

菊花中生物活性物质提取工艺研究进展

Advances in research on extraction technologies of Bioactive substances from chrysanthemum

张磊 项芳芝 苗文娟 殷培峰

ZHANG Lei XIANG Fang-zhi MIAO Wen-juan YIN Pei-feng

(滁州学院生物与食品工程学院, 安徽 滁州 239000)

(College of Biology and Food Engineering Chuzhou University, Chuzhou, Anhui 239000, China)

摘要:综述了菊花中常见的 5 种生物活性物质的最佳提取工艺,并就各提取工艺的原理和技术参数进行阐述,以期对菊花的科学研究和工业化生产提供理论依据与技术参考。

关键词:菊花;生物活性;提取工艺

Abstract: The optimum extraction techniques of five kinds of bioactive substances in chrysanthemum were reviewed, and the principle and technical parameters of each extraction process were expounded in order to provide theoretical basis and technical reference for scientific research and industrial production of chrysanthemum.

Keywords: chrysanthemum; Biological activity; extraction process

菊花(*Dendranthema Morifolium*)为菊科菊属,系多年生宿根草本花卉。中国是菊花的原产地,对菊花的栽培历史悠久,可以追溯到 3 000 多年前。菊花的花色、花型多样,目前菊花的品种大约 3 万种。其中杭白菊、亳菊、滁菊、贡菊为中国的四大名菊。随着科学技术的不断进步,对菊花的化学成分、理化性质和功能研究的逐渐深入,发现菊花中的生物活性物质主要为黄酮类化合物、挥发油、绿原酸、多糖、氨基酸等有效成分,具有抗肿瘤、抗病毒、调节心血管系统、抗炎、抑菌等作用^{[1]3-4}。

菊花中生物活性成分多、药用价值高,提取方法多样,但目前还没有文章对菊花中生物活性物质的提取工艺进行系统的阐述。本文拟对菊花中的 5 种活性物质的常见提取工艺进行总结,旨在为研究者和工业化生产提供依据。

1 菊花中黄酮类化合物提取工艺研究

大多数植物体内都含有黄酮类化合物,对植物的生长、

开花等方面起着重要的作用。现代药理学研究^[2]表明,菊花中的黄酮类化合物对人和动物具有多种功能,如镇痛、抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤等,这些功能使得对菊花中黄酮类化合物的研究更加深入。黄酮类化合物的分离方法有多种,目前主要有有机溶剂提取法、超声提取法、微波提取法等。

1.1 有机溶剂提取法

有机溶剂提取法是提取物料中的极性成分,利用有机溶剂将极性不同的待分离物与杂质分开,从而使物料达到分离纯化的目的。黄酮类化合物是菊花的主要生物活性成分之一,极性较小且易溶于有机溶剂。常采用乙醇、甲醇等有机溶剂对菊花中黄酮类化合物进行提取分离。不同有机溶剂对黄酮的提取效果具有明显差异,在工业化生产过程中,常选用乙醇提取黄酮类化合物。

楚红英等^[3]以 50%乙醇、50%甲醇和水作为溶剂,料液比、提取时间、温度为影响因素进行正交试验,确定提取紫色绣球菊花总黄酮最优条件:乙醇浓度 50%,液料比 15:1 (g/mL),提取时间 1 h,提取温度 60℃,测定总黄酮的平均含量为 84.13 mg/g。龚飞^[4]选用响应面法优化雪菊花中黄酮类化合物的提取工艺,并用紫外分光光度法测定总黄酮的含量,发现在乙醇浓度 63%,提取时间 1.6 h,料液比 1:42 (g/mL),提取温度 66℃时,雪菊花总黄酮提取率可达 19.157%。以上研究表明:当乙醇浓度超过 60%时,黄酮的提取率反而下降,可能是雪菊花中的黄酮类化合物多为苷类物质,在乙醇浓度高于 60%的溶液中溶解度会降低,且菊花中的蛋白质、多糖类物质,在高浓度时会发生聚沉,削弱黄酮类化合物的溶解性。

有机溶剂提取法因具有提取工序简单、设备要求低、前期投入低等优点,在工业化生产过程中被大规模应用,但由于提取时间长、有机溶剂残留等缺点,在一些菊花保健食品的应用方面受到限制。

1.2 超声波提取法

超声波提取法是指在超声波的作用下,溶液内部发生高

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:41601573);安徽省公益性技术应用研究联动计划项目(编号:1604f0704050);滁州学院实验室开放课题(编号:SWSP201507KF)

