

文章编号:1009-038X(2004)06-0055-04

膜分离技术在提取银杏叶黄酮类化合物中的应用

于涛, 钱和

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 研究了银杏叶中黄酮类化合物的提取过程及工艺, 使用超滤技术对粗提的产品进行精制, 对影响超滤的工艺条件如压力、温度、时间进行考察, 确定了最佳的提取条件: 乙醇水溶液体积分数 50%、提取温度 80 ℃、料液质量体积比 1 g : 10 mL、提取时间 2 h。提取物中黄酮质量分数达到 5.96%, 超滤后的产品中黄酮质量分数达到 33.99%。

关键词: 银杏叶; 黄酮; 提取; 超滤

中图分类号: S 792.5

文献标识码: A

The Application of Membrane Technology in Extracting Flavones Compounds in Ginkgo Leaves

YU Tao, QIAN He

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: This paper studied extracting process and technique of flavones compounds in Ginkgo leaves, and the purification of the crude product with ultra filtration technology. The conditions affecting ultra filtration such as pressure, temperature, and time were also studied. The optimum extracting conditions were obtained as follow: water-alcohol 1 : 1, $T=80\text{ }^{\circ}\text{C}$, material-water 1 g : 10 mL, $t=2\text{ h}$, 5.96% flavones in extractions. Product contained 33.99% flavones after ultra filtration.

Key words: Ginkgo leaf; flavones; extraction; ultra filtration

银杏叶中黄酮类化合物具有抗自由基、抑制脂质氧化、降血脂、增加脑血流量等功效。在心脑血管保健方面, 其效果尤为明显。目前, 对银杏叶开发利用已成为研究热点。江苏邳州地区银杏叶资源较为丰富, 但传统的加工方法较为落后, 粗提取物的纯化主要使用树脂法完成^[1,2], 其优点是设备简单、能耗低, 但树脂的老化会在精制过程中以碎片形式脱落, 产生二次污染, 并且树脂法再生溶剂消耗量大, 成本也很高。

超滤是新兴的分离纯化技术, 是利用膜的孔径特征, 以物理手段将不同大小的分子进行分离, 具有在分离过程中被分离成分稳定、分离率高、耗能低、无二次污染等优点^[3], 目前在食品、生物、医药以及化工领域使用较多。

作者采用超滤技术对纯化银杏叶黄酮进行研究, 旨在为银杏叶中有效活性成份的提取精制提供一种新的方法。

收稿日期: 2003-12-29; 修回日期: 2004-02-26.

作者简介: 于涛(1977-), 男, 黑龙江哈尔滨人, 食品科学与工程硕士研究生。

1 材料与方 法

1.1 原料、仪器与设备

银杏叶:江苏邳州港上镇市售;芦丁标准品:上海化学试剂公司产品;无水乙醇:上海振兴化工一厂产品。

722 型光栅分光光度计:上海第三分析仪器厂产品;真空旋转蒸发器:上海申顺生物科技有限公司产品;离心沉淀机:上海医用分析仪器厂产品;小型平板超滤装置:赛普(无锡)膜科技发展有限公司产品;超滤膜(截留相对分子质量分别为 5 000, 10 000, 20 000);美国 Osmonics 公司产品。

1.2 银杏叶中黄酮提取的 工艺路线

银杏干叶→粉碎→乙醇(丙酮)水溶液浸提→抽滤后的滤渣重复提取一次→合并滤液→减压浓缩(除乙醇)→静置 2 h→离心→超滤→减压浓缩→真空干燥→银杏叶黄酮产品

1.3 黄酮化合物的定量测定

以芦丁为标准品,利用黄酮类化合物中的 3-羟基、4-羟基、5-羟基、4-羰基或邻二位酚羟基与 Al^{3+} 进行络合反应,在碱性条件下生成红色络合物,在波长 510 nm 下测定,得到标准曲线方程为: $y = 12.973x - 0.0101$, $r^2 = 0.9996$,线性范围 0.02~0.10 mg/mL。样品的测定方法相同^[4]。

