

# 超声—微波协同萃取法提取甘草黄酮的研究

罗锋<sup>1</sup>, 汪河滨<sup>1</sup>, 杨玲<sup>2</sup>, 周忠波<sup>1</sup>

(1. 新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护与利用重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300;

2. 塔里木大学文理学院, 新疆 阿拉尔 843300)

**摘要:** 采用超声-微波协同萃取法, 从甘草中提取黄酮, 用分光光度法测定黄酮含量。结果: 用超声-微波协同萃取法提取, 测得甘草中黄酮的含量为 2.04%, 平均回收率为 97.64% (n=6)。结论: 甘草黄酮的提取可优选超声-微波协同萃取法。

**关键词:** 甘草黄酮; 超声-微波协同萃取; 含量测定

## STUDYING ON ULTRASONIC- MICROWAVE SYNERGISTIC EXTRACTION FLAVONOIDS OF GLYCRRHIZA

LUO Feng<sup>1</sup>, WANG He- bin<sup>1</sup>, YANG Ling<sup>2</sup>, ZHOU Zhong- bo<sup>1</sup>

(1. Xinjiang Production & Construction Corps Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin, Alar 843300, Xinjiang, China; 2. College of Art and Science, Tarim University, Alar 843300, Xinjiang, China)

**Abstract:** The extraction and content determination of flavonoids of Glycrrhiza were studied. Ultrasonic- microwave synergistic extraction technique applied in flavonoids of Glycrrhiza were obtained, content determination with colorimetry. Using ultrasonic- microwave synergistic extraction the flavonoids content of Glycrrhiza is 2.04%, recovery rate is 97.64%, RSD=1.19% (n=6). Ultrasonic- microwave synergistic extraction technique applied in extracting flavonoids of Glycrrhiza is better than regular method.

**Key words:** Glycrrhiza flavonoids; ultrasonic- microwave synergistic extraction; content determination

甘草是豆科 (Leguminosae) 甘草属 (Glycyrrhiza L.) 植物<sup>[1]</sup>, 具有清热解毒、止渴祛痰、补脾和胃、调和诸药等功效<sup>[2]</sup>。中医处方离不开甘草, 俗称“十方九草”, 自古至今, 广为药用, 兼有“药之国老、众药之王”的尊号, 是临床最常用的中草药品种<sup>[3]</sup>, 其主要有效成分为甘草酸和甘草黄酮。据报道, 甘草黄酮是一类生物活性较强的物质, 有抗溃疡、抗菌、抗炎、解痉、降血脂、镇痛等作用<sup>[4]</sup>, 1986 年以来还发现甘草黄酮具有防治艾滋病的功效。对甘草黄酮的研究越来越引起人们的注意和重视。本研究利用超声-微波协同萃取法提取甘草中的黄酮并测定其含量。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

材料: 乌拉尔甘草 塔里木盆地人工栽培

试剂: 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所), 乙醇

基金项目: 塔里木大学校长重点基金项目 2004-6

作者简介: 罗锋 1971-), 男, 汉, 讲师, 硕士, 研究方向: 天然产物化学。

(天津市化学试剂二厂); 硝酸铝 (北京化工厂); 氢氧化钠 (北京化工厂); 亚硝酸钠 (北京化工厂) 均为分析纯。

### 1.2 仪器

Sartorius 电子天平 (北京赛多利斯天平有限公司);

超声-微波协同萃取仪 (上海新拓微波溶样测试有限公司);

T6-紫外可见分光光度计 (北京普析通用有限公司) 等。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 对照品溶液的制备

精密称取 120 干燥至恒温的芦丁对照品 25.00 mg, 加适量 70% 乙醇在水浴微热溶解, 放冷后转移至 250 mL 容量瓶中, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 摆匀, 配成浓度为 0.1 mg/mL 的标准品溶液, 备用。

#### 1.3.2 供试液的制备

取 1.00 g 甘草粉末, 精密称定, 加 70% 乙醇 50 mL, 称重, 超声-微波协同萃取 2 次, 每次 30 min, 称重, 补

足损失重量,过滤,收集滤液,即得。

### 1.3.3 最大吸收峰的确定

精确吸取芦丁对照品溶液 2 mL, 加 70% 的乙醇至 5 mL, 然后加入 5% 的  $\text{NaNO}_2$  溶液 1 mL, 室温放置 6 min, 再加入 10% 的  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  1 mL, 混匀, 室温放置 6 min, 加入 4% 的 NaOH 10 mL, 用水稀释至 25 mL, 混匀, 放置 15 min, 在分光光度计上扫描波长从 400 nm ~ 600 nm 之间的吸收度, 结果在 510 nm 波长处有最大吸收值。

