

当归中阿魏酸提取工艺的优化研究

金汝城¹, 李贵文², 马素丽³, 周术涛², 赵国磊²

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院,甘肃 兰州 730050; 2. 兰州理工大学石油化工学院,甘肃 兰州 730050; 3. 兰州理工大学理学院,甘肃 兰州 730050)

关键词:当归; 阿魏酸; 超声波辅助萃取; 高效液相色谱

摘要:目的:测定当归中生物活性成分阿魏酸的含量并研究其提取工艺,提高活性成分的提取效率。方法:采用超声波辅助萃取法进行阿魏酸的提取,运用正交实验方法对影响阿魏酸提取的条件进行优化,同时采用高效液相色谱法进行分析检验。结果:阿魏酸在 0.022 44~0.149 6 μg范围内线性关系良好($r=0.999\ 8$),精密度 $RSD < 0.88\%$,加样回收率平均为 96.8%, RSD 为 1.37%;得到了阿魏酸的最佳提取工艺,使阿魏酸的提取率达到了 94.2%。结论:该工艺可充分将当归中的活性成分阿魏酸提取出来,提高了药材的利用率。

中图分类号:R284.2 文献标识码:A 文章编号:1001-1528(2008)04-0516-04

Ferulic acid in *Angelica sinensis* extracting technology

J N Ru-cheng¹, L I Gui-wen², MA Su-li³, ZHOU Shu-tao², ZHAO Guo-lei²

(1. School of Life Sciences and Technology, Lanzhou University of Science and Technology, Lanzhou 730050, China; 2. School of Petrochemical Technology, Lanzhou University of Science and Technology, Lanzhou 730050, China; 3. School of Science, Lanzhou University of Science and Technology, Lanzhou 730050, China)

KEY WORDS: *Angelica sinensis*; ferulic acid; ultrasonic-assisted extraction; HPLC

ABSTRACT: **A M:** To determine the amount of bioactive component of ferulic acid in *Angelica sinensis* and study the extracting technology to develop the extracting rate. **METHODS:** Employing the technology of ultrasonic-assisted extraction and the method of orthogonal experiment to optimize the extracting technology of ferulic acid. At the same time HPLC was used in the detection. **RESULTS:** The calibration curve was liner($r=0.999\ 8$) in the range of 0.022 44~0.149 6 μg for ferulic acid. Precision degree $RSD < 0.88\%$. The average recovery was 96.8% and RSD 1.37%. The best extracting technology was got and the extracting rate reached 94.2%. **CONCLUSION:** With the technology we can extract ferulic acid sufficiently and raise the using rate of medicinal materials.

前言

当归是伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels的干燥根,有补血、和血、调经止痛、润肠通便之功效,为医家所常用^[1,2]。其主要活性成分阿魏酸是中国药典规定的当归药材中的主要药用指标。是公认的天然抗氧化剂,也是近年来国际认知的防癌物质,引起世人瞩目。药理研究表明阿魏酸有很好的抗氧化活性,能够清除自由基、调节免疫、降血脂和改善动脉粥样硬化、抗血栓、抗心肌缺血及抗肝损伤^[3]。另外阿魏酸也是一种良好的食

品添加剂,可以吸收紫外线,也可以用于化妆品行业。因此,准确测定阿魏酸含量、提高其提取率对于充分利用当归资源有重要实际意义。

超声提取法是利用超声波增大物质分子运动的频率和速度,增加溶剂穿透力,提高药物溶出度,缩短提取时间的浸提方法。实验表明,超声提取可以缩短提取时间,提高有效成分的提出率,提高药材的利用率,节约能源,并且避免了高温对提取成分的影响^[1]。本实验采用高效液相色谱法测定甘肃岷县当归中阿魏酸的含量,同时采用超声波进行辅助萃

收稿日期:2007-04-12
基金项目:甘肃省资助攻关项目(编号:2GS052-A43-008-04)。
作者简介:金汝城(1949~),男,博士后,教授,研究方向:天然产物和生物药,电话:0931-2976703。

取,运用单因素和正交实验的方法优选出了阿魏酸提取的最佳工艺条件。

1 实验部分

1.1 实验药品与仪器

甘肃岷县优质当归;色谱甲醇;三蒸水;95%乙醇,无水乙醇,甲醇,甲酸,冰醋酸等均为分析纯。阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0773-9910)。

