

# 微波辅助萃取十大功劳叶中的小檗碱

高 珊

(华东理工大学 化学工程研究所, 上海 200237)

**摘要:**利用间歇式微波辅助萃取装置,对提取阔叶十大功劳叶中的药用有效成分小檗碱进行了研究。选择并确定了萃取液中盐酸小檗碱的分析方法( $\text{Al}_2\text{O}_3$ 柱层析-紫外分光光度法);选取了甲醇、乙醇、乙醇-水( $V/V=9:1$ )为溶剂;微波辐射量为2,4,6 min;处理比( $g/mL$ )为1:40,1:60,1:80;利用正交实验设计考察了不同湿分原料的微波辅助萃取效率,得出了优化工艺条件。

**关键词:**微波辅助萃取;阔叶十大功劳叶;盐酸小檗碱

**中图分类号:**TQ461 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-274 X (2002)04-0377-04

微波辅助萃取是一种利用微波能量将可溶性的目标组分萃取到液体介质中的新方法,它具有萃取时间短、效率高、设备简单、可选用溶剂种类多、适用范围广等优点<sup>[1,2]</sup>。

十大功劳叶 *Folium Mahoniae* 是小檗科植物阔叶十大功劳 *Mahonia bealei* (Fort.) Carr. 及狭叶十大功劳 *Mahonia fortunei* (Lindl.) Fedde. 或华南十大功劳 *Mahonia japonica* (Thunb.) DC. 的叶,主治肺癆咳血、骨蒸潮热、头晕耳鸣、腰膝酸软、湿热黄疸、带下、痢疾、风热感冒、目赤肿痛<sup>[3]</sup>。阔叶十大功劳的主要化学成分为小檗碱 *berberine*, 又称黄连素 *Umbellatine*, 化学名为  $\text{Benao}[g]-1,3\text{-benzodioxolo}[5,6\text{-a}]\text{quinolizinium}, 5,6\text{-sihydro-}9,10\text{-dimethoxy}$ , 是苜基异喹啉生物碱中原小檗碱型的一种。它广泛存在于小檗科、毛茛科、防己科、芸香科、罂粟科及属李科等多种植物体内<sup>[3]</sup>。临床用于治疗细菌性痢疾、伤寒、肺结核、流行性脑脊髓膜炎、肺囊肿、高血压、布氏杆菌病、急性扁桃体炎、上颌窦炎、口腔颌面部炎等症,服用治疗量相当安全,副作用很小,长期服用未见任何毒副作用<sup>[4]</sup>。传统上的小檗碱就作为一种广谱抗菌、消炎及健胃药而广为应用。

本研究以药用植物十大功劳叶为原料,在溶剂萃取时施加微波辐射,萃取其中的药用有效成分小檗碱,考察溶剂种类、处理比、微波辐射量对间歇式微波辅助萃取的影响。

## 1 材料、设备及方法

### 1.1 材 料

原料:阔叶十大功劳新鲜叶,由上海植物园草药园提供。盐酸小檗碱对照品:含量约94.1%,于上海市药品检验所购得。

### 1.2 设 备

1) 提取设备:本设备由 ER-692 型微波炉改装制得,产生的微波辐射频率为 2 450 MHz,功率为 650 W。结构如图 1。

2) 分析仪器:岛津 UV-3000 双波长紫外-可见分光光度仪。

### 1.3 实验方法

1) 精确称量 0.5 g 十大功劳叶置于三口烧瓶中,按处理比加入定量溶剂及 1 mL 1 mol/L 盐酸。

2) 将烧瓶置于微波炉底部中心处,经过一定量的辐射后,取出烧瓶于水浴中冷却 2 min。

3) 重复步骤 2) 直至总辐射量达到设定值。

4) 经抽滤,分离原料和萃取液,将萃取液置于旋转蒸发器中减压蒸馏。

5) 浓缩萃取液转移至 25 mL 容量瓶,以萃取溶剂定容,精密量取 5 mL,加于已处理好的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  柱上,用乙醇 25 mL 分次洗脱,收集洗脱液于 50 mL 容量瓶并定容。

收稿日期:2001-09-01

基金项目:化学工程联合国家重点实验室资助项目(99-03)

