

张艳花, 苏 箐, 李晓燕. 超声波辅助提取香灵草总皂苷的工艺[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 236–238.

超声波辅助提取香灵草总皂苷的工艺

张艳花, 苏 箐, 李晓燕

(河南城建学院, 河南平顶山 467036)

摘要:为获得香灵草总皂苷提取最佳工艺。采用单因素试验和正交试验, 确定了超声波辅助提取香灵草总皂苷的最佳工艺为: 提取温度 50 ℃, 提取时间 40 min, 超声功率 400 W, 料液比为 1 g : 30 mL。通过最佳工艺, 总皂苷提取率平均可达 5.74%。与乙醇浸提法相比, 超声波辅助提取香灵草总皂苷提取时间短, 提取率高。

关键词:香灵草; 总皂苷; 超声波辅助提取; 工艺优化

中图分类号:R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)06-0236-02

香灵草又名香草、佩兰、排草等, 为报春花科多年生草本植物, 分布在广西、广东、云南^[1]。全草含类似香豆素芳香油, 可提炼香精, 用作烟草及香脂等香料; 香灵草干品放入衣厨可防虫蛀; 香灵草又可供药用, 具散风寒、辟秽功效, 治时邪感冒头痛、上气腰痛、胸闷腹胀、遗精、驱蛔虫等, 是名贵的芳香植物^[2]。香灵草中含有大量的皂苷、黄酮、甾醇等, 其中皂苷具有免疫调节、抗肿瘤、抗病毒等生理活性^[3-4], 具有较高的药用价值。本研究在香灵草总皂苷乙醇浸提前期研究的基础上, 探讨超声波提取香灵草总皂苷的方法, 通过超声产生的强烈振动, 加速香灵草细胞壁的破裂^[5], 以便皂苷溶解于溶液中, 提高总皂苷提取效率。

1 材料与方法

1.1 材料

齐墩果酸标准品(中国药品生物制品检定所提供)。石油醚、无水乙醇、甲醇、正丁醇、香草醛、高氯酸、冰醋酸等均为分析纯试剂; 香灵草(市售)。

Fw80 微型高速万能试样粉碎机(河北黄骅市新兴电器厂产品); DL 超声波发生器(浙江海天电子仪器厂产品); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(河南智诚科技发展有限公司产品); SHZ-D 循环水式真空泵(巩义市英峪予华医疗器械厂产品); RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂产品); FA2204B 电子天平(上海精密科学仪器有限公司产品); 101 型电热鼓风恒温干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司产品); 752N 紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司产品)。

1.2 方法

1.2.1 香灵草总皂苷的提取方法 将香灵草粉碎, 过 40 目筛后, 装入广口瓶中备用。准确称取 5 g 粉碎后的香灵草于 250 mL 圆底烧瓶中, 加入一定量的石油醚去除脂溶性成分, 再加入一定量的 70% 乙醇, 在一定温度、一定超声功率下回流提取一定时间, 取出过滤, 滤液经减压浓缩后, 用正丁醇溶液反复萃取, 分离出正丁醇相, 减压浓缩、真空干燥得香灵草

总皂苷。

1.2.2 总皂苷含量测定方法 香草醛-高氯酸比色法^[6]。

1.2.3 总皂苷含量的计算 总皂苷提取率 = 提取液中皂苷总量 / 香灵草原料量 × 100%。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 超声波辅助提取温度对总皂苷提取率的影响 分别精密称取 1.00 g 香灵草粉末各 5 份, 分别加入 70% 的乙醇 30 mL, 分别于不同温度水浴下超声提取 30 min, 滤液定容至 50 mL, 结果见图 1。

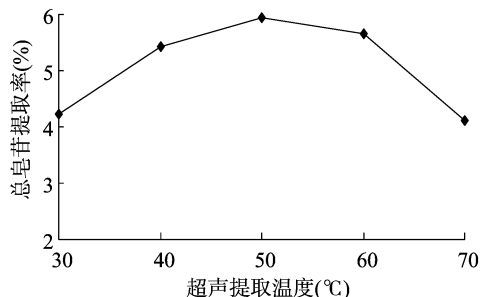


图1 超声波辅助提取温度对香灵草总皂苷提取率的影响

由图 1 可知, 50 ℃ 时溶液中总皂苷含量达到最大, 提取率达 5.93%。原因是由于温度升高至 50 ℃ 时, 香灵草总皂苷在溶剂中的溶解度最大; 温度继续升高, 溶液中总皂苷含量反而下降, 可能是随着温度的增加, 香灵草中活性成分被破坏, 溶出杂质质量增加, 同时还造成溶剂乙醇的损失。因此, 确定 50 ℃ 为最佳超声提取温度。

