

翁艳英,谭义秋,韦藤幼,等. 减压内部沸腾法提取绞股蓝总皂苷的工艺[J]. 江苏农业科学,2014,42(10):249-251.

减压内部沸腾法提取绞股蓝总皂苷的工艺

翁艳英¹, 谭义秋¹, 韦藤幼², 林霞艳¹

(1. 广西民族师范学院化学与生物工程系, 广西崇左 532200; 2. 广西大学化学化工学院, 广西南宁 530004)

摘要:为探讨减压内部沸腾法提取绞股蓝总皂苷的最佳工艺条件,通过单因素试验分析各提取因素对提取率的影响。结果表明,减压内部沸腾法提取绞股蓝总皂苷的最佳工艺为:对 5.0 g 绞股蓝粉末,用体积分数为 70% 的解吸剂(乙醇)8 mL,提取剂用量为料液比 1 g : 14 mL,提取温度 45 ℃,提取时间 6 min,此条件下总皂苷的提取率为 5.35%。与传统水提取法相比,提取速度提高 10 倍,提取温度低,能耗低。

关键词:总皂苷;绞股蓝;减压内部沸腾;提取

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0249-03

绞股蓝(*Fiveleaf gynostemma* Herb)属葫芦科绞股蓝属,系多年生草质藤本植物,又叫七叶胆、五叶参、七叶参等。绞股蓝是一种食药两用植物,主要分布于秦岭及长江以南地区,以云南种类最多。绞股蓝含有丰富的绞股蓝皂苷、黄酮、多糖等多种药效成分,以绞股蓝皂苷为主。据临床医学证明,绞股蓝皂苷具有明显的药效作用^[1-2],主要表现在降脂、增强免疫力、镇痛等,并且得到很多的应用。已有很多关于绞股蓝皂苷的提取研究,大部分都集中在乙醇回流提取、超声辅助提取和微波辅助提取,通过正交试验优化得到较高的提取率,但耗时,超声和微波提取对设备的要求也较高^[3-5]。因此根据绞股蓝皂苷的特性,为减少提取成本,本试验拟采用减压内部沸腾提取法^[6],此法能高效快速低温提取,已经成功应用到多种中药有效成分的提取中^[7-9]。本试验通过提取时间、提取温度等单因素试验找出减压内部沸腾提取绞股蓝皂苷的最佳工艺条件,为绞股蓝的再开发提供一种很好的方法。

收稿日期:2013-12-23

基金项目:广西民族师范学院科研项目(编号:2012XYB003)。

作者简介:翁艳英(1985—),女,广西钦州人,硕士,讲师,主要从事天然植物生物活性成分提取及分离研究。E-mail: wengwengay45@126.com。

根据正交试验结果(表 11)可知,植物油添加量对脆片感官影响最大,其次是鱼汤浓缩汁,香辛料和芝麻的影响相对较小,即植物油 > 鱼汤浓缩汁 > 香辛料 > 芝麻,最优配比组合为 E₁F₂G₂H₃。因此,根据上述试验结果确定的增加口感和风味物质最佳添加量分别为植物油 1 mL、香辛料 0.08 g、鱼汤浓缩汁 30 mL、芝麻 6 g。

3 结论

根据上述试验结果,重组碱蓬脆片的最佳配方为碱蓬 100 g、面粉 20 g、糯米粉 13 g、胡萝卜 35 g、洋葱 20 g、植物油 1 mL、香辛料 0.08 g、鱼汤浓缩汁 30 mL、芝麻 6 g。按照上述配方,联合利用热风干燥和真空微波干燥技术加工的重组碱蓬脆片,风味独特、口感酥脆、营养丰富、容易揭盘,具有很好的市场前景。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 天然植物及主要试剂 绞股蓝,购于广西南宁药材市场;人参皂苷 Rb1 对照品,购于上海融禾医药科技发展有限公司,批号:120829,纯度 > 98%;正丁醇、石油醚、冰醋酸、香草醛、高氯酸、95% 乙醇,均为分析纯,购于成都科龙化工试剂厂。

1.1.1 主要仪器 722 型可见分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司产品);循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限公司产品);精密恒温浴槽(南京大万和科技有限公司产品)。

