

文章编号:1671-1513(2011)05-0036-05

微波与超声波提取绞股蓝总皂甙比较研究

易克传, 曾其良, 李慧

(安徽科技学院工学院, 安徽凤阳 233100)

摘要:以绞股蓝全草为原料,采用微波和超声波对绞股蓝总皂甙提取进行了对比研究,两种方法分别采用单因素实验及正交试验,探讨了优化提取条件和参数.结果表明:微波提取的优化工艺参数,料液比为1 g:25 mL,微波处理时间为11 min,微波功率为400 W,总皂甙提取率为7.59%;超声波提取的优化工艺参数,料液比为1 g:25 mL,提取温度为70℃,超声波处理时间为20 min,超声波功率为400 W,总皂甙提取率为8.01%.

关键词:绞股蓝;皂甙;微波提取;超声波提取

中图分类号:TS202.3;TQ021.4;R284.2

文献标志码:A

绞股蓝(*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino)又名七叶胆,为葫芦科绞股蓝属植物^[1],是一种常用中药,广泛分布于日本、朝鲜及我国长江以南各省和陕西南部.绞股蓝是一种食药两用植物,20世纪70年代以来,我国医药工作者和日本学者对绞股蓝的化学成分、营养、药理作用做过很多研究.绞股蓝属植物主要含有皂甙、黄酮、多糖、氨基酸、植物蛋白、色素、有机酸及微量元素等化学成分^[2-3].绞股蓝皂甙为绞股蓝的主要药效成分之一,具有抑制肿瘤、防止衰老、降低血脂、增强免疫、防治糖皮质激素不良反应、保护心脏和肝脏、降低血糖、镇静止痛及抗溃疡等药理作用^[4-5].近年来,绞股蓝皂甙被广泛应用于保健食品、医药及化妆品的生产中.

从天然产物中提取皂甙类物质的方法很多.传统方法有水提醇沉法、溶剂提取法、大孔树脂法等.这些方法主要存在工艺复杂,所需的时间较长,生产成本高等缺点.随着现代科技的发展,微波和超声波技术越来越多用于天然产物的提取上,微波和超声波以其反应灵敏、升温快速均匀、操作简单、工作效率高、有效成分提取率高等优点越来越受到人们的重视,已被运用于植物有效成分提取,植物中重金属的提取等^[6-10].

本研究用正交试验法考察了分别采用微波和超

声波提取绞股蓝皂甙的工艺条件和提取率,为绞股蓝的开发和工业化生产提供依据.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

绞股蓝,购于湖北省咸丰县绿缘富硒绞股蓝有限公司,经安徽农业大学岳鹏翔教授鉴定为葫芦科植物绞股蓝的全草,属甜味型绞股蓝;人参皂甙Rb1对照品,中国药品生物制品检定所;甲醇、高氯酸、冰醋酸、香草醛等均为分析纯.

JWFC-16型万能粉碎机,河南省荥阳宏乐机械厂;AEL-160型电子天平,日本岛津公司;R-201型旋转蒸发器,北京长安科学仪器厂;B-290型喷雾干燥机,瑞士Buchi公司;UV-265型分光光度计,日本岛津公司;J80-2B型离心分离机,上海安亭科技有限公司制造;DZC-403型真空干燥箱,天津天宇机电仪器有限公司;WD900SL23-2型微波炉,苏州三星电子有限公司;JCT-1200W型超声波提取机,山东省济宁市超声波电子仪器厂.

1.2 实验方法

1.2.1 提取方法

绞股蓝全草经干燥后粉碎成粗粉,称取10.00 g绞股蓝粗粉,置于三角烧瓶中,根据实验要求条件分

收稿日期:2011-04-11

基金项目:安徽高等学校省级自然科学重点研究项目(KJ2010A075);科技部星火计划重点项目(2010GA710009).

作者简介:易克传,男,副教授,主要从事农产品加工工艺与设备的教学与研究工作.

