

银杏种皮的银杏酸提取工艺优化研究

耿敬章

(陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723001)

摘要:以银杏的种皮为试验材料,进行银杏酸提取工艺研究,并通过 $L_9(3^4)$ 正交实验探讨了料液比、提取溶剂浓度、时间、温度对提取效果的影响。结果表明:影响银杏酸提取效果的最主要因素是温度,并得出银杏酸提取的最佳工艺条件为:料液比 1:40、甲醇浓度 90%、时间 2.5 h、温度 60℃,在此条件下分别在 242、310 nm 检测,含量分别为 5.946、3.722 mg/g。

关键词:银杏酸;紫外分光光度计;工艺;银杏;种皮

中图分类号:TS 255.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)13-0042-03

银杏(*Ginkgo biloba* L.)为银杏科(Ginkgoaceae)银杏属植物,银杏中主要的活性物质是银杏黄酮类和银杏内酯^[1-3]。除黄酮类及内酯类外,银杏酸(Ginkgolic acids, 简称 GAs)是银杏中具有重要生理活性的组分之一,它是一类水杨酸的衍生物,为 6-烷基或 6-烯基水杨酸,六位上接一链长 13~19、双键数 0~3 的碳链,存在于银杏叶、果和外种皮中的生物活性成分,以外种皮中的含量为最高。目前已知的银杏酸主要有白果酸(Ginkgolic acid, a)、氢化白果酸(Hydroginkgolic acid, b)、氢化白果亚酸(Hydroginkgolonic acid, c)和白果新酸(Ginkgoneolic acid, d),各化合物结构见图 1^[4-5]。

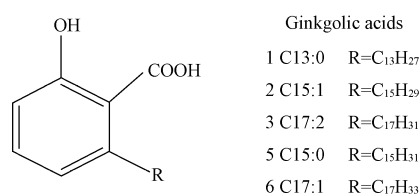


图 1 银杏酸结构

上述结构与生漆中的致敏物质漆酚类似,而此结构正是致敏的根源,其中烃基上的双键越多越易致敏^[6-7]。

有研究报道,银杏酸具有潜在的致敏和致突变作用和强烈的细胞毒性^[6-9],可引起严重的过敏反应、基因突变、神经损伤,导致恶心和胃灼热、过敏性休克、过敏性紫癜、剥脱性皮炎、消化道黏膜过敏、痉挛和神经麻痹等不良反应。研究发现,银杏酸对 Hcr-15 等多种肿瘤细胞有良好的抑制作用^[8]。Itokawa 等^[9]研究了银杏外种皮

中的长链酚酸类物质抗肿瘤活性,结果表明,该类化合物对小鼠肉瘤 S180 和中国大田鼠 V-79 细胞有抑制作用;Lee J S 等^[10]从银杏外种皮的氯仿提取物中分离得到银杏酚酸,显示了极强的磷脂酰肌醇专属磷脂酶 Cr1 (PI-PLCr1)抑制活性,以 C17:1 的银杏酚酸抑制活性最强,其半数抑制浓度(IC₅₀)为 2.22 μmol/L;同时还证明银杏酚酸能抑制多种人癌细胞的生长,并且对正常结肠细胞(CCD-18-CO)的毒性比相应的结肠癌细胞小。文献^[11-13]报道其对多种真菌和细菌具有抑制作用,银杏外种皮提取物对烟曲霉、赭曲霉、杂色曲霉、阿姆斯特丹曲霉、串珠镰刀菌、串珠镰刀菌胶孢变种、栓状青霉和缓生曲霉有较强的抑制作用。

银杏酸的这些特定的功能作用,使其在化妆品、生物农药和医药方面有很好的应用前景,除了直接利用外,银杏酸还可作为合成新型杀虫剂的先导化合物,是一种值得开发的活性成分。该试验对银杏酸提取工艺进行了优化,以期对银杏资源的综合利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

