

· 药材 ·

新鲜银杏叶经微波辅助提取后微观结构的变化

郝金玉, 韩 伟, 邓 修*

(华东理工大学化学工程研究所, 上海 200237)

摘要: 目的 研究微波辅助溶剂萃取对植物微观结构的破坏, 并探讨微波辅助提取的机制。方法 以新鲜银杏叶片为原料, 借助透射电子显微镜, 观察细胞结构。结果 在微波、溶剂或热的作用下, 植物细胞的结构都会发生较为明显的变化, 主要表现在有质壁分离现象, 细胞器、淀粉粒等胞内物质被破坏。但微波辅助溶剂提取和传统的热提取都没有使细胞壁破裂。结论 微波的作用会导致银杏叶细胞结构的松散, 但不足以使细胞壁破裂。

关键词: 微波辅助提取; 微波萃取; 银杏; 透射电子显微镜; 机制

中图分类号: R 282.13 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)08-0739-03

Changes in ultrastructure of fresh leaves of *Ginkgo biloba* after microwave-assisted extraction

HAO Jin-yu, HAN Wei, DENG Xiu

(Institute of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: **Object** To study the ultrastructure destruction of plants in the process of microwave-assisted solvent extraction and its mechanism. **Methods** Cell structures of fresh leaves of *Ginkgo biloba* L. were observed by transmission electron microscope. **Results** The cell structure changed when the leaves were under microwave radiation or soaked by solvents or heated, such as plasmolysis, destruction of cell organelles, disappearance of starch grain and so on, while the cell wall was not broken both in microwave-assisted solvent extraction and in traditional heating extraction. **Conclusion** Microwave radiation could lead to the relaxation of the cell structures, but not be enough to make the cell wall broken.

Key words: microwave-assisted extraction; microwave extraction; *Ginkgo biloba* L.; transmission electron microscope; mechanism

微波辅助提取, 又称微波萃取, 是微波和传统的溶剂萃取法相结合后形成的一种新的萃取方法。Ganzler^[1]首先在分析化学制样技术中应用微波萃取法, 此后这方面的研究不断增加^[2~4]。尽管微波萃取发展迅速, 但关于其机制方面的研究却很少。1991年 Pare 等^[5]提出了微波辅助提取天然产品成分的机制假设: 微波射线自由透过对微波透明的溶剂, 到达植物物料的内部维管束和腺细胞内, 细胞内温度突然升高, 连续的高温使其内部压力超过细胞壁膨胀的能力, 从而导致细胞破裂, 细胞内的物质自由流出, 传递至溶剂周围被溶解。Chen S S 也有一些类似报道^[6]。本研究以药用植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 新鲜叶片为原料, 借助透射电镜, 研究萃取中微波辐射对植物物料微观结构的破坏, 并探讨微波辅助提

取的机制。

1 原料、设备及方法

1.1 实验原料和主要试剂: 银杏新鲜叶片采自华东理工大学校园内栽培的银杏; 无水乙醇, 分析纯, 上海振兴化工一厂; 70% 乙醇由无水乙醇和去离子水配制。

1.2 实验设备和分析仪器: 微波萃取器为上海无线电二十六厂产品经改造而成, 具有冷凝回流装置, 可以进行时间和温度调节, 有空气鼓泡搅拌装置。日本透射电子显微镜 JEOL200。

1.3 实验方法: 将新鲜的银杏叶片分别进行以下处理(方法 A~D)。然后立即用 2.5% 戊二醛溶液固定后, 送往中国科学院植物生理研究所做脱水、包埋、超薄切片、染色、透射电镜观察和照相。

* 收稿日期: 2001-10-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20006003); 化学工程联合国家重点实验室资助项目(99-03)

作者简介: 郝金玉, (1975-), 女, 河南郑州人, 华东理工大学博士生, 主要研究方向为传质与分离。Tel: (021) 64253329; E-mail: haojinyu1@sohu.com

A: 新鲜银杏叶不做任何处理, 作为对照。

B: 新鲜银杏叶加入 70% 乙醇后, 再放入微波辅助提取装置中接受微波辐射 1 min, 微波功率为 650 W, 频率为 2 450 MHz。体现微波在有溶剂存在时的影响。由于乙醇是极性溶剂, 吸收微波能力强, 1 min 内已接近沸腾, 温度达到 55℃, 此温度是提取实验筛选出的最佳温度。

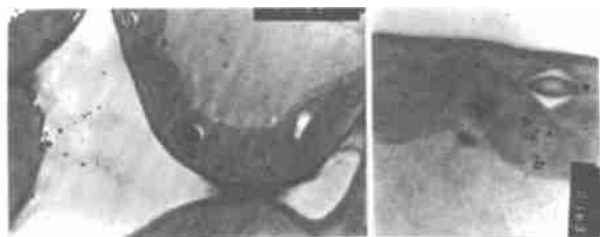
C: 新鲜银杏叶在 55℃ 的 70% 乙醇中浸泡 10 min。体现传统溶剂热提取的影响。

