

超声强化超临界流体萃取对大黄总蒽醌提取效果的探究

李卫民, 王治平, 刘杰, 李庆国
(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 探究超声对超临界流体提取的强化作用。方法: 参照大黄的超临界流体提取的稳定工艺参数, 以总蒽醌含量和提取率为参考指标, 比较超声、超临界和超声强化超临界流体提取效果。结果: 超声强化超临界明显优于超声、超临界的提取效果。结论: 超声可强化超临界流体萃取对大黄总蒽醌类的提取效果。

[关键词] 超声强化超临界提取; 大黄; 总蒽醌

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0030-03

Ultrasound-Enhanced Supercritical Extraction of Total Anthraquinone from Rhubarb

LI Wei-min*, WANG Zhi-ping, LIU Jie, LI Qing-guo
(School of Chinese materia medica, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** Explore ultrasound on the enhanced role of supercritical fluid extraction. **Method:** With stability parameters of supercritical fluid extraction on Rhubarb, total anthraquinone from rhubarb and extraction rate as a reference indicator, compared extraction effect between ultrasonic, supercritical fluid and ultrasound-enhanced supercritical fluid. **Result:** Ultrasound-enhanced supercritical fluid extraction is superior to the others. **Conclusion:** Ultrasound can strengthen supercritical fluid extraction to total anthraquinones from rhubarb.

[Key words] ultrasound-enhanced supercritical extraction; rhubarb; total anthraquinone

大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根及根茎。具有泻热通便、凉血解毒、逐瘀通经之功效^[1]。大黄中主要的活性成分为蒽醌及其衍生物。有关超声波及超临界提取大黄的报道较多^[2-4], 两者均有优势。理论上两者可联合应用以实现优势互补。本文以大黄总蒽醌含量和提取率为主要考察指标, 进行平行试验, 比较超声、超临界和超声强化超临界的提取效果。为探索超声强化超临界提取的应用研究提供参考依据。

1 仪器与试药

超临界提取装置(江苏华安科研仪器有限公司, 5 L), 超声波发生器(广州华南超声设备有限公司, 超声强度2 000 W, 频率 20 kHz), 超声强化超临界提取装置(自行设计, 由上述 2 种设备改装而成); CO₂ 气体购于广州亿祥贸易公司供应, 纯度达 99.5% 以上; UV-Vis Spectrophotometer (SHIMADZU, UVmini1240); 超声波清洗器 (SK250H 型, 上海科岛超声仪器有限公司); 电子天平 (BP221S, Sartorius, d = 0.1 mg), 电子天平 (MC215S, Sartorius, d = 0.01 mg), 乙醇、三氯甲烷、乙酸镁、甲醇、盐酸等为分析纯, 水为纯化水; 大黄素对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号 110756-200110); 大黄药材购于广州中医药大学大药房有限公司, 由本院李薇教授鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *R. palmatum* L. 干燥根及根茎。

[收稿日期] 2009-12-21

[基金项目] 国家科技支撑计划子课题(2006BAI09B07-04)

[通讯作者] * 李卫民, Tel: 020-39358290, E-mail: 13925023915@139.com

2 方法与结果

2.1 大黄的预处理 取大黄饮片, 粉碎, 过 100 目筛, 混匀, 即大黄粉末。

2.2 大黄总蒽醌的提取 参照大黄 SFE 提取的稳定工艺参数^[4], 采用平行试验的方法, 比较超声、超临界和超声强化超临界提取效果。

2.2.1 超声提取(U)^[5-7] 取大黄粉末 100.0 g, 置 1 L 萃取釜中, 加入乙醇量为 4 倍药材量, 超声提取 2 h(超声强度: 1 000 W, 间歇 2 min 工作), 从放料口收集乙醇提取液, 50 °C 减压回收至无乙醇滴出, 得萃取物。

2.2.2 超临界萃取(SFE)^[3] 取大黄粉末 100.0 g 置 1 L 萃取釜中, 按如下条件萃取 2 h: 萃取压力 18 MPa, 萃取温度 50 °C, 分离压力 5 MPa, 分离温度 35 °C, 得萃取物。

2.2.3 超临界加夹带剂萃取(SFE/E) 取大黄粉末 100.0 g, 加入乙醇量为 2 倍药材量, 按 2.2.2 项下条件处理。

2.2.4 超声强化超临界萃取(USFE) 取大黄粉末 100.0 g, 超声强化(超声强度: 1 000 W, 间歇 2 min 工作), 按 2.2.2 项下条件处理 1.5 h。

