

超临界 CO₂ 萃取穗花大黄中总蒽醌工艺优选

薛鹏喜, 童志平*, 谢远

(西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031)

[摘要] 目的: 优化超临界 CO₂ 萃取穗花大黄中总蒽醌的工艺条件。方法: 以萃取压力、萃取温度和萃取时间为考察因素, 采用紫外-可见分光光度法测定总蒽醌含量, 以大黄萃取物中总蒽醌的含量为评价指标, 正交试验优选工艺条件。结果: 最佳工艺条件为萃取压力 25 MPa, 萃取温度 50 ℃, 萃取 2.0 h。提取物中总蒽醌的质量分数 23.4 mg·g⁻¹, 总蒽醌转移率达 91.4%。结论: 该工艺稳定可行, 可用于穗花大黄总蒽醌的提取。

[关键词] 超临界 CO₂ 萃取法; 穗花大黄; 总蒽醌; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0056-03

Optimization of Extraction Process for Total Anthraquinones from *Rheum spiciforme* by Supercritical CO₂ Method

XUE Peng-xi, TONG Zhi-ping*, XIE Yuan

(School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process conditions of total anthraquinones from *Rheum spiciforme* by supercritical CO₂. **Method:** With extraction pressure, extraction temperature and extraction time as factors, the content of total anthraquinones from extract of *R. spiciforme* as index, the content of total anthraquinones was determined by UV-visible spectrophotometry, technology conditions were optimized by orthogonal test. **Result:** Optimum technology conditions were as follows: extraction pressure was 25 MPa, extraction temperature was 50 ℃, extracted 2.0 h. The content of total anthraquinones in extract was 23.4 mg·g⁻¹, transfer rate was up to 91.4%. **Conclusion:** This process was stable and feasible, it could be used to extracting total anthraquinones from *R. spiciforme*.

[Key words] supercritical CO₂ extraction method; *Rheum spiciforme*; total anthraquinones; orthogonal test

大黄具有泻热通便、凉血解毒、逐瘀通经等功效, 其主要有效成分为蒽醌类物质^[1]。目前对大黄

系统性研究主要集中在正品大黄, 而对穗花大黄中的蒽醌类有效成分提取工艺研究尚未见报道。

超临界 CO₂ 萃取具有提取效率高、几乎无有机溶剂残留、适于热敏性物质提取等优点, 已被广泛应用于医药、食品、化工等领域^[2]。但该技术应用在大黄蒽醌类提取的报道不多见^[3-4]。本文以穗花大黄中总蒽醌的量为考察指标, 对影响蒽醌萃取率的压力、温度和时间 3 个主要因素进行优化, 以确定最

[收稿日期] 20110831(002)

[第一作者] 薛鹏喜, 硕士研究生, 从事药物化学研究, Tel: 15902839579, E-mail: sdjxpx@163.com

[通讯作者] * 童志平, 副教授, 从事药物化学的研究, E-mail: tzp_008@163.com

发油提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(6): 25.

[4] 张祥俊, 张莉. 乳核散结片制备工艺的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 25.

[5] 张庆萍. β-环糊精包合川芎、独活挥发油的工艺研究[J]. 湖北中医杂志, 2007, 29(9): 61.

[6] 孙兆姝, 周凌, 康廷国. 二妙胶囊中苍术挥发油提取及包合工艺研究[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(4): 876.

[7] 于维萍, 辛义周. 乳香、没药挥发油 β-CD 包合物的实验研究[J]. 中国药房, 2007, 18(18): 1379.

[责任编辑 全燕]

佳工艺条件,为进一步工业化生产提供参考,为穗花大黄等非正品大黄资源的合理开发提供理论依据。

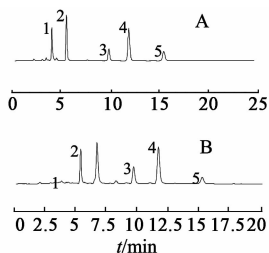
1 材料

Shimadzu LC-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津),UV-2450 型紫外-可见分光光度计(日本岛津),SC5+1 L 型超临界萃取装置(德阳四创科技有限公司),BS110S 型电子天平(北京塞多利斯天平有限公司)。

大黄(购自成都荷花池中药材市场,经西南交通大学童志平副教授鉴定为穗花大黄 *Rheum spiciforme* Royle),1,8-二羟基蒽醌(批号 110829-97)、芦荟大黄素(批号 110795-200806)、大黄素(批号 110756-200110)、大黄酚(批号 110796-200716)对照品均购于中国药品生物制品检定所,大黄酸、大黄素甲醚对照品购于成都思科华生物技术有限公司。实验用高纯 CO₂(成都世茂气体有限公司,纯度 >99.9%),其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总蒽醌含量测定 按 2005 年版《中国药典》^[5] 中方法进行测定,试验用大黄药材总蒽醌含量为 2.56%。色谱图见图 1。



A. 混合对照品;B. 样品;1. 大黄酸;2. 芦荟大黄素;
3. 大黄素;4. 大黄酚;5. 大黄素甲醚

图 1 穗花大黄中总蒽醌 HPLC

2.1.1 测定方法选择^[6] 采用 HPLC 可对蒽醌类化合物进行精确定量分析,但操作繁琐,在工业生产中采用 HPLC 测定蒽醌类化合物的含量,运行费用太高且费时。故选择紫外-可见分光光度法直接测定总蒽醌含量。

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取 1,8-二羟基蒽醌 5 mg,甲醇溶解并定容于 50 mL 量瓶中,即得质量浓度为 0.1 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液制备 精密量取样品液 1 mL,95% 乙醇稀释,定容于 50 mL 量瓶中,精密吸取 1 mL,挥去溶剂,加 8% 盐酸溶液 10 mL 超声处理 2 min,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,水层用三氯甲烷提取 3 次,每

