

文章编号:1673-1689(2005)04-0052-05

超声波辅助提取大黄蒽醌类成分

张海晖, 裘爱泳, 刘军海

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 采用正交试验设计法, 研究了超声波辅助提取大黄中蒽醌类成分的最佳工艺条件。试验表明: 原料按料液比为 1 g : 30 mL, 在体积分数 90% 的乙醇中浸润 12 h 后, 超声波辅助提取 15 min, 连续提取 2 次, 总蒽醌、游离蒽醌的提取率分别达 91.91% 和 96.48%, 明显优于常规煎煮法和乙醇回流法。

关键词: 大黄; 游离蒽醌; 超声波; 提取工艺; 正交试验

中图分类号: R 284.2

文献标识码: A

Extraction of Anthraquinones from Rhubarb with Ultrasonic Assistance

ZHANG Hai-hui, QIU Ai-yong, LIU Jun-hai

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The optimum extracting conditions of anthraquinones from Rhubarb with the aid of ultrasonics were studied with the orthogonal test design. The results showed that when dousing the dried Rheum powder with 90% ethanol (1 g in 30 mL) for 12 hrs, and with the aid of ultrasonic treatment for 15 min and twice, the average extraction rate of total anthraquinone and free anthraquinone could reach 91.91% and 96.83%, respectively. The ultrasonic-assistant extraction method was superior over the traditional decocting method and the ethanol refluxing method.

Key words: Rhubarb; free anthraquinone; ultrasonic; extraction process; orthogonal experiment

大黄为常用中药, 系蓼科植物掌叶大黄 (*Rheum palmatum* L.)、药用大黄 (*Rheum officinale* Baill.) 及唐古特大黄 (*Rheum Tanguticum* Maxim. ex Balf.) 的根及根茎。大黄有清热泻下、抗菌、消炎、保肝、利胆、强心、降压、抗肿瘤、抗高脂血症, 清除自由基、调节免疫等重要功能, 临床应用日益广泛^[1~5]。研究证实, 大黄的主要有效成分为其蒽醌类衍生物, 即羟基蒽醌甙及其游离甙元。对于大黄蒽醌类成分的提取工艺已有很多研究报道, 主要采用不同溶剂, 如水、乙醇、氯仿等, 通过煎煮、回流等方

式进行提取^[6~10], 由于试验条件各异, 报道的结果有所不同, 但普遍存在着提取时间长、提取率较低等不足。近年来, 超声技术用于中药有效成分的提取逐渐受到重视, 一些研究表明, 利用超声波产生的强烈振动、高的加速度、强烈的空化效应以及搅拌作用等, 都可加速药物有效成分进入溶剂, 从而提高了出率, 缩短了提取时间, 避免了高温对提取成分的影响^[1]。作者利用乙醇作为提取溶剂, 借助于超声波进行萃取, 详细研究了大黄蒽醌类物质的最佳提取工艺条件。

收稿日期: 2004-09-06; 修回日期: 2004-10-25.

作者简介: 张海晖 (1975-), 男, 吉林吉林人, 粮食、油脂与植物蛋白工程博士研究生。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

WFZ UV-2100 型紫外可见分光光度计:尤尼柯上海仪器有限公司产品;DG500 超声波处理仪:无锡锡山德嘉电子有限公司产品。

标准品:1,8-二羟基蒽醌,中国药品生物制品检定所提供;大黄:购于陕西省药材公司,经鉴定为掌叶大黄的干燥根茎;所用试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 大黄的预处理 将大黄饮片在 40 ℃ 下烘干,粉碎,取过 40 目筛大黄粉备用。

1.2.2 大黄蒽醌类成分的提取 精确称取 5.0 g 大黄粉于 100 mL 烧杯中,按试验要求加入适当体积分数的 50 mL 乙醇浸润,密闭,每隔一段时间进行搅拌,然后在一定温度下用超声波辅助提取一定时间,趁热抽滤,测定提取液体积,取适量滤液置于容量瓶中,留作待测液。

