

不同方法提取匙羹藤总皂苷新工艺研究

伍善广^{1,2} 孙建华² 徐 庶² 廖丹葵² 韦藤幼² 陈晓光² 童张法^{2,*}
(1.柳州医学高等专科学校,广西柳州 545006;2.广西大学,广西南宁 530004)

摘 要:研究了微波萃取法和解吸-内部沸腾两步法提取匙羹藤叶中总皂苷的提取工艺,以总皂苷提取率为考察指标,得到微波辅助提取法最佳工艺为提取时间 8min、微波功率 250W、固液比 1:10、乙醇浓度 60%,总皂苷提取率为 97.93%;解吸-内部沸腾两步法最佳工艺为 80% 的乙醇解吸 10min,用 55℃ 的 60% 的乙醇减压提取,总皂苷提取率为 89.18%。与传统提取法对比可知,微波辅助提取-解吸-内部沸腾法大大缩短了提取时间,而微波辅助法具有溶剂消耗小、提取率高的特点。

关键词:匙羹藤 总皂苷 微波 解吸-内部沸腾 提取工艺

Study on different extraction technology of total saponins from gymnema sylvestre

WU Shan-guang^{1,2} SUN Jian-hua² XU Shu² LIAO Dan-kui²,
WEI Teng-you² CHEN Xiao-guang² TONG Zhang-fa^{2,*}

(1.Liuzhou Medical College, Liuzhou 545006, China;
2.Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: The microwave and releasing - inner ebullition extraction process of total saponins from gymnema sylvestre were studied. The microwave-assisted and releasing-inner ebullition extraction technology was optimized by orthogonal test with the content of total saponins of gymnema sylvestre as index, respectively. The optimal microwave-assisted extraction process was as follows: the extraction time was 8min, the microwave power was 250W, the ethanol concentration was 60%, the solid-solvent ratio was 1:10. In the above conditions, the extraction yield of total saponins from gymnema sylvestre leaf was 97.93%. The optimized releasing-inner ebullition extraction condition was as follows: gymnema sylvestre leaf was moistened with 80% ethanol 10min, then was extracted by 60% ethanol at 55℃ in the under pressure. The extraction yield was 89.18%. As compared with the traditional extraction method, microwave-assisted and releasing-inner ebullition extraction method was faster to operate and the microwave-assisted have higher extraction yield and less solvent consumption.

Key words: gymnema sylvestre; total saponins; microwave; releasing-inner ebullition method; extraction technology
中图分类号:TS201.1 文献标识码:A 文章编号:1002-0306(2011)05-0312-04

匙羹藤为萝藦科匙羹藤属,分布在广西、广东、福建、云南、台湾等地,其叶具祛风止痛、生肌消肿之功效^[1]。匙羹藤主要含有皂甙、萜类、黄酮、多肽、果胶、生物碱等成分,近年研究发现匙羹藤叶具有独特的降血糖、抗龋和抑制甜味等作用,其中皂甙类化合物匙羹藤酸(gymnemic acid)是其主要活性成分,为系列三萜皂苷类化合物^[2]。有关匙羹藤叶总皂苷的提取,以往研究主要以传统溶剂浸提法为主^[3-5],一些新型辅助提取技术如超声辅助提取、微波辅助提取以及解吸-内部沸腾两步提取均适用于皂苷的提

取^[6-8]。本课题组前期采用超声波辅助提取匙羹藤叶中的匙羹藤总皂苷,总皂苷提取率明显优于传统提取法^[9]。在此基础上,本文采用微波辅助提取法和解吸-内部沸腾两步提取法提取匙羹藤总皂苷,分别考察主要因素对总皂苷提取率的影响,优化提取工艺,并对匙羹藤叶总皂苷的不同提取方法及其效果进行了比较。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

匙羹藤药材 购于广西武鸣县医药公司,取干燥叶粉碎、过 40 目筛备用;齐墩果酸标准品 中国药品生物制品检定所;其他试剂 均为分析纯。

UV-2102PC 型紫外可见分光光度计 尤尼克-上海仪器有限公司;RE-52AA 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;NJL07-3 实验专用微波炉 中国南京杰全微波设备有限公司;FW100 型高速万能粉碎

