

文章编号:1000-582X(2007)07-0130-04

中药苦参中苦参碱类成分超声波提取工艺

邹姝姝^{1,2},王贵学¹

(1.重庆大学生物工程学院,重庆 400030;2.重庆工学院生物工程学院,重庆 400050)

摘要:实验运用了超声波技术从中药苦参中提取苦参碱类成分,通过单因素实验和料液比、浸泡时间、乙醇体积分数、超声提取时间为因素的正交实验,以及方差分析,优选出超声波提取苦参碱类成分的最佳工艺:料液比(1:10)g/mL,浸泡时间3 h,乙醇体积分数80%,超声提取时间20 min。与传统水煎煮法比较,超声波提取苦参碱类成分具有省时、成本低、提取率高等优点。结果显示,苦参碱提取率由0.213%提高到0.472%。

关键词:苦参;超声波;提取

中图分类号:R284.2

文献标志码:A

苦参(*Sophara flavescens Ait.*)为豆科植物,除海南、新疆、青海外在中国各地均有分布,有很高的经济价值和药用价值^[1]。目前中药提取的常规方法有煎煮法、水蒸馏法、溶剂浸提等,其提取时间长,提取率低,且高温条件下易使中药的有效成分氧化、降解,影响作用效果^[2]。随着现代科学的发展,超声技术、微波技术、超临界技术亦被应用于植物活性成分的提取。超声波提取法^[3]是近年来兴起的新方法,其振动能产生强大的能量,给媒质点以很大的速度和加速度,将植物体快速穿透,使溶剂能和植物中的有效成分充分接触,有利于有效成分向提取溶剂转移,从而提高其提取率。笔者通过超声波技术提取苦参有效成分,旨在探索一种在常温下快速简便、高效地提取苦参有效成分的提取方法^[4-5]。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

苦参,7月购于重庆市中药市场,批号:20060715(鉴定人:王颖,助教、硕士研究生,重庆工学院)用烘箱在50℃条件下鼓风干燥,粉碎至40目备用;

HF-2.5B超声循环提取机(北京宏祥隆生物技术公司);

UV-2000紫外可见分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有限公司);

苦参碱标准品(中国药品生物制品检定所,批号:0413-20066);

三氯甲烷,95%乙醇等均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 提取工艺流程

1) 超声波法

苦参→低温烘干→粉碎→按一定料液比加溶剂浸泡→超声提取→离心分离→测定

称取一定量的苦参,用植物粉碎机粉碎(40目);乙醇先水浴加热到50℃,乙醇液浸泡1~5 h;然后在超声波功率为400 W下提取,提取液在转速为3 000 r/min,离心10 min后取上层清液。

2) 水煎煮法^[6]

苦参→低温烘干→粉碎→按一定比例煎煮提取3次→合并提取液→离心分离→测定

称取一定量的苦参,用植物粉碎机粉碎(40目);以1:10倍加水煮沸,煎煮1.5 h,过滤收集药液;再以1:8倍加水煮沸,煎煮1 h,过滤收集药液;第3次以1:6倍加水煮沸,煎煮30 min,过滤收集药液。弃药渣合并

收稿日期:2007-02-07

基金项目:国际科技合作重点项目(2004DFA06400)。

作者简介:邹姝姝(1979-),女,重庆大学硕士研究生,主要从事药物化学研究。王贵学(联系人),男,教授,(Tel)023-65112675;(E-mail) guixue_wang@126.com。

3次药液,用纱布过滤冷却,并于3 000 r/min离心10 min后取上层清液。

1.2.2 提取液中苦参碱的测定^[7]

标准曲线的绘制:取已配制好的苦参碱标准品溶液30、40、50、60、70 μL 分别置于25 mL的磨口锥形瓶中,置于水浴80 $^{\circ}\text{C}$ 蒸干溶剂,加入溴麝香草酚蓝pH=7.6缓冲溶液6 mL,氯仿6 mL,闭塞剧烈振摇3 min,分别转入60 mL分液漏斗中,静置2 h,使水层与氯仿层完全分清后,分取氯仿层(黄色)于磨口试管中,在410 nm波长处测定吸收度,以未加生物碱的氯仿萃取液为随行空白。以苦参碱量对吸光度A回归,方程为 $A=0.0104X-0.0666$, $r=0.998$,说明苦参碱在37.2~86.8 μg 之间线性关系良好。

