

周文美,程兰香,赵辰路,等. 马尾松松针中莽草酸的提取工艺研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):314-316.

马尾松松针中莽草酸的提取工艺研究

周文美,程兰香,赵辰路,张建敏

(贵州大学贵州省发酵工程与生物制药重点实验室/贵州大学化学与化工学院,贵州贵阳 550025)

摘要:研究加热回流提取马尾松松针中莽草酸含量的工艺。以水为提取溶剂,采用单因素试验和正交试验优选莽草酸最佳提取工艺,考察时间、料液比、温度及原料粒度对莽草酸得率的影响。结果表明,莽草酸的最佳提取工艺条件为提取时间 2.5 h,料液比为 1 g : 20 mL,提取温度 95 ℃,原料粒度为 60 目。优选得到的工艺稳定、合理、可行。

关键词:马尾松松针;莽草酸;提取工艺;加热回流

中图分类号:TS201.2;R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)11-0314-03

莽草酸(shikimic acid)化学名称 3,4,5-三羟基-1-环己烯-1-羧酸,广泛分布于八角、莽草和松针等植物体内,是制造抗禽流感药物“达菲”的重要原料^[1]。莽草酸的来源主要是从天然植物中(主要原料为八角茴香的果实)提取和微生物发酵获取。目前,大量的莽草酸是通过微生物发酵途径获取的^[2]。松针指松树的针叶,味苦、性温,有补充营养、健脾理气、祛风燥湿、杀虫止痒、活血安神等功效,富含黄酮类、木脂素、挥发油、维生素等多种活性成分,莽草酸也是其主要活性成分之一^[3]。

收稿日期:2013-04-24

基金项目:贵州省科技厅重大专项(编号:黔科合重大专项字[2012]6015号)。

作者简介:周文美(1964—),女,河南南阳人,硕士,教授,主要从事生物化学及发酵食品开发的工作。Tel:(0851)4730036;E-mail:zwm45@126.com。

3 小结与讨论

本研究除了采用传统的热水浸提法及果胶酶法提取菊糖外,还采用了目前较少使用的纤维素酶提取菊糖。研究表明,纤维素酶法的提取率最高,热水浸提法次之。纤维素酶法浸提温度比热水浸提低 30 ℃,可以降低能耗,但纤维素酶价格高,考虑经济成本,采用热水浸提法,仍然具有工业化生产应用的前景。

参考文献:

- [1]郭旭颖,王丽威,宋永亮. 鲜切菊芋在加工过程中菊糖变化情况的研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(16):7661-7662,7739.
- [2]赵琳静,李洪森,陈婷婷,等. 菊芋菊糖含量的测定[J]. 化工生产与技术,2010,17(4):43-45.
- [3]刘晓涵,陈永刚,林 励,等. 蒽酮硫酸法与苯酚硫酸法测定枸杞子中多糖含量的比较[J]. 食品科技,2009,34(9):270-272.
- [4]黄 亮,王俊杰,王 锋,等. 菊芋中菊糖提取方法的研究[J]. 食品与机械,2007,23(4):76-79,91.
- [5]杨 振,杨富民,王雪燕. 菊芋中菊粉提取工艺优化研究[J]. 甘肃农业大学学报,2009,44(5):147-151.
- [6]熊善柏,赵 山,李云捷,等. 菊糖的提取与精制[J]. 冷饮与速

冻食品工业,2001,7(4):1-3.

目前,莽草酸的提取方法有热回流法^[4]、超声波萃取法^[5]、水蒸气蒸馏浸提法^[6]、微波辅助萃取法^[7],研究较多的是微波及超声等辅助手段提取方法。但是对于天然植物最传统的提取手段——热回流提取,尤其是用该方法对松针中莽草酸的提取,却很少有人报道。本研究以马尾松松针为原料,在热回流提取的条件下,考察各种因素对松针中莽草酸提取率的影响,通过单因素试验和正交试验优选最佳提取条件,为马尾松松针中莽草酸提取的产业化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

UV-6100S 双光束紫外分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);RE-52 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);电子天平 FA2004N(上海菁海仪器有限公司);SHZ-III 循环水式真空泵(上海亚荣生化仪器厂);电动离心机(江苏省常州澳华仪器有限公司)。

冻食品工业,2001,7(4):1-3.

