



【应用技术】

## 超声波辅助提取紫苏中迷迭香酸条件的优化

周 平, 吕晓玲, 姚秀玲

(天津科技大学食品科学与生物技术学院, 天津 300457)

**摘 要:** 研究采用超声波技术从紫苏中提取迷迭香酸的工艺条件.用正交实验  $L_{18}(3^7)$  优化, 硫酸亚铁比色法测定迷迭香酸得率.确定的最佳工艺条件: 40% 乙醇为提取剂, 料液比为 1:60 ( $m/V$ ), 超声波输出功率为 300W, 提取时间为 15min, 占空比为 50%, 迷迭香酸提取得率为 1.146%.

**关键词:** 迷迭香酸; 超声波提取; 正交优化实验

**中图分类号:** TS202.3    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1672-6510 (2007) 02-0072-04

### Optimization of Condition for Supersonic-associated Extraction of Rosmarinic Acid from *Perillae*

ZHOU Ping, LÜ Xiao-ling, YAO Xiu-ling

(College of Food Science and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** The extraction of rosmarinic acid from *Perillae* by ultrasonic technology were studied. We optimized the extraction factors with  $L_{18}(3^7)$  orthogonal experimental design, and the ratio of rosmarinic acid analysis with  $FeSO_4$  method. The results showed that the optimal extracting technological conditions were as follows: extraction solvent was 40% alcohol, the mass ration of material to liquor was 1:60 ( $m/V$ ),supersonic power was 300W,extracting time was 15min and duty cycle was 50%.Under this condition, the extracting rate of rosmarinic acid could reach 1.146%.

**Keywords:** rosmarinic acid; ultrasonic extraction; orthogonal optimization test

紫苏是国家卫生部首批颁布的既是食品又是药品的 60 种中药之一<sup>[1]</sup>, 含有多种具有生理活性的化学成分, 其中的迷迭香酸具有很强的抗氧化性.

迷迭香酸(Rosmarinic acid, 简称 RosA) 是一种有一定生理活性的天然多功能酚酸类化合物, 最早由 Ellis 从迷迭香 (*Rosmarinus officinalis L*) 这种植物中发现的, 故而得名. 迷迭香酸是一种咖啡酸的二聚衍生物, 分子式是:  $C_{18}H_{16}O_8$ , 其化学名称为[R(E)] $\alpha$ -[[3-(3, 4-二羟基苯基)-1-氧代-2-丙烯基]氧基]-3, 4-二羟基苯丙酸<sup>[2]</sup>. 迷迭香酸具有明显的抗炎、抗氧化、抗血栓和溶解纤维蛋白的活性, 是开发抗炎、抗肿瘤以及心脑血管疾病等功能性食品的理想原料<sup>[3-5]</sup>, 而且其独特化学成分有可能使其成为具有抗癌以及保肝降酶作用的新型功能性食品添加剂<sup>[6]</sup>. 另外, 迷迭香酸作为抗氧化剂能消除人体内自由基, 猝

灭单重态氧, 其美容效果明显好于 SOD (超氧化物歧化酶), 有很好的抗衰老作用, 可广泛应用于保健食品、保健饮料、口服液等功能性食品的开发.

超声波提取是目前国内外正在研究开发的一种新型辅助溶剂提取技术. 天然植物成分大多为细胞内产物, 提取时大多需要将细胞破碎. 现有的机械或化学方法有时难以取得理想的破碎效果. 超声提取法利用超声波产生的强烈振动、高的加速度、强烈的空化效应、搅拌等特殊作用, 可以破坏植物的细胞, 使溶剂渗透到细胞中, 以便使大量内容物溢出, 故它以提取速度快、效率高的特点受到广泛关注, 与传统提取方法相比, 其提取效率明显提高<sup>[7,8]</sup>. 本文研究采用超声波法从紫苏中提取迷迭香酸的工艺过程, 确定最佳的提取工艺条件.

