

超声波-微波协同萃取虎杖中大黄素

邹时英, 谭文渊, 李富兰, 左惠, 付大友

(四川理工学院材料与化学工程学院, 四川 自贡 643000)

摘要:以大黄素含量为指标对虎杖中有效成分进行了超声波-微波协同萃取。采用正交设计法优化了萃取条件。试验结果表明在超声波功率内置为50 W的仪器条件下影响大黄素萃取的主要因素依次是:乙醇浓度、提取时间、乙醇用量、微波功率。大黄素的最佳萃取条件是:乙醇浓度为90%,乙醇用量为75 mL,提取时间为5 min,微波功率为30 W。正交优化条件下,大黄素得率可达1.26%。萃取效果明显优于传统的溶剂回流方法和超临界流体萃取。

关键词:超声波;微波;协同萃取;正交试验;虎杖;大黄素

中图分类号:R284

文献标识码:A

引言

虎杖为我国传统中药,又名阴阳莲、斑杖及紫金龙等。具有活血定痛、清热利湿、止咳化痰作用,中医临床用于治疗湿热黄疸、肺热咳嗽、疮痈肿毒、关节痹痛、经闭经痛、水火烫伤和跌打损伤等^[1]。大黄素是其有效成分之一,具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、抗菌、止咳和降血压等活性^[2-3],广泛应用于临床医学、印染行业、保健品及日用制品中。大黄素的提取方法文献报导常见的是以水^[4]或醇^[5]做溶剂,采用回流的方法提取。但该方法存在提取时间长,溶剂耗量大等缺点。童胜强^[6]等人采用超临界流体CO₂进行提取,但该方法仪器设备相对昂贵,且得率也不高。超声波-微波协同萃取新技术将直接超声振动与开放式微波两种作用方式相结合,充分利用超声波以及微波的热效应、机械效应和空化效应等作用,使植物细胞易于破裂,细胞内有效成分自由流出,并加速被萃取物向萃取界面的扩散,使有效成分能在较低的温度下以较快的速度被萃取。除具有速度快、能耗小、溶剂用量小、萃取率高和污染小等优点外,该方法还有利于极性和热不稳定性组分的萃取,避免长时间高温高压条件所引起的分解,对所萃取的有机物分子的结构没有破坏作用,是近年来发展起来的新的中草药有效成分提取方法^[7]。采用超声波-微波协同萃取大黄素的

有关研究尚未见报导。本文探讨了超声波-微波协同萃取虎杖中大黄素的方法,并采用正交实验优化了萃取条件,以期对虎杖资源的有效利用提供一定的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

虎杖药材饮片(四川德仁堂中药饮片有限公司);大黄素对照品,HPLC纯度大于98%(贵州迪大科技有限责任公司);无水乙醇、乙酸乙酯、石油醚和甲酸(分析纯,重庆川东化工(集团)有限公司化学试剂厂);甲醇(色谱纯,成都科龙化工试剂厂);磷酸(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司)。实验所用水均为蒸馏水。

1.2 仪器与设备

超声波-微波协同萃取仪CW-2000,新拓微波溶样测试技术有限公司;电子天平AR1140,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司制造;液相色谱仪Agilent 1100LC(色谱柱:LichrospherC₁₈;150 mm×4.6 mm,5 μm,流动相:甲醇-0.1%磷酸=80:20,流动相流速:1.000 mL/min;检测器:VWB检测器;波长:254 nm;柱温:35℃;进样量:10 μL),安捷伦科技有限公司。

1.3 实验方案

本实验目的是确定以大黄素为指标的虎杖有效成

收稿日期:2011-07-13

作者简介:邹时英(1971-),女,四川峨眉人,讲师,硕士,主要从事天然产物的提取与分析方面的研究,(E-mail)wyong@126.com

分的萃取条件,并采用正交实验优化方案。由于超声波、微波频率固定,且萃取仪将超声波的功率内置为50 W,因此,根据实验条件,结合前期的预实验,选定萃取剂乙醇浓度,乙醇用量,微波功率,提取时间四个主要影响因素,每个因素选取三个水平,即选用四因素三水平的 $L_9(3^4)$ 正交实验方案表(表1)。每次虎杖用量定为3.00 g。提取液经过滤并定容为100 mL,滤液按照参考文献[8]的方法进行HPLC分析,以相应的大黄素峰面积作为考察指标。

