

文章编号:1671-1513(2011)01-0033-05

甘草中甘草酸的多级逆流提取技术研究

王巧娥¹, 任虹², 曹学丽²

(1. 北京工商大学理学院/植物资源研究开发北京市重点实验室, 北京 100048;

2. 北京工商大学食品学院, 北京 100048)

摘要: 研究利用多级逆流技术提取甘草酸的新方法。采用正交试验考察提取温度、提取时间、级数和液固比对提取效率的影响, 确定多级逆流提取甘草酸的最佳工艺条件; 在优选出的最佳工艺条件下, 考察了提取溶剂对提取率的影响, 并与室温冷浸法、超声波法、索氏提取法和微波提取法做了比较。结果表明: 多级逆流提取甘草酸的最佳条件为提取温度 70 ℃, 单级提取时间 60 min, 液比 6, 提取级数为 5。在此最佳条件下, 多级逆流提取的提取率高于室温冷浸 44.3 h、超声波提取 40 min、索氏提取 4 h、微波萃取 54 min 的提取率。多级逆流提取具有快速、高效、节能、节约溶剂的特点, 用于中草药有效成分的提取, 值得推广应用。

关键词: 甘草; 甘草酸; 多级逆流提取; 微波提取; 高效液相色谱

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

甘草是中医最常用的药物之一, 有“十方九草”之称。甘草的主要成分甘草酸具有补脾益气、解毒保肝、润肺止咳、调和诸药的功效^[1]。同时, 甘草酸也是一种十分重要的功能食品和化妆品添加剂^[2]。目前, 国内的甘草酸提取多采用传统的单罐间歇提取工艺, 存在耗能多、收率低等问题。因此, 寻找一种提取率高、能耗少而又适合工业化生产的甘草酸提取工艺已迫在眉睫。

多级逆流提取类似于传统的多级逆流萃取, 可充分利用药材和提取液的浓度梯度, 逐级将甘草中的甘草酸扩散至提取剂中, 使得最后的提取液中的甘草酸浓度达到较高的平衡浓度。这样既可提高甘草酸的提取率, 又可节省能源, 并大幅减少后续浓缩工艺的能耗, 可全面解决单罐间歇提取存在的问题和不足^[3]。目前, 中药材有效成分的多级逆流提取技术已引起越来越多的专家、学者的关注^[4-5]。目前国内未见利用多级逆流提取技术提取甘草中甘草酸的报道。

本文研究了甘草中甘草酸的多级逆流提取技术, 确定了最佳工艺条件, 并与室温冷浸法、超声波法、索氏提取法和微波提取法作了系统比较, 为多级逆流提取技术应用于甘草酸的工业化生产提供理论

依据。

1 材料和仪器

1.1 材料

内蒙产乌拉尔甘草, 经中国医学科学院药用植物研究所林寿全教授鉴定为 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; 甘草酸单铵盐对照品; 化学试剂均为分析纯; 水为去离子水; 用于 HPLC 分析的试剂为色谱纯。

1.2 仪器

DN-1.5 型多级逆流提取装置, 杭州春江制药机械有限责任公司, 提取罐容积 1.5 L, 储液罐容积 6.0 L; WCD2S-1 型微波萃取设备, 南京三乐微波技术发展有限公司; MIKRO 22R 型冷冻离心机, 德国 Hettich 公司; Agilent 1100 LC-MS 型联用仪, 美国惠普公司; SK3200LH 型超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司; 索氏提取器。

2 实验方法

2.1 多级逆流提取

为寻求甘草酸多级逆流提取过程的最佳操作参

数,采用正交试验寻优. 根据实验方案,取规定量的甘草生药 N 份,分别加入 N 个提取罐. 加适量溶剂于储液罐(最后一个单元不加),开启热水泵,将提取溶剂加热至设定温度后开始制造浓度梯度. 此时,各单元分别进行 $\frac{N-i}{N-1}T(i=1,2,\cdots,N)$ 时间的提取. 然后,将单元 1 的溶剂迁移至单元 N ,将单元 $j(j=2,\cdots,\frac{N-1}{2})$ 与单元 $(N+1-j)$ 的溶剂互换(通过单元 1 来完成),最后在单元 1 中加入新鲜溶剂. 其中, N 表示提取级数, i,j 表示单元序数, T 表示单级提取时间. 然后,即按照图 1 的流程进行提取. 收集至少一次循环提取的提取液,合并混匀后备用.

