

# 微波辅助无水甜菜碱/丁二醇提取薄荷黄酮工艺优化

都宏霞<sup>1</sup>, 于欣蕊<sup>1</sup>, 饶汀<sup>2</sup>, 张仕青<sup>1</sup>, 严忠杰<sup>1,3</sup>, 蒋梦宇<sup>1</sup>, 费泓浩<sup>1</sup>

(1. 南京科技职业学院, 江苏 南京 210048; 2. 南京江北新区公用控股集团有限公司, 江苏 南京 210061; 3. 南京工业大学, 江苏 南京 211816)

**摘要:** 目的 优化微波辅助无水甜菜碱/丁二醇提取薄荷黄酮工艺。方法 以无水甜菜碱和氯化胆碱作为氢键受体, 1, 3-丁二醇和山梨醇作为氢键供体, 制备4组低共熔溶剂, 进行提取效果比较。在单因素试验基础上, 以无水甜菜碱-1, 3-丁二醇-水摩尔比、液料比、微波时间为影响因素, 薄荷黄酮提取量为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。结果 最佳绿色提取溶剂为无水甜菜碱与1, 3-丁二醇组成的低共熔溶剂。最佳条件为液料比77:1, 无水甜菜碱-1, 3-丁二醇-水摩尔比6:1:50, 微波时间90 s, 薄荷黄酮提取量为10.51 mg/g。结论 该溶剂绿色、高效, 工艺合理可行, 提取时间短, 提取量高, 可用于薄荷黄酮的提取。

**关键词:** 薄荷; 黄酮; 低共熔溶剂; 微波辅助提取工艺; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)05-1640-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.037

薄荷属唇形科薄荷属, 是珍贵的药食同源植物<sup>[1-4]</sup>。薄荷中含有黄酮、酚类、精油、氨基酸等成分, 具有抗菌、抗炎、抗氧化等作用<sup>[2-5]</sup>。薄荷黄酮为其主要活性成分, 具有抗菌、抗癌、抗病毒、抗氧化等作用<sup>[6-8]</sup>。目前, 针对黄酮的提取溶剂主要为水和有机溶剂, 提取时间长, 效率低, 对环境不友好, 后采用超声波、微波等进行辅助提取, 可弥补效率低的不足<sup>[9-14]</sup>。微波提取是通过微波作用产生的热效应来辅助的, 操作简单、效率高<sup>[10,13-14]</sup>, 可用于绿色提取溶剂的开发。

低共熔溶剂作为一类绿色溶剂, 自2003年由Abbott等提出以来, 受到广泛关注和应用。低共熔溶剂是由氢键受体和氢键供体合成, 具有低毒性、可设计性、环境友好性等优点, 被认为是传统溶剂的良好替代品, 目前已有有效用于黄酮、多糖、多酚、花青素等提取研究<sup>[15-18]</sup>。

为探索薄荷黄酮的绿色、高效提取工艺, 本研究以无水甜菜碱和氯化胆碱作为氢键受体, 1, 3-丁二醇和山梨醇作为氢键供体, 设计并制备了4种不同绿色低共熔溶剂作为提取溶剂。在单因素试验基础上, 筛选显著性因素, 建立响应面数学模型对薄荷黄酮提取工艺进行优化, 以期对薄荷中药资源的绿色开发提供研究基础。

## 1 材料

1.1 试剂与药物 薄荷[中国北京同仁堂(集团)有限公司]经专家鉴定为正品。芦丁对照品(北京恒元启天化工技术研究院)。醋酸钾(南京化学试剂股份有限公司); 三氯化铝(上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 乙醇(无锡市亚盛化工有限公司); 1, 3-丁二醇、柠檬酸、山梨

醇、苹果酸(山东优索化工科技有限公司)。

1.2 仪器 7600紫外分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司); ME204E-02电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; TDL-50B微波炉(美的集团股份有限公司)。

## 2 方法

2.1 标准曲线绘制 参考文献[19]报道, 分别精密量取0.20 mg/mL芦丁对照品0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 置于不同比色管中, 加入50%乙醇至5.0 mL, 再加入0.1 mol/L AlCl<sub>3</sub>溶液3.0 mL、1 mol/L醋酸钾溶液5.0 mL, 充分摇匀, 静置40 min, 在415 nm波长处检测吸光度。

