

表面活性剂辅助微波提取阳荷黄酮工艺条件的优化

马明兰, 刘阳, 王园, 蔡依, 张海涛
(武昌理工学院, 湖北 武汉 430023)

摘要:采用表面活性剂辅助微波法提取阳荷中的黄酮。研究了表面活性剂种类及其添加量、微波辐射功率、辐射时间、料液比和 pH 对黄酮收率的影响。以单因素试验为基础,通过正交试验优化了黄酮的提取工艺。确定较佳工艺条件为: pH=4.0, 料液比 1:40 (g:mL), 表面活性剂十二烷基硫酸钠质量分数 10.5%, 微波辐射时间 2.4 min, 微波辐射功率 550 W。在此条件下,黄酮的收率为 12.7%。相比于热回流法、超声提取法和微波提取法,通过表面活性剂辅助微波提取,阳荷中黄酮收率分别提高了 41.1%、56.8% 和 46.0%。该法提取效率高、工艺简单。

关键词:化妆品添加剂;阳荷黄酮;微波提取;表面活性剂

中图分类号:TQ658 文献标识码:A 文章编号:1001-1803(2017)06-0331-05

DOI:10.13218/j.cnki.csdc.2017.06.007

Optimization of extraction of total flavonoids from *Zingiber striolatum* Diels assisted by surfactant and microwave

MA Ming-lan, LIU Yang, WANG Yuan, CAI Yi, ZHANG Hai-tao
(Wuchang University of Technology, Wuhan, Hubei 430023, China)

Abstract: Flavonoids was extracted from *Zingiber striolatum* Diels under assistance of microwave as well as surfactant. The effects of the type and amount of surfactant, microwave irradiation power, irradiation time, base material to liquid ratio and pH value on the yield of flavonoids were examined. On the basis of single factor experiment, the extraction technology of flavonoids was optimized by orthogonal experimental design. The recommended conditions were determined as follows: the mass fraction of surfactant sodium dodecyl sulfonate, 10.5%; microwave irradiation power, 550 W; microwave irradiation time, 2.4 min; based material to liquid ratio, 1:40 (g:mL); pH=4.0. The average yield of the total flavonoids achieves 12.7%. As comparing with the hot reflux method, ultrasonic extraction method and microwave extraction method, the extraction rate of flavonoids was increased by 41.1%, 56.8% and 46.0%, respectively. The method shows high extraction efficiency and simple operation.

Key words: additive of cosmetics; flavonoids of *Zingiber striolatum* Diels; microwave extraction; surfactant

阳荷属于野姜科草本多年生植物,别名猴姜、野姜、山姜、野生姜和野老姜等,其功效为消肿解毒、镇咳祛痰、活血调经等,可治疗气管炎、感冒咳嗽、风寒、哮喘和皮肤风疹等。黄酮是阳荷中的有效成分之一,黄酮类化合物是植物经过自然长期的选择,形成的一些次级代谢产物,该产物属于多酚类物质,在以植物为原料的食品和高等植物中广泛存在^[1-4]。黄酮类化合物可作为一种化妆品添加剂,主要功能包括抗衰老、抗肿瘤、抗氧化以及抗骨质疏松等^[5-7]。

目前,关于阳荷中黄酮的提取工艺还处于研究发展阶段,提取的溶剂主要为乙醇,因其成本较高,提取时间较长,因此对大规模开发利用阳荷中的黄酮十分不利^[8]。微波提取法升温快速,可加快体系中溶剂的浸润,同时有效成分可快速溶出,其特点是提取时间短,提取率较高等,属于一种新型提取方法^[9-12]。表面活性剂的分子带有一定的亲油-亲水基团,近年来,在天然产物的提取中,已经出现采用表面活性剂辅助提取的技术。在中药提取时,适量加入表面活性剂,可

收稿日期:2017-03-02;修回日期:2017-06-02

作者简介:马明兰(1982-),女,湖北宜昌人,实验师,E-mail:57916195@qq.com。

通讯联系人:张海涛,讲师,E-mail:42171788@qq.com。

用水作为提取介质,取代有机溶剂,这样就增加了水溶性的有效成分,使得浸润时间进一步缩短,大大提高了提取效率。目前,尚未见到使用表面活性剂辅助微波辐射提取阳荷中黄酮的研究文献。本文以阳荷为原料,采用表面活性剂辅助微波法提取阳荷中的黄酮,考察表面活性剂种类及其添加量、微波辐射功率、辐射时间、料液比和 pH 对阳荷中黄酮收率的影响,通过正交试验进行优化,旨在获得较佳的提取工艺。