1.2.3 游离蒽醌、总蒽醌质量浓度的测定

1) 标准液配制和标准曲线的制备

精密称取经 105 ℃ 干燥至恒重的 1,8-二羟基蒽醌标准品 10 mg,置于 50 mL 容量瓶中,加适量乙醚,振荡使其溶解,定容,摇匀,得标准品储备液。精确吸取标准品储备液 5 mL,置于 25 mL 容量瓶中,加适量乙醚定容,制得标准品溶液。分别精密吸取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 标准品溶液置于 10 mL 容量瓶中,水浴挥去乙醚,残渣加质量分数 0.5% 的醋酸镁-甲醇溶液至刻度,摇匀。以质量分数 0.5% 的醋酸镁-甲醇溶液为空白对照,在 400~800 nm 波长处进行扫描,确定 510 nm 为检测波长。测定吸光度,得蒽醌质量浓度 $Y(\text{mg/mL})$ 与吸光度 A 间的回归方程为: $Y = 4.9486A - 4.2 \times 10^{-3}$ ($R^2 = 0.9996$)

2) 蒽醌质量分数测定方法

参照文献[8]制备供试液。取适量供试液,以质量分数 0.5% 的醋酸镁-甲醇溶液为空白对照,在 510 nm 处测定吸光度,计算即得总蒽醌、游离蒽醌质量浓度。总蒽醌与游离蒽醌质量浓度之差即为结合蒽醌的质量浓度。

1.2.4 超声波萃取中主要影响因素的确定 当试验材料粒度一定时,萃取时所用溶剂及溶剂的体积分数、溶剂用量、试验样品的浸润时间,超声波萃取时的温度及萃取时间等因素都对目标物的提取率有影响。考虑到用水浸提,提取物杂质多,后处理麻烦,而氯仿或苯等因其成本高且对操作者有毒害作

万方数据

用,作者选用选择性好、渗透性强、浸出率较高的乙醇作为提取溶剂。研究发现,原料经充分浸润后,蒽醌类成分提取率几乎不再受浸润时间的影响,经反复试验,将样品浸润时间定为 12 h。因此,作者主要讨论乙醇体积分数、料液比、超声波辅助萃取温度和萃取时间 4 个因素对大黄蒽醌类成分提取率的影响。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 乙醇体积分数对提取率的影响 从图 1 看出,蒽醌提取率随乙醇体积分数的增加而提高,乙醇体积分数在 80% 左右较为合适。

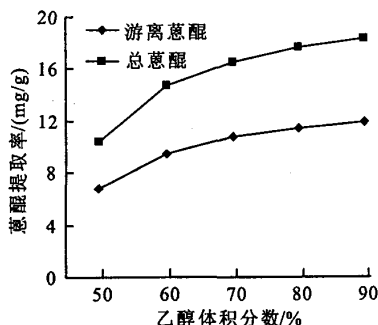


图1 乙醇体积分数对蒽醌提取率的影响

Fig.1 Effect of ethanol concentration on the extraction rate of anthraquinone

2.1.2 料液比对提取率的影响 由图 2 可以看出,将料液质量体积比定在 1 g : 20 mL~1 g : 40 mL 之间比较合适。

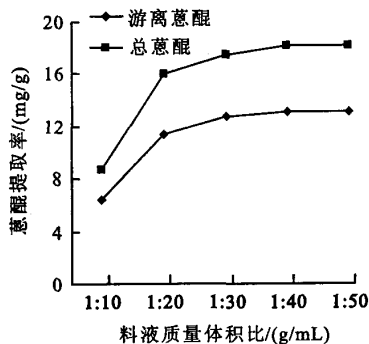


图2 料液比对蒽醌提取率的影响

Fig.2 Effect of ethanol amount on the extraction rate of anthraquinone

2.1.3 超声波辅助萃取温度对提取率的影响 从图 3 可以看出,游离蒽醌和总蒽醌的提取温度在 50~70 ℃ 时,提取率随萃取温度升高而增大较快,但当萃取温度超过 70 ℃ 时,蒽醌的提取率呈下降趋势,故将超声波辅助萃取温度定为 70 ℃ 左右。

