

竹叶综合提取的初步研究

郑兴文, 胡德洪, 赵海琴, 许巧, 王洁芸, 曹莉皎

(四川理工学院化学与制药工程学院, 四川 自贡 643000)

摘要: 采用先水提, 后醇提, 再酸浸的方法对竹叶进行了综合提取。对竹叶的综合提取中测得: 多糖的提取率为 1.27%, 叶绿素的提取率为 3.94%, 黄酮的提取率为 0.24%, 硫酸浸取液的缓蚀效率为 89.55%, 与 0.001 mol/L KI 复配后, 达 97.71%。

关键词: 竹叶综合提取; 叶绿素; 黄酮; 多糖; 缓蚀性能

中图分类号: O646

文献标识码: A

引言

我国是竹子中心产区之一, 素有“竹子王国”之称, 竹林面积约 350 万公顷, 主要分布于南方各省, 是我国森林资源的重要组成部分。因此, 竹叶资源相当丰富^[1-2]。与竹子的整株利用相比, 目前对竹叶的利用仍很有限, 竹叶大部分还是以一种加工废弃物处理, 未能得到充分的利用^[2]。于是, 怎样开发利用竹叶资源, 成为人们研究的重点。但, 目前对竹叶的研究主要集中在从竹叶中提取叶绿素、多糖、黄酮等单一组份^[1, 3-6], 对竹叶的综合利用研究较少。本文在前期实验的基础上, 采用先水提, 后醇提, 再酸浸的方法, 对竹叶的综合提取进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

竹叶为毛竹叶, 采摘于自贡, 经除杂、清洗、阴干后, 在干燥箱中于 50℃ 下烘干, 粉碎后装入广口瓶中保存, 待用。

碳钢为 Q235 钢, 研究电极加工成直径为 1cm 的圆柱, 工作面积为 0.785cm², 非工作表面以环氧树脂涂封。

1.2 实验方法

1.2.1 竹叶综合提取流程

称取一定量的竹叶粉末, 装入烧杯中, 加入适量的

蒸馏水, 搅拌均匀后, 超声提取 30min, 减压过滤, 收集滤液, 滤渣用蒸馏水再提取一次, 合并滤液, 定容, 稀释后测多糖含量。滤渣加入适量的 95% 乙醇, 搅拌均匀后, 超声提取 30min, 减压过滤, 收集滤液, 滤渣用 95% 乙醇再提取一次, 合并滤液。滤液减压蒸发浓缩, 回收乙醇, 当乙醇量较少时, 加入蒸馏水, 使乙醇浓度低于 60%, 然后用等量石油醚萃取三次, 合并石油醚萃取液, 定容后稀释至适当浓度测叶绿素含量。对萃取后的乙醇溶液, 用离心机分离, 进一步除去叶绿素, 然后用乙酸乙酯萃取三次, 合并萃取液, 将萃取液减压蒸发回收乙酸乙酯, 所得物质用 60% 的乙醇溶解定容后, 测黄酮含量。对乙醇提取后的竹叶残渣用 15% 硫酸浸泡 5h, 减压过滤, 将滤液配制成竹叶浓度为 0.1g/mL 的 15% 硫酸溶液, 测缓蚀性能。提取流程见图 1。

1.2.2 多糖含量的测定

多糖含量的测定采用苯酚-硫酸法^[7]。苯酚-硫酸试剂可与游离的寡糖、多糖中的己糖、糖醛酸起显色反应, 己糖在 490nm 处, 戊糖及糖醛酸在 480nm 有最大吸收, 吸收值与糖含量呈线性相关。

1.2.2.1 标准曲线的制备

准确称取 105℃ 干燥至恒重的葡萄糖 20mg 用蒸馏水溶解, 定容到 500ml 摇匀, 得浓度为 40mg/L 的标准液。分别吸取葡萄糖标准溶液 0ml、0.4ml、0.8ml、1.2ml、1.6ml、2.0ml 于 6 支大试管中, 用蒸馏水补充至

收稿日期: 2010-05-31

基金项目: 材料腐蚀与防护四川省高校重点实验室基金项目(2007CL007); 四川理工学院大学生创新基金项目(2009DXSCX199)

