

湿地松松针中鞣质的提取与分离工艺研究



LI Sen-lin

李森林¹, 张建斌¹, 张正付², 魏雄辉^{2*}

(1. 内蒙古工业大学化工学院, 内蒙古 呼和浩特 010051;

2. 北京大学化学与分子工程学院, 北京 100190)

摘 要: 通过单因素试验法对湿地松松针提取物得率及提取物含鞣质量的影响因素进行了研究, 获得了湿地松松针中鞣质提取的最佳条件: 提取剂为水, 提取温度 120 ℃, 提取时间 5 h, 液料比 14:1 (mL:g), pH 值为 10。在此条件下, 湿地松松针总提取物得率为 17.69%, 提取物中含鞣质 29.17%。同时, 利用高效液相色谱 (HPLC) 对没食子酸进行了初步分离, 确定了没食子酸的分离条件, 并测定了鞣质加酸分解后没食子酸含量变化, 证明提取物中可能含有可分解的水解鞣质或复合鞣质。

关键词: 湿地松; 松针; 鞣质; 没食子酸; 工艺优化

中图分类号: TQ351.0; S791.246

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2010)05-0099-04

Study on Extraction and Isolation of Tannin from Pine Needles of *Pinus elliottii* Engelm.

LI Sen-lin¹, ZHANG Jian-bin¹, ZHANG Zheng-fu², WEI Xiong-hui²

(1. Chemical Engineering College, Inner Mongolia University of Technology, Hohhot 010051, China;

2. College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100190, China)

Abstract: Process of extracting tannin from pine needles of *Pinus elliottii* Engelm. was studied. Five main factors were studied on the yield of pine needle extract and tannin. By single factor experiments, the optimal parameters were confirmed as follows: extracting time 5 h at 120 ℃ with ratio of liquid to solid 14:1 (mL:g), and pH value 10. The yield of extract was 17.69% and tannin was 29.17% in the extract. Gallic acid and other compositions can be well separated by HPLC technique. The experiment proved that extracts may contain hydrolysable tannin or complex tannins.

Key words: *Pinus elliottii* Engelm.; pine needles; tannin; gallic acid; optimization

湿地松 (*Pinus elliottii* Engelm.) 原产于美国东南部, 20 世纪 90 年代中期引入我国, 目前分布较为广泛。湿地松在我国大部分作为园林绿化, 少量作为木材使用, 而松针的开发利用很少。有研究^[1]表明松针中含有大量挥发油、色素、纤维素、氨基酸、黄酮类等化合物, 其中游离的氨基酸多达 18 种, 富含人类必需的 8 种氨基酸, 维生素比一般的水果蔬菜高出数倍甚至数十倍, 此外还含有钙、磷、铁、锰等多种微量元素, 而松针的提取物也有很强的药用价值, 例如消炎、降血脂、降血压、抑菌、抗衰老、抗癌等, 已被学术界认可并且逐渐受到重视。同时, 松针中含有大量的鞣质, 在生产中往往作为杂质除去, 但随着国内外对鞣质的研究^[2]表明, 鞣质具有很强的生理活性, 低分子质量的水解鞣质, 尤其是二聚鞣花鞣质, 可作为口服剂来抑制艾滋病 (AIDS); 能消除生物体内过剩的自由基, 维护细胞膜的流动和蛋白质的构象, 防止辐射诱发的 DNA 断裂, 从而在抑制脂质过氧化、心血管病、抗衰老、抗癌等方面有独到功效, 可见鞣质有很可观的应用前景^[3-9]。作者利用水提法从松针中提取鞣质, 对其提取工艺进行优化, 确定了最佳的提取条件, 利用 HPLC 检测了提取物酸解后的没食子酸变化, 确定了没食子酸分离的色谱条件,

收稿日期: 2010-01-07

作者简介: 李森林 (1982-), 男 (满族), 河北滦平人, 硕士生, 研究方向为天然产物提取与分离

* 通讯作者: 魏雄辉 (1964-), 男, 江西永丰人, 副教授, 博士生导师, 从事致癌和抗癌理论及天然抗癌药物的筛选和环境污染控制与“三废”治理的研究; E-mail: xhwei@pku.edu.cn。

以期为松针中鞣质的进一步研究开发及应用提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂和仪器

原料:湿地松松针采自江西省永丰县,阴干后,剪成1~1.5 cm长备用。

试剂:F-D试剂(钨酸钠($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)),磷钼酸($\text{H}_7(\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6) \cdot \text{H}_2\text{O}$)及磷酸(H_2PO_4)回流制得);单宁酸为分析纯;没食子酸对照品(中国生物制品药品检定所);其他试剂为分析纯。