作者简介:张磊(1983—),男,滁州学院讲师,博士。

E-mail:leizhang2014@163.com

收稿日期:2017-01-20

温、高压作用,加速物质转移和热传导,同时使得待分离物质的组织细胞破碎,而将细胞内物质散出。

钟姣姣^[5]采用超声波辅助法提取菊花中总黄酮,得到最佳提取条件为:浸提时间 0.5 h,料液比 1:15 (g/mL),乙醇浓度 60%,温度 60℃,总黄酮的提取率为 10.93%。影响菊花总黄酮得率的最主要因素为提取时间,其次为料液比、温度和乙醇浓度。汪婷婷等^[6]利用超声波对 3 种药用菊花(杭白菊、贡菊、野菊花)中总黄酮进行提取,发现超声时间对每种菊花的影响程度不同,其中超声时间对贡菊影响最大。在最佳工艺条件下,杭白菊、贡菊、野菊花的总黄酮得率依次为 6.21%,6.62%,9.19%。

超声波提取法操作简单、速度快、黄酮类化合物得率高,有机溶剂消耗低、对环境污染小,但由于超声频率会随着萃取容器直径的增大而衰减,导致超声提取法在工业化中无法进行大规模生产。因此,若想将超声提取技术在工业化生产中得到应用,应将更多的研究投入在超声萃取机的技术研发中。

1.3 微波提取法

微波提取技术开始于 20 世纪 80 年代末,是匈牙利科学家 Ganzler K 提出的一项提取技术,但近几年才广泛应用到天然活性产物的提取过程中,它是利用电磁波的穿透作用,使活性成分从植物细胞中分离出来。微波提取技术是在传统的水提法和醇提法基础上外加 300 MHz~300 GHz 的电磁波,该法能够有效地减少溶剂的使用量和简化工艺流程。因此,在工厂生产过程中,采用微波辅助提取来降低成本,获得更大的利润。

杨浩等^[7]以醇浓度、微波时间、料液比等为考察因素,研究其对滁菊总黄酮提取率的影响,得到滁菊总黄酮提取的最优工艺:乙醇浓度 70%,料液比 1:20 (g/mL),微波萃取 100 s,滁菊总黄酮提取率为 8.97%。

虽然微波提取法能明显缩短萃取时间,提高效率,但由于微波萃取仪器价格高,目前只是在科研阶段,还没有得到大规模的推广。

1.4 酶解法

酶解法是利用酶将植物细胞细胞壁溶解,提高化学反应速率,加快其目标产物从中释放,从而高效地从原料中获得终产物。酶解法近年来在天然产物黄酮类物质、多糖、多酚等纯化分离中得到了广泛应用。

尤静等^[8]将酶解法与半仿生法结合,确定了酶解法提取野菊花总黄酮的最佳制备工艺。结果显示:纤维素酶的最佳提取工艺为料液比 1:15 (g/mL),提取时间 2 h,pH 7.5,黄酮提取率为 4.69%;果胶酶的最佳提取工艺参数为料液比 1:20 (g/mL),提取时间 2 h,pH 7.5,黄酮提取率为 6.01%。项雷文等^[9]以杭白菊为原料,研究纤维素酶对总黄酮提取率的影响,得到最优工艺为酶用量 0.5%,酶解时间 2.5 h,酶解温度 55℃,pH 5.0,该条件下总黄酮提取率为 1.86%,比对照组提高了 19.2%。

纤维素酶和果胶酶常作为天然产物有效成分提取的酶制剂,能够减少有效成分的损失,但由于酶的价格高,整个提

取工艺花费时间长,从整体考虑,酶解法目前只适用于科学研究,不适用于工厂化生产。

1.5 闪式提取法

闪式提取法是利用闪式提取器的一种提取方法。将植物组织和水、有机溶剂等溶剂混合,在闪式提取器中通过高速破碎、负压渗透、高频振动使得原料达到一定程度的粉碎度,从而使待提取物从原料中快速分离出来。闪式提取法提取时间短,相比于传统的有机溶剂提取法,提取时间显著缩短,一般闪式提取时间在数秒内就可以完成,并具有易操作、得率高、低投入等优点。

李树华等^[10]研究发现,乙醇浓度、料液比、提取时间和次数对野菊花黄酮的提取量均有影响,提取次数对黄酮提取量影响显著,而乙醇浓度、料液比、提取时间无显著影响。采用正交试验法优化闪式提取工艺,得出野菊花总黄酮的最佳提取工艺为:乙醇浓度 60%,料液比 20:1 (g/mL),提取时间 90 s,提取 3 次,提取率为 3.86%。刘峰等^[11]比较温浸法、超声提取法和闪式提取法提取滁菊黄酮的最佳工艺参数,发现提取率在 6%左右时,闪式提取法比其他两种方法的提取时间明显减少。在考虑实际生产过程中各因素后,确定闪式提取法提取黄酮的最佳工艺参数为:浸泡 5 min,料液比 1:44 (g/mL),提取时间 103 s,乙醇浓度 62%,提取电压 100 V,提取 2 次,在此条件下滁菊总黄酮提取率可达 6.90%。

