

芦荟活性多糖保护性分离技术研究*

叶舟 陈伟 林文雄**

(福建农林大学生命科学学院 福州 350002)

摘要 应用自行研制的ACA(Alginate-Chitosan-Alginate)微胶囊技术体系,考察了芦荟液ACA微胶囊成囊过程及微胶囊24h平衡透析过程中芦荟多糖、芦荟蒽醌类化合物渗透分离情况。结果表明,芦荟液微胶囊化过程及微胶囊24h平衡透析后芦荟多糖总渗出率为27.7%,渗出多糖分子量<7600;芦荟蒽醌总渗出率为98.3%。在有利于保持活性的条件下,较好地实现了芦荟多糖和芦荟蒽醌两类不同功效成分的分。

关键词 芦荟多糖 芦荟蒽醌 ACA微胶囊 分离技术 综合评价

Study on protected separation technique of active polysaccharides from aloe (*Aloe babadensis* Mille). YE Zhou, CHEN Wei, LIN Wen-Xiong (College of Life Sciences, Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou 350002, China), *CJEA*, 2006, 14(3): 129~131

Abstract Self-designed technique of ACA(Alginate-Chitosan-Alginate) microencapsulation was used in the research. The exudation and separation of aloe polysaccharides and anthraquinones were studied in the process of ACA microcapsule formation and 24h equilibrium dialysis. The results show that in the process of ACA microcapsule formation and after 24h equilibrium dialysis, the total exudative rate of aloe polysaccharide is 27.7%, and the molecular weight of aloe polysaccharides exuded is lower than 7600; while the total exudative rate of aloe anthraquinones is 98.3%. Aloe polysaccharides and aloe anthraquinones can be separated in higher quality under that the activity of the components is well preserved.

Key words Aloe polysaccharides, Aloe anthraquinones, ACA microcapsule, Separation technique, Comprehensive evaluation

(Received Nov. 9, 2004; revised Dec. 15, 2004)

芦荟是百合科多年生多肉类植物,叶片厚实多肉、富含多种活性物质,具有医疗、保健、美容等多种功效,作为民间用药已有4000多年的历史。芦荟产品不同功效和应用价值,很大程度上取决于其中某些特定组分的活性和含量。芦荟多糖等活性成分的不稳定性,使其在加工过程中极易失活,严重影响芦荟产品的功效和使用价值。随着现代科学技术的发展,对芦荟有效成分的解析、精制及性能评价逐步精细化,并成为当今芦荟应用研究的主导内容,其中芦荟多糖类成分的研究更引起了人们的关注。我国的芦荟产业于20世纪80年代末开始起步,近年来在福建、海南、广东、云南等省得到较快发展。但芦荟功能产品开发技术含量较低,落后的技术工艺可能造成活性成分的破坏,严重影响了芦荟产品的功效和应用经济效益。开发生产新型芦荟多糖系列食品,实现对芦荟多糖、芦荟蒽醌等活性物质的保护性分离和高效利用,已成为推动我国芦荟产业发展的关键性问题。本研究从合理、有效地分离和利用芦荟多糖、芦荟蒽醌两类具不同功效的活性成分考虑,以广泛应用于医药、食品、化妆品、植物保护等领域的微胶囊技术^[1-3,6]为基础,利用微胶囊半透膜性质对芦荟多糖的提取分离过程进行研究,以期对芦荟多糖类产品的开发利用提供技术支持。

1 试验材料与方法

试验所选库拉索芦荟(*Aloe babadensis* Mille)鲜叶(3年生)由福建莆田智舟高新技术公司提供。将库拉索芦荟鲜叶洗净,打浆、混匀、过滤获得滤液——芦荟液。采用苯酚-硫酸法^[4]以葡萄糖为标准建立标准曲线,测定芦荟液中芦荟多糖含量。采用混合碱比色法^[5],以1,8-二羟基蒽醌为标准建立标准曲线,测定芦荟液中蒽醌类化合物含量。精确称取60g芦荟液3份,分别加适量蒸馏水,搅拌,50℃下保温1h后,经低温离心分离,将所得分离液减压浓缩至适宜浓度,之后加95%的乙醇沉淀多糖;将所得沉淀多糖以蒸馏水复溶

