醇水溶液浸泡, 按相应的提取条件进行超声提取, 提取液过滤去除叶子得滤液。吸取 1 mL 滤液置于 25 mL 比色管中, 按 1.2 实验方法测其总黄酮质量, 根据下式计算得率:

$$\text{得率} = \rho_c V / m$$

式中: V 为浸取剂体积 (mL); ρ_c 为滤液中含总黄酮的量 (mg/mL); m 为银杏叶质量 (g)。

2 结果与讨论

2.1 均匀设计法优选超声波提取工艺条件^[7~10]

选用 U_{14}^* (14^8) 均匀设计表来安排试验, 按 1.4 超声提取试验方法进行实验, 结果见表 1。

从表 1 可知 10 号试验得率最高。将均匀设计各试验变量 (x) 及相应的得率数值 (Y) 输入计算机, 采用 C++ Baidler 计算机软件编写的程序,

① 收稿日期: 2000-10-30

作者简介: 刘 峥 (1962-), 女, 江西兴国人, 副教授, 化学专业。

进行多元线性和二次多项式逐步回归分析，得回归方程及最佳试验条件为：

$$Y = 2.73 - 0.046x_1 + 0.148x_2 + 0.00594x_3 - 0.018x_4 + 0.00019x_1^2 - 7.99 \times 10^{-5}x_2^2 + 2.09 \times 10^{-5}x_4^2 - 2.93 \times 10^{-5}x_1x_2 + 2.3 \times 10^{-4}x_1x_3 + 3.7 \times 10^{-4}x_1x_4 - 1.88 \times 10^{-4}x_2x_3 - 2.45 \times 10^{-5}x_3x_4, \quad (1)$$

其中： $x_1 = 67\%$ ， $x_2 = 67 \text{ min}$ ， $x_3 = 39 \text{ h}$ ， $x_4 = 60$ 。

按最佳条件进行验证试验，得率为 20.1 mg/g 。

由于方程 (1) 中，不同单位的各回归系数的绝对值不能直接进行比较，因此将各回归系数标准化，得标准回归方程：

$$Y = -4.0286x_1 + 1.6348x_2 + 0.328338x_3 - 2.65628x_4 + 1.8675x_1^2 - 0.713637x_2^2 + 4.60559 \times 10^{-2}x_4^2 - 0.598692x_1x_2 + 1.77106x_1x_3 + 1.06873x_1x_4 - 1.55969x_2x_3 - 7.13016 \times 10^{-2}x_3x_4 \quad (2)$$

从 (2) 方程可知，各因素对实验结果影响的顺序

为： φ (乙醇) > V (浸取剂) / m (银杏叶) > 超声时间 > 浸泡时间。超声时间不是最大的影响因素是预料之中的，因为超声波是提取的一种辅助手段，若没有一定的溶剂，它将是无能为力的。但超声波的采用的确可以在较短的提取时间内获得较好的提取效果 (表 2，由于索氏提取法没有浸泡，所以用表 1 中第 13 号试验与之比较)。其与目前公认效果较好的索氏提取法相比，超声提取法具有省时、节能、得率高的优点。

2.2 除脂溶性杂质

提取液中含蜡质、叶绿素及长链烷基酚酸等脂溶杂质，其质量分数远高于黄酮质量分数，故必须除掉^[11]。

本文采用超声波 - 水法脱脂溶性物质，并与水法脱脂溶性物质进行了比较。具体方法为：将超声波提取液减压浓缩成一定体积 (即为脱脂前溶液)，加入等体积的水后，超声波处理 30 min 后，溶液中有沉淀生成，过滤得滤液 (即为脱脂后

表 1 U_{14}^* (14⁸) 均匀设计实验安排表

Table 1 U_{14}^* (14⁸) Homogeneous design

实验号	第 1 列		第 3 列		第 4 列			第 7 列	得率 / (mg·g ⁻¹)
	水平	φ (乙醇) / %	水平	超声波时间 / min	水平	浸泡时间 / h	水平	V (浸取剂) : m (银杏叶) / mL : g	
1	1	20	4	18	7	18	13	56:1	12.5
2	2	25	8	42	14	39	11	48:1	15.8
3	3	30	12	66	6	15	9	40:1	16.4
4	4	35	1	0	13	36	7	32:1	15.6
5	5	40	5	24	5	12	5	24:1	15.2
6	6	45	9	48	12	33	3	16:1	17.0
7	7	50	13	72	4	9	1	8:1	15.0
8	8	55	2	6	11	30	14	60:1	18.9
9	9	60	6	30	3	6	12	52:1	15.9
10	10	65	10	54	10	27	10	44:1	19.2
11	11	70	14	78	2	3	8	36:1	16.7
12	12	75	3	12	9	24	6	28:1	15.9
13	13	80	7	36	1	0	4	20:1	11.1
14	14	85	11	60	8	21	2	12:1	13.1