回流提取法是在传统有机溶剂提取法的基础上进行改善,降低了溶剂的损耗,提高了提取率,但提取时间比较长。超临界流体萃取和亚临界提取技术是近年来在天然产物提取中逐渐兴起的技术,但超临界设备费用高,相比之下,亚临界提取技术则设备要求简单、效率高,有效成分保留率高。超声提取和微波提取是分别借助超声和微波技术提取的方法,提取效果较好,可以缩短提取时间^[12]。

2 菊花中挥发油提取工艺研究

挥发油是存在于植物体中一类具有香味的挥发性油状物的总称。挥发油由脂肪族化合物和萜类化合物等 4 类物质组成。其中,萜类化合物是挥发油发挥抗炎、镇痛^[13]作用的主要成分物质。药理学研究^[14]表明,菊花中的挥发油具有治疗风热感冒、头晕目眩的作用,是一种易得的中药材。菊花中的挥发油含量低,但由于其突出的药用价值,菊花中挥发油提取工艺一直为研究的热点。目前菊花中挥发油的提取方法有溶剂提取法、水蒸气蒸馏法、超临界流体萃取法和超声波辅助提取法等。

2.1 溶剂提取法

有机溶剂法常采用石油醚、二硫化碳、四氯化碳、苯等低沸点有机溶剂浸提,浸提的方法可采用回流加热法或冷浸法,提取液低温蒸去溶剂即得粗制挥发油。该方法获得的挥发油,其化学组分具有低沸点、低相对分子质量和高亲脂性等特性,在提取过程中会有一些脂溶性成分的杂质与挥发油同时提出,导致挥发油纯度低。

宋丽等^[15]采用索氏提取法进行挥发油的提取并通过响应面分析法优化长白山野菊花挥发油的提取工艺,结果表

明,长白山野菊花挥发油提取的最佳工艺条件为:抽提温度 50.17 °C、液料比 40:1 (mL/g)、提取时间 9.44 h,挥发油得率可达 4.953%。并用 GC—MS 联用仪检测发现,挥发油中主要有效成分为萜类化合物。孙洁等^[16]以石油醚为萃取剂,采用分提法和双提法对滁菊中的挥发油进行提取,并用紫外分光光度法测定其得率分别为 0.60%,0.51%,且分提法所得的挥发油纯度相对较高。采用气相色谱和质谱联用,分析两种提取方法中的挥发油成分,发现分提法的组成成分数量和主要成分含量均高于双提法。

2.2 水蒸气蒸馏法

水蒸气蒸馏法是利用水蒸气的高温、高压作用将挥发性物质从原料中分离。根据待分离物的性质,选择合适的蒸汽压,将物质进行提取。该方法是提取植物挥发油常用的方法,因其具有对设备要求不高、操作简单、投入低等优点,在实验室和工业化生产中广泛应用。

周国梁等^[17]以滁菊挥发油得率为测量指标,考察滁菊粒度、液料比、浸泡时间、蒸馏时间对提取得率的影响,结果显示:当滁菊粒度 80~100 目,浸泡时间 10 h,料液比 1:14 (g/mL),蒸馏时间 13 h,滁菊挥发油得率最高(达 0.96%)。吕都^[18]将索氏提取法和水蒸气蒸馏法结合起来,提取杭白菊中挥发油,以挥发油的体积为指标,考察样品粒度、超声时间、料液比和蒸馏时间对挥发油的影响。结果表明,样品粒度 80~100 目,超声时间 30 min,料液比 1:11 (g/mL),蒸馏时间 8 h,在该条件下杭白菊挥发油提取率为 4.80 mL/kg。宋彦丽等^[19]通过响应面法优化神农菊挥发油的最佳提取工艺条件:提取时间 5.18 h,溶剂倍量为 14.15 倍,NaCl 浓度 16.58%。试验发现,用 NaCl 溶液代替蒸馏水来提取挥发油明显改善挥发油贴壁与下沉的现象。

2.3 超临界流体萃取法

超临界流体萃取法是指待分离物质在超临界萃取剂中进行分离的一种技术。超临界萃取剂能够增加物质的溶解能力并缩短物质的分离时间,在超临界萃取过程中 CO₂ 是其最常用的萃取剂。该方法能够有效地避免热敏性活性物质的氧化,是中药材中常见的分离手段。

金建忠等^[20]比较水蒸气蒸馏法和超临界萃取法提取杭白菊挥发油,采用正交试验法优选超临界萃取法得出萃取杭白菊挥发油的最佳工艺为:萃取温度 55 °C,压力 20 MPa,萃取时间 2 h,CO₂ 流量 10 kg/h,提取率为 5.92%(远优于水蒸气提取挥发油提取率 0.35%)。比较发现,超临界流体萃取与水蒸气提取法相比,可以维持挥发油的品质,还能够有效地提高挥发油提取率。杨剑等^[21]采用超临界萃取法提取杭白菊挥发油,并对萃取物的抗消炎作用进行研究,采用双指标法作为评价指标。结果表明,在杭白菊过 80 目筛,萃取压力 17.24 MPa,萃取温度 35 °C,萃取时间 100 min 条件下, β -榄香烯得率为 104.57 mg/kg,挥发油得率为 3.26%。与水提法相比,减少了 β -榄香烯在提取过程中的氧化,且提取时间大为缩短。朱栋梁^[22]采用超临界萃取法对罗马洋甘菊精油的提取工艺进行研究,考察萃取时间、萃取压力、萃取温度对精油提取率的影响。试验结果表明,超临界萃取最优工艺

