

提取大蒜有效成分——有机硫化物

陈 彬 王艳辉 马润宇*

(北京化工大学可控化学反应科学与技术基础教育部重点实验室, 北京 100029)

摘 要: 文中研究了用乙醚萃取法提取大蒜中的有机硫化物, 采用了正交实验方法考查了操作条件对提取物得率的影响, 确定了影响产物得率的主要因素为酶解温度、酶解 pH 值、酶解时间、加水量以及离心 pH 值。确定了最佳提取条件为: 酶解温度 25℃, 酶解 pH 值 7.0, 酶解时间 60 min, 加水量 100 mL, 离心 pH 值 3.2。实验还发现二次萃取可以减少产物的流失。

关键词: 大蒜; 大蒜素; 提取; 定硫法

中图分类号: TQ125.12

大蒜植株 (*Allium Sativum* L.) 是百合科葱属植物, 它的鳞茎就是大蒜^[1]。近年来的医学研究表明^[2], 大蒜不仅具有广谱的抗菌作用, 而且对心血管疾病、抗动脉粥样硬化、抗血栓、提高和维持机体免疫能力等都具有一定作用。因此, 近十几年来, 与大蒜相关的研究逐渐热了起来。

大蒜挥发油含大蒜素 (Allicin)、多种硫醚化合物以及一些醛醇烯等化合物, 具有辣味和臭味, 是大蒜的主要活性成分^[3], 其主要的活性物质就是有机硫化物。新鲜大蒜中含硫化合物约占总质量的 0.2%, 都以蒜氨酸 (Alliin) (大蒜素的前体物质) 形式存在, 它由质量分数 85% S-烯丙基蒜氨酸、2% 丙基蒜氨酸和 13% S-甲基蒜氨酸组成。在鳞茎组织受损时, 分解成大蒜素^[3-4]。大蒜素暴露在空气中、日光下或在热的作用下, 很快降解成活性小的二烯丙基三硫化物、二烯丙基二硫化物、甲基烯丙基二硫化物等有机硫化物^[5]。

大蒜素易溶于乙醚、乙醇、乙酸乙酯等有机溶剂, 本文采用乙醚作为大蒜中有机硫化物的萃取溶剂, 考查了大蒜含硫化合物得率与酶解温度、酶解 pH 值、酶解时间、加水量、离心 pH 值的关系。

1 实验部分

1.1 实验原料、试剂、仪器及设备

(1) 实验原料 大蒜 (市售, 产地山东)。

(2) 试剂 无水乙醚、36%~38% 浓盐酸、浓硝酸、氢氧化钠以及硫酸亚铁, 均为分析纯; 甲基橙指示剂, 定量滤纸和精密 pH 试纸 (pH 值 2.5~4.0; 4.0~6.4; 5.5~8.5 三种)。

(3) 仪器及设备 多功能榨汁机、分析天平、离心机、干燥箱、电热恒温水浴锅、循环水式多用真空泵。

1.2 提取方法

提取工艺路线如图 1 所示。

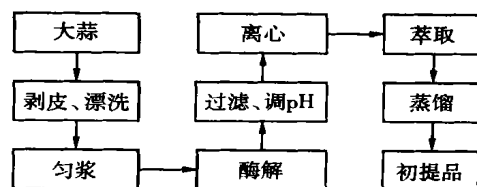


图 1 提取工艺路线示意图

Fig. 1 Schematic of procedures for extraction of allicin

在实际操作中, 每次均取 50 g 剥皮大蒜为试样, 考虑到大蒜一经破碎, 有效成分也随之产生和降解, 因此尽量减少非酶解过程和萃取过程的操作时间。

1.3 分析方法

采用了定硫法检测提取物中总硫的含量, 从而折合算出提取物中大蒜素 (有效成分) 的大致含量。

定硫法^[6]。将新鲜的大蒜剥皮并捣成糊状物, 准确称取 5 g (精确至 0.0001 g), 加浓硝酸 3~4 mL, 用玻璃棒搅拌至黄色, 放置 20 min, 过滤并洗入 100 mL 容量瓶中, 定容至刻度。吸取滤液 80 mL, 放入 150 mL 烧杯中, 加 0.1% 甲基橙指示剂 5 滴, 滴加

