

闪式提取法提取海燕浸膏工艺研究

李欣遥, 裴晨红, 佟长青*, 李伟* (大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁大连 116023)

摘要 [目的] 海燕中含有大量的具有生物活性的化学成分, 研究海燕浸膏的提取, 对利用海燕资源具有重要意义。[方法] 利用闪式提取法提取海燕浸膏, 考察了乙醇浓度、提取时间、料液比对海燕浸膏提取率的影响。[结果] 闪式提取法制备海燕浸膏, 影响海燕总皂苷含量的因素大小依次为闪式提取时间、料液比、乙醇质量分数, 最优提取条件为 75% 的乙醇, 料液比为 1:30 g/mL, 闪式提取 90 s。[结论] 利用闪式提取法制备海燕浸膏获得了较好的效果, 为进一步从海燕中获得生物活性化学成分奠定了基础。

关键词 闪式提取法; 海燕; 浸膏

中图分类号 S986.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)23-047-03

Study on Extraction of Saponin from *Asterina pectinifera* by Using Flash-type Extractor

LI Xin-yao, PEI Chen-hong, TONG Chang-qing*, LI Wei* (College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023)

Abstract [Objective] *Asterina pectinifera* contains a large quantity of chemical components with biological activity, and studies on extraction of saponin from *A. pectinifera* has great significance to utilization of *A. pectinifera*. [Method] Saponin was extracted from *A. pectinifera* by using flash-type extractor JHBE-50T, and the effects of ethanol concentration, extraction time and solid-liquid ratio on the yield of saponin from *A. pectinifera* were analyzed. [Result] The factors affecting the extraction rate of saponin from *A. pectinifera* were shown as follows: extraction time, solid-liquid ratio, and ethanol concentration. The optimum extraction conditions were 75% ethanol, solid-liquid ratio 1:30 g/mL, and 90 s of extraction. [Conclusion] Saponin extracted from *A. pectinifera* by using flash-type extractor had high yield, which can lay foundation for the extraction of chemical components with biological activity from *A. pectinifera*.

Key words Flash-type extractor; *Asterina pectinifera*; Saponin

海燕(*Asterina pectinifera*)属于棘皮动物门、海星纲、有棘目、海燕科^[1], 是黄海海域常见的一种海星^[2]。海燕属于海洋底栖动物, 生活在黄渤海沿岸浅海及潮间带的沙底及岩礁上。海燕处于食物链的顶端, 捕食贝类、海胆、海参等, 因此它对正常的海水养殖和生产是一种威胁^[3-5]。近海水域海星泛滥的主要原因是由于海星的天敌急剧减少的缘故。随着人类无限制地捕捞以及环境的恶化, 鱼类及海鸥与水獭等海星天敌都大量减少, 导致海星泛滥^[6]。海燕具有重要的药用价值。《本草纲目》中记载, 海燕主治阴雨天发损痛, 煮汁服, 取汗即解, 亦入兹阳药^[7]。《中国海洋药物词典》上记载, 海燕干燥全体入药, 具有补肾壮阳, 祛风湿, 止痛作用^[8]。研究表明, 海燕中具有多种结构独特的化合物, 而发现生物中新的化合物, 离不开浸膏的制备。浸膏是生物材料用适宜的溶剂浸出的成分, 除去大部分或全部溶剂后, 浓缩成膏状或固体粉状物质, 它通常含有大部分有效成分。浸膏是中药炮制的一个重要方面。《中华人民共和国药典》登载了大量的中药材浸膏内容。

闪式提取方法是在植物组织破碎提取法基础上发展起来的一项新技术^[9-10]。该技术原理是在适当的溶剂中, 依靠高速机械剪切力和超动分子渗透, 在室温及溶剂存在条件下数秒钟内将植物组织细胞内的有效成分与溶剂充分接触, 使有效成分快速溶解转移^[10]。目前闪式提取方法大量应用于植物活性物质的提取过程, 在海洋生物活性物质提取研究方