- [7]顾天成,吕跃钢. 从洋姜中提取菊糖[J]. 北京轻工业学院学报,1998,16(3):21-25.
- [8]孔 涛,吴祥云,刘 璇,等. 菊芋菊糖最佳提取工艺[J]. 辽宁工程技术大学学报:自然科学版,2009,28(增刊):229-230.
- [9]钟振声,潘晓琴. 不同条件对菊芋菊糖提取的影响[J]. 江苏农业科学,2011,39(3):386-387.
- [10]胡 娟,金征宇,王 静. 菊芋菊糖的提取与纯化[J]. 食品科技,2007,32(4):62-65.
- [11]张 飞,岳田利,费 坚,等. 果胶酶活力的测定方法研究[J]. 西北农业学报,2004,13(4):134-137.
- [12]王小敏,吴文龙,闻连飞,等. 分光光度计法测定果胶酶活力的方法研究[J]. 食品工业科技,2007,28(5):227-229.
- [13]李雪雁,陈晓前,王玉丽. 果胶酶浸提菊芋菊糖的研究[J]. 食品工业科技,2009,30(11):223-225.
- [14]庄 平,王乃馨,杨 艳. 酶法提取菊芋中菊糖的工艺研究[J]. 粮油加工,2010,9(9):152-154.
- [15]马利华,秦卫东,贺菊萍,等. 复合酶法提取生姜多糖[J]. 食品科学,2008,29(8):369-371.
- [16]张雪颖,徐仲伟,战 宇,等. 酶法浸提甜菊糖甙的研究[J]. 食品工业科技,2007,28(5):190-192.

1.2 材料与试剂

莽草酸对照品(贵州迪大科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$);其他试剂均为国产分析纯。马尾松松针样品 2013 年 3 月 9 日采集于贵州省贵阳市花溪区。

1.3 试验方法

1.3.1 马尾松松针中莽草酸提取工艺流程 马尾松松针→粉碎(过筛)→马尾松松针粉末→加热回流提取→抽滤→离心→滤液→定容→测定吸光度。

1.3.2 马尾松松针中莽草酸的提取方法 准确称取马尾松松针粉末约 2.0 g,置 250 mL 圆底烧瓶中,以蒸馏水为提取溶剂,在试验条件下加热回流提取,然后抽滤得滤液,滤液离心 15 min,去除不溶于水的杂质,减压浓缩,浓缩液用蒸馏水定容于 100 mL 容量瓶中,即得样品提取液。

1.3.3 莽草酸的测定

1.3.3.1 标准曲线的制备 精确称取干燥至恒重的莽草酸对照品 10 mg,置 100 mL 容量瓶中用重蒸水溶解并定容至刻度,摇匀,即得浓度为 0.10 mg/mL 对照品贮备液。精确量取莽草酸对照品储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 分别置 25 mL 容量瓶中,加入蒸馏水稀释至刻度,摇匀,得系列质量浓度的对照品溶液,在 213 nm 处测定吸光度。以吸光度 y 为纵坐标,对照品质量浓度 x ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标绘制标准曲线,得回归方程 $y = 0.0957x - 0.0059$, $r^2 = 0.9995$,在 4 ~ 14 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内,莽草酸浓度 x 与吸光度 y 有良好的线性关系(图 1)。

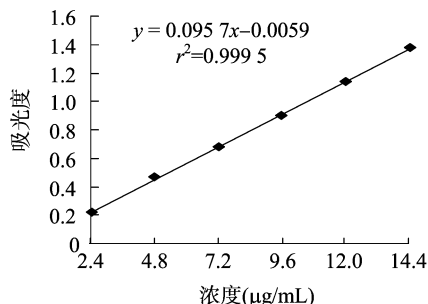


图1 马尾松松针中莽草酸提取标准曲线

1.3.3.2 莽草酸提取率的测定 精确量取 0.5 mL 马尾松松针提取液于 50 mL 容量瓶,定容至刻度,在 213 nm 处测定其吸光度。

2 结果与分析

2.1 几种提取手段的比较

称取一定量干燥的马尾松松针粉末,装入圆底烧瓶内,以料液比 1 g : 20 mL 加入蒸馏水,分别用回流提取 2.5 h、超声提取 40 min、索氏提取 8 h,然后将各提取液稀释 100 倍待测,结果见表 1。