别采用微波辅助浸提和超声波辅助浸提两种方法提取,将提取液进行离心处理得上清液,取上清液蒸发浓缩再经真空干燥或喷雾干燥得粗提取物样品.粗提取物提取率(W_0)可计算得到.

$$W_0 = \text{粗提取物质量} / \text{绞股蓝原料质量} \times 100\%$$

1.2.2 粗提取物中总皂甙含量的测定

标准曲线的绘制按文献[11]的方法:精确称取人参皂甙 Rb1 标准品 10 mg,加入 5 mL 容量瓶中,用醇溶解稀释至刻度,摇匀,得到质量浓度为 2 mg/mL 的标准溶液.精确吸取标准溶液 100 μ L 置于 10 mL 具塞试管中.加入 5% 香草醛冰醋酸溶液 0.4 mL,高氯酸 1.6 mL,密封、摇匀,于 60 $^{\circ}$ C 水浴中保温 15 min 后取出,立即放入水浴中冷却至室温.加入 10 mL 冰醋酸,摇匀,置于比色皿中,在波长 400 ~ 600 nm 扫描,发现在 550 nm 处有最大吸收,故确定检测波长为 550 nm.精确吸取标准溶液 0, 50, 100, 150, 200, 250 μ L 置于 6 个 10 mL 具塞试管中,在 550 nm 处分别测定吸收值,空白试剂(甲醇)为参照,测得数据如表 1.

表 1 人参皂甙 Rb1 标准品吸光度

Tab.1 Absorbance of standard Ginsenoside Rb1

| 质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
|---|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| 吸光度 | 0 | 0.126 | 0.258 | 0.382 | 0.498 | 0.624 |

以溶液的吸光度值 A 和皂甙质量浓度 Y ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 为最小二乘法作线性回归处理,得标准曲线方程: $Y = 80.249A - 0.254$ ($R = 0.9998$).

提取物中总皂甙的测定:精确称取所得样品适量 M (mg),制成 60 mg/mL 的甲醇溶液,摇匀.精确吸取以上溶液 0.10 mL,加入 15 mL 具塞试管内.以下操作同标准曲线制法,在同一条件下测定吸光度,代入回归方程可求出皂甙质量浓度 (mg/mL),每个样品重复 3 次,取平均值,计算出提取物中总皂甙提取率 W_1 .

$$W_1 = \frac{C \times V \times W_0}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

式(1)中, W_1 为总皂甙提取率,%;

C 为皂甙质量浓度,mg/mL;

V 为提取物试样制成的标准溶液体积,mL;

M 为提取物样品质量,mg;

W_0 为提取物提取率,%.

2 结果与分析

2.1 单因素对绞股蓝皂甙提取率的影响

2.1.1 料液比对提取率的影响

称取绞股蓝粗粉 10.00 g,分别在微波功率 400 W,微波处理时间 7 min,及超声波功率 400 W,超声时间 30 min,提取温度 60 $^{\circ}$ C 条件下,考察不同料液比对绞股蓝皂甙提取率的影响,料液比 (g/mL) 分别采用 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35. 在微波及超声波两种方法下,不同料液比对绞股蓝皂甙提取的影响,结果见图 1.

图 1 不同料液比对提取率的影响

Fig.1 Effect on extract yield of different ratio of Material to liquid

由图 1 可以看出,随着料液比的增加,皂甙提取率均呈增加趋势.但当料液比为 1:25 后,提取率增加不明显;在同料液比下,超声波提取率高于微波提取率.这可能是由于溶剂增加,导致提取温度降低的缘故.因此以下实验中,微波法和超声波法均以料液比为 1:25 为较佳料液比条件.

