

竹叶中叶绿素的提取工艺及其功能性应用研究

申 申^{1,2} 段君禄¹ 李 宇¹ 王 承¹ 傅佳佳^{1,2*} 王鸿博¹

(1.江南大学江苏省功能纺织品工程技术研究中心,无锡 214122;

2.圣华盾防护科技股份有限公司,江阴 214414)

摘 要 以毛竹叶为原料,使用丙酮作为提取剂,通过振荡水浴预处理,辅助超声波作用提取毛竹叶叶绿素,并对叶绿素提取效率进行测试。对主要参数(如振荡时间、超声时间、超声功率等)设计了单因素试验。得出较适宜的提取工艺为:振荡水浴处理时间 10min,超声波清洗器处理时间 20min,超声功率 140W,在此条件下,叶绿素提取效率较高,提取含量达到 2.39mg/g。同时,采用不同方法制备聚乙烯醇(PVA)/叶绿素膜,通过荧光显微镜、扫描电子显微镜(SEM)对制得 PVA/叶绿素膜进行观测。结果表明,PVA/叶绿素膜保持叶绿素的荧光特性;在纺丝工艺中,叶绿素吸附在纤维表面形成 PVA/叶绿素膜。

关键词 振荡水浴,超声波清洗器,毛竹叶,叶绿素,PVA/叶绿素膜

Research on the extraction and functional application of chlorophyll from bamboo leaves

Sheng Shen^{1,2} Duan Junlu¹ Li Yu¹ Wang Cheng¹ Fu Jiajia^{1,2} Wang Hongbo¹

(1.Jiangsu Engineering Technology Research Center for Functional Textiles,Jiangnan University,
Wuxi 214122;2.Swoto Protecting Technology Co.,Ltd.,Jiangyin 214414)

Abstract The bamboo leaves were subjected to acetone solvent for chlorophyll extraction.The reaction was carried out in the shaking water bath prior to the ultrasonic cleaner treating.The chlorophyll extraction efficiency was investigated.Moreover,in order to acquire favorable main values,the single-factor experiments was designed for main parameters,viz.treating time of shaking water bath as well as temperature and power of ultrasonic cleaner.The proper parameters for launching the process were:shaking water bath treating time of 10min,ultrasonic cleaner extraction time of 20min and power of 140W.Under this condition,higher extraction efficiency could be achieved,which was 2.39mg/g.Additionally,PVA/chlorophyll films prepared through different methods were observed by fluorescence microscopy and SEM.Results indicated that PVA/chlorophyll film retained the fluorescence characteristics of chlorophyll.In the spinning process,chlorophyll was absorbed on the surface of fibers forming PVA/chlorophyll film.

Key words shaking water bath,ultrasonic cleaner,bamboo leave,chlorophyll,PVA/chlorophyll film

竹子,作为材料具有可持续、经济、环保等优点,同时竹子是生长较快的植物,每天以 30~100cm 的速度增长使得竹类资源获取更加方便^[1-2]。竹子在各个领域应用广泛,涉及多功能应用、加工及纺织品的开发等^[3-5]。我国竹类资源丰富,被称为“竹子王国”。其中毛竹在我国分布最广,其利用价值也较高。

叶绿素是一类脂类色素,为镁卟啉化合物,具有抗菌、消炎、防臭、抗诱变、解毒等多种用途,同时还

具有无毒、安全,对人体无害等优点。叶绿素普遍存在于高等绿色植物、原核的蓝藻菌和真核的藻类中,而竹叶是竹子应用后的残余物,将竹叶转化成可利用物成为流行趋势^[6-12]。竹叶中含有丰富的叶绿素,因此,从竹叶中提取叶绿素具有重要意义。根据文献报道,目前提取叶绿素的两种方法分别为有机溶剂法和超声波提取法,两者都取得了较好的实际效果^[6-8]。本研究以毛竹叶为原料,有机溶剂丙酮为

基金项目:国家自然科学基金(31470509、31201134);江苏省基础研究计划(自然科学基金)青年基金项目(BK2012112);江苏省产学研前瞻性研究项目(BY2013015-24、BY2016022-23);现代丝绸国家工程实验室技术创新基金项目资助(苏州大学丝绸工程省级重点实验室开放课题)(KJS1312);江苏高校品牌建设工程资助项目(PPZY2015B147);中央高校基本科研业务费专项资金资助(JUSRP51622A)