1 实验部分

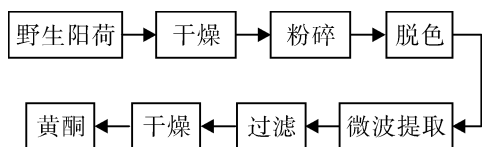
1.1 主要试剂与仪器

阳荷为湖北恩施人工栽培,将其洗净、切碎、晒干并置于 60 °C 烘箱中进行干燥,然后于室温下密封保存;芦丁标准品,上海华振科技有限公司;NaNO₂、NaOH、Al(NO₃)₃、Tween 60、Tween 80、十二烷基硫酸钠(SDS)、十二烷基二甲基甜菜碱(BS-12)、十二烷基三甲基氯化铵(DTAC),上海凌峰化学试剂有限公司。UV-1800 型紫外-可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;KD23B-QQ2 型美的微波炉,佛山市顺德区美的微波电器制造有限公司;RE-52AA 型旋转蒸发器,西安予辉仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 阳荷中黄酮的提取方法

称取 3.0 g 阳荷加入 250 mL 的三口烧瓶中,向三口烧瓶中加入一定浓度的表面活性剂,同时加入体积分数为 30% 的乙醇水溶液,将其放置于微波炉中,经过一定时间的提取,在常温下冷却 5 min,然后在冰浴中冷却 5 min,减压抽滤,得到黄酮提取液。微波提取阳荷中黄酮的工艺流程框图如下:



1.2.2 分析方法

以芦丁为对照品采用紫外-可见分光光度法测定阳荷中黄酮类物质的含量。精确称取 10 mg 芦丁标准品,20 °C 干燥至恒重,用体积分数为 30% 的乙醇溶液溶解并定容至 50 mL 容量瓶中,配成 0.2 g/L 的芦丁标准溶液,分别吸取芦丁标准溶液 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.5 和 3.0 mL 于 25 mL 的容量瓶中,加 30% 乙醇稀释至 10 mL,分别加入 1.0 mL 质量分数为 5% 的 NaNO₂ 溶液,放置 8 min 后,加入 1.0 mL 质量分数为 10% 的 Al(NO₃)₃ 溶液,放置 8 min 后再加入 10 mL 质

量分数为 10% 的 NaOH 溶液,最后用 30% 乙醇溶解稀释至刻度,摇匀后静置 20 min,取稀释液 2 mL 于波长 500 nm 处测定吸光度。

1.2.3 阳荷中黄酮含量的测定

按照 1.2.1 的方法进行提取,移取提取液 5 mL,并加入一定量的 30% 乙醇稀释至 25 mL 容量瓶中,取稀释液 2 mL 于波长 500 nm 处测定吸光度,通过标准曲线方程计算黄酮的质量浓度,阳荷中黄酮的收率按公式(1)进行计算。

$$\text{黄酮收率} = \rho \times V \times n / (1\ 000m) \times 100\% \quad (1)$$

式中, ρ 为提取液中黄酮的质量浓度, g/L; V 为提取液的体积, mL; m 为阳荷的质量, g; n 为溶液的稀释倍数。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线

以 30% 乙醇作空白参比,以吸光度(A)对芦丁质量浓度(ρ , g/L)进行线性回归,其中线性质量浓度为 0.008 6 ~ 0.068 5 g/L,得线性回归方程和相关系数为: $A = 11.877\rho - 0.009$ ($R^2 = 0.9997$),线性关系良好,该法具有良好的稳定性、重现性和精密度。

2.2 单因素试验

2.2.1 表面活性剂种类对黄酮收率的影响

在微波辐射功率 400 W,辐射时间 1.5 min, pH = 4.0,料液比 1:18 (g: mL),表面活性剂质量分数 5.0% 的条件下,考察不同种类的表面活性剂对阳荷中黄酮收率的影响,结果见表 1。