收稿日期: 2006-10-09; 修回日期: 2007-01-12

作者简介: 周 平 (1980—), 女, 天津人, 硕士研究生.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

紫苏叶,由青岛鹏远天然色素研究所提供。

### 1.2 主要仪器与设备

KS1200型超声波细胞粉碎机,宁波科生仪器厂; RE-2000型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂; 751型紫外可见分光光度计,上海分析仪器总厂; SHB-III型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司; HH.SY11-Ni2型电热恒温水浴锅,天津市中环实验电炉有限公司; 101-3型烘箱,上海实验仪器厂; PHS-3C型雷磁精密pH计,上海精密科学仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 超声波提取法提取迷迭香酸

利用乙醇为溶剂的超声波提取法提取迷迭香酸,考虑乙醇浓度、提取时间、提取功率、料液比及占空比对浸提得率的影响。

粉碎干燥紫苏样品过筛20目,每次实验精确称取1.000g,于一定的料液质量体积比(1:10~1:60)下加入不同体积分数的乙醇(10%~100%),置于超声波细胞粉碎机中,使钛合金变幅杆末端浸入液面。调节一定提取功率(60~540W)和占空比(10%~90%),调节振幅达到最大处进行超声波提取,提取一定时间(3~20min)后收集溶液,进行旋转薄膜蒸发,将乙醇蒸发后用蒸馏水定容到一定的体积(20~120mL)。用18%的盐酸调节pH为2.0~2.5,按料液体积比5:3加入乙酸乙酯萃取3次,合并萃取液,用FeSO<sub>4</sub>比色法,在572nm下测得吸光度,经计算得到得率。

在进行了单因素实验后,得到的结果只是单个因素对得率的影响,而不能确定在多个因素同时作用时哪个因素的影响最为明显。因为在多个因素同时作用时,有可能单个因素之间有交互的作用,因此在单因素实验基础上,选择对乙醇浓度、提取时间、提取功率、料液比及占空比进行正交实验,设计正交实验L<sub>18</sub>(3<sup>7</sup>)见表1。

表1 正交试验因素水平表

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素				
	乙醇体积分数/%	提取时间/min	提取功率/W	料液比	占空比/%
1	20	10	300	40:1	40
2	30	15	420	50:1	50
3	40	20	540	60:1	60

#### 1.3.2 迷迭香酸得率的测定<sup>[9]</sup>

FeSO<sub>4</sub>法:从总萃取液中取1.00mL待测样品放入一干燥试管中,自然挥干乙酸乙酯;向试管中加1.00mL 0.1mol/L醋酸钠溶液(NaAc, pH6.0),封口后在50℃水浴中溶解提取物,再加0.1mol/L醋酸钠溶液(NaAc, pH6.0) 3.97mL,后加入30μL新配的0.2mol/L硫酸亚铁(FeSO<sub>4</sub>)溶液,暗处反应60min,以不加FeSO<sub>4</sub>而加30μL水的上述液体为对照,于572nm处比色测得吸光度A;根据公式A=εCL及ε=3.82×10<sup>3</sup>L·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>计算迷迭香酸的得率。

$$\text{得率} = A / (\varepsilon \cdot L) \times (5/1000) \times M \times (V_{\text{总}}/V_{\text{测}}) \times (1/m) \times 100\%$$

式中:L为比色皿厚度(1cm);M为迷迭香酸的摩尔质量(360.0g/mol);C为样品浓度(mol/L);ε为摩尔消光系数(L·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>);V<sub>总</sub>为萃取液总体积(L);V<sub>测</sub>为取1.00mL萃取待测样品(L);m为紫苏质量(g)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 乙醇浓度的选择

乙醇无毒、沸点低,易回收,是一种经常用于天然产物分离提取的有机溶剂。本实验采用乙醇为溶剂来提取迷迭香酸,考察不同浓度乙醇对迷迭香酸提取得率的影响。根据1.3.2方法对其进行确定试验,其实验结果如图1。

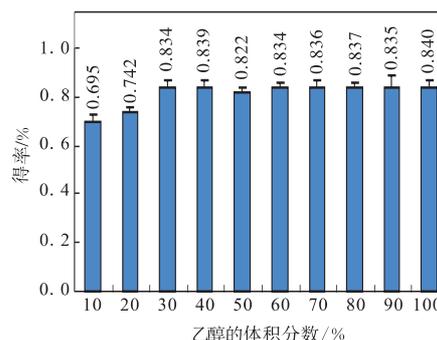


图1 乙醇浓度对迷迭香酸得率的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentration on ratio of rosmarinic acid

由图1可见,乙醇体积分数低于30%时,迷迭香酸得率随着乙醇浓度的增大而增大。当体积分数高于30%时,得率整体呈上升趋势,但组间差别不显著。考虑到乙醇溶液浓度升高会使得一些醇溶性杂质、色素(叶绿素等)、亲脂性强的成分溶出量增加,以及

提取溶剂的用量, 选择 30% 为最佳乙醇体积分数 ( $P < 0.01$ ).