表 1 几种提取手段的比较

提取方法	提取率 (%)	RSD (%) ($n=3$)
超声	5.071	1.836
索氏抽提	5.167	1.579
热回流	4.921	1.185

由表 1 可见,索氏提取效率最高,但是装配比较麻烦,也最为费时;超声波提取效果微优于热回流提取,但它们之间的

差别不是很大。在实际生产操作中采用加热回流提取效果较好,而且操作简单,成本较低。超声波提取的成本比较高,不利于推广,也不便于大规模运行。

2.2 单因素试验

对各单因素试验所得到的提取待测液进行检测,检测提取液中莽草酸的含量。

2.2.1 时间对莽草酸提取率的影响 准确称取干燥的马尾松松针粉末(过 40 目)2 g 左右,料液比 1 g : 25 mL,1 次提取,温度固定为 75 $^{\circ}\text{C}$,时间分别设定为 15、30、60、90、120、150 min,提取液过滤、离心、浓缩后稀释 100 倍待测。从图 2 可以看出,随着提取时间延长,莽草酸提取率不断提高,但是当提取时间达到 120 min 后,提取率基本趋于平缓。在实际的提取过程中,要考虑时间效率和成本因素,莽草酸提取时间不宜过长,以免细胞间果胶杂质渗透到提取液中,影响莽草酸含量的测定,因此,提取时间选为 120 min。

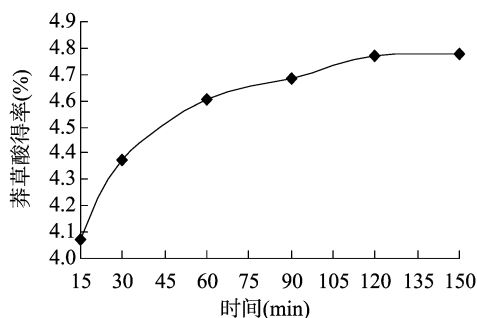


图2 时间对莽草酸提取率的影响

2.2.2 料液比对莽草酸提取率的影响 准确称取干燥的马尾松松针粉末(过 40 目)2 g 左右,1 次提取。温度固定为 75 $^{\circ}\text{C}$,时间固定为 120 min,料液比分别设定为 1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35 (g : mL),提取液过滤、离心、浓缩后稀释 100 倍待测。从图 3 可以看出,在料液比为 1 g : (10 ~ 25) mL 时,随着料液比的增大,莽草酸的提取率增大。料液比达到 1 g : 25 g/mL 后,继续增大料液比,提取率稍有下降。料液比过小,溶剂不能有效润湿样品,影响莽草酸的提取;而液料比过大,会减缓提取液对流的速度,使细胞破碎程度下降,从而降低有效成分的提取率。综上所述,适宜的料液比取 1 g : 25 mL 左右为宜。

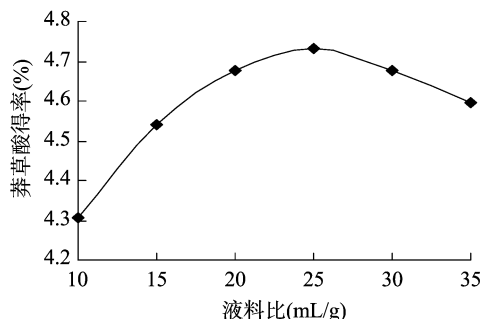


图3 料液比对莽草酸提取率的影响

2.2.3 温度对莽草酸提取率的影响 准确称取干燥的马尾松松针粉末(过 40 目)2 g 左右,料液比 1 g : 25 mL,1 次提取,时间固定为 120 min,分别设定温度 45、55、65、75、85、95 $^{\circ}\text{C}$,提取液过滤、离心、浓缩后,稀释 100 倍待测。从图 4 可以看出,莽草酸的提取率随提取温度的升高而增大。当温

度过高时,原料中的杂质也会相应增加,考虑到时间效率和操作成本因素,在实际的工业生产中采用 85 ℃ 左右为宜。

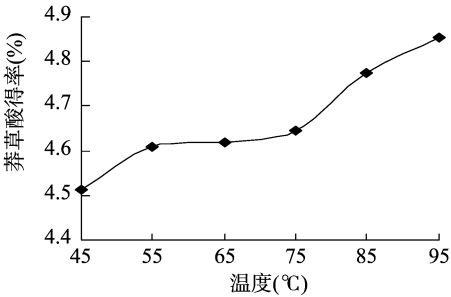


图4 温度对莽草酸提取率的影响

2.2.4 原料粒度对莽草酸提取率的影响 准确称取干燥的马尾松松针粉末 2 g 左右,料液比 1 g : 25 mL,1 次提取,时间固定为 120 min,温度固定为 75 ℃,马尾松松针粉末的粒度分别过 20、40、60、80、100、120 目筛,提取液过滤、离心、浓缩后稀释 100 倍待测。从图 5 可以看出,原料粉碎得越细,莽草酸提取率越高。但粒度在 40 目以上时,提取率增大的幅度很小,而原料粒度过小,物料就会容易黏结在一起,导致过滤困难和提取液浑浊不清。综合考虑,原料粒度以 40 目为宜。