2.2 低共熔溶剂制备 选择氯化胆碱和无水甜菜碱作为氢键受体, 1, 3-丁二醇和山梨醇作为氢键供体, 在无水甜菜碱与1, 3-丁二醇摩尔比1:1、含水量50 mol的条件下制备DES-1~DES-4, 见表1。

表1 低共熔溶剂类型

类型	氢键受体	氢键供体
DES-1	氯化胆碱	1,3-丁二醇
DES-2	氯化胆碱	山梨醇
DES-3	无水甜菜碱	1,3-丁二醇
DES-4	无水甜菜碱	山梨醇

2.3 黄酮提取 精密称取薄荷粉末1.00 g, 在微波功率240 W、液料比40:1、时间90 s的条件下用DES-1~DES-4提取黄酮, 计算提取量, 公式为 $Y=cVD/m$ , 其中 $Y$ 为提取量,  $c$ 为溶液质量浓度,  $V$ 为溶液体积,  $D$ 为稀释倍数,  $m$ 为薄荷质量, 重复3次。

收稿日期: 2023-09-22

基金项目: 江苏省大学生创新创业训练计划项目(202112920004Y); 南京科技职业学院科研课题(NHKY-2020-05)

作者简介: 都宏霞(1981—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为天然产物提取及水处理。E-mail: hxdu@mail.ustc.edu.cn

2.4 单因素试验 使用提取量最高的 DES-3, 即无水甜菜碱和 1, 3-丁二醇构成的低共熔溶剂作为提取溶剂, 研究无水甜菜碱与 1, 3-丁二醇摩尔比 (10 : 1、8 : 1、6 : 1、4 : 1、2 : 1、1 : 1)、液料比 (20 : 1、30 : 1、40 : 1、50 : 1、60 : 1、70 : 1、80 : 1)、微波时间 (30、60、90、120、180、240 s)、微波功率 (80、240、400、640、800 W)、含水量 (30、40、50、60、70 mol) 对黄酮提取量的影响。

2.5 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上, 采用 Design-Expert V 8.0.6 软件, 以无水甜菜碱与 1, 3-丁二醇摩尔比 (A)、液料比 (B)、微波时间 (C) 为影响因素, 黄酮提取量 (Y) 为评价指标, 因素水平见表 2。

表 2 Box-Behnken 响应面法因素水平

因素	水平		
	-1	0	1
A 无水甜菜碱与 1,3-丁二醇摩尔比	4 : 1	6 : 1	8 : 1
B 液料比	40 : 1	60 : 1	80 : 1
C 微波时间/s	60	90	120

### 3 结果

3.1 标准曲线 方程为  $Y = 32.87X + 0.14$  ( $R^2 = 0.9998$ ), 在 0.1~1 mg/mL 范围内线性关系良好。

3.2 低共熔溶剂筛选 DES-1~DES-4 黄酮提取量分别为 (6.61±0.42)、(5.63±0.33)、(6.70±0.35)、(6.27±0.23) mg/g, 由大到小依次为 DES-3 (无水甜菜碱-1, 3-丁二醇) > DES-1 (氯化胆碱-1, 3-丁二醇) > DES-4 (无水甜菜碱-山梨醇) > DES-2 (氯化胆碱-山梨醇), 可见无水甜菜碱作为氢键受体组成的低共熔溶剂提取效果比氯化胆碱略好, 1, 3-丁二醇作为氢键供体组成的低共熔溶剂提取效果比山梨醇略好。其中, DES-3 的提取量最高, 为 6.70 mg/g; DES-2 的提取量最低, 为 5.63 mg/g, 因此选择 DES-3 作为薄荷黄酮的提取溶剂。

#### 3.3 单因素试验

3.3.1 无水甜菜碱与 1, 3-丁二醇摩尔比 如图 1 所示, 随着体系中无水甜菜碱比重的上升的增加, 黄酮提取量逐渐升高, 当两者摩尔比为 6 : 1 时最大, 之后逐渐降低, 这是因为 1, 3-丁二醇摩尔比例的升高可以有效调节低共熔溶剂的黏度及界面张力, 有益于黄酮类成分的溢出, 使提取量增加。因此, 最佳无水甜菜碱与 1, 3-丁二醇摩尔比为 6 : 1, 提取量为 7.22 mg/g。