* 福建省科技重大专项(2004YZ02)和福建省教育厅项目(JA00175)资助

** 通讯作者

收稿日期:2004-11-09 改回日期:2004-12-15

后,再加 95% 的乙醇进行沉淀,反复 3 次,最后将所得沉淀多糖以蒸馏水溶解定容,测定芦荟液多糖含量,结果取 3 份样液测定平均值。收集上述离心分离所得的固形物,合并后用乙醇浸提,过滤得乙醇提取液,与 95% 乙醇沉淀多糖时所分离的乙醇液合并,浓缩定容,测定蒽醌类化合物含量,结果取 3 份样液测定平均值。

配制系列标准葡聚糖及蓝色葡聚糖样液,分别上 SephadexG-100 柱(0.85cm×22.8cm),以 0.02mol/L 氯化钠溶液洗脱,流速为 1mL/6min,计滴分部收集,13 滴(约 0.736mL)收集 1 管,苯酚-硫酸法检测。由洗脱曲线经计算得各标准葡聚糖相应洗脱体积,依洗脱体积与分子量的对数值关系得标准曲线。同法制得沉淀多糖,经除蛋白纯化后上柱,在相同条件下洗脱,由洗脱曲线计算可得芦荟液样品相应峰的洗脱体积,再根据标准曲线求得芦荟液样品中多糖的分子量分布。

精确称取 60g 芦荟液,按 1:6 比例和海藻酸钠溶液混合均匀,通过锐孔成囊装置滴入适宜浓度的氯化钙溶液中;将形成的凝胶珠取出,以少量生理盐水洗涤后移置适宜浓度的壳聚糖溶液中,使之发生聚电解质络合反应;取出凝胶珠,以少量生理盐水洗涤,移置适宜浓度的海藻酸钠溶液中,使之形成复膜后,以生理盐水洗涤,0.055mol/L 柠檬酸钠溶液处理,制得芦荟液 ACA 微胶囊。收集固化液,浓缩至适宜浓度后,加 95% 的乙醇沉淀芦荟多糖,将所得沉淀多糖以蒸馏水溶解定容,采用苯酚-硫酸法测定芦荟成囊固化液中的多糖含量,并经计算得微胶囊化过程多糖渗出率。重复芦荟液成囊试验,以同样的收集、浓缩处理过程,采用混合碱比色法测定芦荟成囊固化液中蒽醌类化合物含量,并经计算得微胶囊化过程蒽醌类化合物渗出率。

将制得的芦荟液 ACA 微胶囊浸泡于蒸馏水中,24h 后分离收集浸出液,浓缩并定容后分别用苯酚-硫酸法、混合碱比色法测定微胶囊 24h 平衡透析过程多糖、蒽醌类化合物渗出率。收集制备芦荟液 ACA 微胶囊的固化液,并将其与芦荟液 ACA 微胶囊 24h 平衡透析液合并,浓缩后加 95% 的乙醇沉淀芦荟多糖;将所得沉淀多糖以蒸馏水复溶后,经除蛋白纯化上柱,在所述相同条件下洗脱,由洗脱曲线可了解芦荟液 ACA 微胶囊在成囊过程以及 24h 平衡透析中渗出多糖的分子量分布情况;结合对芦荟液 ACA 微胶囊在成囊过程以及 24h 平衡透析中多糖、蒽醌类化合物渗出率评价微胶囊化分离芦荟多糖、蒽醌类化合物的综合性能。

2 结果与分析

2.1 芦荟成囊液的微胶囊化

通过优化成囊工艺并严格控制条件,制得粒径介于 1.5~2mm 间芦荟液 ACA 微胶囊。制备过程微胶囊间有良好的分散性,所得微胶囊球形好,机械强度、稳定性符合分离芦荟多糖、芦荟蒽醌的使用要求,该工艺的研制为最终实现芦荟多糖、芦荟蒽醌类化合物的有效分离提供了必要的技术支持。

