

白藜芦醇提取工艺的研究

陈易彬, 陈 奎*

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西 西安 710021)

摘 要: 本研究探讨了虎杖中白藜芦醇的提取工艺和稳定性。在虎杖中, 白藜芦醇对光、干热、湿热和氧化剂均敏感; 通过实验得出回流、超声、固定床连续提取的提取率分别 0.201%、0.423%、0.513%; 同时利用正交设计得出固定床连续提取的最佳工艺为溶剂为 30% 乙醇, 固定床连续提取速度为 8ml/min·kg, 浸泡时间为 12h, 溶剂用量为 8 倍量。

关键词: 虎杖; 白藜芦醇; 提取

Study on Extraction of Resveratrol

CHEN Yi-bin, CHEN Kui*

(College of Life Sciences and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 712081, China)

Abstract: The extraction processing and stability of the resveratrol from *Polygonum cuspidatum* were studied in this research. The resveratrol is unstable against light, heat, wet-heating and oxidant. On the base of experimental analysis, the extraction rate of reflux extraction, continuous fixed bed extraction and ultrasonic extraction were 0.201%, 0.423%, 0.513%. And continuous fixed bed extraction is optimized by orthogonal test method. The optimum conditions were obtained as follows: the concentration of the ethanol 30%, extracting speed 8 ml/min·kg, immersion time 12 h and the solvent 9 times of the material.

Key words *Polygonum cuspidatum*; resveratrol; extraction

中图分类号: 0658

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)12-0197-03

白藜芦醇是活性较强的多酚类化合物, 是一种重要的植物抗毒素, 根据目前的报道, 已经证明白藜芦醇对人体有如下的保健作用: (1) 能降低血脂及冠心病的发病率, 对心血管系统起特殊保护作用; (2) 调节低密度脂蛋白(LDL)的比例; (3) 减少血小板凝集等作用; (4) 延缓衰老; (5) 有望成为人类预防癌症的一种天然药物。因此, 近年来白藜芦醇对人体功能的影响日益受到重视。被喻为继紫杉醇之后的又一新的绿色抗癌药物。白藜芦醇主要从葡萄皮、虎杖等植物中提取得到, 功能、安全、绿色、环保, 是代表未来发展方向的植物天然提取物、添加剂。其分子结构明确, 作用机理清楚, 是典型的第三代保健食品原料之一; 其功效明确, 是一种重要的天然的新药原料; 其抗氧化、延缓衰老的作用明显, 是美容化妆品行业重要的原料产品。近年来, 欧美各国已将其开发成保健食品上市, 剂型有片剂、胶囊、口服液。因此, 本实验拟对下列内容进行研究。(1) 虎杖中白藜芦醇的稳定性研究; (2) 鲜根处理方法的不

同对白藜芦醇含量的影响; (3) 研究虎杖中白藜芦醇提取的工艺。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲜虎杖根采自秦岭山中。

硅胶 GF254 (化学纯) 青岛海洋硅胶干燥剂厂;

CMC-Na 天津化工集团有限公司; 白藜芦醇标准品 中国药品生物制品检定所; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

TGL-16C 型台式离心机 上海安亭科学仪器厂;

ZF-2 型三用紫外仪 上海市安亭电子仪器厂; 760CRT 双光束紫外可见分光光度计 上海精密仪器有限公司。

1.3 检测方法

1.3.1 最大吸收波长的选择

量取一定量的白藜芦醇对照品乙醇溶液, 在波长 200~350nm 范围内进行扫描, 测定紫外吸收图谱, 结

收稿日期: 2006-10-31

*通讯作者

基金项目: 陕西科技大学自然科学基金项目(ZX04-20)

作者简介: 陈易彬(1955-), 男, 副教授, 研究方向为天然物的纯化与修饰。

果在 306nm 处有最大吸收, 故选择 306nm 为测定波长。

1.3.2 标准曲线方程的建立^[5]

分别取白藜芦醇对照品乙醇溶液(0.04 μ g/ μ l)50、100、150、200、250 μ l, 点于硅胶 GF254 薄层板上, 带状点样, 以氯仿-丙酮-甲酸-水(4:4:0.5:0.2)为展开剂, 展开箱用展开剂预平衡 15min, 上行展开, 展距约 15cm, 置紫外灯(365nm)下检视, 刮取呈蓝紫色斑的点, 置离心试管中, 加无水乙醇, 高速离心 3min, 洗脱 3 次, 合并洗脱液定容至 5ml。同法制空白对照。在 306nm 波长处测定吸光度 A, 以吸光度为自变量, 浓度为因变量, 按最小二乘法计算, 得标准曲线方程为: $C=9.2094A-0.0755$ ($r=0.9997$), 在 0.4~2 μ g/ml 范围内线性良好。

