

微波技术在植物胞内有效成分提取中的应用[△]

大连理工大学化工学院生物工程系 (116012) 张代佳* 刘传斌 修志龙
清华大学生物科学与技术系 昌增益

摘要 将微波加热应用于植物细胞破壁是一种快速、高效、安全、节能的提取胞内耐热物质的新工艺。与传统的中药煎煮法相比,微波加热法可以得到更高的产物提取率,而且整个大大缩短提取时间,杂质含量显著减少。

关键词 微波 细胞破壁 植物胞内物质 中药有效成分 提取

细胞破壁是提取生物胞内产物的关键性操作。只有将封闭目标产物的细胞壁和细胞膜破碎或溶解,才能使产物释放出来。随着生物技术的飞速发展,细胞破碎技术越来越引起人们的高度重视,常用的破壁方法有珠磨法、高压匀浆法、超声波法、化学渗透法、酶溶法、冷冻压榨法等^[1]。对于天然植物来讲,有效成分往往包埋在有坚硬或柔软表皮保护的内部薄壁细胞或液泡中,使破壁非常困难。所幸多数中药有效成分都是热和化学稳定性物质,可以用水蒸煮或乙醇、丙醇等有机溶剂浸取的方法分别提取水溶性或脂溶性有效成分。另外也有用超声波^[2,3]或酶法^[4]提高中药有效成分提取率的尝试。近十几年来国外不少学者将微波应用于天然产物的浸取过程中,有效地提高了收率^[5,6],取得了令人可喜的进展。笔者就微波技术在天然植物胞内有效成分的提取和分析中的应用做一简单介绍。

1 原理和应用

微波是频率介于 300 MHz 和 300 GHz 之间的电磁波,微波加热是利用微波场中介质的偶极子转向极化与界面极化的时间与微波频率吻合的特点,促使介质转动能级跃迁,加剧热运动,将电能转化为热能。由于微波具有穿透力强、选择性高、加热效率高特点,因而被广泛应用于食品干燥、灭菌、生物、环境、地质等样品的元素分析的前处理^[7],有机催化合成反应等领域^[8]。微波技术也在中药的有效成分分析^[9]、药物浸膏的干燥以及中药材的干燥和灭菌方面^[10]有一些应用和尝试,但还未在中药生产中大规模应用。

从细胞破碎的微观角度看,微波加热导致细胞内的极性物质,尤其是水分子吸收微波能,产生大量的热量,使胞内温度迅速上升,液态水汽化产生的压力将细胞膜和细胞壁冲破,形成微小的孔洞;进一步加热,导致细胞内部和细胞壁水分减少,细胞收缩,

表面出现裂纹。孔洞或裂纹的存在使胞外溶剂容易进入细胞内,溶解并释放出胞内产物。

最近我们应用微波从灵芝、云芝、猴头等高等真菌菌丝体中提取多糖以及从茶花粉、银杏叶、人参、高山红景天根茎、丹参根、刺五加茎、喜树果等植物组织器官中提取相应的药用成分等,考察了微波对植物细胞的作用机制以及胞内产物的释放情况。研究表明,微波对不同的植物细胞或组织有不同的作用,胞内产物的释放也有一定的选择性,因此应根据产物的特性及其在细胞内所处位置的不同选择不同的处理方式,下面介绍几种微波处理的方式。

2 辅助浸取过程

微波强化萃取的成功范例是从新鲜薄荷叶中提取薄荷油^[6],将剪碎的薄荷叶放入盛有正己烷的玻璃烧杯中,经微波短时间处理后,薄荷油释放到正己烷中,显微镜观察表明叶面上的脉管和腺体破碎,这说明微波处理有一定的选择性,因为新鲜薄荷叶的脉管和腺体中饱含水分,因此富含水的部位优先破壁,而含水少的细胞则比较滞后,甚至变化不大。与传统的乙醇浸提相比,微波处理得到的薄荷油几乎不含叶绿素和薄荷酮。不难设想,如果所需的有效成分不在富含水的部位,那么用微波处理就难以奏效。例如用同样的方式处理银杏叶,溶剂中银杏黄酮的量并不多,而叶绿素则大量释放出来,说明银杏黄酮可能处于较难破壁的叶肉细胞中。这里非极性的有机溶剂正己烷几乎不吸收微波,它可以起到冷却和溶解双重作用。另有报道用微波辅助浸取丹参酮已经取得了较为理想的结果^[11],但水溶性成分,尤其是丹参素和原儿茶醛的提取或分析则不宜采用此法。

如果用水作溶剂,那么细胞内外同时加热,破壁效果自然不会太理想,况且大部分微波能被溶剂消耗。正如超声破碎一样,微波辅助浸取的工程放大问

* Address: Zhang Daijia, Department of Biotechnology, College of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian
[△]辽宁省科学技术基金和大连理工大学中青年骨干教师基金以及国家教育部理科基地访问学者基金