2.2 微胶囊化不同过程多糖、蒽醌类化合物渗出率比较

以葡萄糖为标准,并以其浓度(C)与吸光度(A)作图得芦荟多糖含量测定的标准曲线。根据糖浓度(C)与吸光度(A)的关系得回归方程:

$$C = 0.0149A - 0.0176 \quad (r = 0.999^{**}) \quad (1)$$

取 3 次测定结果平均,测得 60g 芦荟液样品中有多糖 0.450g,芦荟液多糖含量为 0.75% (W/W)。以 1,8-二羟基蒽醌为标准,并以其浓度(C)与吸光度(A)作图得芦荟蒽醌类化合物含量测定的标准曲线。根据蒽醌浓度(C)与吸光度(A)的关系得回归方程:

$$C = 26.46A - 1.130 \quad (r = 0.999^{**}) \quad (2)$$

表 1 微胶囊化不同过程多糖、蒽醌类化合物渗出率比较

Tab.1 Comparison of exudative rate of polysaccharide and anthraquinones in the different processes of microcapsule formation

成分 Composition	成分总量/g Total weight of composition			微囊化过程渗出率/% Exudative rate in microcapsule formation process	平衡透析过程渗出率/% Exudative rate in equilibrium dialysis process	总渗出率/% Total exudative rate
	芦荟液 Aloe juice	固化液 Solidifying solution	透析液 Dialysis solution			
	多 糖	0.4500	0.0480	0.0765	10.7	17
蒽醌类化合物	0.3420	0.3020	0.0342	88.3	10	98.3

取 3 次测定结果平均,测得 60g 芦荟液样品中有蒽醌类化合物 0.3420g,芦荟液蒽醌类化合物含量为 0.57%。芦荟液 ACA 微胶囊制备过程的固化液有多糖 0.0480g,蒽醌类化合物 0.3020g,成囊过程多糖渗出率为 10.7%,蒽醌类化合物渗出率为 88.3%。该测定结果表明,芦荟液经微囊化处理较好地实现了多糖与蒽醌类化合物的分离。对芦荟液 ACA 微胶囊 24h 平衡透析液的分析结果表明,平衡透析液有多糖

0.0765g, 蒽醌类化合物 0.0342g, 芦荟液 ACA 微胶囊 24h 平衡透析过程多糖渗出率为 17%, 蒽醌类化合物渗出率为 10%。该测定结果表明, 在一些特定应用领域, 可通过微胶囊平衡透析处理, 进一步分离蒽醌类化合物。微胶囊化不同过程多糖、蒽醌类化合物渗出率比较见表 1。

2.3 芦荟液微囊化分离过程多糖分子量分布测定及分离性能评价

经试验得芦荟液微囊化分离过程多糖分子量分布标准曲线见图 1, 芦荟液 Sephadex G-100 洗脱曲线见图 2。芦荟液洗脱曲线中出现一对称的洗脱峰, 分析认为这是芦荟液中所含的主要多糖, 其洗脱体积约为 7 管, 从多糖分子量分布标准曲线可得该主要多糖的分子量约为 11 万。此外, 芦荟液中还存在着相对含量较少的多种不同分子量多糖。芦荟液 ACA 微胶囊在成囊以及 24h 平衡透析过程中渗出多糖的分子量分布测定试验结果(图 3)显示, 在相同条件下, 收集至第 14 管时洗脱液方出现糖分, 对照标准曲线可知, 芦荟液 ACA 微胶囊在成囊以及 24h 平衡透析过程中渗出多糖的分子量 < 7600。结合芦荟液 ACA 微胶囊成囊和 24h 平衡透析过程多糖、蒽醌类化合物渗出率的分析结果, 可认为本次试验条件下, 利用 ACA 微胶囊技术, 较好地实现了芦荟液中多糖和蒽醌类化合物的有效分离。

