

紫金砂总香豆素的超声辅助提取工艺研究

但飞君,蔡正军,晏明(三峡大学化学与生命科学学院 天然产物研究与利用湖北省重点实验室,湖北 宜昌 443002)

摘要:目的 研究超声辅助提取紫金砂中总香豆素的最佳提取工艺。方法 以总香豆素提取率为指标,考察超声提取温度、提取功率、提取时间、料液比、提取次数对紫金砂总香豆素提取的影响。选用正交试验设计法对紫金砂的超声辅助提取工艺进行优选。结果 超声辅助提取紫金砂中总香豆素的最佳工艺为:65 ℃,超声功率 90 W,以 1:18 的料液比加入丙酮,超声提取 50 min,提取 4 次。结论 通过验证实验,表明所选的工艺条件可行,在该工艺条件下每克紫金砂平均可提取总香豆素 27.4 mg。

关键词:紫金砂;总香豆素;超声辅助提取;正交试验

中图分类号:R284.2 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2009)01-0026-04

Study on Ultra Sonic-assisted Total Coumarins Extraction from *Angelica polymorpha* Maxim.

DAN Feijun, CAI Zhengjun, YAN Ming (Hubei Key Laboratory of Natural Products Research and Development, College of Chemistry and Life Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To optimize ultra sonic-assisted extraction process of total coumarins from *Angelica polymorpha* Maxim.

METHODS The extraction rate of total coumarins was used as index and the experimental conditions were investigated, such as solvent, extraction temperature, extraction power, extraction time, the ratio of solid to liquid and extraction times. The optimal extraction condition was obtained by orthogonal test. **RESULTS** Optimum technological conditions were determined as follows: 65 ℃, 90 W, 50 min, the ratio of solid to liquid was 1:18, ultra sonic-assisted extracting for four times. **CONCLUSION** The process is feasible and useful for extracting total coumarins from *Angelica polymorpha* Maxim., with average extraction rate of total coumarins as 27.4 mg · g⁻¹.

KEY WORDS: *Angelica polymorpha* Maxim.; total coumarins; ultra sonic-assisted extraction; orthogonal test

紫金砂(*Angelica polymorpha* Maxim.)为伞形科当归属植物白根独活(又称拐芹)的根^[1]。主要分布于湖北、湖南、重庆、陕西省等省区。具有温中散寒、理气止痛的功效。民间一直作为香独活入药,常用其治疗胃痛、腹痛、胸胁痛、风湿关节痛、跌打损伤、毒蛇咬伤等,疗效极佳^[2]。本实验室曾对紫金砂提取物及提取部位进行抗菌、抗溃疡研究,发现其提取物、提取部位具有一定的抗菌活性^[3],酯溶性部位具有显著抗溃疡作用,活性指导下的成分研究以及文献报道紫金砂含有大量香豆素化合物^[4]。这些香豆素类的成分可能是紫金砂的药理活性的物质基础,同时文献报道香豆素类化合物具有抗病毒、抗菌、抗癌、抗炎、降压、抗心律失常、抗骨质疏松、镇

痛、平喘等多种生物活性^[5-6],故紫金砂中香豆素的提取是研究其多种用途的基础。近年来,超声波提取技术在天然产物提取中以提高提取率、缩短提取时间、简化操作步骤等优势而被应用于提取多种天然产物中^[7],但应用提取紫金砂中总香豆素的研究未见报道。本实验系统研究超声波辅助提取紫金砂中总香豆素的工艺条件。以总香豆素的得率为指标,在单因素试验的基础上,采用正交试验方案,对紫金砂的总香豆素的超声波辅助提取工艺条件进行优化,以寻找出最佳提取工艺。

1 仪器和材料

KQ3200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);UV/V U3010 型分光光度计(日本

基金项目:湖北省教育厅自然科学基金项目(20081302);天然产物开发与利用湖北省重点实验室开放基金资助项目(2006NP08)

作者简介:但飞君,女,副教授 Tel:(0717)6397478 E-mail:danfj0458@yahoo.com.cn

日立 HITACHI); AL204 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); SL1002 型电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司); EYELA 型旋转蒸发仪(上海爱郎仪器有限公司); 粉碎机、循环水式真空泵等。

紫金砂药材 2007 年 7 月采于神农架林区木鱼镇, 经三峡大学天然产物研究与利用湖北省重点实验室汪璽值教授鉴定为伞形科植物当归属植物紫金砂 *Angelica polymorpha* Maxim. 的根。氧化前胡素对照品(HPLC 测定, 峰面积归一化法测定含量为 99.5%, 由本实验室提供); 无水乙醇、丙酮、乙酸乙酯均为国产分析纯。

2 方法

2.1 紫金砂总香豆素的含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取经 105 °C 减压干燥至恒重的氧化前胡素对照品 1.6 mg, 用无水乙醇溶解, 定量转入 50 mL 量瓶中, 无水乙醇定容, 摇匀, 即得 32.0 mg · L⁻¹ 的氧化前胡素对照品溶液。