2.2.5 超声强化超临界加夹带剂萃取(USFE/E) 取大黄粉末 100.0 g, 加入乙醇量为 1.5 倍药材量, 超声强化(超声强度: 1 000 W, 间歇 2 min 工作), 按 2.2.2 项下条件处理。

2.3 萃取物总蒽醌含量的测定 精密量取萃取物 1 mL, 用 95% 乙醇稀释, 并定容于 50 mL 量瓶中, 作为贮备液; 再精密量取上述贮备液 1 mL, 挥去溶剂, 加 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声处理 2 min, 再加三氯甲烷 10 mL, 加热回流 1 h, 冷却, 置分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取三氯甲烷层, 水液再洗三氯甲烷提取 3 次, 每次 10 mL, 合并三氯甲烷液, 水浴蒸干, 残渣加 1% 乙酸镁钾醇溶液使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 再加 1% 乙酸镁钾醇溶液至刻度, 摇匀, 过滤, 取续滤液作为供试溶液, 用紫外分光光度仪测定其 512 nm 下吸光度^[3], 按回归方程 $Y=0.0398X-0.0072$, 得萃取物以大黄素计的总蒽醌含量, 结果见表 1。

由表 1 结果可知, 超声强化超临界流体萃取相对于超声、超临界流体萃取具有明显的优势, 总蒽醌含量和提取率均明显提高。

2.4 超声强化超临界提取工艺的优化

表 1 不同提取方法对大黄总蒽醌提取效果试验 (n=3) %

试验名称	萃取物得率	萃取物总蒽醌	总蒽醌提取率
U	18.89	2.6	32.85
SFE	微量	微量	-
SFE/E	3.11	26.85	52.35
USFE	2.28	26.01	39.67
USFE/E	3.6	27.51	66.24

注: 按照《中国药典》^[1] 试验用大黄药材总蒽醌含量为 1.495%; 总蒽醌提取率 = 萃取物得率 × 萃取物中总蒽醌含量 / 药材中总蒽醌含量 × 100%。下同。

2.4.1 萃取温度 取大黄粉 100 g, 提取条件: 夹带剂乙醇用量为 1 倍药材量, 提取时间 2 h, 超声强度为 1 000 W, 萃取温度分别为 30 °C, 40 °C, 50 °C, 收集萃取物, 测定总蒽醌含量和提取率。结果见表 2。

表 2 不同温度对大黄总蒽醌提取效果试验 (n=3)

温度 / °C	萃取物得率 / %	萃取物总蒽醌含量 / %	总蒽醌提取率 / %
30	3.11	26.85	52.35
40	3.58	27.43	61.57
50	3.28	27.01	55.54

由表 2 结果可知, 萃取温度为 40 °C 时, 总蒽醌含量及提取率均最高, 故选择萃取温度为 40 °C。

2.4.2 提取时间 取大黄粉 100 g, 提取条件: 萃取温度为 40 °C, 夹带剂乙醇用量为 1 倍药材量, 超声强度为 1 000 W, 萃取时间分别为 1, 1.5, 2 h, 收集萃取物, 测定总蒽醌含量和提取率。结果见表 3。

表 3 不同提取时间对大黄总蒽醌提取效果试验 (n=3)

时间 / h	萃取物得率 / %	萃取物总蒽醌含量 / %	总蒽醌提取率 / %
1	3.54	27.41	64.90
1.5	3.61	27.53	66.48
2	3.64	27.4	66.71

由表 3 结果可知, 提取时间对总蒽醌含量及提取率的影响不大, 提取 1.5 h 的总蒽醌含量和提取率相对较高, 故选择提取时间为 1.5 h。

2.4.3 超声强度 取大黄粉 100 g, 提取条件: 萃取温度为 40 °C, 夹带剂乙醇用量为 1 倍药材量, 提取时间 1.5 h, 超声强度分别为 500, 800, 1 000, 1 200 W, 收集萃取物, 测定总蒽醌含量和提取率。结果见表 4。

由表 4 结果可知, 超声强度为 1 000 W 时, 总蒽醌含量及提取率较高, 故选择超声强度为 1 000 W。

表 4 不同超声强度对大黄总蒽醌提取效果试验 (n=3)

强度 /W	萃取物得率 /%	萃取物	总蒽醌
		总蒽醌含量 /%	提取率 /%
500	2.49	20.34	33.88
800	2.91	24.45	47.59
1 000	3.56	27.66	65.87
1 200	3.34	27.6	61.66

2.4.4 夹带剂用量 取大黄粉 100 g, 提取条件: 萃取温度为 40℃, 提取时间 1.5 h, 超声强度为 1 000 W, 夹带剂乙醇用量为 0.25, 2 倍药材量, 收集萃取物, 测定总蒽醌质量分数和提取率。结果见表 5。