1.3.3 供试样品的含量测定

精密吸取制得的供试样品溶液 40 μ l, 按 1.3.2 方法操作, 用对照品参照定位, 测得吸光度, 由标准曲线方程计算供试液浓度, 结合实验各步的量值关系折算出样品的含量。

1.4 药材预处理方法考察

1.4.1 提取方法

文献报道的较多方法为回流提取, 此处只为比较原料前处理方法, 故选择回流提取法。称取原料 50g, 以 4 倍量、3 倍量、3 倍量 95% 乙醇回流提取 2、2、1h, 合并提取液, 过滤, 滤液减压浓缩至浸膏, 真空干燥, 称重。

1.4.2 原料前处理方法考察

从原料储存和提取工艺角度出发, 将虎杖鲜根分别经干热, 湿热, 光照, 氧化剂处理, 按 1.4.1 所述方法进行实验。

1.4.3 原料粉碎粒度的考察

取经干热处理的虎杖鲜根粉碎, 选择小于 20 目、20~40 目、大于 40 目三种不同粒度的原料按 1.4.1 所述方法进行实验。

1.5 提取方法的研究

1.5.1 回流提取

取常法处理的虎杖粗粉(20~40 目), 按 1.4.1 所述方法进行实验。

1.5.2 超声提取

称取常法处理的虎杖粗粉(20~40 目)50g, 用乙醇浸泡 2h 后, 放入温度为 50℃ 的超声波清洗器中提取 3 次, 功率为 60%。第一次溶剂用量为 4 倍量, 第二、三次分别用 3 倍量乙醇提取各 20min。合并提取液, 过滤, 减压浓缩至浸膏, 真空干燥, 称重。

1.5.3 固定床连续提取

称取常法处理虎杖粗粉(20~40 目)50g, 用适量乙醇浸泡 17h, 然后装入固定床连续提取装置, 以 0.5ml/min $\cdot$ kg 的流速进行固定床连续提取, 收集提取液, 过滤, 减压浓缩至浸膏, 真空干燥, 称重。

1.6 固定床连续提取工艺参数考察

根据预实验与文献报道^[9]选取对实验结果有影响的几个因素进行考察: A(溶剂浓度%), B(速度 ml/min $\cdot$ kg), C(浸泡时间 h), D(溶剂用量倍)。

选取以上四个因素进行正交试验。选用 $L_9(3^4)$ 正交表, 按 1.5.3 方法进行试验, 分析处理所得数据, 筛选出最佳固定床连续提取条件。

2 结果与分析

2.1 药材选择与处理方法研究

2.1.1 药材处理方法考察结论

在虎杖中, 白藜芦醇对光不稳定, 提示原料的加工不宜阳光曝晒, 储存应在阴暗处。

在虎杖中, 白藜芦醇对干热、湿热均敏感; 同一温度随时间的延长影响不大, 短时间的高温也会使含量大幅度下降, 故属于温度敏感型; 其在 60℃ 以下稳定, 同样, 延长受热时间, 影响不大, 提示可在 60℃ 以下进行工业化生产。

此次试验, 氧化剂用量较大, 因为虎杖根粉中还含有大量的其它还原性物质。试验表明: ①白藜芦醇具有还原性; ②低用量氧化剂对其影响不大。提示在虎杖的加工处理中加入抗氧化剂, 效果不会太明显。

2.1.2 药材粒度考察

粒度减小, 增加了溶质的传质面积, 缩小了扩散半径, 使浸出速率有明显的提高。但从另一方面考虑, 粒度过小, 一是造成了液相中的纯度下降, 一些杂质也被溶解出来, 同时吸附作用也会增强; 二是由于颗粒细小浸提后的浆液机械分离难度加大, 而且增加能耗。根据实验结果, 在以后的实验中原料粉碎粒度为 20~40 目。

2.2 提取方法的研究

前述各法白藜芦醇提取率(%)为: 回流提取(0.201%)、超声提取(0.423%)、固定床连续提取(0.513%)。

可知, 固定床连续提取法所得提取率最高, 回流提取法最低。回流提取, 原料长时间受热, 而白藜芦醇又有热敏性, 在提取过程中, 遭到破坏, 而固定床连续提取法原料无需受热, 属于常温提取方法, 而且该方法优点在于溶剂在向下流的过程中在固定床连续提取装置内具有一定的浓度梯度, 新鲜溶剂不断从上面补充, 使有效成分的提取更加完全。所以固定床连续提取工艺胜过其它提取工艺。

2.3 固定床连续提取工艺参数考察

固定床连续提取正交试验白藜芦醇提取率结果见表1。

表1 固定床连续提取正交试验结果
Table 1 Orthogonal test results of fixed bed extraction test
orthogonal design

