

# 微波辅助法提取长白山高山松针挥发油及其抑菌效果研究

李 扬

(吉林农业科技学院 食品工程学院, 吉林 吉林 132011)

**摘要:**为确定微波辅助法提取长白山松针挥发油的最佳工艺,以长白山松针为试材,采用正交设计试验对松针挥发油的提取条件及抑菌效果进行研究。结果表明:松针挥发油最佳提取工艺组合为  $A_2B_2C_3D_1$ ,即乙醇浓度 50%,料液比 1:20,微波提取功率 700 W,提取时间 40 s,提取率为 0.138%;抑菌活性随浓度降低而升高。

**关键词:**长白山高山松针;挥发油;微波辅助提取

**中图分类号:**TQ644

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2013)12-0105-04

松针为松科松属植物中的高山松、油松、华山松及马尾松等的叶<sup>[1]</sup>。我国松针资源十分丰富,松针叶中含松针油,松针油含有多种化学组分和营养成分。目前,松针油的提取方法很多,如水蒸气蒸馏法和超临界二氧化碳萃取法等,而对于微波辅助有机溶剂提取法却鲜有报道。微波辅助提取法的优点是快速加热,这样可以大大缩短提取时间,也大大降低有机溶剂的消耗。与传统的提取方法相比,具有省时、节能、污染小的优点,此外,有利于提取热不稳定的物质,且避免长时间高温引起的物质分解。该文采用微波辅助有机溶剂法提取长白山高山松针挥发油,运用单因素及正交方法,研究最佳工艺条件并进行抑菌试验,为下一步研究松针的抑菌机理提供理论基础,也为进一步开发长白山丰富松针资源提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为采自长白山高山松针,试剂及仪器有乙醇、FSJ180-4 型电子分析天平、WP808 型家用微波炉、旋转蒸发器以及 DH6000 电热恒温培养箱等。

### 1.2 方法

1.2.1 工艺流程 松针→研磨粉碎→提取溶剂浸泡→微波提取→过滤→滤液干燥→蒸发除去提

取溶剂→收集称重→抑菌试验。

1.2.2 培养基配方 牛肉膏培养基:牛肉膏 0.3 g,蛋白胨 1.0 g,氯化钠 0.5 g,琼脂 1.5 g,蒸馏水 100 mL,pH 7.2~7.6。

1.2.3 单因素试验 松针油提取的影响因素有乙醇浓度、料液比、提取功率和提取时间,对其分别进行试验,以选取各因素最适用量。

(1)乙醇浓度的确定:分别在乙醇浓度为 30%、40%、50%、60% 及 70%,超声波功率 700 W,提取时间 40 s,料液比为 1:20 的条件下进行松针挥发油的提取。将提取液进行过滤干燥,挥去提取溶剂称重。

(2)料液比的确定:分别在料液比为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30,超声波功率 700 W,提取时间 40 s,乙醇浓度为 50% 的条件下进行松针挥发油的提取。

(3)微波提取功率的确定:分别在微波功率为 500、600、700、800 及 900 W,提取时间 40 s,乙醇浓度 50%,料液比为 1:20 的条件下进行松针挥发油的提取。

(4)提取时间的确定:分别在提取时间为 20、30、40、50 及 60 s,超声波功率 700 W,乙醇浓度 50%,料液比为 1:2 的条件下进行挥发油的提取。  
挥发油提取率(%) = 提取出的挥发油的重量(g)/原料重量(g) × 100。

1.2.4 正交设计试验 为了确定提取松针挥发油的最佳提取工艺及各因素对挥发油提取的影响大小,在单因素试验的基础上,选取乙醇浓度,微波功率,时间及料液比 4 个因素,以挥发油提取率

收稿日期:2013-06-24

基金项目:吉林农业科技学院青年教师科研基金资助项目(吉农院合字[2012]第 116 号)

作者简介:李扬(1982-),女,吉林省吉林市人,硕士,助教,从事食品加工与安全研究。E-mail:32345356@qq.com。

为指标进行  $L_9(3^4)$  正交试验(见表 1)。

表 1  $L_9(3^4)$  正交试验设计

Table 1 Design of  $L_9(3^4)$  orthogonal test table

水平 Level	因素 Factors			
	乙醇浓度/%(A) Ethanol concentration	料液比(B) Solid-liquid ratio	提取功率/W(C) Microwave power	提取时间/s(D) Extraction time
1	40	1:15	500	40
2	50	1:20	600	50
3	60	1:25	700	60

