

约 0.3 g, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入 95%乙醇 50 mL, 称重, 按上述优选出的前处理方法进行操作, 分别测定总黄酮、高良姜素及白杨素含量。结果表明, 总黄酮平均含量为 $102.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.46%; 高良姜素、白杨素含量分别为 16.02、 $20.12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.76%, 0.82%。

3 讨论

本实验对蜂胶总黄酮含量测定、高良姜素及白杨素含量测定的方法学进行了考察, 对总黄酮含量测定方法进行了精密性、稳定性、重复性、加样回收率的考察, RSD 均 $<1.57\%$; 高良姜素及白杨素含量测定方法的精密性、稳定性、重复性、加样回收率试验得出 RSD 均 $<1.72\%$, 说明该方法稳定, 可以作为考察指标对蜂胶前处理方法进行综合评价。

对流动相的比列进行考察, 发现以甲醇-0.15%磷酸(64:36)为流动相, 分离较好且峰形佳, 但分析周期较长; 而采用梯度洗脱, 能大大地缩短分析时间, 节省了人力、物力。

REFERENCES

- [1] PAN J G, HE L P, ZHENG R L, et al. The application of modern analytical technology in effective constituent determination and quality control of propolis [J]. Apiculture of China(中国蜂业), 2008, 59(3): 34-35.
- [2] ZHANG C P, WANG K, HU F L. Phenolic acid in propolis [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(1): 102-105.
- [3] WANG Y, KANG W, LI Z, et al. Research on the therapeutic effect and mechanism of propolis in rats with type 2 diabetes mellitus [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(8): 679-682.
- [4] YANG S L, WANG D. Study on extraction process of propolis [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2005, 22(2): 135-137.
- [5] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部)[S]. 2010: Appendix 336.
- [6] CAO W, FU J F, SUO Z R, et al. HPLC analysis of chrysin and galangin in propolis [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2007, 27(4): 522-524.
- [7] HUANG H T, HUANG H C. Extract and content assay of total flavonoids in propolis from different areas [J]. Guangdong Chem Ind(广东化工), 2010, 37(205): 215-217.
- [8] GB/T 20574-2006. Method for determination of total flavonoids in propolis-colorimetric method(蜂胶中总黄酮含量的测定方法分光光度比色法) [S]. 2006.

收稿日期: 2012-06-05

表面活性剂协同微波提取胡柚皮总黄酮的工艺研究

吴志强¹, 项玲², 陈京^{2*} (1.浙江省人民医院, 杭州 310014; 2.浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要: 目的 优选表面活性剂增效微波提取胡柚皮中总黄酮的最佳工艺。方法 对 7 种表面活性剂强化提取胡柚总黄酮的效果进行了比较, 筛选出对该提取过程具有明显增溶效果的表面活性剂。以总黄酮含量为指标, 采用正交试验确定最佳提取工艺。结果 胡柚皮中的总黄酮的最优提取条件以质量百分数 2% 的月桂醇磺基琥珀酸单酯二钠盐(AK-201)为提取剂, 微波频率为 160 W, 提取 2 次, 每次 1 min, 提取 2 次, 料液比为 1:40, 提取率为 4.35%。该工艺比仅用微波法提取胡柚皮中黄酮的提取率增加了 6.36%。结论 该提取工艺简单, 方法快速、简便, 能降低成本, 同时提高提取率, 可用于胡柚皮中总黄酮的提取。

关键词: 表面活性剂; 微波提取; 胡柚皮; 总黄酮

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)03-0271-04

Study on Microwave-surfactant Extraction of Total Flavonoid from Pomelo Peel

WU Zhiqiang¹, XIANG Ling², CHEN Jing^{2*} (1.Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China; 2.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the extraction technology of total flavonoids from pomelo peel by combining surfactant with microwave technology. **METHODS** As an indicator of total flavonoids, orthogonal test was used to study the

作者简介: 吴志强, 男, 主管药师 Tel: (0571)85893113 E-mail: wzhihzi@hotmail.com *通信作者: 陈京, 女, 博士, 讲师 Tel: (0571)86613716 E-mail: cj00123@zjtcn.net

extraction conditions to extract flavonoids from pomelo peel. **RESULTS** Optimum condition for extraction of pomelo peel was as follows: mass percentage of 2% lauryl sulfosuccinate disodium(AK-201) for the extraction solvent, microwave power 160 W, extracted twice for 1 min each time and the solid to liquid ratio was 1 : 40. Using this technology, the extraction yield increased by 6.36% as compared with that using microwave technology alone. **CONCLUSION** This extraction process is steady, feasible and reproducible which can be used for extraction of total flavonoids from pomelo peel.