2.1.2 超声波辅助提取时间对总皂苷提取率的影响 分别精密称取 1.00 g 香灵草粉末各 5 份, 分别加入 70% 的乙醇 30 mL, 分别于 50 ℃ 水浴中超声提取不同时间。

由图 2 可以看出: 超声提取时间 40 min 内, 总皂苷的提取率随提取时间延长而增大。主要是由于超声波空化作用在体系中起到了很好的冲击作用^[7-9], 导致分子间强烈的相互碰撞, 有助于植物组织细胞的破裂, 总皂苷的溶出率随之增大。当作用时间超过 40 min 后, 总皂苷提取率开始下降, 这是由于超声波作用时间过长导致香灵草皂苷分解、破坏。因此, 最佳提取时间为 40 min。

收稿日期: 2012-11-25

基金项目: 河南省科技攻关计划(编号: 2010/102102210476)。

作者简介: 张艳花(1964—), 女, 河南叶县人, 硕士, 副教授, 主要从事材料化学的研究工作。E-mail: zhangyanhua@hncj.edu.cn。

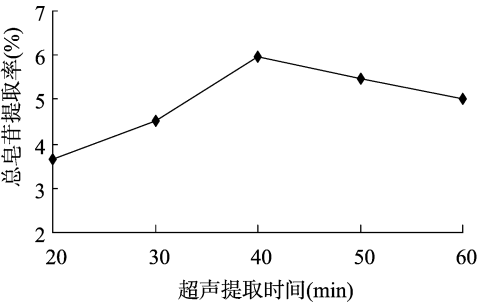


图2 超声波辅助提取时间对香灵草总皂苷提取率的影响

2.1.3 超声波功率对总皂苷提取率的影响 分别精密称取 1.00 g 香灵草粉末各 5 份,分别加入 70% 的乙醇 30 mL,于 50 ℃ 水浴中不同超声功率下提取 40 min。结果(图 3)显示,超声波功率从 200 W 增大到 400 W 时,总皂苷提取率逐渐增大,但超过 400 W 后,提取率出现下降趋势,因此,最佳超声波功率为 400 W。

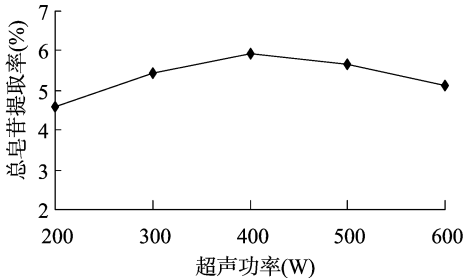


图3 超声波功率对香灵草总皂苷提取率的影响

2.1.4 料液比对总皂苷提取率的影响 分别精密称取 1.00 g 香灵草粉末各 5 份,分别置于 100 mL 圆底烧瓶中,分别加入不同体积的 70% 乙醇,超声提取 40 min,结果见图 4。

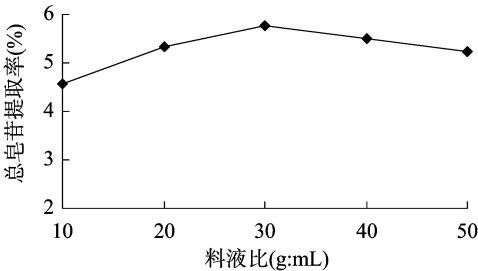


图4 料液比对香灵草总皂苷提取率的影响

由图 4 可以看出:在料液比为 1 g : 30 mL 时,总皂苷提取率最大,之后随着乙醇溶液用量的增加总皂苷提取率开始下降,分析原因主要是随着乙醇溶液用量的增加,乙醇溶液对总皂苷产生了稀释效应^[10],所以乙醇溶液用量并非越大越好,最佳料液比为 1 g : 30 mL。