作者简介: 郑兴文(1980-), 男, 山西山阴人, 讲师, 硕士, 主要从事应用化学方面的研究。

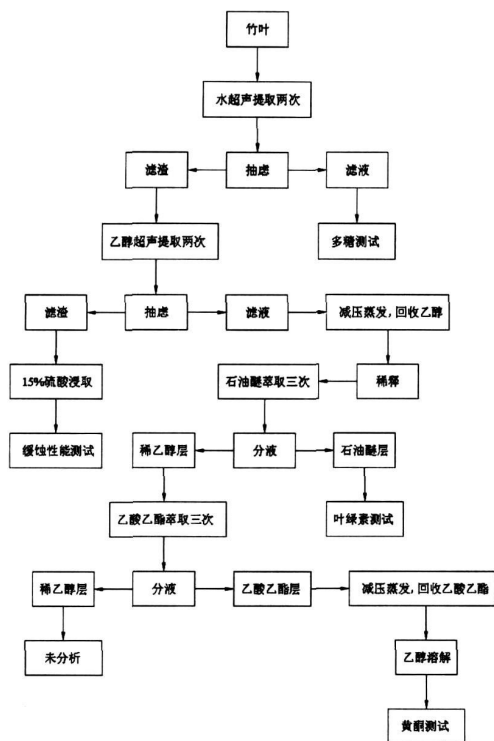


图 1 竹叶综合提取流程图

2ml 加入 1ml 5% 的苯酚溶液, 摇匀, 吸取 5ml 浓硫酸大力冲入大试管中, 静置 10min, 摇匀, 室温下放置 20min, 于 490nm 处测定吸光度 (以葡萄糖加入量为 0ml 的溶液作为参比)。

1.2.2.2 竹叶多糖含量测定

将多糖提取液稀释至恰当浓度, 精确取待测多糖稀液 2ml 按 1.2.2.1 测定吸光度值, 根据回归方程计算待测液中多糖浓度和多糖提取率。

$$\text{提取率}(\%) = \frac{C \times V}{W} \times 100\% \quad (1)$$

式 (1) 中, C 为多糖浓度; V 为多糖溶液体积; W 为竹叶样品干重。

1.2.3 叶绿素含量的测定

根据文献, 竹叶中含有叶绿素 a 和叶绿素 b, 它们分别在 663nm 和 645nm 处有最大吸收^[3]。测定时将含叶绿素提取液用无水乙醇稀释至适当浓度, 然后在 663nm 和 645nm 处测定其吸光度, 用公式 (2) 和 (3) 分别计算叶绿素含量^[8]和叶绿素提取率。

$$C = 20.21 A_{645} + 8.02 A_{663} \quad (\text{mg/L}) \quad (2)$$

式 (2) 中, C 为叶绿素浓度, A_{645} 和 A_{663} 分别为 645 和 663nm 处的吸光值。

$$\text{提取率}(\%) = \frac{C \times V}{W} \times 100\% \quad (3)$$

式 (3) 中, C 为叶绿素浓度; V 为溶液体积; W 为竹叶样品干重。

1.2.4 黄酮含量的测定

黄酮含量采用 $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 比色法^[4]测定。利用黄酮类化合物在亚硝酸盐存在的碱性条件下与硝酸铝形成稳定的红色配合物, 以芦丁为标样, 在 510nm 处测定吸光度, 计算提取物中黄酮的含量。

1.2.4.1 标准曲线的制备

准确称取干燥至恒重的芦丁 0.0752g 用 60% 乙醇溶解, 定容到 250ml 摇匀, 得浓度为 0.3008g/L 的标准液。分别吸取芦丁标准溶液 0ml、1.0ml、2.0ml、4.0ml、6.0ml、8.0ml 于 6 支 25ml 容量瓶中, 用 60% 乙醇补充至 12.5ml 加入 0.7ml 5% 亚硝酸钠, 摇匀, 放置 5min 后加入 0.7ml 10% 硝酸铝, 摇匀, 6min 后加入 5ml 1mol/L 氢氧化钠, 摇匀, 用 60% 乙醇稀释至刻度, 10min 后于 510nm 处测定吸光度 (以芦丁加入量为 0ml 的溶液作为参比)。