收稿日期: 2003-09-20

第一作者: 男, 1977 年生, 硕士生

*通讯联系人

E-mail: r. ma@mail.buct.edu.cn

10 %氢氧化钠溶液并摇晃至黄色,用去离子水与浓盐酸混合体积比为 1 1 的盐酸调节 pH 至 2~3。在电炉上加热微沸,趁热加入 10 mL 15 %氯化钡溶液,搅拌均匀,在 90 ℃ 水浴上保温 2 h,用定量(无灰)滤纸过滤,用热去离子水洗至无氯离子(滤液加硝酸银溶液不混浊为止),将沉淀同滤纸放入预先恒质量的瓷坩锅中,低温炭化,再放入马福炉中 600 ℃ 灼烧至恒质量,取出冷却后称质量。

按下式计算大蒜素的质量分数

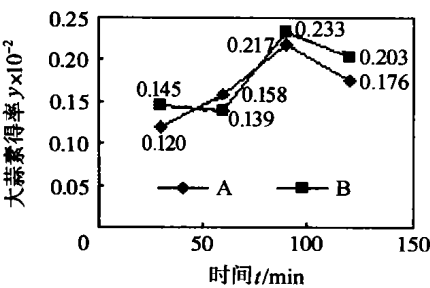
$$w = \frac{\frac{32.06}{233.39} \times \frac{162.26}{32.06} m}{\frac{m_0}{v_0} v}$$

式中:32.06 为硫相对分子质量;233.39 为硫酸钡相对分子质量; m 为硫酸钡质量;162.26 为大蒜素相对分子质量; m_0 为样品质量; v_0 为提取液总体积(mL); v 为测定提取液体积(mL)。

2 实验结果与讨论

2.1 酶解时间对大蒜素提取得率影响的初步考查

由于随着酶解时间的增长,大蒜中大蒜素逐渐被降解成难溶于乙醚相的物质,因此酶解时间不能太长。于是,在大蒜和水的质量比为 1 2,FeSO₄ 溶液浓度为 0.5 mol/L,酶解水浴温度为 30 ℃,离心 pH 值为 3.0 的情况下,考查了酶解时间对有机硫化物得率的影响。结果如图 2。



在考查的每个时间段上 B 为 A 的对照组

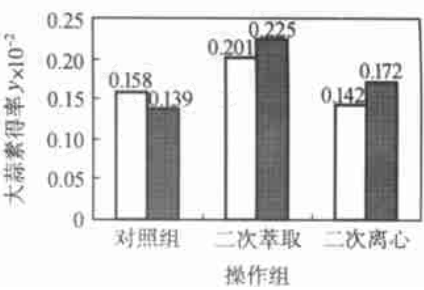
图 2 酶解时间对有机硫化物得率的影响

Fig. 2 Effect of time of enzyme hydrolysis on yield of organic sulfide

从图 2 可以看到,最佳得率对应的酶解时间应该为 90 min。由于对照组 B 在离心后,从萃取到蒸馏得到初提品都要比 A 组操作滞后,虽然萃取操作前 B 放在冰箱里冷冻,但结果显示得率普遍要比不经冷冻的 A 要高一些,这可能是冷冻后离心过的滤液在萃取中更加不容易乳化或形成胶体的缘故。

2.2 不同操作条件的影响

考虑到酶解结束过滤后,滤液中杂质(蛋白、多糖类物质)的聚沉 pH 值不同,而杂质又有影响萃取操作,使的萃取时乳化很厉害,不易分层;甚至于目标产物(大蒜素)被胶体相吸附,不能转移到乙醚相中来,从而造成产物的损失;又相应做了二次萃取、二次离心的操作,并且都做了平行组 B,还有不实施这两项操作的对照组,结果见图 3。



二次离心(先调节至 pH 值为 4.0,离心,再调节至 pH 值为 3.0,第二次离心)

图 3 操作条件对有机硫化物得率的影响

Fig. 3 Effect of operation on yield of organic sulfide

从实验结果可以看出,实施二次萃取和二次离心,其效果都要比不实施操作的对照组好,显然实施二次操作在不同层次上消除了乳化(或胶体化)对萃取的影响。从图 3 中还可以明显看出二次萃取操作要比二次离心操作要好得多,其原因是二次离心会吸附带走较多的产物,而二次萃取则反过来可以从萃取中的乳化层取回部分被吸附掉的产物。

