

# 超声波辅助提取鸡骨草总皂苷的工艺研究

廖春燕<sup>1</sup>, 黄敏<sup>2</sup>, 黄瑶<sup>1</sup>, 黄丽丹<sup>1</sup>

(1. 广西工学院 生物与化学工程系, 广西 柳州 545006; 2. 广东轻工职业技术学院 食品与生物工程系, 广东 广州 510300)

**摘要:**采用超声波法,通过单因素试验和正交实验设计,研究超声波功率、乙醇浓度、料液比、提取时间对总皂苷提取率的影响,优选鸡骨草总皂苷提取的工艺条件。结果表明:超声波提取法的最佳提取工艺为:超声波功率 90 W,乙醇浓度 50%,料液比 1:25(w/v),提取时间 20 min,在此工艺条件下皂苷提取率为 1.43%。

**关键词:**鸡骨草;皂苷;提取;超声波

**中图分类号:**Q 946.49 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)03-0161-03

鸡骨草(*Abrus cantoniensis*)是豆科相思子属的一种植物<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明,鸡骨草具抗炎、保肝、促进免疫功能等作用,临床则应用于肝硬化腹水、急慢性肝炎、胆囊炎、瘰疬、外感风热等治疗上。鸡骨草为中国岭南民间常用草药,常作为汤料及凉茶之用<sup>[2]</sup>。鸡骨草含挥发油、三萜类、氨基酸、黄酮、皂苷、多糖类等化学成分<sup>[3-5]</sup>。越来越多的研究显示,鸡骨草皂苷类成分具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒、保肝活性、调节机体代谢及免疫、治疗心血管疾病和糖尿病等生物活性<sup>[6-9]</sup>,预计今后皂苷类药物在市场上的应用将会越来越广泛。

皂苷的传统提取方法有浸渍法、回流法、煎煮法、连续回流法、渗漉法等<sup>[10-11]</sup>。超声波提取法具有提取温度低、提取率高、提取时间短的独特优势,是替代传统提取工艺,实现高效、节能的现代高新技术。现对超声波法提取鸡骨草总皂苷的影响因素进行了研究,以期对鸡骨草制剂的进一步开发提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试鸡骨草产地为广西南宁;齐墩果酸、生化试剂,上海研生生物技术科技有限公司;香草醛、分析纯,天津市光复精细化工研究所;乙醇、高氯酸、石油醚、冰醋酸、乙酸乙酯等试剂均为分析纯,成都市科龙化工试剂厂。KQ3200DB 数控超声波清洗器,上海普波生化科技有限公司;RE-52 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;AR124CN 电子分析天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司;UV-2000 紫外可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司。

**第一作者简介:**廖春燕(1979-),女,广西柳州人,硕士,讲师,研究方向为生物分离。E-mail:sophie0509@sohu.com

**收稿日期:**2012-09-25

### 1.2 试验方法

**1.2.1 标准曲线的绘制** 精密称取齐墩果酸标准品 10 mg,溶于无水乙醇并定容至 25 mL,制成浓度为 0.4 mg/mL 标准溶液。分别准确吸取标准液 0.00、0.10、0.20、0.30、0.40 mL,在 70℃ 下水浴蒸干,加入 5% (m/v)香草醛-冰醋酸(0.5000 g 香草醛用冰醋酸定容至 10.00 mL)溶液 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,摇匀,置 60℃ 水浴中加热 15 min,冷却至室温,各加乙酸乙酯 5.00 mL,摇匀。进行全波长扫描,在 550 nm 波长下有最大吸收峰。以吸光度 A 为纵坐标,浓度 c 为横坐标,得回归方程为:  $A = 19.561c + 0.0147$ ,其中  $r = 0.997$ 。表明齐墩果酸浓度在 0~0.33 mg/mL 范围内与吸光度有良好的线性关系。

**1.2.2 样品溶液的制备** 称取鸡骨草粉末 2.00 g,置 100 mL 烧杯中,加石油醚 15 mL 浸泡 3 h,抽滤,残渣挥尽石油醚后加入一定量不同浓度的乙醇溶液,在设定的超声波功率下提取一定的时间,过滤,旋转蒸发回收乙醇,得浓缩液并记录体积。取 4.00 mL 浓缩液,置 10.0 mL 容量瓶中,加 60% 乙醇溶解并定容至刻度,备用。