1.2.4.2 黄酮含量测定

将黄酮提取液稀释至恰当浓度, 精确取待测黄酮稀液 2ml 按 1.2.4.1 测定吸光度值, 根据回归方程计算待测液中多糖浓度和黄酮提取率。

$$\text{提取率}(\%) = \frac{C \times V}{W} \times 100\% \quad (4)$$

式 (4) 中, C 为黄酮浓度; V 为黄酮溶液体积; W 为竹叶样品干重。

1.2.4.3 黄酮红外光谱图的测定

将黄酮乙酸乙酯萃取液蒸发浓缩至干, 与溴化钾压片后用 Thermo Nicolet 6700 型红外光谱仪测试红外光谱。

1.2.5 竹叶缓蚀剂的提取

用 15% 的硫酸浸泡竹叶 5h 配制成竹叶质量与 15% 的硫酸体积之比为 1g:10ml 的溶液, 即配制成竹叶提取物的浓度为 0.1g/ml 的溶液。

1.2.6 竹叶提取液缓蚀性能的测试

采用线性极化法对竹叶提取物的缓蚀性能进行评价。研究电极——碳钢试样, 用 200# ~ 1000# 金相砂纸逐级打磨至表面光亮后, 丙酮除油, 蒸馏水清洗。实验采用三电极体系, 辅助电极为铂电极, 参比电极为饱和甘汞电极, 将准备好的研究电极置于待测溶液中, 待腐蚀电位的波动小于 2mV / min 后, 用 LK 2005 综合测试系统测试电极在不同介质条件下的极化曲线。空白条件设定为: 15% 硫酸, 30°C。线性极化扫描速度为 0.1mV / s 极化范围为 -10mV ~ +10mV。所得极化曲线数据经拟合后求得线性极化电阻 R_p , 缓蚀效率 η 的计算公式为:

$$\eta = \left(1 - \frac{R_p}{R_p^0}\right) \times 100\% \quad (5)$$

式 (5) 中, η 为缓蚀效率, R_p 、 R_p' 为加入缓蚀剂前、后所测得的极化电阻。

2 结果与讨论

2.1 竹叶多糖含量的测定

2.1.1 葡萄糖标准曲线

按 1.2.2.1 测定不同浓度葡萄糖标准溶液的吸光度值, 用最小二乘法进行线性回归, 得标准回归方程:

$$A = 0.01624 C - 0.0079, R^2 = 0.9951$$

2.1.2 竹叶多糖含量测定

按 1.2.2.2 测定竹叶提取液中多糖的含量, 按式 (1) 计算多糖提取率, 结果见表 1。由表 1 可见, 按上述方法多糖平均提取率达 1.27%, 较文献 [1] 的提取率高。以多糖提取率计算, 相对平均偏差为 2.36%, 较小。因此, 提取方法较稳定、可靠。

2.2 竹叶叶绿素含量的测定

按 1.2.3 测定了竹叶提取液中叶绿素的含量, 按式 (3) 计算叶绿素提取率, 结果见表 2。由表 2 可见, 按上述方法叶绿素平均提取率达 3.94%, 高于文献 [3] 的提取率。以叶绿素提取率计算, 相对平均偏差较小, 为 1.44%, 说明提取方法较稳定、可靠。

表 1 竹叶多糖提取率

样品编号	S1	S2	S3	平均值	相对平均偏差 (%)
含量 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	14.77	14.71	13.91	14.46	2.36
提取率 (%)	1.29	1.29	1.22	1.27	

表 2 竹叶叶绿素提取率

样品编号	S1	S2	S3	平均值	相对平均偏差 (%)
吸光度 (663nm)	0.560	0.572	0.562	-	1.44
吸光度 (645nm)	0.275	0.261	0.255	-	
含量 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	10.05	9.86	9.66	9.86	
提取率 (%)	4.02	3.95	3.86	3.94	