表 1 表面活性剂种类对黄酮收率的影响

Tab. 1 Effect of kinds of surfactant on the yield of flavonoids

收率/%	表面活性剂种类				
	—	BS-12	Tween 80	Tween 60	SDS
4.8	5.2	5.4	5.8	7.5	5.0

由表 1 可以看出,5 种表面活性剂中,提取黄酮效果最好的是 SDS,收率高达 7.5%, Tween 60 次之,收率为 5.8%, DTAC 的提取效果较差,收率为 5.0%,仅比未添加表面活性剂的高出 0.2%,因此,确定表面活性剂为 SDS。

2.2.2 SDS 的质量分数对黄酮收率的影响

在微波辐射功率 400 W,辐射时间 1.5 min, pH = 4.0,料液比 1:18 的条件下,考察 SDS 的质量分数对黄酮收率的影响,结果如图 1 所示(见下页)。

由图 1 可知,当 SDS 质量分数为 9.5% 时,提取效果最好,黄酮的收率达到 10.3%。随着表面活性剂质

量分数的进一步增加,黄酮收率趋于稳定。这主要是由于胶束结构在表面活性剂 SDS 的浓度越大时越易形成,这样就增加了有效成分的水溶性,能够将较多的黄酮溶出。当表面活性剂 SDS 达到临界胶束浓度时,表面张力不再降低,相应的黄酮收率保持稳定。因而,选择 SDS 的质量分数为 9.5%。

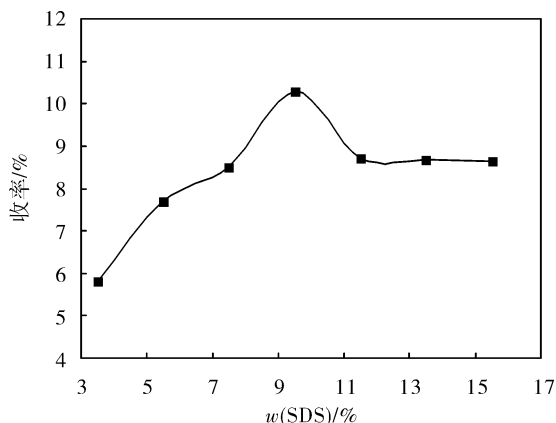


图1 SDS 质量分数对黄酮收率的影响

Fig. 1 Effect of SDS mass fraction on yield of flavonoids

2.2.3 微波辐射功率对黄酮收率的影响

在微波辐射时间 1.5 min, pH=4.0, 料液比 1:18, SDS 质量分数 9.5% 的条件下,考察微波辐射功率对黄酮收率的影响,结果见图 2。

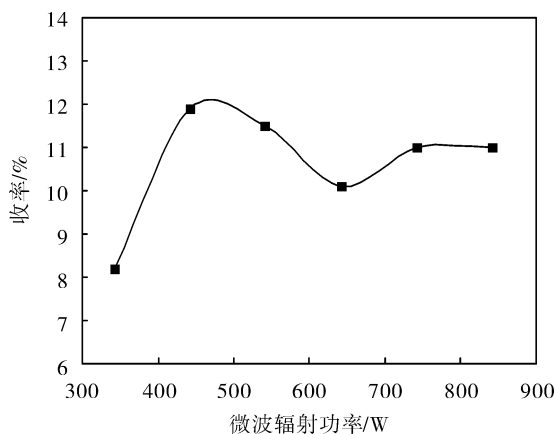


图2 微波辐射功率对黄酮收率的影响

Fig. 2 Effect of microwave irradiation power on the yield of flavonoids

由图 2 可知,当微波辐射功率为 450 W 时,提取效果最好,黄酮的收率达到 11.9%。随着微波辐射功率的进一步提高,黄酮的收率逐渐降低后趋于稳定,这可能是由于在微波辐射功率较高时,某些黄酮类成分的结构被破坏,从而引起总黄酮收率下降。因而,选择微波辐射功率为 450 W。

