

文章编号:1673-1689(2009)04-0501-04

## 正交设计研究白芍总苷的超声提取工艺

贵永光, 李坤平, 李康, 孔繁晟

(广东药学院药科学院, 广东广州 510006)

**摘要:** 探讨了超声提取温度、溶剂体积、超声提取时间、超声功率对白芍总苷提取率的影响,并用正交试验法进一步优选超声提取工艺条件。实验结果表明:溶剂体积对白芍总苷的提取影响最大,超声提取时间影响最小,超声提取最佳工艺条件为:超声提取温度为 60 ℃,溶剂体积为 25 mL,超声作用时间为 40 min,超声功率为 320 W。白芍总苷提取率为 1.945%。

**关键词:** 正交设计;白芍总苷;超声;提取

**中图分类号:** R 284.2

**文献标识码:** A

### The Optimized Ultrasound Extract Process of the Total Glucosides from Paeony by Orthogonal Experimental Design

BI Yong-guang, LI Kun-ping, LI Kang, KONG Fan-sheng

(College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** The effect of ultrasound temperature, solvent volume, ultrasound time and ultrasound power on the extraction of the total glucosides from paeony was investigated in this study and the optimum extracting process conditions were acquired by Orthogonal Experimental Design as follows: ultrasound temperature 60 ℃, solvent volume 25 mL, ultrasound time 40 min, ultrasound power 320 W. This optimal conditions led to the total glucosides of paeony yield achieved at 1.945%.

**Key words:** orthogonal experimental design, total glucosides of paeony, ultrasound, extraction

超声提取技术是由声学和中药化学相互交叉及渗透发展而来,应用于医药、化学、食品等各个领域,特别在中药有效成分提取中显现出了其强大的生命力。利用超声波产生的强烈的空化效应、扰动效应以及乳化、扩散、击碎和搅拌等多种作用,增加物质分子运动的频率和速度、溶剂的穿透力,从而加速目标成分进入溶剂<sup>[1-3]</sup>。中药材成分十分复杂,而且杂质多、干扰大,因此对样品制备、成分提

取技术要求很高。制备技术落后已经是制约中药发展的“瓶颈”之一。超声提取技术可以简化操作流程,缩短处理时间,提高分离效率。

白芍系毛茛科植物芍药的干燥根。主产于浙江、四川等省,其主要有效成份为芍药苷、芍药内酯苷、氧芍药苷、苯甲酰芍药苷,通称为白芍总苷(TGP),具有镇静、镇痛、抗炎、保肝等活性<sup>[4-6]</sup>。目前评价白芍质量的主要化学指标为芍药苷的含量,

收稿日期:2008-04-28

基金项目:广东药学院博士启动基金项目(2007YKX12)。

作者简介:贵永光(1976-),男(壮族),广西宜州人,工学博士,讲师,主要从事制药工程研究。

Email:biyongguang2002@163.com

有关白芍中主要有效成分芍药苷的含量测定方法报道很多,芍药苷的含量除与药材的产地、生长年限有关外,不同的提取工艺条件和测定方法都会影响芍药苷的含量,从而直接影响白芍的质量评价,因此很有必要制定一个芍药苷含量的下限<sup>[7]</sup>。有资料报道<sup>[9]</sup>,白芍总苷的提取方法有回流法、煎煮法和冷浸法等,这些方法有着传统溶剂提取的缺点,作者采用超声强化溶剂提取白芍中的总苷,并用正交设计法确定超声提取的最佳工艺条件,为白芍的工业应用提供工艺参数。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料、仪器

白芍饮片:购自广州市清平药材市场,经广东药学院鉴定为芍药(*Paeonia lactiflora* Pall)的干燥根,且符合中国药典2005年版白芍项下规定);HH-6型恒温水浴锅:江苏金坛市宏华仪器厂产品;RE-52CS旋转蒸发器:巩义市英峪予华仪器厂产品;予华牌循环水真空泵:河南省巩义市英峪予华仪器厂产品;UV1101紫外/可见分光光度计:上海天美科学仪器有限公司产品;JA2003电子天平:上海恒平科学仪器有限公司产品;KH-400KDB型高功率数控超声清洗器:昆山禾创超声仪器有限公司产品;摇摆式高速中药粉碎机:大德中药机械有限公司产品。