### 1.3.4 标准曲线的绘制

精确吸取芦丁对照品溶液 0, 1, 2, 3, 4 mL, 分别加 70% 的乙醇至 5 mL, 然后加入 5% 的  $\text{NaNO}_2$  溶液 1 mL, 室温放置 6 min, 再加入 10% 的  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  1 mL, 混匀, 室温放置 6 min, 加入 4% 的 NaOH 10 mL, 用水稀释至 25 mL, 混匀, 放置 15 min, 以不加样品的溶液为参比液, 在 510 nm 处测定其吸光度值。测定结果计算得直线方程:

$$A=0.0177C+0.0002, r=0.9996$$

## 2 结果与分析

### 2.1 样品含量测定

#### 2.1.1 常规方法

取 1.00g 甘草粉末, 精密称定, 加 70% 乙醇 50 mL, 称重, 索氏提取两次, 每次 60 min, 称重, 补足损失重量, 过滤, 合并收集滤液, 按标准曲线同样的方法测定其吸光度值, 计算黄酮的含量。结果见表 1。

#### 2.1.2 超声 - 微波协同萃取法

取 1.00g 甘草粉末, 精密称定, 加 70% 乙醇 50 mL, 称重, 超声 - 微波协同萃取 2 次, 每次 30 min, 称重, 补足损失重量, 过滤, 合并收集滤液, 按上述方法测定其吸光度值, 计算黄酮的含量。结果见表 1。

表 1 甘草中黄酮的含量

提取方法	测定次数	黄酮含量(%)	平均含量(%)	RSD(%)
常规方法	1	1.77		
	2	1.78	1.78	0.86
	3	1.80		
超声 - 微波协同萃取法	1	2.02		
	2	2.05	2.04	1.02
	3	2.06		

### 2.2 重复性试验

取 6 份甘草粉末, 精密称定。分别加入 70% 的乙醇 50 mL, 称重, 超声 - 微波协同萃取 2 次, 每次 30 min, 称重, 补足损失的重量, 过滤, 收集滤液。各取上述样品溶液 1 mL, 分别加 70% 的乙醇至 5 mL, 然后加入 5%

的  $\text{NaNO}_2$  溶液 1 mL, 室温放置 6 min, 再加入 10% 的  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  1 mL, 混匀, 室温放置 6 min, 加入 4% 的 NaOH 10 mL, 用水稀释至 25 mL, 混匀, 放置 15 min, 在 510 nm 处测定其吸光度值。试样中黄酮百分含量的  $\text{RSD}=1.50\% (n=6)$ 。测定结果见表 2。

表 2 重复性试验结果

试样号	1	2	3	4	5	6
百分含量 %	2.00	2.05	2.02	2.03	2.04	2.09

### 2.3 稳定性试验

精密吸取标准品溶液 1 mL, 样品溶液 1 mL, 同标准曲线和样品测定的操作, 在 15、30、45、60 min 测定吸光度。结果表明, 标准品和样品溶液在 60 min 内都基本稳定。

### 2.4 回收率试验

取已知黄酮含量的供试品溶液 1 mL 于 25 mL 容量瓶中, 再加入不同量的标准品溶液, 依法测定, 结果平均回收率为 97.64%,  $\text{RSD}=1.19\% (n=6)$ 。结果见表 3。

表 3 回收率试验结果

样品编号	对照品加入量(mg)	测得总黄酮的量(mg)	平均回收率 %	平均回收率 %	RSD %
1	0.100	0.1926	96.30		
2	0.100	0.1980	99.00		
3	0.100	0.1961	98.05	97.64	1.19
4	0.200	0.2964	98.80		
5	0.200	0.2917	97.23		
6	0.200	0.2893	96.43		

## 3 讨论

3.1 超声 - 微波协同萃取法使样品介质内各点受到的作用一致, 降低目标物与样品基体的结合力, 加速目标物从固相进入溶剂的过程; 经超声 - 微波协同萃取法提取甘草中总黄酮的含量为 2.04%, 较常规法高出近 0.3%。

3.2 超声 - 微波协同萃取法在甘草黄酮类成分的提取中已经显示出明显的优势, 具有省时、节能、提出率高等优点。所以甘草黄酮的提取可优选超声 - 微波协同萃取法。

### 参考文献:

- [1] 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1998, 24(2): 167~175.
- [2] 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 71~72.
- [3] 金宏. 浅谈甘草药理作用 [J]. 时珍国医国药, 2000, 11(1): 78~79.
- [4] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物学有效成分分册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 465~465.

收稿日期: 2006-05-09