1.4 超滤工艺中相对通量的测定

将一定体积的提取液装入料槽中,开泵超滤并计时,间隔一定时间测定超滤液体积。相对通量是对膜通量的间接表示方法,可准确地反映出膜通量的变化规律。超滤开始后以 3 min 为单位测量通量 J_0 ,然后每隔一定时间测量通量 J_i ,直到相对通量 (J_i/J_0) 相对稳定时停止^[5]。

2 结果与讨论

2.1 银杏叶黄酮提取工艺

2.1.1 溶剂对银杏叶总黄酮浸提效果的影响 国外专利报道过使用丙酮溶剂提取银杏叶黄酮产品^[6],作者采用不同体积分数的乙醇、丙酮两种溶剂进行浸提对比实验,结果见图 1。丙酮的提取效果优于同体积分数的乙醇,丙酮溶液的体积分数在 60% 时的提取效果最好,乙醇溶液的体积分数在 50% 时的提取效果最好。由于丙酮的价格昂贵,且有毒性,国内企业很少使用,从提取效果、生产安全性及成本等综合考虑,选择体积分数 50% 的乙醇溶液作溶剂较适合。

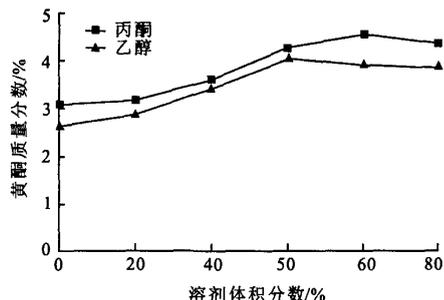


图 1 溶剂体积分数对银杏叶总黄酮浸提效果的影响
Fig. 1 Effect of solvent on extracting results of total flavonoids in Ginkgo leaves

2.1.2 温度对银杏叶黄酮浸提效果的影响 温度是对提取效果产生显著影响的因素之一。从图 2 可以看出,温度越高黄酮的提取效果越好,在 80 ℃ 时达到最大值,继续升高温度,黄酮质量分数有所下降,原因是黄酮甙在高温条件下长时间受热易发生氧化,而且温度过高会使叶绿素、单宁等杂质溶出量增大,导致分离纯化难度加大,造成黄酮的损失。因此,提取温度不应超过 80 ℃。

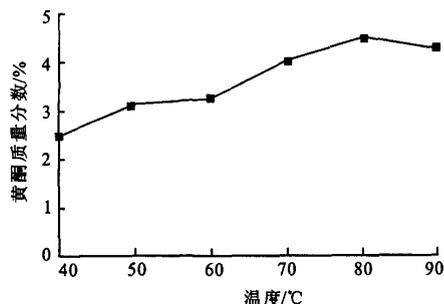


图 2 温度对银杏叶黄酮浸提效果的影响
Fig. 2 Effect of temperature on extracting results of total flavonoids in Ginkgo leaves

2.1.3 固液比例对银杏叶黄酮浸提效果的影响 在控制成本的前提下,为了达到最佳的提取效果,对固液比例进行实验。图 3 表明,在固液比 1 g : 4 mL~1 g : 10 mL 的范围内提取效果随溶剂用量的增加,黄酮质量分数显著增加。当固液比达到 1 g : 10 mL 之后,黄酮质量分数的增加随溶剂用量增加趋势明显降低。因此,选取的最佳固液比为 1 g : 10 mL。

2.1.4 浸提时间对银杏黄酮提取效果的影响 为缩短生产周期,提高提取效率,现对浸提时间进行考察。图 4 可见,黄酮提取效果随时间变化趋势平缓,浸提时间 2 h 与 3 h 的提取液中黄酮质量分数分别为 3.51% 和 3.56%,差异很小,因此,选定最佳

提取时间为 2 h.