2 结果与讨论

2.1 超声波提取工艺条件对提取率的影响

2.1.1 料液比(苦参质量/乙醇体积)

由表1可见,超声处理时的原料质量和溶剂的体积之比直接影响到苦参中碱类化合物的提取率。当提取液浓度处于较稀的情况下,超声破碎苦参细胞壁后能使苦参碱充分溶于溶剂,防止由于提取达到饱和而阻止有效成分的溶出。

表1 不同料液比对苦参生物碱的影响

| 指标 | 料液比/(g·mL ⁻¹) | | | |
|------------------------------|---------------------------|------|------|------|
| | 1:5 | 1:10 | 1:15 | 1:20 |
| 苦参总碱/(g·100g ⁻¹) | 1.44 | 1.60 | 1.58 | 1.33 |
| 苦参碱/(g·100g ⁻¹) | 0.45 | 0.52 | 0.40 | 0.37 |

2.1.2 乙醇体积分数

在一定条件下,分别用60%、70%、80%、95%的乙醇浓度超声提取样品。结果表明,在其他条件不变的情况下,体积分数80%乙醇作提取剂得到的提取率最高,95%乙醇的提取效果明显降低。

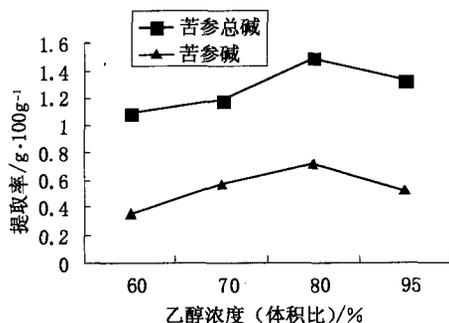


图1 不同乙醇体积分数对苦参生物碱提取率的影响

2.1.3 浸泡时间

通过实验发现,超声波振动前将苦参用溶剂浸泡

一定时间,能明显提高苦参碱类成分的溶出。由表2可见,粉碎的苦参在超声波振动前浸泡3 h,所测含量达到最高,浸泡2~3 h所测含量明显升高,但3 h后随浸泡时间的延长,所测苦参碱的含量有所下降。显然,浸泡一定时间能使溶剂充分渗入到植物细胞内部,提高浸提效果。但浸泡时间过长,溶剂浓度增大,传质作用缓慢,浸提效果反而下降。因此,为了提高效率,节省时间和防止乙醇过多挥发,超声振动前期以浸泡2~3 h为宜。

表2 不同浸泡时间对苦参生物碱提取率的影响

| 指标 | 浸泡时间/h | | | |
|------------------------------|--------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 5 |
| 苦参总碱/(g·100g ⁻¹) | 1.39 | 1.44 | 1.50 | 1.43 |
| 苦参碱/(g·100g ⁻¹) | 0.42 | 0.50 | 0.69 | 0.46 |

2.1.4 超声提取时间

在一定条件下,分别对苦参进行10、20、30、40 min的超声提取。由图2可看出,超声振动在20 min内,生物总碱、苦参碱的溶出随时间的延长而增大,以20 min为最佳,超过20 min后呈下降趋势。超声提取的原理就在于超声波的空化、粉碎等特殊作用,使植物组织在溶剂中产生的空化泡破裂而使溶剂渗透到植物细胞内部,组织中的有效成分溶解于溶剂中而被提取出来。随振动时间的延长,细胞破裂越来越完全,因而提取率也随之增高。但是,随着植物组织中大量细胞破裂,导致细胞内大量不溶物及较多树脂、粘液质等混入提取液中,使溶液中杂质增多,粘度增大,而这些杂质不但会影响有效成分的溶出,增大传质阻力,还会对溶出的有效成分有一定的吸附作用。因此,当有效成分溶出达最大时,延长对提取不利。