2.3 初步正交实验,确定影响提取产物得率的主要因素

2.3.1 初步正交实验及数据处理 实验考察了单因素和操作条件的影响实验后,进行了 7 因素 4 水平的两组正交实验,借以初步确定影响提取得率的主要因素。水平及因素见表 1。硫的质量分数为提取样中硫的质量与提取样质量之比值;提取样中大

表 1 两 7 因素 2 水平的正交条件

Table 1 Orthogonal experiment of 7 factors and 2 levels							
水平	温度/ (A)	酶解 时间/ min(B)	加水 量/mL (C)	离心 pH 值 (D)	FeSO ₄ / mL(E)	乙醚与 水体积 比(F)	萃取时 间/min (G)
正交一	1	25	30	50	2.5	0	2/1
	2	30	60	100	3.0	5	3/2
正交二	3	35	90	150	3.5	10	1/1
	4	40	120	200	4.0	15	1/2

蒜素纯度为提取样中大蒜素质量与提取样质量之比值;大蒜素质量分数为提取样品中大蒜素质量与提取前大蒜质量之比;出油质量分数为提取样品的质量与提取前大蒜质量之比。

正交实验数据的处理及分析见表 2 和表 3。

表 2 正交(一)实验数据

Table 2 Data of orthogonal experiment (one)

	提取样 质量/g	硫的质量 分数/%	提取样中 大蒜素 纯度/%	大蒜素 质量分数/ %	出油质量 分数/%
1	0.153 0	15.72	39.86	0.122	0.306
2	0.153 6	17.73	44.96	0.138	0.307
3	0.185 8	24.43	61.93	0.230	0.372
4	0.226 4	20.30	51.46	0.233	0.452
5	0.163 3	21.56	54.65	0.178	0.327
6	0.160 8	22.49	57.02	0.183	0.322
7	0.114 2	18.31	46.42	0.106	0.228
8	0.133 0	23.45	59.46	0.158	0.266

通过对正交(一)实验数据的处理,发现只有因素 C,也即酶解加水量对产物的得率影响显著,而其他因素影响不显著。

表 3 正交(二)实验数据

Table 3 Data of orthogonal experiment (two)

	提取样 质量/g	硫的质量 分数/%	提取样中 大蒜素 纯度/%	大蒜素 质量分数/%	出油质量 分数/%
1	0.152 9	16.07	40.75	0.125	0.306
2	0.148 0	22.70	57.54	0.170	0.296
3	0.090 4	23.47	59.51	0.108	0.181
4	0.275 1	13.49	34.21	0.188	0.550
5	0.179 0	6.09	15.44	0.055	0.358
6	0.122 7	8.97	22.74	0.056	0.245
7	0.235 7	10.00	25.37	0.120	0.471
8	0.241 0	13.82	35.03	0.169	0.482

通过对正交(二)实验数据的处理,发现因素 A, B, C, D, 对产物得率均较影响显著,而 E, F, G 等三个因素对产物得率影响不显著。

2.3.2 小结 从初步正交实验中,可以确定对提取产物得率影响显著的因素有四:即酶解温度、酶解时间、酶解加水量和离心 pH 值。其中以酶解加水量影响最为显著。这是因为在加水量太小的情况下,产物不能大量进入汁液中,蒜渣中残留有很多产物。

2.4 最佳条件的确定

2.4.1 确定最佳提取条件的正交实验及数据处理

在初步确定影响产物提取得率的四个主要因素后,考虑到酶解 pH 值对产物的生成有很大影响,因此,设计了包括酶解温度、酶解时间、加水量、酶解 pH 值及离心 pH 值五因素的四水平的正交实验见表 4,以此确定提取大蒜有机硫化物的最佳条件。

表 4 5 因素 4 水平正交条件

Table 4 Orthogonal experiment of 5 factors and 4 levels

水平	酶解温度/ (A)	酶解时间/ h(B)	加水量/ mL(C)	离心 pH 值 (D)	酶解 pH 值 (H)
1	25	40	50	2.8	5.5
2	30	60	100	3.2	6.0
3	35	80	150	3.6	6.5
4	40	100	200	4.0	7.0