1.2 方法

1.2.1 减压内部沸腾法提取绞股蓝总皂苷

1.2.1.1 提取步骤 称取 5.0 g 绞股蓝粉末,用一定浓度的乙醇溶液均匀润湿 30 min,使乙醇溶液充分渗透物料,加入一定量一定温度的蒸馏水,迅速减压至物料内部产生沸腾(物料表面产生小气泡),提取一定时间,减压过滤,提取 2 次,合并滤液。

1.2.1.2 纯化步骤 取提取得到的滤液 10 mL,按 1 : 1 的体积比用石油醚萃取 2 次,保留水层,再按 1 : 2 的体积比用

参考文献:

- [1] 万洪善,李 凡. 盐生植物碱蓬黄酮类物质的提取及抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(4):296-298.
- [2] 张泽生,刘甜甜,贺 伟,等. 盐地碱蓬提取物抗衰老作用的研究[J]. 食品研究与开发,2013,34(1):15-17.
- [3] 王昭晶. 碱蓬多糖 SPA 的分离纯化和抗氧化活性研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2009,11(9):168-169.
- [4] 刘 雄. 带来食盐革命的天然植物盐[J]. 中国科技成果,2008(6):62.
- [5] 高 雪,王 倩,李 珂,等. 高效液相色谱法优化盐地碱蓬甜菜红素提取工艺研究[J]. 食品工业科技,2011,32(3):259-261.
- [6] 李洪山,范艳霞. 盐地碱蓬籽油的提取及特性分析[J]. 中国油脂,2010,35(1):74-76.

水饱和和正丁醇萃取 2 次,合并正丁醇层,并用正丁醇定容至 100 mL,取样干燥分析。

1.2.2 水回流法提取绞股蓝总皂苷 准确称取 5.0 g 绞股蓝粉末于培养皿中,用 16 mL 70% 的乙醇溶液解吸 30 min,移于圆底烧瓶中加入 140 mL 蒸馏水,回流提取两次,每次 1 h,减压过滤,浓缩滤液,水饱和和正丁醇萃取两次,合并正丁醇层,旋转蒸发得粗浸膏,再用甲醇溶解并定容至 25 mL 的容量瓶中,取样分析。

1.2.3 绞股蓝皂苷的测定

1.2.3.1 最大吸收峰扫描 用紫外分光光度法扫描人参皂苷 Rb1 对照品溶液。扫描波长为 440 ~ 640 nm,发现在 550 nm 处有最大吸收峰(图 1),故采用该波长进行测定。

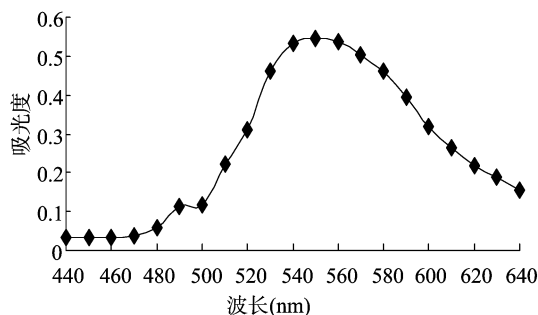


图1 人参皂苷Rb1最大吸收峰

1.2.3.2 测定步骤 取样 0.5 mL 于 10 mL 比色管中,60 ℃ 水浴减压干燥;加入新配制的 0.2 mL 5% 香草醛-冰醋酸溶液,摇匀后再加入 0.8 mL 高氯酸,摇匀;60 ℃ 水浴 15 min;然后冰水浴 5 min,冰醋酸定容至 10 mL,放置 10 min,以相应的空白试剂为对照,在 550 nm 处测定吸光度 $D_{550\text{ nm}}$ 。

1.2.3.3 标准曲线的绘制 精确称取 4.5 mg 人参皂苷 Rb1 对照品,用甲醇溶解于 10 mL 的容量瓶,制成 0.45 mg/mL 的人参皂苷 Rb1 溶液,分别取 0、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 mL 于 10 mL 比色管中,按分析步骤在 550 nm 处测定吸光度,绘制标准曲线, $m=0.625\ 2D-0.002\ 9$ ($r=0.999\ 3$)。其中 m 为样品中总皂苷的含量(mg); D 为吸光度。

2 结果与分析

2.1 解吸剂浓度对提取率的影响

不同浓度乙醇解吸剂对绞股蓝总皂苷的提取效果见图 2,由图 2 可见,在 8 mL 乙醇溶液解吸 30 min,压力为 16 kPa 条件下,70 mL 的 45 ℃ 蒸馏水减压内部沸腾提取 5 min,结果表明,随着解吸剂浓度的增加,皂苷提取率在乙醇浓度 70% 时出现了一个最大值,之后逐渐降低。其主要原因可能是在润湿绞股蓝粉末时乙醇溶液透过细胞壁的能力大小与解吸剂浓度有关,浓度太小或太大,不利于溶液渗透到物料内部,造成提取率较小。