仪器:高效液相色谱仪(Agilent HP1100)、紫外可见分光光度计、分析天平、高压反应釜。

1.2 实验方法

总提取物采用重量法测定。

提取物中鞣质含量(以质量分数计)采用F-D显色,紫外分光光度法测定。

湿地松鞣质的提取:采用水提法和醇提法。称取处理后的松针,于高压反应釜中,加入蒸馏水(或无水乙醇)液料比14:1(mL:g,下同)加热回流5 h,减压过滤,旋蒸浓缩至稠膏后真空干燥,检测其鞣质含量。

单因素试验:以提取溶剂、提取温度、提取时间、液料比、pH值等因素对湿地松的提取工艺进行考察。

HPLC分离提取物条件:流动相甲醇-乙腈-0.1%磷酸(体积比5:3:92),YWG-C18色谱柱,流速1 mL/min,柱温为室温,检测波长280 nm,进液量10 μL 。

酸解前提取物中没食子酸含量测定:称取0.500 g干燥后的提取物,加蒸馏水溶解并定容至50 mL,取10 mL,用等体积的乙酸乙酯萃取3次,合并,定容至50 mL,滤膜过滤,作为供试品溶液1。

提取物酸解实验:称取干燥后的提取物1.000 g于圆底烧瓶中,加入50 mL 5% H_2SO_4 ,加热回流1 h,回流液移至100 mL容量瓶中,反复洗涤圆底烧瓶,并将洗液移至容量瓶中最后定容,取20 mL,并用等体积的乙酸乙酯萃取3次,合并,定容至100 mL,滤膜过滤,作为供试品溶液2。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线

标准曲线的绘制:精确吸取单宁标准液0、2、6、10、14、20、25、30 mL分别置于100 mL容量瓶中,加入F-D试剂4 mL,充分摇匀,静置5 min,加入饱和碳酸钠溶液10 mL,摇匀,静置20 min,蒸馏水定容至刻度,于紫外分光光度计测量吸光度。以吸光度(A)对单宁浓度(c)绘制标准曲线得单宁酸标准线性方程为: $Y = 65.455X + 0.0047$, $R^2 = 0.9992$ 。

2.2 单因素试验对总提取物得率及鞣质含量的影响

2.2.1 提取溶剂 液料比15:1,加热回流3 h,得到的总提取物得率和鞣质质量分数见表1。可以看出水溶液的提取物在总提取物得率及鞣质质量分数两方面都优于乙醇溶液。并且用水作为提取溶剂既降低了生产成本又降低了生产过程中的危险性。

表1 提取溶剂对总提取物得率及提取物鞣质质量分数的影响

Table 1 Effects of solvent on the yield of extract and tannin mass fraction in the extract

溶剂种类 solvents	总提取物得率/% total extract yield	提取物中鞣质质量分数/% tannin mass fraction in the extract
蒸馏水 distilled water	6.64	15.07
无水乙醇 ethanol	6.58	14.79

2.2.2 提取温度 水为溶液,液料比15:1,pH值7,不同温度条件下,提取3 h,所得到的总提取物得率和鞣质质量分数见图1(a)。从图中可以看出:30~160 $^{\circ}\text{C}$ 的范围内,随着温度的升高,总提取物得率及鞣质质量分数呈现上升趋势,在120 $^{\circ}\text{C}$ 时达到较大值,高于120 $^{\circ}\text{C}$ 随着温度的增加总提取物得率有所

上升但鞣质质量分数基本不变。

2.2.3 提取时间 提取温度 120 ℃,液料比 15:1,pH 值 7,不同时间条件下,所得到的总提取物得率及鞣质质量分数见图 1(b)。从图中可以看到:提取回流时间从 0.5~5 h 随时间增加,总提取物得率及鞣质显著上升,但超过 5 h 后总提取物得率及鞣质质量分数无明显增加。

2.2.4 液料比 提取温度 120 ℃,pH 值 7,在不同料液比条件下,提取 5 h,所得到的总提取物得率及鞣质质量分数见图 1(c)。从图中可以看出:液料比值在 10 时总提取物得率及鞣质质量分数最低,当液料比值为 16 时总提取物得率升高但其所含鞣质质量分数降低,当比值为 14 时鞣质质量分数达到最大。

