

超声场作用下姜黄素的降解研究

袁英髦, 曹雁平

(北京工商大学食品学院, 食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 北京 100048)

摘 要:以姜黄素、阿魏酸、香兰素为研究对象,研究了单频超声、双频复合超声和双频交变超声对姜黄素的降解、阿魏酸和香兰素的生成的影响。通过均匀设计实验,以阿魏酸为目标产物优化设计时,超声频率50kHz下,超声功率100W,温度65℃,乙醇浓度30%,pH11时,阿魏酸浓度为0.81mg/L,产量最多。超声频率50/135kHz复频交变条件下,超声功率20W,温度80℃,乙醇浓度70%,pH11时,香兰素浓度为2.93mg/L,产量最多。实验表明,在高温碱性的超声环境下,姜黄素会降解生成阿魏酸和香兰素。可以通过改变条件,促使姜黄素降解,从而为阿魏酸和香兰素的制备提供另一种途径。

关键词:姜黄素, 超声降解, 阿魏酸, 香兰素, 均匀设计

Study on the degradation of curcumin under the ultrasonic field

YUAN Ying-mao, CAO Yan-ping

(School of Food and Chemical Engineering, Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: This article with curcumin, ferulic acid, vanillin as the research object, to research the influence of single-frequency ultrasound, double-frequency compound ultrasonic and double-frequency alternating ultrasound to curcumin degradation and the other two materials generation. By using homogenous design experiments, ferulic acid as the goal to optimize the design of the product, under the ultrasonic frequency 50kHz, ultrasonic power 100W, 65℃, 30% ethanol, pH11, ferulic acid concentration was 0.81mg/L, the most productive was got. 50/135kHz-frequency ultrasonic frequency alternating conditions, ultrasonic power 20W, temperature 80℃, ethanol concentration 70%, pH11, vanillin concentration was 2.93mg/L, the most productive was got. Results indicated that, ultrasonic in high temperature alkaline environment, curcumin would degraded into ferulic acid and vanillin. By changing these conditions to promote the degradation of curcumin, thus provided another way to preparation of ferulic acid and vanillin.

Key words: curcumin; ultrasonic degradation; ferulic acid; vanillin; homogeneous design

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2013)16-0287-04

姜黄为多年生草本, 隶属被子植物门、单子叶植物纲、姜科, 是姜黄属植物中的一个品种^[1]。其性温, 味辛、苦, 入脾、肝经, 具有行气破瘀、通经止痛之功效^[2]。姜黄的主要化学成分为挥发油和姜黄素。姜黄素是从姜科姜黄属植物姜黄、莪术、郁金等的根茎中提取的一种天然有效成分^[3]。姜黄素易溶于甲醇、乙醇、碱和冰醋酸, 微溶于水、苯和乙醚等^[4]。在酸性和中性溶液中显黄色, 在pH大于9.0的碱性溶液中显红色^[5]。已有人将姜黄用于AIDS患者及HIV感染者的治疗^[6]。姜黄色素还是一种优良的着色剂, 其染色力大于其他天然色素和合成柠檬黄等, 尤其是对蛋白质等有很强的染色能力^[7]。它具有抗氧化性^[8-10]、抗病原虫^[11]、抗菌^[12]等多种活性作用。近几十年的研究表明姜黄素类物质在预防、治疗和抑制多种肿瘤细胞

的转移方面有着明显的作用^[13-15]。同时, 在对AIDS治疗中也显示了较好的疗效^[16]。

姜黄素在乙醇中、碱性环境下、金属离子环境下和光照条件下易发生降解。韩刚等^[17]研究发现, 姜黄素的降解最终产物为阿魏酸和阿魏酰甲烷。冯生光等^[18]研究发现, 姜黄素的日光照射降解产物为香草醛、香草酸、2-羟基-香荚兰乙酮、原儿茶醛、乙酰阿魏酮、反式阿魏酸、顺式阿魏酸; 从姜黄素的碱溶液降解产物中分得3个化合物, 分别鉴定为香草醛、香草酸、反式阿魏酸。崔晶等^[19]研究发现, 姜黄素在中性介质中不稳定, 会产生香草醛、阿魏酸和阿魏酰甲烷。超声波是一种机械波, 通过能量-载体-介质来进行传播^[20]。它借助强烈的空化作用来破坏植物细胞的细胞壁, 加速细胞内容物脱离植物基体进入溶剂的过程^[21]。超声产生的机械振荡作用还可加快两相间的传质过程, 提高传质速率, 增大提取效率^[22]。超声助提的另一优点是低温提取, 对于某些热不稳定的化合物尤为有效^[23]。本文研究了单频超声、双频复合超声和双频交变超声对姜黄素的降解、阿魏酸和