为:萃取时间 3 h,萃取压力 40 MPa,萃取温度 50 °C,萃取率 6.58%。

上述研究表明,超临界流体萃取法在提取菊花中挥发油时,能够有效地提高挥发油提取率,并且不破坏菊花中的生物活性物质^[23]。但该工艺技术对提取条件要求严格,提取设备费用高,在工厂生产中一次性投入较高,且对一些极性强度和分子量大的活性物质提取率较低。

2.4 超声波辅助提取法

超声波辅助提取植物中挥发油是利用超声波使植物细胞的细胞壁溶解,将其中的挥发油成分释放出来。

古丽江·马合苏提汗^[24]在采用热回流法同时利用超声波辅助萃取昆仑雪菊挥发油,以挥发油中的柠檬烯为评价指标,得到提取昆仑雪菊挥发油的最优工艺参数为:料液比 1:5 (g/mL),超声温度 55 °C,超声时间 30 min,超声功率 140 W。该条件下,柠檬烯含量为 0.32 mg/g。与传统的水蒸气提取法比较,超声辅助提取法大大提高了挥发油提取率,减少了提取时间,能够适用于大规模的工业化提取。张迪等^[25]以杭白菊为原料,对挥发油的工艺进行优化,结果表明:超声温度 50 °C,超声功率 70 W,时间 25 min,提取 2 次时提取效果最佳。

综上所述,超临界 CO₂ 萃取法和超声波辅助提取法均为提取挥发油的有效方法。超临界装置费用较高,是生产过程中不可避免要考虑的重要因素。在制药产业中,超临界萃取是理想手段。而超声波辅助提取则能降低成本,又能达到高提取率,也是很好的提取手段。

3 菊花中绿原酸提取工艺研究

绿原酸主要是高等植物和蕨类植物在新陈代谢过程中产生的一种化合物,易溶于水和有机溶剂。绿原酸是药用菊花中的一种重要组成成分,具有消炎、排毒作用,具有增色和护色功能,是一种天然的食品添加剂^[26]。根据绿原酸溶解性特点,目前提取绿原酸的主要方法有超声波提取法、超高压提取法和微波提取等几种方法。

3.1 超声波提取法

超声波是指频率高于 20 kHz 的声波,具有强的穿透性,通过机械振动来传播能量。超声提取是通过超声波产生的扰动效应、高速运动、乳化作用、扩散作用等,加快物质内部分子的运动,增加物质分子运动的频率、溶剂的穿透力,从而加速终产物进入溶剂。超声提取可极大地提高提取效率、节约溶剂、避免高温对提取成分的破坏。

刘艳清等^[27]对超声波提取野菊花绿原酸的工艺进行优化,发现在 60% 乙醇预浸渍 40 min,液料比 15:1 (mL/g),超声 45 min 时,绿原酸得率达到 0.36%,同时比较水浴法和超声波提取法对绿原酸含量的影响,结果表明超声提取法提取效果优于水浴法。张明明等^[28]对超声波提取野菊花中绿原酸工艺进行优化,得到野菊花中绿原酸提取的最佳工艺为:乙醇体积分数 80%、料液比 1:26 (g/mL)、提取时间 35 min。在该条件下,绿原酸实际提取率达 2.32%。王省超等^[29]采用超声波技术对昆仑雪菊中绿原酸进行提取,利用

单因素和正交试验优化提取条件,发现在甲醇浓度80%,时间1 h,超声功率300 W,液料比25:1 (mL/g)时,绿原酸的含量为9.981 0 mg/g。

3.2 活性离子水提取法

活性离子水具有强的溶解力、渗透力和乳化作用,能够使菊花中的绿原酸从组织中有效溶解出来,提高绿原酸的提取率。

彭贵龙等^[30]采用活性离子液体分散液相微萃法提取药用白菊花中包括绿原酸等在内的5种成分,经高效液相色谱(HPLC)测定绿原酸的平均得率为2%。贲永光等^[31]将活性离子水辅助超声波提取法与传统水提法、超声提取法分别对菊花中原绿酸进行提取,得出最佳提取工艺条件为:提取时间30 min,超声功率320 W,液固比30:1 (mL/g)。在此条件下绿原酸的提取率为2.92%。该法比传统水提法和超声提取法提取绿原酸得率都有明显的提高,且缩短了工艺提取时间,大大降低了生产成本,可为其他生物活性成分的提取提供参考。