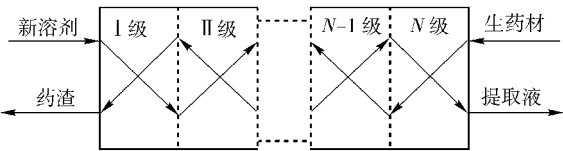


图 1 多级逆流提取的流程图

Fig. 1 Flow charts of MCE

2.2 微波加热提取^[6]

取甘草生药 1.0 kg,加入萃取罐,加水(作为提取溶剂)16.3 L,开启搅拌机和微波发生器,提取 54 min. 取适量提取液过滤,备用.

2.3 不同提取方法比较

室温提取:准确称取甘草药粉 1.00 g,置 50 mL 锥形瓶中,加入 16 mL 水,室温(25 ~ 29 ℃)提取浸泡 44.3 h.

超声波提取:准确称取甘草药粉 1.00 g,置 50 mL 锥形瓶中,加入 16 mL 水,超声提取 40 min.

索氏提取:准确称取甘草药粉 4.00 g,置索氏提取器中,接收烧瓶加水 64 mL,回流提取 4 h.

2.4 HPLC 含量测定

依文献[7]的方法进行.

3 结果和讨论

3.1 提取过程的理论分析

参考文献[8]的方法,在假设每一级提取均达平衡,新鲜溶剂中不含被提取物质,而且忽略物料吸水体积的变化,动态逆流提取率可用公式(1)表示.

$$\rho = \frac{M}{1+M}, \tag{1}$$

其中, M 与液固比 n ,物料的吸水率 A_w 和提取级数 N 有关,可用公式(2)来计算.

$$M = \phi + \phi^2 + \cdots + \phi^N, \tag{2}$$

其中, ϕ 可用公式(3)来计算:

$$\phi = \frac{n - A_w}{A_w}. \tag{3}$$

公式(1)表明,提取率 ρ 与液固比 n 、提取级数 N 有关, ρ 随 n 和 N 的增大而增加. 另外,提取温度、物料粒度、时间等影响提取是否达到平衡以及到达平衡的时间,从而也对整个提取过程产生影响.

经测定,甘草的平衡吸水率为 1.8,考虑到提取过程中排液时会有残留,故可取 $A_w = 2$. 如果每级提取均达平衡,则不同液固比和级数时甘草酸的理论提取率的计算结果见表 1.

表 1 不同提取级数和液固比时甘草酸的理论提取率

Tab. 1 Theoretical extraction yields at different MCE stages and solvent/licorice ratios %

液固比	提取级数				
	1	2	3	4	5
6	67.7	85.7	93.3	96.70	98.4
8	75.0	92.3	97.5	99.17	99.7
10	80.0	95.2	98.8	99.70	99.9

3.2 最佳提取条件的选择

根据对该过程的理论分析和提取过程的初步试验,选择逆流提取级数 N 、液固比 n 、提取温度 T 和单级提取时间 t 作为试验因素,确定不同的水平,以水为提取溶剂,甘草酸提取率 ρ 和提取液中甘草酸的浓度 y 为试验指标,采用 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交表. 试验因素水平及试验结果见表 2、表 3 和表 4.

