

微波辅助提取玉竹总皂苷工艺条件优化

王晓林, 于丽颖, 辛建娟

(吉林化工学院化学与制药工程学院, 吉林 吉林 132022)

摘要:目的: 研究微波法提取玉竹总皂苷的最佳工艺条件。方法: 以玉竹提取干浸膏中总皂苷的含量为评价指标, 采用单因素和正交试验法对微波法提取玉竹总皂苷的工艺条件进行优化。结果: 确定玉竹总皂苷微波提取的最佳工艺条件为乙醇体积分数 50%、微波提取时间 10min、料液比 1:20(g/mL)、提取次数 3 次、微波功率 400W, 该条件下提取的玉竹总皂苷的平均含量为 5.414mg/g。结论: 优选得到的微波提取工艺简单易行, 稳定性好。

关键词: 微波; 总皂苷; 玉竹; 提取

Optimization of Microwave-assisted Extraction of Total Saponins from *Rhizoma Polygonati odorati*

WANG Xiao-lin, YU Li-ying, XIN Jian-juan

(School of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Jilin Institute of Chemical Technology, Jilin 132022, China)

Abstract: Objective: To optimize conditions for the ethanol extraction of total saponins (TS) in *Rhizoma Polygonati odorati* with the assistance of microwave. Methods: The optimization of extraction conditions was performed by single factor and orthogonal array design methods based on TS content of extracts. Results: The optimal extraction conditions were obtained as follows: ethanol concentration 50%, material-to-liquid ratio 1:20 (g/mL) and microwave power 400 W for extraction repeated times for 10 min each time. The average content of TS in dry extracts was 5.414 mg/g under the optimum extracting condition. Conclusion: The optimized extraction process is simple and easy to operate and has good stability.

Key words: microwave; total saponins; *Rhizoma Polygonati odorati*; extraction

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)08-0147-04

玉竹为百合科植物玉竹(*Rhizoma Polygonati odorati*)的干燥根茎, 广泛分布于东北、华北、华东及陕西、甘肃、青海、台湾、河南、湖北、湖南、广东等地, 生物学特性喜温暖湿润气候, 喜阴湿环境, 较耐寒, 在山区和平坝都可栽培^[1]。玉竹幼苗和根状茎可食用, 营养丰富^[2], 可与肉、蛋、鱼等食品炒食或炖食, 是深受消费者青睐的保健美味佳肴^[3]。现代药理学研究表明, 玉竹具有扩张冠脉、降血脂、降血糖和增强免疫力等作用, 为滋养强壮剂, 其综合利用经济价值已逐渐引起人们的重视^[4-6]。玉竹主要含生物碱、黄酮类、苷类、多糖类、甾体、白屈菜酸、蒽酸、维生素 A 类物质、鞣质、氨基酸等^[7-8]。皂苷是植物中的一种重要的活性成分, 除用作药物外, 还可以作为高级化妆品和食品添加剂, 如作为抗菌剂、抗氧化剂、发泡剂等, 在化妆品和食品工业中具有广泛的应用^[9], 皂苷类物质常用的提取方法有加热回流法、超声法、微波法、酶法、压力溶剂提取和超临界 CO₂ 萃取等。微波提取

是利用微波能来提高提取率的一种新技术, 可以使提取效率大大提高, 有效地保护提取物质的功能成分, 同时大大节省提取时间^[10], 本实验采用微波法^[11-13]对玉竹总皂苷的提取工艺进行研究, 以期对玉竹资源的综合开发、利用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

薯蓣皂苷元对照品 中国药品生物制品检定所; 玉竹 安徽省亳州市华申药业有限公司; 水为重蒸馏水; 无水乙醇、甲醇、硫酸、石油醚等均为分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

MAS-II 微波辐射萃取仪 上海新仪微波化学科技有限公司; 752N 型三用紫外分析仪 上海分光仪器仪表有限公司; FA2004 型电子天平 上海精密科学仪器有限公司; KQ3200 型超声清洗萃取仪 昆山市超声仪器制造厂; RE-52A 型旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂; W5-