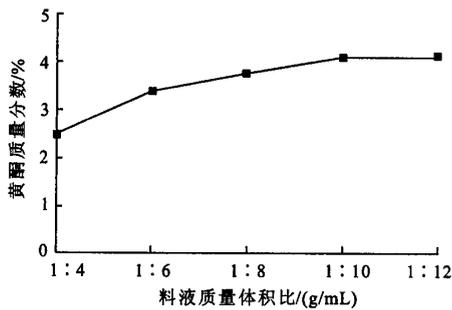


图 3 料液质量体积比对银杏叶黄酮浸提效果的影响

Fig. 3 Effect of the ratio of leaves powder to solvent (w/v) on extracting result of total flavonoids in Ginkgo leaves

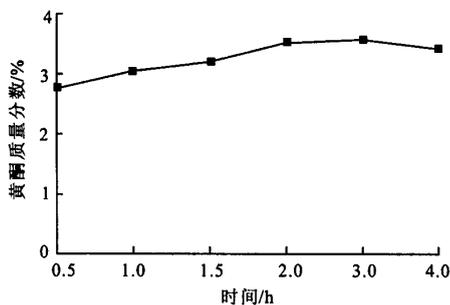


图 4 浸提时间对银杏黄酮提取效果的影响

Fig. 4 Effect of time on extracting results of total flavonoids in Ginkgo leaves

由上述实验确定了银杏叶黄酮的提取条件:乙醇水溶液体积分数 50%, 提取温度 80 ℃, 料液质量体积比 1 g : 10 mL, 提取时间 2 h. 在确定的提取条件下, 产品中黄酮质量分数达到了 5.96%. 在超滤工艺中, 将应用上述最佳提取条件.

2.2 银杏叶黄酮的超滤工艺条件研究

2.2.1 截留相对分子质量不同的超滤结果

膜的孔径或截留相对分子质量的选择虽然主要是根据被分离物的相对分子质量大小来确定的, 但是分子的实际尺寸与分子的构型、分子的聚集状态有关, 而且还与溶液的浓度有关^[7]. 由于使用有机溶剂提取得到的料液粘度较大, 高分子胶体物质较多, 膜污染现象较严重. 因此一般情况下, 膜的截留相对分子质量应选择稍大一些的. 故分别选用截流相对分子质量为 5 000, 10 000, 20 000 等 3 种膜, 对有效成分迁移率及产品得率进行比较, 结果见表 1, 选用截留相对分子质量 5 000 的膜所得到产品中黄酮质量分数最高, 但黄酮的透过率只有 80.58%; 截留相对分子质量 20 000 的膜得到黄酮的透过率最高, 但

所得产品中黄酮质量分数最低, 这是由于杂质的透过量增大. 综合黄酮的透过率和得率两方面考虑, 选用截留相对分子质量 10 000 的膜较合适.

表 1 截留分子量不同的超滤结果

Tab. 1 Results of Ultra filtration of different MWCO

截留相对分子质量	50g 干叶粉中黄酮化合物质量/mg	银杏叶黄酮提取物质量/g	黄酮迁移率/%	产品中黄酮质量分数/%
超滤前原液	585.14	9.82	100	5.96
5 000	471.52	1.22	80.58	38.65
10 000	523.43	1.54	89.45	33.99
20 000	553.40	2.07	94.58	26.73

2.2.2 时间与膜通量的关系

通过对图 5 的分析, 可得出相对通量随时间的变化规律. 在压力为 0.1 MPa、温度为 20 ℃条件下, 开始超滤的 45 min 里通量下降很快; 在超滤过程中的 1~2 h 间通量变化缓慢; 在 2 h 后相对通量变化基本稳定在 35% 左右. 由于实验装置带有料液循环功能, 因此实验过程中没有出现浓差极化的现象.

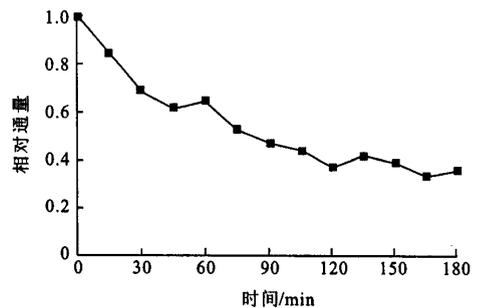


图 5 时间与膜通量的关系

Fig. 5 The relation of time and flux of membrane

2.2.3 压力对膜通量的影响

由图 6 可见, 随着压力增大, 膜通量也增加, 且在 30 min 内膜通量增加较快, 但压力增加使得衰减幅度减小, 以后衰减趋势相近. 理论上, 压力越高, 膜通量越高, 但实际压力不能太高, 因会影响整个膜装置系统的密闭性, 本实验中所使用的工作压力范围为 0.10~0.40 MPa, 建议的使用压力为 0.10~0.30 MPa, 因此实际操作中压力控制在 0.2~0.3 MPa 间较为合适.

