

文章编号:1001-6880(2016)6-0904-07

聚焦微波助脱除纤维素提取杜仲籽壳中杜仲胶

张月¹,王素素¹,李辉^{1,2*},向承启¹¹吉首大学化学化工学院; ²吉首大学植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室,吉首 416000

摘要:本研究采用聚焦微波提取法先脱除杜仲籽壳中的纤维素,再用溶剂提取杜仲胶。用实验因子设计优化了聚焦微波提取条件,从三个水平考察了四个因子,即微波辐照时间、碱液浓度、溶剂用量及微波功率对纤维素脱除效率的影响。脱除纤维素后的杜仲材料用石油醚为溶剂提取杜仲胶。结果表明:聚焦微波辐照脱除杜仲籽壳纤维素的优化条件为:辐照时间:20 min;氢氧化钠浓度:12.5%;溶剂用量:17.5 mL/g;微波功率:70%。与常规法碱提法提取杜仲胶相比,聚焦微波助提法提取率高,单次提取率达64.18%,提取时间短,一次提取需时小于3 h,而常规法约需30 h。两种方法所获产品纯度相差不大,显示了聚焦微波助提法提取杜仲胶的高效能。

关键词:杜仲胶;微波助提取;杜仲籽;溶剂提取

中图分类号:Q946.91;R284.2;TQ430.6 文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.6.015

Focused Microwave-Assisted Removal of Cellulose Coupled with Solvent Extraction of Gutta-percha from *Eucommia ulmoides* Seeds Shell

ZHANG Yue¹, WANG Su-su¹, LI Hui^{1,2*}, XIANG Cheng-qing¹¹College of Chemistry and Chemical Engineering, Jishou University; ²Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Utilization, Jishou University, Hunan Jishou 416000, China

Abstract: In the present study, a focused microwave-assisted solvent extraction method was developed for the removal of cellulose in *Eucommia ulmoides* seeds shell, followed by solvent extraction of gutta-percha. A L₉(3⁴) orthogonal factorial design for the optimization of removal conditions was used to evaluate the influence of four parameters, namely irradiation time, NaOH concentration, solvent volume and microwave power, on removal efficiency of cellulose. Then, the material obtained after removing cellulose was utilized to extract gutta-percha. Results indicated that the optimized conditions for the removal of cellulose were as follows: irradiation time of 20 min, 12.5% NaOH solution as extraction solvent, 17.5 mL solvent per gram material and 70% microwave power. Compared with the conventional NaOH extraction method, the proposed method possessed higher extraction efficiency for gutta-percha, with a value of 64.18% for a single circle, in a much less time (less than 3.0 h for the proposed method and about 30 h for the conventional one), with a comparable purity of gutta-percha. These results implied that the focused microwave-assisted extraction method was a promising method for the extraction of gutta-percha.

Key words: gutta-percha; microwave-assisted extraction; *Eucommia ulmoides* seeds shell; solvent extraction

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliver)是我国的一种传统中药材。杜仲中除含有丰富的生物活性成分外,也含有丰富的杜仲胶,尤其在杜仲籽壳中含量高达10%~18%^[1]。杜仲胶的化学组成与天然橡胶相同,但结构相反,因而性质差异很大。由于我国天然橡胶产量不足,生产和开发杜仲胶已成为天然橡胶的重要补充。湘西地区拥有近60万亩杜仲林,在下一个五年规划中还将增加100多万亩,这些杜仲

林为杜仲胶的研发与生产提供了丰富的资源。

迄今,从杜仲中提取仍是获取杜仲胶的主要途径。多数企业选择溶剂提取法,因为溶剂提取过程简单,提取效率较高^[2]。但由于植物材料中大量纤维素类物质的存在,杜仲胶难以有效提取,因此脱除纤维素成为溶剂提取杜仲胶的关键步骤。碱浸法使用低浓度的碱液反复浸洗原料以溶解除去纤维素,但该法碱液消耗量大,且多次冲洗使胶丝流失大,产率低,产品胶纯度也低^[3-6]。为了实现杜仲胶的高效提取,近年来发展了一些新的方法,梁宁宁等采用超微粉碎法处理杜仲植物组织后,再进行杜仲胶的提