收稿日期: 2013-04-15

作者简介: 袁英髦(1985-), 男, 硕士, 实验师, 主要从事植物有效成分超声提取的教学与研究方面的工作。

基金项目: 国家“十二五科技支撑重点项目”(2011BAD23B03)。

香兰素的生成的影响,为研究姜黄素提取和阿魏酸与香兰素制备的学者提供参考和依据,完善超声系统知识和技术。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

姜黄素标准品 纯度为98%以上,上海友思生物技术有限公司;阿魏酸标准品 纯度为99%以上,汇海科仪有限公司;香兰素标准品 纯度为99%以上,汇海科仪有限公司;乙醇(95%) 北京化工厂;冰乙酸(色谱纯)、乙腈(色谱纯) Fisher。

W2996型高效液相色谱仪、W2695二极管阵列检测器 美国Waters公司;ALC-1100.2型电子天平、TB-214型分析天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司;PHS-3D型pH计 上海三信仪表厂;UV-2450紫外可见分光光度计 日本岛津公司;HH-2型数字电子恒温水浴锅 金坛市至翔科教仪器厂;JXD-02型超声浸取装置 北京金星超声波设备技术有限公司;SHB-ⅢA型循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;DCW-3506型低温恒温槽 宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验溶液的配制 准确称取姜黄素标准品1.80g,用浓度为70%的乙醇溶液定容至500mL,配制出1mmol/L姜黄素溶液A避光备用。用95%的乙醇溶液分别配制10%、30%、50%、70%、90%的乙醇溶液备用。将1mol/L的NaOH溶液稀释10倍,1mol/L稀HCl溶液稀释100倍备用。取50mL A溶液置于500mL容量瓶中,用该组指定浓度乙醇定容至B溶液。用胶头滴管向B溶液中逐滴加入配好的NaOH或稀HCl溶液,调至该组指定pH,配成C溶液。

1.2.2 超声过程的控制 于带盖不锈钢杯中加入400mL的C溶液,悬挂于超声槽中超声处理,超声容器在实验过程中与槽壁槽底不接触,超声水位和对照组水浴水位应与容器内实验溶液水位相当,依照设计条件选择超声频率分别为28、40、50、135、28+40复合、50+135复合、28/40交变、50/135交变kHz,功率分别为20、60、100、140、180W,温度分别为20、35、50、65、80℃,双频复合超声功率分别减半,双频交变超声每5min变频一次。另于带盖三角瓶中加入100mL的C溶液,置于恒温水浴锅中作对照实验,对照组与超声组时间同步且水浴温度总与超声组循环水浴温度相同。

1.2.3 样品的保存 实验开始时取3mL样品置于离心管中作为零点初始样品,每隔10min分别取超声溶液和对照溶液各3mL置于离心管中,标记并采取低温避光处理,平行实验三组以保证实验数据准确性,每组实验60min,最后将超声处理后的姜黄素溶液用高效液相色谱检测其姜黄素、阿魏酸和香兰素的含量。

1.2.4 样品检测 选定310nm为检测波长,液相条件具体选为:色谱柱为Sunfire C₁₈柱(5μm, 150mm×4.6mm);流速1.0mL/min;柱温25℃;流动相为4%冰乙酸-乙腈;洗脱方式为梯度洗脱;进样量:5μL;检测

