

文章编号:1671-6833(2012)01-0064-04

超声波提取雀儿舌头多酚物质的工艺研究

龙 跃, 王 超, 王武鹏, 薛倩倩, 寇 娴, 王桂红

(郑州大学 化学系, 河南 郑州 450001)

摘 要: 研究超声波法提取雀儿舌头中多酚物质的最佳工艺条件. 通过选择乙醇浓度、超声波功率、料液比、加热温度以及提取时间作为观察因素, 以多酚得率为指标进行正交实验. 结果表明, 超声波提取雀儿舌头中多酚物质的最佳工艺条件为乙醇浓度 60%, 功率 135 W, 料液比 1:25, 温度 70 ℃, 提取时间为 70 min. 该条件下提取工艺多酚得率高, 稳定性好, 适用于产业化.

关键词: 雀儿舌头; 多酚; 超声波; 正交试验; 提取工艺; 普鲁士蓝法; 有效成分; 得率

中图分类号: O637.32

文献标志码: A

doi:10.3969/j.issn.1671-6833.2012.01.016

0 引言

雀儿舌头系大戟科黑钩叶属植物(*Leptopus chinensis* (Bunge) Pojark), 别名黑钩叶, 草桂花, 黄杨皮(湖北), 一叶秋(神农架), 为一年生草本植物, 广泛分布于吉林, 湖北, 河南, 陕西, 山西, 甘肃, 山东, 湖北, 四川, 云南, 西藏等地. 其根性温, 中医认为具有理气止痛, 治疗胃病, 腹泻下痢等作用, 民间还用来治疗黄疸、胃炎、水肿等多种疾病^[1-2].

植物多酚具有多种生物学活性, 包括抗氧化^[3]、抗菌^[4]、抗肿瘤^[5]等, 对植物中多酚物质提取分离并进行开发利用具有重要意义. 超声波提取法^[6]可以破坏细胞的细胞壁, 改善目标产物的选择性, 增加提取率, 相对于传统的超声波技术在天然产物提取中显示出了明显的优势^[7-8]. 目前, 利用超声波进行多酚物质提取的报道已有很多, 如: 大豆异黄酮的提取^[9]、茶多酚的提取^[10]、苹果多酚的提取^[11]等. 本研究首次将超声波提取法应用于雀儿舌头多酚提取, 并着重对超声波提取工艺条件进行优化, 为进一步开发利用中草药雀儿舌头奠定基础.

1 材料与方法

1.1 主要材料与仪器

实验材料为采集于河南禹州市的雀儿舌头全草, 没食子酸、三氯化铁、铁氰化钾试剂均为分析

纯.

美国 Perkin Elmer 紫外分光光度计(型号: lambda 35); KQ-3200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Rc-52-99 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); Sartorius BS210S 电子天平(北京塞多利斯天平有限公司).

1.2 实验方法

1.2.1 多酚含量的测定

雀儿舌头多酚含量采用灵敏度高、适合微量多酚含量测定的普鲁士蓝法^[12]测定, 以没食子酸为标准品.

(1) 标准溶液的配制

准确称取没食子酸标准品(120 ℃烘干至恒重)15.0 mg, 用 95% 乙醇溶解后, 转入 200 mL 容量瓶中, 用体积分数为 95% 的乙醇定容, 得 75 μg/mL 的标准贮备液.

(2) 标准曲线的绘制

精密吸取没食子酸标准品溶液(75 μg/mL) 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 置于 25 mL 容量瓶中, 加入 FeCl₃(0.100 mol/L) 1 mL, K₃Fe(CN)₆(0.008 mol/L) 1 mL 后, 用 HCl(0.100 mol/L) 定容至 25 mL, 放置 20 min, 在波长 700 nm 处测定其吸光度, 试剂空白为参比. 根据所绘制标准曲线, 得回归方程为 $C = 1.894 1A + 0.192 2$, 相关系数为 0.999 5, 式中: A 为吸光度; C 为没食子酸浓度(μg/mL). 结果表明: 没食子酸 0.6~3 (μg/mL)

收稿日期: 2011-09-20; 修订日期: 2011-10-26

基金项目: 河南省科技攻关基金资助项目(0624420031); 河南省基础项目基金资助项目(022463001)

作者简介: 龙跃(1960-), 男, 郑州大学教授, 硕士, 主要从事天然产物化学和光谱分析研究. E-mail: longyue@zzu.

edu. cn.