表1 因素水平表

序号	1	2	3	4
因素名称	乙醇浓度 (A)	提取时间 (B)	乙醇用量 (C)	微波功率 (D)
水平1	80%	5min	50ml	30W
水平2	90%	10min	75ml	40W
水平3	100%	15min	100ml	50W

2 结果与讨论

2.1 提取液定性分析

将萃取物先用硅胶层析板点样,初步确定萃取效果。展开剂为石油醚:乙酸乙酯:甲酸=15:5:1的上层清液。然后将萃取物样品按照文献[8]的测试条件进行HPLC分析。所得HPLC谱图(图1)与对照品的HPLC图(图2)比较可知,萃取液中保留时间为8.288 min的峰和对照品中大黄素(保留时间8.354 min)的出峰时间基本一致,且峰型对称,结合薄层层析分析结果可确定该组分为大黄素。

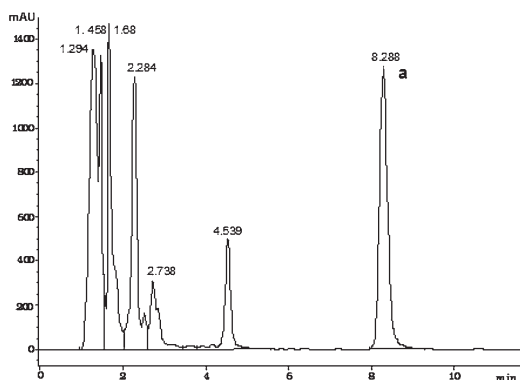


图1 虎杖提取物HPLC谱图(峰a:大黄素)

2.2 正交实验结果

按照表1的实验方法进行正交实验,所得结果见表2。由表2正交试验直观分析数据可以看出在超声波功率内置为50 W的仪器条件下,4个因素对虎杖中大黄素峰面积的影响大小依次是乙醇浓度(A) > 提取时间(B) > 乙醇用量(C) > 微波功率(D)。最优条件为

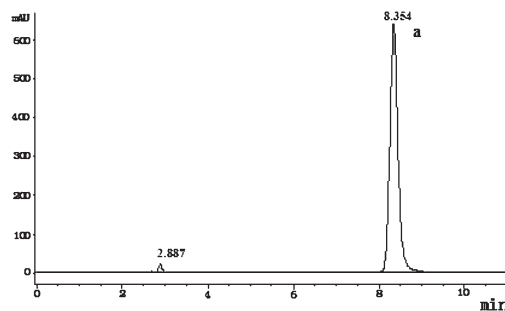


图2 大黄素对照品溶液HPLC谱图(峰a:大黄素)

$A_2B_1C_2D_1$,即乙醇浓度为90%,乙醇用量为75 mL,提取时间为5 min,微波功率为30W。再采用优化方案平行提取6次,所得平均峰面积为:17 703.8 mAU (RSD = 2.83%),高于表2中的任一实验结果。

表2 正交实验结果

所在列	1	2	3	4	实验结果
因素	乙醇浓度 (A/%)	提取时间 (B/min)	乙醇用量 (C/ml)	微波功率 (D/W)	(大黄素峰面积)
1	1	1	1	1	16506.2
2	1	2	2	2	16537.4
3	1	3	3	3	16497.3
4	2	1	2	3	16814.9
5	2	2	3	1	16499.9
6	2	3	1	2	16583.9
7	3	1	3	2	16285.5
8	3	2	1	3	15919.1
9	3	3	2	1	16307.2
K1	16513.633	16535.533	16336.400	16437.767	
K2	16632.900	16318.800	16553.167	16468.933	
K3	16170.600	16462.800	16427.567	16410.433	
k1	5504.544	5511.844	5445.467	5479.256	
k2	5544.3	5439.6	5517.722	5489.644	
k3	5390.2	5487.6	5475.856	5470.144	
R	462.300	216.733	216.767	58.500	