2.3 竹叶黄酮含量的测定

2.3.1 芦丁标准曲线

按 1.2.4.1 测定不同浓度芦丁标准溶液的吸光度值, 用最小二乘法进行线性回归, 得标准回归方程:

$$A = 11.7215 C + 0.02047, R^2 = 0.9957$$

2.3.2 竹叶黄酮含量的测定

按 1.2.4.2 测定竹叶提取液中黄酮的含量, 按式 (4) 计算黄酮提取率, 结果见表 3。由表 3 可见, 按上述方法黄酮平均提取率达 0.24%, 低于文献 [6] 的提取率。一方面可能是竹叶种类的差异和提取方法不同所致, 另一方面, 实验中所用提取方法并没有经过优化, 非最佳提取条件。此外, 在水提取中, 水溶性的黄酮类化合物会流失。以黄酮提取率计算, 相对平均偏差为

1.39%, 较小。因此, 提取方法较稳定。

表 3 竹叶黄酮提取率

样品编号	S1	S2	S3	平均值	相对平均偏差 (%)
含量 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.02394	0.02375	0.02315	0.02361	1.39
提取率 (%)	0.24	0.24	0.23	0.24	

2.3.3 竹叶黄酮的红外光谱

把所得的竹叶黄酮以及芦丁对照品分别与 KBr 混合压片制样, 采用傅立叶变换红外光谱仪对样品进行测试, 所得红外光谱见图 2。由图可见, 竹叶黄酮与芦丁的主要特征峰相同, 但不完全相同。对此可作如下解释: 竹叶黄酮主要是黄酮糖苷, 并以 C- 甙为主, 4 种主要的竹叶碳甙黄酮分别是荭草苷、异荭草苷、牡荆苷和异牡荆苷^[9]。但由于黄酮标准品难得, 通常选择芦丁作为对照品, 因此两者的红外光谱具有一定的相似性, 但并不完全相同。所得竹叶黄酮在 3358 cm^{-1} 、 2925 cm^{-1} 、 2854 cm^{-1} 、 1727 cm^{-1} 、 1657 cm^{-1} 、 1608 cm^{-1} 、 1452 cm^{-1} 、 1351 cm^{-1} 、 1179 cm^{-1} 、 1072 cm^{-1} 附近有吸收, 与文献报道的竹叶黄酮的红外吸收一致^[5,6,10]。因此, 判断提取物为竹叶黄酮类物质。

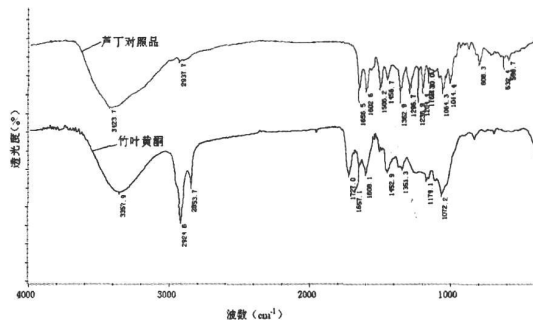


图 2 竹叶黄酮与芦丁对照品的红外光谱图

2.4 硫酸提取液的缓蚀性能

采用线性极化法对综合提取后竹叶硫酸浸取液的缓蚀性能进行了测定, 结果见表 4。由表 4 可见, 经水提和醇提后的竹叶, 用 15% 的硫酸浸泡 5h 所得提取液用 15% 硫酸配制成 0.1g/ml 的溶液时, 平均缓蚀效率达 89.55%, 表现出一定的缓蚀作用, 但低于文献 [11] 中新

表 4 综合提取后竹叶提取液的缓蚀效率

实验体系	缓蚀效率 (%)	平均缓蚀效率 (%)
15% H_2SO_4	-	-
15% $\text{H}_2\text{SO}_4 + 0.001 \text{ mol/L KI}$	51.89	-
S1	89.74	89.55
S2	88.77	
S3	90.15	
S1 + 0.001 mol/L KI	97.59	97.71
S2 + 0.001 mol/L KI	97.79	
S3 + 0.001 mol/L KI	97.76	

鲜竹叶硫酸提取液的缓蚀效率,这在综合提取中是必然的,因为在前面的提取中,具有缓蚀作用的物质不可避免地要损失,而且多糖和黄酮本身就具有一定的缓蚀作用。但提取液与 0.001mol/L 碘化钾复配后,平均缓蚀效率高达 97.71%,表现出较好的缓蚀作用,可以用作工业酸洗缓蚀剂,同时也表明竹叶提取液与 0.001mol/L 碘化钾之间存在良好的缓蚀协同效应。