2.2 正交试验结果

根据单因素试验结果,选择提取温度(A)、提取时间(B)、超声功率(C)、料液比(D) 4 个因素,以总皂苷的提取率为评价指标,按 $L_9(3^4)$ 进行正交试验,试验因素和水平见表 1,试验结果见表 2。由表 2 中极差值大小可知,影响因素大小顺序为 $A > C > B > D$,即提取温度 > 超声功率 > 提取时间 > 料液比;方差分析结果(表 3)显示,超声波辅助提取温度对香灵草皂苷的提取有显著影响,综合分析得出香灵草总皂苷最佳提取工艺为 $A_2B_2C_3D_3$,即提取温度 50 ℃、提取时间

表 1 香灵草总皂苷提取工艺正交设计试验因素水平

水平	A:提取温度(℃)	B:提取时间(min)	C:超声功率(W)	D:料液比(g : mL)
1	40	30	200	1 : 10
2	50	40	300	1 : 20
3	60	50	400	1 : 30

表 2 香灵草总皂苷提取工艺正交试验方案及结果

试验号	A	B	C	D	总皂苷提取率(%)
1	1	1	1	1	3.78
2	1	2	2	2	4.54
3	1	3	3	3	4.97
4	2	1	2	3	5.23
5	2	2	3	1	5.96
6	2	3	1	2	4.88
7	3	1	3	2	4.65
8	3	2	1	3	4.35
9	3	3	2	1	4.12
K_1	13.29	13.66	13.01	13.86	
K_2	16.07	14.85	13.89	14.07	
K_3	13.12	13.97	15.58	14.55	
k_1	4.43	4.55	4.34	4.62	
k_2	5.36	4.95	4.63	4.69	
k_3	4.37	4.66	5.19	4.85	
R	0.99	0.40	0.85	0.23	

表 3 香灵草总皂苷提取工艺正交试验方差分析结果

因素	离差平方和	自由度	均方	F 值
A	1.828 9	2	0.914 4	21.928 9*
B	0.254 1	2	0.127 0	3.046 4
C	1.137 3	2	0.568 6	13.636 3
误差	0.083 4	2	0.041 7	1.000 3

注: $F_{0.05} = 19.00$ 。

40 min、超声功率 400 W、料液比 1 g : 30 mL。

2.3 香灵草总皂苷最佳提取工艺验证

分别准确称取 1 g 香灵草粉末各 5 份,分别加入 70% 的乙醇 30 mL,50 ℃ 水浴超声提取 40 min,香灵草总皂苷提取率达到 5.89%、5.97%、5.67%、5.48%、5.67% ($RSD = 0.195$),平均 5.75%,表明香灵草总皂苷最佳提取工艺稳定、可靠。

2.4 超声波辅助提取与乙醇浸提香灵草总皂苷提取效果比较

采用超声波辅助提取最佳工艺与乙醇浸提最佳工艺分别提取香灵草总皂苷,比较 2 种方法的提取效果。结果(表 4)表明,利用超声波辅助提取法总皂苷提取率比乙醇浸提法高,所用时间短。在这 2 种提取工艺中,乙醇浸提法采用的是水浴加热,提取的时间为 2 h,而利用超声波辅助提取,控温提取

表 4 超声波提取法和乙醇浸提法提取香灵草总皂苷的效果

提取工艺	料液比(g : mL)	提取时间(min)	皂苷提取率(%)
超声波辅助提取	1 : 30	40	5.56
乙醇浸提	1 : 10	120	4.45

注:所用乙醇的浓度均为 70%。

石雪萍, 李小华, 杨爱萍. 南京雨花茶中总黄酮提取以及 DPPH 自由基清除活性研究[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 238–240.

南京雨花茶中总黄酮提取以及 DPPH 自由基清除活性研究

石雪萍, 李小华, 杨爱萍

(江苏经贸职业技术学院工程技术学院/江苏省食品安全工程技术研究开发中心, 江苏南京 210007)

摘要:通过正交试验优化了南京雨花茶的提取工艺, 结果表明用乙醇浸提法提取南京雨花茶总黄酮的最佳工艺条件为浸提温度 80 ℃、料液比 1 g : 30 mL、乙醇浓度 70%、浸提时间 2.5 h。通过 DPPH 自由基清除试验研究了雨花茶总黄酮的抗氧化活性, 结果表明雨花茶黄酮具有一定的抗氧化活性, 且随着浓度升高, 抗氧化性能增强。

关键词:雨花茶; 总黄酮; 提取工艺; DPPH · 自由基; 抗氧化活性

中图分类号: TS202.3; R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)06–0238–03