2.2.5 pH 值 提取温度 120 ℃,液料比为 14:1,提取时间 5 h,在不同 pH 值条件下(调节 pH 值所用试剂为氢氧化钠),所得到的总提取物得率及鞣质质量分数见图 1(d)。从图中可以看出:总提取物得率及鞣质质量分数在 pH 值为 10 时最大,而在 pH 值为 7 时最小。在检测鞣质质量分数时需将样品 pH 值调至 6~7,否则影响测定结果。

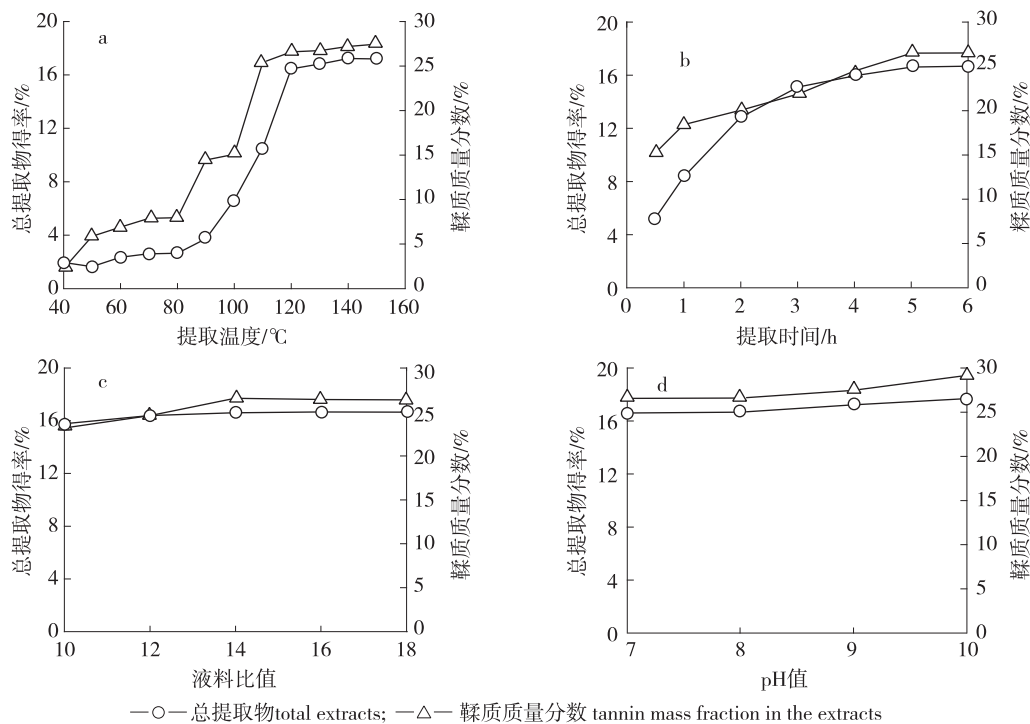


图 1 不同条件对提取物得率的影响

Fig.1 Effects of different conditions on extract yield

通过单因素筛选试验,得到了提取物中鞣质质量分数最大的工艺条件为:水作提取剂,提取温度 120 ℃,液料比为 14:1, pH 值 10,提取 5 h,在此条件下所得到的总提取物得率为 17.69%,提取物中鞣质质量分数 29.17%。

2.3 HPLC 检测酸解前后提取物鞣质质量分数变化

按 1.2 节方法进行酸解实验,HPLC 检测,结果见图 2。

从图 2(b)中可以看出:在相同色谱条件下酸解前的供试品 1 在 7 min 出现一小峰;从图 2(c)中可以看出:在相同色谱条件下供试品 2 在 7 min 出现一高峰,这两图中的 1 号峰与图 2(a)的出峰时间相同,证明此峰为没食子酸的吸收峰。在图 2(c)中 5 min 处出现一新峰推测可能是由于酸解出现的未知物质。由此可以证明:在 H₂SO₄ 作用下有部分鞣质分解为没食子酸,推测提取物中含有可酸解为没食子酸的水解鞣质或复合鞣质。