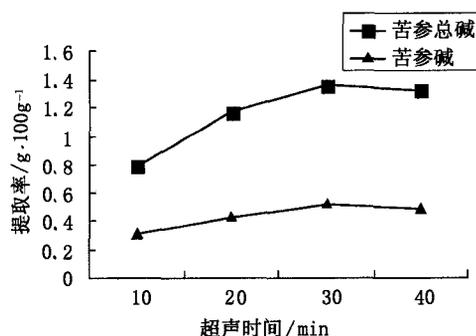


图2 不同超声时间对苦参生物碱提取率的影响

2.2 正交实验确定提取最佳工艺条件

在对提取剂、超声功率进行初步筛选后,选择料液比(苦参质量与乙醇体积比)、浸泡时间、提取剂体积分数、超声波时间作为考察的四因素,每个因素取3个

水平,以生物总碱作为指标,每个实验平行 3 次,取平均值。故采用 $L_9(3^4)$ 正交表:

表 3 $L_9(3^4)$ 正交实验表和实验分析结果

| 试验号 (处理组合) | 因 素 | | | | 苦参总碱得率/% | | | |
|--|-------------------------------|------------|--------------|----------------|----------|-------|-------|-------|
| | A | B | C | D | I | II | III | T_i |
| | 料液比 /(g·mL ⁻¹) | 浸泡时间 /h | 乙醇体积 分数/% | 超声提取 时间/min | | | | |
| 1A ₁ B ₁ C ₁ D ₁ | 1(1:5) | 1(1) | 1(60) | 1(20) | 1.09 | 1.12 | 1.07 | 3.28 |
| 2A ₁ B ₂ C ₂ D ₂ | 1(1:5) | 2(3) | 2(75) | 2(30) | 1.21 | 1.14 | 1.26 | 3.61 |
| 3A ₁ B ₃ C ₃ D ₃ | 1(1:5) | 3(5) | 3(80) | 3(40) | 1.36 | 1.32 | 1.47 | 4.15 |
| 4A ₂ B ₁ C ₂ D ₃ | 2(1:10) | 1(1) | 2(75) | 3(40) | 1.37 | 1.50 | 1.42 | 4.29 |
| 5A ₂ B ₂ C ₃ D ₁ | 2(1:10) | 2(3) | 3(80) | 1(20) | 1.51 | 1.48 | 1.55 | 4.54 |
| 6A ₂ B ₃ C ₁ D ₂ | 2(1:10) | 3(5) | 1(60) | 2(30) | 1.45 | 1.39 | 1.43 | 4.27 |
| 7A ₃ B ₁ C ₃ D ₂ | 3(1:20) | 1(1) | 3(80) | 2(30) | 1.29 | 1.31 | 1.27 | 3.87 |
| 8A ₃ B ₂ C ₁ D ₃ | 3(1:20) | 2(3) | 1(60) | 3(40) | 1.16 | 1.17 | 1.09 | 3.42 |
| 9A ₃ B ₃ C ₂ D ₁ | 3(1:20) | 3(5) | 2(75) | 1(20) | 1.30 | 1.33 | 1.31 | 3.94 |
| T_1 | 11.04 | 11.44 | 10.97 | 11.76 | 11.74 | 11.76 | 11.87 | 35.37 |
| T_2 | 13.10 | 11.57 | 11.84 | 11.75 | (Tr) | (Tr) | (Tr) | (T) |
| T_3 | 11.23 | 12.36 | 12.56 | 11.86 | | | | |
| \bar{x}_1 | 3.68 | 3.81 | 3.66 | 3.92 | | | | |
| \bar{x}_2 | 4.37 | 3.85 | 3.95 | 3.92 | | | | |
| \bar{x}_3 | 3.74 | 4.12 | 4.19 | 3.95 | | | | |
| R | 0.69 | 0.31 | 0.53 | 0.03 | | | | |

表 4 $L_9(3^4)$ 正交实验方差分析表

| 因素 | 自由度 | 平方和 | MS(均方) | F 值 | 显著性 |
|--------|-----|----------|---------|-------|-----|
| 料液比 | 2 | 0.292 | 0.146 | 50.43 | ** |
| 浸泡时间 | 2 | 0.060 | 0.030 | 10.36 | ** |
| 乙醇体积分数 | 2 | 0.145 | 0.073 | 25.04 | ** |
| 超声提取时间 | 2 | 0.005 52 | 0.002 8 | 0.95 | |
| 误差 | 24 | | | | |
| 总和 | 26 | | | | |