### 2.2 提取时间的选择

根据 1.3.2 方法对提取时间进行确定试验, 其实验结果如图 2.

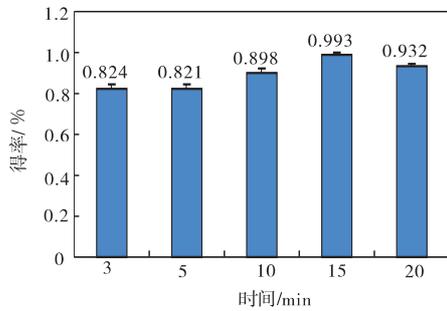


图2 提取时间对迷迭香酸得率的影响  
Fig.2 Effect of extracting time on ratio of rosmarinic acid

由图 2 可见, 提取时间从 3 min 到 15 min 得率依次提高, 提取 15 min 时的得率最高, 以后时间的延长并没有使得得率提高, 由于超声波作用时间的增加导致溶剂温度上升, 增加其他成分的溶解, 影响迷迭香酸的提取, 且延长提取时间会产生大量紫苏叶残渣, 不易过滤. 提取 15 min 得率高而且时间较短, 考虑到提取周期, 选择 15 min 为最佳提取时间( $P < 0.05$ ).

### 2.3 提取功率的选择

根据 1.3.2 方法对提取功率进行确定试验, 其实验结果如图 3.

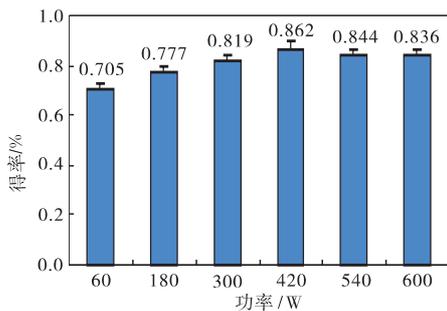


图3 功率对迷迭香酸得率的影响  
Fig.3 Effect of supersonic pwer on ratio of rosmarinic acid

由图 3 可见, 超声波的输出功率对提取有较大影响, 输出功率的增大, 有利于液体中空穴的形成, 产生更多的空化泡, 使破碎作用增强. 本实验中, 提取功率从 60 W 到 420 W 得率依次提高, 当功率达到 420 W 时的得率最高, 以后增大功率并没有使得得率提高,

且增大功率使紫苏细胞中其他可溶性成分大量溶出, 影响了迷迭香酸的提取. 确定最佳提取功率为 420 W ( $P < 0.01$ ).

### 2.4 提取料液比的选择

根据 1.3.2 方法对提取料液比进行确定试验, 其实验结果如图 4.

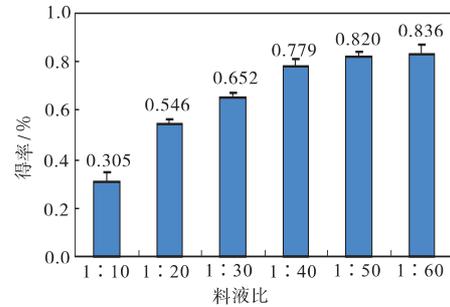


图4 料液比对迷迭香酸得率的影响  
Fig.4 Effect of the ratio of material weight to solvent volume on ratio of rosmarinic acid

由图 4 可见, 提取料液比从 1:10(质量体积比, 下同)到 1:50 得率依次提高, 当料液比达到 1:60 时的得率最高, 但 1:50 与 1:60 比较在提取过程中使用的提取溶剂乙醇和萃取溶剂乙酸乙酯量少, 而得率相差不多, 从成本考虑, 选定 1:50 为最佳提取料液比( $P < 0.01$ ).

### 2.5 占空比的选择

根据 1.3.2 方法对占空比进行确定试验, 其实验结果如图 5.