试验号	因 素				提取率 (%)
	A	B	C	D	
1	60	6	6	8	0.196
2	60	8	12	10	0.201
3	60	10	18	12	0.149
4	30	6	12	12	0.603
5	30	8	18	8	0.599
6	30	10	6	10	0.553
7	0	6	18	10	0.019
8	0	8	6	12	0.022
9	0	10	12	8	0.014
I	0.546	0.818	0.771	0.809	
II	1.755	0.822	0.818	0.773	
III	0.055	0.716	0.767	0.774	
R	1.7	0.106	0.051	0.036	

由表1极差分析可知,各因素对指标的影响主次顺序为:A(溶剂浓度)>B(固定床连续提取速度)>C(浸泡时间)>D(溶剂用量)。最优工艺条件为:A₂B₁C₂D₂,即溶剂为30%乙醇,固定床连续提取速度为8ml/min·kg,浸泡时间为12h,溶剂用量为8倍药材量。

3 结 论

本实验通过对药材处理,提取分离过程的研究得到以下结论:

3.1 纯白藜芦醇对光不稳定,在完全避光情况下有较好的稳定性。因为白藜芦醇具有热敏性,所以虎杖药材在处理过程中一定要注意温度,避免高温,此外白藜芦醇还容易被氧化,处理过程中也要注意。

3.2 本实验得出固定床连续提取为最佳提取工艺。固定床连续提取属于动态浸出。将植物材料粉末装在提取

器中,不断添加新溶剂,使其渗透原料,自上而下,从提取器下部收集浸出液的一种浸出方法。溶剂连续地由上部加入料层后,固相的液体中与溶剂中的有效成分的浓度差随着高度和时间而变化,有效成分从原料向溶剂扩散的传质区域最初位于料层的上部,随着浸提的进行,传质区不断向下移动,上层的溶剂或稀浸液便置换其位置,造成良好的浓度差,使扩散能较好的进行。在浸提过程中随时自原料面上补充新溶剂,使植物中有效成分充分浸出。而料层下部所收集的浸出液在传质区到达料液层底部前浓度较高并且一直保持稳定。该法的优点在于其是在常温下进行实验,不需要加热,热敏性物质白藜芦醇在提取过程中不会转变为其他物质。另外一点就是提取过程中新鲜溶剂不断与药材接触,浓度差较大,使药材中的白藜芦醇提取更加完全。

3.3 通过正交试验得出固定床连续提取工艺最佳条件为:原料粉碎粒度20~40目,浸泡12h,用8倍量30%乙醇,提取速度为8ml/min·kg。

参考文献:

- [1] 冯永红,许实波.白藜芦醇药理作用研究进展国外医药[J].植物药分册,1996,11(4):155-157.
- [2] 舒友琴,陈敏.白藜芦醇和白藜芦醇苷研究进展[J].郑州牧业工程高等专科学校学报,2003(4):245-248.
- [3] 徐小燕,潘林梅.天然植物中白藜芦醇及其苷类的医疗保健作用[J].时珍国医国药,2004,15(1):49-50.
- [4] 陈秀霞,陈由强,陈如凯.白藜芦醇研究进展[J].福建林业科技,2003,30(4):84-88.
- [5] 孟昭仁,奚洪民,刘进帮.白藜芦醇的提取和纯化及分析方法研究进展[J].化学世界,2002(10):511-513.
- [6] 刘训红,王玉玺.中药材薄层色谱鉴别[M].天津科学技术出版社,1990:15.
- [7] 王丹,唐盈.中药虎杖中白藜芦醇含量测定的研究[J].中草药,1987,18(11):16-18.
- [8] 卢晓江.中药提取工艺与设备[M].北京:化学工业出版社,2004.



韩国科学家培育新品种螺旋藻既营养又环保

韩国科学家近日培育出一种可以大规模养殖的新型螺旋藻,既可以用作动物饲料添加剂,又有助于减少大气中的温室气体。

据韩联社报道,由韩国生物科学与生物技术研究所有生物学家吴熙穆领导的研究小组表示,他们利用甲基磺酸乙酯培育出编号为M20CJK3的螺旋藻菌。

M20CJK3型螺旋藻是蓝藻家族中的一员,它通过生命体的光合作用吸收二氧化碳。吴熙穆说,如果进行大规模养殖,这种新品种螺旋藻的二氧化碳固定率可以稳定在每天每平方米21.8g二氧化碳,比广为人知的CG590型螺旋藻高13%。

吴熙穆还说,如果养殖方法得到改善,M20CJK3型螺旋藻可作为水产动物饲料添加剂出售。初步实验结果表明,吃了这种螺旋藻的虾比不吃这种螺旋藻的虾多长10%以上。

关于这项研究的论文刊登在《微生物与生物工艺学通讯》上,该研究小组正在申请国际专利。