2.1.2 标准曲线的制备 精密吸取上述氧化前胡素标准溶液 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 无水乙醇定容, 摇匀, 在 303.7 nm 波长处测定其吸光度, 以无水乙醇作空白试剂。回归方程: $A = 0.0474C - 0.0283$, $r = 0.9999$ 。

2.1.3 样品测定 精密吸取供试品溶液适量, 按“2.1.2”项下操作, 测定吸收度, 按回归方程计算供试品溶液中总香豆素的浓度 C, 按式(1)计算提取物中香豆素含量; 按式(2)计算每克提取物中香豆素含量;

$$Me = C \times a \times V \quad (1) \quad M = Me/m \quad (2)$$

式中: Me—提取物总香豆素含量(mg); C—供试品溶液中香豆素的浓度(mg · L⁻¹), 由回归方程计算出; a—测定时提取液的稀释倍数; V—提取液总体积, L; M—单位质量(1 g)的紫金砂中提取总香豆素的含量(mg · g⁻¹); m—所取紫金砂的质量(g)。

2.2 溶剂种类的选择

称取 4.00 g 紫金砂粉末, 置入 50 mL 圆底烧瓶中, 分别加入不同的溶剂(乙醇、丙酮、乙酸乙酯)各 20 mL, 加热至 40 °C 后超声(超声功率: 75 W)提取 40 min, 抽滤; 10 mL 提取剂清洗残渣, 抽滤; 同样条件进行第 2、3 次提取。合并滤液测总香豆素含量, 比较溶剂种类对香豆素提取量的影响。

2.3 提取温度对超声提取总香豆素的影响

称取 4.00 g 紫金砂粉末, 置入 50 mL 圆底烧瓶中, 加入丙酮 20 mL 提取, 分别在不同的温度(35, 45, 55, 65, 75 °C)下超声(超声功率 75 W)提取 40 min, 抽滤; 10 mL 提取剂清洗残渣, 抽滤; 同样条件进行第 2、3 次提取。合并滤液测总香豆素含量, 以考察合适的超声提取温度。

2.4 料液比对超声提取总香豆素的影响

称取 4.00 g 紫金砂粉末, 置入 50 mL 圆底烧瓶中, 加入不同体积丙酮, 加热到 65 °C, 超声功率 75 W 超声提取 40 min, 抽滤; 10 mL 提取剂清洗残渣, 抽滤; 同样条件进行第 2、3 次提取。合并滤液测总香豆素含量, 以确定合适的料液比范围。

2.5 超声功率对超声提取总香豆素的影响 称取 4.00 g 紫金砂, 置入 50 mL 圆底烧瓶中, 加入丙酮 32 mL, 65 °C, 不同功率(60, 75, 90, 10 W)超声回流提取, 同样条件进行第 2、3 次提取。合并滤液测总香豆素含量, 以确定合适的超声功率比范围。

2.6 提取时间对超声提取香豆素的影响

称取 4.00 g 紫金砂, 置入 50 mL 圆底烧瓶中, 加入丙酮 32 mL, 超声功率 75 W, 65 °C, 超声(时间分别为 20, 40, 60, 80, 100 min)回流提取, 同样条件进行第 2、3 次提取。合并滤液测总香豆素含量, 考察超声时间对香豆素提取量的影响。

2.7 确定紫金砂香豆素最佳提取工艺条件的正交试验 在单因素试验基础上, 以提取温度、提取功率、超声提取时间、料液比、提取次数为影响因素, 采用正交试验确定各因素不同水平对紫金砂总香豆素提取量的影响, 选用 L₁₆(4⁵) 正交表进行试验方案设计。提取方法: 准确称取紫金砂粉末 2.50 g, 不同量的丙酮加入圆底烧瓶中, 在一定超声功率下回流提取一定时间, 抽滤, 测定提取液香豆素量。

3 结果与分析

3.1 溶剂种类的选择

不同的溶剂在相同的条件下进行超声提取的总香豆素量不相同。其中, 丙酮超声提取时所得的香豆素量最大。故选用丙酮做提取溶剂。

3.2 提取温度对超声提取总香豆素的影响

提取温度不同, 提取的总香豆素含量也不同。在 35 ~ 65 °C 温度范围内随着温度的升高, 香豆素提取量增加, 当温度为 65 °C 时香豆素提取率达到最大值, 温度再升高香豆素提取率反而有所下降。故选择 55, 60, 65, 70 °C 四个水平作正交实验。

3.3 料液比对超声提取总香豆素的影响

超声提取时总香豆素提取量开始随料液比减小

而增加,当料液比为 1:16 时,提取的总香豆素量最大,以后总香豆素提取量随料液比减小而减小,考虑到溶剂耗量和回收溶剂的能耗,选择 1:12,1:14,1:16,1:18 四个水平作正交实验。

3.4 超声提取功率对超声提取香豆素的影响

超声提取时,香豆素提取量随提取功率的增大而增加,到 75 W 时达峰值后随提取功率的增大而减少,由于所用仪器跨幅为 10% (总功率 150 W) 故选择 60,75,90,105 W 四个水平作正交实验。