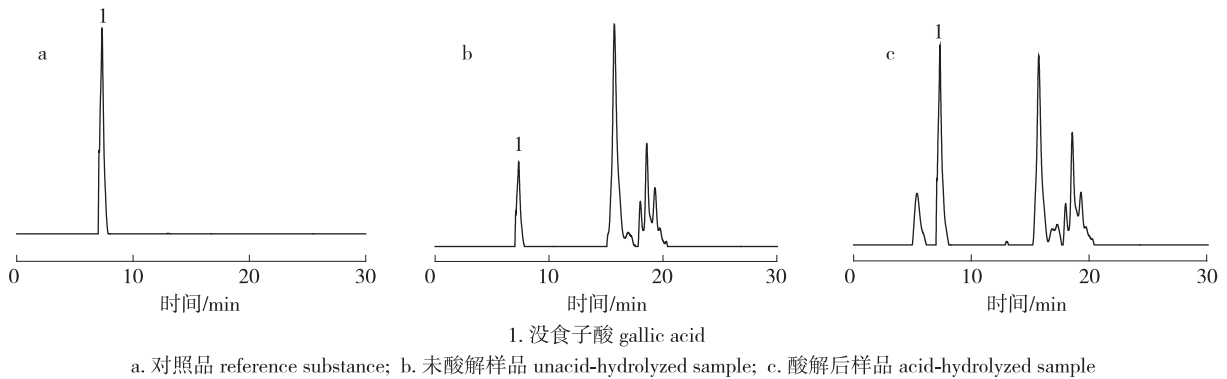


图2 样品酸解前后没食子酸的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC patterns of samples before and after acid hydrolysis

3 结论

3.1 通过单因素试验,逐个筛选最优提取条件,最后确定了湿地松松针中鞣质的最佳提取工艺条件:提取剂为水,提取温度 120 ℃,提取时间 5 h,液料比 14:1 (mL:g),pH 值为 10。在此条件下,湿地松松针总提取物得率为 17.69%,提取物中含鞣质 29.17%。

3.2 根据高效液相色谱仪对没食子酸的检测结果,提取物酸解后没食子酸含量增加,推测提取物中含有可酸解为没食子酸的水解鞣质或复合鞣质,对松针的深层次利用提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 刘晓庚,陈梅梅.我国松针的开发利用及进展[J].粮食与食品工业,2003,37(4):25-29.
- [2] TAKUO O,TAKASHI Y,TSUTOMU H. Ellagitannins as active constituents of medicinal plants[J]. Planta Med,1989,55(2):117-122.
- [3] 郑晓珂,冯卫生,王彦志,等.松针的化学成分研究[J].中国药学杂志,2004,39(11):820-821.
- [4] 黄顺东.松针临床应用及药理研究概况[J].实用中医药杂志,2005,21(8):514-515.
- [5] 胡丰林,陆瑞利.松针的利用价值分析[J].生物学杂志,1996,1(2):25-26.
- [6] 王焰山,张自文,黄晓萍,等.松针提取液对实验性高血脂症及脂质过氧化作用的影响[J].北京中医药大学学报,2001,24(2):35-36.
- [7] 李泉开,陈武.松针氨基酸成分的研究[J].中药通报,1988,13(4):40-41.
- [8] 陈红梅,管月清,孙凌峰.湿地松针叶挥发油化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2001,13(3):36-38.
- [9] 王春梅,王海莉,李贺,等.松针提取物降糖作用的实验研究[J].北华大学学报:自然科学版,2007,8(2):121-123.

下期要目

热塑性橡胶淀粉的制备和性能研究

BaCl₂ 和 Ca(CH₃COO)₂ 沉淀法定量分析普洱茶茶褐素官能团的研究

桉树木粉的有机磺酸催化热化学液化研究

肉桂油直接加氢制备苯丙醛研究

玉米芯水解制糠醛的废渣制备活性炭新工艺研究

SO₄²⁻/Fe₂O₃-Al₂O₃-SiO₂ 固体超强酸催化水解蔗糖生成乙酰丙酸

木素对碳酸钙结晶行为的影响

超声波辅助萃取法提取乌药叶黄酮类化合物的工艺研究

空气-磷酸活化木炭制备酸性颗粒活性炭的研究

玉米芯蒸汽爆破处理的研究及响应曲面法优化

油茶果壳基活性炭的制备及其中孔结构调控研究

麦草水溶性和碱溶性半纤维素的分离与表征

碳酸钠催化碱木质素的热解动力学研究

50种木材提取物清除自由基活性初探

昆明地区16种阔叶树种叶的热重分析

生物质酸水解副产物对糖液酵母发酵转化的影响

落叶松原花青素的没食子酰化及其抗氧化活性增强效应

马尾松、樟子松、臭冷杉针叶精油的化学成分比较研究

诺卜醇脱水合成诺卜二烯反应的研究

脱色纯化银杏叶聚戊烯醇的工艺研究

木糖醇的生产技术及应用研究进展(综述)