KEY WORDS: surfactant; microwave extraction; pomelo peel; total flavonoids

柚子(*Citrus grandis*)为芸香科柑橘属水果,广泛分布于广东、广西、福建、浙江等地。柚子的果皮中含有柚皮苷、果胶、香精油、色素等多种活性成分,具有抗氧化、抗微生物、抗癌、抑酶、抗衰老、降血糖、降血压、预防动脉粥样硬化等活性。目前,柚皮一般作为垃圾处理,不仅造成资源极大浪费,而且污染了环境。所以进行该资源的综合利用具有良好的社会效益和经济效益。

柚皮中总黄酮的提取主要采用有机溶剂浸提、微波辅助提取、超声波辅助提取和超临界萃取等,但在提取过程中利用表面活性剂的增溶作用,进行表面活性剂协同提取柚皮中总黄酮未见报道。但已有不少表面活性剂协同提取天然产物活性成分的研究^[1-4],该法通常是以溶有少量表面活性剂的水替代高溶度的醇或其他有机溶剂进行活性成分的提取,能大大降低提取成本,并提高提取率^[5]。故本实验选择对7种表面活性剂强化提取胡柚皮中总黄酮的效果进行了比较,筛选对该提取过程具有明显增溶效果的表面活性剂,并通过研究表面活性剂协同微波提取胡柚皮总黄酮的工艺,确定最佳工艺,为综合利用该资源提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 药物和试剂

胡柚皮(产地:浙江常山),经浙江中医药大学药学院姚振生教授鉴定为芸香科柑橘属常山胡柚 *Citrus Changshan-huyou* Y. B. Chang 的干燥果皮;芦丁(中国药品生物制品检定所,批号:110737-200414,纯度:98%);吐温 80(Tween-80)、平平加、聚乙二醇(PEG)、烷基糖苷(APG)、椰子油脂脂肪酸二乙醇酰胺(CDEA)、月桂醇磺基琥珀酸单酯二钠盐(AK-201)、椰油酰胺基丙基甜菜碱(CAB)、磷酸酯钾盐(AEP)(上海圣轩生物化工有限公司,化学纯);其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

SPS402F 型电子天平[梅特勒-拖利多(常州)称

重设备系统有限公司制造]; TU-1900 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

2 方法与结果

2.1 样品溶液制备

柚子皮去囊,洗净,烘干,粉碎后过 60 目筛,备用。准确称取柚皮粉 1 g,加入一定质量分数的表面活性剂水溶液置于锥形瓶中微波提取,合并提取液,浓缩得样品溶液。

2.2 标准曲线的制备^[6]

准确称量芦丁对照品 3.8 mg 定容至 50 mL,得浓度为 $0.076 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品储备液。精密量取对照品储备液 0, 1, 2, 3, 4 mL,分别置于 10 mL 刻度管中,加 5%亚硝酸钠溶液 0.5 mL,放置 5 min,加 10%硝酸铝溶液 0.5 mL,摇匀后放置 6 min,加 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 4 mL,再加 60%乙醇定容至 10 mL,以相应试剂为空白,在 508 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=0.0496X+0.0004$, $r=0.9996(n=6)$ 。实验结果表明芦丁浓度在 $7.6 \sim 30.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 线性关系良好。

2.3 仪器精密度试验

精密量取对照品溶液 3 mL,置 10 mL 刻度管中,按“2.2”项下方法平行测定 6 次, $\text{RSD}=0.56\%$ ($n=6$),说明该方法仪器精密度良好。

2.4 稳定性试验

精密量取样品液 3 mL,每隔 15 min 取样,按“2.2”项下方法测定,结果表明样品在 30 min 内稳定性良好。

2.5 重复性试验

取同一批柚皮粉 6 份,各约 1 g,精密称定,按“2.2”项下方法测定吸光值,计算样品含量。结果表明,6 次测得 RSD 为 4.31%,说明该方法重复性良好。

2.6 加样回收试验

精密称取已知含量的柚皮粉样品共 6 份,加

入一定量的芦丁对照品，按“2.2”项下方法制成供试品溶液，测定其含量。计算回收率和RSD值。结果表明，6次测得的平均回收率为94.78%，RSD为2.16%，说明该方法回收率良好。