**1.2.3 单因素试验** 分别研究超声波功率、乙醇浓度、料液比、提取时间对总皂苷提取率的影响。取样品溶液 0.10 mL 于 25 mL 具塞试管中,按照 1.2.1 项测定含量。总皂苷提取率(%) = (样液中皂苷的质量浓度 × 样液的体积 / 鸡骨草质量) × 100%。超声波功率对总皂苷提取率的影响:各称取 2 g 鸡骨草粉末 5 份,加入料液比为 1:15 的 60% 乙醇溶液,分别在 60、75、90、105、120 W 的功率条件下提取 30 min;乙醇浓度对总皂苷提取率的影响:各称取 2 g 鸡骨草粉末 5 份,超声波功率为 90 W,分别加入 40%、50%、60%、70%、80% 的乙醇溶液(料液比为 1:15)超声提取 30 min;料液比对总皂苷提取率的影响

响:各称取 2 g 鸡骨草粉末 5 份,在超声波功率为 90 W、乙醇浓度为 60% 条件下,料液比分别为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 超声提取 30 min;提取时间对总皂苷提取率的影响:称各取 2 g 鸡骨草粉末 5 份,分别加入 60% 乙醇溶液,料液比为 1:20,超声波功率为 90 W,分别超声提取 10、20、30、40、50 min。

1.2.4 精密度试验 准确量取齐墩果酸标准溶液 0.2 mL 置于 10 mL 容量瓶中,按 1.2.1 项操作,重复测定 OD 值 6 次,测定方法的精密度。 $RSD=0.87\%$ ,说明该仪器具有良好的精密度,仪器性能稳定可靠。

1.2.5 稳定性试验 取同一浓度的供试样品溶液,按照 1.2.1 项的方法,在 0~1 h 每隔 10 min 测一次 OD 值,记录吸光度并计算  $RSD$  值。 $RSD=1.24\%$ ,表明供试品溶液在 1 h 内稳定性良好。

1.2.6 重复性试验 取相同质量的鸡骨草 6 份,用超声波法平行制备提取液 6 份,按 1.2.1 项测定吸光度并计算  $RSD$  值。 $RSD=1.09\%$ ,说明方法的重复性好。

1.2.7 加样回收率试验 准确量取同一批供试样品溶液 6 份,分别加入齐墩果酸对照品适量,按 1.2.1 测定方法测 OD 值并计算回收率。平均回收率( $\%$ )=104.5%, $RSD=2.254\%$ ,表明该方法准确可靠。

1.2.8 正交实验 选择影响试验结果的提取时间、超声波功率、乙醇浓度、料液比 4 个因素作为考查因素,按照正交表  $L_9(3^4)$  进行试验(表 1)。

## 2 结果与分析

### 2.1 超声波功率对总皂苷提取率的影响

由图 1 可以看出,超声波功率对总皂苷提取率有一定的影响,功率由 60 W 增加到 90 W,总皂苷提取率随功率增大而增高,当功率为 90 W 时总皂苷提取率达最大值。原因是超声功率升高,使鸡骨草被充分震荡,其中的皂苷类物质能够充分析出;而当超声功率超过 90 W 时,鸡骨草中的一些杂质如淀粉、蛋白质等其它杂质大量浸出并变性,沉淀包裹了皂苷,以致提取率下降。因此,考虑到提取效果以及生产效率,选择超声功率在 90 W 左右为宜。

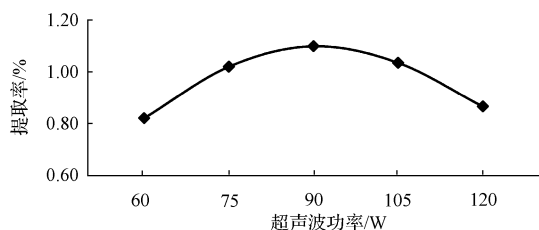


图1 超声波功率对总皂苷提取率的影响

Fig.1 Effect of ultrasonic power on extraction rate of total saponins

### 2.2 乙醇浓度对总皂苷提取率的影响

由图 2 可以看出,乙醇浓度由 40% 升高到 60% 时,

总皂苷提取率也随着增大;当乙醇浓度达到 70% 后提取率迅速降低。原因可能是高浓度的乙醇使得大量的非皂苷类的杂质溶出,干扰皂苷的提取,而且对于后续提纯也不利。综合考虑,乙醇浓度在 60% 左右为宜。