作者简介:高 珊(1979-),女,安徽凤台人,华东理工大学硕士生,从事中药工艺研究。

6) 在波长 347 nm 处测定其吸光度, 根据标准曲线回归方程计算浓度, 再求单位萃取量。

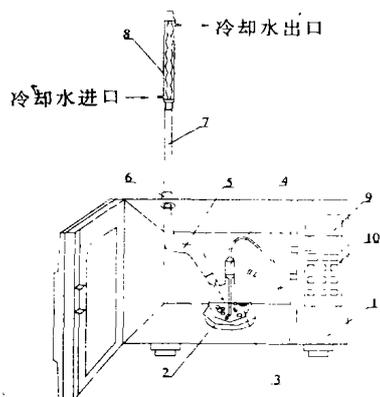


图 1 间歇式微波辅助萃取装置

Fig. 1 Batch equipment of MAE

1 微波炉 2 烧瓶底座 3 三口烧瓶 4 鼓泡搅拌器 5 特制接管 6 特制紫铜环 7 空气冷凝器 8 冷凝器 9 微波炉状态显示器 10 辐射时间控制器

#### 1.4 分析方法

选用  $\text{Al}_2\text{O}_3$  柱层析-紫外分光光度法。层析柱为玻璃柱, 内径约为 9 mm, 中性  $\text{Al}_2\text{O}_3$  5 g, 湿法装柱, 用 30 mL 无水乙醇预洗。在室温下以单波长双光束模式对盐酸小檗碱对照品的乙醇溶液进行光谱扫描, 扫描波长为 200~500 nm。选择 347 nm 为检测波长。测量不同浓度盐酸小檗碱标准品乙醇溶液的吸光度, 经回归处理后得直线回归方程:  $A = 0.0642C + 0.0021$ ,  $r^2 = 0.9999$  ( $A$  为吸光度,  $C$  为盐酸小檗碱浓度,  $r$  为相关系数)。样品在浓度 1.0~7.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内线性关系良好。

#### 1.5 正交实验设计

通过考察操作条件和预实验, 选择微波辐射时间、溶剂种类、处理比(g/mL)为可变参数, 选择各因素水平, 设计正交实验。其因子和水平如表 1。

表 1 因子和水平

Tab. 1 Factors and levels

	辐射时间(A) /min	溶 剂(B)	处理比(C) /g · mL <sup>-1</sup>
1	2	甲 醇	1 : 40
2	4	乙 醇	1 : 60
3	6	乙醇-水 (V/V=9/1)	1 : 80

不考虑交互作用, 选  $L_9(3^4)$  为正交实验安排表, 空白列  $E$  作为误差列。

## 2 实验结果及讨论

#### 2.1 正交实验结果

见表 2, 3。由以上正交实验方差分析的结果可以看出, 考察的 3 个工艺参数对湿分不同原料的萃取效率影响有所差异; 溶剂种类的影响总是最显著, 甲醇效果最好; 对湿分大的原料(即新鲜的十大功劳叶), 微波辐射量的影响较显著; 对湿分小的原料(即干燥的十大功劳叶), 处理比和微波辐射量影响都不显著。对新鲜原料最优工艺条件为: 选取甲醇为溶剂, 微波辐射 6 min, 处理比控制在 1 : 60。对干燥原料最优工艺条件为: 选取甲醇为溶剂, 微波辐射 4 min, 处理比控制在 1 : 60。

表 2 正交实验结果

Tab. 2 Results table of orthogonal experiments

表头设计	A	B	C	E	单位提取量 $X_i/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	
列 号	1	2	3	4	新鲜原料	干燥原料
试验号						
1	1	1	1	1	1.63	1.10
2	1	2	2	2	0.47	0.46
3	1	3	3	3	0.56	0.54
4	2	1	2	3	2.50	1.98
5	2	2	3	1	0.44	0.33
6	2	3	1	2	1.44	1.05
7	3	1	3	2	2.19	1.23
8	3	2	1	3	0.88	0.80
9	3	3	2	1	1.39	1.11

表3 十大功劳叶中盐酸小檗碱单位萃取量数据方差分析结果

Tab. 3 Effects of the factors to unit extraction quantity

方差来源		A	B	C
新鲜原料	方差比 $F$	9.10	44.0	3.0
	显著性判断	$9 < F < 19$	$F > 19$	$F < 4$
	显著性	显著	高度显著	不显著
干燥原料	方差比 $F$	2.68	11.25	3.21
	显著性判断	$F < 4$	$F > 9$	$F < 4$
	显著性	不显著	显著	不显著

其中,  $F_{0.75}(2,2)=4$ ,  $F_{0.9}(2,2)=9$ ,  $F_{0.95}(2,2)=19$ <sup>[6]</sup>, 因子 A, B, C 的自由度均为 2。

## 2.2 溶剂种类的影响

和传统的溶剂萃取相比,在其他操作条件一定的前提下,微波辅助萃取中溶剂种类对单位萃取量的影响不但与溶解能力有关,而且与基体和溶剂对微波的吸收能力有关。

1) 对比表 4 中 1 号实验条件对干燥原料的两组数据,甲醇的介电常数最大、极性最强,其微波萃取和等温萃取的效率相当。这可能是由于甲醇吸收了几乎全部的微波能量,此时的萃取机理与传统的溶剂萃取相同,仅仅是溶剂温度有所差异。当溶剂采用介电常数较小的乙醇时,微波萃取又显示了一定