3.3.2 液料比 如图 2 所示, 当液料比在 20 : 1~60 : 1 时黄酮提取量逐渐上升, 超过 60 : 1 时开始下降, 这是因为提取溶剂的增加提高了整个体系的溶解度, 益于黄酮类成分溢出, 而超过 60 : 1 时体系已经达到饱和, 黄酮类成分无法继续溢出。因此, 最佳提取液料比为 60 : 1, 提取量为 8.03 mg/g。

3.3.3 微波时间 如图 3 所示, 在微波功率 240 W、摩尔比 6 : 1、液料比 60 : 1 条件下, 微波 90 s 时黄酮提取量最大, 而大于 90 s 时反而下降, 这是因为提取时间延长可以

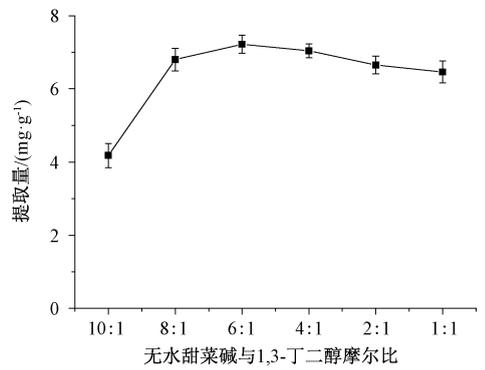


图 1 无水甜菜碱与 1, 3-丁二醇摩尔比对薄荷黄酮提取量的影响

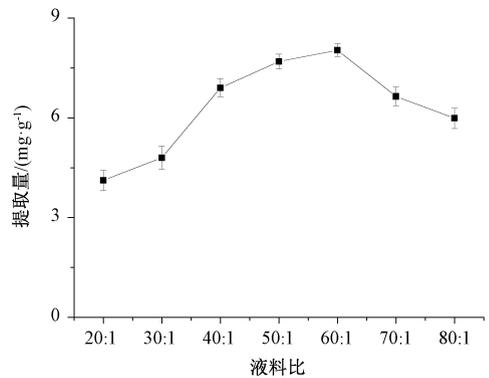


图 2 液料比对薄荷黄酮提取量的影响

很好地促进黄酮类成分溢出, 但同时体系温度升高, 在微波的作用下也会使其部分分解或氧化, 从而导致提取量有所降低<sup>[20]</sup>。因此, 最佳微波时间为 90 s, 提取量为 8.32 mg/g<sup>[1-2]</sup>。

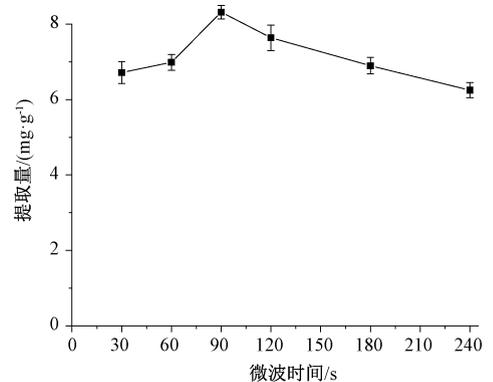


图 3 微波时间对薄荷黄酮提取量的影响

3.3.4 微波功率 如图 4 所示, 随着微波功率增加黄酮提取量不断上升, 为 800 W 时最大, 这是因为此时体系温度升高, 有益于黄酮类成分溢出。因此, 最佳提取功率为 800 W, 提取量为 8.31 mg/g。

3.3.5 含水量 如图 5 所示, 随着 DES 中含水量增加黄酮提取量不断升高, 为 50 mol 时最大, 随后逐渐下降, 这是因为当体系中含水量太低时黏度太大, 影响低共熔溶剂的传质效果<sup>[21]</sup>; 随着含水量增加黏度降低, 有利于黄酮类成