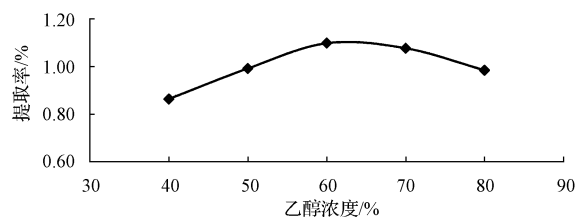


图2 乙醇浓度对总皂苷提取率的影响

Fig.2 Effect of ethanol concentration on extraction rate of total saponins

### 2.3 料液比对总皂苷提取率的影响

从图 3 可以看出,总皂苷提取率随着料液比的增大而增大,料液比在 1:10~1:20 间提取率上升较快,当料液比为 1:20 时总皂苷提取率达到最大值,继续增加料液,提取率变化不大。原因可能是料液比太小,提取剂太少,皂苷不宜被提取;料液比过大,所耗试剂增大,且在旋转蒸发过程中耗时长,能耗多。因此,料液比在 1:20 左右为宜。

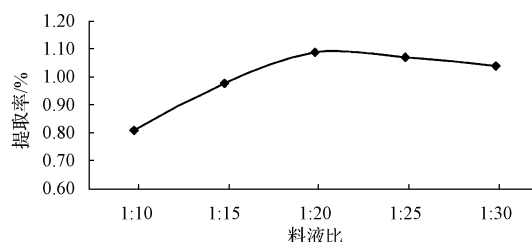


图3 料液比对总皂苷提取率的影响

Fig.3 Effect of solid to liquid ratio on extraction rate of total saponins

### 2.4 提取时间对总皂苷提取率的影响

由图 4 可知,总皂苷提取率随着提取时间的延长而增大,当提取时间达 30 min 时,提取率达到最大;随后总皂苷提取率虽有所升高,但不明显,后期得率下降趋势,主要是因为随着时间的增大,可溶性成分溶出的越多,使得提取液黏度增大,在后期操作中有所损耗,所以超声时间不宜过长。

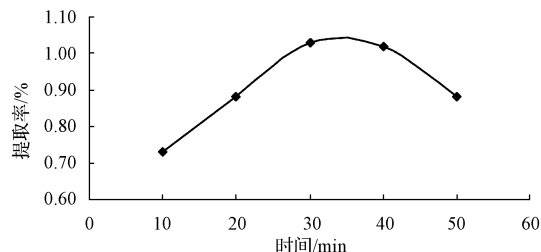


图4 提取时间对总皂苷提取率的影响

Fig.4 Effect of extraction time on extraction rate of total saponins

## 2.5 正交实验

根据单因素试验结果,选用  $L_9(3^4)$  表进行正交实验,正交实验计算结果见表 1,方差分析结果见表 2。由表 2 可知,影响皂苷得率的因素主次为:超声波功率>料液比>乙醇浓度>提取时间。由表 2 方差分析结果可知,超声波功率对试验结果有显著影响,料液比对试验结果有一定影响,提取时间和乙醇浓度对结果均无影响。从节省能耗,提高效率综合考虑,最佳的工艺条件为  $A_1B_2C_1D_3$ ,即超声波功率 90 W、乙醇浓度 50%、料液

表 1 正交实验设计及结果

Table 1 Results and range analysis of orthogonal test

试验号	提取时间 (A)/min	超声波功率 (B)/W	乙醇浓度 (C)%	料液比 (D)	总皂苷提取率/%
1	1(20)	1(75)	1(50)	1(1:15)	1.07
2	1	2(90)	2(60)	2(1:20)	1.14
3	1	3(105)	3(70)	3(1:25)	1.34
4	2(30)	1	2	3	1.11
5	2	2	3	1	1.34
6	2	3	1	2	1.23
7	3(40)	1	3	2	1.03
8	3	2	1	3	1.40
9	3	3	2	1	1.23
$K_1$	3.56	3.21	3.70	3.64	
$K_2$	3.68	3.88	3.48	3.40	
$K_3$	3.66	3.80	3.71	3.85	
$k_1$	1.17	1.07	1.23	1.21	
$k_2$	1.23	1.29	1.16	1.13	
$k_3$	1.22	1.27	1.24	1.28	
极差 R	0.044	0.22	0.077	0.15	