器为二极管阵列检测器;检测波长310nm。混合标品高效液相色谱图见图1。

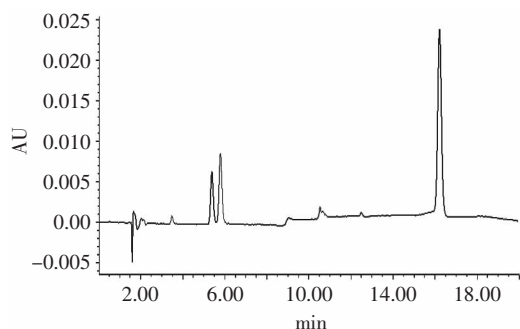


图1 高效液相色谱图

Fig.1 The spectrogram of HPLC

分别配制6、18、30、42、54mg/L姜黄素溶液,2、6、10、14、18mg/L阿魏酸溶液,2、6、10、14、18mg/L香兰素溶液,用高效液相色谱进行检测,紫外检测波长310nm,读取其峰面积。分别以姜黄素、阿魏酸、香兰素浓度为横坐标,峰面积值为纵坐标进行线性回归,得到姜黄素回归方程 $y=12897x-5335.9$,相关系数 $R^2=0.9999$;阿魏酸回归方程 $y=85296x-6217$,相关系数 $R^2=0.9996$;香兰素回归方程 $y=61736x-6663.2$,相关系数 $R^2=0.9998$ 。

1.2.5 实验条件 研究超声功率影响时,固定温度50℃,乙醇浓度50%,pH9,检测样品在28、40、50、135、28+40、50+135、28/40、50/135kHz下不同功率(20、60、100、140、180W)超声10、20、30、40、50、60min时产生阿魏酸和香兰素的浓度;研究超声温度影响时,固定功率100W,乙醇浓度50%,pH9,检测样品在28、40、50、135、28+40、50+135、28/40、50/135kHz下不同温度(20、35、50、65、80℃)超声10、20、30、40、50、60min时产生的阿魏酸和香兰素的浓度;研究乙醇浓度影响时,固定功率100W,温度50℃,pH9,检测样品在28、40、50、135、28+40、50+135、28/40、50/135kHz下不同乙醇浓度(10%、30%、50%、70%、90%)超声10、20、30、40、50、60min时产生的阿魏酸和香兰素的浓度;研究pH影响时,固定功率100W,温度50℃,乙醇浓度50%,检测样品在28、40、50、135、28+40、50+135、28/40、50/135kHz下不同pH(7、8、9、10、11)超声10、20、30、40、50、60min时产生的阿魏酸和香兰素的浓度。然后通过单因素实验的结果设计均匀实验,对实验结果进行PLS单指标回归分析,再经过DPS软件

表1 因素水平表

Table 1 Factor and levels table

水平	因素			
	X ₁ 功率(W)	X ₂ 温度(℃)	X ₃ 乙醇浓度(%)	X ₄ pH
1	20	20	10	7
2	60	35	30	8
3	100	50	50	9
4	140	65	70	10
5	180	80	90	11

偏最小二乘法分析得到各考察指标最佳条件,建立数学模型。

通过单因素实验,确定均匀实验反应时间为45min,围绕超声功率、温度、乙醇浓度和pH四个因素,设计四因素五水平的混合均匀实验,研究每个频率下个因素对阿魏酸和香兰素产量的影响,具体设计方案见表1。

2 结果与分析

2.1 姜黄素超声降解产生阿魏酸

通过单因素实验发现,阿魏酸产量在超声频率50kHz下最高,并且单频超声效果好于复频超声,阿魏酸浓度随超声功率、温度、乙醇浓度和pH的增加而升高,尤以pH对其影响最为明显,但在高温强碱性环境下,反应时间超过45min后,阿魏酸进一步降解,浓

度急剧下降。均匀设计实验结果见表2。

通过DPS软件偏最小二乘法分析得到各考察指标最佳条件,按照分析出的最佳条件进行重复实验得到结果,如表3所示,从表3中可以发现,并非所有条件在最高取值时产量最多,因为阿魏酸为连串反应的中间产物,在作为目标产物时,需严格控制反应条件,避免阿魏酸在极端环境下进一步降解。从表3中可以看出,超声频率50kHz下,超声功率100W,温度65℃,乙醇浓度30%,pH11时,阿魏酸浓度为0.81mg/L,产量最多。