表 2 索氏提取和超声提取法效果对比

Table 2 Comparison of results of soxhlet's extraction and ultrasonic extraction

提取法名称	银杏叶质量 / g	提取剂	V (溶剂) : m (银杏叶)	提取时间 / h	得率 / (mg·g ⁻¹)
索氏提取法	1.5	100% 甲醇	54:1	8	10.0
超声提取法	2.0	80% 乙醇	20:1	0.6	11.1

的溶液), 结果见表 3。除脂质量及除脂率的计算公式为:

除脂质量 = 除脂前溶液的干品质量 - 除脂后溶液的干品质量

$$\text{除脂率}(\%) = \frac{\text{除脂质量}}{\text{除前溶液中含脂的质量}} \times 100$$

根据文献 [12], 计算得出除脂前溶液含脂类化合物的质量浓度 $\rho = 0.001\ 664\ \text{g/mL}$, 则所取除脂前溶液中含脂的质量为: 除脂前溶液体积 (mL) $\times 0.001\ 664$ 。

表 3 超声波 - 水法除脂率

Table 3 The grease elimination rate of ultrasonic extraction water method

实验号	所取溶液体积/mL	干品质量/g		除脂质量/g	除脂率/%
		除脂前	除脂后		
1	50	0.495 6	0.415 4	0.080 2	96.4
2	100	0.990 8	0.8302	0.1606	96.0

从除脂前溶液, 除脂后溶液中分别吸取 1 mL 溶液, 按 1.2 实验方法, 求出每 mL 溶液中的黄酮质量, 由此计算出黄酮损失率为 23.7%。

加入与脱脂前溶液等体积的水, 放置 30 min 进行脱脂, 然后过滤得滤液。按相同的方法操作, 得水法除脂率为 87.7%, 黄酮损失率为 25.4%。因此超声波 - 水法除脂溶性杂质优于水法。

2.3 除水溶性杂质

除脂后的溶液含有的水溶性杂质主要有鞣质

和水溶糖类^[13]。本文除水溶性杂质按文献 [14], 选用效果较好的聚酰胺柱法进行。

2.4 黄酮产品的获得及黄酮质量分数的测定

提取液经超声波 - 水法除脂溶性杂质, 聚酰胺柱法除水溶性杂质后, 溶液减压浓缩后, 将样品干燥为黄色固体, 即得到了产品。按 1.2 实验方法, 测出产品总黄酮质量分数为 22.4%。此质量分数已接近于国内出口标准 24%。将产品溶液反复通过聚酰胺柱, 可进一步提高总黄酮质量分数。

2.5 黄酮产品谱图及其产品质量评价

比较芦丁标准品 IR 谱和黄酮产品 IR 谱 (图略), 本工艺所得黄酮产品的红外光谱图与标准芦丁谱图极为相似, 主要吸收峰的位置极为一致, 它们谱图指纹区 ($1\ 333 \sim 677\ \text{cm}^{-1}$) 的差异, 说明产品含多种黄酮及一些其它成分。

比较黄酮产品和芦丁标准样品的热分析曲线 (图略) 可知: 两条曲线有很多类似之处, 但近完全失重黄酮产品所需温度比芦丁标准品高, 这可能与黄酮产品含有多种黄酮, 其中有些成分较难分解有关。