D: 新鲜银杏叶不加溶剂, 放入微波辅助提取装置中接受微波辐射 1 min, 微波功率为 650 W, 频率为 2 450 MHz。体现没有溶剂干扰的情况下微波的影响。

为了保证实验结果的可靠和进一步探讨微波作用机制, 还选用了新鲜的黄花蒿 *Artemisia annua* L. 叶做类似实验。实验中选用合适提取溶剂—6# 抽提溶剂油, 此溶剂的极性不如乙醇; 采用较长微波提取时间 10 min, 相同微波功率 650 W, 频率 2 450 MHz。

2 实验结果及讨论

图 1~4 的图片分别代表方法 A~D 处理后的结果。图 1-a 是新鲜银杏叶片, 细胞结构完整; 图 1-b 是放大的叶绿体, 有明显的类囊体片层结构, 其中还含有一个淀粉粒。



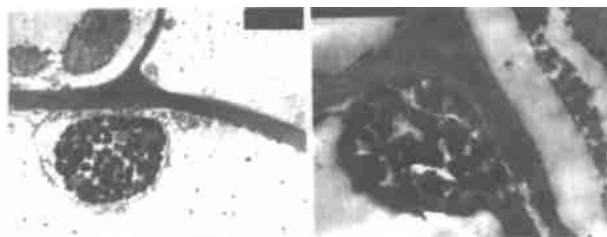
a × 4 000 b × 10 000

图 1 新鲜银杏叶片

图 2 是新鲜银杏叶加入 70% 乙醇后, 再放入微波辅助提取装置中接受微波辐射 1 min 后的图片。加入溶剂后, 微波对细胞破坏十分明显: 不仅有了明显的质壁分离现象 (图 2-a), 而且细胞器被破坏, 所有的细胞内物质缩成一团 (图 2-a, b); 叶绿体等细胞器也面目全非, 几乎没有完整的淀粉粒。

图 3 是新鲜银杏叶在 55℃ 的 70% 乙醇中浸泡 10 min 后的图片。没有微波作用, 传统的溶剂热提取, 也使细胞有很明显的质壁分离 (图 3-a), 但细胞内物质没有象图 2 那样缩成一团; 细胞器被破坏 (图 3-b), 还有少量淀粉粒。

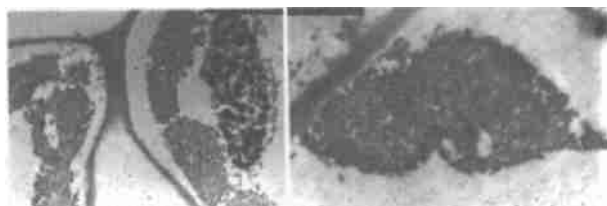
图 4 是新鲜银杏叶不加溶剂, 放入微波辅助提



a × 4 000

b × 6 000

图 2 新鲜银杏叶加入 70% 乙醇后, 再微波辐射 1 min。

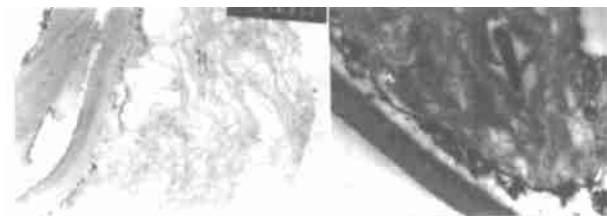


a × 4 000

b × 10 000

图 3 新鲜银杏叶片用 55℃ 的 70% 乙醇浸泡 10 min

取装置中接受微波辐射 1 min 后图片。从图 4 的两张图中都可以观察到质壁分离现象。图 4-a, b 是放大的叶绿体, 它也受到了一定程度的破坏, 其结构不象图 1-b 那样紧密, 淀粉粒周围的类囊体片层结构变松散。



a × 10 000

b × 10 000

图 4 新鲜银杏叶片微波作用 1 min

图 5-a 是新鲜黄花蒿叶, 细胞结构完整, 淀粉粒清晰。图 5-b 是新鲜黄花蒿叶加入溶剂 6# 抽提溶剂油后, 再放入微波辅助提取装置中接受微波辐射 2 min 后的图片。图 5-c 是新鲜黄花蒿叶加入溶剂 6# 抽提溶剂油后, 再放入微波辅助提取装置中接受微波辐射 10 min 的图。结果与图 2 类似。加入溶剂后, 微波对细胞破坏大大加强了, 有了明显的质壁分离现象。微波辐射时间为 10 min 时, 所有的细胞内物质缩成一团、细胞器面目全非, 几乎没有完整的淀粉粒 (图 5-c)。



a × 2 000

b × 6 000

c × 4 000

图 5 新鲜黄花蒿叶经微波辅助溶剂提取后的微观结构变化

综上所述,方法 B 中细胞的破坏程度最严重,其次是方法 C,再次是方法 D。质壁分离的程度可以从一定程度上表示细胞内有效成分被抽提的程度,见表 1。这说明用溶剂浸取植物叶片,在加热或有微波作用的条件下,植物细胞的结构都会发生明显的变化,且微波对植物细胞的破坏作用更为迅速。方法 B 和 C 的最大区别是微波辅助溶剂提取,会使细胞