1.2.5 抑菌试验 浸泡滤纸片法,用打孔器打出所需的小圆滤纸片,利用二倍稀释法将松针油原液用乙醇稀释成 4 个不同的浓度:取 4 支试管,第 1 支中取 10 mL 提取液;第 2 支试管中取 5 mL 稀释液,加入 5 mL 乙醇;从第 2 支试管中取 5 mL 稀释液于第 3 支试管中加 5 mL 乙醇;从第 3 支试管中取 5 mL 稀释液于第 4 支试管中,加入 5 mL 乙醇。将 4 支试管分别标记为 A1、A2、A3 及 A4。然后分别把小圆滤纸片放入 4 支试管中浸泡 1 h,同时以浸过无菌生理盐水的滤纸片作阴性对照。牛肉膏培养基灭菌后取出冷却,将稀释好的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均匀涂在培养基上,然后将事先准备浸泡好的小圆滤纸片贴在菌平板上,每处理 2 次重复。待滤纸片稍干后用 8 mm 打孔器打孔,每个平板打孔 2~3 个,并用已灭菌的牙签将琼脂挑出,然后在每孔分别加入 3 mL 稀释液,置于恒温培养箱中培养 28 h。测量抑菌圈的直径大小,求平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 乙醇浓度对松针挥发油提取率的影响

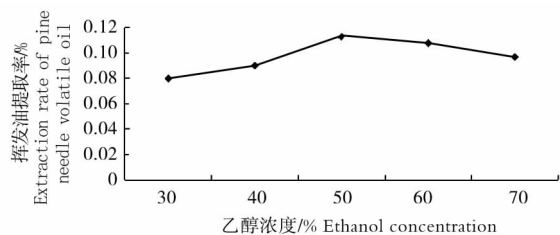


图 1 乙醇浓度对松针挥发油提取率的影响  
Fig. 1 The effects of ethanol concentration on the pine needle volatile oil extraction rate

由图 1 可知,长松针挥发油的提取率随着乙醇浓度的增加呈先升高后降低的趋势,当乙醇浓度为 50% 时,挥发油提取率最大,为 0.113%,之后再增加乙醇的浓度会影响挥发油中的醇溶性物质、色素以及亲脂性强的成分溶出量的增加。因此,选取 50% 乙醇为最佳提取浓度。

2.1.2 料液比对松针挥发油提取率的影响 从图 2 看出,松针挥发油提取率随着料液比的增加呈先升高后降低的趋势,当料液比为 1:20 时,松针挥发油提取率最大,为 0.123%。继续增加料液比,提取时所用有机溶剂相对过多且旋转蒸发时间过长。

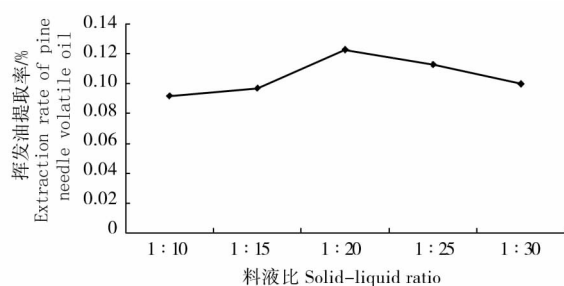


图 2 料液比对松针挥发油提取率的影响  
Fig. 2 The effects of solid-liquid ratio on pine needle volatile oil extraction rate

#### 2.1.3 微波功率对松针挥发油提取率的影响

从图 3 看出,随着微波功率的升高,松针挥发油提取率呈先升高后降低的趋势。当微波功率达到 700 W 时,松针挥发油提取率最高,为 0.114%;继续升高微波功率,挥发油中的成分易分解,松针挥发油提取率呈下降趋势。因此,最佳提取功率在 700 W。

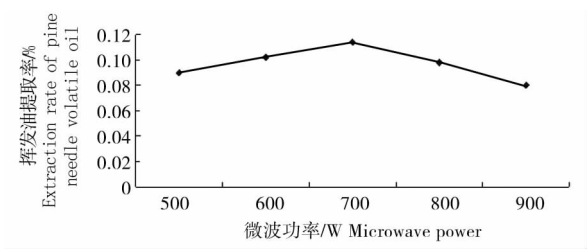


图3 微波功率对松针挥发油提取率的影响  
Fig. 3 The effects of microwave power on pine needle volatile oil extraction rate

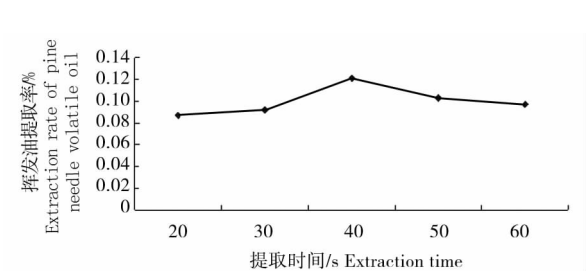


图4 提取时间对松针挥发油提取率的影响  
Fig. 4 The effects of extraction time on pine needle volatile oil