JASCO日本分光公司 LC-2000 高效液相色谱仪;UV-2075 紫外检测器;色谱工作站 (HPLC-2000);色谱柱 HQsil C₁₈W (4.6 mm ×150 mm);ME235S电子分析天平(德国 Sartorius赛多利斯);DT1000电子天平;KQ250DE数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);RE-85C旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司);TDL-5 离心机(上海安亭科学仪器厂)等。

1.2 阿魏酸含量的测定

1.2.1 色谱条件:色谱柱用十八烷基键合硅胶为填充剂。甲醇-1%冰醋酸溶液(35:65)为流动相,流速 1 mL/min,检测波长 315 nm,柱温 20 ℃。理论塔板数按阿魏酸峰计算应不低于 5 000。

1.2.2 对照品溶液的制备:精密称取阿魏酸对照品 1.87 mg,置于 250 mL 量瓶中,加入甲醇-1%冰醋酸溶液(35:65)溶解并稀释至刻度,摇匀即得(含阿魏酸 7.48 μg/mL)。阿魏酸对照品保留值 10.651,色谱见图 1。

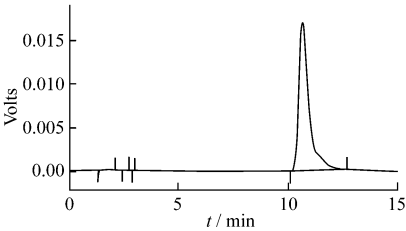


图 1 阿魏酸标准品 HPLC 色谱图

1.2.3 标准曲线的制备:分别精密吸取阿魏酸对照品溶液(7.48 μg/mL) 3, 5, 7, 10, 13, 15, 20 μL 注入高效液相色谱仪,测得峰面积。以峰面积和进样量求得回归方程。 $Y = 4\,000\,000X - 14\,117$, $r = 0.999\,8$ 。在 0.022 44~0.149 6 μg 有良好线性关系。

1.2.4 精密度实验:精密吸取对照品溶液 5 μL,重复进样 5 次,测得峰面积,其 RSD 为 0.88%。表明仪器精密度良好。

1.2.5 加样回收率实验:精密量取两份 1 mL 样品

溶液,向其中一份精密添加阿魏酸对照品溶液,定容 50 mL,测得平均回收率为 96.8%,RSD 为 1.37%。

1.3 阿魏酸的提取

将当归洗净晾干,粉碎过 50 目筛,称取一定量的当归粉于三角瓶中,加入实验规定量的溶剂,放入超声萃取槽中,上接冷凝管,调节好所需温度进行提取,提取液离心,取上清液,滤渣继续按上述操作提取一次,合并上清液,浓缩后转入量瓶定容。提取液中阿魏酸 HPLC 色谱见图 2,由图可见在选定的测定条件下阿魏酸峰跟杂质峰实现很好的分离。

2 结果与讨论

2.1 样品中阿魏酸含量测定

称取一定量当归粉,加入一定量的 1%醋酸甲醇溶液,浸泡 8 h 后超声提取 30 min,过滤,滤渣继续多次提取,直至最后检测不到阿魏酸为止。滤液合并浓缩定容,测定含量。结果如表 1 所示。

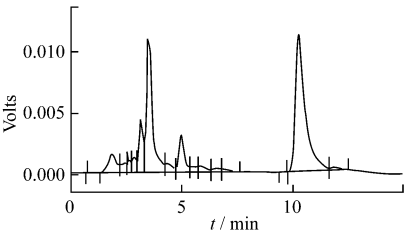


图 2 样品中阿魏酸 HPLC 色谱图

表 1 阿魏酸含量测定结果

	当归粉重	浓度	含量
	/g	/mg/mL	/mg/g
I	5.001	0.031	1.55
II	5.000	0.029	1.49
III	5.002	0.032	1.63
$\bar{x}$			1.56

2.2 单因素实验

2.2.1 醇浓度对阿魏酸提取效果的影响

改变水与乙醇的比例,溶剂与当归粉的质量比(简称液料比)12,温度 80 ℃,超声功率 200 w,提取 2 次,每次 60 min。提取液浓缩定容,液相色谱测定含量,结果如图 3 所示。

