

表面活性剂协同提取芦丁研究*



龚盛昭^{1,2}, 程 江¹, 杨卓如^{1*}

(1. 华南理工大学 化学工程学院, 广东 广州 510640;

2. 广东轻工职业技术学院 轻化工程系, 广东 广州 510300)

GONG S Z

摘 要: 对不同表面活性剂协同芦丁提取的效果进行了比较, 筛选出对芦丁提取具有较好协同作用的表面活性剂——吐温 20(Tween 20)。通过试验, 得到了 Tween 20 协同提取芦丁的最佳工艺条件: 提取两次, 每次槐米与水、硼砂及 Tween 20 的质量比为 100: 700 0. 75: 0. 5, 在 60 ℃ 下提取 30 min。合并提取液, 用盐酸调 pH 值至 2~ 3, 静置 40 min, 分离出沉淀物, 干燥, 即得芦丁, 产率为 17. 5 %, 纯度为 92. 5 %。与传统碱水提取法相比, Tween 20 协同芦丁提取法能缩短提取时间和沉淀时间并提高芦丁产率。

关键词: 表面活性剂; 吐温 20; 芦丁; 槐米

中图分类号: TQ423. 9; R284. 2 文献标识码: A 文章编号: 0253- 2417(2004) S0- 0093- 04

STUDY ON EXTRACTION OF RUTIN ASSISTED BY SURFACTANT

GONG Sheng-zhao^{1,2}, CHENG Jiang¹; YANG Zhuo-ru¹

(1. College of Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China; 2. Department of Chemical Engineering, Guangdong Technical College of Light Industry, Guangzhou 510300, China)

Abstract: Different surfactants were used as assistants to extract rutin from Flos sophorae, from which Tween 20 was confirmed as the best surfactant. The optimal technology is obtained as follows: extracting twice at 60 ℃ for 30 min, each time with a mass ratio of material to solvent, Tween 20 and borax by 100: 700 0. 75 0. 5, adjusting the extracted liquor's pH value to 2- 3 with 15 % hydrochloric acid, laying aside for 40 min to deposit completely followed by separating out the precipitate. Rutin product can be obtained at yield 17. 5 % and purity 92. 5 % after drying of the precipitate. Compared with traditional alkaline liquor extraction, the extraction assisted with Tween 20 has the advantages of decreased extracting time and depositing time, and increased yield.

Key words: surfactant; Tween 20; rutin; Flos sophorae

芦丁(rutin)是槐米(Flos sophorae)的主要成分, 具有抗菌消炎、抗辐射、调节毛细血管壁的渗透、降低血管的脆性、防止血管破裂、止血和对紫外线具有极强的吸收及很好的抗氧化等作用^[1], 广泛用于医药、保健食品中, 具有很高的利用价值。目前, 芦丁的提取一般采用碱溶酸沉工艺, 但该工艺耗时较长,

* 收稿日期: 2003- 06- 23

作者简介: 龚盛昭(1970-), 男, 湖南江永人, 副教授, 博士生, 主要研究方向为天然产物的开发和应用;

E-mail: shengzhao2002@sina.com。

* 通讯联系人

提取率不太理想,成本较高,有待于进一步改进。

近10年来,人们利用表面活性剂的增溶作用,进行了表面活性剂协同提取天然药物的研究,通常以溶有少量表面活性剂的水就可代替高浓度的醇或其他有机溶剂进行天然药物的提取^[2],从而大大降低提取成本,并提高提取率,而且无环保问题,具有很大发展潜力。实验表明,表面活性剂协同芦丁提取是可行的方法。

1 表面活性剂协同天然药物提取的原理

天然药物中有效成分大部分存在于细胞原生质中,经粉碎后的药材粉末,一部分细胞组织已经破裂,通过扩散可直接溶解在溶剂中;另一部分未破裂的细胞组织,溶剂通过毛细管或细胞间隙渗透进入细胞壁内溶解可溶性有效成分,使细胞内外产生浓度差,溶剂不断渗透进入细胞组织中,细胞膨胀破裂后,有效成分溶解至溶剂中,如此循环,不断加入新溶剂,使有效成分几乎全部溶出,达到提取目的。

