

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00567

• 短篇论著 •

## 正交试验法优选辛夷药材中木兰脂素的微波萃取工艺

### Orthogonal test in optimizing microwave-assisted extraction process of magnolin from *Magnoliae Flos*

李晓林<sup>1</sup>, 张明媛<sup>1</sup>, 赵卫权<sup>2</sup>, 李曼<sup>1</sup>, 滕海英<sup>1</sup>, 亓云鹏<sup>2\*</sup>

1. 第二军医大学研究生管理大队, 上海 200433

2. 第二军医大学药学院药物分析学教研室, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 采用正交试验法优选辛夷药材中木兰脂素的微波萃取工艺。**方法** 以高效液相色谱法(HPLC)测定辛夷药材提取物中木兰脂素的含量作为检测指标,条件是:色谱柱(150 mm×4.6 mm),流动相为乙腈-水(40:60),检测波长 238 nm,进样量 20 μl。采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验,考察 75%乙醇用量(75~85 ml)、微波萃取时间(600~999 s)和萃取温度(70~80℃) 3个因素。**结果** 通过正交试验法优选出微波萃取的最佳条件为 75%乙醇用量 85 ml,萃取时间 800 s,萃取温度 76℃,该方法提取出的木兰脂素平均含量为 6.59%。**结论** 用正交试验法优选得到的萃取工艺稳定、方法可行,与常规提取法相比,微波萃取技术具有提取时间短、萃取效率高等优点。

**[关键词]** 正交试验;微波萃取;辛夷;木兰脂素;高压液相色谱法

**[中图分类号]** R 927.3

**[文献标志码]** B

**[文章编号]** 0258-879X(2010)05-0567-02

辛夷(*Magnoliae Flos*)为木兰科木兰属植物望春花(*Magnolia biondii* Pamp)、玉兰(*Magnolia denudata* Desr)或武当玉兰(*Magnolia sprengeri* Pamp)的干燥花蕾,具有散风寒、通鼻窍等功能,《神农本草经》中列为上品,是中医治疗各类鼻炎的常用中药。木脂素类成分是辛夷的主要成分<sup>[1]</sup>,其中的木兰脂素被《中华人民共和国药典》2005版确定为辛夷药材质量控制的指标性成分<sup>[2]</sup>。木兰脂素的提取方法主要有二氯甲烷提取法<sup>[2]</sup>、回流提取法等,但这些方法操作烦琐且提取效率不高<sup>[3-4]</sup>。微波萃取法具有用时短、使用溶剂少和萃取效率高等优点,是目前公认的绿色样品预处理技术<sup>[5-7]</sup>,已被用于提取一些植物成分<sup>[8]</sup>。本实验以高效液相色谱法(HPLC)测定辛夷药材提取物中木兰脂素的含量作为检测指标,采用正交试验设计优选辛夷药材中木兰脂素的微波萃取条件。

### 1 仪器和试剂

1.1 仪器 岛津 LC-10AT(VP)高效液相色谱仪、SPD-10A(VP)紫外可见检测器[岛津仪器(苏州)有限公司]、N2000 色谱数据工作站(浙江大学智能信息工程有限公司)、Shim-Pack VP-ODS 色谱柱(150 mm×4.6 mm,江苏汉邦科技有限公司);CW-2000 型超声-微波协同萃取仪(上海新拓分析仪器科技有限公司);SHB-3 循环水真空泵(上海申生科技有限公司);LT-202 型电子天平(常熟市天量仪器有限责任公司)。

1.2 药材与试剂 辛夷药材(产地河南,批号:20080918),木兰脂素对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110882-200605)。乙腈(江苏强盛化工有限公司)、乙醇(常熟市杨园