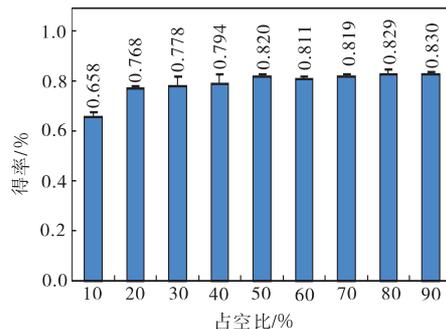


图5 占空比对迷迭香酸得率的影响  
Fig.5 Effect of duty cycle on ratio of rosmarinic acid

占空比是指超声波作用时间与间歇时间的比例. 由图 5 可见, 占空比从 10%到 50%得率依次提高, 从 50%到 90%得率有些波动但变化相对不大, 当占空比达到 90%时的得率最高. 而占空比 50%与 90%比较, 得率相差不多而且占空比较小, 能耗少, 确定 50%为最佳占空比( $P < 0.01$ ).

2.6 正交实验结果及分析

在进行了单因素实验后,得到乙醇浓度、提取时间、提取功率、料液比、占空比5个单因素对迷迭香酸提取得率的影响.为得知多个因素协同作用时对迷

迭香酸提取得率的影响,选择正交表  $L_{18}(3^7)$ ,设计正交试验来考察乙醇浓度、提取时间、提取功率、料液比、占空比对提取得率的综合作用.结果及分析见表2、表3.

表2  $L_{18}(3^7)$ 正交实验方案及结果  
Tab. 2 Schemes and results of orthogonal experiment  $L_{18}(3^7)$

实验序号	乙醇的体积分数/%	提取时间/min	提取功率/W	料液比	占空比/%	误差项 1	误差项 2	得率/%
1	20	10	420	1 : 40	40	1	1	0.749
2	20	15	540	1 : 50	50	2	2	1.003
3	20	20	300	1 : 60	60	3	3	1.089
4	30	10	540	1 : 50	50	3	3	1.126
5	30	15	300	1 : 60	60	1	1	1.008
6	30	20	420	1 : 40	40	2	2	0.843
7	40	10	420	1 : 40	60	2	3	0.882
8	40	15	540	1 : 50	40	3	1	1.078
9	40	20	300	1 : 60	50	1	2	1.137
10	20	10	540	1 : 60	50	2	1	1.066
11	20	15	300	1 : 40	60	3	2	0.907
12	20	20	420	1 : 50	40	1	3	1.010
13	30	10	420	1 : 40	40	3	2	1.133
14	30	15	540	1 : 50	50	1	3	0.869
15	30	20	300	1 : 60	60	2	1	1.131
16	40	10	540	1 : 50	60	1	2	1.005
17	40	15	300	1 : 60	40	2	3	1.190
18	40	20	420	1 : 40	50	3	1	0.912
$m_1$	$m_{11}=0.971$	$m_{12}=0.994$	$m_{13}=1.040$	$m_{14}=0.860$	$m_{15}=1.001$	$m_{16}=0.976$	$m_{17}=1.004$	
$m_2$	$m_{21}=1.032$	$m_{22}=1.022$	$m_{23}=1.005$	$m_{24}=1.059$	$m_{25}=1.019$	$m_{26}=1.019$	$m_{27}=1.005$	
$m_3$	$m_{31}=1.034$	$m_{32}=1.020$	$m_{33}=0.992$	$m_{34}=1.117$	$m_{35}=1.017$	$m_{36}=1.041$	$m_{37}=1.028$	
$R$	$R_1=0.063$	$R_2=0.028$	$R_3=0.048$	$R_4=0.257$	$R_5=0.018$	$R_6=0.065$	$R_7=0.024$	

表3 方差分析表

Tab. 3 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
乙醇的体积分数	0.015	2	0.404	2.730	
提取时间	0.003	2	0.081	2.730	
提取功率	0.008	2	0.215	2.730	
料液比	0.218	2	5.869	2.730	*
占空比	0.001	2	0.027	2.730	
误差项 1	0.013	2	0.350	2.730	
误差项 2	0.002	2	0.054	2.730	
误差	0.260	14			

从表3方差分析中可以看出料液比为显著因素 ( $P=0.01$ ),对照表2正交分析表,得出  $m_{34}>m_{24}>m_{14}$ ,说明料液比的三个水平中,是第三水平最佳,即当料液比为 1 : 60 时,提取率达到最好水平.  $m_{31}>m_{21}>m_{11}$

说明乙醇的体积分数的三个水平中,第三水平最佳.  $m_{22}>m_{32}>m_{12}$ ,说明提取时间的三个水平中,第二水平最佳.  $m_{13}>m_{23}>m_{33}$ 说明提取功率的三个水平中,第一 (下转第 79 页)