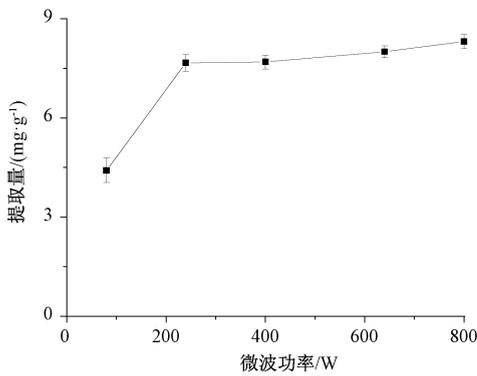


图4 微波功率对薄荷黄酮提取量的影响

分释放；但在50 mol后DES极性也会增加，不利于黄酮类成分的溢出。因此，最佳含水量为50 mol，提取量为7.30 mg/g。

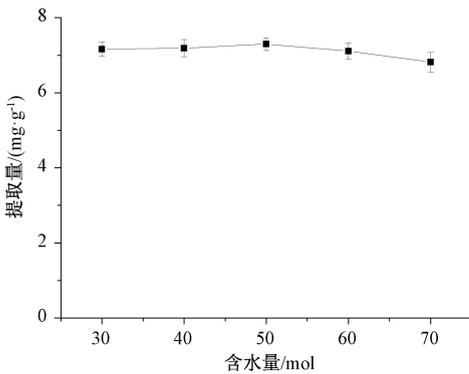


图5 含水量对薄荷黄酮提取量的影响

3.4 Box-Behnken 响应面法 采用 Design-Expert V 8.0.6 软件对表3数据进行回归分析，得方程为  $Y = 9.62 + 0.25A + 1.44B + 0.12C - 0.23AB - 0.10AC + 0.20BC - 0.11A^2 - 0.85B^2 - 0.47C^2$ ，方差分析见表4。由此可知，模型  $P < 0.01$ ，具有高度显著性；失拟项  $P > 0.05$ ，表明模型失拟项不显著；相关系数  $R^2$  为 0.979 5，表明模型能解释 97.95% 响应值的变化，可用于预测分析；失拟项  $P > 0.05$ ，说明模型回归极显著； $R^2$  为 0.979 5，CV 为 3.34%，小于 10%，说明实测值与预测值拟合一致性良好；信噪比为 13.983 ( $> 4$ )，说明模型的准确度较高<sup>[21]</sup>。

表3 Box-Behnken 响应面法设计与结果

试验号	A	B	C	Y 薄荷黄酮提取量/(mg·g <sup>-1</sup> )
1	-1	0	-1	8.67
2	-1	0	1	8.90
3	1	1	0	10.12
4	0	1	-1	9.30
5	-1	-1	0	6.75
6	-1	1	0	10.11
7	0	0	0	9.15
8	0	1	1	10.17
9	1	0	1	9.22
10	1	-1	0	7.68
11	0	0	0	9.82
12	0	0	0	9.90
13	0	-1	-1	6.84
14	0	-1	1	6.90
15	1	0	-1	9.40

表4 方差分析结果

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	20.93	9	2.33	26.54	0.001 1
A	0.50	1	0.50	5.65	0.063 4
B	16.62	1	16.62	189.62	<0.000 1
C	0.12	1	0.12	1.37	0.294 6
AB	0.21	1	0.21	2.41	0.180 9
AC	0.042	1	0.042	0.48	0.519 5
BC	0.16	1	0.16	1.87	0.229 6
A <sup>2</sup>	0.042	1	0.042	0.48	0.519 5
B <sup>2</sup>	2.68	1	2.68	30.56	0.002 7
C <sup>2</sup>	0.81	1	0.81	9.27	0.028 6
残差	0.44	5	0.088	—	—
失拟项	0.099	3	0.033	0.19	0.892 7
纯误差	0.34	2	0.17	—	—
总和	21.37	14	—	—	—

响应面分析见图6，曲线走势越陡，表明2个因素相互作用越显著<sup>[22-25]</sup>。由此可知，各因素影响程度依次为B(液料比) > A(无水甜菜碱与1,3-丁二醇摩尔比) > C(微波时间)；黄酮提取量随着无水甜菜碱与1,3-丁二醇摩尔比增加而提高，在6.15:1时达到最大，之后趋于平缓；提取量随着微波时间延长呈现先升高再下降的状态，在90s时出现最大值；黄酮提取量随着液料比增加呈现先升高再下降的状态，在77.47:1时达到最高点<sup>[25]</sup>。