作者简介:申申(1990-),女,硕士研究生,研究方向为功能纺织材料。

联系人:傅佳佳,副教授,硕士研究生导师。

提取剂,探讨了振荡水浴/超声波提取毛竹叶中叶绿素的工艺可行性;并且将提取的叶绿素溶液与聚乙烯醇(PAV)乳液混合后采用不同的成膜方法制得PVA/叶绿素膜。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

毛竹叶采自无锡惠山国家森林公园,剪去黄叶部分,置于50℃烘箱中烘干,粉碎机粉碎,过80目筛后,密闭储存于带塞棕色瓶中,置于阴凉干燥处,避光待用。无水乙醇和丙酮,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

振荡水浴锅(L12-A),厦门瑞比精密机械有限公司;紫外可见分光光度计(T6),北京普析通用仪器有限责任公司;超声波清洗仪(SK5210HP),上海科导参数仪器有限公司;倒置荧光显微镜(TI-S),尼康仪器(上海)有限公司;台式显微镜(TM3030Plus),日本日立高新技术公司。

1.2 实验方法

1.2.1 叶绿素提取及工艺参数筛选

准确称取1.00g毛竹叶粉末放入三角瓶中,并用铝箔纸包覆避光,加入一定量的丙酮使其完全浸没。45℃下,通过振荡水浴20min进行预处理,此后采用超声波清洗器在200W、50℃、40min进行超声波提取,最后经滤纸过滤,获得叶绿素丙酮提取液。不同的工艺参数对叶绿素提取效率产生不同的影响,因此采用单因素试验对振荡时间、超声波时间、超声波功率对叶绿素的提取工艺进行优化试验,进而确定最佳工艺条件。

1.2.2 叶绿素含量的测定

量取1mL叶绿素丙酮提取液,滴加无水乙醇定容至5mL,采用紫外可见分光光度计在波长400~700nm范围内进行扫描。由于吸光度与提取叶绿素含量成线性正比关系,故采用664nm的吸光度为间接指标进行叶绿素含量的测定。用丙酮法按照式(1)计算叶绿素总含量^[6]。

$$\text{叶绿素总含量} = [20.2A_{645} + 8.02A_{664}]V/1000 \times m \quad (1)$$

式中,叶绿素含量单位为mg/g; A_{664} 是664nm处吸光度; A_{645} 是645nm处的吸光度; V 是提取液体积; m 为试样质量。

1.2.3 PVA/叶绿素膜的制备

采用两种方法制备PVA/叶绿素膜。(1)直接成膜法。称取1gPVA置于烧杯中,加入20mL水,混合后在80℃,1000r/min条件下加热搅拌2h,获

得质量浓度为5%的PVA透明乳液,然后将叶绿素溶液缓慢滴入PVA溶液中,经磁力搅拌1h后,获得均匀的绿色乳液。冷却后,置于真空烘箱中60℃烘干,将膜取出。(2)静电纺丝成膜法。取上述绿色乳液15mL装入20mL注射器中,推进速率1mL/h,距离24cm,使用锡箔纸作为接收基材,电压控制为20kV。将接收板上的样品取下,剪成2cm×2cm大小的样品,室温下保存待测。

1.2.4 PVA/叶绿素成膜性能表征

采用荧光显微镜,分别选择紫外光、蓝光、绿光为光源照射样品,观察PVA/叶绿素样品的荧光特性。采用扫描电子显微镜(SEM),喷金处理膜表面后,加速电压为15kV,观察不同放大倍数下PVA/叶绿素纤维的形态。

2 结果与讨论

2.1 叶绿素提取条件的筛选

2.1.1 振荡时间

分别选择振荡时间为5、10、15和20min来检测所提取叶绿素含量的变化,结果见图1。由图可知,随着振荡时间的增加,提取液的吸光度增加,即提取的叶绿素含量不断增大。当振荡时间为10min时,提取效率最高。随着振荡时间的不断增加,提取率均呈下降趋势。这可能是由于振荡水浴的振荡作用,有利于溶液的混合均匀。随着振荡时间延长,固液混合更加均匀,溶液有利于达到毛竹叶内部。当振荡时间超过一定范围,其提取效率降低,可能是由于振荡时间太久会弱化超声波处理效果从而导致提取效率下降。综上所述,振荡时间为10min时,叶绿素的提取效果最好。