收稿日期:2010-10-21 * 通讯联系人

作者简介:伍善广(1974-),男,在读博士,研究方向:药物新剂型与新技术。

基金项目:广西壮族自治区科技攻关项目(桂科攻 0718002-4);广西大学校级项目(X081039)。

机 天津泰斯特仪器有限公司; 解吸-内部沸腾提取装置 自制。

1.2 实验方法

1.2.1 匙羹藤总皂苷含量测定及提取率的计算 匙羹藤总皂苷含量测定及总皂苷提取率计算参照本实验室已建立的方法进行^[9]。

1.2.2 微波辅助提取方法工艺研究 准确称取匙羹藤叶粉末 10.0g 加稀乙醇, 浸提过程按一定条件在微波场中进行, 经微波作用一段时间后, 提取液经纱布过滤后浓缩。采用等体积的石油醚萃取三次, 每次 3h, 收集下层溶液, 再用等体积的饱和水的正丁醇萃取三次, 每次 24h, 合并正丁醇层, 浓缩后烘干。测吸光值, 计算匙羹藤总皂苷提取率。

分别采用单因素和正交实验考察各因素对总皂苷提取率的影响, 确定微波辅助提取匙羹藤总皂苷的最佳工艺条件。

1.2.3 解吸-内部沸腾两步法提取方法工艺研究 称取匙羹藤叶粉末 5.0g 置烧瓶中, 按固液比 1:15 加入一定浓度的乙醇溶液, 在室温下解吸一定时间, 把提取容器置于与提取温度相同的水浴中, 快速加入与提取温度相同的一定浓度的乙醇溶液, 同时减压至相应压力并提取 2min, 提取液按 1.2.2 方法处理并分析, 计算匙羹藤总皂苷提取率。

采用正交实验考察各因素对总皂苷提取率的影响, 确定解吸-内部沸腾两步法最佳工艺条件。

2 结果与讨论

2.1 微波法辅助提取法工艺研究

2.1.1 单因素对匙羹藤总皂苷提取率的影响

2.1.1.1 提取时间对匙羹藤总皂苷提取率的影响 乙醇浓度为 50%, 固液比 1:10, 微波功率为 300W, 改变微波提取时间, 匙羹藤总皂苷提取率的变化趋势如图 1 所示。在提取时间为 5min 之前, 随着微波时间的增加, 总皂苷提取率有所增加, 但微波 5min 后提取率不升反而有所下降。这是由于微波辐射在短时间内对细胞膜的破碎作用比较大, 溶出杂质增多, 导致有效成分溶解度降低; 同时由于微波辐射的时间愈长, 已有的有效成分亦可能被破坏, 导致提取率下降。因此, 每次微波提取时间为 5min。

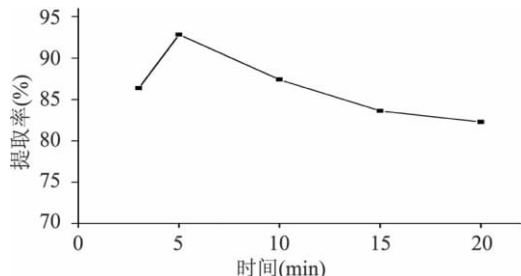


图1 微波时间对匙羹藤总皂苷提取率的影响

2.1.1.2 乙醇浓度对匙羹藤总皂苷提取率的影响

微波提取时间为 5min, 固液比 1:10, 微波功率为 300W, 改变乙醇浓度, 实验结果如图 2 所示。匙羹藤总皂苷提取率随乙醇浓度增加而提高; 但乙醇浓度大于 70% 时, 提取率增长趋于缓慢, 考虑到由于乙醇浓度越高, 生产成本越高, 因此选择 70% 乙醇作为提