的优势。然而,采用乙醇-水混合溶剂,微波萃取相对于传统萃取的优势最为明显。这是由于干叶受水浸泡,含水量有所增加,对微波的吸收能力增加。

2) 根据正交实验结果,新鲜、干燥叶的优选溶剂都是甲醇,主要原因是甲醇对目标产品的溶解度很大,尽管微波辐射的引入使乙醇-水溶剂相对于传统萃取效率有很大提高,但还是不及甲醇的萃取效果,而从安全性考虑,甲醇的毒性使得它不适合充当理想的中草药有效成分的提取溶剂,利用乙醇-水溶液的微波辅助萃取则颇具竞争性。

表4 微波辅助萃取与相应条件下等温萃取的单位提取量比较

Tab. 4 Comparison of unit extraction quantity between MAE and isothermal solvent extraction  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 

原 料	新鲜叶片		干燥叶片	
	提取量(微波萃取)	提取量(等温萃取)	提取量(微波萃取)	提取量(等温萃取)
实验号				
1	1.63	0.63	1.10	1.37
5	0.44	0.23	0.33	0.20
6	1.44	0.77	1.05	0.43

综上所述,在微波辐射条件下,溶剂对湿分不同的原料(基体)其单位萃取量的影响不同。原料湿分大,有利于微波辅助萃取效率的提高,溶剂的选择范围较宽,而对于湿分小的原料,应设法通过将合适的溶剂渗入基体以增加其湿分,并保持渗入基体溶剂的介电常数大于其外界萃取溶剂的介电常数,增强微波加热对基体的选择性。另外,还需要结合特定生产要求选择溶剂。

## 2.3 微波辐射量的影响

1) 对湿分较大的基体,微波辐射量对单位萃取量的影响较显著,且随辐射量的增大而增大。相对于等温萃取,其优势也很明显(如表 4),说明基体湿分

对萃取有利。从微波对物质加热的原理来看,基体中含水量大,新鲜叶片吸收的微波能量较多,对植物细胞的破坏作用更明显。

2) 对于干叶,微波辐射量对其影响不显著,说明微波能大部分被溶剂吸收,而对基体的作用也因此减弱,此时的单位萃取量比较容易受溶剂种类的影响。

## 2.4 处理比的影响

前已述及,这里所采用的溶剂极性较大,如果溶剂量过多,对微波能量的吸收量也很大,就会削弱微波能量对基体的作用;如果溶剂量过小,溶剂对目标成分的溶解量较小,为保证一定的产量,新鲜、干燥

叶的优选处理比都为 1:60(g/mL)。这也从另一方面表明了微波辅助萃取溶剂用量小的优点。

### 3 结 论

1) 在微波辅助萃取不同湿分十大功劳叶中盐酸小檗碱的过程中,溶剂种类对单位萃取量的影响显著。对于所选取的 3 种溶剂,单位萃取量的顺序

为:甲醇>乙醇-水(V/V=9:1)>乙醇。

2) 对于湿分含量较大的原料(54%),微波辐射量的影响较显著,单位萃取量随辐射量的增加而增大,优选辐射量为 6 min;对于湿分含量较小的原料(10%),微波辐射量的影响不显著,优选辐射量为 4 min。

3) 处理比的影响不显著,单位萃取量随处理比的变化规律相同,优选处理比为 1:60。

### 参考文献:

- [1] JOCELYN PARÉ J R. Microwave-assisted natural products extraction[P]. United States Patent, 5002784, 1991-03-26.
- [2] JOCELYN PARÉ J R, JACQUELINE M R BELANGER. Microwave-assisted process (MAP™): a new tool for the analytical laboratory[J]. Trends in Analytical Chemistry, 1994, 13(4): 173-184.
- [3] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册[Z]. 北京:人民卫生出版社, 1986. 120-121.
- [4] 王 东, 李启任. 培养细胞中小檗碱的生产及其生物合成研究状况[J]. 中草药, 1998, 29(2): 128-131.
- [5] 吴 翊. 应用数理统计[M]. 长沙:国防科技大学出版社, 1995.

(编辑 姚 远)

## Microwave assisted extraction of berberine from *Mahonia bealei*

GAO Shan

(Chemical Engineering Research Center, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** A study on microwave-assisted extraction (MAE) for berberine in *Mahonia bealei* (Fort.) Carr. was carried out in batch-equipment. The extracts were analysed at 347 nm by ultraviolet spectrophotometry. The solvent types, the intensity of microwave energy, the ratio ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) of material to solvent volume were studied. The effect of microwave-assisted extraction on different humidity material was investigated and optimized by means of three-factor and three-level factorial designs. The optimum conditions were obtained concerning different humidity material.

**Key words:** microwave-assisted extraction; *Mahonia bealei* (Fort.) Carr; berberine hydrochloride