2.7 不同表面活性剂种类对总黄酮提取率的影响
固定表面活性剂浓度1%，提取时间3 min，微波频率160 W，提取次数3次，料液比1：30，分别在不同表面活性剂种类条件下提取。结果见表1。

表1 表面活性剂种类对总黄酮提取率的影响
Tab 1 Effects of surfactants on flavonoids extraction efficiency

表面活性剂种类	平平加	AK-201	CBA	APG	AEP	水
吸光度 A	0.143	0.771	0.112	0.279	0.331	0.064

由结果可知，不同表面活性剂种类对胡柚皮中总黄酮的提取率影响很大。与水相比，均起促进作用。其中用AK-201提取率最大，所以选AK-201作为提取溶液。

2.8 正交试验
选取微波功率、AK-201浓度、提取时间、料液比为因素，每个因素选3个水平，按L₉(3⁴)正交表设计试验。正交试验因素水平表见表2，结果见表3和表4。

表2 正交试验因素水平表
Tab 2 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素			
	A (微波频率)/W	B (AK-201 浓度)/%	C (提取时间)/min	D 料液比
1	160	1	1	1：20
2	320	1.5	2	1：30
3	480	2	3	1：40

表5 对比试验结果(n=3)
Tab 5 Results of sample determination with contrast test(n=3)

提取方法	微波频率/W	提取次数	提取时间/min	料液比	提取溶剂	平均提取率/%	RSD/%
表面活性剂协同微波提取	160	2	1	1：40	2% AK-201	4.35	2.18
微波提取	160	2	1	1：40	水	4.09	1.92

3 讨论
参考相关文献^[7-8]对总黄酮进行含量测定，本实验分别对微波功率、AK-201浓度、提取时间、料液比等进行了考察，确定以微波频率为160 W，AK-201浓度2%，提取2次，每次提取时间1 min，

表3 L₉(3⁴)正交实验结果
Tab 3 Results of orthogonal experiment

实验号	因素				提取率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	2.72
2	1	2	2	2	3.54
3	1	3	3	3	4.43
4	2	1	2	3	3.14
5	2	2	3	1	2.61
6	2	3	1	2	3.76
7	3	1	3	2	2.16
8	3	2	1	3	3.17
9	3	3	2	1	2.31
均值 1	3.563	2.673	3.217	2.547	
均值 2	3.170	3.107	2.997	3.153	
均值 3	2.547	3.500	3.067	3.580	
极差	1.016	0.827	0.220	1.033	

表4 方差分析表
Tab 4 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	1.577	2.00	20.750	19.000	**
B	1.026	2.00	13.500	19.000	*
C	0.076	2.00	1.000	19.000	
D	1.618	2.00	21.289	19.000	**

注：F(0.1)=9，F(0.05)=19
Note: F(0.1)=9，F(0.05)=19

由结果可知，最佳提取条件为A₁B₃C₁D₃。根据实验结果本实验优选的最佳工艺为：微波频率为160 W，AK-201浓度2%，提取时间1 min，料液比为1：40。

2.9 对比试验
取同一批柚皮粉末6份。根据优化工艺条件，对3份柚皮粉末进行总黄酮提取。另取3份按单纯微波提取2次，分别计算提取率，结果见表5。由结果可知，表面活性剂提取优化工艺稳定可靠。用表面活性剂协同微波提取工艺比仅用微波法提取胡柚皮中黄酮的提取率增加了6.36%。

料液比为1：40时，提取液中总黄酮的含量最高。本实验采用药典方法，经NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH显色后，芦丁和柚皮中的总黄酮在508 nm处具均有最大吸收峰，能减少其它成分的干扰。
表面活性剂协同微波提取工艺比仅用微波提

取胡柚皮中黄酮的提取率提高。其原因可能是表面活性剂具有特定的双亲结构,可降低胡柚皮细胞膜与水溶液间的界面张力,使水溶液更容易渗透进入细胞壁内,从而提高了它的浸出效能和提取率。因此,表面活性剂与微波在提取胡柚皮总黄酮的工艺中具有协同效应,可显著提高提取效果,用表面活性剂协同微波提取工艺比仅用微波法提取胡柚皮中黄酮的提取率增加了6.36%。由此可见,该法快速、简便,能降低成本同时提高提取率,值得进一步研究与开发。