银杏果的种皮经烘箱烘干、粉碎,过 60 目分样筛,备用。试剂为银杏酸标品(同田生物)、甲醇分析纯、蒸馏水。仪器与设备:数显恒温水浴锅 HH-6(国华电器有限公司);FY-135 中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);AL204 电子天平(梅特勒-托利马仪器(上海)有限公司);UV-2550(日本岛津国际上海有限公司)。

1.2 试验方法

将洗净的银杏中种皮于烘箱中干燥,用粉碎机粉碎过 60 目筛。称取 1 g 银杏粉,加入一定量的溶剂,在一定温度下浸泡提取,过滤,得到银杏酸类物质提取液。分别以溶剂浓度、料液比、提取时间、提取温度进行单因

作者简介:耿敬章(1980-),男,硕士,讲师,研究方向为食品质量控制与资源开发利用。E-mail:jingz-geng@163.com。

基金项目:陕西理工学院科研资助项目(SLGKY11-05)。

收稿日期:2012-03-26

素试验,确定其对提取效果的影响。称取 1 g 粉碎的银杏种皮,采用不同的溶剂浓度(50%、60%、70%、80%、90%、100%)、料液比(1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70)、不同提取时间(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 h)、提取温度(20、30、40、50、60、70℃),分别在 242、310 nm 处进行紫外检测,并根据单因素试验确定正交实验各水平。

1.3 标准溶液的制备

精密称取标准品总银杏酸 A、总银杏酸 B 各 1.000 mg,用无水甲醇溶解,定容至为 50 mL,即配成浓度为 40 mg/L 的标准液。量取标准液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0、2.2 mL 分别于 10 mL 容量瓶中,甲醇定容,摇匀。分别在 242、310 nm 处测定其吸光度值,并绘制标准曲线^[5]。

2 结果与分析

2.1 标准曲线制作

按 1.3 方法得到 242、310 nm 处标准曲线方程式分别为: $y=0.02275x+0.00135(R=0.997)$ 、 $y=0.04358x-0.00266(R=0.998)$ 。

2.2 各单因素对提取效果的影响

2.2.1 溶剂浓度对提取效果的影响 称取 1 g 银杏粉 6 份,料液比 1:50(g/mL),室温下提取时间(2.0 h),分别以不同浓度甲醇作提取剂,分别在 242、310 nm 处检测。由图 2 可知,随着甲醇浓度的增加,提取率相应增加,浓度 90% 时提取效果最好,大于 90% 时,呈下降趋势。这可能是由于银杏酸有弱极性,所以试验在 90% 甲醇条件下提取效果最好。

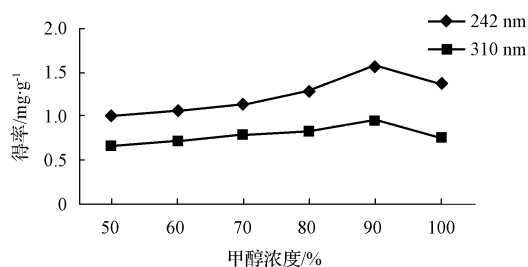


图2 不同甲醇浓度对银杏酸提取效果影响

2.2.2 料液比对提取效果的影响 称取 1 g 银杏粉 7 份,甲醇浓度 100% 作提取剂,室温下,提取时间(2.0 h),在不同料液比下提取,分别在 242、310 nm 处检测。由图 3 可知,随着料液比的增加,提取率相应增加,在料液比为 1:40 时提取效果最好,大于 1:40 时,呈平缓趋势。

2.2.3 时间对提取效果的影响 称取 1 g 银杏粉 7 份,甲醇浓度 100% 作提取剂,料液比 1:50(g/mL),室温下,不同时间提取,分别在 242、310 nm 处检测。由图 4 可知,随着时间的增加,提取率相应增加,3.0 h 提取效果最好,大于 3.0 h 呈平缓趋势。