面应用还不多。朱春茈^[11]利用了闪式提取技术对紫海胆壳的活性物质进行了分离提取; 谭成玉等^[12]利用闪式提取结合酶法对海洋小球藻(*Chlorella vulgaris*)多糖进行了提取; 何荣军等^[13]利用闪式提取技术对星虫爱氏海葵(*Edwardsia-sipunculoides*)多糖提取工艺进行了研究。为了更好地利用海燕这一重要的海洋生物资源, 笔者研究了利用闪式提取法提取海燕浸膏的工艺。

1 材料与方法

1.1 材料 海燕, 于 2014 年 10 月采于黄海海域, 洗净泥沙, 剪碎, 置冰箱中冷冻备用。无水乙醇、乙酸酐、 α -萘酚、氯仿、浓硫酸、氢氧化钠、盐酸等试剂, 均为国产分析纯; 香草醛、齐墩果酸, 购于阿拉丁公司。JHBE-50T 闪式提取器, 河南金鼎科技发展有限公司。

1.2 方法

1.2.1 浸膏中皂苷含量测定。采用香草醛-硫酸法测定总皂苷含量, 以齐墩果酸为标准品^[14-15]。精密称取干燥至恒重的齐墩果酸标准品 20.0 mg, 用 95% 乙醇溶解并定容至 50 mL, 得到浓度 400 g/mL 的标准品溶液, 备用。

吸取 0.50 mL 标准品溶液, 注入具塞试管中, 再加入 0.5 mL 的 8% 香草醛试剂, 摇匀, 置于水浴中缓缓加入 5 mL 72% 的硫酸摇匀, 立即放入 62 °C 的恒温水浴中, 保温 20 min, 迅速取出置于冷水浴中冷却 10 min, 在 30 min 内, 以不加标准品溶液的平行样为空白, 测定 OD_{550} 。

分别吸取 0.05、0.10、0.20、0.30、0.40 及 0.50 mL 标准品溶液, 注入具塞试管中, 各试管中以 95% 乙醇补足至 0.5 mL, 再各加入 0.5 mL 的 8% 香草醛试剂, 摇匀, 置于水浴中缓缓加入 5 mL 72% 的硫酸, 摇匀, 立即放入 62 °C 的恒温水浴中, 保温 20 min, 迅速取出置于水浴中冷却 10 min, 在 30 min 内, 测定吸光度(在最大吸收波长处进行), 绘制标准

基金项目 海洋局公益性行业科研专项项目(201205022-7); 大连海洋大学引进人才及在职培养博士启动项目。

作者简介 李欣遥(1990-), 女, 辽宁鞍山人, 硕士研究生, 研究方向: 海洋药物。* 共同通讯作者: 佟长青, 副教授, 从事食品生物技术研究; 李伟, 教授, 从事食品生物技术研究。

收稿日期 2016-06-10

曲线^[16]。

取适量海燕总浸膏提取物,配成一定浓度的溶液进行总皂苷的测定,根据标准曲线求出总浸膏中的皂苷含量。

1.2.2 闪式提取法制备海燕浸膏。准确称取 100 g 湿重海燕,加入适量的不同质量分数的乙醇溶液,将其放入闪式提取器 JHBE-50T 中,设置不同料液比、提取时间,常温进行提取。海燕浸膏得率按下式计算:

$$\text{海燕浸膏得率}(\%) = \text{冻干净重}(m_1) / \text{原料重}(m)$$

2 结果与分析

2.1 不同乙醇浓度对海燕浸膏及皂苷提取率的影响 如图 1,不同浓度的乙醇闪式提取法制备浸膏,随着乙醇质量分数的增大,浸膏得率逐渐降低,质量分数为 55% 的乙醇浸膏得率最高,达 4.35%,可能是因为溶出了较多水溶性成分。

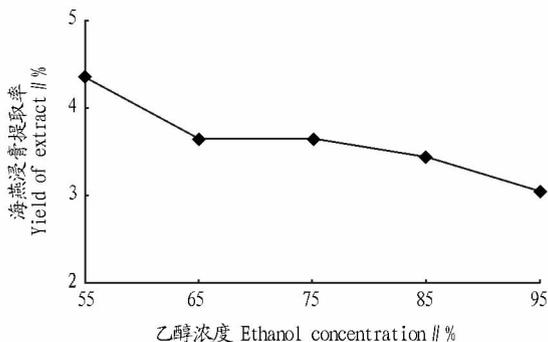


图 1 不同浓度乙醇对海燕浸膏提取率的影响

Fig.1 Effects of ethanol concentration on the yield of extract from *A. pectinifera*