表 5 不同夹带剂用量对大黄总蒽醌提取效果试验 (n=3)

夹带剂 用量 /倍	萃取物 得率 /%	萃取物	总蒽醌
		总蒽醌质量分数 /%	提取率 /%
0.25	0.56	4.04	1.51
0.5	1.05	12.14	8.53
1	3.56	27.56	65.63
1.5	3.59	27.42	65.84
2	3.61	27.36	66.07

由表 5 结果可知, 夹带剂乙醇用量为 1 倍药材量时的总蒽醌质量分数及提取率较高, 故选择加入夹带剂乙醇用量为 1 倍药材量。

2.5 验证试验 为进一步考察试验结果的可靠性及稳定性, 取大黄粉 100 g, 按超声强化超临界流体萃取大黄总蒽醌优化工艺条件: 萃取压力 18 MPa、萃取时间 1.5 h、萃取温度 40℃、夹带剂乙醇用量为 1 倍药材量、超声强化 (超声强度: 1 000 W, 间歇 2 min 工作), 进行 3 次平行试验, 收集萃取物, 测定总蒽醌含量和提取率。结果见表 6。

表 6 超声强化超临界对大黄总蒽醌提取效果的验证试验 (n=3)

No.	萃取物得率	萃取物总蒽醌质量分数	总蒽醌提取率 %
1	3.63	27.55	66.89
2	3.61	27.54	66.50
3	3.59	27.65	66.40

由表 6 结果可知, 上述优化的工艺条件是稳定可靠的。

3 讨论

试验结果表明, 超声强化超临界流体萃取大黄总蒽醌含量及提取率均明显高于单独的超声和超临界流体提取。超临界提取和超声波提取技术在大黄提取分离方面具有广泛的应用前景, 两者的成功联用为首次, 它对大黄有效成分的提取纯化和制剂工艺研究具有积极的意义, 也为其他的中药产品工艺改进提供新的方法。

研究发现当超声强度增加至 1 000 W 时, 对于超临界的强化作用最明显, 当超声强度继续增加时, 超声波对药材的粉碎作用严重, 大量药材粉末随着 CO₂ 流体冲出萃取釜, 导致分离釜中含有大量的粉末, 总蒽醌提取率明显下降。

目前, 大黄药材及其制剂多采用煎煮法提取^[8], 蒽醌类成分因受热时间过长而降解, 致通肠作用明显减弱^[9], 同时也影响蒽醌的提取率。超临界流体萃取 (SFE) 技术在很大程度上避免了传统提取过程的缺陷, 并且属于环境好的绿色提取技术^[4]。但是, 该技术也存在一些需要解决的问题, 如高压操作, 对设备的要求高, 萃取效率有待进一步提高等。超声能产生空化效应, 具粉碎、搅拌、乳化等特殊作用, 使植物组织在溶剂中瞬时产生的空化泡的崩溃, 而使组织中细胞破裂, 以利于溶剂渗透到植物细胞内部, 使植物中的有效成分溶于溶剂之中^[10]。超声强化超临界流体提取技术成功整合了两者在提取方面的优势, 避免了两者的劣势, 减少夹带剂的用量, 降低回收工作量及成本, 避免萃取物中的有效成分长时间加热而被破坏, 同时缩短提取时间, 提高工作效率。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 17.
- [2] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989: 161.
- [3] 肖飞, 李卫民, 李其凤. 正交试验法优化 SFE-CO₂ 萃取大黄总蒽醌工艺探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 34.
- [4] 李卫民, 金波, 冯毅凡, 等. 中药现代化与超临界流体萃取技术[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 102.
- [5] 郭孝武. 超声频率对提取大黄蒽醌类成分的影响[J]. 华西药学杂志, 1999, 14(2): 117.
- [6] 郭孝武. 不同超声强度对提取大黄蒽醌成分的影响[J]. 陕西大学学报: 自然科学版, 1994, 22(1): 89.
- [7] 胡忠泽, 谭志静, 杨久峰, 等. 超声法提取姜黄素最佳工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(2): 6.
- [8] 郝淑清, 王汝龙, 何丽一. 大黄煎煮方法对有效成分的影响[J]. 中草药, 1984, 15(2): 15.
- [9] 罗顺德, 蔡鸿生, 苏玮. 几种提取方法对大黄蒽醌类含量的影响[J]. 中药通报, 1987, 12(5): 30.
- [10] 郭孝武. 超声技术在中草药成分提取中的应用[J]. 中草药, 1993, 24(10): 548.

[责任编辑 仝燕]