

超声辅助提取金果榄中总多酚的工艺研究

杨忠飞 (铜仁学院生物与农林工程学院, 贵州 铜仁 554300)

摘要 [目的]研究金果榄中总多酚的最佳提取工艺。[方法]采用超声波法对金果榄中总多酚进行提取,采用正交试验设计,分别考察乙醇质量浓度、超声功率、料液比、提取时间对金果榄中总多酚提取率的影响。[结果]最佳的工艺条件为乙醇质量浓度50%、料液比为1:40、提取时间60 min、超声功率100 W,最优条件下的总多酚含量为25.078 2 mg/g。[结论]该研究为金果榄进一步开发利用提供理论依据。

关键词 金果榄;总多酚;工艺研究;超声提取

中图分类号 S567 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)16-063-02

Study on the Technology of Total Polyphenol from *Radix tinosporae* by Ultrasound-assisted Extraction

YANG Zhong-fei (College of Biology and A&F Engineering, Tongren University, Tongren, Guizhou 554300)

Abstract [Objective] The research aimed to study the optimum extraction technology of total polyphenol in *Radix tinosporae*. [Method] Extraction of total polyphenol in *Radix tinosporae* was carried out by ultrasound technology, the effects of ethonal concentration, ultrasound power, ratio of liquid to raw materials and extraction time to the extraction ratio of total polyphenol was investigated by the orthogonal design. [Result] The optimized conditions were the ethonal concentration 50%, ratio of liquid to raw materials 1:40, extraction time 60 min, ultrasound power 100 W, the yield of total polyphenol was 25.078 2 mg/g at the optimized condition. [Conclusion] The study provides the theoretical basis for the further development of *Radix tinosporae*.

Key words *Radix tinosporae*; Total polyphenol; Process research; Ultrasound extraction

中药金果榄为防己科青牛胆属植物青牛胆 *Tinospora sagittata* (Oliv.) Gagnep 的块根,别名金牛胆、地苦胆、九莲子、青牛胆、金钱吊葫芦。性寒,味苦,归肺、大肠经,具有清热解毒,利咽,消肿止痛之功,常用于咽喉肿痛、痈疽疔毒、泄泻、痢疾、脘腹疼痛^[1],临床上用于治疗咽喉炎^[2]、扁桃体炎^[3]、静脉炎^[4]等症。现代药理学研究表明,金果榄有抗菌、抗肿瘤及抗癌等功效^[5-7]。

贵州的金果榄分布较广,民间采用醋磨涂敷患处治疗溃瘍面,利用程度较低。金果榄的化学成分研究较少,主要药理活性成分为药根碱和防己碱,还含有挥发油、萜类、甾酮类等其他成分^[8],金果榄中总多酚的研究鲜见报道。超声波具有用时短的特点,能缩短提取时间。金果榄作为民间治疗咽喉炎、胃炎的特效药,其有效活性部位的化学成分和药理作用需进一步研究,为此,该试验采用微波辅助提取金果榄中总多酚,在单因素试验的基础上,通过正交试验确定金果榄中总多酚超声提取的最佳工艺,以期为金果榄的开发利用提供理论依据。

1 材料与方

1.1 材料与试剂 金果榄,购于铜仁市民生药房,经铜仁学院鲁道旺副教授鉴定为植物青牛胆 *Tinospora sagittata* (Oliv.) Gagnep。碳酸钠、福林酚、乙醇等试剂分析纯均为国产市售,没食子酸为国家标准品。

1.2 仪器与设备 AR124CN 电子天平(奥豪斯仪器上海有限公司),RE-52 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),T6 新世纪紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),SG-5200HPT 型超声波提取仪(上海冠特超声仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 材料预处理。原料→恒温干燥→粉碎→石油醚脱脂

→干燥备用。

1.3.2 标准曲线的制作。配制浓度为0.1 mg/ml 的没食子酸标准品,分别取0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ml 的标准品于25 ml 的棕色容量瓶中,以不加标准液的溶液为空白对照,分别加入2 ml 福林酚试剂,混匀,再加入4 ml 质量分数为15%的碳酸钠溶液,混匀后加蒸馏水定容。室温下避光放置1 h,在波长750 nm 处测定吸光度,每个样品平行测定3次,在750 nm 处测定吸光度,以质量浓度(C)和吸光度(A)进行线性回归(图1),线性回归方程为 $A = 0.6925C + 0.0020$ ($R^2 = 0.9990$)。