由图 2 可以看出,随着乙醇浓度增大,海燕浸膏皂苷提取率逐渐降低,乙醇浓度为 55% 时提取率最大,为 0.47%。

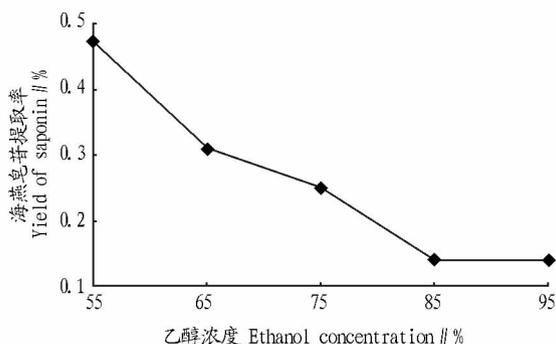


图 2 不同浓度乙醇对海燕浸膏皂苷提取率的影响

Fig.2 Effects of ethanol concentration on the yield of saponin from *A. pectinifera*

2.2 不同闪提时间对海燕浸膏及皂苷提取率的影响 由图 3 可知,闪式提取法制备海燕浸膏,随着提取时间的加长,浸膏提取率先增加后降低,在提取时间为 90 s 时,提取率达到最高,为 9.23%。由图 4 可知,随着时间的延长,闪式提取海燕浸膏皂苷提取率先增高后降低,在提取时间为 90 s 时达到最高,达 2.01%。

2.3 不同料液比对海燕浸膏及皂苷提取率的影响 由图 5 可知,闪式提取海燕浸膏,随料液比变化浸膏提取率先升高

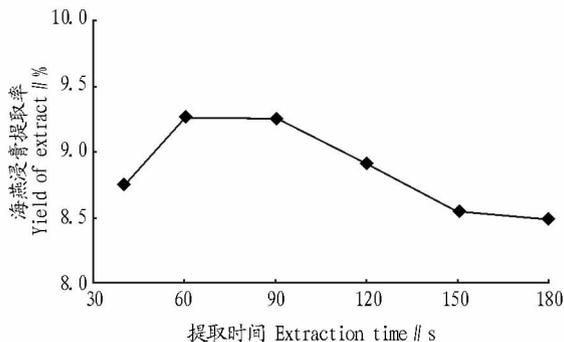


图 3 不同闪提时间对海燕浸膏提取率的影响

Fig.3 Impacts of extraction time on the yield of extract from *A. pectinifera*

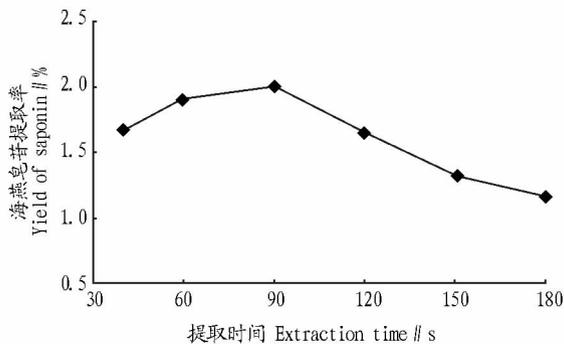


图 4 不同闪提时间对海燕浸膏皂苷提取率的影响

Fig.4 Impacts of extraction time on the yield of saponin from *A. pectinifera*

后降低,在料液比为 1:30 g/mL 时浸膏提取率最高,达 5.95%。

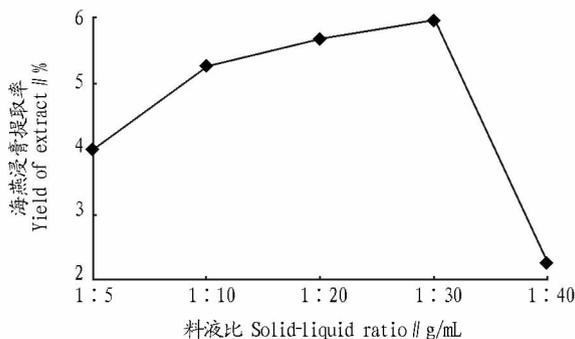


图 5 不同料液比对醇提海燕浸膏提取率的影响

Fig.5 Influences of solid-liquid ratio on the yield of extract from *A. pectinifera*