五因素四水平正交实验数据请见表 5。

表 5 5 因素 4 水平正交实验数据

Table 5 Data of orthogonal experiment of
5 factors and 4 levels

	提取样 质量/g	硫的质量 分数/%	提取样中 大蒜素 纯度/%	大蒜素质 量分数/%	出油质量 分数/%
1	0.095 7	11.21	28.42	0.054	0.191
2	0.154 5	26.02	65.98	0.204	0.309
3	0.175 4	17.68	44.84	0.157	0.351
4	0.140 8	22.98	58.26	0.164	0.282
5	0.150 6	20.32	51.53	0.155	0.301
6	0.077 6	28.80	73.02	0.113	0.155
7	0.245 9	9.90	25.09	0.123	0.492
8	0.173 9	16.16	40.95	0.142	0.348
9	0.176 3	16.39	41.55	0.146	0.353
10	0.175 2	13.77	34.92	0.122	0.350
11	0.040 0	8.78	22.27	0.018	0.080
12	0.181 5	13.27	33.64	0.122	0.363
13	0.169 8	15.74	39.92	0.115	0.340
14	0.167 8	17.09	43.32	0.145	0.336
15	0.132 2	22.43	56.86	0.150	0.264
16	0.089 4	14.78	37.47	0.067	0.179

通过对表 5 的正交实验数据的处理,发现,最佳条件为 $A_1B_2C_2D_2H_4$,即控制提取条件为:酶解温度 25 ;酶解时间 60 min;加水量 100 mL;酶解 pH 值

7.0;离心pH值3.2。在这条件下,应有最高的产物得率。

2.4.2 小结 (1)对于酶解温度,随着提取温度的升高而产物得率一直在下降,因此可以推论,实验中酶解的最佳温度应该比25℃还要低;(2)对于酶解时间,产物得率随着酶解时间的增长先升高,当时间超过60 min时,开始下降,因此,最佳的酶解时间应该在60 min附近;(3)对于加水量和离心pH值,与酶解时间的变化趋势相似,都可得到分别为100 mL和pH值3.2的最佳条件;(4)至于酶解pH值,也出现了与酶解时间情况相似的结果,这说明了,酶解pH值的考查范围选择得不够合理,应该作酶解pH值的单因素实验,确定最佳酶解pH值的范围。

3 结 论

由于大蒜素的不稳定性,先考查时间单因素对产物得率的影响,发现其最佳酶解时间在90 min附近(有FeSO₄溶液的加入),还发现实施二次萃取操作可以减少产物的流失;而后做了初步的正交实验,

排除了FeSO₄溶液加入、萃取乙醚的用量以及萃取时间对提取产物得率的显著影响;最后做了确定提取最佳条件的正交实验,确定了在实验选取考查范围内水平的最佳提取条件即为A₁B₂C₂D₂H₄,其中酶解pH值的最佳选取还需进一步确定。

参 考 文 献

- [1] 贺志宇,李卫民,高英,等.用正交设计法考查大蒜出油率[J].中国民族医药杂志,1995,1(2):38-39,47
- [2] 叶景华.大蒜药用研究现状[J].山东中医学院学报,1996,20(5):350-352
- [3] 陈能煜,伍睿,陈丽,等.大蒜研究进展[J].天然产物研究与开发,2000,12(2):67-74
- [4] 张学俊,史鉴立,曾荣妹,等.大蒜素产生机理的探讨[J].中国调味品,1996(1):2-3,26
- [5] 陆茂松,闵吉梅,王夔.大蒜有机硫化物的研究(一)[J].中草药,2002,33(12):1059-1061
- [6] 马往校,段敏,孙新涛,等.定硫法测定大蒜中大蒜素含量及影响因素[J].天然产物研究与开发,2002,14(6):22-23

Extraction of effective component of organic sulfide from garlic

Chen Bin Wang Yan-hui Ma Run-yu

(The Key Laboratory of Science and Technology of Controllable Chemical Reactions, Ministry of Education, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: The investigation of organic sulfide extracted from garlic with ether was carried through. The effect of the operation conditions on yield of production was examined with orthogonal experiments, and the main factors affecting the yield of production were confirmed: the temperature of enzymatic hydrolysis, pH value of enzymatic hydrolysis, time of enzymatic hydrolysis, volume of water inpouring, and the pH value during centrifugal. The optimal condition of extraction was made certain: the temperature of enzymatic hydrolysis, 25℃; pH value of enzymatic hydrolysis, 7.0; time of enzymatic hydrolysis, 60 min; volume of water inpouring, 100 mL; and the pH value during centrifugal 3.2. In addition, twice extraction with ether will decrease the loss of the product.

Key words: garlic; allicin; extraction; fix sulfur

(责任编辑 云志学)