收稿日期: 2010-07-15

作者简介: 王晓林(1969—), 男, 副教授, 硕士, 主要从事天然产物有效成分的提取及纯化工艺研究。

E-mail: wangxiaolin69@eyou.com

100SP 型恒温水浴锅 上海申生科技有限公司; RT-08 型多功能粉碎机粉碎机 荣聪精密科技有限公司; 101-1BS 型电热鼓风干燥箱 天津市华北实验仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 总皂苷含量测定方法

1.3.1.1 检测波长的选择

精密称取薯蓣皂苷元对照品 1.50mg, 置于 100mL 容量瓶中, 加入无水甲醇溶解并定容至刻度, 配制成质量浓度 0.015mg/mL 的薯蓣皂苷元对照品溶液。称取干燥至质量恒定的玉竹干浸膏 0.25g, 置于具塞三角瓶中, 加入 25mL 无水甲醇, 超声使溶解, 加入 25mL 15% 硫酸溶液于沸水中回流 2h 冷却至室温, 转移到分液漏斗中, 用石油醚萃取 3 次, 每次 25mL, 合并石油醚萃取液, 将萃取液水浴浓缩至干, 残渣用 20mL 无水甲醇溶解, 过滤, 滤液转移到 25mL 容量瓶中, 加无水甲醇至刻度, 即得供试品溶液。取薯蓣皂苷元对照品溶液、供试品溶液各 2.0mL, 置 10mL 具塞试管中水浴挥干无水甲醇, 加入浓硫酸溶液(1mol/L)10.0mL, 置于 50℃ 水浴保温 30min, 冷却 4min, 以相应试剂为空白, 照紫外分光光度法, 在波长 300~600nm 之间进行光谱扫描, 结果薯蓣皂苷元在波长 408~410nm 区间出现最大吸收, 供试品在波长 410nm 处有最大吸收峰, 所以选 410nm 为测定波长^[14]。

1.3.1.2 标准曲线绘制

精密量取质量浓度 0.015mg/mL 的薯蓣皂苷元对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0mL 分别置于 6 个 10mL 具塞试管中, 水浴挥干无水甲醇, 加入浓硫酸溶液(1mol/L)10.0mL, 置于 50℃ 水浴保温 30min, 冷却 4min, 以相应试剂为空白, 采用紫外分光光度法, 在 410nm 波长处测吸光度。以质量浓度 C 为横坐标, 吸光度 A 为纵坐标, 绘制标准曲线, 进行直线回归^[15-17], 得回归方程: $A=0.04359C + 0.00123$, $R=0.9995$, 表明薯蓣皂苷元在 0.75~12.00 μg/mL 范围内呈良好的线性关系。

1.3.1.3 总皂苷含量测定

精密称取玉竹提取干浸膏 0.25g, 置于 100mL 烧瓶中, 加入 25.0mL 无水甲醇, 超声处理使溶解, 取出, 放冷, 加入 25.0mL 15% 硫酸溶液于沸水浴回流 2h, 冷却至室温, 转移到分液漏斗中, 用石油醚萃取 3 次, 每次 25.0mL, 合并石油醚萃取液, 将萃取液水浴浓缩至干, 残渣用 20mL 无水甲醇溶解, 过滤, 滤液转移到 25mL 容量瓶中, 加无水甲醇至刻度。取供试品溶液 2.0mL 置于 10mL 具塞试管中, 水浴挥干无水甲醇, 加入浓硫酸溶液(1mol/L)10.0mL, 置于 50℃ 水浴保温 30min, 冷却 4min, 以相应试剂为空白, 在 410nm 波长处测吸光度^[18], 将结果带入回归方程, 计算出供试品

中薯蓣皂苷元的相应质量浓度, 并由下式计算样品中总皂苷含量。

$$\text{总皂苷含量}/(\text{mg/g}) = \frac{C \times 25 \times 10}{m \times 2 \times 1000}$$