由图 6 可知,随着料液比的变化,闪式提取法获得的海燕浸膏皂苷提取率先升高后降低,在料液比为 1:30 g/mL 时提取率达到最大,为 1.31%。

2.4 海燕浸膏闪式提取正交试验 根据单因素试验结果,采用正交表 $L_9(3^3)$ 进行正交试验,具体因素水平设计见表 1。

以总皂苷提取率为指标,采用 $L_9(3^3)$ 正交表进行正交试验,结果见表 2。可以看出,影响海燕总皂苷提取率因素大小依次为闪式提取时间、料液比、乙醇质量分数,最优提取条件

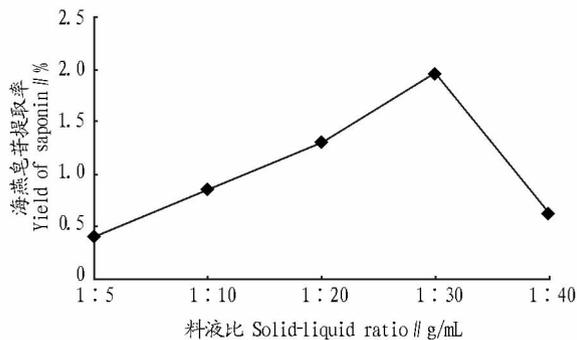


图6 不同料液比对醇提海燕浸膏皂苷提取率的影响

Fig.6 Influences of solid-liquid ratio on the yield of saponin from *A. pectinifera*

为 $A_3B_3C_3$, 即选用 75% 的乙醇, 以料液比为 1:30 g/mL, 闪式提取 90 s。

表1 海燕浸膏闪式提取工艺正交试验因素水平设计

Table 1 Design of experimental factors and levels for the flash-type extraction of saponin from *A. pectinifera*

| 水平 Level | 因素 Factor | | |
|----------|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| | 乙醇浓度(A) Ethanol concentration // % | B 提取时间 Extraction time(B) // s | 料液比(C) Solid-liquid ratio // g/mL |
| 1 | 55 | 40 | 1:10 |
| 2 | 65 | 60 | 1:20 |
| 3 | 75 | 90 | 1:30 |

表2 海燕浸膏闪式提取正交试验结果

Table 2 Results of the orthogonal experiment for the flash-type extraction of saponin from *A. pectinifera*

| 试验号 Experimental number | 因素 Factor | | | 皂苷提取率 Yield of saponin % |
|-------------------------|------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| | 乙醇浓度(A) Ethanol concentration // % | 提取时间(B) Extraction time // s | 料液比(C) Solid-liquid ratio // g/mL | |
| 1 | 55 | 40 | 1:10 | 2.73 |
| 2 | 55 | 60 | 1:20 | 3.41 |
| 3 | 55 | 90 | 1:30 | 8.30 |
| 4 | 65 | 40 | 1:20 | 4.12 |
| 5 | 65 | 60 | 1:30 | 4.64 |
| 6 | 65 | 90 | 1:10 | 5.21 |
| 7 | 75 | 40 | 1:30 | 4.29 |
| 8 | 75 | 60 | 1:10 | 4.74 |
| 9 | 75 | 90 | 1:20 | 8.65 |
| K_1 | 14.44 | 11.14 | 12.68 | |
| K_2 | 13.97 | 12.79 | 16.18 | |
| K_3 | 17.68 | 22.16 | 17.23 | |
| R | 1.24 | 3.67 | 1.52 | |

3 结论与讨论

该研究利用闪式提取法制备了海燕浸膏, 在单因素试验的基础上采用正交试验优化了提取工艺, 即在乙醇浓度 75%, 料液比 1:30 g/mL, 闪式提取 90 s 条件下, 获得了较好的效果。研究结果为进一步从海燕中获得生物活性化学成分奠定了基础。