收稿日期:2015-09-25 接受日期:2016-03-09

基金项目:国家自然科学基金面上项目(21077042);湖南省高校科技创新团队支持计划

*通讯作者 Tel:86-013974350509;E-mail:lihuijsdx@163.com

取,提高了提取率^[7]。袁英髦等研究了超声波辅助提取杜仲胶的工艺条件,发现超声频率40 kHz时提取效果较好^[8]。梁宁宁等采用复合酶解法提取出的杜仲胶中几乎不含有顺-1,4-聚异戊二烯,相对分子量达30万~40万^[9]。张学俊、任涛等研究发现纤维素酶能较大幅度促进杜仲纤维素细胞壁水解、杜仲叶表面的角质层的去除及长丝杜仲胶的提取,使杜仲胶回收率从2.5%提高到3%以上,所得杜仲胶品质优良^[10-12]。这些方法一定程度上改善了提取,但提取效率仍然不够高,某些技术环节还需进一步完善。微波提取是近年发展起来的高效提取方法^[13,14],通过微波辐照提高偶极分子的热运动,促进极性溶剂分子快速向植物组织细胞渗透,从而在较短时间内获得高的提取率^[15]。将微波辅助提取与碱浸法结合起来脱除杜仲材料中的纤维素是一种新的尝试。目前还未见文献报道。本工作采用微波辅助碱溶液提取杜仲籽壳中的纤维素,再用石油醚提取杜仲胶,并对微波助提条件进行优化,以期获得最好的提取效果。

1 材料与仪器

1.1 材料

石油醚、丙酮、氢氧化钠、四氯化碳购自上海化学试剂公司。苯酚、溴化钾、重铬酸钾、硫酸、溴水、酚酞购自天津恒兴化学试剂制造有限公司。以上试剂均为分析纯。水为去离子水。杜仲籽壳来自于湖南吉首老爹生物科技有限公司。

1.2 仪器

商业可用的微波炉(天津LG电子设备有限公

司)用于微波助提取,微波提取系统如图1所示,配备有2450 MHz磁控管,功率700 W,功率可调,样品瓶置于微波辐照区,连接有1 m长冷凝管,提取在常压下进行。WGH-30A型傅立叶红外光谱仪(中国天津)用于红外光谱测定。SHB-B95型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)。KQ-250E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。BZF-50型真空干燥箱(上海博迅实业有限公司)。

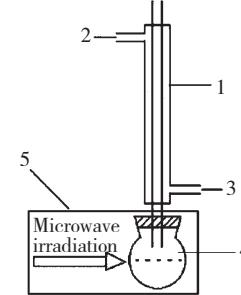


图1 聚焦微波助提装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of focused microwave-assisted solvent extraction apparatus

1 冷凝管;2 冷却水出口;3 冷却水进口;4 样品瓶;5 微波辐照系统

1 condensation pipe;2 ice water outlet;3 ice water inlet;4 sample vessel;5 microwave irradiation system

2 实验方法

2.1 微波助溶剂提取脱除纤维素

采用正交因子设计法测试了不同辐照时间(A)、碱液浓度(B)、溶剂用量(C)和微波功率(D)等条件下纤维素的脱除率。正交测试的因素和水平如表1所示。

表1 因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal design

水平 Levels	(A) 照射时间 Irradiation time (min)	(B) NaOH 浓度 NaOH concentration (%)	(C) 溶剂用量 Volume of solvent (mL/g)	(D) 微波功率 Microwave power (%)
1	10	5	10	90
2	20	10	15	70
3	30	15	20	50

典型的微波辅助提取过程为:称取50.0 g干燥的杜仲翅果粉末于2000 mL圆底烧瓶中,每克材料加入15 mL 15%的氢氧化钠溶液,搅拌,烧瓶接入到聚焦微波提取系统。开启循环水冷,调节微波辐照功率为总功率的70%,辐照20 min,冷却后过滤,固

体置于真空干燥箱中于60 °C真空干燥1 h,得到脱除纤维素的杜仲翅果粉末。纤维素脱除率按式(1)计算:

$$\text{脱除率}(\%) = \frac{\text{脱除纤维素前的材料质量} - \text{脱除了纤维素的粉末质量}}{\text{脱除纤维素前的材料质量}} \times 100\%$$