表 1 银杏叶的微观结构变化

处理方法	质壁分离	细胞壁	细胞器	淀粉粒
A: 新鲜银杏叶片	无	完整	完整	完整,清晰
B: 新鲜银杏叶加入 70% 乙醇后,再微波辐射 1 min	显著	完整	破坏严重,缩成一团	无法辨认
C: 新鲜银杏叶片用 55 的 70% 乙醇浸泡 10 min	显著	完整	破坏严重,无法辨认	不完整
D: 新鲜银杏叶片微波作用 1 min	轻度	完整	结构松散	不完整

另外,还有一点十分明显,那就是微波、加热和溶剂 3 种作用均未使细胞壁破裂。在透射电镜观察过程中,并没有发现银杏或黄花蒿的细胞壁发生了破裂。细胞壁不具备选择透过的能力,对于不带电荷的小分子,如蔗糖,某些植物生长物质,它们穿过细胞壁受到的阻力是很小的。从分子水平上说,纤维素微纤丝的骨架作用,半纤维素的隅撑作用,果胶的粘合作用,结构蛋白的网络作用等等,使得细胞壁在各个方向上都具有很好的机械强度^[7]。所以细胞没有破裂是完全可以理解的。

也就是说与 Pare 的细胞壁破裂假说相悖。可能是微波的作用,导致细胞内物质的物理或化学结构、性质发生改变,原有的细胞结构就遭到破坏变得“疏松”;从而使有效成分快速溶出。微波的作用应该包括微波使细胞内水分汽化;微波使一些蛋白质和酶失活;微波提高了溶剂的活性,例如其溶解性大大增强。微波一方面使细胞内的一些极性分子高速转动成为激发态,或者使极性分子变性,细胞结构不再“正常”,变得“疏松”;或者极性分子本身释放能量回到基态,所释放的能量传递给其它物质分子,加速其热运动,缩短萃取组分的分子由物料内部扩散到萃取溶剂界面的时间,从而提高萃取速率;另一方面微波作用于溶剂,不仅加热了溶剂,而且提高了溶剂的活性,使其更多的溶解有效成分,并高效率传递入溶剂主体。正是微波的这些热效应和非热效应加速了提取。

3 结论

(1) 在微波、溶剂或热的作用下,植物细胞的结

内物质紧紧缩成一团,细胞器完全变形,周围似乎没有细胞质;而传统的溶剂热提取(方法 C),作用时间虽然是前者的 10 倍,但细胞内物质并没有完全不可辨认,例如淀粉粒还存在。方法 D 对细胞的破坏较小。仅有微波作用的条件下,存在着轻度的质壁分离现象,细胞结构松散。

构都会发生较为明显的变化,主要表现在有质壁分离现象,细胞器、淀粉粒等胞内物质被破坏,但微波辅助溶剂提取和传统的热提取都没有使细胞壁破裂。微波的作用会导致细胞结构的松散,但不足以使细胞壁破裂。

(2) 微波辅助溶剂提取 1 min 对银杏叶细胞的破坏程度比传统热提取 10 min 还要大,说明微波的热效应和非热效应加速了溶剂的提取速率,而且这种加速效应明显大于传统热提取。

(3) 微波的作用,一方面导致细胞内物质的物理或化学结构、性质发生改变,原有的细胞结构就遭到破坏变得“疏松”,缩短萃取组分的分子由物料内部扩散到萃取溶剂界面的时间;另一方面,提高了溶剂的活性,增大其溶解度,传质阻力大大降低,从而使有效成分快速溶出。

参考文献:

- [1] Ganzler K, Salgo A, Valko K. Microwave extraction a novel sample preparation method for chromatography [J]. J Chromatogr, 1986, 371: 299-306.
- [2] Craveiro A A, Matos F J. Microwave oven extraction of essential oil [J]. Flavor Fragrance, 1989, 4 (1): 43-46.
- [3] Jean F I, Collin G J, Lord D. Essential oils and microwave extracts of cultivated plants [J]. Perfum Flavorist, 1992, 17 (3): 35-41.
- [4] 郝金玉,黄若华,邓修,等.微波萃取西番莲籽的研究[J].华东理工大学学报, 2001, 27 (2): 117-120.
- [5] Pare, Jocelyn J R, Sigouin, Michel. Microwave-assisted natural products extraction [P]. US: 5002784A, 1991-03-26.
- [6] Chen S S, Spiro M. Kinetics of microwave extraction of rosemary leaves in hexane, ethanol and hexane + ethanol mixture [J]. Flavour and Fragrance Journal, 1995, (10): 101-112.
- [7] 李雄彪. 植物细胞壁 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1993.