闪式提取方法是在植物组织破碎提取法基础上发展起来的一项新技术, 而植物组织破碎提取法是基于日本冈山大学奥田拓男教授所赠送的日本三菱 JM-E31 型混合器实现的, 它主要针对的是鲜果软组织的破碎^[9]。河南中医学院的刘延泽教授研究团队对植物组织破碎提取技术进行了改进, 使之适用于耐有机溶剂的硬组织破碎提取^[10]。闪式提取方法具有省时、适用于各种材料、最大限度保留有效成分、操作方便、节能以及环保等优点^[17]。

参考文献

- [1] 周鹏, 顾谦, 王长云, 等. 海星皂甙及其他活性成分研究概况[J]. 科学视野, 2000, 24(2): 35-37.
- [2] 郭承华, 程岩, 刘雪梅, 等. 海燕生殖腺中几种营养成分含量的测定[J]. 海洋科学, 2004, 28(1): 79-81.
- [3] 郭承华. 海燕皂甙及其它活性物质的制备及其生物功能研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005.
- [4] 姜洪涛, 刘雨新, 辛晓东, 等. 海参敌害: 海星(海燕)[J]. 齐鲁渔业, 2008, 25(9): 22-23.
- [5] 水产第一股獐子岛迷失[EB/OL]. [2016-05-09]. <http://finance.sina.com.cn/focus/mszdz/>.
- [6] 周书珩, 王印庚. 近海水域海星泛滥引起的反思[J]. 水产科学, 2008, 27(10): 555-556.
- [7] 李时珍. 本草纲目: 下册[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 2553-2554.
- [8] 姜凤吾, 张玉顺. 中国海洋药物词典[M]. 北京: 海洋出版社, 1994: 271.
- [9] 刘延泽, 袁珂, 冀春茹. 中草药化学成分提取新方法: 植物组织破碎提取法[J]. 河南科学, 1993, 11(4): 265-268.
- [10] 刘延泽. 植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践[J]. 中国天然药物, 2007, 5(6): 401-407.
- [11] 朱春芬. 紫海胆壳中化学成分的分鉴定及其活性研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2014.
- [12] 谭成玉, 赵小霞, 孟繁桐, 等. 海洋小球藻多糖的制备及其体外抑制肿瘤血管生成活性的研究[J]. 中国海洋药物, 2014, 33(4): 34-38.
- [13] 何荣军, 赵月钧, 赵瑞娜, 等. 海藻免疫活性多糖的闪式提取工艺研究[J]. 浙江工业大学学报, 2015, 43(4): 389-392.
- [14] 郝林华, 李八方. 多棘海盘车的初步研究[J]. 海洋水产研究, 1998, 19(2): 81-87.
- [15] 孙启芬, 张宇, 张云杰, 等. 优选黄芪皂甙的提取工艺[J]. 黑龙江医药科学, 2009, 32(4): 24-25.
- [16] 张慧慧, 刘明言, 凌宁生. 香草醛-硫酸法测定甘草浸膏中甘草酸含量[J]. 化工进展, 2013, 32(1): 180-183.
- [17] 韩建海, 章琛, 刘延泽, 等. 一种用于高速硬组织捣碎的破碎刀具: 中国, CN 94244358.6[P]. 1994.

科技论文写作规范——数字

公历世纪、年代、年、月、日、时刻和各种计数和计量, 均用阿拉伯数字。年份不能简写, 如 1990 年不能写成 90 年, 文中避免出现“去年”、“今年”等写法。小于 1 的小数点前的零不能省略, 如 0.2456 不能写成 .2456。小数点前或后超过 4 位数(含 4 位数), 从小数点向左右每 3 位空半格, 不用“,” 隔开。如 18 072. 235 71。尾数多的(5 位以上)的数字和小数点后位数多的小数, 宜采用 $\times 10^n$ (n 为正负整数) 的写法。数字应正确地写出有效数字, 任何一个数字, 只允许最后一位存在误差。