雨花茶是南京特产, 是全国十大名茶之一, 因产于南京中华门外的雨花台而得名。雨花茶茶叶外形圆绿, 如松针, 带白毫, 紧直, 冲泡后茶色碧绿、清澈, 香气清幽^[1]。

黄酮类化合物是一类重要的广泛存在于自然界的天然有机化合物, 约有 20% 的中草药含有黄酮类化合物, 可见其资源之丰富。黄酮类化合物对人类健康有重要作用, 近几年的研究证实它具有特殊的生物效能。现代大量科学研究证实, 茶叶中含有与人体健康密切相关的生化成分, 主要为黄酮类。茶叶中黄酮(亚硝酸钠–硝酸铝体系)含量主要在 7% ~ 10%^[2]。目前国内外对南京雨花茶的研究多集中在茶叶的加工、栽培种植方面, 而对雨花茶中有效成分的提取等的研究鲜见报道。

DPPH · 是一种非常稳定的人工合成自由基, 其甲醇溶液

显紫色, 最大吸收波长范围在 515 ~ 528 nm^[3]。当抗氧化剂与 DPPH · 反应时, 抗氧化剂提供 1 个电子与 1 个 DPPH · 自由基配对结合, 使 DPPH · 的特征紫色消失, 可根据吸光度的变化测抗氧化剂的活性^[4]。DPPH 法能测定为数众多的天然抗氧化剂而不受葡萄糖等干扰。因此, 通过吸光度的变化可以衡量试样清除自由基的能力^[5]。本试验通过优化雨花茶的提取工艺, 得出了最佳的提取条件, 并对雨花茶总黄酮进行 DPPH 自由基清除试验, 为雨花茶的进一步开发利用提供了一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

材料: 雨花茶, 购于南京市苏果超市, 经鉴定为南京地产雨花茶品种, 粉碎备用。

试剂: 芸香苷对照品(中国药品生物制品检定所), DPPH (1, 1–二苯–2–苦肟基, Sigma 公司), 试剂均为分析纯。

仪器: 751 分光光度计(上海精科实业有限公司); HH–4

社, 1986.

[3] 楼凤昌, 马琴玉, 杜方麓. 灵香草化学成分的研究[J]. 中国药科大学学报, 1989, 20(1): 37–39.

[4] 黄新安, 杨仁洲. 珍珠菜属植物三萜类化合物研究进展[J]. 热带亚热带植物学报, 2007, 15(2): 175–182.

[5] 徐小丽, 曹雁平. 超声技术在食品工业中的研究进展[J]. 食品科技, 2006(7): 1–4.

[6] 杨瑞云, 李 远, 梁凤琴, 等. 正交试验法优化灵香草中总皂苷提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(11): 16–19.

[7] 蒋彦婕, 吴纪中, 张巧凤, 等. 紫小麦麸皮花色苷提取工艺及其结构[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(5): 1146–1151.

[8] Dietrich K, Marco Z, Volker H, et al. Applications and potential of ultrasonics in food processing[J]. Trends in Food Science and Technology, 2004, 15(5): 261–266.

[9] 纵 伟, 李翠琴, 赵光远, 等. 桔梗皂苷超声提取工艺优化研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(6): 244–247.

[10] 李 健, 张令文, 刘 宁. 超声波提取苦瓜总皂苷的研究[J]. 化学世界, 2007, 16(2): 104–106.

收稿日期: 2012–12–11

作者简介: 石雪萍(1974—), 女, 河南南阳人, 博士, 副研究员, 主要从事营养与食品功能成分研究。E-mail: stbdw@126.com。

时间仅需 40 min, 因此从节能和经济角度来看, 超声波辅助提取方法优于乙醇浸提法。

3 结论

通过对提取温度、提取时间、超声波功率、料液比的单因素试验和正交试验, 确定超声波辅助提取香灵草总皂苷的最佳工艺为: 提取温度 50 ℃, 提取时间 40 min, 超声波功率 400 W, 料液比为 1 g : 30 mL。各因素对香灵草总皂苷提取效果影响的顺序依次为: 提取温度 > 超声功率 > 提取时间 > 料液比, 其中提取温度对提取率的影响显著。与乙醇浸提法相比, 超声波辅助提取法香灵草总皂提取率高, 提取时间短。

参考文献:

[1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴: 第三册[M]. 北京: 科学出版社, 1974.

[2] 江苏新医学院. 中药大辞典: 下册[M]. 上海: 上海科学技术出版