取溶剂。

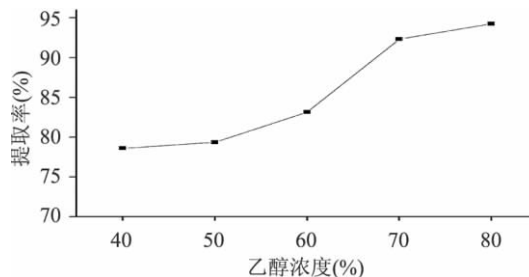


图2 乙醇浓度对匙羹藤总皂苷提取率的影响

2.1.1.3 微波功率对匙羹藤总皂苷提取率的影响

乙醇浓度为 70%, 固液比 1:10, 微波提取时间为 5min, 改变微波功率, 结果如图 3 所示。微波功率小于 300W 时, 随着功率增大, 匙羹藤总皂苷提取率增大。但是功率超过 300W 后, 匙羹藤总皂苷提取率反而会随之减小, 而当微波功率从 200W 增至 300W, 匙羹藤总皂苷提取率增加不明显。所以, 选择微波功率为 200W 左右为宜。

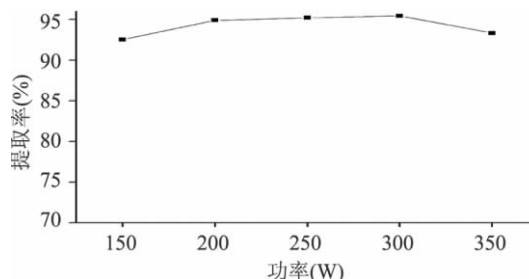


图3 微波功率对匙羹藤总皂苷提取率的影响

2.1.1.4 固液比对匙羹藤总皂苷提取率的影响

乙醇浓度为 70%, 微波功率为 200W, 微波提取时间为 5min, 改变固液比, 匙羹藤总皂苷提取率的变化如图 4 所示。由结果可知, 匙羹藤总皂苷的提取率随固液比的增大而增大, 当固液比大于 1:15 时, 提取率增加不明显, 故选择固液比为 1:15 左右为宜。

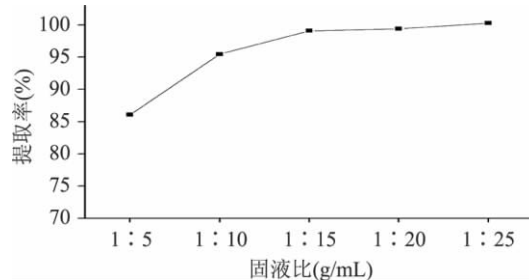


图4 固液比对匙羹藤总皂苷提取率的影响

2.1.2 正交实验结果及工艺验证 根据单因素考察的结果, 以总皂苷提取率为考察指标, 选取微波时间(A)、微波功率(B)、乙醇浓度(C)和固液比(D)按表 1 所示正交表 $L_9(3^4)$ 进行实验, 实验结果见表 1, 方差分析见表 2。

由表 1 的极差 R 值及表 2 的方差分析 F 值可知, 微波辅助提取法中各因素对总皂苷提取率影响的主次顺序为 $A > B > D > C$ 。又由方差分析可知, 提取时间有显著性差异 ($P < 0.05$), 为主要影响因素, 乙醇浓度对总皂苷提取率影响最小。由于乙醇浓度为次要因素, 随着乙醇浓度的增加, 总皂苷提取率变化不大, 从效益和能源方面考虑乙醇浓度选择 60%。

因此,最佳提取工艺条件可选择 $A_3B_3C_1D_1$,即提取时间 8min、功率 250W、固液比 1:10、乙醇浓度 60%。

表 1 正交实验结果

实验号	A 提取时间 (min)	B 微波功率 (W)	C 乙醇浓度 (%)	D 固液比 (g/mL)	总皂苷提取率 (%)
1	1(2)	1(150)	1(60)	1(1:10)	85.59
2	1	2(200)	2(70)	2(1:15)	86.30
3	1	3(250)	3(80)	3(1:20)	87.95
4	2(5)	1	2	3	89.29
5	2	2	3	1	91.19
6	2	3	1	2	90.79
7	3(8)	1	3	2	93.87
8	3	2	1	3	97.11
9	3	3	2	1	98.53
k_1	86.613	89.583	91.163	91.770	
k_2	90.423	91.533	91.373	90.320	
k_3	96.503	92.423	91.003	91.450	
R	9.890	2.840	0.370	1.450	