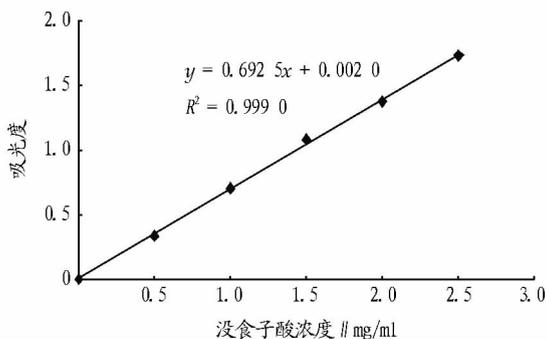


图1 没食子酸标准曲线

1.3.3 最佳提取条件的确定。精密称取样品1.000 g ($n=3$),根据金果榄中总多酚的理化性质的影响,在其他3个因素条件恒定情况下,分别以超声功率(80、100、120、140、160 W)、料液比(1:10、1:20、1:30、1:40、1:50)、乙醇质量浓度(30%、40%、50%、60%、70%)、提取时间(30、45、60、75、90 min)4个因素作为变量进行提取,通过正交软件设计正交试验(表1)。提取液过滤、离心后减压浓缩,按“1.3.2”项下方法测定吸光度,由回归方程计算出供试样品中总多酚的含量。

1.3.4 金果榄中总多酚含量计算。总多酚 = CV/M ,式中,C是根据标准曲线读出样品中没食子酸的量(mg),V为待测液

作者简介 杨忠飞(1969-),男,贵州铜仁人,副教授,硕士,从事农学研究。

收稿日期 2015-04-14

体积, M 为样品重量(g)。

表1 微波提取金果榄中总多酚 $L_9(3^4)$ 正交试验因素及水平

水平	乙醇浓度//%	超声功率//W	提取时间//min	料液比
1	40	100	45	1:30
2	50	120	60	1:40
3	60	140	75	1:50

2 结果与分析

2.1 不同因素对金果榄中总多酚提取的影响

2.1.1 提取时间。从不同超声提取时间对金果榄中总多酚提取的影响(图2)可看出,提取时间在30~60 min时,随着提取时间的增多,总多酚提取率显著增大,而提取时间>60 min后总多酚提取率呈缓慢下降的趋势,可能是因为提取时间在60 min时多酚类物质浸出已经很充分,继续提取多酚类物质易被氧化。因此,选择金果榄超声提取时间为60 min。

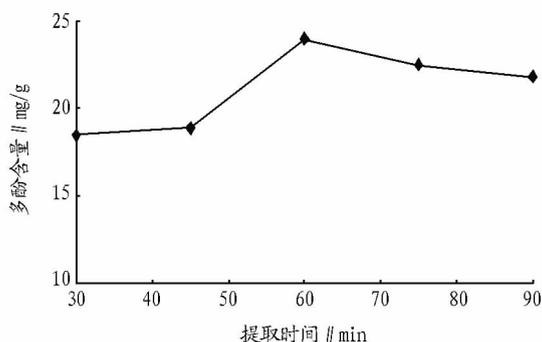


图2 提取时间对金果榄中总多酚提取的影响

2.1.2 超声功率。由不同超声功率对金果榄中总多酚提取的影响(图3)可见,随着超声功率的增大,金果榄中多酚类物质的提取率增大,功率为120 W时达最大,当功率>120 W时,总多酚的提取量反而下降,因此,选择金果榄超声功率为120 W。

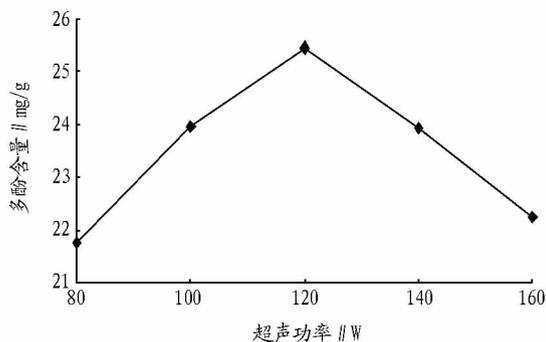


图3 超声功率对金果榄中总多酚提取的影响

2.1.3 乙醇浓度。从图4可看出,随乙醇浓度的增加,总多酚的提取率增加,提取率达最大值时乙醇的浓度为50%,浓度高于50%时,总多酚的提取量却随乙醇的增加而下降,可能因该溶剂与总多酚极性的差异增大。因此,选择50%的乙醇提取金果榄中总多酚。

2.1.4 料液比。从不同料液比对金果榄中总多酚提取的影响(图5)可看出,随着提取溶剂量的增加,金果榄多酚类物质的提取率增大,料液比为1:40时达最大值,料液比为1:40以后,总多酚的提取量反而下降,可能是因为多酚类物质的