$P_{\alpha=0.01}(2,24) = 5.61$ $P_{\alpha=0.05}(2,24) = 3.40$ ** $P < 0.01$ * $P < 0.05$

经过正交实验及方差分析,各因素影响的主次顺序为:料液比 > 乙醇体积分数 > 浸泡时间 > 超声提取时间;确定其最优工艺条件为 A₂B₃C₃D₁,即料液比(1:10)g/mL,浸泡时间 3 h,乙醇体积分数 80%,超声提取时间 20 min。这与前面的单因素实验结果比较一致。经实验进一步验证,利用最优工艺条件得到的提取率为生物总碱 1.51%,苦参碱 0.472%。

2.3 超声波提取与常规提取法的比较

由图 3 知,在相同的提取溶剂和料液比的条件下,超声波提取的作用效果明显比水煎煮法要好,无论是总碱、苦参碱的提取率均高于水煎煮法。

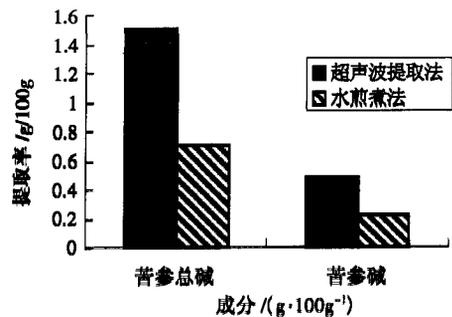


图 3 不同提取方法对苦参生物碱类成分的提取率比较

3 结 论

经过实验结果表明,超声波提取苦参生物碱类成分的最佳工艺条件为苦参粉碎至40目,于料液比(1:10)g/mL,体积分数80%,乙醇溶液浸泡3h,在超声功率400W下提取20min。提取液在转速3000r/min下离心10min后取上层清液,提取率可达生物总碱1.51%,苦参碱0.472%,明显比煎煮法的提取率高。

因此,与传统水煎煮法对苦参生物碱类化合物的提取相比,超声提取法操作简便,快捷,具体省时、节能,无须加热,提取率高,能有效保持生物大分子活性等优点,可以用来提取一些受热易被破坏、分解、氧化的物质,是一种较好的提取方法。

参考文献:

- [1] 丁景和. 药用植物学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1990:49.
- [2] 郑虎古,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用[M]. 北京:学苑出版社,1997:613-619.
- [3] 郭孝武. 超声波技术在中草药成分提取中的应用[J]. 中草药,1996,27:234-235.
- [4] 孙波,彭密军,杨晓燕. 超声波提取杜仲叶的工艺研究[J]. 林产化学与工业,1999,19(4):67-70.
- [5] 郭孝武. 超声提取对黄连素提出率的影响[J]. 中国中药杂志,1995,20(11):673-675.
- [6] 王琴,蒋林,黄艳文,等. 超声波强化提取决明子活性成分[J]. 食品工业科学技术,2005,(8):126-127.
- [7] 邓丽琴. 苦参中苦参碱提取工艺研究[J]. 时珍国医国药,2006,17:233-234.

Craft to Study Ultrasonic Eextraction of the Alkaloid Composition From Sophara Flavescens Ait

ZOU Shu-shu^{1,2}, WANG Gui-xue¹

(1. College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China;

2. College of Bioengineering, Chongqing Institute of Technology, Chongqing 400050, China)

Abstract: The experiment has used ultrasonic technology to extract the alkaloid composition from *Sophara flavescens* Ait. On the basis of singel factor experiment, an orthogonal experiment and analysis of variance are carried out. So the optimum extraction conditions contain of the ratio of solid to liquid (1:10), time of soak (3h), ethanol (80%), and time of extraction (20min). Campared to the traditional cooking method, extracing the alkaloid composition in ultrasonic wave has advantages in saving time, eanhancing drawing rate and cutting costs. The result shows that it rises to 0.472% from 0.213% to join the extraction rate of matrine.

Key words: *sophara flavescens* Ait. ; ultrasonic wave; extraction

(编辑 吕建斌)