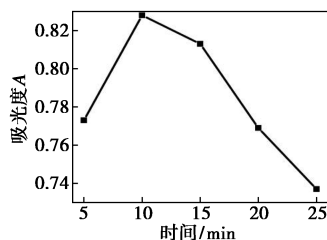


图1 振荡时间对提取叶绿素含量的影响

2.1.2 超声时间

分别选择超声时间为10、15、20、25和30min来检测所提取叶绿素含量的变化,结果见图2。由图可知,随着超声时间的增加,提取液的吸光度增加,即提取的叶绿素含量不断增加;当超声时间为20min时,提取效率增加缓慢,提取液吸光度达到最

大值,而在 20min 以后,随着超声时间的延长,提取率均呈下降趋势。这可能是由于超声时间较短时,部分叶绿素没有完全溶解到提取液中,大多数还存留在毛竹叶中;随着时间延长,有机溶液浸入毛竹叶内部,叶绿素得到溶解。继续延长时间超声波产生的能量及热效使叶绿素受到破坏、分解,导致提取效率降低。因此,超声时间选择 20min,叶绿素提取效果最好。

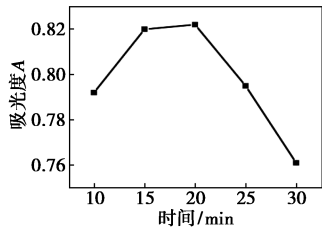


图 2 超声时间对提取叶绿素含量的影响

2.1.3 超声功率

分别选择 80、100、120、140、160 和 180、200W 等不同超声功率来检测所提取叶绿素含量的变化,结果见图 3。由图可知,随着超声功率的增加,提取溶液的吸光度增加,即提取的叶绿素含量不断增加;当超声功率到达 140W 时,提取溶液吸光度达到最大值,而在 140W 以后,随着超声功率的不断增大,提取率均呈下降趋势。这可能是由于超声波清洗机能在毛竹叶与提取剂之间产生空化效应^[13],使得提取液内部中无数气泡迅速形成并内爆,扩大毛竹叶的分散,增加提取剂与毛竹叶的接触面积。当超声功率较低时,在水中发射出的超声波能量比较低,因此传达给有机溶剂的能量也比较低,影响有机溶剂快速渗入毛竹叶内部,因此提取效率低。超声波传递给有机溶剂的能量增加,热效应增大,叶绿素分子快速分散,使得溶剂能够迅速浸入到毛竹叶内部,多数叶绿素溶解在提取剂中,浸提比较充分。但是超声功率增加至 140W 以后,传递的能量与热效应对叶绿素产生破坏,致使叶绿素分解,提取效率降低。因此,超声波功率选择 140W,叶绿素提取效果最好。

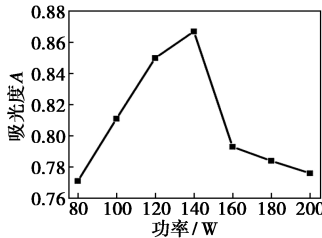


图 3 超声功率对提取叶绿素含量的影响

2.2 PVA/叶绿素膜的特征

2.2.1 直接成膜的荧光效应

为了验证 PVA/叶绿素膜中的叶绿素同样具有自身的荧光效应,采用荧光显微镜观察不同的激发光线对 PVA/叶绿素膜产生荧光效果,结果见图 4。由图可知,当选择的激发光为紫外光线时,PVA/叶绿素膜上会产生蓝色的荧光[见图 4(a)];当选择的激发光为绿光时,PVA/叶绿素膜上会产生红色的荧光[见图 4(b)];当选择的激发光为蓝光时,PVA/叶绿素膜上会产生绿色的荧光[见图 4(c)]。这些结果表明,叶绿素的荧光特性不会因为成膜而受到影响。