2.2 杜仲胶的制备

称取脱除纤维素后的杜仲翅果粉末 20.0 g 置于 500 mL 圆底烧瓶中, 加入 200 mL 石油醚回流提取 2 h 后, 用多层纱布趁热抽滤, 收集滤液, 冷却后置于冰箱中冷冻过夜, 用布氏漏斗抽滤, 得杜仲胶。

2.3 杜仲胶的鉴别及纯度检查

2.3.1 韦氏法鉴别杜仲胶^[16]

称取所得杜仲胶产品 0.1 g, 剪成细粒, 放入带盖瓷坩埚中, 滴加少量四氯化碳, 静置待其溶胀后, 加入溴水 4~6 滴, 再加 2.0 g 苯酚覆盖住试样。将坩埚置于沸水浴上用蒸汽加热 5 min, 挥干四氯化碳, 观察产物颜色。

2.3.2 红外光谱检测鉴定杜仲胶

用溴化钾压片法测试产品杜仲胶在 400~4000 cm⁻¹ 波数范围内的红外吸收光谱。

2.3.3 铬酸氧化法测定杜仲胶纯度

采用参考文献报道方法^[17] 测定杜仲胶纯度。在 100 mL 烧杯中加入 5.0 g 重铬酸钾, 缓慢加入硫酸至重铬酸钾全部溶解, 再加入 25 mL 蒸馏水, 配成铬酸溶液; 称取 0.5 g 杜仲胶, 用丙酮抽提至无色, 于 75 °C 烘干。将铬酸溶液加入到烘干的杜仲胶中, 反应 30 min 后, 蒸出生成的乙酸, 用 0.100 mol/L 的 NaOH 滴定至终点。杜仲胶纯度按式(2)计算:

$$\text{杜仲胶纯度} (\%) = \frac{V \times N \times 0.0908}{W} \times 100\% \quad (2)$$

表 2 L₉(3⁴) 正交测试结果(n=3)

Table 2 Results of orthogonal test L₉(3⁴) (n = 3)

实验序号 No.	A	B	C	D	纤维素脱除率 Removal percentage of cellulose (% , n = 3)
1	1	1	1	1	37.91 ± 2.56
2	1	2	2	2	49.69 ± 3.19
3	1	3	3	3	51.05 ± 2.70
4	2	1	2	3	53.37 ± 3.22
5	2	2	3	1	56.58 ± 5.06
6	2	3	1	2	59.28 ± 4.18
7	3	1	3	2	51.59 ± 3.55
8	3	2	1	3	55.58 ± 4.26
9	3	3	2	1	57.07 ± 3.87
K1	46.22	47.12	51.22	50.52	
K2	56.41	54.03	53.38	53.52	
K3	54.75	56.31	52.77	53.33	
R	10.19	9.19	2.16	3.00	

式中: V 为消耗 NaOH 溶液的体积 (mL); N 为 NaOH 溶液的当量浓度; W 为样品质量(g)。

3 结果与分析

3.1 正交测试微波助提纤维素

利用正交因子设计对聚焦微波辅助提取纤维素的条件进行了优化。通常, 对于四个因子、三个水平的条件优化, 需 81 次实验, 而采用表 2 所示的正交表, 只需进行 9 次实验就可获得优化条件。表 2 给出了各实验条件下纤维素的脱除率及标准偏差。可以发现, 对纤维素脱除率影响最大的因子是辐照时间(A), 其次为碱液浓度(B) 和微波功率(D), 影响最小的为溶剂用量(C)。优化的提取条件为: A2B3C2D2, 即辐照时间: 20 min; 氢氧化钠浓度: 15%; 微波功率: 70%; 溶剂用量: 15 mL/g。以极值最小的 C 因素为误差项进行方差分析, 结果如表 3 所示。结果表明, 微波辐照时间(A) 和碱液浓度(B) 对纤维素脱除率的影响有统计学意义($P < 0.05$), 而微波功率(D) 和溶剂用量(C) 对纤维素脱除影响不显著。

3.2 单因子实验

为进一步优化纤维素脱除条件, 在正交优化的基础上, 进行了单因子实验。各因子的取值范围如表 4 所示。图 2 显示了各因子对纤维素脱除率的影响及标准偏差。图 2(a) 给出了使用 70% 的微波功

表 3 方差分析表

Table 3 Variance analysis

方差来源 Source	偏差平方和 <i>s</i>	自由度 df	F 比	显著性 Sig.
A	0.0179	2	25.57	<0.05
B	0.0138	2	19.71	<0.05
C(误差)	0.0007	2	1.00	>0.05
D	0.0017	2	2.43	>0.05