3.5 验证试验 根据实际情况，修正最优工艺为无水甜菜

碱与1,3-丁二醇摩尔比6:1，液料比77:1，微波时间90s，黄酮提取量为10.51 mg/g，比模拟值高0.23 mg/g，说明模型与实际数据一致性较好，准确可靠。同时，以水为溶剂，在液料比77:1、微波时间90s的条件下测得黄酮提取量为3.26 mg/g。

#### 4 讨论

低共熔溶剂作为替代传统溶剂的一类新型溶剂，不仅绿色环保，更能高效提取活性成分。微波提取可以通过高频电磁波的穿透式加热，提高活性成分提取量，节省提取

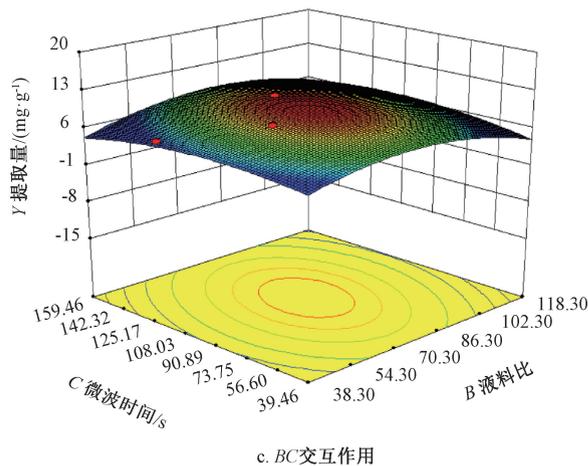
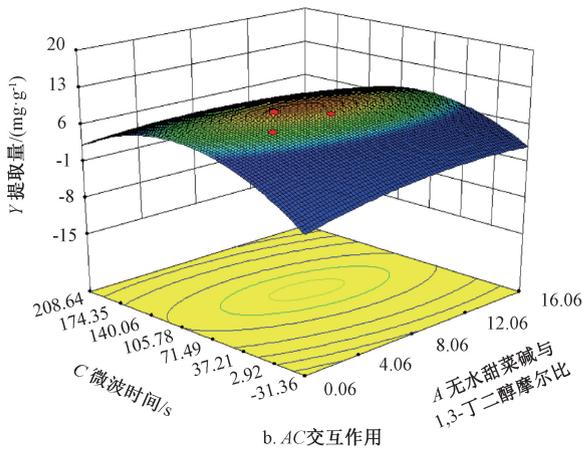
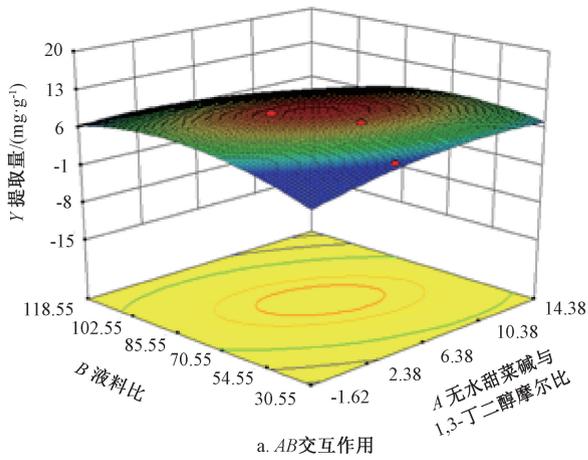


图6 各因素响应面图

时间。响应面法可以在单因素实验的基础上，筛选显著性影响因素，通过 Design-expert 软件进行交叉设计实验，优化提取工艺，节约时间、原料等成本，准确性和预测性均很高。因此，本研究以薄荷为原料，设计、制备并筛选了4种低共熔溶剂，建立了以无水甜菜碱-1,3-丁二醇组合而成的低共熔溶剂作为溶剂、与微波辅助相结合的提取工艺，并通过响应面法对提取工艺进行了优化，实验证实各因素对薄荷黄酮提取量的影响大小顺序为液料比>无水甜菜碱与1,3-丁二醇摩尔比>微波时间，得到最佳工艺条件为无水