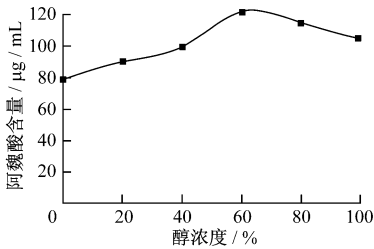


图 3 醇浓度对阿魏酸含量的影响

由图 3可知随醇浓度的增大阿魏酸提取率先上升后开始下降,当醇浓度为 60%时,提取率最高。这是由于随醇浓度的增加使溶剂的极性逐渐变小,开始越来越利于阿魏酸的溶解,后又不利于其溶解,且醇浓度过低则多糖类水溶性成分溶出增多;醇浓度过高则脂溶性杂质溶出增多,故选择 60%的乙醇作为提取溶剂。

2.2.2 液料比对阿魏酸提取效果的影响

改变液料比例,60%乙醇,温度 80℃,超声功率 200 w提取 2次,每次 60 min。提取液浓缩定容,液相色谱测定含量,结果如图 4所示。

由图 4可知,随液料质量比的增加阿魏酸的提取率逐渐增加,当液料质量比为 12时提取率已接近最大值,故选择最佳液料比为 12。

2.2.3 提取时间对阿魏酸提取效果的影响

改变萃取时间,液料比 12,60%乙醇,温度 80℃,超声功率 200 w提取 2次,提取液浓缩定容,液相色谱测定含量,结果如图 5所示。

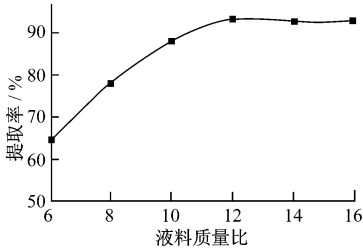


图 4 液料质量比对阿魏酸提取率的影响

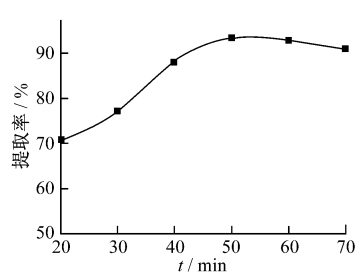


图 5 提取时间对阿魏酸提取率的影响

由图 5可见,随着提取时间的延长阿魏酸提取率先增加迅速,后有下降趋势,当提取时间 50 min时,提取率已达最大值,这是由于随着超声时间的延长,超声波对细胞的破壁逐渐增加,细胞内的成分逐渐被溶出,当溶出达平衡后产率也就基本保持平衡。但随时间的增加阿魏酸分解量增多,溶出的杂质也将逐渐增多,故选择最佳提取时间 50 min。

2.2.4 提取温度对阿魏酸萃取效果的影响

改变提取温度,液料比 12,60%乙醇,超声功率 200 w提取 2次,每次 60 min。提取液浓缩定容,液

相色谱测定含量,结果如图 6所示。

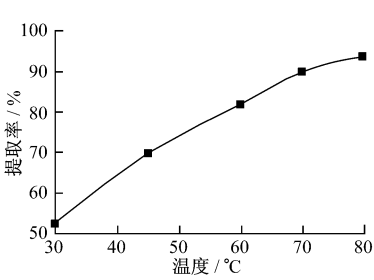


图 6 提取温度对阿魏酸提取率的影响

由图 6可见,温度对阿魏酸提取率的影响十分明显,温度越高提取率越高,这在正交实验的结果中也得到了体现。究其原因主要是阿魏酸易溶于热水,难溶于冷水,在 60%的乙醇中温度对其溶解度的增加也起了很重要的作用。由于溶剂沸点的限制,选择 80℃作为最佳提取温度。

2.2.5 超声功率对阿魏酸提取效果的影响

改变超声波功率,液料比 12,60%乙醇,温度 80℃,提取 2次,每次 60 min。提取液浓缩定容,液相色谱测定含量,结果如图 7所示。

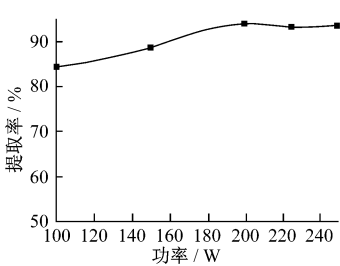


图 7 超声功率对阿魏酸提取率的影响

由图 7可知,超声功率对阿魏酸提取率的影响不明显,在整个超声功率范围内提取率只变化了 9%左右,而且当提取率达最大值后随超声功率的增加提取率反而有下降的趋势,这主要是由于阿魏酸不稳定,超声功率过强可能会促使其发生分解。

2.3 正交实验

为了进一步优化萃取条件,根据单因素实验结果选取了 4 个因素:每次提取时间 (A)、提取温度 (B)、液料质量比 (C)、超声波功率 (D),采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行了正交试验,结果见表 2、3所示。