范围内,线性关系良好。

(3) 雀儿舌头多酚得率的计算

雀儿舌头多酚含量通过测得的吸光度值 A 换算成所测试液的浓度 C 后,由下式得出:

$$\text{雀儿舌头多酚得率 (mg/g)} = \frac{25C \times V}{M} \times 10^{-3},$$

式中: C 为根据样品中测得的吸光度值换算成雀儿舌头多酚浓度, $\mu\text{g/mL}$; V 为提取液体积, mL ; M 为雀儿舌头质量, g 。

1.2.2 超声波法提取试验

将雀儿舌头粉碎,过 0.250 mm 筛,称取一定量干燥后的雀儿舌头粉末,分别考察乙醇浓度、超声波功率、料液比、温度、提取时间对雀儿舌头多酚得率的影响。在单因素试验的基础上,选择主要影响超声波提取雀儿舌头多酚得率的因素及水平进行正交试验,确定最佳提取工艺。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果分析

2.1.1 乙醇体积分数对雀儿舌头多酚得率的影响

称取雀儿舌头 3 g,在 30 min、料液比为 1:15、温度为 30 ℃ 以及 150 W 超声波功率的条件下考查乙醇浓度对多酚得率的影响,提取结果见图 1。

由图 1 可知,雀儿舌头多酚得率随乙醇体积分数的升高逐渐增大,在乙醇体积分数为 50% ~ 70% 时明显增大,之后下降,说明乙醇体积分数对提取多酚有较大影响,体积分数越大提取效果越好,但是在 70% 以后,得率随乙醇体积分数的升高并没有增大,而是有所下降,因此选择 60%、70%、80% 3 个水平条件做进一步的正交试验。

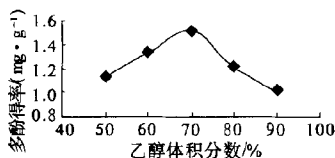


图1 乙醇浓度对多酚得率的影响

Fig.1 Effect of ethanol concentration on the yield of polyphenols

2.1.2 料液比对雀儿舌头多酚得率的影响

称取雀儿舌头 3 g,在乙醇体积分数为 70%、提取时间 60 min、温度 30 ℃ 以及 150 W 超声波功率的条件下考查提取时间对多酚得率的影响,提取结果见图 2。

通过分析图 2 可以看出,随着料液比的增加,多酚得率呈增加趋势,说明随着料液比的增大,溶

剂体积增加有利于多酚的溶出,但料液比不是越大越好,在料液比 1:25 时达到最大值之后又出现下降,因此选择得率较大的 1:20、1:25、1:30 3 个水平条件做进一步正交试验。

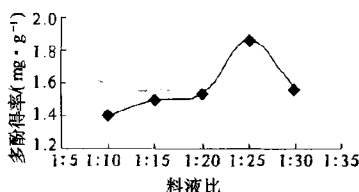


图2 料液比对多酚得率的影响

Fig.2 Effect of ratio of material to liquid on the yield of polyphenols

2.1.3 温度对雀儿舌头多酚得率的影响

称取雀儿舌头 3 g,在乙醇体积分数为 70%、料液比为 1:20、提取时间为 50 min 以及 150 W 超声波功率的条件下考查提取温度对多酚得率的影响,提取结果见图 3。

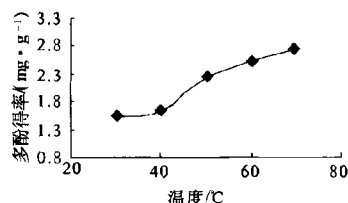


图3 提取温度对多酚得率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic temperature on the yield of polyphenols

从图 3 中可以看出,多酚得率在温度为 30 ~ 70 ℃ 范围内逐渐增大,在高于 70 ℃ 时可能会继续增大。但是考虑到高温会使多酚结构遭到破坏,同时较高的温度对设备要求高,耗能更大,综合以上因素,取 50、60、70 ℃ 3 个水平做进一步正交试验。

2.1.4 提取时间对雀儿舌头多酚得率的影响

称取雀儿舌头 3 g,在乙醇体积分数为 70%、料液比为 1:20、温度为 30 ℃ 以及 150 W 超声波功率的条件下考查提取时间对多酚得率的影响,提取结果见图 4。