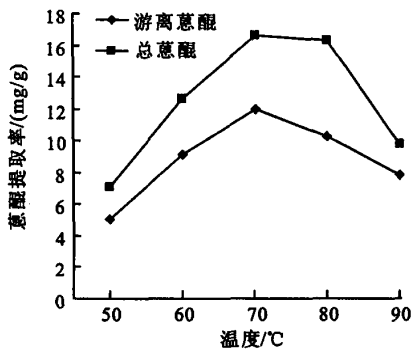


图 3 温度对提取率的影响

Fig. 3 Effect of temperature on the extraction rate of anthraquinone

2.1.4 超声波萃取时间对提取率的影响 由图 4 可以看出,蒽醌的提取率在萃取时间为 30 min 左右时最高,综合考虑时间和得率,将超声波萃取时间定为 15~45 min.

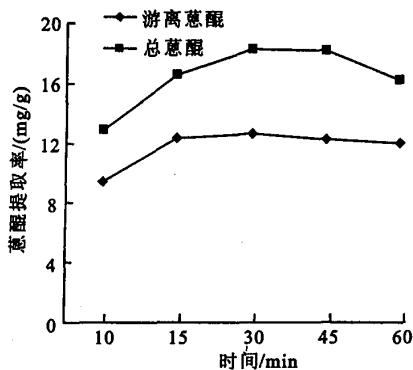


图 4 时间对蒽醌提取率的影响

Fig. 4 Effect of time on the extraction rate of anthraquinone

2.2 正交试验

乙醇体积分数、料液质量体积比、超声波辅助萃取温度以及萃取时间这些因素对蒽醌类成分提取率的影响是交互的,而上述单因素试验并不能很好地反映这一点,为此作者根据单因素试验结果,采用四因素三水平(见表 1),以测得的大黄样品中蒽醌类质量分数为考察指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计表对超声波提取大黄中蒽醌类成分的工艺进行了研究.正交试验设计及正交试验结果、极差分析结果见表 2.

表 1 试验因素水平表

Tab. 1 Factors and levels

水平	乙醇体积 分数 A/%	料液质量 体积比 B/ (g/mL)	萃取温度 C/°C	萃取时间 D/min
1	70	1 : 20	60	15
2	80	1 : 30	70	30
3	90	1 : 40	80	45

从表 2 可以看出,4 种考察因素对大黄中蒽醌类成分提取率的影响与前面单因素试验结果趋势大体相同,但各因素对游离蒽醌、总蒽醌提取效果影响的主次顺序上略有差异,具体表现在,各因素对游离蒽醌提取率影响因素顺序为乙醇体积分数>料液质量体积比>萃取时间>萃取温度,而对总蒽醌提取率的影响因素顺序为乙醇体积分数>料液质量体积比>萃取温度>萃取时间.与游离蒽醌相比,总蒽醌的提取率可能更容易受萃取时温度的影响.

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验设计表及其结果

Tab. 2 Design and results of orthogonal test

试验号	因素				总蒽醌 质量分数/ (mg/g)	游离蒽醌 质量分数/ (mg/g)	结合蒽醌 质量分数/ (mg/g)
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	15.04 1	10.79 2	4.24 8
2	1	2	2	2	16.35 3	11.26 7	5.08 6
3	1	3	3	3	16.38 1	10.93 6	5.44 6
4	2	1	2	3	16.26 1	10.65 1	5.61 0
5	2	2	3	1	16.99 3	11.43 7	5.55 6
6	2	3	1	2	16.72 3	11.30 6	5.41 7
7	3	1	3	2	17.19 8	11.33 0	5.86 8
8	3	2	1	3	16.90 4	11.49 1	5.41 3
9	3	3	2	1	17.48 8	11.93 0	5.55 8