次 10 mL,合并三氯甲烷液,水浴蒸干,残渣加 0.5% 乙酸镁甲醇溶液使溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加 0.5% 乙酸镁甲醇溶液至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 最大吸收波长确定 取 1,8-二羟基蒽醌对照品溶液 1 mL,挥去甲醇,加 0.5% 乙酸镁-甲醇溶液定容于 10 mL 量瓶中,在 300~600 nm 扫描,结果在 512 nm 处有最大吸收,故测定波长为 512 nm。

2.1.5 线性关系考察 分别精密量取 1,8-二羟基蒽醌对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 mL,挥去甲醇,加 0.5% 乙酸镁-甲醇溶液定容于 10 mL 量瓶中,0.5% 乙酸镁-甲醇溶液作为空白对照,在最大吸收波长处测定其吸光度,以吸光度(A)对质量浓度(C)做标准曲线并拟合出线性回归方程 $A = 30.834C + 0.0017$ ($r = 0.9999$),结果表明在 0.005~0.03 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系。

2.1.6 精密度试验 取同一对照品溶液 2 mL,挥去甲醇,加 0.5% 乙酸镁-甲醇溶液定容于 10 mL 量瓶中,重复测定 5 次。结果 RSD 0.182%,说明所建方法精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 取供试品溶液,分别于 0,1,2,3,4 h 在 512 nm 处分别测定吸光度,计算 A 的 RSD 0.419%,表明样品溶液在 4 h 内稳定。

2.2 正交试验 将大黄药材粉碎,过 40 目筛,称取粉末 100 g 装入萃取釜中,以 95% 乙醇 100 mL 作为夹带剂。调整好萃取压力和萃取温度后开始萃取,至规定时间后停止萃取。收集萃取产物,按 2.2 项下方法计算萃取物中总蒽醌的含量。选取萃取压力(A)、萃取温度(B)和萃取时间(C)3 个影响超临界 CO₂ 萃取的主要因素进行考察,每个因素选 3 个水平(表 1)。按表 2 安排试验,以萃取物中总蒽醌转移率为考察指标进行分析,方差分析见表 3。

表 1 穗花大黄中总蒽醌超临界萃取工艺正交试验因素水平

水平	A 萃取压力/MPa	B 萃取温度/℃	C 萃取时间/h
1	15	40	1.0
2	20	45	1.5
3	25	50	2.0

由表 2,3 中总蒽醌转移率的直观分析与方差分析可知,各因素对工艺的影响顺序为萃取压力 > 萃取时间 > 萃取温度。优选试验方案为 A₃B₃C₃,即萃取压力为 25 MPa,萃取温度 50 ℃,萃取时间 2.0 h。

2.3 验证试验 称取大黄粗粉 3 份,每份 100 g,装入萃取釜中,按照正交设计优选的工艺参数条件

进行验证试验 3 次,结果 3 次试验中总蒽醌质量分数分别为 23.1,23.3,23.7 mg·g⁻¹;总蒽醌转移率分别为 90.2%,91.0%,92.6%;萃取物得率分别为 3.63%,3.92%,3.85%。表明本工艺稳定可行。

3 讨论

对于蒽醌苷等极性较强的物质,不加夹带剂

萃取效果不理想,故本试验对夹带剂种类和用量进行了考察,综合考虑发现以 95% 乙醇作为夹带剂,料液比 1:1 时萃取效果较好。本试验所用的超临界萃取设备只配备有 5 L 和 1 L 萃取釜,因而还需要进一步的放大验证试验才能应用实际工业生产。

表 2 穗花大黄中总蒽醌超临界萃取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	总蒽醌 /mg·g ⁻¹	总蒽醌转移率 /%	萃取物得率 /%
1	1	1	1	1	15.2	59.4	2.94
2	1	2	2	2	16.8	65.6	3.68
3	1	3	3	3	18.3	71.5	3.21
4	2	1	2	3	20.6	80.5	3.81
5	2	2	3	1	21.4	83.6	3.00
6	2	3	1	2	19.8	77.3	3.75
7	3	1	3	2	22.1	86.3	3.54
8	3	2	1	3	21.8	85.1	3.85
9	3	3	2	1	23.2	90.6	3.92
K ₁	65.500	75.400	73.933	77.867			
K ₂	80.467	78.100	78.900	76.400			
K ₃	87.333	79.800	80.467	79.033			
R	21.833	4.400	6.534	2.633			

注:萃取物得率 = 萃取物质量/药材质量 × 100%;总蒽醌转移率 = 萃取物中总蒽醌质量分数/药材中总蒽醌质量分数 × 100%。

表 3 总蒽醌转移率方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	747.847	2	71.585	<0.05
B	29.540	2	2.828	>0.05
C	69.807	2	6.682	>0.05
D(误差)	10.45	2		

注: F_{0.05}(2,2) = 19.00。

[参考文献]

[1] 未作君,林立,倪晋仁.超临界 CO₂ 流体萃取大黄游离蒽醌的研究[J].高校化学工程学报,2006,20(2):197.

[2] 霍鹏,张清,张滨,等.超临界流体萃取技术的应用与发展[J].河北化工,2010,33(3):25.

[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):33.

[4] 谢伟雪,刘孝敏,谢伟敬,等.超临界 CO₂ 萃取大黄蒽醌类成分工艺的优化[J].安徽农业科学,2011,39(6):3319.

[5] 中国药典.一部[S].2005:17.

[6] 魏玉辉,武新安,陈岚,等.大黄蒽醌类成分含量测定方法实验研究[J].兰州大学学报:医学版,2005,33(1):13.

[责任编辑 仝燕]