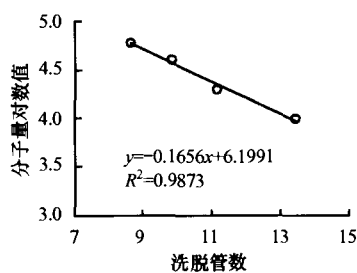


图 1 多糖分子量分布标准曲线

Fig.1 Standard curve of polysaccharides molecular weight

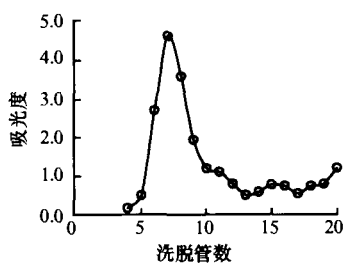


图 2 芦荟液 Sephadex G-100 洗脱曲线

Fig.2 Eluting curve of aloe extract by Sephadex G-100

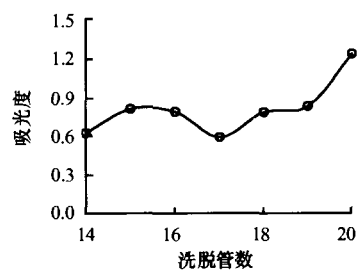


图 3 渗出多糖 Sephadex G-100 洗脱曲线

Fig.3 Eluting curve of exudative polysaccharide by Sephadex G-100

3 小结与讨论

芦荟产品不同药用功效很大程度上取决于其中某些特定组分的活性和含量。当其目标功效为调节机体免疫功能、抗突变、抗肿瘤时, 活性成分主要为大分子的多糖和糖蛋白。为提高功效, 减低副作用的影响, 同时也为了更完整地利用芦荟各不同功效成分, 需将大分子的多糖与芦荟蒽醌类化合物分离利用。

试验建立的 ACA 微胶囊技术体系可应用于芦荟液芦荟多糖和芦荟蒽醌类成分的分离, 制备的芦荟液 ACA 微胶囊表面光滑、球性好、尺寸分布均匀, 能适应多种不同系列产品开发的要求。成囊过程中芦荟多糖渗出率为 10.7%, 该条件下芦荟蒽醌类成分渗出率已达 88.3%, 实际应用时可根据不同产品要求, 决定是否对芦荟液 ACA 微胶囊作进一步透析处理, 使生产工艺更合理、高效。

本研究将微胶囊技术应用于分子大小有显著差异的芦荟多糖和芦荟蒽醌类成分的分离, 所使用的分离技术分离过程简便, 有利于多糖等成分活性的保持; 试验使用海藻酸钠、壳聚糖为主要成囊材料, 对多糖类系列产品的开发无不利影响, 并在一些应用领域具有特定增效作用; 其主要优点是分离过程可有效避免高温、有机试剂、酸碱、微生物等因素对保持多糖、蒽醌类化合物活性的影响。该技术体系的开发应用有利于芦荟多种功效成分分离组合利用的实施, 尤其是在芦荟功能食品开发领域, 能根据不同要求, 方便的组合利用芦荟多种功效成分, 提高保健功效、降低副作用, 形成高技术含量系列产品, 满足不同人群的不同要求。

参 考 文 献

- 1 何东保, 石毅, 梁红波等. 壳聚糖-海藻酸钠协同相互作用及其凝胶化的研究. 武汉大学学报(理学版), 2002, 48(2): 193~196
- 2 刘群, 薛伟明, 于炜婷等. 海藻酸钠-壳聚糖微胶囊膜强度的研究. 高等学校化学学报, 2002, 23(7): 1417~1420
- 3 孙多先, 陈益清, 吕景辉等. 海藻酸-壳聚糖-海藻酸离子取代凝胶离子的取代性能. 分析化学, 2003, 31(6): 739~741
- 4 高丽娟. 芦荟多糖的含量测定. 化学世界, 2003, 44(1): 19~20
- 5 郭胜伟, 蔡宝昌. 分光光度法-比色法对芦荟乙醇提取液脱苦前后总蒽醌含量比较的研究. 南京中医药大学学报(自然科学版), 2000, 16(4): 221~222
- 6 Nixon J. P. Preparation of microcapsule with possible pharmaceutical use. Endeavour, 1985, 9(3): 123~128