2.1.2 提取功率对提取率的影响

称取绞股蓝粗粉 10.00 g,加入 200 mL 水,分别在不同微波强度下处理 7 min,及在不同超声强度下处理 30 min,提取温度 60 $^{\circ}$ C 条件下,考察不同提取功率对绞股蓝总皂甙提取率的影响.提取功率分别采用 100, 200, 300, 400, 500, 600 W. 结果见图 2.

由图 2 可知,随着提取功率的增大,绞股蓝皂甙提取率均随之提高,这主要是由于随着提取功率的增加,物料在单位时间内获得能量逐步增加,会加剧原料中组织细胞的破裂,使得皂甙类物质溶出,从而使提取量增加;但微波功率超过 400 W 后,绞股蓝皂甙提取率有所下降.因为当微波功率增加时,提取液温度在短时间内达到上限值,导致提取溶媒沸腾,使得皂甙类化合物损失,而超声波提取时避免了提

取液沸腾的现象. 因此,从图2中曲线可看出,超声波提取的总皂甙量较微波提取量大,且微波及超声波提取功率的最佳值均为400 W. 因此以下实验中,提取功率均设定为400 W.

图2 不同功率强度对提取率的影响

Fig.2 Effect on extract yield of different power

2.1.3 处理时间对提取率的影响

称取绞股蓝粗粉10.00 g,加入200 mL水,在微波功率400 W条件下,分别处理3,5,7,9,11,13 min;在超声波功率400 W条件下,分别处理5,10,15,20,25,30 min,考察不同提取时间对绞股蓝总皂甙提取率的影响. 结果见图3.

由图3可知,随着处理时间的延长,两种方法中绞股蓝皂甙提取率均呈上升趋势,这主要是由于处理时间的增加,物料在单位时间内获得能量逐步增加,使有效成分进入溶剂量增加,从而使提取量增加. 但当微波提取9 min,超声波提取20 min后,皂甙提取率不再增加,其原因可能是随着微波和超声波作用时间的进一步加长,一些不溶物质进入水溶液,对过滤产生阻滞作用,从而影响提取率. 因此,优化的微波处理时间为9 min,优化的超声波处理时间为20 min.

图3 不同处理时间对提取率的影响

Fig.3 Effect on extract yield of different processing time

2.2 正交试验结果与分析

2.2.1 微波提取正交试验

通过以上实验可知,影响微波提取绞股蓝皂甙的主要因素是料液比、微波处理时间、微波功率等,为了全面考察这3个因素的影响,设计了三因素三水平的正交试验. 因素与水平见表2.

表2 因素水平表

Tab.2 Factor and Level

| 水平 | 因素 | | |
|----|---------------|------------------|-------------|
| | A 处理时间/min | B 料液比/(g: mL) | C 微波功率/W |
| 1 | 7 | 1:15 | 300 |
| 2 | 9 | 1:20 | 400 |
| 3 | 11 | 1:25 | 500 |

试验结果见表3,由DPS数据处理系统软件按方差分析理论分析计算得方差分析结果,见表4. 试验重复系数为3.

表3 $L_9(3^4)$ 正交试验及结果

Tab.3 $L_9(3^4)$ arrangement and results of orthogonal test

| 试验号 | 因素 | | | 皂甙得率/ % |
|-------------|-------|-------|-------|------------|
| | A | B | C | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 5.70 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 6.10 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 6.17 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 7.08 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 6.36 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 6.13 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 6.46 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 6.77 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 7.56 |
| K_1 | 17.97 | 19.24 | 18.60 | |
| K_2 | 19.57 | 19.23 | 20.74 | |
| K_3 | 20.79 | 19.86 | 18.99 | |
| \bar{K}_1 | 5.99 | 6.41 | 6.20 | |
| \bar{K}_2 | 6.52 | 6.41 | 6.91 | |
| \bar{K}_3 | 6.93 | 6.62 | 6.33 | |
| R_j | 0.94 | 0.21 | 0.71 | |

表4 方差分析结果

Tab.4 Results of variance analysis

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均值 | F 值 | 显著水平 |
|-------|------|-----|---------|-------|------|
| A | 1.33 | 2 | 0.665 | 42.90 | ** |
| B | 0.09 | 2 | 0.045 | 2.90 | |
| C | 0.87 | 2 | 0.435 | 28.06 | ** |
| D(误差) | 0.31 | 20 | 0.015 5 | | |

注: ** 表示因子在 0.01 水平上对性能的影响显著; * 表示因子在 0.05 水平上对性能的影响显著. $F_{0.05} = 3.49, F_{0.01} = 5.85$.