### 1.2 测定方法

**1.2.1 药材前处理** 将白芍饮片经粉碎机粉碎后过40目筛备用。

**1.2.2 白芍总苷的提取** 因白芍提取液中可能含有影响UV测定结果的杂质,所以应除去。文献<sup>[7]</sup>中采用石油醚及饱和正丁醇2种试剂除去杂质,经试验表明,仅用适量石油醚加到白芍提取液中进行萃取即可达到较好效果。

### 1.2.3 白芍中芍药总苷测定方法

1) 原理 选用苯甲酸作为标准对照品。因为白芍总苷中的成分芍药苷在紫外223 nm处有特征吸收峰,这是由该化合物中的苯甲酰基基团产生的,而苯甲酸也有一样的基团,根据紫外分光光度法的原理,两者有相同发色基团,且由光谱图得出在紫外223 nm处出现最大吸收峰,可作为标准对照品来测定化合物含量。

#### 2) 标准曲线的制作

精密称取20 mg白芍药粉定容到100 mL容量瓶,分取1.0、0.8、0.4、0.2、0.1 mL配置成浓度为

万方数据

20、16、12、8、4、2  $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,用紫外分光光度计在223 nm下测定吸光度值制作标准曲线。用最小二乘法做线性回归,得出白芍总苷质量浓度 $C$ 与吸光度 $A$ 的线性回归方程 $A = 0.0722C + 0.0749$ , $R = 0.9976$ 。

3) 白芍总苷提取率的测定 取白芍总苷提取液用紫外分光光度计于223 nm下测出吸光度 $A$ 代入以下回归方程式求得 $C$ 并代入下列公式,计算出白芍总苷的提取率。

$$\text{提取率}(\%) = (C \times V \times 10^{-6} / W) \times 100\%$$

式中, $V$ 为定容体积(mL); $W$ 为白芍药粉质量(g); $C$ 为白芍总苷提取液质量浓度( $\mu\text{g/mL}$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素试验

**2.1.1 考察溶剂体积对提取率的影响** 称取白芍粉末(过40目筛)2.0 g,分别加入10、15、20、25 mL的体积分数80%的乙醇,在温度为30  $^{\circ}\text{C}$ 下超声处理20 min,结果见图1。

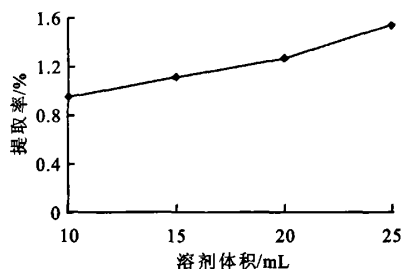


图1 溶剂体积对白芍总苷提取率的影响

Fig. 1 Effect of solvent volume on the yield of total glucosides from paeony

由图1可知当溶剂用量在10 mL时白芍总苷提取率为0.949%,并随着溶剂的增加呈上升趋势,到溶剂用量在25 mL时白芍总苷提取率为1.532%,这是由于溶剂量大,溶剂中的有效成分浓度低,与物料及溶剂边界层的有效成分浓度差大,扩散推动力较大,所以提取率高;相反,溶剂中有效成分浓度高,扩散推动力小,不利于扩散,造成提取率低。但是如果溶剂量太大,在经济上不合算,并且有效成分的提取率不是随着溶剂量增大而无限增大的,当溶剂量增加到一定量后,有效成分的提取率增加的幅度会很快降到一个很小的值。

**2.1.2 考察温度对提取率的影响** 称取白芍粉末(过40目筛)2.0 g,加入10 mL的体积分数80%的乙醇,分别考察30、40、50、60  $^{\circ}\text{C}$ 超声处理20 min对白芍总苷提取率的影响,结果见图2。