从 IR 谱及 TG 曲线比较结果可知, 本工艺所得黄酮产品质量较好。

超声提取黄酮的总工艺流程可归纳如图 1。

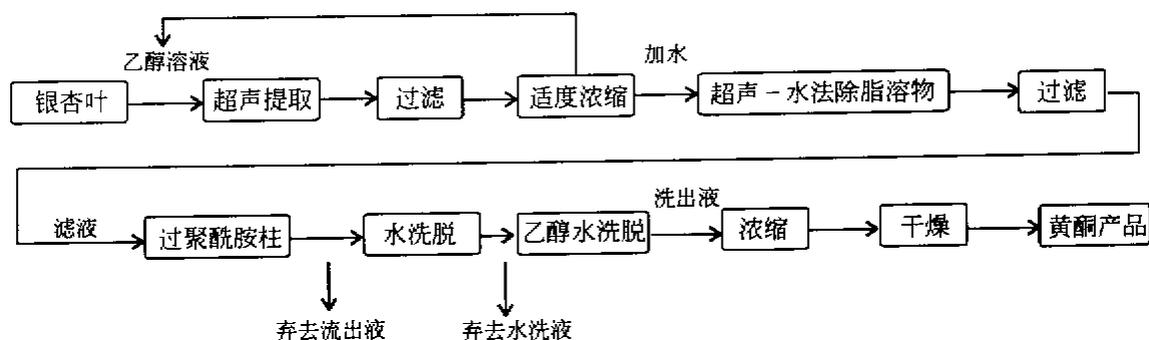


图 1 工艺流程图

Fig.1 Technology sequence chart

参考文献:

[1] 郭孝武. 超声技术在中草药成分提取中的应用 [J]. 中

草药, 1993, 24 (10): 548.

[2] 郭孝武. 超声波提取和回流提取对益母草总碱提出率的影响 [J]. 声学技术, 1996, 15 (14): 195.

- [3] 郭孝武, 张福成, 林书玉, 等. 超声提取对黄连素提出率的影响 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20 (11): 673.
- [4] 王昌利, 杨景亮, 朱周才, 等. 超声提高芦丁得率的实验研究 [J]. 陕西师范大学学报 (自然科学版), 1991, 19 (3): 89.
- [5] 姚渭溪. 银杏叶中活性成分的提取工艺、测定及其进展 [J]. 中草药, 1995, 26 (8): 157.
- [6] 庄向平, 虞杏英, 杨更生, 等. 银杏叶中黄酮含量的测定和提取方法 [J]. 中草药, 1992, 23 (3): 122.
- [7] 刘重芳, 吴志荣, 方清汉. 银杏叶总黄酮提取工艺探讨 [J]. 中成药, 1992, 14 (7): 7.
- [8] 麻秀萍, 蒋朝晖, 杨玉琴, 等. 大孔吸附树脂对银杏叶黄酮的吸附研究 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22 (9): 539.
- [9] 刘重芳, 银杏叶中有效成分的提取和测定 [J]. 中成药, 1995, 17 (6): 40.
- [10] 苏瑞强, 周宗仪, 辛建玲. 高新技术在银杏叶有效成分提取中的应用研究 [J]. 时珍国医国药, 1998, 9 (6): 549.
- [11] 王巧明, 台育秦, 银杏叶的研究概况 [J]. 甘肃中医学院学报, 1998, 15 (1): 48.
- [12] 李光仪. 从银杏叶中提取总黄酮和内酯的工艺研究 [D]. 桂林. 广西师范大学有机化学教研室, 1994.
- [13] 胡衍兰. 复方丹参注射液及丹参注射液中鞣质的检测 [J]. 中草药, 1982, 13 (3): 13.
- [14] 李惠珍, 王中枢, 杨宏德. 中草药制剂除鞣质效率比较 [J]. 中草药, 1985, 16 (4): 7.

Study on extraction of total flavone from ginkgo biloba leaves by ultrasonic wave

LIU Zheng

(*Department of Material and Chemical Engineering , Guilin Institute of Technology , Guilin , 541004 , China*)

Abstract : The total flavones can be extracted from ginkgo biloba leaves by ultrasonic wave. According to the principle of uniform design , the best reaction condition is : alcohol (φ) = 67% , time of extracting 67min , time of soaking 39 hrs , V (soaking geagent) : m (ginkgo biloba leaves) = 60 mL : 1 g. By using ultrasonic-water method and polyamide chromatography , fatty solubility impurity and water solubility impurity are removed. After product evaluation by using infrared absorption spectrum and thermal analysis , it shows that the product has similar to rutin in IR and TG .

Key words : ultrasonic wave extraction ; ginkgo biloba leaves ; flavone