3.3 超高压提取法

超高压提取法是指在室温下将物料置于100~1 000 MPa的压力下作用1~20 min后,恢复至常压。由于物料组织细胞的膜内外渗透压在短时间内增大,目标产物会通过细胞膜进入提取液中,从而达到高效分离的目的。该法分离效率高,产物的纯度高,常用于天然产物的分离加工。

秦霞等^[32]采用正交试验优化超高压提取法提取菊花中绿原酸,在乙醇浓度40%,压力300 MPa,保压时间5.5 min,过60目筛时,提取的绿原酸含量最高,提取得率可达到0.46%。超高压提取技术相比前两种提取技术,提取时间缩短至1/10左右,减少了成本的投入,是一种提取菊花中绿原酸的优选方法。

3.4 超声微波逆流提取法

超声波提取技术和微波提取技术都是近些年来开始应用的新提取技术,其提取率比传统的提取方法有明显提高。

吴旭丽^[33]⁸⁻¹³将超声波技术与微波技术协同逆流水提杭白菊中原绿酸,结果表明:料液比1:30 (g/mL),微波功率250 W,超声功率50 W,辐射总时间240 s,单元提取时间420 s时,绿原酸提取率最高,为4.21 mg/g,比热回流法提高10.97%。阮洪生等^[34]以总黄酮和绿原酸含量作为评价指标,在采用超声—微波法提取野菊花中绿原酸时,考察乙醇浓度、微波功率、加乙醇量、提取时间等因素,得到超声—微波提取绿原酸的最佳工艺为:乙醇浓度75%,微波功率40 W,料液比1:15 (g/mL),提取2次,每次提取20 min,总黄酮平均得率为43.47 mg/g,绿原酸平均得率为0.427 mg/g。

符玲等^[35]以绿原酸得率和浸膏率为参考指标,采用加热回流提取法、组织破碎提取法及超声波提取法研究野菊花的最佳提取工艺。结果表明,组织破碎提取法(0.406 6±0.006 5)%和加热回流提取法(0.421 1±0.013 7)%的结果比较接近,且均高于超声波提取法(0.336 1±0.010 7)%,加热回流提取法的提取效率最高,但组织破碎提取法与加热回流

提取法相比具有简便快捷、省时省力和节约能源的优点。微波提取技术在效率上得到明显提高,但可能会造成提取物组分更加复杂,给后续的分离纯化带来困难^[33]¹⁴。组织破碎提取法具有简便迅速和节能高效的优点,是一种值得推广的提取新工艺。

4 菊花中多糖提取工艺研究

多糖广泛存在于动植物体内,具有生物学活性,对人体具有抗肿瘤、抗辐射、降血糖等作用^[1]⁶。菊花是中国传统的中药材,菊花多糖作为其中重要的成分,发挥治疗作用。提取多糖的方法有水提醇沉法、微波辅助提取法、酶提取法,为了提高多糖的提取率,通常将几种方法联合运用。

4.1 水提醇沉法

水提醇沉法主要是利用热效应使植物组织细胞发生质壁分离,溶剂水进入细胞壁和细胞质之中,将液泡中的成分溶解释放,穿透细胞膜,进入细胞外的提取剂中。该法是一种典型提取植物多糖的方法。

范灵婧^[36]采用沸水浸提工艺,以多糖得率为评价指标,分别对杭白菊、怀菊、亳菊中多糖的料液比、提取时间、醇沉倍数、提取次数进行单因素试验,再通过正交试验进行分析,杭白菊在料液比1:20 (g/mL),提取时间4 h,提取次数为3次,醇沉倍数为5时,多糖提取率为5.73%;怀菊在料液比1:10 (g/mL),提取时间4 h,提取次数为3次,醇沉倍数为3时,多糖提取率为8.19%;亳菊在料液比1:20 (g/mL),提取时间4 h,提取次数为3次,醇沉倍数为4时,多糖提取率为9.70%。敬璞等^[37]将水提法与碱提法结合提取菊花多糖。该法与水提法相比,提高了多糖提取率且减少了多糖中抗氧化和抗炎成分的损失,是菊花多糖提取的优选方法。水提醇沉法操作方便、条件简单,但操作过程持续时间长且提取次数多。随着企业化生产节资减耗,该法不宜单独使用,而是与其他新技术结合,从而提高生产率,降低生产成本。

4.2 微波辅助提取法

李朋伟等^[38]优化了微波提取菊花多糖的工艺条件,结果表明:在功率800 W,固液比1:15 (g/mL),时间15 min时提取效果最好;通过与常规提取法的对比试验显示,微波提取法多糖得率(5.59%)优于常规提取法(2.73%)。阿赛古丽^[39]利用水提醇沉、超声波辅助提取和微波辅助提取技术对昆仑雪菊多糖进行提取,其提取率分别为8.96%,10.90%,9.95%。比较发现,微波辅助提取时间比其他两种提取方法时间缩短至1/10左右。微波提取工艺具有操作简单、节能、省时和高效的优点^[40],适合大规模提取菊花多糖。