注: $F(0.05) = 19.00$ 。

率,每 g 材料用 15 mL 15% 的氢氧化钠溶液分别处理 10、15、20、25、30 min 时纤维素的脱除率。可以发现纤维素脱除率随辐照时间延长,先增加后降低,当辐照 20 min 时,脱除率最高;图 2(b)显示了使用 70% 的微波功率辐照 20 min,当溶剂用量为 15 mL/g,而氢氧化钠浓度分别为 5.0%、7.5%、10.0%、12.5%、15.0% 时,纤维素的脱除率。可以看到,氢氧化钠浓度升高,纤维素脱除率增加,但当浓度高于

12.5% 时,脱除率反而下降;图 2(c)表明当其它条件固定(辐照时间为 20 min; 15% 氢氧化钠溶液; 70% 微波功率),随溶剂用量增大,纤维素脱除率增加,但当溶剂用量高于 17.5 mL/g 时,纤维素脱除率变化不大;图 2(d)显示了每 g 材料用 15 mL 15% 的氢氧化钠溶液为溶剂,分别用 50%、60%、70%、80%、90% 的微波功率辐照 20 min 时纤维素的脱除率,结果表明:当微波功率增加时,纤维素脱除率先

表 4 实验参数及优化值

Table 4 Experimental parameters and optimized values

参数 Parameters	范围 Range	优化值 Optimized values
辐照时间 Irradiation time (min)	10-30	20
氢氧化钠浓度 Concentration of NaOH (%)	5-15	12.5
溶剂用量 Solvent volume (mL/g)	10-20	17.5
微波功率 Microwave power (%)	50-90	70

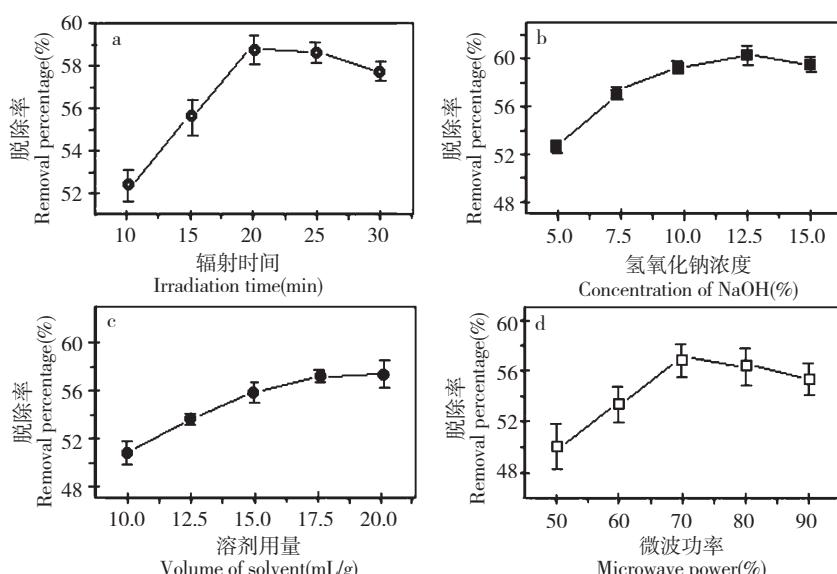


图 2 不同条件下纤维素的脱除率

Fig. 2 Removal percentage of cellulose under various extraction conditions

增加后降低,微波功率为 70% 时,脱除效果最佳。通过单因子实验的进一步优化,获得了聚焦微波助提法脱除纤维素的最优条件为:辐照时间:20 min;氢氧化钠浓度:12.5%;溶剂用量:17.5 mL/g;微波功率:70%。

3.3 提取重现性测试

在最优条件下测试了聚焦微波提取脱除杜仲籽壳纤维素的重现性。表 5 给出了重现性测试结果,平均标准偏差为 1.248%,显示了该法的良好重现性。

表 5 提取方法的重现性

Table 5 Repeatability test of microwave-assisted extraction technique

样品号 Sample No.	纤维素脱除率 Removal percentage of cellulose (%)				R. S. D. (%)	平均值 Mean value (%)
1#	58.24	60.82	61.53	60.97	59.87	1.290
2#	56.75	60.33	59.06	60.92	61.07	1.792
3#	59.45	60.37	59.17	59.41	61.44	0.941
4#	61.15	59.63	58.03	59.36	60.31	1.160
5#	61.38	60.25	58.49	59.47	59.88	1.059