对于中药有效成分的提取过程,首先是溶剂对药材的润湿。能否润湿,与溶剂和药材成分的表面张力有着密切关系;表面张力愈大,溶剂不易润湿药材,提取其中有效成分就会很慢或不可能;而加入表面活性剂则能降低表面张力,使药材易被润湿,从而提高溶剂渗入细胞内部的效能。然后是有效成分扩散和溶解于溶剂中,达到提取的目的。表面活性剂具有双亲结构,能形成胶团,对天然药物有效成分具有增溶作用^[2],能提高浸出效能和提取率。

2 实验部分

2.1 材料、试剂和仪器

槐米,购自广州市清平市场;芦丁为标准品;硼砂、氧化钙、盐酸和乳化剂OP为化学纯;十六烷基三甲基氯化铵(1631)、十二烷基硫酸钠(K₁₂)、聚氧乙烯失水山梨醇单月桂酸酯(Tween 20)、聚氧乙烯失水山梨醇单硬脂酸酯(Tween 60)、聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯(Tween 80)为工业品;真空泵;JJ 500电子天平(常熟双杰测试仪器厂);UV-120紫外-可见分光光度计(日本岛津);JHS-1搅拌机;PHS-25酸度计。

2.2 提取实验

表面活性剂协同芦丁提取工艺以传统碱水提取工艺为基础,在浸泡提取阶段加入表面活性剂起协同作用,具体工艺流程如下:



称取经粉碎后的槐米100 g,分两次提取,每次加入700 mL水,用饱和石灰水调pH值8~9,加入0.75 g硼砂和0.5 g表面活性剂,浸泡20 min,在60 ℃下提取30 min,抽滤,滤液用质量分数为10%的盐酸调pH值至2~3,析出沉淀,静置40 min,用稀盐酸和冷水洗涤,得芦丁粗产品。

2.3 芦丁的检测

2.3.1 绘制标准曲线 用芦丁标准品配制质量浓度为0.5 mg/mL的芦丁乙醇溶液,分别吸取芦丁乙醇溶液1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mL于25 mL容量瓶中,用质量分数为70%的乙醇定容,在波长259 nm处测定吸光度,绘制吸光度-芦丁质量浓度标准曲线。

2.3.2 粗产品中芦丁质量分数的测定 取芦丁粗产品50 mg,置于100 mL容量瓶中,用质量分数为70%的乙醇溶解并定容,取3 mL,置于25 mL容量瓶中,再用质量分数为70%的乙醇定容,在波长259 nm处测定吸光度,在标准曲线上查得芦丁的质量浓度,计算粗产品中芦丁质量分数。

3 结果和讨论

在 2.2 节所述实验条件下, 通过改变其中一个条件, 考查单因素对提取效果(主要为芦丁产率和纯度)的影响。

3.1 不同表面活性剂的影响

用不同表面活性剂对芦丁进行协同提取实验, 结果见表 1。由表 1 可知, 1631、Tween 60、Tween 80 的加入导致芦丁产率下降, 而且还使产品纯度降低, 对芦丁提取无协同作用; OP 能使芦丁产率稍有升高, 但产品纯度有所下降, 综合考虑产率和纯度两方面的因素, OP 对芦丁的提取无明显协同作用。K₁₂、Tween 20 能使产率升高, 但 K₁₂和生物碱能产生沉淀^[2], 从而大大降低芦丁的纯度, 导致提取后提纯分离困难, 而且 K₁₂毒性较大、有溶血作用, 故不适合采用。Tween 20 能使芦丁产率大大升高, 而且产品纯度变化很小, 对芦丁提取具有明显的协同作用。因此, 本研究采用 Tween 20 进行试验。