甜菜碱与1,3-丁二醇摩尔比6:1，液料比77:1，含水量50 mol，微波功率800 W，时间90 s，在此条件下薄荷黄酮提取量为10.51 mg/g，是水溶剂提取的322.39%，并且提取时间短，提取量高。

黄酮作为植物中天然的活性成分，具有良好的抗氧化、抗炎、抗菌等多种作用，通过低共熔溶剂结合微波辅助提取薄荷黄酮不仅提取效率高，更可以减少有机溶剂对环境的污染，可为该药材深度开发提供研究基础。

参考文献:

[1] 肖牧原. 低功率超声醇提薄荷总黄酮工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 中国药业, 2021, 30(4): 41-45.

[2] 高丹丹, 郭鹏辉, 祁高展, 等. 响应面法优化薄荷全草总黄酮的提取工艺[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 299-303; 322.

[3] Dong W J, Ni Y, Kokot S. A novel near-infrared spectroscopy and chemometrics method for rapid analysis of several chemical components and antioxidant activity of mint (*Mentha haplocalyx* Briq.) samples[J]. *Appl Spectrosc*, 2014, 68(2): 245-254.

[4] 许一鸣, 吴啟南, 乐 巍, 等. 不同产地薄荷药材有机酸与黄酮类成分分析[J]. 中药材, 2018, 41(2): 299-302.

[5] 胡少伟, 钟昆芮, 杨佳颖, 等. 薄荷茎、叶中黄酮类成分在不同采收期的含量差异性研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(3): 544-550.

[6] 刘雪辉, 张 思, 张志旭, 等. 大孔吸附树脂纯化薄荷总黄酮工艺优选[J]. 食品与机械, 2016, 32(8): 156-158, 177.

[7] 陈晓思, 梁 洁, 林 婧, 等. 薄荷的化学成分、药理作用和质量标志物预测研究概况[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(3): 213-217.

[8] 陈向阳, 张 乐, 吴 莹, 等. LCMS-IT-TOF 法快速分析薄荷黄酮部位的主要化学成分[J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(8): 546-550.

[9] 景联鹏, 唐徐禹, 顾丽莉, 等. 植物中黄酮类化合物提取技术研究进展[J]. 纤维素科学与技术, 2021, 29(4): 60-70.

[10] 李亚军, 梁忠厚. 黄酮类化合物提取研究进展[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(11): 14-17.

[11] Hamed Y S, Abdin M, Akhtar H M S, et al. Extraction, purification by macropores resin and *in vitro* antioxidant activity of flavonoids from *Moringa oleifera* leaves[J]. *S Afr J Bot*, 2019, 124: 270-279.

[12] 李 阳, 余晓晖, 郭 玫, 等. 超声辅助提取西藏凹乳芹总黄酮工艺的优化[J]. 中成药, 2022, 44(2): 362-366.

[13] Niu Q, Gao Y M, Liu P H. Optimization of microwave-assisted extraction, antioxidant capacity, and characterization of total flavonoids from the leaves of *Alpinia oxyphylla* Miq[J]. *Prep Biochem Biotechnol*, 2019, 50(1): 82-90.

[14] 吴进东, 董欣华, 朱旺生, 等. 霍山石斛花总黄酮微波辅助提取工艺的优化[J]. 中成药, 2021, 43(7): 1704-1707.