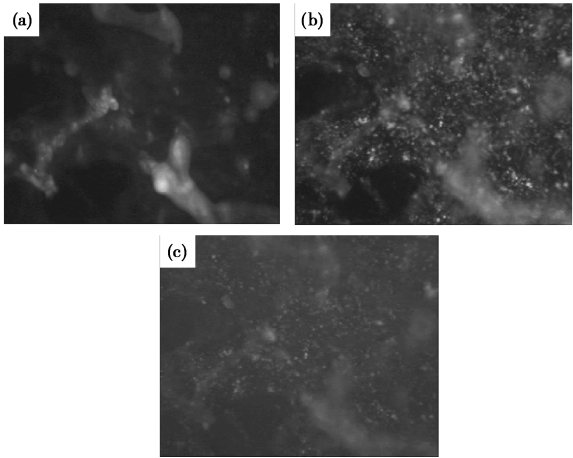


图 4 PVA/叶绿素膜在不同激发光线下的显色图
[(a)紫外光;(b)蓝色光;(c)绿色光]

2.2.2 静电纺丝纤维膜的扫描电子显(SEM)分析

图 5 为不同放大倍数下 PVA/叶绿素膜中叶绿素的 SEM 图。由图可知,纤维直径分布不均匀,这是因为在静电纺丝过程中丙酮挥发,高压电场下针头处液滴容易固化,溶液浓度不稳定,导致所得纤维粗细不均,同时纤维在成膜过程中形成大量珠粒。造成这种现象的原因有很多,例如纺丝液黏度太小或者电压不稳、喷丝孔与收集器之间的距离设置不合理等。同时,从图中还可以看出,叶绿素分子吸附在纤维表面,这可能是因为是在纺丝过程中,有机溶剂

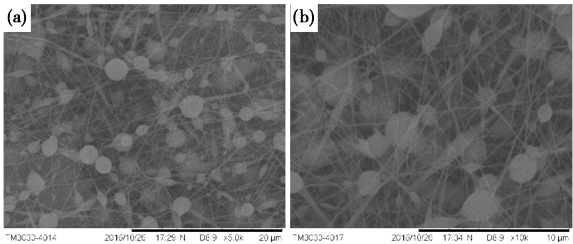


图 5 不同放大倍数下 PVA/叶绿素膜中叶绿素的 SEM 图
[(a)×5000;(b)×10000]

快速挥发,残余的叶绿素分散在 PVA/水乳液中。经过多组试验对各工艺参数进行不断调试与优化,最终确定当 PVA 质量浓度为 4%,接收板距离为 15cm,电压为 15kV,推进速率为 1.5mL/h 时获得的纤维截面粗细比较均匀。

3 结论

(1)在振荡水浴联合超声波提取叶绿素工艺中,通过单因素试验得出优化工艺条件为:当振荡时间为 10min,振荡温度为 50℃,超声时间为 20min,超声温度为 45℃,超声功率为 140W 时,叶绿素提取效果最好。

(2)在直接成膜过程中,成膜速率较快,但是成膜均匀性不稳定,因此需要调节溶液黏度、成膜所需的溶液量来控制膜的均匀性。

(3)在静电纺丝工艺中,珠粒的形成与纺丝液的黏度、表面张力、电压大小、喷丝孔与收集器之间的距离等众多因素有关。研究结果表明,在 PVA 质量浓度为 4%,接收板距离为 15cm,电压为 15kV,推进速率为 1.5mL/h 时获得的纤维截面粗细比较均匀。

参考文献

- [1] Kinumoto T, Matsumura T, Yamaguchi K, et al. Material processing of bamboo for use as a gas diffusion layer in proton exchange membrane fuel cells[J]. *Acs Sustainable Chemistry*

& Engineering, 2015, 3(7): 1374-1380.