2.3 优化条件结果的定量分析

最优条件下的虎杖提取物经HPLC检测,并以大黄素标准品作对照,标准曲线如图3所示。

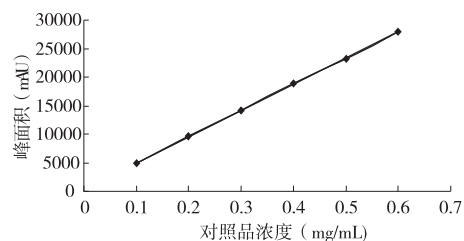


图3 大黄素对照品标准工作曲线

线性回归方程: $Y = 45918X + 346.82$, $R^2 = 0.9999$,将峰面积换算成大黄素得率为1.26%。而文献[6]报导的传统的溶剂回流得率仅为0.2%,超临界流体 CO_2 对大黄素的得率为0.36%。显然超声波-微波协同萃

取法得率均明显高于这两种方法。

3 结束语

(1) 实验表明,超声波功率内置为 50 W 的仪器条件下,影响超声波-微波协同萃取虎杖中大黄素的因素依次为:乙醇浓度、提取时间、乙醇用量、微波功率。最优萃取条件为 A₂B₁C₂D₁,即:乙醇浓度为 90%,乙醇用量为 75 mL,提取时间为 5min,微波功率为 30 W。

(2) 最优条件下虎杖提取物经 HPLC 检测,并与标准品作对照,其大黄素得率为 1.26%,明显高于文献报导的溶剂回流与超临界流体 CO₂ 萃取方法的得率。由此可见,超声波-微波协同萃取虎杖中大黄素的得率、提取时间、能耗等均明显优于传统的溶剂回流与超临界流体 CO₂ 提取方法,值得在中药工业生产中推广应用。

参考文献:

- [1] 薛 岚. 中药虎杖的药理研究进展[J]. 中国中药杂志, 2000,25(11):651-653.
- [2] 李淑娟,沈丽霞,李 伟,等. 大黄素药理作用研究进展[J]. 张家口医学院学报,2003,20(2):80-83.
- [3] 陈国军,陈然峰,董长林,等. 拉米夫定联合大黄素抗肝纤维化作用的临床研究[J]. 中国实验诊断学, 2003,7(1):43-45.
- [4] 魏凤玲,齐敏超,钟加胜. 大黄蒽醌类成分提取工艺优选[J]. 中国中药杂志,1998,23(10):609-611.
- [5] 黄 园,徐雄良,张志荣,等. 正交试验法研究水提与醇提对大黄蒽醌提取率的影响[J]. 中成药,2003,25(4): 273-276.
- [6] 童胜强,颜继忠,钟朝康,等. 超临界流体 CO₂ 提取虎杖中的有效成分[J]. 应用化工,2006,35(3):208-209.
- [7] 赵小亮,白红进,吴翠云,等. 超声-微波协同萃取法提取杜梨果实多糖[J]. 时珍国医国药,2007,18(9): 2151-2152.
- [8] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2010.

Study on Ultrasonic-Microwave Synergistic Extraction of Emodin from Polygonum cuspidatum

ZOU Shi-ying, TAN Wen-yuan, LI Fu-lan, ZUO Hui, FU Da-you

(School of Material and Chemical Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract: Experiments were studied on extraction of effective components of polygonum cuspidatum sieb. Et. Zucc by ultrasonic cooperate with microwave with the reference of emodin. The optimum synergistic extraction conditions for emodin were determined by orthogonal design. The results showed that the optimum extraction conditions were as following: concentration of alcohol 90%, volume of alcohol 75mL, extraction time 5 minutes. power of microwave 30W, The yield of emodin by ultrasonic-microwave synergistic extraction was 1.26% which was superior to traditional solvent refluxing method and supercritical fluid extraction.

Key words: ultrasonic; microwave; synergistic extraction; orthogonal test; polygonum cuspidatum sieb. Et. Zucc; emodin