2.2 解吸剂用量对提取率的影响

在 70% 乙醇溶液解吸 30 min,压力为 16 kPa 条件下,70 mL 的 45 ℃ 蒸馏水减压内部沸腾提取 5 min,不同乙醇用量对绞股蓝总皂苷的提取效果不同。随着解吸剂用量增加到 8 mL 时提取率最大,再继续增加用量提取率稍有下降(图 3),说明解吸剂用量在一定范围内对提取皂苷是有利的,但

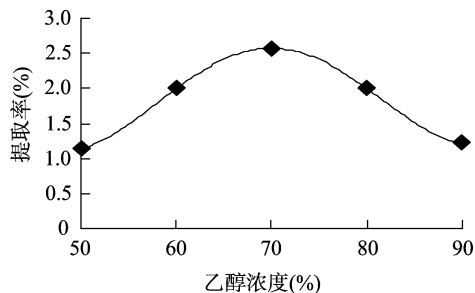


图2 解吸剂浓度对提取率的影响

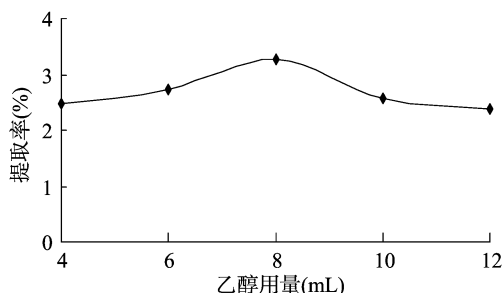


图3 解吸剂用量对提取率的影响

超过一定量时解吸剂不利于细胞释放绞股蓝总皂苷,故提取率会降低。

2.3 提取剂用量对提取率的影响

在 8 mL 70% 乙醇溶液解吸 30 min,压力为 16 kPa 条件下,一定量 45 ℃ 的蒸馏水减压内部沸腾提取 5 min,不同提取剂(蒸馏水)用量对绞股蓝总皂苷的提取效果见图 4。由图 4 可知,提取剂用量为 70 mL 时提取率最大,再继续增加提取剂用量,提取率下降,最后趋于平缓,说明再增加提取剂,对提取皂苷已经不起作用,因为有效成分已经被充分提取。故最佳提取剂用量为 70 mL。

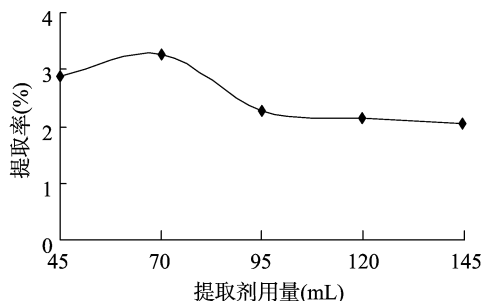


图4 提取剂用量对提取率的影响

2.4 提取温度对提取率的影响

在 8 mL 70% 乙醇溶液解吸 30 min,压力为 16 kPa 条件下,70 mL 一定温度的蒸馏水减压内部沸腾提取 5 min,当提取温度升高到 45 ℃ 时提取率最大,再继续升高温度,提取率逐渐降低(图 5)。其主要原因可能是在低沸点乙醇溶液解吸后,温度太高不利于皂苷成分的溶出,反而利于杂质的溶出,同时也阻滞了皂苷溶出通道,造成皂苷提取率下降。故最佳提取温度为 45 ℃。