式中: C 为测定样液的质量浓度 $(\mu\text{g/mL})$; m 为干浸膏质量。

1.3.2 微波辅助提取玉竹总皂苷试验

取玉竹适量, 粉碎成粗粉, 称取 10.0g, 放入到烧瓶中, 加入乙醇, 放入微波萃取仪中, 在固定的微波功率和温度下微波提取 10min, 过滤, 合并提取液, 在 70℃ 旋转蒸发, 回收乙醇, 滤液浓缩至小于 50mL, 将浓缩提取液转移至干燥的表面皿上进行水浴浓缩, 待浓缩呈膏状, 将表面皿放入干燥箱内(65℃)进行干燥, 等到充分干燥至质量恒定后, 取干浸膏约 0.25g, 配制供试品溶液, 按 1.3.1.3 节方法测定样品总皂苷含量。以测定的干浸膏中总皂苷的含量为指标, 分别考察料液比、乙醇体积分数、微波功率、微波时间、微波次数对提取效果的影响, 并在单因素试验基础上, 对主要影响因素进行正交试验。

2 结果与分析

2.1 微波提取单因素试验

2.1.1 料液比对提取效果的影响

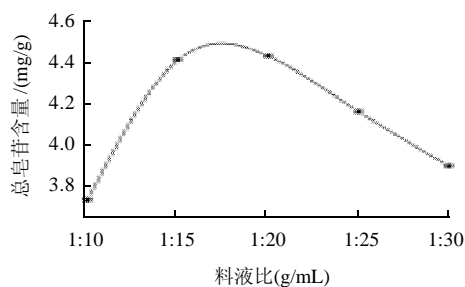


图1 料液比对提取效果的影响

Fig.1 Effect of material-to-liquid ratio on TS yield

取玉竹适量, 粉碎成粗粉, 称取 10.0g, 放入到烧瓶中, 以料液比分别为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30(g/mL)加入体积分数 70% 乙醇, 然后放入微波萃取仪中, 在固定的微波功率和 70℃ 左右提取 10min, 过滤, 滤渣重复提取 1 次, 过滤, 合并提取液, 用旋转蒸发仪回收乙醇, 按 1.3.2 节方法制成干浸膏, 测定干浸膏中总皂苷的含量。结果表明, 总皂苷的含量开始随溶剂量的增加有所增加, 在料液比为 1:20 时最高, 之后随着料液比的增加而出现下降的趋势, 结果见图 1。为了进一步考察料液比对提取效果的影响, 选择料液比分别为 1:17、1:20、1:23 进行正交试验。

2.1.2 乙醇体积分数对提取效果的影响

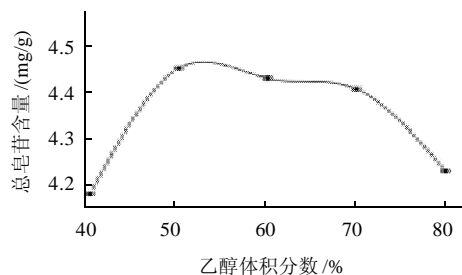


图2 乙醇体积分数对提取效果的影响

Fig.2 Effect of ethanol concentration on TS yield

取玉竹适量, 粉碎成粗粉, 称取 10.0g, 放入到烧瓶中, 料液比 1:20, 分别加入体积分数 40%、50%、60%、70%、80% 乙醇溶液, 微波提取 2 次, 每次提取 10min, 按 1.3.2 节方法制得干浸膏, 测定干浸膏中总皂苷的含量。结果表明总皂苷含量在乙醇体积分数 50% 时达到最高值, 之后随乙醇体积分数的升高含量有所下降, 结果见图 2。为了进一步考察乙醇体积分数对提取效果的影响, 所以在正交试验中选择乙醇体积分数 45%、50%、55% 进一步考察对总皂苷含量的影响。

2.1.3 微波提取时间对提取效果的影响

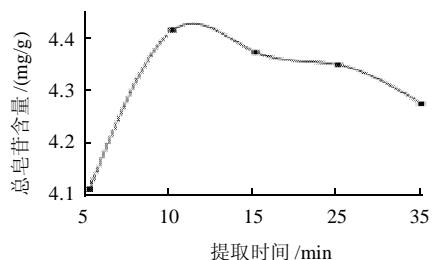


图3 提取时间对提取效果的影响

Fig.3 Effect of the extracting time on TS yield

取玉竹适量, 粉碎成粗粉, 称取 10.0g, 放入到烧瓶中, 料液比为 1:20, 加入体积分数 50% 的乙醇溶液, 提取 2 次, 每次微波提取时间分别为 5、10、15、25、35min, 按 1.3.2 节方法制得干浸膏, 测定干浸膏中总皂苷的含量。结果总皂苷的含量在 10min 时最高, 之后随提取时间的延长含量有所下降, 结果见图 3。为了进一步考察微波提取时间对提取效果的影响, 选择微波提取时间分别为 7、10、13min 进行正交试验。