表 2 方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	F*	显著性
A	149.295	2	42.876	19	*
B	12.660	2	3.636	19	
C	0.207	2	0.059	19	
D	3.482	2	1.000	19	
E	3.482	2			

注: $F_{0.01}(2, 2) = 99$; $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

取 3 份匙羹藤叶粉末,每份 10.0g,按优选方案 $A_3B_3C_1D_1$ 的工艺进行验证实验。结果,匙羹藤总皂苷的平均提取率为 97.93%,RSD = 2.39%,表明该工艺稳定可行。

2.2 解吸-内部沸腾两步提取法工艺研究

根据预实验结果,以总皂苷提取率为考察指标,选取解吸液乙醇浓度(A)、解吸时间(B)、提取液乙醇(C)和提取温度(D)按表 3 所示正交表 $L_9(3^4)$ 进行实验,实验结果见表 3,方差分析见表 4。

表 3 正交实验结果

实验号	A 解吸液乙醇浓度 (%)	B 解吸时间 (min)	C 提取液乙醇浓度 (%)	D 提取温度 (°C)	总皂苷提取率 (%)
1	1(40)	1(10)	1(0)	1(40)	69.92
2	1	2(20)	2(30)	2(55)	80.01
3	1	3(30)	3(60)	3(70)	79.08
4	2(60)	1	2	3	79.70
5	2	2	3	1	75.79
6	2	3	1	2	76.51
7	3(80)	1	3	2	89.18
8	3	2	1	3	79.50
9	3	3	2	1	83.51
k_1	76.337	79.600	75.310	76.407	
k_2	77.333	78.433	81.073	81.900	
k_3	84.063	79.700	81.350	79.427	
R	7.726	1.267	6.040	5.493	

由表 3 的极差 R 值及表 4 的方差分析 F 值可知,两步法各因素影响的主次顺序为 $A > C > D > B$ 。又由表 4 方差分析可知解吸液浓度有显著性差异(P

<0.05)影响最大,解吸时间影响最小。由于解吸时间为次要因素,随着解吸时间的增加,总皂苷提取率变化不大,从效率和经济方面综合考虑选择解吸 10min,最优工艺条件确定为 $A_3B_1C_3D_2$,即最佳工艺条件为:用 80% 的乙醇解吸 10min,用 55°C 的 60% 的乙醇减压提取。

表 4 方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	F*	显著性
A	105.988	2	4.381	4.32	*
B	2.976	2	0.123	4.32	
C	69.774	2	2.884	4.32	
D	45.414	2	1.877	4.32	
E	48.39	4			

注: $F_{0.10}(2, 4) = 4.32$; $F_{0.05}(2, 4) = 6.94$ 。

取 3 份匙羹藤叶粉末,每份 5.0g,按优选方案 $A_3B_1C_3D_2$ 的工艺进行验证实验。结果,匙羹藤总皂苷的平均提取率为 89.18%,RSD = 2.63%,表明该工艺稳定可行。

2.3 几种不同提取方法提取匙羹藤总皂苷的效果比较

按最优微波辅助提取法及解吸-内部沸腾两步法提取工艺条件提取匙羹藤总皂苷,与超声及传统的提取工艺^[9]比较结果见表 5。以提取总时间考虑,超声法、微波辅助提取法及解吸-内部沸腾两步法与传统方法相比都大大缩短了提取时间,而微波辅助提取法所需时间最短;从单位提取溶剂消耗比较,亦是微波辅助提取法最小,其它三种方法则一样;比较总皂苷提取率,微波辅助提取法最好,解吸-内部沸腾两步法的提取率与传统方法相比差别不大。综上所述,采用微波辅助法提取相对其他几种方法,不仅匙羹藤总皂苷的提取率提高,而且可大大缩短提取时间,降低溶剂消耗量。