表 2 试验因素水平

水平	时间 (A) /min	温度 (B) / $^{\circ}$ C	液料比 (C)	功率 (D) /w
1	40	60	8	175
2	50	70	10	200
3	60	80	12	225

表 3 正交试验设计表及结果

试验号	A	B	C	D	提取率 /%
1	1	1	1	1	71.2
2	1	2	2	2	84.6
3	1	3	3	3	92.3
4	2	1	2	3	85.9
5	2	2	3	1	90.4
6	2	3	1	2	90.4
7	3	1	3	2	91.0
8	3	2	1	3	89.7
9	3	3	2	1	91.0
K ₁	248.1	248.1	251.3	252.6	
K ₂	266.7	264.7	261.3	266.0	
K ₃	271.7	273.7	273.7	267.9	
k ₁	82.7	82.7	83.8	84.2	
k ₂	88.9	88.2	87.2	88.7	
k ₃	90.6	91.2	91.2	89.3	
R	7.9	8.5	7.4	5.1	

由表 3 可知,在所选取的条件中,阿魏酸提取率的影响因素的主次分别为 B>A>C>D,提取温度对提取率影响最为明显,其次为提取时间、液料质量比和超声功率。最佳工艺条件为 B₃A₃C₃D₃ 即提取温度为 80 ℃,液料质量比 12,超声功率 225 w,提取 2 次,每次提取 60 min。

以正交实验得到的最佳条件进行 3 次提取结果阿魏酸的提取率分别为: 95.1%, 92.6%, 94.9%, 平均为: 94.2%。结果表明正交实验得到的最佳提取条件具有很好的重现性。

3 结论

3.1 超声波振动能产生并传递强大的能量,大能量的超声波作用在液体里能产生空化作用,从而加速植物中的有效成分进入溶剂,使其进一步提取。除了空化作用外,超声波的许多次级作用,如机械运动、乳化、扩散、击碎、化学效应等也都有利于使植物中的有效成分的转移,并充分和溶剂混合,促进提取的进行^[4]。

3.2 通过实验得到了阿魏酸提取的最佳工艺条件,即:每次向当归粉中加入 12 倍 60%的乙醇溶液,调节水浴温度 80 ℃,在超声功率 225 W 下提取 60 min。提取液离心,继续向滤渣中加入相同量的溶剂,重复上述操作,合并离心上清液,减压浓缩即得阿魏酸提取液,提取率为 94.2%。

3.3 该工艺既节省了溶剂用量又缩短了提取时间同时提高了阿魏酸的提取率,利于后续纯化工作,对企业生产有一定的参考价值。

参考文献:

[1] 王 芳,李 东.当归的化学及药理研究进展[J].中国药房,2003,14(10):630.
[2] 刘辉琳,唐明林,安莲英,等.中草药化学成分提取新技术[J].广州化学,2003,28(2):61.
[3] 黄伟晖,宋纯清.当归的化学和药理学研究进展[J].中国中药杂志,2001,26(3):147-151.
[4] 冯青然,陈燕军.中药提取工艺研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2003,(9):62.

大孔树脂分离黄芪总皂苷工艺研究

邢俊波, 吴 禾, 刘 云, 曹 红
(中国人民解放军总后勤部卫生部药品仪器检验所,北京 100071)

关键词:大孔树脂; 黄芪; 总皂苷

摘要:目的:筛选分离黄芪总皂苷的最佳树脂条件,并对影响分离的各种因素进行系统研究,使分离工艺达到最优化。方法:采用静态与动态吸附-解吸方法,用 HPLC-ELSD 法测定黄芪甲苷的含量对工艺进行评价。结果:最佳工艺为样品提取液按 1BV 上样量通入装有树脂的色谱柱中,收集 9BV 的 70%乙醇部分,得黄芪总皂苷提取物,黄芪甲苷含量可达 30%以上。结论:该法简单可行,分离效果好,能满足大生产的要求。

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-1528(2008)04-0520-03

大孔吸附树脂是一种多孔性的高分子材料,具有多孔性和较大的比表面积,主要通过物理作用从溶液中有选择地吸附有机物质,从而达到分离纯化的目的。

收稿日期: 2007-04-14
作者简介:邢俊波(1971~),男,博士,副主任药师,研究方向:中药质量标准和新药研发,电话:010-66949080。