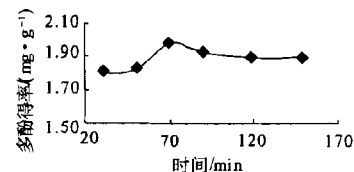


图4 提取时间对多酚得率的影响

Fig.4 Effect of extraction time on the yield of polyphenols

由图 4 我们可以看出,多酚得率随提取时间的增加而增大,这主要是由于超声波对细胞膜的破碎程度随时间的增加逐渐增强,多酚逐渐溶出,但当样品内外提取成分达到平衡时,即使再增加提取时间,多酚得率也不会显著增加.由图可知,30~70 min 多酚得率呈上升状态,在 70 min 后,得率并不再增加,说明在 70 min 超声波时间内,雀儿舌头多酚已经达到最大溶出率,增加时间对多酚得率并无显著影响,且增加能耗.综合考虑,确定 70 min 为最佳提取时间.

2.1.5 超声波功率对雀儿舌头多酚得率的影响

称取雀儿舌头 3 g,在乙醇体积分数为 70%、料液比为 1:20、温度为 40 ℃ 以及 50 min 提取时间的条件下考查提取超声波功率对多酚得率的影响,提取结果见图 5.

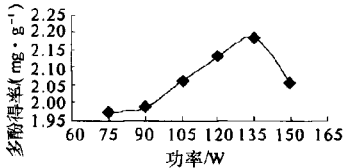


图 5 超声波功率对多酚得率的影响
Fig. 5 Effect of ultrasonic power on the yield of polyphenols

由图 5 可知,多酚得率随超声波功率增加而增大,这是由于超声波对细胞膜的破坏程度随功率的增加而增加,功率高时,破坏程度大,多酚得率高.但在图上也可以看出,在达到 135 W 之后得率反而下降,这是由于功率增加到一定程度后,各种杂质也同时溶出,有效成分的溶解量反而减少,雀儿舌头多酚得率有所减少.选择 3 个较大的水平条件 105、120、135 W 做进一步正交试验.

2.2 正交试验结果

在单因素试验基础上,影响多酚得率的主要因素有乙醇体积分数(A),超声波功率(B),料液比(C),加热温度(D),提取时间确定为 70 min,采用 L₉(3⁴) 正交试验设计对提取条件进行综合考察,设计正交试验水平因素表(表 1),正交试验结果见表 2,方差分析结果见表 3.

由正交试验结果可以看出,影响雀儿舌头多酚得率的反应条件中各因素的主次为:料液比、温度、乙醇浓度、超声波频率.其中,料液比因素为显著因素,最优的提取工艺为 A₁B₃C₂D₃,即乙醇体积分数为 60%,功率为 135 W,料液比为 1:25,温度为 70 ℃.

对正交试验得到的最佳工艺进行验证试验.

取 3 份雀儿舌头分别按最佳条件:乙醇体积分数为 60%,功率为 135 W,料液比为 1:25,温度为 70 ℃ 于超声波清洗仪中水浴提取,提取时间为 70 min,3 次提取雀儿舌头的多酚得率分别为 3.25, 3.42, 3.36 mg/g (RSD = 2.3%). 试验结果表明最佳提取工艺稳定,值得推广.

表 1 正交试验因素水平表
Tab. 1 The factors and levels of orthogonal design

| 水平 | A 乙醇 浓度/% | B 功率 /W | C 料液比 | D 温度 /℃ |
|----|--------------|------------|-------|------------|
| 1 | 60 | 105 | 1:20 | 50 |
| 2 | 70 | 120 | 1:25 | 60 |
| 3 | 80 | 135 | 1:30 | 70 |

表 2 正交试验结果及极差分析
Tab. 2 Results of the orthogonal design and range analysis

| 实验号 | A | B | C | D | 雀儿舌头多酚 得率/(mg·g ⁻¹) |
|----------------|-------|-------|-------|-------|------------------------------------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2.010 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2.928 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 2.350 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 2.860 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1.727 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 2.103 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1.914 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2.018 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2.810 |
| K ₁ | 2.429 | 2.261 | 2.044 | 2.182 | |
| K ₂ | 2.230 | 2.224 | 2.866 | 2.315 | |
| K ₃ | 2.247 | 2.421 | 1.997 | 2.409 | |
| R | 0.199 | 0.197 | 0.869 | 0.227 | |