续表 2

试验号	因素				总蒽醌 质量分数/ (mg/g)	游离蒽醌 质量分数/ (mg/g)	结合蒽醌 质量分数/ (mg/g)
	A	B	C	D			
总蒽醌	K1	15. 9250	16. 1664	16. 2680	16. 678		
	K2	16. 6587	16. 7498	16. 7004	16. 7578		
	K3	17. 1963	16. 8038	16. 8573	16. 5151		
	R	1. 2713	0. 6374	0. 5893	0. 2427		
游离蒽醌	K1	10. 9984	10. 9240	11. 1964	11. 3530		
	K2	11. 1311	11. 3983	11. 2825	11. 3009		
	K3	11. 5834	11. 3904	11. 2340	11. 0590		
	R	0. 5850	0. 4741	0. 0861	0. 2940		

极差分析表明,以大黄样品中游离蒽醌体积分数为考察指标时,最佳提取条件为 $A_3B_2C_2D_1$,即使用体积分数为 90% 的乙醇,料液质量体积比 1 g : 30 mL,在温度为 70 ℃ 条件下超声波萃取 15 min; 而以大黄样品中总蒽醌质量分数为考察指标时,最佳提取条件为 $A_3B_3C_3D_2$,即使用体积分数为 90% 乙醇,料液质量体积比 1 g : 40 mL,在温度为 80 ℃ 条件下超声波萃取 30 min.

基于较高的温度和较长的作用时间对活性成分可能带来的负面影响,以及较大的溶剂用量在加重浓缩负荷的同时造成经济成本增加,兼顾时间效益等多方面考虑,作者最终将超声波提取大黄中蒽醌类成分的最佳工艺条件确定为 $A_3B_2C_2D_1$,即使用体积分数为 90% 的乙醇,料液质量体积比 1 g : 30 mL,在温度为 70 ℃ 条件下超声波萃取 15 min.

验证试验:精确称取 5. 00 g 大黄样品,按正交试验确定的最佳工艺 $A_3B_2C_2D_1$,进行试验,以总蒽醌、游离蒽醌提取率为指标进行考察,结果见表 3.

表 3 最佳工艺条件验证试验
Tab. 3 Experimental verification

试验条件	总蒽醌 质量分数/ (mg/g)	游离蒽醌 质量分数/ (mg/g)	结合蒽醌 质量分数/ (mg/g)
$A_3B_2C_2D_1$	18. 124	12. 366	5. 758

由表 3 可见,按优化提取条件所得的各项指标均高于正交试验表中的较高值,提取效果较好.

2.3 萃取次数的确定

精确称取 5. 0 g 样品,浸润 12 h,在最佳超声波萃取条件下提取 4 次,结果见表 4.

由表 4 可以看出,提取次数越多,累计提取率越高,但提高幅度显著下降,因此提取次数不宜过多,在本试验中只需提取 2 次,大黄中总蒽醌游离蒽醌的提取率即可分别达到 91. 91%、96. 48%.

万方数据

表 4 不同超声波萃取次数试验结果 (n=3)

Tab. 4 Results of different ultrasonic treatments

萃取次数	游离蒽醌 质量分数/ (mg/g)	相对提取率/%	累计提取率/%	总蒽醌 质量分数/ (mg/g)	相对提取率/%	累计提取率/%
1	13. 265	81. 47	81. 47	20. 647	78. 48	78. 48
2	2. 444	15. 01	96. 48	3. 533	13. 43	91. 91
3	0. 514	3. 15	99. 63	1. 613	6. 13	98. 04
4	0. 060	0. 37	100	0. 515	1. 96	100

2.4 提取方法比较

以优选出的超声波辅助提取方法为试验组(料液质量体积比 1 g : 30 mL,在体积分数 90% 乙醇中浸润 12 h 后,超声波萃取 15 min,连续提取 2 次),以常规煎煮法^[5]及乙醇回流法^[10]为对照组,对不同提取方法进行比较,结果见表 5.

表 5 不同提取方法试验结果 (n=3)

Tab. 5 Results of different extraction methods

提取方法	游离蒽醌 质量分数/(mg/g)	总蒽醌 质量分数/(mg/g)
常规煎煮法	8. 529	5. 450
乙醇回流法	14. 704	23. 617
超声波辅助提取法	15. 709	24. 180

由平行对照试验结果可以看出,优选出的超声波辅助提取方法对大黄蒽醌的提取率明显优于常规煎煮法和乙醇回流法.