2.1.4 微波功率对提取效果的影响

取玉竹适量, 粉碎成粗粉, 称取 10.0g, 放入到烧瓶中, 料液比为 1:20, 加入体积分数 50% 的乙醇溶液, 微波功率分别为 300、400、500、600、700W, 提取 2 次, 每次微波提取时间为 10min, 按 1.3.2 节方法

制得干浸膏, 测定干浸膏中总皂苷的含量。结果干浸膏中总皂苷的含量在 500W 时最高, 结果见图 4。所以在正交试验中选择微波功率为 400、500、600W 进一步考察对总皂苷含量的影响。

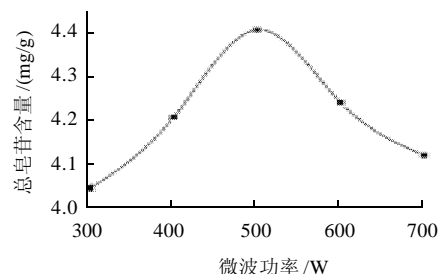


图4 微波功率对提取效果的影响

Fig.4 Effect of microwave power on TS yield

2.1.5 微波提取次数对提取效果的影响

取玉竹适量, 粉碎成粗粉, 称取 10.0g, 放入到烧瓶中, 料液比 1:20, 加入体积分数 50% 的乙醇溶液, 分别提取 1、2、3、4、5 次, 每次微波提取时间为 10min, 按 1.3.2 节方法制得干浸膏, 测定干浸膏中总皂苷的含量。结果干浸膏中总皂苷的含量除在提取 1 次时比较低以外, 提取 2、3、4、5 次时总皂苷的含量相差不是很大, 在提取 3 次时达到最高, 结果见图 5。所以在正交试验中将微波次数固定为 3 次。

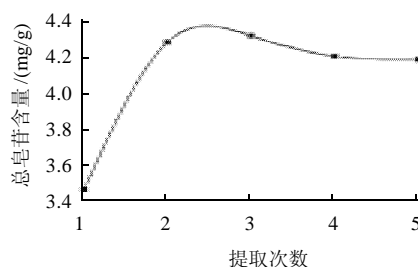


图5 提取次数对提取效果的影响

Fig.5 Effect of extraction times on TS yield

2.2 微波辅助提取玉竹总皂苷正交试验

2.2.1 因素及水平的考察

表1 微波辅助提取玉竹总皂苷正交试验因素水平表
Table 1 Factors and levels in orthogonal array design

水平	因素			
	A 乙醇体积分数/%	B 料液比(g/mL)	C 提取时间 /min	D 微波功率/W
1	45	1:17	7	400
2	50	1:20	10	500
3	55	1:23	13	600

根据单因素试验所得结论, 微波提取次数为 3 次, 选择料液比(1:17、1:20、1:23)、提取时间(7、10、

13min)、乙醇体积分数(45%、50%、55%)和微波功率(400、500、600W)4个因素,每个因素选择3个水平,设定因素水平表,见表1。

2.2.2 正交试验结果

取玉竹适量,粉碎成粗粉,称取10.0g,放入到烧瓶中,按正交试验表进行试验,结果见表2。

表2 微波辅助提取玉竹总皂苷正交试验结果
Table 2 Orthogonal array design arrangement and corresponding results

试验号	A	B	C	D	总皂苷含量/(mg/g)
1	1	1	1	1	4.109
2	1	2	2	2	4.814
3	1	3	3	3	4.515
4	2	1	2	3	4.368
5	2	2	3	1	5.185
6	2	3	1	2	5.024
7	3	1	3	2	4.021
8	3	2	1	3	4.912
9	3	3	2	1	5.350
k_1	4.479	4.166	4.682	4.881	
k_2	4.859	4.970	4.844	4.620	
k_3	4.761	4.963	4.574	4.598	
R	0.380	0.804	0.270	0.283	
优水平	A_2	B_2	C_2	D_1	

