

# 微波辅助萃取葛根和刺五加微观机制的研究

王娟<sup>1</sup>, 沈平<sup>1</sup>, 沈永嘉<sup>2X</sup>

(1. 国家中药制药工程技术研究中心, 上海 201203; 2. 华东理工大学化学与制药学院, 上海 200237)

**摘要:** 目的 研究微波辅助萃取葛根和刺五加的微观机制。方法 通过透射电子显微镜对葛根和刺五加药材细胞内液泡膜的变化进行观察。结果 微波辅助萃取与传统提取对液泡膜的影响是不同的。结论 微波辅助萃取工艺较传统提取工艺更易使细胞内的有效物质溶出。

**关键词:** 葛根; 刺五加; 微波辅助萃取; 微观机制; 透射电子显微镜; 液泡膜

中图分类号: R 284 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2004)01-0031-03

## Study on microcosmic mechanism about microwave-assisted extraction of Radix Puerariae and Radix Caulis Acanthopanax Senticosi

WANG Juan<sup>1</sup>, SHEN Ping-niang<sup>1</sup>, SHEN Yong-jia<sup>2</sup>

(1. National Engineering Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Institute of Chemistry and Pharmaceutics, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** Object To study microcosmic mechanism about microwave-assisted extraction (MAE) to Radix Puerariae (RP) and Radix Caulis Acanthopanax Senticosi (RCAS). Methods By transmission electron microscope, the structure changes about tonoplast in RP and RCAS were observed. Results The effect on tonoplast was differently made by MAE and conventional reflux extracting method. Conclusion The effective ingredients could be dissolved more easily with MAE than conventional reflux extracting method.

**Key words:** Radix Puerariae (RP); Radix Caulis Acanthopanax Senticosi (RCAS); microwave-assisted extraction; microcosmic mechanism; transmission electron microscope; tonoplast

虽然微波辅助萃取技术在各领域的研究不断增加, 但对于该技术微观机制方面的研究却很少。Pare 等<sup>[1]</sup>提出了微波辅助萃取天然物质成分的假设, 认为微波射线穿透萃取介质, 到达物料的内部维管束和腺胞系统。由于吸收微波能, 细胞内部温度迅速上升, 使其细胞内部压力超过细胞壁膨胀的能力, 从而导致细胞破裂。因此细胞内的成分自由流出, 传递至溶剂周围被溶解。Michael 和 Sau<sup>[2,3]</sup>也提出了类似的机制。由于微波辅助萃取技术具有萃取时间短、溶剂用量少、所得产品中有效成分的相对含量较高等优点, 因此在我国中药制药领域的应用研究越来越活跃。笔者曾对微波辅助萃取葛根<sup>[4]</sup>、刺五加<sup>[5]</sup>中的有效成分进行了研究, 证明该工艺较传统提取方法具有优势。为了能够进一步揭示微波辅助萃取中药的内在本质, 本实验进行了有关微波辅助萃取微观机制方面的探讨, 对微波辐射辅助萃取葛根和刺五加微观结构的影响进行了考察。

### 1 仪器及药材

Olympus 光学显微镜(最大放大倍数 400 倍), EM—902 透射电子显微镜(德国)。

葛根饮片(产地湖南)和刺五加饮片(产地吉林)均购自上海保康中药饮片厂, 经上海市中药质量监督检验室鉴定, 均符合《中华人民共和国药典》2000 年版一部规定。分别将此两味药材研成细粉。

### 2 方法与结果

2.1 葛根的预处理: 采用传统提取方法, 将过 80 目筛的葛根粉末以 95% 乙醇回流提取 60 min。采用微波提取方法, 将过 80 目筛的葛根粉末以 95% 乙醇为溶剂用微波辐射提取 5 和 20 min。将处理后的粉末阴干或 40℃ 烘箱中低温烘干, 待用。

2.2 刺五加的预处理: 采用传统提取方法, 将过 80 目筛的刺五加粉末以 75% 乙醇回流提取 6 h。采用微波提取方法, 将过 80 目筛的刺五加粉末以 75% 乙醇为溶剂用微波辐射提取 15 和 30 min。将处理

X 收稿日期: 2003-06-19

基金项目: 国家重点科技攻关项目(99-929-02-14)