- [15] Skarpalezos D, Detsi A. Deep eutectic solvents as extraction media for valuable flavonoids from natural sources[J]. *Appl Sci*, 2019, 9(19): 4169.
- [16] Wan Y Y, Wang M, Gao D E, et al. Extraction and determination of bioactive flavonoids from *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medicus flowers using deep eutectic solvents coupled with high-performance liquid chromatography[J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(11): 2044-2052.
- [17] Mansur A R, Song N E, Nam T G. Optimizing the ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of flavonoids in common buckwheat sprouts[J]. *Food Chem*, 2019, 293: 438-445.
- [18] Pal C B T, Jadeja G C. Microwave-assisted deep eutectic solvent extraction of phenolic antioxidants from onion (*Allium cepa* L.) peel: a Box-Behnken design approach for optimization[J]. *J Food Sci Technol*, 2019, 56(9): 4211-4223.
- [19] 张荣泉, 王 莲, 吕 方. 比色法测定果蔬纤维颗粒中总黄酮的含量[J]. *食品研究与开发*, 2008, 29(10): 95-97.
- [20] Bi W T, Tian M L, Row K H. Evaluation of alcohol-based deep eutectic solvent in extraction and determination of flavonoids with response surface methodology optimization[J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1285(2): 22-30.
- [21] 都宏霞, 陶劲强, 王 翔, 等. 响应面优化人参花黄酮提取工艺及抗氧化活性[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(12): 216-221; 230.
- [22] Kumar M, Dahuja A, Tiwari S, et al. Recent trends in extraction of plant bioactives using green technologies: A review[J]. *Food Chem*, 2021, 353: 129431.
- [23] Zhou Z K, Yang Z H, Sun Z X, et al. Optimization of bioleaching high-fluorine and low-sulfur uranium ore by response surface method[J]. *J Radioanal Nucl Ch*, 2019, 322(2): 781-790.
- [24] Arya A, Chahal R, Nanda A, et al. Statistically designed extraction of herbs using ultrasound waves: a review[J]. *Curr Pharm Des*, 2021, 27(34): 3638-3655.
- [25] Zayed A, Badawy M T, Farag M A. Valorization and extraction optimization of *Citrus* seeds for food and functional food applications[J]. *Food Chem*, 2021, 355: 129609.

## 酸枣仁提取物干燥工艺筛选

王荟文, 吴雪莹, 彭文慧, 丁 轲\*  
(北京农学院食品科学与工程学院, 北京 102206)

**摘要:** 目的 筛选酸枣仁提取物干燥工艺。方法 分别采用真空干燥、喷雾干燥、微波干燥干燥提取物, 单因素试验和正交试验对3种干燥方法进行优化, 通过HPLC-ELSD、HPLC-MS-MS、粒径、扫描电镜、理化指标分析对比3种干燥产物的有效成分含量、理化指标、产物形态。结果 最佳干燥方法为微波干燥, 干燥工艺为真空度0.085 MPa, 微波功率1 kW, 载样量1.5 kg。结论 微波干燥时间短, 损耗低, 更适合酸枣仁提取物干燥。

**关键词:** 酸枣仁提取物; 喷雾干燥; 真空干燥; 微波干燥; 正交试验

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)05-1644-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.038

酸枣仁为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种子, 始载于《神农本草经》, 其味甘, 性平, 具有宁心、生津、补肝等功效<sup>[1-2]</sup>。现代研究表明, 酸枣仁中有效成分主要为萜类、黄酮类、皂苷类、生物碱类其有效成分的提取已被广泛研究, 但酸枣仁提取物干燥方面研究较少。

目前, 中药材及制剂常用干燥方法有真空干燥、流化床干燥、微波干燥等<sup>[3]</sup>, 其中真空干燥存在效率较低、时间较长、生物活性成分无法保障<sup>[4]</sup>等问题; 喷雾干燥易出现严重粘壁和粉料焦糊等现象, 导致干燥效果差、产率低<sup>[5]</sup>的问题; 微波干燥不均匀, 功率大易焦糊。本

实验以有效成分含量为评价指标, 利用正交试验分别选出3种干燥方法的最优工艺参数, 并与冻干干燥产物有效成分含量损失率、理化指标和产物形态进行比较, 得到最适干燥工艺, 以期酸枣仁提取物干燥工艺的选择提供依据。

### 1 材料

酸枣仁购于河北安国中药材市场, 经北京农学院丁轲教授鉴定为正品。白桦脂醇、木兰花碱、斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 对照品 (纯度 ≥ 98%, 武汉天植生物科技有限公司); 酸枣仁皂苷 B<sub>1</sub>、酸枣仁皂苷 A<sub>1</sub>、白桦脂酸、葛根素、6"-阿魏酰斯皮诺素、荷叶碱对照品 (纯

收稿日期: 2023-04-04

作者简介: 王荟文 (1998—), 女, 硕士生, 从事天然产物应用研究。E-mail: 2810436931@qq.com

\* 通信作者: 丁 轲 (1978—), 男, 博士, 教授, 从事食品营养与安全研究。E-mail: 47924641@qq.com