REFERENCES

- [1] ZHAO E F, FAN J F, ZHANG X Y. Enhancing of extraction of flavone from Sea-buckthorn leaves by combining surfactant with microwave technology [J]. China Surfactant Detergent Cosmetics(日用化学工业), 2009, 39(1): 22-24.
- [2] GONG S Z, CHENG J, YANG Z R. Effect of surfactant on microwave-assisted extraction of baicalin [J]. China Surfactant

- Detergent Cosmetics(日用化学工业), 2005, 35(1): 23-26.
- [3] LI X, GAO X T, REN Y Z, et al. Study on intensification effects of surfactant on the extraction of dioscin from *Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright [J]. Fine Chemicals(精细化工), 2009, 26(2): 122-125.
- [4] CHEN J B, GUO L P, MENG J G. Study on the extraction of lycopene with surfactant and microwave [J]. Food Ferment Ind(食品与发酵工业), 2006, 32(12): 161-163.
- [5] GAO H, LUO X P, LIANG S H, et al. Study on extraction of pigment from *Bauhinia aurea* Levl by combining surfactants with microwave technology [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica(华东农学报), 2004, 19(1): 116-118.
- [6] PANG F F, GAO J, CHEN J. Optimum flavonoids extraction from hawthorn fruits with surfactant [J]. China Mod Med(中国当代医药), 2011, 18(5): 136-138.
- [7] YU Q, JIANG Y, ZHOU D Y. Content determination of active ingredients and flavonoids in extract from *Chrysanthemi Flos* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(6): 530-532, 547.
- [8] DAI J J, TAO H M, ZHU Q H, et al. Content determination of flavonoids and triterpenoids in *Viola diffusa* Ging [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(2): 166-169.

收稿日期: 2012-04-11

鹅绒藤地上部位化学成分研究

冯建勇¹, 陈虹², 孙燕¹, 刘江云^{1*}, 敖桂珍¹ (1.苏州大学药学院, 江苏 苏州 215123; 2.石河子大学药学院, 新疆 石河子 832000)

摘要: 目的 研究鹅绒藤(*Cynanchum chinense* R. Br.)地上部位的化学成分。方法 采用AB-8大孔树脂柱, 硅胶柱色谱, LX2000树脂柱, Sephadex LH-20柱色谱等方法分离纯化; 利用核磁共振波谱技术鉴定化合物结构。结果 从鹅绒藤地上部位70%乙醇提取物中分离得到9个化合物, 分别鉴定为十六烷酸(I)、水杨酸(II)、 β -谷甾醇(III)、 β -胡萝卜素(IV)、芹菜素(V)、山奈酚(VI)、山奈酚-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(VII)、小麦黄素(VIII)、小麦黄素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷(IX)。结论 化合物V、VIII、IX为首次从本属植物中分离得到; 化合物I、II、V~IX为首次从本植物中分离得到。

关键词: 鹅绒藤; 芹菜素; 小麦黄素; 小麦黄素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)03-0274-04

Study on the Chemical Constituents of the Aerial Parts of *Cynanchum Chinense* R. Br.

FENG Jianyong¹, CHEN Hong², SUN Yan¹, LIU Jiangyun^{1*}, AO Guizhen¹ (1.College of Pharmaceutical Science, Soochow University, Suzhou 215123, China; 2.School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the chemical constituents of the aerial parts of *Cynanchum chinense* R. Br. **METHODS** The compounds were extracted and purified by AB-8 macroporous resins, silica gel column chromatography, LX2000 resin and Sephadex LH-20 columns. Their structures were elucidated on the basis of physico-chemical properties and NMR spectral analysis. **RESULTS** Nine compounds were obtained from 70% aqueous ethanol extract of *Cynanchum chinense* and elucidated as n-hexadecanoic acid (I), salicylic acid (II), β -sitosterol (III), β -sitosterol glucoside (IV), apigenin (V), kaempferol (VI), kaempferol-3-O- β -D-glucoside (VII), tricin (VIII), and tricin-7-O- β -D-glucuronide (IX). **CONCLUSION** Compounds V, VIII and IX were obtained from this genus, and compounds I, II and V-IX were isolated from this plant for the first time.

KEY WORDS: *cynanchum chinense*; apigenin; tricin; tricin-7-O- β -D-glucuronide

作者简介: 冯建勇, 男, 硕士生 Tel: 18862315026
(0512)65884301 E-mail: liujiangyun@suda.edu.cn

E-mail: fjiyan-1314@163.com

*通信作者: 刘江云, 男, 博士, 副教授 Tel: