

Homogenate Negative Pressure Cavitation Extraction of Phenolic Acid from Rattan and Stability Analysis of Being Heated and Being UV Irradiation

Yinhang Wang, Junhan Li, Jinde Sun, Qin Cao, Wei Li, Shouxin Liu, Chunhui Ma*

College of Material Science and Engineering, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang
Email: *mchmchmchmch@163.com

Received: Dec. 7th, 2017; accepted: Dec. 29th, 2017; published: Jan. 12th, 2018

Abstract

In this study, Rattan (palm cane) was extracted by homogenate-assisted extraction as raw material. A research has been conducted about ethanol volume fraction, feed liquid ratio, homogenate time, cavitation time, cavitation velocity, and the instrument shape in order to find out the optimum parameters. Moreover, the mechanism of homogenate-assisted extraction was elucidated and the stability analysis for being heated and being UV irradiation was studied. The experimental results showed that the extraction solvent is 60% ethanol solution; feed liquid ratio is 1:14 g/mL; homogenate time is 210s; cavitation speed is 200 mL/min, and cavitation time is 70min; instrument shape is pyriform shape. Under the optimum conditions, the extraction yield of total phenolic acid from Rattan is 4.32 mg/g. The total phenolic acid showed a better stability below 50°C. The content of total phenolic acid was degraded 25% after being heated at 90°C for 12h. It had a better stability with being natural light irradiation than the stability with being UVA and UVB irradiation.

Keywords

Rattan (Palmae), Phenolic Acid, Homogenate Negative Pressure Cavitation, Being Lighted Stability, Being Heated Stability

匀浆负压空化法提取棕榈藤酚酸类化合物及其光热稳定性研究

王引航, 李俊含, 孙晋德, 曹琴, 李伟, 刘守新, 马春慧*

*通讯作者。

文章引用: 王引航, 李俊含, 孙晋德, 曹琴, 李伟, 刘守新, 马春慧. 匀浆负压空化法提取棕榈藤酚酸类化合物及其光热稳定性研究[J]. 植物学研究, 2018, 7(1): 37-44. DOI: 10.12677/br.2018.71006

东北林业大学材料科学与工程学院, 黑龙江 哈尔滨
Email: mchmchmchmch@163.com

收稿日期: 2017年12月7日; 录用日期: 2017年12月29日; 发布日期: 2018年1月12日

摘要

本研究以棕榈藤叶片为原料, 对其进行匀浆负压空化法提取后, 分别实验探究了乙醇体积分数、料液比、匀浆时间、空化时间、空化速度和空化仪器形状6方面因素并找出最优操作条件。本文还对匀浆辅助萃取的机理进行了阐释, 以及对棕榈藤多酚的光热稳定性进行对照实验分析。实验结果表明: 以体积分数60%的乙醇溶液为提取溶剂; 料液比1:14 g/mL; 匀浆210 s后; 加入到梨形空化设备中, 空气流速为200 mL/min, 空化时间为70 min; 在此最佳匀浆负压空化的条件下, 所得棕榈藤叶片中总酚酸的提取率为4.32 mg/g。棕榈藤酚酸提取物的光热稳定性分析表明: 低于50℃时热稳定性较好, 在90℃受热12 h, 总酚酸含量降解25%; 光稳定性较好, 室内自然光照射12 h内的含量基本不变, 稳定性优于在UVA和UVB紫外照射条件下对酚酸类化合物含量稳定性的影响。

关键词

棕榈藤, 酚酸, 匀浆负压空化法, 光稳定性, 热稳定性

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

棕榈藤属(Rattan)棕榈科(Palmae)植物属种子植物门被子植物亚门单子叶植物纲的初生目(*Principes*), 攀援带刺植物[1]。是世界热带地区最重要的代表科之一, 主要分布在热带美洲、热带亚洲和太平洋及附近岛屿, 热带非洲也有少量分布, 目前全世界共存约210余属2800~3000种左右[2]。棕榈科植物因其种类繁多、形态各异、具有其他树种无可媲美的优点, 而被世界各地广泛种植和利用[3], 因其质地柔软被称为“绿色金子”[1]。目前, 我国广东、广西、海南、云南及福建等省有自然分布, 也有人工栽培[4], 我国对于棕榈藤的研究主要是材性研究。棕榈藤藤材是仅次于木材和竹材的非常重要的非木材林产品, 对替代木材和保护森林资源发挥着重要作用。藤材的利用可在一定程度上保护树木, 而且, 棕榈藤能够在维持天然生态环境的条件下, 提供与伴生树木相同甚至更多的使用效益[5]。

国内对于棕榈藤植物的药理作用研究甚少, 本草纲目中早有记载, 棕榈藤成熟果实, 又称棕笋, 其气味苦、涩、平、无毒[6]。有文献报道棕榈成熟果实水-醇提取物具有显著降低血糖的药理作用[7]。而对于棕榈藤植物化学成分分析的研究几乎没有。

本研究小组发现, 棕榈藤叶片中含有酚酸。酚酸类成分具有广泛的药理生物活性, 如清除自由基、抗炎、抗病毒、免疫调节、抗凝血及抗肿瘤作用等, 已被越来越多的人所重视, 在医药、农药、化妆品原料和食品添加剂等方面有着广泛的用途[8]。

本研究的目的是把匀浆法和负压空化法结合起来, 用于提取棕榈藤叶片中的酚酸类化合物(没食子酸)。分别进行了匀浆和负压空化的单因素实验, 酚酸提取物用于光稳定性和热稳定性进行测试。

2. 实验

2.1. 材料与仪器

棕榈藤资源采摘自海南省, 将各部位人工分离后, 风干后不经粉碎作为有效成分的提取原料。

HANUO-JJ2 型匀浆机(上海汉诺仪器有限公司), RE-52A 型旋转蒸发水浴槽(上海青浦沪西仪器厂), SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司), UV-2600 岛津紫外可见分光光度计(Shimadzu, 日本)。UVA、UVB 紫外灯管(飞利浦 special TL-D 20W, 波兰)。

没食子酸对照品购自中国药品生物制品检定所, 纯度均大于 98%; 其余试剂均为国产分析纯。

2.2. 实验方法

2.2.1. 棕榈藤酚酸的测定方法

本研究采用福林酚显色法测定棕榈藤提取物中酚酸的含量[9]。以没食子酸为标准品。精密称取没食子酸 5.0 mg 用 80% 乙醇完全溶解后定容至 100 mL 为标准储备液, 分别移取标准储备液 0.00、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 mL 置于 10 mL 具塞试管中, 再分别加入 2.5 mL 超纯水, 0.5 mL 福林试剂和 7.5% Na_2CO_3 溶液 1.5 mL, 充分混匀后在 45°C 水浴反应 1.5 h 后在 765 nm 处测其吸光值。吸光值与没食子酸浓度线性回归, 得标准曲线为 $Y = 3.672X - 0.031$ ($R^2 = 0.999$)。

样品测试如上述方法, 精密吸取棕榈藤醇提取物 1.0 mL, 再分别加入 2.5 mL 超纯水, 0.5 mL 福林试剂和 7.5% Na_2CO_3 溶液 1.5 mL, 充分混匀后在 45°C 水浴反应 1.5 h 后在 765 nm 处测其吸光值。并计算出提取物中总酚酸的没食子酸当量(mg/g)。

2.2.2. 匀浆负压空化提取方法

匀浆辅助提取采用 HANUO-JJ2 匀浆机(上海汗诺仪器有限公司), 功率为 200 W。精密称取棕榈藤叶片 10.0 g (绝干)以料液比 1:10 g/mL 加入 60% 乙醇溶液, 匀浆提取 3.5 min; 然后将原料与萃取溶液转移至自制的空化设备内(柱型 300×20 mm, 梨型 1 L 分液漏斗)从流速 200 mL/min 空化萃取 70 min。减压过滤后, 依 2.2.1 项所述方法检测总酚酸的没食子酸当量(mg/g)。

2.2.3. 棕榈藤酚酸提取物稳定性分析

将 2.2.2 项所得提取物用于热稳定性分析, 精密量取棕榈藤酚酸提取物每份 25.0 mL 共 30 份分别置于 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C 条件下避光进行热处理 25 h, 以室温(25°C)下避光保存作为对照, 每隔 5 h 取样 3 次测平均值, 在 765 nm 处测定其吸光度并计算提取液的总酚酸含量(mg/g)。

将 2.2.2 项所得提取物用于光稳定性分析, 精密量取棕榈藤酚酸提取物每份 25.0 mL 共 18 份分别用紫外灯 UVA、UVB 平行光线距离 30 cm 处照射 20 h, 每 4 h 取样 3 次测平均值, 以室内日光作为对照, 测定其在 765 nm 处的吸光度并计算提取液的总酚酸含量(mg/g)。

2.2.4. 实验数据分析方法

实验中取样三次取平均值, 数据的处理使用 Excel 2007, $P < 0.05$ 。

3. 结果与分析

3.1. 匀浆单因素分析

匀浆萃取借助于外来机械剪切力进行固-液萃取, 在湍动的有机溶剂中将物料粉碎, 有利于细胞壁和细胞膜的破裂。原料无需进行粉碎预处理, 不但降低了原料预处理的能耗, 而且避免了在粉碎过程中由于摩擦而使物料局部升温, 破坏热敏性活性成分。在此萃取方式下连接自制的负压空化提取设备, 由于

气流在外力(正压、负压)作用下与液固两相相互冲撞,气流破碎成气泡,液相破碎成液泡,形成气液两相或气固液三相的混沌体系。体系中有效物质在气泡的空化空蚀效应、湍动效应、混旋及界面效应的作用下进行相间的快速传递,形成动态的强化传质体系,极大地提高了传质速率。整个过程在室温条件下进行,无需加热,可对热敏成分有效提取。下面对匀浆提取的若干条件进行分析优化。

3.1.1. 乙醇体积分数对棕榈藤酚酸提取率的影响

精密称取 10.0 g 棕榈藤叶片(绝干)共 7 份,每份分别以料液比 1:10 g/mL,与体积分数为 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%的乙醇溶液混合,在室温下进行匀浆处理 120 s。滤液经膜过滤,用紫外分光光度计在 765 nm 处测得各组实验的吸光度并按标准曲线公式计算棕榈藤酚酸的含量。通过改变乙醇水溶液的体积分数分析其对棕榈藤酚酸提取率的变化关系。如图 1(a)所示:酚酸提取率(1.00 mg/g)随乙醇体积比(30%)的增大明显增加,在体积比 60%处达到最大值(1.49 mg/g);继续增加乙醇比例乙醇体积分数增大使溶剂的极性减小,导致酚酸溶解性下降,在乙醇体积分数 90%时酚酸提取率下降至 0.487 mg/g。此后的单因素实验选用 60%体积分数的乙醇水溶液作为提取溶剂。

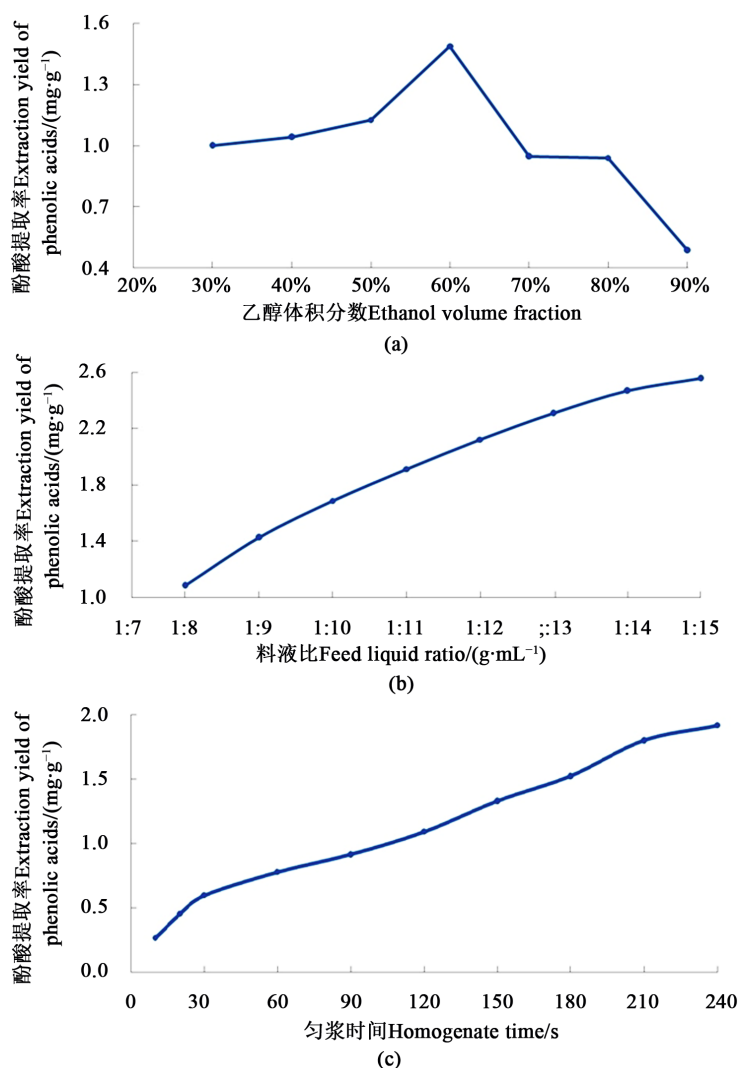


Figure 1. Single factor analysis on homogenate extraction of phenolic acids from Rattan
图 1. 匀浆萃取棕榈藤酚酸单因素分析

3.1.2. 料液比对棕榈藤酚酸提取率的影响

用体积分数 60% 的乙醇水分别以料液比 1:8, 1:9, 1:10, 1:11, 1:12, 1:13, 1:14, 1:15 g/mL 与 8 份棕榈藤叶片(精密称取每份 10.0 g)混合, 室温进行匀浆处理 120 s。提取液经膜过滤, 依 2.2.1 项所述方法检测总酚酸的没食子酸当量(mg/g)。由图 1(b)可知, 物料比为 1:8 g/mL 时, 酚酸提取率为 1.08 mg/g, 随着提取溶剂体积的增加, 棕榈藤酚酸的溶解效率一直增大; 但是从料液比为 1:14 g/mL (酚酸提取率 2.46 mg/g)继续扩大料液比, 提取率的增速趋势不明显, 加入大量的溶剂不但会造成成本的增加, 也会为后续溶剂回收增加能量的负荷, 基于对提取过程中成本和提取效率的综合考虑, 选取 1:14 g/mL 为后续实验的料液比。

3.1.3. 匀浆时间对棕榈藤酚酸提取率的影响

精密称取 10 份棕榈藤原料(每份 10.0 g)以料液比 1:10 g/mL 与 60% 体积分数的乙醇溶液混合, 在室温条件下分别以 10 s, 20 s, 30 s, 60 s, 90 s, 120 s, 150 s, 180 s, 210 s, 240 s 的时间进行匀浆处理。滤液经膜过滤, 用紫外分光光度计在 765 nm 处测得各组实验的吸光度并按标准曲线公式计算棕榈藤酚酸的含量。匀浆时间对提取率的变化趋势见图 1(c): 匀浆时间 10~30 s 提取率增加较明显(由 0.264 mg/g 增加至 0.596 mg/g), 从 30 s 以后提取率的增加比较平稳, 在 210 s (此时提取率为 1.80 mg/g)之后提取率增加趋势开始减缓。在匀浆处理的过程中, 匀浆时间过长使原料粒径过小, 造成杂质的溶出量增加, 也会给后续的分离纯化带来困难。故选取 210 s 作为匀浆时间。

3.2. 负压空化单因素分析

当连续地把气体释放进液相或固液两相中去, 由于气流在外力(正压、负压)作用下与液相或液固两相相互冲撞, 以及气—液两相或气液固三相交界面处表面张力之间的不平衡因素, 气泡上升并带动液体形成主要是向上的流动, 气流破碎成气泡, 液相破碎成液泡, 形成气液两相或气固液三相的混沌体系。体系中有效物质在气泡的空化空蚀效应、湍动效应、混旋及界面效应的作用下进行相间的快速传递, 形成动态的强化传质体系, 这一传质过程命名为空化混旋萃取。采用负压手段产生气流形成气泡, 在气液固三相中强化传质的方法称为负压空化法[10]。

3.2.1. 空化时间对棕榈藤酚酸提取率的影响

由 3.1 项得出最佳的乙醇体积比为 60%, 料液比 1:14 g/mL, 最佳匀浆时间为 210 s, 按此条件和上述匀浆方法进行匀浆萃取, 将所得萃取液分为 10 份, 分别倒入柱型空化仪器以中速(100 mL/min)负压空化 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 60 min, 70 min, 80 min, 90 min, 100 min。得到的负压空化提取液经膜过滤, 用紫外分光光度计在 765nm 处测得各组实验的吸光度并按标准曲线公式计算棕榈藤酚酸的含量。实验结果由图 2 可见, 酚酸提取率随着空化时间的增加而增大, 从 40 min 酚酸提取率 5.51 mg/g 到 70 min 阶段增加明显, 在 70 min 处达到峰值, 提取率为 6.36 mg/g。继续延长空化时间, 酚酸的提取率反而略减小, 由此得出空化时间为 70 min 为最佳。

3.2.2. 空化流速和空化仪器形状对棕榈藤酚酸提取率的影响

负压空化操作使用实验室自制的负压空化设备, 仪器分为柱形和梨形(形似分液漏斗)两种, 空化速度分为采用 50、100、200 mL/min。3.1 项所得匀浆提取液分为 4 份分别倒入柱型空化仪器以慢速(50 mL/min)、中速(100 mL/min)、快速(200 mL/min)和梨型空化仪器(1L)以快速(200 mL/min)负压空化 70 min。

实验数据见表 1, 在空化时间、仪器形状相同时, 空气流速越快, 空化的效果越好, 空气流速 200 mL/min 空化 70 min 后, 棕榈藤酚酸的提取率可达 6.67 mg/g。由于空气速度的增加, 单位时间内器壁上所产生的气泡量增多, 气泡在固液两相界面上溃灭的数量增多, 速度加快, 体系中有效物质受气泡的

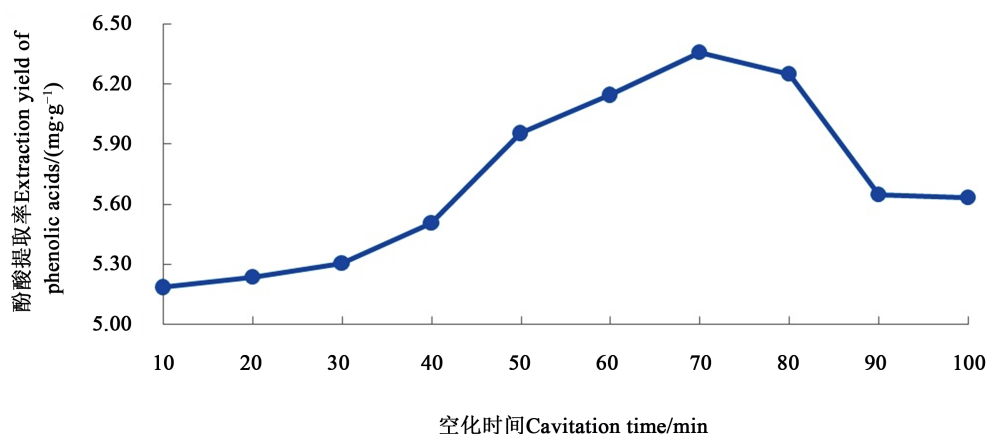


Figure 2. Effect of cavitation time on the extraction yield of phenolic acids from Rattan
图 2. 空化时间对棕榈藤酚酸提取率的影响

Table 1. Effect of cavitation velocity on the extraction yield of phenolic acids from Rattan
表 1. 空化速度对棕榈藤酚酸提取率的影响

序号 Order number	仪器形状 Instrument shape	空化速度 Cavitation rate/(mL·min ⁻¹)	棕榈藤总酚酸提取率 Extraction yield of phenolic acids from Rattan/(mg·g ⁻¹)
1	柱型 Columnar order	慢速 Low speed (50)	4.85
2	柱型 Columnar order	中速 Intermediate speed (100)	6.32
3	柱型 Columnar order	快速 Highspeed (200)	6.67
4	梨型 Pyriform order	快速 Highspeed (200)	7.13

空化空蚀效应、湍动效应、混旋及界面效应的作用下加强，传质速度提高。

在空气流速相同的条件下，梨形空化仪器对于酚酸的提取率(7.13 mg/g)优于柱型空化仪器的提取率(6.67 mg/g)。可能是因为上宽下窄的玻璃器壁在进气口处与液相接触的比表面积较大，气泡在液相中形成的比表面积也增大，所产生的气泡量增多，而在气泡增涨上升的过程中，受到液体的压力逐渐减小，气泡增涨的更大，进而溃灭时所带来的空化空蚀效应更加强烈，传质效率增大，故梨形空化仪器对负压空化提取酚酸的效果更好。

3.3. 对棕榈藤酚酸的光热稳定性分析

3.3.1. 受热对棕榈藤酚酸稳定性的影响

将 3.2.2 项所得棕榈藤酚酸提取液稀释后进行热稳定性实验。实验结果如图 3 所示。可见，温度对于酚酸稳定性影响较大，50℃~60℃条件下，0~15 h 内酚酸提取率下降较明显(由 4.68 mg/g 下降至 4.35 mg/g，以 50℃为例)，在 15 h 后趋于平缓，到 25 h 时酚酸含量下降至 4.26 mg/g；而温度在 70℃~90℃下，0~10 h 酚酸在溶液中含量急剧下降(降至 3.73 mg/g，以 90℃为例)，10 h 以后趋于平缓，在 25 h 处酚酸提取率为 3.58 mg/g；高于 50℃受热，提取液中酚酸含量下降，原因是高温使得酚酸部分分解或异构化，形成自身的氧化聚合，而低于 40℃时稳定性较好。所以棕榈藤酚酸类化合物应在 50℃以下进行提取，运输和储藏。

3.3.2. 光照对棕榈藤酚酸稳定性的影响

将 3.2.2 项所得棕榈藤酚酸提取液稀释后进行光照稳定性实验。将酚酸提取液放入 25 mL 标准比色管中，距离 30 cm 处用 UVA 和 UVB 紫外灯管平行照射 12 h，每隔 4 h 取样测定酚酸含量的变化，以室内日照自然光为对照，进行光稳定性分析。图 4 中室内自然光照 12 h，对棕榈藤酚酸提取液中酚酸含量影响不大，而在 UVA、UVB 紫外光线照射 2 h，酚酸含量就明显由 4.32 mg/g 分别下降至 UVA 3.80 mg/g 和 UVB 3.92 mg/g，2~8 h 酚酸含量降低速率稍缓，但趋势依然明显，照射 12 h 后，提取液中酚酸含量分别下降至 UVA 3.42 mg/g，UVB 3.37 mg/g。所以棕榈藤酚酸的日照光稳定性较好，但要避免紫外光近距离的长时间照射。

4. 结论

本研究以棕榈藤叶片为原料，采用匀浆负压空化提取的方法对棕榈藤叶片中的酚酸进行提取。优化了过程参数，实验结果表明：以体积分数 60% 的乙醇溶液为提取溶剂；料液比 1:14 g/mL；匀浆 210 s 后；加入到梨形空化设备中，以 200 mL/min 的空气流速空化 70 min；为最佳匀浆负压空化的条件，所得棕榈藤叶片中总酚酸的提取率为 4.32 mg/g。本研究还对棕榈藤酚酸提取物的光热稳定性进行分析，结果表明：