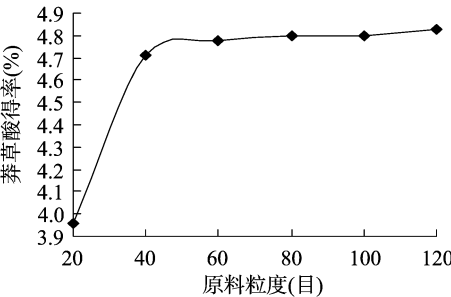


图5 原料粒度对莽草酸提取率的影响

2.3 正交试验

在单因素试验的基础上,以提取时间(A)、料液比(B)、提取温度(C)、原料粒度(D)为考察因素,以莽草酸的得率为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选最佳提取条件,试验的因素水平见表 2,结果见表 3。

表 2 马尾松松针中莽草酸提取正交试验因素及水平

水平	时间 (h)	料液比 (g : mL)	温度 (℃)	原料粒度 (目)
1	1.5	1 : 15	75	40
2	2.0	1 : 20	85	60
3	2.5	1 : 25	95	80

由表 3 可以得知,各因素对莽草酸得率的影响依次为 C (提取温度) > D (原料粒度) > A (提取时间) > B (料液比),正交试验的最佳工艺组合为 $A_3B_2C_3D_1$,即提取时间 2.5 h,料液比 1 g : 20 mL,提取温度 95 ℃,原料粒度 60 目。

2.4 验证试验

为验证最终优化提取方案,按照方案 $A_3B_2C_3D_1$ 进行验证试验,平行 3 次,取平均值,得最佳工艺条件下莽草酸提取

表 3 马尾松松针中莽草酸提取正交试验结果

序号	A	B	C	D	莽草酸得率 (%)
1	1	1	1	1	4.45
2	1	2	2	2	4.61
3	1	3	3	3	4.63
4	2	1	2	3	4.62
5	2	2	3	1	4.94
6	2	3	1	2	4.22
7	3	1	3	2	4.74
8	3	2	1	3	4.70
9	3	3	2	1	4.87
k_1	4.56	4.60	4.46	4.75	
k_2	4.59	4.75	4.70	4.52	
k_3	4.77	4.57	4.77	4.65	
R	0.21	0.18	0.31	0.23	

率达 4.98%,说明本试验所选择的工艺条件是适宜的。

3 结论与讨论

比较加热回流法、超声波萃取法、索氏抽提法,在最佳试验条件下,索氏提取效率最高,但是抽提时间过长;超声波提取效果微优于热回流提取,但差别不是很大。实际生产操作中采用加热回流提取效果较好,而且操作简单,成本较低。

莽草酸是一种极性比较大的有机酸,采用水作为莽草酸的提取溶剂,提取效果好,成本低,无有机溶剂残留,比较环保。

在热回流条件下,本试验研究了不同因素对莽草酸得率的影响,在单因素试验的基础上,设计了正交试验,得出最佳提取工艺条件为提取时间 2.5 h,料液比 1 g : 20 mL,提取温度 95 ℃,原料粒度 60 目。该方法简单、准确,适用于马尾松松针中莽草酸的提取。

参考文献:

[1] 丁雷涛,林华卫,马 雄,等. 微波辅助提取松针中莽草酸的工艺研究[J]. 化学工业与工程技术,2011,32(4):5-8.

[2] Ohira H,Torii N,Aida T M,et al. Rapid separation of shikimic acid from Chinese star anise (*Illicium verum* Hook. f.) with hot water extraction[J]. Separation and Purification Technology,2009,69(1):102-108.

[3] 刘 臻,来伟旗,刘冬英,等. 马尾松松针粉袋泡茶 90 d 喂养实验[J]. 毒理学杂志,2012,26(3):232-233.

[4] 刘永友,廖晓峰,于 荣. 八角茴香中莽草酸的提取工艺研究[J]. 食品研究与开发,2008,29(5):88-93.

[5] 谢济运,陈小鹏,陈 芳. 超声波法提取湿地松松针中莽草酸的研究[J]. 食品科技,2010,35(8):258-262.

[6] 谢济运,陈小鹏,李志荣,等. 水蒸气蒸馏法提取湿地松松针中挥发油和莽草酸的研究[J]. 高校化学工程学报,2011,25(5):897-903.

[7] 林海禄,彭雪娇,罗明标,等. 微波辅助提取八角茴香中莽草酸的工艺研究[J]. 食品工业科技,2007,28(3):137-142.