3.4 杜仲胶产品的鉴定及纯度测定

以经微波辐照提取纤维素后的杜仲籽壳粉末为原料,用石油醚为溶剂提取杜仲胶,产率为 7.24%,用铬酸氧化法测得产品纯度为 87.2%。杜仲胶产品通过韦氏法处理后,呈现蓝色,证明是杜仲胶。图 3 显示了杜仲胶产品的红外光谱图,波数 3350 cm⁻¹ 处的峰为 C-H 伸缩振动吸收,波数 1822 cm⁻¹ 的吸收为 C=C 双键伸缩振动,1608 cm⁻¹ 的吸收为 C-H 弯曲振动吸收,1153 cm⁻¹ 的吸收为 C-C 弯曲振动吸收。产品的红外吸收光谱与文献报道基本一致^[18]。

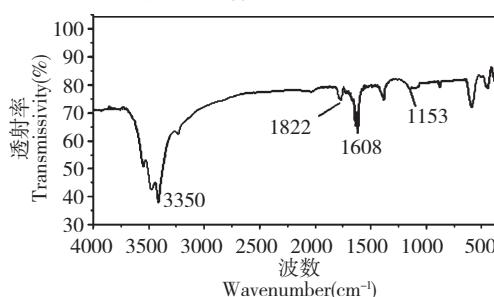


图 3 杜仲胶产品的红外吸收光谱

Fig. 3 FT-IR spectrum of obtained gutta-percha

3.5 聚焦微波提取法与其它方法的比较

表 6 给出了用聚焦微波助提脱除纤维素再用石油醚提取杜仲胶的方法、常规法及酶促水解-溶剂提取法的提取结果。可以发现,用聚焦微波助提法大大缩短了提取时间,特别是脱除纤维素仅用 20 min,而常规法碱处理时间长达 3 h。由于纤维素脱除效率高,后续杜仲胶提取时间大大缩短,总提取时间小于 2.5 h,且一次提取率高达 64.18%,远高于常规

碱溶提取法,比酶法提取稍低。聚焦微波助提法与常规溶剂法所获杜仲胶产品纯度相差不大,但聚焦微波法在较短时间内获得了常规法 3 倍的提取率,表明了聚焦微波法可大幅改善杜仲胶的提取。此外,张英俊^[8]等采用 1%~5% 的碱液去除角质层,再用果胶酶或纤维素酶促水解 45 min 破坏细胞壁,然后溶剂提取 2 h,杜仲胶收率高于 3%,且保存了杜仲胶特有的高分子性能,是一种有效的提取方法,但酶的使用提高了提取成本,提取时间较长。

4 结论

采用聚焦微波助提取法先脱除杜仲籽壳中的纤维素,再用石油醚可快速提取杜仲胶。使用 L₉(3⁴) 正交因子优化法和单变量优化法获得了聚焦微波助提纤维素的优化条件,结果显示微波辐照时间(A)对纤维素脱除率影响最大,其次为碱液浓度(B)和微波功率(D),影响力最小的为溶剂用量(C)。微波助提脱除杜仲籽壳中纤维素的优化条件为:辐照时间:20 min; 氢氧化钠浓度:12.5%; 溶剂用量:17.5 mL/g; 微波功率:70%。与其它提取方法相比,用聚焦微波助提法脱除纤维素需时短,脱除效率高,后续杜仲胶提取时间短,提取率高。几种方法获得杜仲胶产品纯度相差不大。显示了聚焦微波助提法在脱除杜仲籽壳纤维素,改善杜仲胶提取方面的优势,值得进一步研究、开发和应用。

致谢:感谢国家自然科学基金面上项目(21077042)及湖南省高校科技创新团队支持计划“环境能源材料与武陵山区矿产资源精深加工”所提供的资金援助。

表 6 聚焦微波助提法与常规法的比较

Table 6 Comparison of microwave-assisted extraction method with conventional solvent extraction and enzyme-assisted extraction methods

方法 Method	NaOH 浓度 Concentration of NaOH (%)	碱处理时间 NaOH treatment time (min)	总提取时间 Total extraction time (h)	杜仲胶提取率 Extraction percentage of gutta-percha (%)	产品纯度 Purity (%)
聚焦微波助提法 Focused microwave-assisted extraction	12.5	20	<2.5	64.18	87.20
常规碱液提取法 ^[19] Conventional solvent extraction	10	180	27	20.48	87.52
酶促水解-溶剂提取法 ^[5] Enzyme-assisted hydrolysis - Solvent extraction	1-5	360	<9	高于 3% ^a	-

^a 杜仲胶回收率高于 3%。

^a Recovery of gutta-percha higher than 3%.