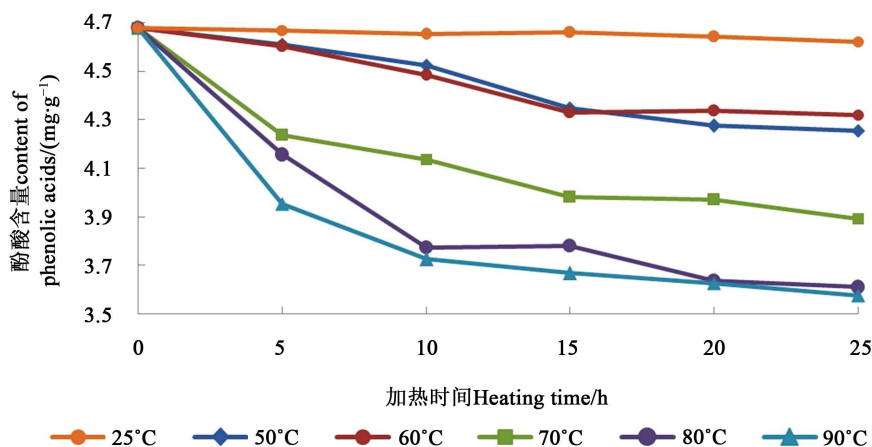


Figure 3. Effect of being heated on the phenolic acids content stability

图 3. 受热对酚酸含量稳定性的影响

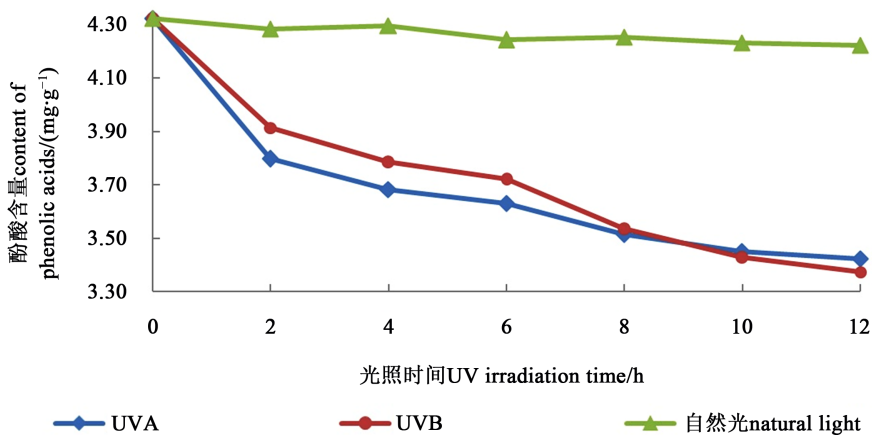


Figure 4. Effect of being UV irradiation on the phenolic acids content stability

图 4. 光照对酚酸含量稳定性的影响

低于 50℃时酚酸热稳定性较好, 在 90℃受热 12 h, 总酚酸含量为初始含量的约 75%; 而光稳定性分析表明, 室内自然光照射 12 h 内含量基本不变, UVA 和 UVB 紫外照射对酚酸类化合物含量的稳定性影响较大, 照射 12 h 后, 酚酸含量分别降至 UVA: 3.42 mg/g, UVB: 3.37 mg/g, 自然日光: 4.22 mg/g。

致 谢

作者感谢国家重点研发计划(2017YFD0601006), 黑龙江省青年科学基金资助项目(QC2015034), 中央高校基本科研业务费(2572016BB01), 黑龙江省博士后科研启动金(LBH-Q16001)和东北林业大学大学双一流科研启动金(YQ2015-02)的资助。

参考文献 (References)

- [1] Mohan Ram, H.Y. and Tandon, R. (1997) Bamboo and Rattans: From Riches to Rags. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, **63**, 245-267.
- [2] 钟如松, 何洁英, 伍有声, 等. 引种棕榈图谱[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2004, 355.
- [3] 林秀香, 陈振东. 我国棕榈科植物的研究进展[J]. 热带作物学报, 2007, 28(3), 115-119.
- [4] 竺肇华. 中国热带地区竹藤发展[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001.
- [5] 许煌灿, 尹光天, 孙清鹏, 等. 棕榈藤的研究和发展[J]. 林业科学, 2002, 38(2): 135-143.
- [6] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1977: 750-751.
- [7] 刘善庭, 李建美, 王清, 辛勤, 林丽文, 李军, 于江, 杨静, 梁玉记, 齐汝霞. 棕榈果实水-醇提取物的药理研究[J]. 济宁医学院学报, 2003, 26(1), 36-37.
- [8] 林源, 陈静. 常用民族药植物中酚酸类化合物的提取、纯化及生物活性研究进展[J]. 中国民族医药杂志, 2014, 9(9): 39-41.
- [9] 詹莉莉, 章程辉, 常刚, 叶俊松, 潘晓威. 福林酚比色法测定露兜筋果实中的总多酚[J]. 广东农业科学, 2013(4): 77-80.
- [10] 刘莉娜. 负压空化法高效提取虾青素的研究[D]. [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2006.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org