作者简介: 王娟(1966—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为中药的研究与开发。

后的粉末阴干或 40 ℃ 烘箱中低温烘干, 待用。

2.3 普通光学显微镜上的观察: 根据 Pare 等提出的细胞破壁机制, 希望在普通光学显微镜上能观察到经过处理的药材其对应细胞壁的变化情况。但是, 在 Olympus 光学显微镜下, 对于由上述两种工艺处理过的葛根和刺五加样品, 均未观察到细胞壁破裂的情况。所以普通光学显微镜不能满足对药材微观结构变化观察的需求。

2.4 透射电镜的观察: 鉴于普通光学显微镜的局限, 希望通过透射电子显微镜进行药材微观结构变化的研究(委托中国科学院上海生命科学研究院进行)。用化学浆糊固定之后, 经过脱水、包埋、超薄切片、染色等一系列预处理过程, 即可在透射电子显微镜下观察。在高放大倍率的条件下, 经过仔细寻找, 观察到细胞内的液泡形状有变化。液泡是植物细胞特有的一个很重要的细胞器, 内部含有新陈代谢中产生的各种物质的混合液。其主要成分除水分外, 还有糖类、盐类、生物碱、苷类、鞣质、有机酸、挥发油、色素、树脂等, 因此植物药的活性组份或有效成分主要集中在液泡中。

2.4.1 葛根细胞内液泡的变化情况: 对于传统提取工艺处理过的葛根样品, 细胞内的液泡形状变化见图 1-A。对于微波提取工艺处理过的葛根样品, 当微波辐射一定时间后, 其液泡膜的主要变化情况见图 1-B, C。可见, 经过长时间的加热回流, 细胞内的液泡膜仍然很规整或稍有变化, 但未有膜的破裂。而液泡内包含了所跟踪的指标成分<sup>[4,5]</sup>, 这说明经过这样的加热回流后, 液泡被破坏的程度不大, 有效物质的溶出较少、且溶出的速度较缓慢。经过微波辐射后, 液泡膜部分或全部被破坏。由此可推知, 在微波辅助萃取中, 细胞内的液泡被破坏的程度是很大的, 因而有利于有效物质的溶出。



A-传统方法 B-微波 5 min C-微波 20 min  
A-normal method B-microwave radiation 5 min  
C-microwave radiation 20 min

图 1 葛根液泡形状

Fig. 1 Form of RP vacuole

2.4.2 刺五加细胞内液泡的变化情况: 对刺五加粉末的电镜观察, 同样发现有类似的“液泡膜结构较完

整、稍变形、(剧烈)被破坏”的情况, 见图 2。



A-传统 6 h B-微波 15 min C-微波 30 min  
A-normal method 6 h B-microwave radiation 15 min  
C-microwave radiation 30 min

图 2 刺五加液泡形状

Fig. 2 Form of RCAS vacuole

由于细胞壁主要由纤维素构成, 具有韧性和弹性, 而葛根、刺五加等根茎类药材的细胞壁较坚韧(特别是刺五加), 从它们的细胞壁不破裂的情况看, 虽然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), 它们穿过细胞壁受到的阻力是很小的; 但从分子水平上说, 纤维微纤丝的骨架作用, 半纤维素的隔撑作用、果胶的黏合作用、结构蛋白的网络作用等, 使得细胞壁在各个方向上都具有很好的机械强度。所以某些物质的细胞壁难以破裂是可以理解的, 这与它们天然的细胞结构的韧性和弹性有着很密切的关系。

### 3 结论与讨论

3.1 通过光学显微镜没有观察到 Pare 等所假设的细胞壁破裂情况, 说明微波辅助萃取的微观机制还有待于继续研究。

3.2 传统加热过程属外部加热过程, 而微波加热属内部加热过程。由于电磁能直接作用于介质分子转换成热, 且透射性能使物料内外介质同时受热, 不需要热传导, 此即所谓的“体积加热”过程。因此微波加热速度一般都很快。

3.3 在微波加热的情况下, 短时间内液泡膜受到破坏的程度较传统加热剧烈, 因此有效成分更易溶出。虽然细胞内的其他微观结构(如细胞壁、导管、树脂道等)并未被观察到明显的被破坏情况, 但它们势必也会因受热而引起结构的疏松或变形等, 从而使有效成分容易溶出。微波的作用应该包括使细胞内水分汽化; 使一些蛋白质和酶失活; 提高溶剂的活性(如使其溶解性大大增加)。微波一方面使细胞内的一些极性分子因获得能量而被激发到激发态, 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他物质分子, 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,使其能更多地溶解有效成分。正是微波的这些热效应和非热效应加速了萃取过程。