表 5 几种不同提取匙羹藤总皂苷方法的比较

提取方法	提取总时间 (min)	单位提取溶剂消耗 (mL/g)	总皂苷提取率 (%)
传统提取法	320	15	89.62
超声提取法	30	15	93.87
微波辅助提取法	8	10	97.93
解吸-内部沸腾两步法	12	15	89.18

3 结论

分别采用微波辅助提取法及解吸-内部沸腾两步法提取匙羹藤总皂苷,得到两种提取匙羹藤总皂苷的最佳工艺。其中微波辅助提取的最佳工艺条件为:提取时间 8min、微波功率 250W、固液比 1:10、乙醇浓度 60%,总皂苷提取率为 97.93%。解吸-内部沸腾两步法最佳工艺为:80% 的乙醇解吸 10min,用 55°C 的 60% 的乙醇减压提取,总皂苷提取率为 89.18%。与传统提取法比较,微波辅助提取法不仅大大缩短了提取时间,单位提取溶剂消耗也是几种提取方法中最少的,且总皂苷提取率最高。而解吸-内部沸腾两步法仅仅缩短了提取时间,提取率与传统提取方法差别不大,可见微波辅助提取法具有提取

(下转第 318 页)

著,因此各具体实验因子对响应值的影响不是简单的线性关系; $R^2 = 0.9436$,表明回归方程能够很好地模拟真实的曲面。因此,回归方程可以较好的描述各因素与响应值之间的真实关系。

2.2.3 响应面交互及优化 根据表3回归分析结果,作出响应曲面图,如图5~图7,从图中可知,酶用量和酶解时间是影响脱苦率的主要因素,两者交互作用高度显著,曲面较陡;酶解温度对其影响较小,与酶用量和酶解时间的交互都不显著,曲面相对较平滑。由等值线图可知,拟合面脱苦率最高值存在,即各因素都有一个对应的最适值。

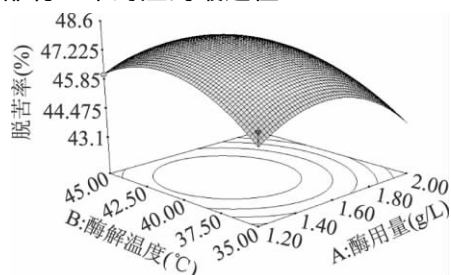


图5 酶用量与酶解温度的交互影响

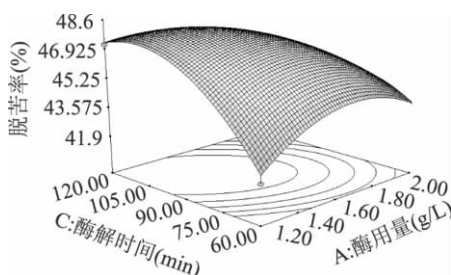


图6 酶用量与酶解时间的交互影响

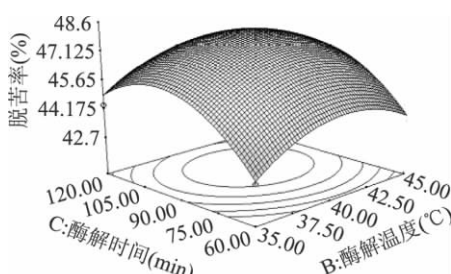


图7 酶解温度与酶解时间的交互影响

可以利用回归方程确定最佳酶解工艺条件,最佳工艺为:酶用量 1.42g/L,酶解温度 40.79℃,酶解时间 101.40min。采用上述优化工艺参数进行柚皮苷酶

对金桔汁的脱苦,考虑到实际操作的便利,将工艺参数修正为:酶用量 1.4g/L,酶解温度 41℃,酶解时间 101min。在此酶解条件下重复三次实验,平均脱苦率为 48.23%,与预测值 48.17%相比,其相对误差为 1.2%。因此采用响应面分析法得到的柚皮苷酶对金桔汁的脱苦工艺条件准确可靠。