极差分析结果表明,用微波辅助法提取绞股蓝皂甙,各因素对提取率影响的主次为: $A > C > B$,即提取时间 > 微波功率 > 料液比;方差分析表明,微波处理时间和微波功率对绞股蓝皂甙提取率影响均较显著,料液比对其影响不显著.根据分析得出优化提取工艺条件为 A3B2C2,即料液比为 1 g:25 mL,微波处理时间为 11 min,微波功率为 400 W.

按照优化的提取工艺条件进行实验,测得绞股蓝皂甙得率为 7.59%,优于正交试验表中的任何一组.

2.2.2 超声波提取正交试验

通过实验可知,影响超声波提取绞股蓝皂甙的主要因素是料液比、提取温度、超声波处理时间、超声波功率等,为了全面考察这 4 个因素的影响,设计了四因素三水平的正交试验.因素与水平见表 5.

表5 因素水平表

Tab.5 Factor and Level

| 水平 | 因素 | | | |
|----|------------|------|--------|--------|
| | A | B | C | D |
| | 料液比/(g:mL) | 温度/℃ | 时间/min | 超声功率/W |
| 1 | 1:15 | 60 | 20 | 300 |
| 2 | 1:20 | 70 | 25 | 400 |
| 3 | 1:25 | 80 | 30 | 500 |

试验结果见表 6,由 DPS 数据处理系统软件按方差分析理论,分析计算得方差分析结果,见表 7.试验重复系数为 3.

极差分析结果表明,用超声波法提取绞股蓝皂甙,各因素对提取率影响的主次为: $A > D > B > C$,即料液比 > 超声波功率 > 提取温度 > 超声波处理时间;方差分析结果表明,料液比、提取时间、超声波功率、提取温度四因素对绞股蓝皂甙提取率影响均较显著,对提取结果均有较大的影响.因此,在超声波提取时应进行综合考虑,根据以上分析得出优化

表6 $L_9(3^4)$ 正交试验及结果Tab.6 $L_9(3^4)$ Arrangement and results of orthogonal test

| 试验号 | 因素 | | | | 皂甙得率/% |
|-------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | A | B | C | D | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 7.01 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 7.56 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 7.36 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 7.50 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 7.47 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 7.71 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 7.60 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 7.97 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 7.44 |
| K_1 | 21.93 | 22.11 | 22.69 | 21.92 | |
| K_2 | 22.68 | 23.00 | 22.50 | 22.87 | |
| K_3 | 23.01 | 22.51 | 22.43 | 22.83 | |
| \bar{K}_1 | 7.31 | 7.37 | 7.56 | 7.31 | |
| \bar{K}_2 | 7.56 | 7.67 | 7.50 | 7.62 | |
| \bar{K}_3 | 7.67 | 7.50 | 7.48 | 7.61 | |
| R_j | 0.36 | 0.30 | 0.08 | 0.31 | |

表7 方差分析结果

Tab.7 Results of variance analysis

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | 显著水平 |
|------|---------|-----|---------|--------|------|
| A | 0.204 2 | 2 | 0.104 2 | 148.86 | ** |
| B | 0.132 5 | 2 | 0.066 3 | 94.71 | ** |
| C | 0.012 1 | 2 | 0.006 1 | 8.71 | ** |
| D | 0.192 4 | 2 | 0.096 2 | 137.43 | ** |
| 误差 | 0.012 1 | 18 | 0.000 7 | | |

注: ** 表示因子在 0.01 水平上对性能的影响显著; * 表示因子在 0.05 水平上对性能的影响显著. $F_{0.05} = 3.49; F_{0.01} = 5.85$.