3.4 对于传统的醇提取工艺,加热回流时溶剂温度很难达到 80 以上,若在水中加热回流,则最高温度也难以超过 100,无论加热时间多么长均如此。但微波加热就有可能使受热物质在局部温度超过 100。若液泡不能耐受 100 高的温度,就易破裂,以致有效成分在破裂处一拥而出。如果把液泡看作一个气球,对外是密封的,则微波加热此球,尽管球内也是水分,但在这样一个密闭体系内(相当于压力容器内),温度可能超过 100,于是液泡膜破裂。

3.5 通过透射电镜观察,发现微波萃取较传统提取更易使细胞内的液泡膜发生变形或破裂,从而更易

使细胞内的有效物质溶出。这正是微波辅助萃取所需的时间较传统提取的时间短的原因,也是微波萃取所得产品中有效成分的含量相对较高的原因所在。

#### References:

- [1] Pare J R, Belanger J M R, Stafford S S, et al. Microwave-assisted natural products extraction [P]. US: 5002784, 1991-03-26.
- [2] Michael S, Sau S C. Kinetics of isothermal and microwave extraction of essential oil constituents of peppermint leaves into several solvent systems [J]. Flavour Frag J, 1995, 10: 259-272.
- [3] Sau S C, Michael S. Kinetics of microwave extraction of rosemary leaves in hexane, ethanol and a hexane + ethanol mixture [J]. Flavour Frag J, 1995, 10: 101-112.
- [4] Wang J, Shen P N, Shen Y J. Studies on active ingredients in Pueraria root by microwave-assisted extraction [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2002, 33(8): 382-384.
- [5] Wang J, Shen P N, Shen Y J. Study on microwave-assisted extraction process for active ingredients in Radix Acanthopanax Senticosi [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2003, 25(1): 11-14.

## 配伍对葛根芩连汤中小檗碱含量的影响

吴昭晖, 奚林明, 戴开金, 罗佳波, 谭晓梅<sup>X</sup>

(第一军医大学 中药制剂研究重点实验室, 广东 广州 510515)

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定葛根芩连汤各配伍煎液中小檗碱的含量测定方法, 研究配伍对小檗碱含量的影响。方法 采用  $L_8(2^7)$  正交设计及统计软件 SPSS10.0 统计方法, 以 HPLC 法测定小檗碱的含量。结果 葛根、黄芩、甘草对方中小檗碱含量的影响差异存在显著性( $P < 0.05$ ), 葛根与黄芩、黄芩与甘草、葛根与甘草对小檗碱的含量影响交互作用不显著。实验中观察到凡是黄连与葛根、黄芩、甘草的配伍组皆有沉淀产生, 沉淀中含有一定量的小檗碱。结论 葛根、黄芩、甘草降低小檗碱的含量。

关键词: 葛根芩连汤; 配伍; 小檗碱; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)01-0033-03

## Influence of compatibility on content of berberine in Gegen Qinlian Decoction

WU Zhao-hui, XI Lin-ming, DAI Kai-jin, LUO Jia-bo, TAN Xiao-mei

(Key Laboratory of Pharmaceutics of Chinese Materia Medica, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: Object To set up the quantitative method of berberine in decoctions prepared from various combinations of the recipe named Gegen Qinlian Decoction (GQD) by HPLC and to determine the change of berberine contents in different decoction. Methods By  $L_8(2^7)$  orthogonal design and statistics analysis (SPSS 10.0), eight decoctions of Rhizoma Coptidis either alone or in combination with one or more of the other three components were prepared and analyzed. Their berberine contents were determined by HPLC. Results For Radix Puerariae, Radix Scutellariae, and Radix Glycyrrhizae Preparata, the difference on the content of berberine is significant ( $P < 0.05$ ). Interactions between two of three is insignificant in this experiment. The sedimentation is found in the decoctions of Rhizoma Coptidis incombined with one or more of the other three components. Conclusion The content of berberine is reduced by Radix Puerariae, Radix Scutellariae, and Radix Glycyrrhizae Preparata.

Key words: Gegen Qinlian Decoction (GQD); compatibility; berberine; HPLC