3 结论

以金桔为原料,选择柚皮苷酶对金桔汁的脱苦率为指标,在单因素实验的基础上,采用响应曲面法对柚皮苷酶的脱苦工艺进行研究,确定最佳脱苦工艺为:酶用量 1.4g/L(酶活力为 414U/g),酶解温度 41℃,酶解时间 101min,pH 为金桔原汁 pH。在此酶解条件下,脱苦率达到 48.23%。

参考文献

- [1]孙志高,黄学根,焦必宁,等.柑桔果实主要苦味成分的分布及橙汁脱苦技术研究[J].食品科学,2005(6):146-148.
- [2]曾晓峰,章元日,李忠海,等.金橘应用研究的现状与前景[J].经济林研究,2007,25(3):90-92.
- [3]雷生姣,潘思轶.柚(皮)苷酶的研究进展[J].食品科学,2009(19):314-318.
- [4]汪钊,毛富根.柚苷酶生产菌的选育及发酵条件研究[J].微生物学报,1995,22(1):18-22.
- [5]王鸿飞,李和生,董明敏,等.柚皮苷酶对柑橘类果汁脱苦效果的研究[J].农业工程学报,2004,20(6):174-177.
- [6]Davis WB.Determination of flavanones in citrus fruits[J].AnalBiochem,1947,19(7):476-478.
- [7]脱苦科研组.柑桔主要苦味成分分析方法的研究[J].浙江工学院学报,1987(3):26-34.
- [8]Pick Neora,Cameron Scott,Arad Dorit,et al.Screening of Compounds Toxicity against Human Monocytic cell line-THP-lby Flow Cytometry[J].Bio Proced Online,2004(6):220-225.
- [9]许子竞,黎贵卿,黄丽,等.响应面法优化微波辅助提取滇桂艾纳香多糖工艺研究[J].食品工业科技,2010,30(1):220-223.
- [10]林峰,蔡木易,谷瑞增,等.基于响应面的玉米分离蛋白酶解工艺研究[J].食品发酵与工业,2008,34(1):60-64.
- [11]赵力斌.固定化柚苷酶及其对桔子汁脱苦的研究[J].食品与发酵工业,1987(1):15-34.
- [12]刘欣.食品酶学[M].中国轻工业出版社,2006.

(上接第314页)

时间最短、单位提取溶剂消耗最小、提取率最高的优点,具有良好的应用前景。

参考文献

- [1]中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴[M].第三册.北京:科学出版,2002:861,1040.
- [2]王英,叶文才,刘欣,等.匙羹藤中三萜皂甙类成分及其药理活性[J].国外医药·植物药分册,2003,18(4):146-151.
- [3]秦民坚,吴靳蓉,黄芸,等.匙羹藤叶总皂苷提取工艺研究[J].现代中药研究与实践,2003,17(3):39-41.
- [4]侯会绒,吴向阳,仰榴青,等.正交实验法优选匙羹藤总皂

- 苷的提取工艺[J].时珍国医国药,2006,17(6):917-918.
- [5]刘慧坤,吕晓玲.匙羹藤酸分离提取工艺研究[J].食品研究与开发,2006,27(4):49-51.
- [6]沈玥,丁元贺.超声辅助溶剂法提取珠子参总皂苷工艺的研究[J].食品工业科技,2009,30(8):231-233.
- [7]李健,任惠峰,陈妹娟,等.微波辅助萃取苦瓜总皂苷工艺研究[J].中国食品学报,2009,9(3):78-82.
- [8]李春玲,翁艳英,赵钟兴,等.三七总皂苷的减压内部沸腾提取及树脂吸附分离[J].时珍国医国药,2009,20(2):3.
- [9]廖丹葵,徐庶,韦藤幼,等.超声波提取匙羹藤总皂苷的工艺研究[J].中成药,2010,32(3):497-499.