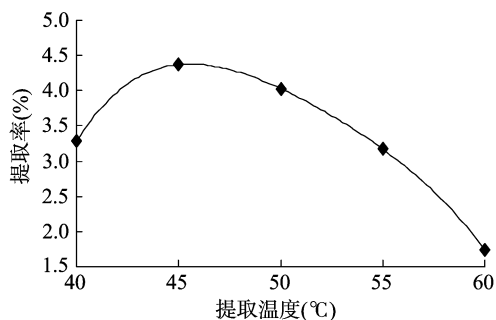


图5 提取温度对提取率的影响

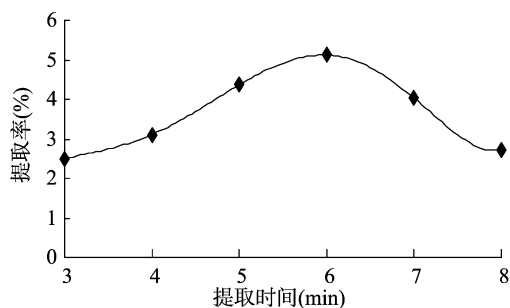


图6 提取时间对提取率的影响

2.5 提取时间对提取率的影响

在 8 mL 70% 乙醇溶液解吸 30 min, 压力为 16 kPa 条件下, 70 mL 45 ℃ 的蒸馏水减压内部沸腾提取一定时间, 不同提取时间对绞股蓝总皂苷的提取效果见图 6。由图 6 可知, 在 0 min 至 6 min 范围内随提取时间增加, 提取率明显提高, 继续增加提取时间, 提取率反而降低。这可能是因为在对物料充分解吸后, 每次减压提取 6 min 绞股蓝皂苷就可达到最大值, 时间越长, 物料中其他成分相继被提取出来, 从而影响皂苷的提取率。故最佳提取时间选 6 min。

2.6 减压内部沸腾法与传统水提取法的比较

表 1 传统水提取法与减压内部沸腾提取法的比较

提取方法	预处理时间 (min)	提取时间 (min)	提取温度 (℃)	提取压力 (kPa)	乙醇用量 (mL)	水用量 (mL)	提取率 (%)
传统水提取法	60	120	100	100	16	140	5.67
减压内部沸腾法	60	12	45	16	16	140	5.35

3 结论

减压内部沸腾法提取绞股蓝总皂苷的最佳提取工艺参数为: 5.0 g 原料, 解吸剂(乙醇)浓度 70%, 用量 8 mL, 提取剂用量料液比 1 g : 14 mL, 提取温度 45 ℃, 提取时间 6 min, 此时提取率为 5.35%。

与传统水提取法相比, 减压内部沸腾法提取绞股蓝总皂苷的工艺简单, 提取时间只有传统水提取法的 1/10, 降低了提取温度, 减少能耗, 杂质含量低, 因此减压内部沸腾法提取绞股蓝总皂苷具有明显的优势。

参考文献:

- [1] 张涛, 张育松. 福建甜味绞股蓝茶的保健成分及其市场现状和展望[J]. 亚热带农业研究, 2008, 4(2): 154-157.
- [2] 潘峰, 刘迪, 黄翠霞, 等. 绞股蓝皂甙的药理与临床研究[J].

根据以上单因素试验结果, 确定减压内部沸腾法的最佳提取工艺条件为 5.0 g 绞股蓝物料, 采用 8 mL 体积分数为 70% 乙醇溶液解吸 30 min, 然后加入 70 mL 45 ℃ 的热水提取 6 min, 此条件下的总皂苷提取率为 5.35%。同样 5.0 g 绞股蓝物料先用 8 mL 70% 乙醇预处理后再用 70 mL 蒸馏水进行传统水提取法提取, 总共提取 2 次(表 1)。由表 1 可以看出, 采用减压内部沸腾法提取绞股蓝总皂苷, 其提取时间只有传统水提取法的 1/10, 在较低提取温度下就获得了较高的提取率, 并且减少了能耗。传统水提取法的提取率比减压内部沸腾法稍高一些, 但是传统水提取法高温提取过程中杂质比较多, 提取液较浑浊, 后续分离增加难度。

现代中西医结合杂志, 2006, 15(5): 674-676.

- [3] 张育松. 微波辅助提取绞股蓝皂甙的初步研究[J]. 亚热带农业研究, 2008, 4(3): 225-228.
- [4] 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.
- [5] 李林震. 微波对绞股蓝皂甙提取率的影响[J]. 西藏科技, 2009(4): 65-68.
- [6] 韦藤幼, 赵钟兴, 童张法. 解吸-内部沸腾两步法提取黄连小檗碱的工艺及机理[J]. 过程工程学报, 2006, 6(3): 380-383.
- [7] 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): 372-373.
- [8] 徐华东, 郝瑞然, 韦藤幼, 等. 减压内部沸腾法提取野葛根中的葛根异黄酮[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(2): 349-352.
- [9] 彭梦微, 韦藤幼, 陈晓光, 等. 减压内部沸腾法提取穿心莲内酯的工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(9): 2244-2246.