4.3 酶提取法

酶提取法主要通过酶解反应将植物组织中的有效成分迅速地溶解和释放出来。目前,大多采用纤维素酶提取中草药中的有效成分。纤维素酶能够有效地使菊花细胞壁裂解,释放多糖。

熊磊等^[41]对纤维素酶提取滁菊药渣多糖的工艺条件进行优化,以滁菊多糖得率为评价指标。结果显示:pH 5.5,温

度 60 ℃, 酶量 20 U/g, 酶解时间 100 min 条件下, 多糖得率为 13.89%, 与对照组(5.32%)相比, 提取率显著提高。敬思群等^[42]用纤维素酶和酸性蛋白酶这两种复合酶提取高寒香菊花多糖, 以得率和纯度为指标, 对酶量、酶解温度、pH 值、酶解时间进行正交试验, 确定最优提取工艺条件: 纤维素酶 2.0%, 酸性蛋白酶 0.5%, 酶解温度 55 ℃, pH 4.5, 酶解时间 2 h, 多糖得率和纯度分别达到 9.83% 和 28.58%, 经聚酰胺柱纯化后纯度为 64.57%。并用近红外光谱分析发现, 加酶和超声提取对多糖的结构没有显著影响, 但提高了多糖得率。敬思群^[43]利用水提醇沉法、超声波辅助提取法、复合酶—超声辅助提取法对昆仑雪菊进行多糖测定, 多糖得率分别为 3.41%, 5.733%, 9.83%。酶提取法具有高效、条件温和、无污染等的优点, 但酶价格高, 不适合大规模的工业化生产, 现一般用于实验室的研究。

相比来说, 超声辅助提取这种物理方法, 能够明显缩短提取时间, 提高提取效率。酶法提取得率最高, 但酶的价格较高。此外, 酶可能会破坏多糖分子结构、化学特性和生物活性^[44]。综上考虑, 超声波辅助热水提取多糖是一种良好的手段, 能够实现高提取率。

5 菊花中氨基酸提取工艺研究

氨基酸是维持生物体正常功能的一类小分子化合物, 是构成大分子蛋白质的结构单体, 可分为必需氨基酸和非必需氨基酸两种。氨基酸在动物体内含量高, 植物体内含量较少。菊花中氨基酸含量在 4 g/100 g 左右^[45], 相对菊花中的黄酮类化合物、绿原酸等物质来说含量相对较低, 但由于菊花中的必需氨基酸占总氨基酸总量比重高, 近年来得到了人们的重视, 开始对菊花中氨基酸进行提取, 并将其与保健食品一同开发。

吴海江^[46]利用酸水浴提取法分别测定雪菊、杭白菊、贡菊、滁菊 4 种菊花中的氨基酸含量, 分别为 4.58, 3.35, 3.46, 3.67 g/100 g。于艳等^[45]分别研究了超声提取法、回流提取法、酸水浴提取法提取滁菊中氨基酸的效果, 得出酸水浴提取法提取效率最高, 得率为 7.760%。最佳工艺条件为: 料液比 1:30 (g/mL), 浸提温度 100 ℃, 提取次数 3 次, 提取时间 10 min。

在现有的提取工艺中发现, 虽然有机溶剂能有效提高菊花中的黄酮、挥发油等生物活性物质得率, 但在提取氨基酸的过程中, 乙醇提取比酸提取的得率降低了 46.1%^[45]。以酸为溶剂, 对菊花中的氨基酸进行提取, 水浴法提取比超声提取的效果要优, 但水浴提取时间是超声提取法的 10 倍以上, 从工业化生产的角度看, 超声提取法是提取菊花中氨基酸的一种合理方法。

6 结论

菊花具有多种生物活性物质, 其药理作用也一直受到人们的普遍认同。如今, 市场上关于菊花的产品还主要以菊花为直接原料, 产品单一、市场竞争力低, 不利于菊花在市场上的广泛应用。综上所述, 近年来对菊花中生物活性物质的提取工艺研究有显著进步, 高效、低耗、简单的提取工艺对中草药

药的提取具有促进作用。目前常用的提取方法工艺比较成熟, 但是存在溶剂和能源消耗大, 以及效率不高的问题。因此, 超声波、微波、超临界等萃取技术的合理应用, 可以有效改善提取效果, 使菊花的生物活性物质的提取向高效、节能、环保的方向发展。