以干浸膏中总皂苷含量为考察指标,确定最佳提取方案为 $A_2B_2C_2D_1$,即料液比1:20(g/mL)、微波功率400W、乙醇体积分数50%、提取3次、每次提取时间10min为玉竹总皂苷含量最高的提取工艺。各因素对提取工艺影响的主次顺序为 $B > A > D > C$ 。

2.3 最佳工艺验证实验

为了考察上述优选工艺的稳定性,按该工艺条件重复提取3次,测得玉竹干浸膏中总皂苷的含量分别为5.351、5.414、5.478mg/g,平均为5.414mg/g,表明本实验优选的工艺稳定可靠。

3 结 论

在单因素试验基础上,通过正交试验优化玉竹总皂苷的提取方法,以玉竹干浸膏中总皂苷含量作为主要评

价指标,得出各因素对提取效果影响的主次顺序依次为料液比>乙醇体积分数>微波功率>微波时间。通过极差分析可知,料液比对于干浸膏中总皂苷含量影响显著,微波时间、微波功率对于干浸膏中总皂苷含量的影响不显著。玉竹总皂苷微波提取的最佳工艺条件为料液比1:20(g/mL)、微波功率400W、乙醇体积分数50%、提取3次、每次提取时间10min,在此条件下所得的玉竹干浸膏中总皂苷的含量为5.414mg/g。本实验为开发和利用玉竹有效部位提供了一定参考。

参考文献:

- [1] 吴志新,周生海,张利华. 玉竹的栽培与加工[J]. 特种经济动植物, 2004, 7(6): 28-28.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 1156.
- [3] 晏春耕,曹瑞芳. 玉竹的研究进展和开发利用[J]. 中国现代中药, 2007, 9(4): 33-37.
- [4] 彭扬,陆涛. 药食中药两用玉竹的研究进展[J]. 中南药学, 2008, 6(2): 216-219.
- [5] 李尘远,潘兴瑜,张明策,等. 玉竹提取物B抗肿瘤机制的初步研究[J]. 中国免疫学杂志, 2003, 19(4): 253-254.
- [6] 梁海霞,李焕德. 玉竹的药理活性研究进展[J]. 中南药学, 2008, 6(3): 342-344.
- [7] 张延红. 玉竹栽培技术[J]. 甘肃农业科技, 1998(8): 31.
- [8] 林厚文,韩公羽,摩时萱. 中药玉竹有效成分研究[J]. 药学报, 1994, 29(3): 215-222.
- [9] 李健,陈姝娟,张若男,等. 超声辅助溶剂法提取肉桂总皂苷工艺的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(4): 177-180.
- [10] 杨玲,郑成,战宇. 微波萃取技术及其在中草药方面的应用[J]. 广州大学学报: 自然科学版, 2004, 3(6): 519-522.
- [11] 李健,任惠峰,陈姝娟,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.
- [12] 刘忠英,晏国全,胡秀丽,等. 中药刺五加中总皂苷的微波辅助方法研究[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(1): 25-28.
- [13] 林文,李红娟,王志祥,等. 微波提取三七总皂苷的工艺研究[J]. 中成药, 2009, 31(11): 1759-1761.
- [14] 王光忠,刘伟伟,葛如斌,等. 分光光度法测定盾叶薯蓣皂苷元的含量[J]. 湖北中医学院学报, 2008, 10(2): 44-45.
- [15] 甄会贤,齐烨,陈扬,等. 白英中总皂苷的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6): 1402-1403.
- [16] 邱学艳,林厚文,沈利明,等. 不同显色剂对玉竹总皂苷含量测定的影响[J]. 药学服务与研究, 2006, 6(2): 129-132.
- [17] 王琴,张虹,王洪泉. 黄精及玉竹中甾体皂甙成分的测定[J]. 中华临床医药杂志, 2003, 4(2): 75-77.
- [18] 张玲,刘远东. 黄山药中薯蓣皂苷元的分光光度法测定[J]. 西南科技大学学报, 2006(4): 88-91.