2.2 姜黄素超声降解产生香兰素

通过单因素实验发现,香兰素在超声频率50/135kHz复频交变条件下产量最高,并且复频交变超声效果好于单频超声,香兰素浓度随超声功率、温

表2 均匀设计表

Table 2 Homogeneous design table

实验组	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	阿魏酸浓度(mg/L)							
					28kHz	40kHz	50kHz	135kHz	28+40kHz	50+135kHz	28/40kHz	50/135kHz
N1	1	4	2	1	0.17	0.01	0.07	0.07	0.16	0.10	0.14	0.15
N2	2	3	3	3	0.01	0.04	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
N3	3	2	5	1	0.03	0.02	0.06	0.01	0.07	0.07	0.07	0.07
N4	2	5	1	4	0.35	0.03	0.23	0.43	0.34	0.33	0.01	0.29
N5	5	2	2	5	0.33	0.27	0.24	0.24	0.34	0.24	0.26	0.22
N6	4	3	3	3	0.02	0.20	0.11	0.06	0.06	0.28	0.07	0.07
N7	3	4	5	5	0.01	0.07	0.07	0.03	0.08	0.07	0.03	0.07
N8	5	5	4	2	0.21	0.07	0.25	0.07	0.03	0.12	0.02	0.20
N9	1	1	4	4	0.05	0.06	0.82	0.07	0.05	0.13	0.01	0.07
N10	4	1	1	2	0.04	0.08	0.03	0.07	0.07	0.07	0.07	0.11

表3 姜黄素降解产生阿魏酸最优条件及结果表

Table 3 Curcumin degradation of the optimal conditions and produce ferulic acid result table

频率(kHz)	28	40	50	135	28+40	50+135	28/40	50/135
X ₁	4	5	3	4	5	5	4	5
X ₂	2	4	4	2	2	2	2	4
X ₃	4	2	2	4	2	5	2	2
X ₄	4	5	5	5	5	4	5	5
阿魏酸浓度(mg/L)	0.44	0.27	0.81	0.51	0.32	0.39	0.27	0.35

表4 均匀设计表

Table 4 Homogeneous design table

实验组	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	香兰素浓度(mg/L)							
					28kHz	40kHz	50kHz	135kHz	28+40kHz	50+135kHz	28/40kHz	50/135kHz
N1	1	4	2	1	0.60	0.11	0.29	0.11	0.57	0.39	0.35	0.46
N2	2	3	3	3	0.38	0.34	0.50	0.18	0.35	0.11	0.11	0.78
N3	3	2	5	1	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
N4	2	5	1	4	1.34	0.11	2.32	1.64	2.37	0.11	0.11	2.40
N5	5	2	2	5	1.42	1.68	1.16	1.19	2.23	2.10	0.85	1.16
N6	4	3	3	3	0.37	0.51	0.38	0.35	0.34	1.51	0.50	0.24
N7	3	4	5	5	0.34	0.44	0.61	0.31	0.39	0.92	0.29	0.33
N8	5	5	4	2	0.99	0.90	1.48	0.54	0.80	0.28	0.23	1.23
N9	1	1	4	4	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	1.09	0.11	0.11
N10	4	1	1	2	1.86	0.11	0.17	0.11	0.11	0.19	0.11	0.26

表5 姜黄素降解产生香兰素最优条件及结果表

Table 5 Curcumin degradation to produce vanillin optimal conditions and the results table

频率(kHz)	28	40	50	135	28+40	50+135	28/40	50/135
X ₁	5	5	1	1	1	5	5	1
X ₂	1	1	5	5	5	1	1	5
X ₃	4	2	2	4	4	2	2	4
X ₄	4	5	5	5	5	5	5	5
香兰素浓度(mg/L)	2.46	1.68	2.78	2.22	2.83	2.03	0.82	2.93

度、乙醇浓度和pH的增加而升高,尤以pH和温度对其影响最为明显。均匀设计实验结果见表4。

通过DPS软件偏最小二乘法分析得到各考察指标最佳条件,按照分析出的最佳条件进行重复实验得到结果,如表5所示,从表5中可以发现,并非所有条件在最高取值时产量最多,因为香兰素在高温、高pH等极端环境下同样会发生断键和分解生成小分子物质,但相对于阿魏酸来说,稳定性要好很多。从表5中可以看出,超声频率50/135kHz复频交变条件下,超声功率20W,温度80℃,乙醇浓度70%,pH11时,香兰素浓度为2.93mg/L,产量最多。

3 结论

通过实验得到,超声频率50kHz下,超声功率100W,温度65℃,乙醇浓度30%,pH11时,阿魏酸浓度为0.81mg/L,产量最多;超声频率50/135kHz复频交变条件下,超声功率20W,温度80℃,乙醇浓度70%,pH11时,香兰素浓度为2.93mg/L,产量最多。