2.2.4 微波辐射时间对黄酮收率的影响

在 pH=4.0, 料液比 1:18, SDS 质量分数 9.5%, 微波辐射功率 450 W 的条件下,考察辐射时间对黄酮

收率的影响,结果见图 3。

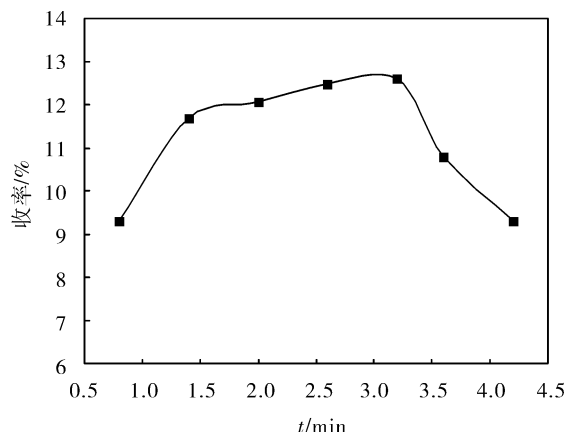


图3 微波辐射时间对黄酮收率的影响

Fig. 3 Effect of microwave irradiation time period on yield of flavonoids

由图 3 可以看出,黄酮类化合物的提取效果受微波辐射时间影响较大。在微波辐射时间为 3.2 min 时,提取效果最好,黄酮的收率达到 12.5%。随着时间的进一步延长,黄酮收率下降,原因是加热时间太长造成溶液沸腾的时间相应增长,导致部分黄酮发生分解。因而,选择微波辐射时间为 3.2 min。

2.2.5 料液比对黄酮收率的影响

在 pH=4.0, SDS 质量分数 9.5%, 微波辐射功率 450 W, 辐射时间 3.2 min 的条件下,考察料液比对黄酮收率的影响,结果见图 4。

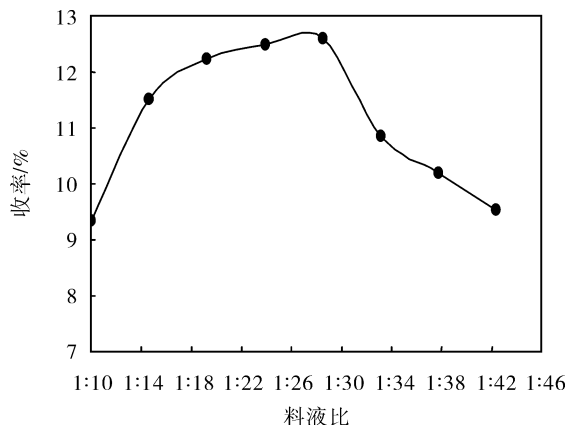


图4 料液比对黄酮收率的影响

Fig. 4 Effect of base material to liquid ratio on yield of flavonoids

由图 4 可以看出,在料液比为 1:10~1:30 的范围内,黄酮的收率增加较快,收率从 9.3% 增加到 12.6%,增幅达到了 35.5%。继续增加溶剂,黄酮的收率下降。这主要是由于当料液比为 1:30 时,溶剂中阳荷已得到足够的浸润,再增加溶剂,会造成微波加热困难,同时造成溶剂的浪费,浓缩工序和纯化工序的能耗、时间也相应加大,因而,选择料液比为 1:30。

2.2.6 溶剂 pH 对黄酮收率的影响

在 SDS 质量分数 9.5%，微波辐射功率 450 W，料液比 1:30，辐射时间 3.2 min 的条件下，考察 pH 对黄酮收率的影响，结果见图 5。

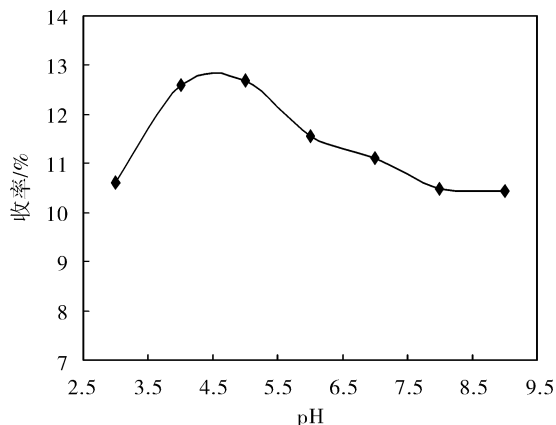


图 5 溶剂 pH 对黄酮收率的影响

Fig. 5 Effect of solvent pH value on yield of flavonoids

由图 5 可以看出，pH = 4.5 时，提取效果最好，黄酮收率达到 12.7%。pH 会影响表面活性剂 SDS 的活性、黄酮类化合物的溶解性。SDS 属于一种离子化合物，同时也是一种强碱弱酸盐，在酸性条件下，胶束不易形成，不利于增溶；当溶液为碱性时，黄酮类化合物不稳定，因此黄酮收率下降，因而，确定 pH = 4.5。