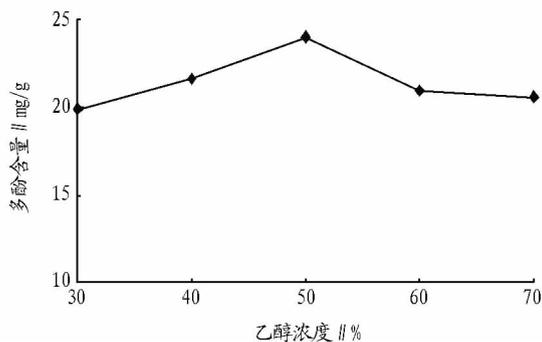


图4 乙醇浓度对金果榄中总多酚提取的影响
溶出已基本达到饱和的原因。因此,选择金果榄超声提取料液比为1:40。

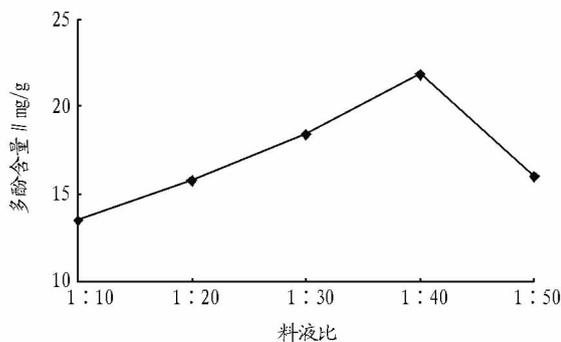


图5 料液比对金果榄中总多酚提取的影响

2.2 正交试验设计确定提取最佳条件由4个因素的极差(R)大小(表2)可知,金果榄中总多酚提取的影响因素大小依次为料液比>提取时间>乙醇浓度>超声功率。4个试验因素中,料液比对金果榄中总多酚提取的影响最显著,而提取时间次之,乙醇浓度影响较小,超声功率影响最小。正交试验优化后,金果榄中总多酚最佳提取工艺条件为:以50%乙醇为溶剂,提取功率为100 W,超声提取时间60 min,料液比为1:40。

表2 微波提取金果榄中总多酚正交试验结果

试验号	因素				多酚含量 mg/g
	乙醇浓度	提取时间	超声功率	料液比	
1	1	1	1	1	16.137 00
2	1	2	2	2	18.643 31
3	1	3	3	3	16.425 98
4	2	1	2	3	16.185 92
5	2	2	3	1	17.448 73
6	2	3	1	2	19.942 23
7	3	1	3	2	18.226 71
8	3	2	1	3	17.649 81
9	3	3	2	1	16.967 86
K_1	17.069	16.850	17.910	16.851	
K_2	17.859	17.914	17.266	18.937	
K_3	17.615	17.779	17.367	16.754	
R	0.790	1.064	0.644	2.183	

2.3 验证试验称取金果榄粉末1.00 g,共3份,按最佳提取工艺条件提取,进行验证试验,测得金果榄中平均总多酚含量为25.078 2 mg/g(表3),可见该工艺稳定可行。

(下转第66页)

表2 老虎须叶片生长量

处理	原新生叶片平均长度增量//cm	原新生叶片平均长度增量//cm	后新生叶片平均数量//片	后新生叶片总生长量//cm ²
CK	1.93 ± 0.14 fF	0.91 ± 0.14 fE	1.50 ± 0.57 eD	445.73 ± 39.26 fF
L1	2.66 ± 0.08 eE	1.10 ± 0.13 eE	2.13 ± 0.51 dC	877.61 ± 40.89 dD
L2	2.90 ± 0.13 dD	1.47 ± 0.31 dD	3.70 ± 0.70 cB	1 043.91 ± 65.93 cC
L3	8.84 ± 0.15 cC	3.71 ± 0.55 cC	6.00 ± 0.72 bA	1 700.02 ± 103.12 aA
L4	8.97 ± 0.15 bB	6.69 ± 0.24 bB	6.30 ± 0.53 aA	1 589.59 ± 97.72 bB
L5	10.71 ± 0.60 aA	7.71 ± 0.44 aA	1.13 ± 0.57 fD	623.05 ± 223.92* eE

注: *表示试验样本中有几株没有新生叶片,导致标准误差增大。同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示处理间差异极显著($P < 0.01$)。

2.3 光照对老虎须新生叶片生长的影响 从表2可知,L4(15.17%光照)处理条件下,处理后新生叶片数量最多,L3(30.67%光照)处理次之,两者之间无显著差异,均极显著高于其他处理;L2(43.82%光照)处理新生叶片数量极显著低于上述2个处理,极显著高于L1、CK、L5(73.37%、100%与9.07%光照)处理;L1(73.37%光照)处理的新生叶片数量极显著高于CK和L5(100%和9.07%光照)处理,后2种光照处理新生叶片数量最少。从处理后新生叶片总生长量来看,生长总量从高向低排列分别为L3(30.67%光照)处理、L4(15.17%光照)处理、L2(43.82%光照)处理、L1(73.37%光照)处理、L5(9.07%光照)处理、CK(100%光照)处理,相互之间均存在极显著差异。