目前多数学者用超声辅助手段从姜黄中提取姜黄素,往往在提取过程中,忽略了对降解的控制。通过研究发现,姜黄素在超声提取过程中,会被环境中的羟自由基氧化,降解生成阿魏酸,阿魏酸会进一步被氧化生成香兰素。活性物质阿魏酸和香料香兰素同样具有很高的经济价值。对于提取姜黄素的研究者来说,需要解决的是如何控制条件,避免姜黄素的降解。而另一方面,也可以通过改变条件,促使姜黄素降解,从而为阿魏酸和香兰素的制备提供另一种途径。

参考文献

- [1] 刘红星,陈福北,黄初升. 广西姜黄挥发油两种提取方法的比较研究[J]. 广西植物,2007,27(5):796-800.
- [2] 张炎强,李湘洲,周雯雯. 姜黄色素的提取与检测技术研究进展[J]. 经济林研究,2006,24(2):74-77.
- [3] 崔晶,翟光喜,姜红祥. 姜黄素的研究进展[J]. 中南药学,2005,3(2):108-111.
- [4] 盛柳青,颜继忠,梁万根. 姜黄素的研究进展及应用概况[J]. 中国西部科技,2006,4(1):14-15.
- [5] 王贤纯. 姜黄色素及其提制方法[J]. 生物学杂志,2000,17(1):36-37.
- [6] 罗红霞,方清茂,潘晓鸥. 姜黄素的提取及其含量测定研究进展[J]. 中国药业,2004,13(6):74-75.
- [7] 李湘洲,张炎强,刘艳华,等. 不同方法提取姜黄色素的研究[J]. 林产化学与工业,2006,26(4):83-86.
- [8] Pak Y, Patek R, Mayersohn M. Sensitive and rapid isocratic

liquid chromatography method for the quantitation of curcumin in plasma[J]. Journal of Chromatography, 2003, 796(2):339-346.

[9] Gayathri N, Kalpana P, Jamuna P, et al. Influence of antioxidant spices on the retention of b-carotene in vegetables during domestic cooking processes[J]. Food Chemistry, 2005, 84(7):35-43.

[10] Daniel S, Limson L, Dairam A, et al. Through metal binding, curcumin protects against lead and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2006, 98(9):266-275.

[11] Ahsan H, Parveen N, Khan U, et al. Prooxidant, anti-oxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin[J]. Chemico-Biological Interactions, 1999, 121(3):161-175.

[12] Negi S, Jayaprakasha K, Jaganmohan L, et al. Antimicrobial activity of turmeric oil: A by-product from curcumin manufacturer[J]. Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(5):4297-4300.

[13] Rachana T, Shailesh D. Mechanism(s) of turmeric-mediated protective effects against benzo(a) pyrene-derived DNA adducts[J]. Cancer Letters, 2002, 175(6):79-88.

[14] Kapoor S, Priyadarsini I. Protection of radiation induced protein damage by curcumin[J]. Biophysical Chemistry, 2006, 92(4):119-126.

[15] Skrzypezac-Jankun E, McCabe P, Selman H, et al. Curcumin inhibits lipoygenase by binding to its central cavity: Theoretical and X-ray evidence[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2008, 6(1):521-526.

[16] Eigner D, Scholz D. Ferula asa-foetida and Curcuma longa, in traditional medical treatment and diet in Nepal[J]. Journal of Ethnopharmacology, 1999, 67(7):1-6.

[17] 韩刚, 霍文, 李秋影, 等. 姜黄素的稳定性研究[J]. 中成药, 2007, 29(2):291-293.

[18] 冯生光, 覃耿垚, 刘红霞, 等. 姜黄素降解产物的分离鉴定及姜黄素的稳定性考察[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(5):361-365.

[19] 崔晶, 翟光喜, 姜红祥. 姜黄素的研究进展[J]. 中南药学杂志, 2005, 3(2):108-111.

[20] 张志健, 李新生, 陈锐. 超声浸提技术在杜仲叶饮料加工中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(11):181-185.

[21] 冯若. 超声手册[M]. 南京: 南京大学出版社, 1999:323-324.

[22] 应崇福. 超声学[M]. 北京: 科学技术出版社, 1990:170-171.

[23] 李辉, 李亚男, 龙凌亮, 等. 超声助提杜仲叶中绿原酸的溶剂效应[J]. 吉首大学学报, 2006, 27(4):90-92.