3 结 论

1) 作者采用正交试验设计法,确立了超声波辅助提取大黄中蒽醌类成分的最佳工艺条件:乙醇体积分数为 90%,料液质量体积比 1 g : 30 mL,萃取温度为 70 ℃,萃取时间为 15 min.

2) 试验结果表明,在最佳工艺条件下连续提取2次,总蒽醌、游离蒽醌的提取率分别达91.91%,96.48%,明显优于常规煎煮法和乙醇回流法。

将超声波萃取技术应用于大黄中有效成分的提取,将给生产带来极大便利,可以节省大量时间和溶剂,从而降低生产成本,提高经济效益。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2000年版)[M]. 北京:化学工业出版社,2000.
- [2] 庞国明,郭炳新. 实用专病专方临床大全[M]. 北京:中国中医药出版社,1994.
- [3] 李秀才. 大黄的研究进展[J]. 中国药学杂志,1998,33(10):581—584.
- [4] Foust C M. Mysteries of rhubarb: Chinese medicinal rhubarb through the ages[J]. *Pharm Hist*, 1994, 36(4): 155—159.
- [5] Uchibayashi M. Rhubarb in the east and the west[J]. *Yakushigaku Zasshi*, 2001, 36(2): 171—174.
- [6] 张永红. 影响大黄提取液中蒽醌含量的条件探讨[J]. 兰州医学院学报,1996,22(2):27—29.
- [7] 罗得顺,蔡鸿生,苏玮. 几种提取方法对大黄蒽醌含量的影响[J]. 中药通报,1987,12(5):286—288.
- [8] 王新春,侯世祥. 正交实验数据的极差分析于多元线性回归对比对大黄提取工艺优化影响[J]. 中成药,2002,24(10):742—746.
- [9] 邹华彬,吴波杜,杜爱琴,等. 中药大黄中羟基蒽醌类成分的分离[J]. 化学分析计量,2002,11(1):13—15.
- [10] 郭澄,张纯. 正交实验法优选大黄醇回流提取工艺[J]. 药学实践杂志,1996,14(1):31—32.
- [11] 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—549.

(责任编辑:朱明)

(上接第46页)

- [3] 唐兵,周林峰,陈向东,等. 嗜热脂肪芽孢杆菌高温中性蛋白酶的产生条件及酶学性质[J]. 微生物学报,2000,40(2):188—192.
- [4] 李水泉,姚恕. 中性蛋白酶发酵工艺优化研究[J]. 微生物学通报,1995,22(3):155—154.
- [5] Dolashka Pavlina, Georgieva Dessislava N. A novel thermostable neutral protease from *Saccharomonospora canescens* [J]. *Biocim Biophys Acta*, 1998, 1382(2): 207—216.
- [6] Lu S F, Chang P P. A thermostable neutral protease from *Pseudomonas aeruginosa* CCRC 15541 [J]. *Lett Appl Microbiol*, 1996, 22(1): 5—9.
- [7] Takii Yukio, Urata Yoshimi. Thermostable neutral protease resembling thermolysin derived from *Bacillus brevis* MIB001 [J]. *Norike Biosci Biotechnology Biochem*, 1998, 62(5): 1028—1030.
- [8] 陈启和,何国庆. 弹性蛋白酶产生菌的筛选及其发酵条件的初步研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2003,29(1):59—64.
- [9] 吴继星,谢天健,陈辑力,等. 苏云金杆菌 85-10-6(5) 发酵培养基的筛选[J]. 微生物学通报,1988,15(6):254—256.
- [10] 姜锡瑞,段钢. 新编酶制剂实用技术手册[M]. 北京:中国轻工出版社,2002.
- [11] Dubnan D A. Microbial enzymes [J]. *Microbial Biology of Bacillus*, 1982, (1): 331—363.

(责任编辑:李春丽)