2.2.4 温度对膜通量的影响

由图 7 可见, 温度对膜通量影响显著. 30 ℃时的通量降低较 20 ℃时缓慢. 90 min 后, 30, 35, 40 ℃下的通量基本达到一致. 因此, 选择料液温度 30 ℃时进行超滤是合适的.

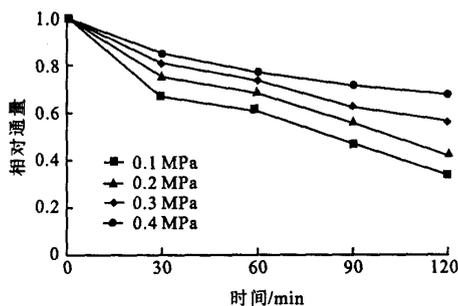


图6 压力对膜通量的影响

Fig. 6 The relation of pressure and flux of membrane

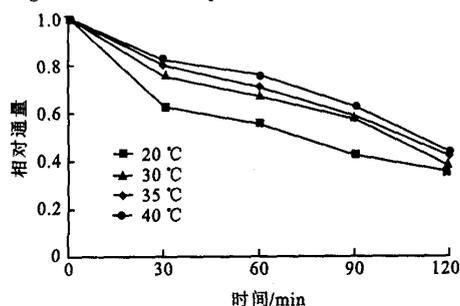


图7 温度对膜通量的影响

Fig. 7 The relation of temperature and flux of membrane

3 结论

1) 银杏叶黄酮的提取条件为乙醇水溶液体积分数 50%、提取温度 80 °C、料液质量体积比 1 g:10 mL、提取时间 2 h, 得到产品中黄酮质量分数达到 5.96%。

2) 选用截留相对分子质量 10 000 的膜, 得到的产品中黄酮质量分数为 33.99%, 黄酮类物质的透过率是 89.45%, 总提取物得率为 3.1%。对比文献 [9] 的树脂提取法, 超滤工艺的总黄酮得率是较高的。

3) 膜通量 2 h 后基本稳定在 35% 左右, 压力范围在 0.2~0.3 MPa, 工作温度取 30 °C 较适宜。

4) 从试验结果可以看出, 超滤技术用于分离纯化银杏黄酮类物质效果理想。值得说明的是, 目前本试验还处于使用小型试验阶段, 下一步将进行放大试验, 以获得更多的数据。

参考文献:

- [1] 卢锦花, 胡小玲, 岳红. 吸附树脂提取分离银杏叶提取物的研究进展[J]. 化工进展, 2001, (3): 1-4.
- [2] 史作清, 许名成, 施荣富等. 树脂吸附法制备银杏叶提取物[J]. 中国食品添加剂, 1997, (3): 38-40.
- [3] 任建新. 膜分离技术及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [4] 于村, 俞莎, 沈向红. 保健食品中总黄酮测定方法的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12(4): 401-402.
- [5] 李淑莉, 耿兴长, 杜启云. 中药超滤过程中几种预处理方法效果的比较[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(2): 76-78.
- [6] Schwabe, Klaus-Peter. Extract from Ginkgo biloba leaves, its method of preparation and pharmaceuticals containing the extract[P]. 美国专利; USP 905167, 1989-12-04.
- [7] (法) 劳顿巴赫 R, 阿尔布雷希特 R. 膜分离方法——超滤和反渗透[M]. 黄怡华, 董汝秀译. 北京: 化学工业出版社, 1991.
- [8] 刘重芳. 银杏叶中有效成份的提取和测定[J]. 中成药, 1995, 17(6): 40-41.
- [9] 肖顺昌, 伍岳宗. 银杏叶黄酮制备工艺研究[J]. 中国医药工业杂志, 1990, 21(8): 340-341.

(责任编辑: 朱明)