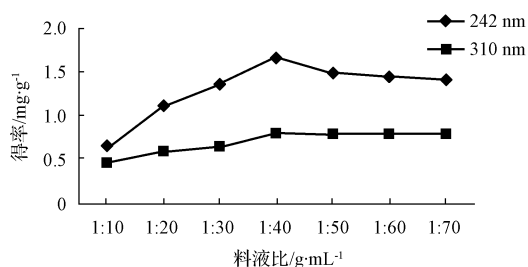


图3 不同料液比对银杏酸提取效果影响

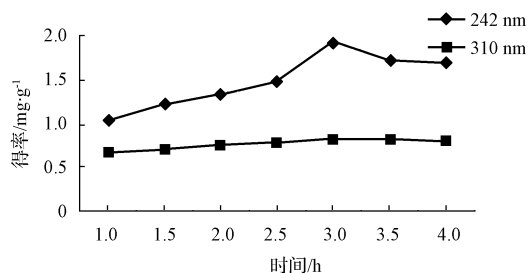


图4 不同时间对银杏酸提取效果影响

2.2.4 温度对提取效果的影响 称取 1 g 银杏粉 6 份,甲醇浓度 100% 作提取剂,料液比 1:50(g/mL),相同时间(2.0 h),不同温度提取,分别在 242、310 nm 处检测。由图 5 可知,随着温度的增加,提取率相应增加,70℃ 时提取效果最好,这可能是由于 70℃ 大于甲醇的沸点(64.7℃),对提取液浓缩后,增加了得率。由于 70℃ 甲醇挥发大,影响溶剂与溶质的传质,溶剂消耗严重,故选择 60℃ 为提取最适温度。

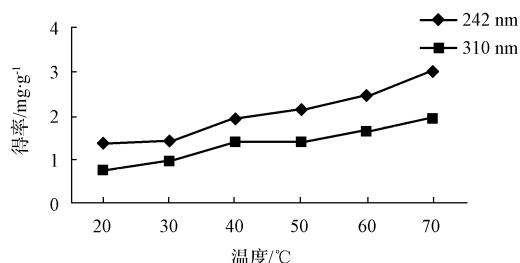


图5 不同温度对银杏酸提取效果影响

2.3 正交实验结果

由表 1、2 可知,影响银杏酸提取效果的因素的主次顺序为 C>A>B>D,即温度>料液比>甲醇浓度>时间,其最优组合为 A₂B₂C₃D₁。因此可确定银杏酸的最佳提取工艺条件:料液比 1:40、甲醇浓度 90%、温度 60℃、时间 2.5 h。在最佳工艺条件下作验证试验,银杏酸得率在 242、310 nm 处检测分别为 3.669、5.950 mg/g。

表 1 L₉(3⁴) 正交实验水平

试验	因素			
水平	A 料液比/g·L ⁻¹	B 甲醇浓度/%	C 温度/℃	D 时间/h
1	1:30	80	40	2.5
2	1:40	90	50	3.0
3	1:50	100	60	3.5

表 2

正交实验结果

试验号	因素								银杏酸得率/mg·g ⁻¹	
	A		B		C		D		242 nm	310 nm
1	1		1		1		1		1.914	1.659
2	1		2		2		2		3.798	2.740
3	1		3		3		3		4.866	3.036
4	2		1		2		3		4.110	2.721
5	2		2		3		1		5.946	3.722
6	2		3		1		2		2.058	1.845
7	3		1		3		2		5.808	3.560
8	3		2		1		3		2.106	1.831
9	3		3		2		1		4.026	2.667
K1(242/310nm)	3.526	2.478	3.944	2.647	2.026	1.778	3.962	2.683		
K2(242/310nm)	4.038	2.763	3.950	2.764	3.978	2.709	3.888	2.715		
K3(242/310nm)	3.980	2.686	3.650	2.516	5.540	3.439	3.694	2.529		
R(242/310nm)	0.512	0.285	0.300	0.248	3.514	1.661	0.268	0.186		
主次顺序	C>A>B>D									
优组合	A ₂ B ₂ C ₃ D ₁									