3 结 论

对竹叶进行了综合提取,分别得到多糖、叶绿素、黄酮和硫酸提取液,多糖的提取率为 1.27%,叶绿素的提取率为 3.94%,黄酮的提取率为 0.24%,综合提取后硫酸提取液的缓蚀效率为 89.55%,与 0.001mol/L 碘化钾复配后,达 97.71%,具有工业使用的价值。因此,无论从经济成本考虑,还是从原料的充分利用来看,对竹叶进行综合提取都具有可行性。

参 考 文 献:

[1] 王伟. 竹叶多糖提取、分离及检测技术研究 [D]. 湖南农业大学硕士学位论文, 2006

- [2] 张新申, 刘福华, 孙西征, 等. 竹叶中有效成分的分离研究 [J]. 四川大学学报, 2002, 34(6): 116-118
- [3] 孙永泰. 从竹叶中提取叶绿素 [J]. 天然产物分离, 2004, 2(6): 19-20
- [4] 许钢, 张虹, 胡剑. 竹叶中黄酮提取方法的研究 [J]. 分析化学研究简报, 2000, 28(7): 857-859
- [5] 唐浩国, 郑卫东, 陈宗道. 麻竹叶黄酮类成分研究 [J]. 中国农学通报, 2005, 21(4): 114-118
- [6] 李怡彬, 郑明初, 郑宝东. 竹叶黄酮微波提取工艺的研究 [J]. 农产品加工·学刊, 2006(1): 48-50
- [7] 唐小俊, 池建伟, 张名位, 等. 荔枝多糖的提取条件及含量测定 [J]. 华南师范大学学报, 2005(2): 27-31
- [8] 刘利萍, 代大煜. 一种快速测定蚕沙中叶绿素的方法 [J]. 重庆大学学报, 1999, 22(3): 139-142
- [9] 张英. 天然功能性添加剂—竹叶提取物 [J]. 精细与专用化学品, 2002(7): 20-22
- [10] 李洪玉, 孙静芸, 戴诗文. 竹叶化学成分研究 [J]. 中药材, 2003, 26(8): 562-563
- [11] 郑兴文, 龚敏, 邹振, 等. 在硫酸介质中竹叶提取液的缓蚀性能及复配研究 [J]. 腐蚀科学与防护技术, 2009, 21(5): 439-442

Preliminary Study of Comprehensive Extraction of Bamboo Leaves

ZHENG Xing-wen, HU De-hong, ZHAO Ha-tqin, XU Qiao, WANG Jie-yun, CAO Li-jiao

(School of Chemistry and Pharmaceutical Engineering Sichuan University of Science & Engineering Zigong 643000 China)

Abstract In this paper, water extraction was first used, then alcohol extraction, and acid leaching methods last exploited, which made a comprehensive extraction of bamboo leaves. The extraction rate was as follows: Polysaccharides 1.27%, chlorophyll 3.94%, flavonoids 0.24%. The inhibition efficiency of sulfuric acid extract was 89.55%, while its complex of potassium iodide (0.001mol/L) made the inhibition efficiency up to 97.71%.

Key words comprehensive extraction of bamboo leaves; polysaccharides; chlorophyll; flavonoids; corrosion inhibition

(上接第 736页)

Experimental Investigation on Granulation Conditions for Production of Granular MAP by Spray Process in Superheated Steam Fluidized Bed

DU Hua-ming¹, LUO Rong-zhen², CHEN De-jun¹, ZHANG Chen-hong¹, ZHU Jia-hua³

(1. School of Material and Chemical Engineering Sichuan University of Science & Engineering Zigong 643000 China

2. School of Chemical and Pharmaceutical Engineering Sichuan University of Science & Engineering Zigong 643000 China

3. School of Chemical Engineering Sichuan University Chengdu 610065 China)

Abstract The experiment is conducted in the superheated steam fluidized bed to study the effects of the spray density, the temperature of the fluidized bed layer, and the gas velocity on the process of fluidizing ammonification and granulation of monoammonium phosphate (MAP) in a cone fluidized bed with the diameter of 120 mm at the bottom. A mechanism of the growth of MAP granular is discussed. And the working conditions of producing MAP granules are given for two cases.

Key words monoammonium phosphate; fluidized bed; superheated steam; granulation