表 3 方差分析结果
Tab. 3 Results of variance analysis

| 因素 | 偏差平方和 | 自由度 | F 比 | F 临界值 | 显著性 |
|----|-------|-----|--------|-------|-----|
| A | 0.073 | 2 | 1.106 | 19 | |
| B | 0.066 | 2 | 1.000 | 19 | |
| C | 1.434 | 2 | 21.727 | 19 | * |
| D | 0.078 | 2 | 1.182 | 19 | |
| 误差 | 0.07 | 2 | | | |

注: * 代表具有显著.

3 结论

通过研究发现,超声波产生的强烈振动、强烈空化效应、高加速度、热效应、搅拌作用等,使其应用在植物提取方面可加速药物有效成分进入溶剂,从而提高提取效率,缩短提取时间,节约溶剂,并且免去了高温对提取成分的破坏.这种具有方

便、高效特点的超声波提取法作为天然产物活性成分分离提取的新技术具有很高的实用价值,值得认真探索研究。

本试验建立了利用超声波技术提取雀儿舌头多酚的方法,考察了乙醇浓度,超声波功率,料液比,加热温度以及提取时间对多酚得率的影响,通过正交设计对各因素进行了优化,获得了最优的工艺参数,试验结果表明最佳超声波提取工艺稳定,多酚得率高,为以后雀儿舌头开发利用奠定了一定基础。

参考文献:

- [1] 冉先德. 中华药海[M]. 哈尔滨:哈尔滨出版社, 1993:1670.
- [2] 谢宗万,余万苓. 全国中药名鉴[M]. 北京:人民卫生出版社,1996:382.
- [3] 邵芳芳. 重要的植物多酚及其抗氧化性能的研究概况[J]. 西北药学杂志,2010,25(1):66-68.
- [4] 沈维治. 植物多酚抑菌作用的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2009,21(5): 282-285.
- [5] 任莉莉. 茶多酚抗肿瘤分子机理的国外研究新进展[J]. 国外医学(医学地理分册), 2003,24(3): 106-109.
- [6] 李化. 超声波在中草药成分中的应用[J]. 中药材, 2001.24(4):299-300.
- [7] VINATORU M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs[J]. Ultrasonics Sonochemistry,2001,8(3):303-313.
- [8] 王秋芬,宋湛谦,赵淑英,等. 超声波用于强化有机溶剂提取印楝素[J]. 林产化学与工业,2004,24(1):25-28.
- [9] 谢明杰. 超声波提取大豆异黄酮[J]. 大豆科学, 2004,23(1):76-77.
- [10] 何晓梅,曹伟. 茶多酚超声波辅助提取工艺条件优化研究[J]. 湖南农业科学, 2009(9): 111-113.
- [11] 任文霞,李建科,仇农学,等. 超声波辅助提取苹果渣多酚工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2008,27(4): 20-23.
- [12] 石碧,狄莹. 植物多酚[M]. 北京:科学出版社, 2000:21-26.

Ultrasonic Wave Extraction Technology on Polyphenols from *Leptopus Chinensis* (Bunge) Pojark

LONG Yue, WANG Chao, WANG Wu-peng, XUE Qian-qian, KOU Xian, WANG Gui-hong

(Department of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The optimum technological condition by the ultrasonic wave extraction technology of the polyphenols from *Leptopus chinensis* (Bunge) Pojark is studied. Through the orthogonal design, we analyse the effect of ethanol concentration, ultrasonic power, ultrasonic temperature, ratio of material to liquid, extraction time on the polyphenols from *Leptopus chinensis* (Bunge) Pojark. The experiment result shows that the optimum extracting condition is ethanol concentration 60%, ultrasonic wave power 135 W, ratio of material to liquid 1:25, extraction temperature 70 °C, extraction time 70 min. The extracting technology shows higher extraction rate of polyphenols, good stability and is feasible for industrial production.

Key words: *Leptopus chinensis* (Bunge) Pojark, polyphenols, ultrasonic wave, orthogonal test, extraction technology, Prussian blue method, active ingredient, yield