2.3 正交试验

在单因素试验的基础上，考察料液比、SDS 的质量分数、微波辐射时间、pH 和微波辐射功率 5 个因素对黄酮收率的影响，每个因素选取 4 个水平，设计正交试验 $L_{16}(4^5)$ ，因素水平见表 2，正交试验结果见表 3。

表 2 正交试验因素水平表

Tab. 2 Factors and levels table of orthogonal experiment

水平	A 料液比	B w(SDS)/%	C t/min	D pH	E 微波辐射功率/W
1	1:25	7.5	2.0	4.0	400
2	1:30	8.5	2.4	4.5	450
3	1:35	9.5	2.8	5.0	500
4	1:40	10.5	3.2	5.5	550

由表 3 可以看出，影响黄酮收率大小的因素顺序依次为： $A > D > B > C > E$ ，即料液比和 pH 为主要影响因素，其次是 SDS 的质量分数、微波辐射时间和微波辐射功率。较佳试验组合为 $A_4B_4C_2D_1E_4$ ，即较佳工艺条件为：pH = 4.0，料液比 1:40，SDS 质量分数 10.5%，微波辐射时间 2.4 min，微波辐射功率 550 W。

在确定的较佳工艺条件下，5 次平行试验得黄酮平均收率为 12.7%，表明此提取工艺稳定性、操作性较好。对正交试验结果进行方差分析，结果见表 4。

由表 4 可以看出，料液比和 pH 对阳荷总黄酮提取收率影响非常显著，而 SDS 的质量分数、微波辐射时间和辐射功率对黄酮提取收率影响则较小。

表 3 正交试验结果

Tab. 3 Results of orthogonal test

试验编号	A	B	C	D	E	收率/%
1	1	1	1	1	1	12.04
2	1	2	2	2	2	11.00
3	1	3	3	3	3	10.05
4	1	4	4	4	4	12.12
5	2	1	2	3	4	11.09
6	2	2	1	4	3	10.46
7	2	3	4	1	2	12.31
8	2	4	3	2	1	11.01
9	3	1	3	4	2	10.06
10	3	2	1	3	1	9.56
11	3	3	4	2	4	10.74
12	3	4	2	1	3	11.96
13	4	1	4	2	3	11.28
14	4	2	3	1	4	11.88
15	4	3	2	4	1	12.61
16	4	4	1	3	2	12.10
k_1	11.303	11.117	11.334	12.049	11.306	
k_2	11.217	10.726	11.666	11.007	11.367	
k_3	10.581	11.428	10.751	10.700	10.938	
k_4	11.968	11.797	11.318	11.314	11.458	
R	1.387	1.071	0.915	1.349	0.520	

表 4 实验方差分析

Tab. 4 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 值	F 临界值	显著性
A	3.867	3	1.520	3.290	显著
B	2.488	3	0.987	3.290	
C	1.733	3	0.681	3.290	
D	4.011	3	1.576	3.290	显著
E	0.625	3	0.246	3.290	
误差	12.724	15			

2.4 对比实验

在较佳的工艺条件下，将本文所述方法与热回流法、微波提取法和超声提取法进行对比实验。表 5 为 4 种不同方法提取阳荷中黄酮收率的结果。由表 5 可以看出，与超声提取法相比，表面活性剂辅助微波提取法中黄酮提取时间由 35 min 缩短至 2.4 min，收率从 8.1% 提高至 12.7%，提高了 56.8%；与微波提取法相比，收率提高了 46.0%；与热回流法相比，黄酮提取时间由 35 min 缩短至 2.4 min，收率提高了 41.1%。表

面活性剂辅助微波提取法提取效率较高、工艺简单,是一种提取阳荷黄酮的理想工艺。

表5 对比实验结果

Tab. 5 Comparison of experimental results

提取方法	溶剂	料液比	提取时间/min	收率/%
热回流法	去离子水	1:30	35.0	9.0
微波提取法	去离子水	1:30	3.0	8.7
超声提取法	35%乙醇	1:55	35.0	8.1
表面活性剂辅助微波提取法	30%乙醇	1:40	2.4	12.7