3 结论

温度是影响银杏酸提取效果的最主要因素,并通过 $L_9(3^4)$ 正交实验得出银杏酸的最佳提取工艺条件为料液 1 : 40、甲醇浓度 90%、温度 60℃、时间 2.5 h,银杏酸得率在 310、242 nm 处检测分别为:5.950、3.669 mg/g。目前,银杏产业发展很快,随着银杏产量的提高,银杏产区每年有大量的银杏种皮被作为废物丢弃,污染环境,利用银杏种皮提取银杏酸制备生物农药、化妆品添加剂,可以改善环境,变废为宝,具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 郝立勤. 云南银杏产业的发展前景[J]. 资源开发与市场, 1999, 15(4): 210-212.
- [2] 郑玉芝. 银杏叶提取物及其在保健食品中的应用[J]. 食品工业科技, 1996(2): 47-48.
- [3] 李艳. 银杏叶中槲皮素黄酮苷类抗紫外线作用的研究[J]. 中草药, 1999, 30(9): 671-673.
- [4] 黄桂宽. 银杏叶多糖的化学研究[J]. 中草药, 1997, 28(8): 459-461.
- [5] 仰榴青, 吴向阳, 陈钧, 等. 银杏的分光光度法测定[J]. 分析化学, 2004, 32(5): 661-664.

2004, 32(5): 661-664.

- [6] 潘苏华, 董李娜. 不容忽视的毒性物质-银杏酸[J]. 中国现代药物应用, 2007(12): 107-108.
- [7] Baron-Ruppen G, Luepke N P. Evidence for toxic effects of alkyl phenols from *Ginkgo biloba* in the hen's egg test(HET) [J]. Phytomedicine, 2001, 8(2): 133-138.
- [8] Hecker H, Johannisson R, Koch E, et al. In vitro evaluation of the cytotoxic potential of alkyl phenols from *Ginkgo biloba* L [J]. Toxicology, 2002, 177(23): 167-177.
- [9] Itokawa I, Totsuka N, Nakahara K. Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L. [J]. Chem. Pharon. Bull, 1987, 35(7): 3016.
- [10] Lee J S, Cho Y S, Park E J, et al. Phospholipase C₁ inhibitory principles from the sarcotestas of *Ginkgo biloba* [J]. J Nat Prod, 1998, 61: 867-871.
- [11] 赵成林, 吕建峰. 银杏外种皮中酚酸性成分的抗真菌作用[J]. 江苏药学与临床研究, 2004, 12(1): 32-33.
- [12] 姜晓明, 赵献军. 银杏外种皮提取物对霉菌的抑制作用[J]. 西北农业学报, 2007, 16(6): 30-33.
- [13] 倪学文, 吴谋成. 银杏外种皮中银杏酚酸的提取及应用研究[J]. 湖北中医学院学报, 2001, 3(4): 22-24.

Ginkgolic Acid Extraction from Seed Coat of *Ginkgo biloba* L.

GENG Jing-zhang

(College of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technolog, Hanzhong, Shaanxi 723001)

Abstract: With seed coat of *Ginkgo biloba* as materials, by the $L_9(3^4)$ orthiogonal experiment, the Ginkgolic acid was extracted from *Ginkgo biloba*, the influences of the ratio of solid and liquid, extraction solvent concentration, time and temperature on the extraction effect were investigated. The results showed that the most important factor acid was temperature and the optimum reaction condition was: the ratio of solid and liquid 1 : 40, 90% methanol concentration, time 2.5 h, temperature 60℃. The best extraction content of Ginkgolic acid at 242 nm, 310 nm were 5.946 mg/g and 3.722 mg/g.

Key words: Ginkgolic acid; ultraviolet spectrophotometer; technology; *Ginkgo biloba* L.; seed coat