参考文献

- [1] 郑昌平. 菊花多糖的分离纯化、结构鉴定及其生物活性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
- [2] 林佑. 菊花活性物质及其作用机制研究[J]. 植物学研究, 2012, 1(3): 47-53.
- [3] 楚红英, 李瑜. 菊花中总黄酮及铁含量的测定[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(3): 293-295.
- [4] 龚飞. 雪菊花总黄酮的提取及分散片研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2015: 14-25.
- [5] 钟姣姣, 李万林. 超声波辅助提取菊花中总黄酮工艺条件研究[J]. 皮革与化工, 2014(3): 17-20.
- [6] 汪婷婷, 吴士筠. 正交试验法优选药用菊花的总黄酮提取工艺[J]. 化工技术与开发, 2009, 38(9): 23-25.
- [7] 杨浩, 赵辉, 赵明远, 等. 采用正交实验优化微波法提取菊花中总黄酮的工艺[J]. 河南大学学报: 医学版, 2014(2): 113-116.
- [8] 尤静, 任晓芳, 刘春叶, 等. 菊花中总黄酮成分不同提取工艺的比较[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 218-219.
- [9] 项雷文, 陈文韬. 纤维素酶法提取杭白菊中总黄酮工艺优化[J]. 化学工程与装备, 2009(5): 26-29.
- [10] 李树华, 邓春雷. 野菊花总黄酮的闪式提取工艺优选[J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2013(4): 95-96.
- [11] 刘峰, 武义来, 时维静, 等. 响应面法优化闪式提取滁菊总黄酮的工艺[J]. 中兽医医药杂志, 2015(5): 23-28.
- [12] 王甜, 赵明月, 徐秀娟, 等. 滁菊总黄酮提取条件优化研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015(4): 661-666.
- [13] 蒋征奎, 李晓, 罗彬. 野菊花挥发油抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015(16): 124-127.
- [14] 王存琴, 汪荣斌, 张艳华. 菊花的化学成分及药理活性[J]. 长春中医药大学学报, 2014, 30(1): 28-30.
- [15] 宋丽, 郑明珠, 王立江. 响应面法优化长白山野菊花挥发油的提取工艺及成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(7): 181-187.
- [16] 孙洁, 于艳, 李响, 等. 分提法与双提法对滁菊花多成分提取的影响[J]. 中兽医医药杂志, 2015(5): 14-18.
- [17] 周国梁, 张娜, 刘汉珍, 等. 滁菊挥发油提取工艺研究[J]. 中兽医医药杂志, 2012, 31(2): 5-8.
- [18] 吕都. 杭白菊挥发油提取及其抗氧化、抑菌功能的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2015: 18-25.
- [19] 宋彦丽, 蒋细旺, 王金新, 等. ‘神农菊’挥发油提取优化及其在牛奶中的抑菌性能[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(5): 214-219.
- [20] 金建忠, 童建颖. 超临界 CO₂ 萃取杭白菊挥发油的工艺研究[J]. 食品科学, 2010, 31(14): 125-127.
- [21] 杨剑, 邵荣, 王志祥, 等. 综合指标正交设计优选杭白菊挥发油萃取工艺[J]. 食品工业科技, 2015, 36(12): 270-273.
- [22] 朱栋梁. 罗马洋甘菊和簕竹叶中精油和黄酮的萃取、鉴定及应

- 用[D]. 无锡: 江南大学, 2015: 11-12.
- [23] 温俊峰, 刘侠, 高立国, 等. 超临界萃取沙葱花挥发油的工艺优化及GC—MS分析[J]. 食品与机械, 2016, 32(11): 158-162.
- [24] 古丽江. 马合苏提汗. 新疆昆仑雪菊挥发油的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2014: 8-21.
- [25] 张迪, 赵铭钦, 姬小明, 等. 超声波辅助萃取杭白菊挥发油工艺研究[J]. 西南农业学报, 2010, 23(6): 2 046-2 048.
- [26] 赵琰玲, 尹莲. 金银花化学成分与有效成分提取研究进展[J]. 医药导报, 2007, 26(5): 521-523.
- [27] 刘艳清, 汪洪武. 野菊花中绿原酸提取工艺的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(7): 1 612-1 613.
- [28] 张明明, 黄芳, 张长丽. 响应面法优化野菊花中绿原酸的提取工艺[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(11): 327-329.
- [29] 王省超, 孙颖, 王瑞英, 等. 超声提取—高效液相色谱法测定新疆昆仑雪菊中绿原酸的含量[J]. 分析科学学报, 2016, 32(2): 285-287.
- [30] 彭贵龙, 周光明, 秦红英. HPLC同时测定药用白菊花中绿原酸、木犀草素、芹菜素和金合欢素[J]. 天然产物研究与开发, 2014(7): 1 067-1 071.
- [31] 贲永光, 苏健裕, 杨鼎隆. 基于离子液体超声辅助提取菊花绿原酸的试验研究[J]. 中国食品学报, 2014, 14(10): 164-170.
- [32] 秦霞, 靳学远, 刘红. 菊花中绿原酸的超高压提取工艺研究[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(9): 2 215-2 217.
- [33] 吴旭丽. 杭白菊的超声微波逆流提取及其浓缩汁性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
- [34] 阮洪生, 曹玲. 超声—微波协同萃取野菊花的提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(8): 4 026-4 027.
- [35] 符玲, 毕跃峰, 田新慧, 等. 野菊花中绿原酸的不同提取工艺比较[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2010, 45(3): 499-501.
- [36] 范灵婧. 菊花多糖的提取分离和生物活性研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2013: 4-9.
- [37] 敬璞, 宋立华, 赵淑娟, 等. 一种菊花多糖的提取工艺及应用: 中国, CN104292350A[P]. 2015-1-21.
- [38] 李朋伟, 张景亚, 仝艳, 等. 菊花多糖提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2012(6): 3 586-3 587.
- [39] 阿赛古丽. 昆仑雪菊化学成分分析和多糖的提取及活性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014: 56-76.
- [40] 苏慧, 郑明珠, 蔡丹, 等. 微波辅助技术在食品工业中的应用研究进展[J]. 食品与机械, 2011, 27(2): 165-167.
- [41] 熊磊, 年四辉, 朱玉. 纤维素酶解滁菊提取多糖工艺及滁菊多糖抗氧化性研究[J]. 皖南医学院学报, 2014(1): 23-26.
- [42] 敬思群, 张晓鸣. 复合酶法超声辅助提取高寒香菊花多糖[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(1): 214-217.
- [43] 敬思群. 昆仑雪菊三种有效组分的提取纯化及生物活性[D]. 无锡: 江南大学, 2015: 24-31.
- [44] 刘汉珍, 宋飞, 俞浩, 等. 酶法提取滁菊多糖的工艺优化[J]. 中药材, 2010, 33(10): 1 632-1 636.
- [45] 于艳, 毛佳宁, 时维静, 等. 菊花氨基酸提取方法的比较[J]. 安徽科技学院学报, 2014, 28(4): 30-33.
- [46] 吴海江, 张莹, 远辉, 等. 雪菊与市售菊花感官、多酚类化合物和氨基酸的对比研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(22): 147-150.