化工有限公司)为分析纯,无水甲醇(上海胜德化工有限公司)为色谱纯,水为蒸馏水。

### 2 方法和结果

2.1 正交试验设计 取辛夷药材适量粉碎后,精密称取约 2.5 g,于超声-微波萃取仪中加入 100 ml 蒸馏水萃取,提取条件为:时间 600 s,微波温度 80℃,恒温。提取后趁热减压过滤,取滤渣备用。根据预实验结果,以溶剂 75%乙醇用量(A,75、80、85 ml)、微波萃取时间(B,600、800、999 s)和萃取温度(C,70、76、80℃)为考察因素,用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表安排试验。取滤渣进行木兰脂素提取后趁热减压过滤,滤液用 75%乙醇定容于 100 ml 容量瓶,稀释后进行 HPLC 含量测定,根据标准曲线计算辛夷药材提取物中木兰脂素的含量,并折算成木兰脂素占辛夷药材的百分含量。

#### 2.2 木兰脂素含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 流动相:乙腈-水(40:60),检测波长 238 nm,柱温为常温,所有样品经微孔滤膜过滤后进样,进样量 20 μl。

2.2.2 标准曲线建立 精密称取木兰脂素对照品约 2.8 mg,置于 10 ml 容量瓶中,加入流动相溶解并定容,作为木兰脂素对照品储备液。从该储备液中分别移取适量体积,以流动相稀释成浓度分别为 5.6、16.8、28、56、117.6、240.8 μg/ml 的对照品溶液。进行 HPLC 分析,以峰面积定量。以峰面积积分值(Y)为纵坐标,对照品浓度值(X)为横坐标,计算得到线性回归方程:Y=29 227X-3 617.4,r=0.999 9。

2.3 正交试验结果 实验结果及方差分析分别见表 1、表 2,木

**[收稿日期]** 2009-12-08 **[接受日期]** 2010-03-04

**[基金项目]** 第二军医大学“大学生创新能力培养”基金(MS2008022). Undergraduate Innovation Ability Fund of Second Military Medical University (MS2008022).

**[作者简介]** 李晓林,第二军医大学药学专业本科 2006 级学员. E-mail: Lixiaolin 871115@sina.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81871265, E-mail: qi Yunpeng@hotmail.com

兰脂素对照品及辛夷药材提取液的典型 HPLC 图谱见图 1。

表 1 微波萃取正交试验设计及木兰脂素含量结果

编号	A V/ml	B t/s	C θ/°C	木兰脂素含量 ρ <sub>B</sub> /(μg·ml <sup>-1</sup> )	木兰脂素 占辛夷药材的 百分含量(%)
1	75	600	70	575.69	2.28
2	75	800	76	669.95	2.68
3	75	999	80	567.34	2.27
4	80	600	76	586.36	2.35
5	80	800	80	632.78	2.53
6	80	999	70	643.86	2.58
7	85	600	80	660.72	2.64
8	85	800	70	692.99	2.77
9	85	999	76	672.55	2.69
K <sub>1</sub>	7.23	7.27	7.63		
K <sub>2</sub>	7.46	7.98	7.72		
K <sub>3</sub>	8.1	7.54	7.44		
R	0.29	0.24	0.09		

A: 溶剂用量; B: 萃取时间; C: 萃取温度

表 2 辛夷药材中木兰脂素含量的方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	0.136	2	0.068	13.000	<0.01
B	0.086	2	0.043	8.235	<0.01
C	0.014	2	0.007	0.675	>0.05
误差(E)	0.047	9	0.005 8		