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验的因素水平表

Tab. 2 Factors and levels of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment

水平	因素			
	A 级数	B 液固比	C 温度/℃	D 时间/min
1	3	6	30	60
2	5	10	50	30
3	7	8	70	90

对该生产过程而言,为提高生产效率,节约能耗,降低成本,要求在保证甘草酸提取率较高的前提下,提取液中甘草酸的浓度尽可能高,提取时间尽可能短. 表 3 和表 4 的结果表明,温度对提取率和提取液中甘草酸浓度的影响均很显著,温度越高,提取率越高,相应的提取液中的甘草酸含量也越高,这可

表3 $L_9(3^4)$ 正交试验设计表及结果

Tab. 3 Arrangement and results of orthogonal experiment						
序号	级数	液固比	温度/ ℃	时间/ min	ρ	$y/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1	1	1	1	1	44	255.1
2	1	2	2	2	82	259.8
3	1	3	3	3	98	347.3
4	2	2	3	1	100	284.5
5	2	3	1	2	35	122.6
6	2	1	2	3	94	349.9
7	3	3	2	1	93	292.9
8	3	1	3	2	87	412.3
9	3	2	1	3	67	190.4
$K_1/3$ 75 75 49 79						
$K_2/3$ 76 83 90 68						
$K_3/3$ 82 75 95 86						
r 7 8 46 18						
最佳组合 $A_3B_2C_3D_3$						
$K_1/3$ 287 339 189 278						
$K_2/3$ 252 245 301 265						
$K_3/3$ 299 254 348 296						
r 46 94 159 31						
最佳组合 $A_3B_1C_3D_3$						

能是因为甘草酸溶于热水而不溶于冷水,温度低于70℃时提取过程无法达到平衡.液固比对提取液中甘草酸含量影响显著,对提取率的影响较小,液固比增大,提取液中甘草酸的含量降低,因此,液固比选择6较为合适.提取率和提取液中甘草酸含量均随提取时间的增加而增大,但时间对二者的影响均不显著,因此,为缩短提取时间,提取60 min即可.提取级数对提取率和提取液中甘草酸含量均不显著,根据表1的理论值,提取级数为3时,提取率只能达到93.3%,而提取级数为5时提取率可达98.4%.因此, $A_2B_1C_3D_2$ 是较优的组合.

3.3 提取溶媒的选择

分别以水、10%乙醇、乙醇氨(0.5%氨水,10%乙醇)和0.5%氨水为提取溶媒,按3.2确定的最佳工艺条件提取,结果见图2.

图2表明,其他条件相同时,水、10%乙醇、0.5%氨水和乙醇氨的提取率分别为97.2%、97.8%、98.3%和98.6%,相差不大,考虑到生产成本和生产过程的安全,可选择水作为多级逆流提取甘草酸的溶剂.

表4 方差分析表

Tab. 4 Results of ANOVA analysis										
方差来源	变差平方和		自由度		方差估计值		F值		显著性	
	ρ	y	ρ	y	ρ	y	ρ	y	ρ	y
级数	98	3 488	2	2	49	1 744	1	2.4	—	
液固比	122	16 158	2	2	61	8 079	1.2	11.1		*
温度	3 856	39 832	2	2	1 928	19 916	39.3	27.4	**	**
时间	511	1 455	2	2	255	727	5.2	1		—
误差	98	1 455	2	2	49	727				
总和	4 587	60 933	8	8	2 293	30 466				

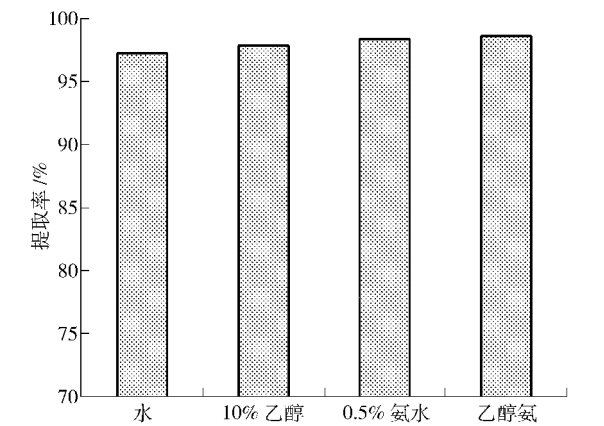


图2 不同提取溶媒的甘草酸提取率

Fig.2 GA extraction yield by different solvent systems

3.4 不同提取方法的比较

以水为提取溶媒,多级逆流提取与微波加热提取、超声波辅助提取、索氏提取和室温冷浸提取的比较见表5.