3.5 超声时间对超声提取香豆素的影响

超声提取时,香豆素提取量随提取时间的延长而增加,到 40 min 时达峰值后随提取时间的延长而减少。

表 2 正交试验结果和极差分析

Tab 2 Result of $L_{16}(4^5)$ orthogonal test

序号	A 提取温度	B 提取功率	C 提取时间	D 料液比	E 提取次数	总香豆素提取量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1	1	1	1	1	1	16.6
2	1	2	2	2	2	20.3
3	1	3	3	3	3	21.2
4	1	4	4	4	4	26.8
5	2	1	2	3	4	18.5
6	2	2	1	4	3	20.6
7	2	3	4	1	2	23.8
8	2	4	3	2	1	16.4
9	3	1	3	4	2	25.6
10	3	2	4	3	1	21.0
11	3	3	1	2	4	22.3
12	3	4	2	1	3	19.0
13	4	1	4	2	3	21.9
14	4	2	3	1	4	23.3
15	4	3	2	4	1	19.6
16	4	4	1	3	2	20.2
总香豆素提取量	K1	21.225	20.650	19.925	19.325	18.400
	K2	19.825	21.300	19.350	20.225	22.475
	K3	21.975	21.725	21.625	20.225	20.675
	K4	21.250	20.600	23.375	23.150	22.725
	极差	2.150	1.125	4.025	3.825	4.325

主次因素 E > C > D > A > B

表 3 方差分析表

Tab 3 Table of variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	均方差	F 值
A 提取温度	9.702	3	3.234	2.759
B 提取功率	3.517	3	1.172	1
C 提取时间	39.562	3	13.187	11.249
D 料液比	23.642	3	7.881	6.722
E 提取次数	47.992	3	15.997	13.646
误差(B)	3.517			

注: $F_{0.05}(3,3) = 9.28$, $F_{0.1}(3,3) = 5.39$

Note: $F_{0.05}(3,3) = 9.28$, $F_{0.1}(3,3) = 5.39$

由极差和方差分析可知,各因素对总香豆素提取

少,故选择 20,30,40,50 min 四个水平作正交实验。

3.6 正交试验结果

正交试验因素水平见表 1,结果与分析见表 2,表 3。

表 1 因素水平表

Tab 1 Factors and levels

水平	提取温度 / $^{\circ}\text{C}$	提取功率 /W	提取时间 /min	料液比 / $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	提取次数 /次
1	55	60	20	1:12	1
2	60	75	30	1:14	2
3	65	90	40	1:16	3
4	70	105	50	1:18	4

率的影响主次顺序不一致,各最佳水平按因素主次顺序排列为,香豆素取量: $E_4 > C_4 > D_4 > A_3 > B_3$ 。在本试验各因素水平范围内,提取时间、提取次数对香豆素提取量有显著影响;料液比对香豆素提取量有一定影响;而提取温度、提取功率对香豆素提取量影响不显著。分析各因素最佳水平顺序,以总香豆素提取量为指标,可以得到在本试验条件下提取的最佳工艺: $A_3B_3C_4D_4E_4$,即以料液比 1:18 的丙酮溶剂,在 65°C ,90 W 下每次超声提取 50 min,提取 4 次。

3.7 最佳实验条件的验证

为进一步验证最佳工艺条件进行验证试验,即称取 2.50 g 原料,以 1:18 的料液比加入丙酮,在 65

℃, 90 W 下每次超声提取 50 min, 抽滤, 提取 4 次, 合并滤液测香豆素含量结果。可见最佳工艺条件下, 紫金砂总香豆素提取量 $27.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 大于正交试验的 16 组数据, 证明在所试验的范围内, 该工艺确实最佳。

4 结论

在超声辅助条件下提取紫金砂总香豆素时, 提取次数、提取时间是影响香豆素提取量的主要因素, 料液比对香豆素提取量有一定的影响, 提取温度、提取功率对香豆素提取量的影响较小。

REFERENCES

- [1] FU S X. Flora HuBeiensis 3 (湖北植物志 3) [M]. Wuhan: Wuhan Scientific and Technical Publishers, 2002:237.
- [2] ZHAN Y H. China Shenlongjia Zhongyao Ziyuan (中国神农架中药资源) [M]. Wuhan: Hubei Scientific and Technical Publishers, 1994:418.
- [3] XIONG Y P, DAN F J, CHEN G H, et al. Study on antibacterial activity of Angelica polymorpha [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2007, 18(11):2740-2741.
- [4] MI C F, WANG C D, QIAO B L, et al. Study on compounds of Angelica polymorpha [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 1995, 30(12):910-913.
- [5] LI Y Y, CHAI D X. Advances on biological activities of coumarins [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2004, 27(3):218-222.
- [6] ZHANG S Y, MENG L, GAO W Y, et al. Advances on biological activities of coumarins [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2005, 30(6):410-414.
- [7] TAN S B. Ultrasonic technology in the natural product extraction [J]. Food Engineering (食品工程), 2007, 16(2):47-50.

收稿日期:2008-01-24