表 2 方差分析结果

Table 2 Results of variance analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
超声时间(A)	0.003	2	0.0015	1	
超声波功率(B)	0.089	2	0.045	30	**
乙醇浓度(C)	0.011	2	0.0055	3.67	
料液比(D)	0.034	2	0.017	11.33	*
误差 Error	0.003	2	1.81		

注:  $F_{0.1}(2,2)=9.0$ ,  $F_{0.05}(2,2)=19.0$ ,  $F_{0.01}(2,2)=99.0$ , \*\* 表示有显著影响, \* 表示有一定影响。

比 1:25,超声提取时间 20 min。

## 2.6 验证试验

在最佳工艺条件下平行试验 3 次,测得总皂苷的平均得率为 1.43%,结果表明此工艺条件是超声波提取法的最佳条件。

## 3 结论

通过单因素试验和正交优化实验,得出超声波辅助提取鸡骨草总皂苷的最佳工艺条件为:超声波功率 90 W、乙醇浓度 50%、料液比 1:25,超声时间 20 min。在最优工艺条件下测得的总皂苷提取率为 1.43%。可见,采用超声波提取和香草醛-高氯酸比色法测定鸡骨草总皂苷含量,工艺简单可行,精密度、重现性、稳定性均符合要求。

## 参考文献

- [1] 白隆华,董青松,蒲瑞翎. 中药鸡骨草研究概况[J]. 广西农业科学, 2005,36(5):476-478.
- [2] 郑占虎,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用[M]. 3 卷. 北京:学苑出版社,1998:2536-2538.
- [3] 史海明,温晶,屠鹏飞. 鸡骨草的化学成分研究[J]. 中草药,2006,37(11):1610-1613.
- [4] 陈晓白,莫志贤. 中药鸡骨草的化学成分及药理学研究进展[J]. 时珍国医国药,2008,19(7):1781-1782.
- [5] 孔德鑫,黄荣韶,王一兵,等. 基于 FTIR 的鸡骨草药材化学成分整体分析与评价[J]. 时珍国医国药,2010,21(1):140-141.
- [6] 曲正义,刘宏群,郑培和,等. 齐墩果酸型皂苷药理活性研究[J]. 中成药,2012,34(6):162-166.
- [7] 张云峰,魏东,邓雁如,等. 三帖皂苷的生物活性研究进展[J]. 中成药,2006,28(9):1349-1353.
- [8] 陈晓白,韩余健,许潘健. 鸡骨草提取物对体外乙型肝炎病毒的抑制作用[J]. 医药导报,2009,28(4):418-420.
- [9] 陈晓白,莫志贤,曹雪玲. 毛鸡骨草对高脂血症大鼠血脂及血液流变性的影响[J]. 中药药理与临床,2009(2):40-42.
- [10] 张娟,路金才. 皂苷的提取方法及含量测定研究进展[J]. 中国现代中药,2006,8(3):25-28.
- [11] 石血萍,姚惠源,蒋超. 苦瓜总皂苷提取工艺研究[J]. 食品工业,2005(6):52-54.

Ultrasonic-assisted Extraction Process of Total Saponins from *Abrus cantoniensis*LIAO Chun-yan<sup>1</sup>, HUANG Min<sup>2</sup>, HUANG Yao<sup>1</sup>, HUANG Li-dan<sup>1</sup>

(1. Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology, Liuzhou, Guangxi 545006; 2. Department of Food Bioengineering, Guangdong Industry Technical College, Guangzhou, Guangdong 510300)

**Abstract:** To optimize the process conditions, the effect of extracting time, ultrasonic power, ethanol concentration and solid to liquid ratio on the extraction rate of total saponins from *Abrus cantoniensis* were studied using ultrasonic-assisted extraction process by single factor and orthogonal test. The results showed that the optimal conditions of total saponins extraction from *Abrus cantoniensis* was as follows: ultrasonic power 90 W, ethanol concentration 50%, and solid to liquid ratio 1:25, extraction time 20 min. Under these conditions, the extraction rate of total saponins was 1.43%.

**Key words:** *Abrus cantoniensis*; total saponins; extraction; ultrasonic