表5的结果表明,多级逆流提取的提取60 min的提取率高于微波提取54 min、超声波提取40 min、索氏提取4 h、室温冷浸44.3 h的提取率,多级逆流提取具有节省溶剂、节能高效的特点.

3.5 单罐提取和多级提取的比较

分别按照多级逆流提取工艺及传统单罐提取工艺进行对比试验.多级逆流提取以5罐料为一批次,每罐投料300 g;传统单罐提取投料300 g,每批提取2次.提取液固比均为6 mL/g,浓缩液生药质

表 5 多级逆流提取与微波萃取、室温冷浸提取、超声波辅助提取和索氏提取的比较

Tab. 5 Comparisons of MCE, MAE, USE, SHE and RTE processes

提取方法	液固比/ (mL·g ⁻¹)	提取时间/ min	提取率/ %
多级逆流提取	6	60	97.2
微波加热提取	16	54	86.6
超声波辅助提取	16	40	93.8
索氏提取	16	240	87.3
室温冷浸提取	16	2 660	87.3

量浓度 1.6 g/mL. 以每提取、浓缩 1 500 g 生药为计算单位,对两种工艺进行比较,结果见表 6.

表 6 单罐与多级逆流提取的比较

Tab. 6 Comparisons of MCE and single pot extract processes

提取工艺	提取时间/h	药液量/L	浓缩量/L	提取率/%
单罐提取	10	18	15.6	89.6
多级逆流提取	6*	9	6.6	98.4

* 包括制造梯度的 1 h.

采用多级逆流提取工艺,生产周期缩短为单罐提取的 60%,药液量减少 40%,相应减少了 58% 的浓缩量,同时也使得浓缩过程的能源消耗、冷却水消耗及浓缩时间降低了 58%. 由于在整个多级逆流提取过程中,始终保持固液两相的浓度差,故甘草酸的提取较为完全,提取率也较高.

4 结 论

甘草中甘草酸的提取操作关系到甘草资源的有效利用、含甘草中药制剂生产的节能和产品质量等诸多方面,是含甘草中药制剂生产的关键工艺之一. 其工艺先进性是以提高甘草酸的收率,缩短生产时间、保证产品质量、节能降耗以及操作实用性等方面予以衡量. 采用多级逆流提取工艺,可充分利用固液两相的浓度梯度,逐级将甘草中的甘草酸扩散至起始浓度相对较低的套提溶液中,使得出料的提取液达到较高的平衡浓度,避免甘草酸平衡浓度较低的第 2、3 次提取液直接出料浓缩,在保证甘草酸的提取率及浓度的基础上,节省能源,缩短生产周期,工艺实用性强,是一种比较科学的提取甘草中甘草酸的方法,值得推广应用于工业化大生产.

与传统的提取方法相比,微波加热提取、超声波辅助提取和多级逆流提取都能够实现甘草中甘草酸的高效快速提取,但其机理不同. 微波加热提取在于微波的破壁和搅动作用;超声波辅助提取在于超声波的超声空化作用产生局部的高温高压,增强物质在溶剂中的溶解能力;而多级逆流提取在于物料和溶剂之间存在较大的浓度梯度和提取溶剂的连续套用. 除了均具有高效、快速的优势以外,不同的提取原理也使不同的提取方法各具特点:微波加热提取具有较好的选择,超声波辅助提取时间短、条件温和,而多级逆流提取最大的特点是提取液中被提取组分的浓度较高,从而可以大幅度降低后续浓缩工艺的能耗及工作量,降低成本. 如果将微波的热效应或超声波的空化效应引入多级逆流提取的单元提取过程,将能够充分发挥其优势和特点,势必会对中药有效成分提取技术的革新产生重大的影响. 目前已经有了这方面的报道^{[4][9]},相信在不远的将来,新型的提取设备和工艺一定会在中药有效成分的提取过程中发挥越来越大的作用.