题仍然是需要解决的主要困难。微波的穿透深度与其波长处于同一数量级,而频率为 915 和 2450 MHz 的微波波长分别是 32.79 和 12.26 cm。

3 破壁与浸取联合工艺

为了解决溶剂水和细胞内水分同时吸收微波以及微波辅助浸取的工业放大问题,可以采取先用微波处理经浸润后的干药材,然后再加水或有机溶剂浸取有效成分的工艺,这样既可以节省能源,又可以连续工业化生产。刘传斌等采用该技术从酵母细胞中提取海藻糖^[12],并将此工艺申请了国家专利。

用此工艺从高山红景天的干燥根茎中提取红景天苷表明,微波破壁与浸取联合工艺的产物得率与乙醇回流法(索氏提取法)接近,二者明显高于用乙醇或水作溶剂的加热蒸煮法,而杂蛋白的浓度则相反,前两者的浓度明显低于后两者。用 70% 乙醇溶液索氏提取高山红景天根茎 2 h 得到的红景天苷与微波处理 1.5 min 水提 10 min 的结果相当,而杂蛋白的浓度前者是后者的 1.6 倍^[13]。另外用此工艺从刺五加茎和喜树果中分别提取黄酮和喜树碱都取得了令人满意的结果。

4 鲜药材处理

微波干燥鲜药材或制作中药饮片已有应用^[10],但是人们往往只将微波作为除去水分的热源看待,而忽视了微波干燥对药材外观和微观结构的改变。例如微波干燥的新鲜人参与自然风干或普通烘干的人参相比,外观浑圆、饱满,横截面呈蜂窝状,这无疑是细胞胀裂、组织疏松的结果。这种结构有利于溶剂渗透和有效成分的溶解释出,从而缩短提取时间,节约能源,提高效率。另一方面微波的快速高温处理可以将细胞内的某些降解有效成分的酶类(如苷的水解酶)灭活,从而使这些有效成分在药材保存或提取期间不会遭受破坏。

应该指出的是富含挥发性或热敏性成分的中药

材显然不适合使用微波干燥,富含淀粉和/或树胶的天然植物同样也不适合,因为微波干燥很容易使它们变性或糊化,堵塞通道,反而不利于胞内产物的释放。另外疏松的结构不利于易氧化物质的保存,因此必须科学地使用微波技术。

5 结论

微波技术应用于生物胞内耐热物质的分离提取具有穿透力强、选择性高、加热效率高等显著的特点,在分析方面体现了操作简便、快速、高效的优点,在实际生产过程中具有安全、节能的潜力。但是这种方法也有一定局限性,一是只适用于对热稳定的产物,如寡糖、多糖、核酸、生物碱、黄酮、苷类等中药成分,对于热敏性物质,如蛋白质、多肽、酶等,微波加热容易导致它们变性失活;二是要求被处理的物料具有良好的吸水性,或者说待分离的产物所处的位置容易吸水,否则细胞难以吸收足够的微波能将自身击破,产物也就难以迅速释放出来。微波用于中药提取还刚刚开始,有许多问题有待进一步研究。

参考文献

- 1 修志龙,姜 炜,苏志国. 化工进展, 1994, 1: 15
- 2 郭孝武. 中国医药工业杂志, 1998, 29(2): 51
- 3 赵 兵,王玉春,欧阳藩,等. 中草药, 1999, 30(9): 附 1
- 4 李兆龙. 中成药, 1994, 16(10): 52
- 5 Paé J R J, Belanger J M R, Stafford S S. Trends in Analytical Chemistry, 1994, 13(4): 176.
- 6 Lopez-Avila V, Benedicto J. Trends in Analytical Chemistry, 1996, 15(8): 334.
- 7 文湘华,吴铃钰. 环境科学进展, 1998, 6(2): 61
- 8 金钦汉. 微波化学. 北京: 科学出版社, 1999: 118
- 9 张 玲,姚乾元,谢鸿霞. 中国中药杂志, 1991, 16(3): 146
- 10 曹光明. 中药工程学. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 563, 699
- 11 沈平嫫,邵忠法,唐青华,等. 中成药, 1998, 20(5): 1
- 12 Liu C B. Proceedings of APBIOCHEC 97. BeiJing, 1997, vol 2: 910
- 13 王 威,刘传斌,修志龙. 中草药, 1999, 11: 824

(1999-12-27收稿)

(上接第 710 页)

伪品延胡索(黄独零余子)外皮紫褐或褐绿色,并有淡棕色细小颗粒状突起,直径约 1 mm,无地下块茎状特征,其横切面观察含有大量粘液细胞及草酸钙针晶束。黄独零余子与延胡索分属于不同科属,不同药用部位的两种药材,其生药鉴别、理化分析等均不相同,故黄独零余子不得作延胡索使用。

参考文献

- 1 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部. 广州: 广东科技出版社, 化学工业出版社, 1995: 117
- 2 江苏新医学院编. 中药大辞典. 下册. 上海: 上海人民出版社, 1977: 2079
- 3 中国医学科学院药物研究所编. 中草药有效成分的研究. 第一分册. 北京: 人民卫生出版社, 1972: 13

(1999-07-22收稿)