2.1.4 提取时间对松针挥发油提取率的影响  
在 20~60 s 内随着超声时间的延长,松针挥发油的提取率逐步增加,在 40 s 时挥发油的提取率达到最大值;继续延长提取时间到 60 s 时挥发油的一些成分会破坏,所以挥发油提取率有所下降(见图 4)。因此,为缩短周期,节约时间,最佳提取时间为 40 s。

2.2 正交试验结果  
由表 2 可知,各因素对挥发油提取率影响相关性为:乙醇浓度>微波提取功率>料液比>提取时间。正交试验 K 值显示松针挥发油提取工艺条件最优组合为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>,即乙醇浓度 50%,料液比 1:20,微波提取功率 700 W,提取时间 50 s。提取率最高的组合为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>。对两组

表 2 正交试验结果分析  
Table 2 Analysis of orthogonal test results

编号 No.	因素 Factors				提取率/% Extraction rate
	乙醇浓度/%(A) Ethanol concentration	料液比(B) Solid-liquid ratio	提取功率/W(C) Microwave power	提取时间/s(D) Extraction time	
1	40	1:15	500	40	0.102
2	40	1:20	600	50	0.108
3	40	1:25	700	60	0.114
4	50	1:15	600	60	0.121
5	50	1:20	700	40	0.138
6	50	1:25	500	50	0.131
7	60	1:15	700	50	0.122
8	60	1:20	500	60	0.119
9	60	1:25	600	40	0.104
K <sub>1</sub>	0.324	0.345	0.352	0.344	
K <sub>2</sub>	0.390	0.365	0.333	0.361	
K <sub>3</sub>	0.345	0.349	0.374	0.354	
R	0.066	0.020	0.041	0.017	

合进行验证试验,结果表明,组合 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub> 的长白山高山松针油提取率高于组合 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>。因此,松针挥发油提取工艺条件最优组合为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>,最佳提取率为 0.138%。

2.3 抑菌效果  
由表 3 和表 4 可知,挥发油对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都具有抑菌作用,即对革兰氏阴性菌

和阳性菌都具有抑菌作用,且抑菌作用较为明显, 抑菌圈直径均达 10 mm 以上。

表 3 松针挥发油对大肠杆菌的抑菌效果

Table 3 Antibacterial effect of volatile oil on *E. coli*

编号 No.	直径/mm Diameter			
	A1	A2	A3	A4
1	10.10	10.85	10.97	10.32
2	10.02	10.22	10.64	10.98
平均值 Average	10.06	10.54	10.55	10.81

表 4 松针挥发油对金黄色葡萄球菌的抑菌效果

Table 4 Antibacterial effect of volatile oil on *Staphylococcus aureus*

编号 No.	直径/mm Diameter			
	A1	A2	A3	A4
1	10.25	10.62	10.65	10.96
2	10.01	10.22	10.82	10.92
平均值 Average	10.13	10.41	10.79	10.99

### 3 结论

各因素对挥发油提取率影响相关性排列为:乙醇浓度>微波提取功率>料液比>提取时间。松针挥发油提取工艺条件最优组合为  $A_2 B_2 C_3 D_1$ ,挥发油提取率为 0.138%。松针挥发油对阴性菌和阳性菌都有抑制作用,且浓度越低抑菌效果越好。

### 参考文献:

- [1] 李萍,刘友平. 松针研究发展[J]. 成都中医药大学学报, 2001,24(3):49-50.
- [2] 陈玉梅,薛晓丽,孔令瑶,等. 艾蒿挥发油的提取及体外抑菌活性[J]. 吉林农业科技学院学报,2011(6):20.
- [3] 吴莉宇,李强,苍涛. 辣蓼挥发油的提取及其 GC/MS 分析[J]. 广东农业科学,2007(9):76-78.

## Study on the Extraction and Antibacterial Effect of Alpine Pine Needle Volatile Oil of Changbai Mountain by Microwave-assisted Extraction

LI Yang

(Jilin Academy of Agricultural Science and Technology,Jilin,Jilin 132011)

**Abstract:** In order to determine the best extraction process of alpine pine needle volatile oil of Changbai Mountain by microwave-assisted extraction,taking alpine pine needle as test materials,the extraction condition and antibacterial effect of pine needle volatile oil were studied with orthogonal experiments. The results showed that the highest extraction rate of pine needle volatile oil was 0.138%,the best extraction combination was  $A_2 B_2 C_3 D_1$ ,that's ethanol concentration,solid-liquid ratio of 1:20,microwave power of 700 W and extraction time of 40 s;with decreasing concentration of pine needle volatile oil,bacteriostatic activity was increasing.

**Key words:** alpine pine needle;volatile oil;microwave-assisted extraction