参考文献:

[1] 王彩兰,韩永生,王艳,等. 甘草的调和诸药和解毒作用探讨[J]. 微量元素与健康研究,1996,13(3):31-32.

[2] 黄宇玲. 从甘草中提取甘草甜素[J]. 广州食品工业科技,1997,13(3):16-17.

[3] 邱招钗. 甘草酸的新型提取与精制方法概述[J]. 福建分析测试,2004,13(3):2058-2062.

[4] 王英,崔政伟. 连续动态逆流提取的现状和发展[J]. 包装与食品机械,2009,27(1):49-53.

[5] 邢克江,白涛,孙国良. 连续逆流提取在天然药物提取中的应用开发[J]. 医药工程设计,2007,28(5):23-25.

[6] 王巧娥,沈金灿,于文佳. 甘草中甘草酸的微波萃取[J]. 中草药,2003,34(5):407-409.

[7] 王巧娥,王文慎,黎先春,等. 甘草 GAP 研究中的快速质量检测方法研究[J]. 现代中药研究与实践,2004,18(1):37-41.

[8] 姜绍通,潘丽军,黄树新. 醋酸乙酯逆流萃取绿茶茶多酚的研究[J]. 农业工程学报,1997(4):202-206.

[9] 易克传,岳鹏翔,王继先,等. 超声波强化逆流提取机及提取试验[J]. 农业机械学报,2007,38(12):109-113.

Multistage Countercurrent Extraction Techniques for Extraction of Glycyrrhizic Acid from Licorice

WANG Qiao-e¹, REN Hong², CAO Xue-li²
(1. School of Sciences/Beijing Key Lab of Plant Resource Research and Development, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;
2. School of Food, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: Multistage countercurrent extraction (MCE) technique for extraction of glycyrrhizic acid (GA) from glycyrrhiza uralensis Fisch was studied in this paper. The effects of countercurrent extraction stages, temperature, extraction time and ratio of water/licorice on glycyrrhizic acid percentage extraction, which is defined as the ratio of mass of glycyrrhizic acid (GA) in the extracted solution and mass of licorice root, were investigated. The appropriate MCE conditions were obtained from the orthogonal test. The percentage extraction efficiency of GA was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that the effect of extraction temperature on percentage extraction of GA was the most remarkable factor and the stage is the least one. The optimum conditions of MCE are five stages extracting 60min for every stage under 60℃. The ratio of water/ licorice is 6:1. In the optimal conditions, the yield of glycyrrhizic acid is higher than that of microwave-assisted extraction (MAE), ultrasonic extraction (USE), Soxhlet extraction (SHE) and extraction at room temperature (ERT) for 54 min, 40 min, 4 h and 44.3 h, respectively. Due to the high extraction efficiency and less time and solvent consuming, MCE is recommendable to the application of GA extraction from glycyrrhiza uralensis Fisch.

Key words: licorice; glycyrrhizic acid; Multistage countercurrent extraction; microwave assisted extraction; HPLC

(责任编辑:王 宽)

(上接第 17 页)

Effect of Fried Time and Temperature on Water and Oil Content of Instant Noodle

ZHU Yun-ping¹, YUAN Zuo-yun², LÜ Yue-gang¹
(1. School of Food, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;
2. Research Institute of COFCO, Beijing 100020, China)

Abstract: The water and oil content in the instant noodle are two important factors for the quality of the noodle. In this paper, the effect of fried time and fried temperature on the quality of the instant noodle was investigated. The results showed that the longer fried time and higher fried temperature would lead the lower water and higher oil content in the noodle. In addition, the effect of fried time was correlative with that of fried temperature on the quality of the noodle.

Key words: fried time; fried temperature; water content; oil content; instant noodle

(责任编辑:檀彩莲)