3.2 Tween 20 用量的影响

改变表面活性剂 Tween 20 的用量进行实验, 结果亦见表 1。由表 1 可知, 随着 Tween 20 用量的增大, 芦丁的产率也随之提高, 但当其用量达到 0.5 g 后, 产率就不再变化。这是由于 Tween 20 用量的增大, 形成胶束增多, 对芦丁的增溶作用增强, 但达到临

界胶束浓度时, 胶束的数量不再随 Tween 20 用量的增大而增多, 增溶效果基本保持不变, 所以产率不再增大。而纯度则恰好相反, 随着用量的增加, 纯度降低, 这说明 Tween 20 不仅对芦丁有增溶作用, 同时也对其他杂质有增溶作用, 导致纯度降低。综合两方面因素, 以槐米与 Tween 20 的质量比在 100:0.5 为宜。

3.3 浸泡时间的影响

改变浸泡时间进行实验, 结果也列入表 1。由表 1 可知, 浸泡时间越长, 芦丁产率越高, 但产品纯度却稍有下降的趋势。一般来说, 浸泡有利于对物料的润湿和渗透, 所以浸泡处理有助于提取率提高, 以浸泡时间 20 min 为宜。

3.4 提取时间的影响

改变提取时间进行实验, 结果同样见表 1。由表 1 还看出, 随着提取时间的延长, 产率有所提高, 但当提取时间达到 30 min 以上时, 产率已基本稳定; 提取时间的延长, 将导致杂质溶出使产品纯度下降。综合考虑芦丁产率和纯度两方面因素, 以提取 30 min 为宜。

3.5 提取温度的影响

改变提取温度进行实验, 结果见表 1。从表 1 看出, 温度升高能使槐米组织软化, 促进细胞膨胀破裂, 增加芦丁的溶解和扩散速度, 促进芦丁的浸出, 同时 Tween 20 中聚氧乙烯基的水化程度减少, 胶束较易形成, 特别是当温度升至接近表面活性剂的浊点时, 胶束聚集度剧增, 使增溶程度大大提高; 但若继续提高温度, 则会加剧聚氧乙烯基的脱水, 使其卷缩得更紧, 增溶能力也随之降低。表中正是反映了这种变化规律, 随着提取温度的升高, 芦丁产率不断提高, 但 60 °C 以上时, 产率已增加很少, 70 °C 以上时产率反而出现下降的趋势, 而且纯度降低, 因此提取温度在 60 °C 左右为宜。

3.6 酸沉静置时间的影响

表 1 改变单一提取条件对提取效果的影响

Table 1 Effects of changing a single condition on the extraction results

项目 items	产率/% yield	纯度/% purity
对照样 control	13.5	93.4
	1631	10.4
	K ₁₂	17.3
	Tween 20	17.5
	Tween 60	11.2
表面活性剂种类 kinds of surfactants	Tween 80	13.2
	OP	15.4
	0.25	15.6
	0.50	17.5
Tween 20 用量/g dosage of Tween 20	0.75	17.7
	1.00	17.8
	1.25	17.8
	0	15.7
浸泡时间/min soaking time	10	16.8
	20	17.5
	30	17.7
	40	17.8
	10	15.4
提取时间/min extracting time	20	17.1
	30	17.3
	40	17.6
	50	17.9
	提取温度/°C extracting temp.	室温 room temp.
40		10.1
50		14.3
60		17.4
70		17.8
80		16.2
90	15.7	

改变酸沉静置时间进行实验,结果见图1。由图1可知,随着酸沉静置时间的延长,芦丁产率不断增加,但酸沉时间达到40 min时,芦丁已基本析出,再延长酸沉时间,产率增加很少,所以静置时间以40 min为宜。