从处理后新生叶片数量和生长总量可以看出,L3(30.67%光照)处理下老虎须的新生叶片数量最多,叶面积总生长量也最大,生长最好,L4(15.17%光照)处理次之,L2(43.82%光照)处理第三、L1(73.37%光照)处理第四、L5(9.07%光照)处理第五、CK(100%光照)处理最差。

(上接第64页)

表3 金果榄中总多酚验证性试验结果

样品编号	样品质量//g	总多酚含量//mg/g	平均总多酚含量//mg/g
1	1.004	25.415 2	25.078 2
2	1.003	23.971 1	
3	1.006	25.848 4	

3 结论

在考查金果榄中总多酚提取影响因素的正交试验中,4个因素对提取效果影响的主次顺序为料液比 > 提取时间 > 乙醇质量浓度 > 超声功率。通过验证试验得出金果榄中总多酚最佳提取条件为50%乙醇为溶剂,提取功率为100 W,超声提取时间60 min,料液比1:40,此条件下金果榄中总多酚的含量为25.078 2 mg/g。

通过该试验可知,在微波提取金果榄中总多酚试验中,因素料液比的影响最为显著,在今后生产中,应严格控制好;超声提取时间的影响小于料液比,正交试验优化后最佳时间为60 min,时间过长提取量反而减少,所以在今后生产中对时间的控制可根据实际情况适当调整;乙醇浓度的影响小于

3 小结与讨论

老虎须原生境在林下,形成了对光照的特殊要求。从试验结果来看,处理前新生叶片的生长面积随光照率的下降逐步增大,说明老虎须对光照强弱变化产生了反应,通过增加叶面积来提高光线的捕获率。但光线过弱(9.07%),影响了老虎须的光合作用,导致其生长不良,导致处理后新生叶片生长量较低。全光照条件下也不利于老虎须的生长,其新生叶片数量及生长量均低于遮光条件下生长的老虎须,说明全光照条件抑制了老虎须的生长。试验结果表明,30.67%光照条件下最适合老虎须的生长,15.17%光照次之,43.82%光照第三,73.37%光照第四,9.07%光照第五,100%光照最差。由此可以看出老虎须非常喜荫。因此,生产上应将光照强度控制在30%左右。

此次试验由于遮光材料受限,不能够按照设计思路精准地控制遮光率,遮光处理梯度范围不够细、不够宽,只能得到一个大致适合老虎须生长的光照处理结果。关于光照强度对老虎须生长的影响还需要进一步进行细化试验来完善和验证。同时,该试验中没有涉及光照强度及光照时间对老虎须开花的影响,因此,实现老虎须工厂化、规模化生产,还需要继续进行相关的研究。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物总编辑委员会. 中国植物志第十六卷第一分册[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 48.
- [2] 唐德英, 李学兰, 余东莉, 等. 蒟蒻薯的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(4): 348.
- [3] 刘颂颂, 叶永昌, 招晓东, 等. 蒟蒻薯的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(3): 254.
- [4] 张文珠, 林炳英, 林德钦. 老虎须的组织培养与植株再生[J]. 热带农业科学, 2010, 30(12): 20-23.

超声提取时间,影响最小的因素是超声功率,在今后采用超声辅助提取法提取金果榄中总多酚时,试验中可根据具体情况对这些因素进行适当的调整,以提高提取效率和节约提取成本。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [2] 高丽华, 姜海英, 支艳, 等. 清咽汤治疗急性咽炎[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(7): 650-655.
- [3] 侯爱凤, 于豪. 中药吹喉配合点刺治疗小儿急性扁桃体炎105例[J]. 安徽中医临床杂志, 2000, 12(5): 425-427.
- [4] 张青云. 金果榄酒湿敷治疗输液后静脉炎[J]. 河南中医, 2001, 21(4): 13-15.
- [5] 殷崎, 宋勤, 杨永东. 民族药地苦胆胶囊的药理学研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 1998, 33(4): 30-34.
- [6] SINGH R P, BANERJEE S, KUMAR P V S, et al. Tinospora cordifolia induces enzymes of carcinogen/drug metabolism and antioxidant system, and inhibits lipid peroxidation in mice [J]. Phytomedicine, 2006, 13(1): 74-84.
- [7] 张学梅, 梁文波. 心叶青牛胆的免疫调节和抗肿瘤作用[J]. 国外医药植物药分册, 2000, 15(3): 123.
- [8] 赵成刚. 青牛胆属植物化学成分及药理研究进展[J]. 铜仁学院学报, 2013(4): 136-139.