提取工艺条件为 A3B2C1D2,即料液比为 1 g:25 mL,提取温度 70 ℃,超声波处理时间为 20 min,超声波功率为 400 W.

按照优化的提取工艺条件进行实验,测得绞股蓝皂甙得率为 8.01%,优于正交试验表中的任何一组.

3 讨论

以绞股蓝总皂甙提取率为考察指标,研究了微波和超声波法提取绞股蓝皂甙的工艺条件,对料液比、微波功率、超声波功率、提取时间和提取温度等

因素进行了实验与分析. 从绞股蓝皂甙提取率分析,超声波法高于微波法,可能是由于微波辅助提取时,易导致提取液温度过高,破坏提取物有效成分,影响了提取率;从提取时间上分析,超声波法比微波所用时间长,生产效率不如微波辅助提取,同时,超声波处理后的提取液中含杂质较多,后续的过滤与澄清过程比微波提取液费时.

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志第七十三卷第一分册[M]. 北京:科学出版社,1986:265-277.
- [2] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编(下)[M]. 北京:人民卫生出版社,1978:467.
- [3] 魏均娴,陈业高,徐兴伦,等. 绞股蓝的化学成分研究 I. 一种新的达玛烷——绞股蓝皂甙元 II 的结构[J]. 化学学报,1991,49(9):932-936.
- [4] 潘峰,刘迪,黄翠霞,等. 绞股蓝皂甙的药理与临床研

- 究[J]. 现代中西医结合杂志,2006,15(5):674-676.
- [5] 方乍浦,曾宪仪. 绞股蓝酮甙 A 的化学结构[J]. 药学学报,1996,31(9):680-683.
- [6] 黎海彬,王邑,李俊芳,等. 微波辅助提取技术在天然产物提取中的应用[J]. 现代食品科技,2005,21(3):148-150.
- [7] Pan X J, Niu G G, Liu H Z. Microwave assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves[J]. Chemical Engineering and Processing, 2003, 42(1):129-133.
- [8] 王铮敏. 超声波在植物有效成分提取中的应用[J]. 三明高等专科学校学报,2002,19(4):45-53.
- [9] 林硕,岳琳娜,高学玲,等. 超声波强化提取绞股蓝皂苷的工艺研究[J]. 食品科学,2009,30(14):72-75.
- [10] 易克传,岳鹏翔,汪维云. 超声波强化提取滁菊花有效成分的试验研究[J]. 包装与食品机械,2005,23(6):5-8.
- [11] 寸永莉. 绞股蓝总甙的含量测定[J]. 中国新医药,2003,2(5):100-101.

Comparison Study on Microwave and Ultrasonic Wave Extraction of Gypenosides from *Gynostemma Pentaphyllum* (Thunb.) Makino

YI Ke-chuan, ZENG Qi-liang, LI Hui

(College of Technology, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China)

Abstract: The microwave and ultrasonic techniques were used to extract Gypenosides from *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) makino. The optimum extraction conditions were investigated by the single factor and orthogonal design. The optimal conditions for the microwave extraction were the ratio of material to solvent of 1:25 (g/mL), extracting time of 11 min, microwave power of 400W. Under the optimal conditions, the rate of Gypenosides was 7.59%. The optimal conditions for the ultrasonic extraction were as follows: the ratio of material to solvent of 1:25 (g/mL), extracting temperature of 70°C, extracting time of 20 min, ultrasonic power of 400W. Under the optimal conditions, the rate of Gypenosides was up to 8.01%.

Key words: *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) makino; Gypenosides; microwave extraction; ultrasonic extraction

(责任编辑:叶红波)