据文献^[3]报道,未加表面活性剂进行提取时,酸沉需静置6 h才能使芦丁析出完全;而添加Tween 20进行协同提取时,却能在40 min左右使芦丁析出完全,大大节省了沉淀时间。其原因可能是由于酸性条件破坏了Tween 20形成的胶团,从而使芦丁失去胶团保护作用而快速析出。

3.7 实验产品的表征

将实验得到的芦丁样品以乙醇溶解,用紫外可见分光光度计扫描得紫外光谱图,最大吸收波长分别为362.8和259.0 nm,与文献值^[4]一致。

实验得到的芦丁样品红外光谱图(KBr压片, V/cm^{-1}): 3410.1, 2924.0, 1655.1, 1604.8, 1568.0, 1505.4, 1452.6, 1361.8, 1203.2, 1167.9, 1118.0, 1064.4, 1014.0, 937.5, 879.8, 809.0, 713.6, 654.0, 597.4, 525.0, 487.0,与芦丁标准谱图完全一致。

根据以上测定,可以确定实验所得产物为芦丁,同时说明表面活性剂的加入对产物的化学结构无不利影响。

3.8 Tween 20 协同提取法与传统碱水提取法的比较

分别按上述实验得到的Tween 20协同提取最佳工艺和传统碱水提取工艺进行芦丁提取对比实验,结果见表2。

表2 Tween 20 协同提取与传统碱水提取的比较

Table 2 Comparison between extraction assisted with Tween 20 and traditional alkaline liquor extraction

项目 items	提取时间/min extracting time	料液质量比 stock mass ratio	沉淀时间/h depositing time	芦丁产率/% yield	产品纯度/% purity
Tween 20 协同提取 extraction assisted with Tween 20	20	1:14	0.6	17.5	92.5
传统碱水提取 traditional extraction	70	1:14	6	13.5	93.4

由表2可知,Tween 20协同提取,提取时间是传统法的2/7,酸沉静置时间是传统法的1/10,产率也由传统法的13.5%提高到17.5%。

4 结论

4.1 表面活性剂的加入,对芦丁提取有较大影响,1631、Tween 60、Tween 80等使芦丁产率下降,OP、K₁₂和Tween 20都能使芦丁产率提高,但以Tween 20的升幅最大,对芦丁提取具有明显的协同作用。

4.2 用Tween 20协同提取芦丁的最佳工艺条件:称取经粉碎后的槐米100 g,提取两次,每次加水700 mL,用饱和石灰水调pH值至8~9,加入0.75 g 硼砂和0.5 g Tween 20,浸泡20 min,在60℃下提取30 min,抽滤,滤液用稀盐酸调pH值至2~3,静置40 min,分别用稀盐酸和冷水洗涤,芦丁粗产品得率为17.5%,纯度92.5%。

4.3 Tween 20协同提取法与传统碱水提取法相比,提取工艺条件得到了优化,提取时间是传统法的2/7,酸沉静置时间是传统法的1/10,产率也由传统法的13.5%提高到17.5%。

参考文献:

- [1] LA C C, VILLEGAS I. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2000, 71(1-2): 45-53.
- [2] 钟静芬. 表面活性剂在药学中的应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999.
- [3] 龚盛昭, 袁水明. 黄芩甙的提取工艺改进研究 [J]. 广东化工, 2002, 29(6): 5-7.
- [4] BROLIS M, FUZZATI N. Identification by high-performance liquid chromatography diode array detection mass spectrometry and quantification by high-performance liquid chromatography UV absorbance detection of active constituents of hypericum perforatum [J]. Journal of chromatography, 1998, 825(1): 9-16.

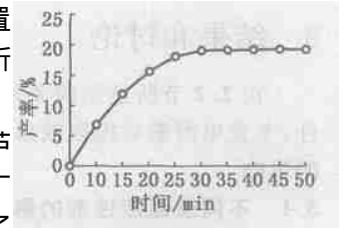


图1 沉淀时间对芦丁产率的影响

Fig. 1 Effect of depositing time on rutin yield