A: 溶剂用量; B: 萃取时间; C: 萃取温度.  $F_{0.10}(2,9) = 3.10$ ;  $F_{0.01}(2,9) = 8.02$

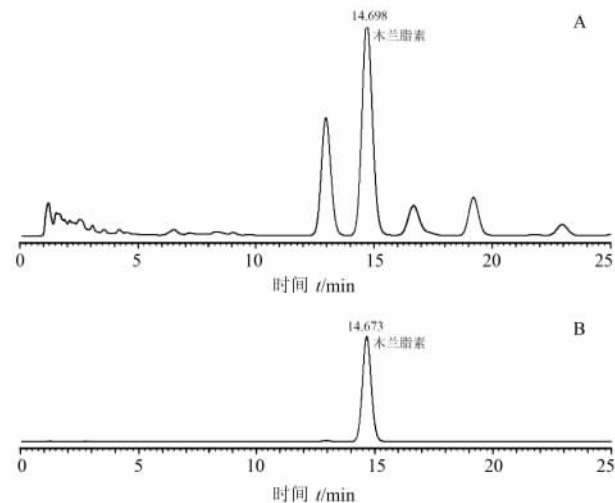


图 1 辛夷药材微波提取液(A)和木兰脂素对照品(B)的典型 HPLC 图谱

由表 1 和表 2 结果可知,各因素对提取工艺的影响程度依次为 A>B>C,即 A 因素(溶剂用量)影响最为显著,B 因素(萃取时间)影响为其次,C 因素(萃取温度)无统计意义。通过比较表 1 中得出的 K<sub>1</sub>、K<sub>2</sub> 和 K<sub>3</sub>,可得出辛夷药材中木兰脂素的最佳提取工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,即 75%乙醇用量 85 ml、微波萃取时间 800 s,微波萃取温度 76℃。

2.4 验证实验 精密称取辛夷药材约 2.5g,根据最佳提取条件进行验证实验。将 3 次测得的木兰脂素的峰面积代入线性回归方程,最终计算出辛夷药材中木兰脂素的含量分别为 6.39%、6.53%、6.83%,平均含量为 6.59%,提取率均高于表 1 正交试验中得到的结果,且结果重复性好,说明所选工艺参数合理。

### 3 讨论

本实验中,在提取辛夷药材中的木兰脂素之前,先用蒸馏水对药材进行了提取并弃去水层,其目的是除去辛夷药材中的色素和其他极性大的杂质,从而使色谱图中杂峰变少,以保证木兰脂素成分的分离效果。

根据微波萃取法的特点,本实验设计了 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验,选定溶剂用量、萃取时间和萃取温度 3 个因素进行了考察。结果表明,因素 A(溶剂用量)对结果有显著性影响,因素 B(萃取时间)次之,而因素 C(萃取温度)无统计意义。

微波加热可使细胞内液态水气化产生压力,冲破细胞膜和细胞壁形成微小孔洞,使溶剂进入细胞内。因此,选择最佳溶剂用量和萃取时间有利于分子极化,达到高效萃取的目的。微波萃取具有用时短、使用溶剂少和萃取效率高等特点,适合于天然产物有效成分的提取,对建立高效、环保的生态化工工艺具有重要意义。

本实验采用正交试验-微波萃取-HPLC 法研究了辛夷药材中木兰脂素成分的最佳提取条件。通过本研究优选出的最优微波萃取条件为 75%乙醇用量 85 ml,微波萃取时间 800 s,微波萃取温度 76℃。该条件下提取出的木兰脂素平均含量为 6.59%(2005 版《中华人民共和国药典》规定,按干燥品计算含木兰脂素不得少于 0.40%),且操作简便,重复性好,为辛夷药材的质量控制研究提供了有益参考。

### [参考文献]

- [1] 马玉良,韩桂秋.辛夷中木脂素成分的研究[J].中国中药杂志,1995,20:102.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005:126.
- [3] 于培明,田智勇,许启泰,董诚明,李恒.辛夷研究的新进展[J].时珍国医国药,2005,16:652-653.
- [4] 季金美,姜秋风.正交试验法优化五味子中总木脂素的提取工艺[J].青海师范大学学报:自然科学版,2008,1:43-45.
- [5] Padrón-Sanz C, Halko R, Sosa-Ferrera Z, Santana-Rodriguez J. Combination of microwave assisted micellar extraction and liquid chromatography for the determination of organophosphorous pesticides in soil samples [J]. J Chromatogr A, 2005, 1078(1-2):13-21.
- [6] 付玉杰,刘晓娜,施晓光,李双明,祖元刚,赵春建,等.正交实验优化甘草素提取工艺[J].化学工程,2007,35:75-78.
- [7] Ganzler K, Salgo A, Valko K. Microwave extraction: a novel sample preparation method for chromatography[J]. J Chromatogr, 1986, 371:299-306.
- [8] 马长雨,杨悦武,郭治昕,祝国光,元英进.微波萃取在中药提取和分析中的应用[J].中草药,2004,35:附7-附10.

[本文编辑] 尹 茶