- [2] Sharma B, Gatão A, Bock M, et al. Engineered bamboo for structural applications[J]. *Construction & Building Materials*, 2015, 81: 66-73.
- [3] 杨国恩, 吴志平, 李申平. 竹叶叶绿素的提取及其性质的稳定性[J]. *中南林学院工业学院报*, 2005, 25(3): 106-110.
- [4] 朱晓敏, 王胜利, 刘卫洁. 以超声辅助浊点萃取法提取竹叶中的叶绿素[J]. *化学试剂*, 2015, 37(3): 263-266.
- [5] 陈新香, 蔡碧琼, 蔡珠玉, 等. 芦荟皮叶绿素的提取及稳定性研究[J]. *江西农业大学学报*, 2010, 32(1): 175-180.
- [6] 张静平. 超声波辅助提取毛竹叶中叶绿素的研究[J]. *实验与技术*, 2008, 24(6): 488-489.
- [7] 陆志, 廖威. 毛竹叶化学成分初步测定[J]. *山西大学学报(自然科学版)*, 2003, 26(1): 46-48.
- [8] 邱尔发, 陈存及, 梁一池, 等. 不同种源毛竹叶表叶绿素浓度动态[J]. *福建林学院学报*, 2002, 22(4): 312-315.
- [9] 王立娟. 超声波辅助提取紫丁香叶叶绿素的工艺[J]. *农业工程学报*, 2009(s1): 171-174.
- [10] 钟爱国. 鲜竹叶中叶绿素的超声波萃取[J]. *科学技术与工程*, 2006, 6(21): 3474-3475.
- [11] Mendes-Pinto M M, Silva Ferreira A C, Caris-Veyrat C, et al. Carotenoid, chlorophyll, and chlorophyll-derived compounds in grapes and port wines[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(26): 10034-10041.
- [12] Yang H, Huan B, Chen Y, et al. Biomass-based pyrolytic pyrolysis system for bamboo industry waste: evolution of the char structure and the pyrolysis mechanism[J]. *Energy & Fuels*, 2016, 30(8): 6430-6439.
- [13] 廖维良, 赵美顺, 杨红. 超声波辅助提取技术研究进展[J]. *广东药学院学报*, 2012(3): 347-350.

收稿日期: 2016-11-08

(上接第 116 页)

- [2] 师少飞, 王兆梅, 郭祀远. 纤维素溶解的研究现状[J]. *纤维素科学与技术*, 2007, 15(3): 74-78.
- [3] 杨扬, 康燕, 蔡志楠, 等. 纤维素接枝反应的研究进展[J]. *纤维素科学与技术*, 2009, 17(3): 53-58.
- [4] Ching Yern Chee, Ali Md Ershad. Rheological properties of cellulose nanocrystal embedded polymer composites a review[J]. *Cellulose*, 2016, 23(2): 1011-1030.
- [5] 吴文娟. 纤维素系高吸水性树脂的研究进展[J]. *纤维素科学与技术*, 2006, 14(4): 57-61.
- [6] 罗成成, 王晖, 陈勇. 纤维素的改性及应用研究进展[J]. *化工进展*, 2015, 34(3): 767-773.
- [7] Qua E H, Hornsby P R, Sharma H S S. Preparation and characterization of poly(vinyl alcohol) nanocomposites made from cellulose nanofibers[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2009, 113(4): 2238-2247.
- [8] Liu Shilin, Tao Dandan, Yu Tengfei. Highly flexible, transparent cellulose composite films used in uv imprint lithography[J]. *Cellulose*, 2013, 20(2): 907-918.
- [9] Hse Chungyun. Development of melamine modified urea form-

aldehyde resins based on strong acidic pH catalyzed urea formaldehyde polymer[J]. *Forest Products Journal*, 2009, 59(5): 19-24.

- [10] 杨中兴, 齐鲁, 狄海燕. 三聚氰胺甲醛树脂改性及其纤维的性能[J]. *高分子材料科学与工程*, 2008, 24, (1): 147-150.
- [11] 杨惊, 李小瑞. 改性三聚氰胺甲醛树脂提高纸张湿强度的研究[J]. *中国造纸*, 2005, 24(9): 10-13.
- [12] 权靖, 马榴强. 苯胺胺改性三聚氰胺甲醛树脂的合成研究[J]. *化工新型材料*, 2012, 40(6): 140-142.
- [13] Klaus Bretterbauer Klaus, Clemens Schwarzingler. Melamine derivatives-a review on synthesis and application[J]. *Current Organic R Synthesis*, 2012, 9(3): 342-356.
- [14] Merline Dyana J, Vukusic Sulafudin, Abdala Ahmed A. Melamine formaldehyde: curing studies and reaction mechanism[J]. *Polymer Journal*, 2013, 45(4): 413-419.
- [15] Kohlmayr Martin, Zuckerstaetter Gerhard, Kandelbauer Andreas. Modification of melamine formaldehyde resins by substances from renewable resources[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2012, 124(6): 4416-4423.

收稿日期: 2016-09-23

修稿日期: 2017-10-18