参考文献

- Zhang XJ(张学俊), Zhou LH(周礼红), Zhang GF(张国发), et al. Extraction of gutta-percha from the bark and the leaves of Eucommia (*Eucommia ulmoides*). *J Guizhou Univ Technol, Nat Sci*(贵州工业大学学报,自科版), 2001, 6: 11-14.
- Zhang XJ(张学俊), Wang QH(王庆辉), Song L(宋磊), et al. The solution-precipitation of *Eucommia ulmoides* gum in petroleum ether at different temperatures to extract the gum. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2007, 19: 1062-1066.
- Yong DH(游东宏), Wu YY(吴媛媛). Study on the extraction process of *Eucommia ulmoides* rubber from Samara's shell of *Eucommia ulmoides* Oliver. *J Ningde Normal Univ, Nat Sci*(宁德师范学院学报,自科版), 2014, 3: 273-275.
- Ouyang H(欧阳辉). Study on the optimal extraction process of seed oil, aucubin and gutta-percha from eucommia seed. Hunan: Hunan University of Chinese Medicine (湖南中医药大学), PhD. 2012.
- Fu W(付文), Liu AH(刘安华), Wang L(王丽). Research progress on extraction and application of *Eucommia ulmoides* Gum. *China Elastomerics*(弹性体), 2014, 5: 76-80.
- Wang C(王聪), Mao B(毛波), Wang X(王旭), et al. Extraction of *Eucommia ulmoides* Gum by high-temperature cooking combined with solvent extraction method. *Chem Bioeng*(化学与生物工程), 2012, 2: 77-79.
- Liang NN(梁宁宁), Wang YW(王颖悟), Xin ZX(辛振祥), et al. The extraction and structural analysis of gutta-percha with ultramicro crushing method. *China Rubber Ind*(橡胶工业), 2015, 1: 53-56.
- Yuan YM(袁英髦), Cao YP(曹雁平). Ultrasonic assisted extraction of gutta-percha and flavonoids from eucommia. *J Food Sci Technol*(食品科学技术学报), 2014, 2: 67-71.
- Liang NN(梁宁宁), Wang YW(王颖悟), Xiang L(夏琳), et al. Analysis on structure and efficiency of *Eucommia ulmoides* gum extracted in composite enzyme treatment method. *J Qingdao Univ Sci Technol, Nat Sci*(青岛科技大学学报,自科版), 2014, 4: 383-386.
- Zhang XJ(张学俊), Zhang MM(张萌萌), Su XL(苏晓兰). The significance of bio-extraction from the original ecological *Eucommia ulmoides* Gum. *China Rubber*(中国橡胶), 2015, 5: 41-46.
- Zhang XJ(张学俊), Gong BH(宫本红), Wang QH(王庆辉), et al. Hydrolysis of plant cell wall of *Eucommia ulmoides* by cellulase and extraction of long silk gum. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2009, 21: 115-121.
- Ren T(任涛), Li DW(李多伟), Yan Z(闫钊), et al. Techniques of extracting gutta-percha by enzymolysis pretreatment of leaf residue in *Eucommia ulmoides* Oliv. *Non-wood Forest Res*(经济林研究), 2013, 1: 97-101.
- Mustapa AN, Martin A, Gallego JR, et al. Microwave-assisted extraction of polyphenols from *Clinacanthus nutans* Lindau medicinal plant: Energy perspective and kinetics modeling. *Chem Engineer Proc: Proc Intensific*, 2015, 97: 66-74.
- Yuan Y, Macquarrie D. Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. *Carbohydr Polym*, 2015, 129: 101-107.
- Zhang Q, Zhao SH, Chen J, et al. Application of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of flavonoids from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *J Chromatogr B*, 2015, 1002: 411-417.

(下转第 942 页)