3 结论

1)以阳荷为原料,采用表面活性剂辅助微波法进行黄酮的提取,研究了pH、表面活性剂、料液比、微波辐射时间和微波辐射功率对黄酮收率的影响,通过正交试验对提取工艺进行了优化,得出影响黄酮收率的因素顺序为:pH > 料液比 > SDS的质量分数 > 微波辐射时间 > 微波辐射功率。较佳工艺为:pH = 4.0,料液比1:40,SDS质量分数10.5%,微波辐射时间2.4 min,微波辐射功率550 W。在较佳提取条件下进行浸提,重复5次得黄酮的平均收率为12.7%,这表明提取工艺稳定性和操作性较好。

2)相比于热回流法、超声提取法和微波提取法,通过表面活性剂辅助微波提取,黄酮收率分别提高了41.1%、56.8%和46.0%。

参考文献:

- [1] 王纯荣,颜贤仔,查龙华. 表面活性剂-微波法提取野生刺五加黄酮工艺[J]. 食品科技,2011,36(5):203-208.
- [2] 韩伟,马婉婉,骆开荣,等. 表面活性剂协同微波提取布渣叶总黄酮[J]. 南京工业大学学报(自然科学版),2012,34(2):91-95.
- [3] 王纯荣,郑国栋,颜贤仔. 表面活性剂协同微波提取大豆黄酮的研究[J]. 江西农业大学学报,2011,33(1):151-157.
- [4] 韩伟,刘然,陈惠丹. 表面活性剂协同微波提取墨旱莲总黄酮的研究[J]. 徐州工程学院学报(自然科学版),2013,28(1):19-24.
- [5] 王纯荣,颜贤仔,周雯雯. 表面活性剂协同超声波提取大豆黄酮的工艺研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(13):6906-6909.
- [6] 焦岩,常影. 超声波辅助提取苹果皮中总黄酮工艺条件的优化[J]. 安徽农业科学,2012,33(9):283-287.
- [7] 王晓林,王文姣,钟方丽,等. 微波辅助表面活性剂提取桔梗茎总黄酮及抗氧化性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2016,37(2):86-92.
- [8] 周林,徐立,伍春,等. 桑枝皮总黄酮提取工艺条件的优化试验[J]. 蚕业科学,2010,36(3):491-496.
- [9] 邱岚,陈仕学,王红梅. 超声波辅助提取阳荷多糖的工艺研究[J]. 食品工业,2013,34(8):21-23.
- [10] 任顺成,王伟. 槐豆总黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2015,36(4):53-58.
- [11] 吴志强,项玲,陈京. 表面活性剂协同微波提取胡柚皮总黄酮的工艺研究[J]. 中国现代应用药学,2013,30(3):271-274.
- [12] 郭海滨,许伟,邵荣,等. 响应面法优化微波提取芦苇叶总黄酮工艺条件的研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(29):16694-16698.

(编辑:杨旭)

(上接第330页)

- [14] Qiu J, Feng H, Xiang H, et al. Influence of subinhibitory concentrations of licochalcone A on the secretion of enterotoxins A and B by *Staphylococcus aureus* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2010, 307(2):135-141.
- [15] Eumkeb G, Siriwong S, Thumanu K. Synergistic activity of luteolin and amoxicillin combination against amoxicillin-resistant *Escherichia coli* and mode of action [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2012, 117:247-253.
- [16] Shi C, Sun Y, Zheng Z, et al. Antimicrobial activity of syringic acid against *Cronobacter sakazakii* and its effect on cell membrane [J].

Food Chemistry, 2016, 197:100-106.

- [17] Dorota W, Agnieszka C. Composition of the outer membrane proteins of *Escherichia coli* strains in relation to serum susceptibility after exposure to subinhibitory concentrations of amikacin and ciprofloxacin [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2009, 33(6):579-582.
- [18] Eumkeb G, Chukrathok S. Synergistic activity and mechanism of action of ceftazidime and apigenin combination against ceftazidime-resistant *Enterobacter cloacae* [J]. Phytomedicine, 2013, 20(3/4):262-269.

(编辑:李保林)

《日用化学工业》办刊宗旨

紧密结合日化行业科研与生产的实践,满足日化市场的需要,贯彻理论联系实际、普及与提高相结合和“双百”方针,面向行业,面向市场,以学术界、企业界、产业界的广大科研人员、管理人员等为主要服务对象,及时报道和传递日化行业的基础理论、科技成果、生产技术、发展趋势以及有指导意义或应用价值的科技知识等,大力推动我国日化行业的科技进步和经济繁荣。