信息窗

加拿大发布多项农残新限量标准

3月14日,加拿大发布通报,确定野生树莓中唑草酮(carfentrazone-ethyl)最大残留限量为0.010 mg/kg;甜菜根中氟唑菌苯胺(penflufen)最大残留限量为0.010 mg/kg;蜂蜜中氟氯苯菊酯(flumethrin)最大残留限量为0.003 2 mg/kg;豆类产品中腈菌唑(Mylobutanil)最大残留限量为0.10 mg/kg。此次加拿大密集发布涉及多种农产品的农残限量新标准,对中国农产品出口企业在农残控制上敲响了警钟。

中国是世界上蔬菜第一种植大国,蜂蜜出口也有悠久的历史。本次公布的几种农药中,在中国农业种植生产上都有较为广泛的应用。唑草酮又称福农、快灭灵,具有杀草速度快,受低温影响小,用药机会广,由于唑草酮有良好的耐低温和耐雨水冲刷效应,是春季农田的优良除草剂。由氟氯苯菊酯作为主要活性成分制成的蜂药是中国养蜂生产过程中普遍应用于防治蜜蜂螨病的药物,长期以来在防治蜂螨中发挥了重要作用。

目前,中国已经是加拿大的第二大贸易伙伴,加拿大则是北美洲地区仅次于美国的中国第二贸易伙伴,中国出口到加拿大的农副产品也随之不断增加,特别是冻干蔬菜、豆制品和蜂蜜产品在加拿大拥有广阔市场,但是在世界经济低迷的大背景下,技术性贸易措施有增多的趋势,农副产品在国际贸易中因为容易携带各种病原菌和农残

超标,屡屡成为很多发达国家提高技术门槛,设置贸易措施的对象。在这样的环境下,中国农产品出口企业更应该提前做好应对工作。

在此,检验检疫机构给广大有意向出口到加拿大的农产品企业提出以下几点建议。

选用合适的农药品种,适当延长休药期。要出口到加拿大的蜂蜜在防治蜂螨时,可以选择杀螨1号来代替那些被加拿大严格限制的农药,并合理延长休药期,来规避农残超标的风险。需要引起蜂农注意的是:出口到日本和欧盟的农残标准都不尽相同,企业也要做足相关贸易国的功课。

建立农产品出口预警机制,做好自检自查,有效规避风险。近年来,发达国家或地区频频利用农残指标,设立技术性贸易措施。因此,农产企业要密切关注进口国的各类标准或法规的变化,加强信息交流,及时调整种植加工方式。在农产品生长的不同阶段定时采样检验农残是否超标,保证产品质量。

源头控制,提升农产品品质。解决农残问题,必须从源头做起,才能从根本上提高农副产品的安全性。因此,相关企业应做好植保培训工作,普及科学种植和科学加工知识、农药使用新技术、有害生物综合治理技术等。只有建立国际通行的生产过程管理体系才能稳妥应对这些变化。

(来源:www.foodmate.net)