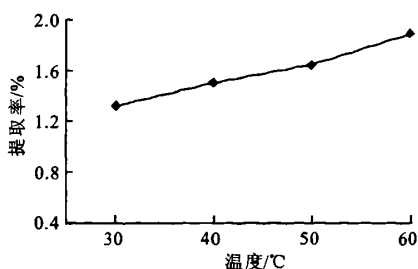


图2 温度对提取率的影响

Fig. 2 Effect of ultrasound temperature on the yield of total glucosides from paeony

由图2可以看出,温度分别为30、40、50、60℃,提取率分别为1.325%、1.505%、1.651%、1.886%。随着实验范围内的提取温度增加,超声提取白芍总苷的提取率呈上升趋势。一般来说,温度升高,溶剂的表面张力系数及粘滞系数下降,蒸气压升高,超声空化阈值下降,有利于空化泡的产生,但是另一方面,由于蒸气压的增大,导致空化强度或空化效应下降,从而不利于提取过程的强化。

**2.1.3 考察超声时间对提取率的影响** 称取白芍粉末(过40目筛)2.0g,加入10 mL的体积分数80%的乙醇,分别考察超声处理20、40、60、80 min对白芍总苷提取率的影响,结果见图3。

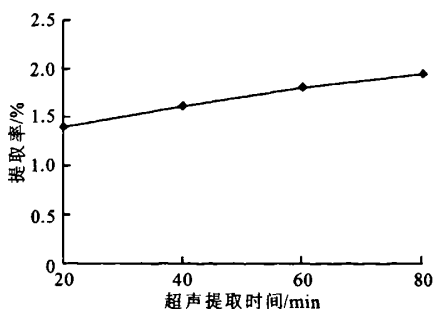


图3 超声时间对提取率的影响

Fig. 3 Effect of ultrasound time on the yield of total glucosides from paeony

由图3可以看出,时间分别为20、40、60、80 min,提取率分别是1.401%、1.612%、1.802%、1.943%。随着实验范围内的提取时间增加,白芍总苷的提取率呈上升趋势。由于有效成分浓度差是超声提取的主要推动力,在提取初期,有效成分浓度差大,因此提取速率快,提取率增加明显,随着提取时间的延长,溶剂中有效成分浓度逐渐增大,和固相中的浓度差逐渐变小,也就是推动力变小,提取速率慢慢减慢,提取率增加不明显,直至推动力为零,有效成分不再溶解。

**2.1.4 考察超声功率对提取率的影响** 称取白芍

粉末(过40目筛)2.0g,加入10 mL的体积分数80%的乙醇,分别考察在超声功率为200、240、280、320 W条件下超声处理20 min白芍总苷提取率的影响,结果见图4。

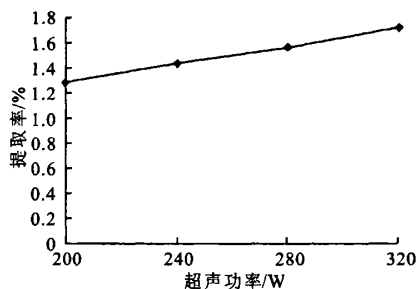


图4 超声功率对提取率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasound power on the yield of total glucosides from paeony

由图4可以看出,在功率分别为200、240、280、320 W,提取率为1.283%、1.439%、1.563%、1.714%。随着实验范围内的提取功率增加,超声提取白芍总苷的提取率呈上升趋势。对一定频率和一定发射面的超声来说,功率增大,声强随之增大。如果声强增大,声压幅值以及液体中压力亦增大,空化泡崩溃所需的时间将变得更短,也就是说单位时间内超声产生的空化事件增多,从而有利于植物药有效成分提取率的提高。

## 2.2 正交实验

上面讨论了各单因子的影响,但是在实际的操作中,各因素是相互交叉影响的。因此,为全面考查影响因素,设计了四因素三水平正交实验见表1,结果见表2。

表1 试验的因素及水平

Tab. 1 Factors and levels of experiment

水平	A 超声提取	B 溶剂	C 超声提取	D 超声
	温度/℃	体积/mL	时间/min	功率/W
1	40	15	20	240
2	50	20	40	280
3	60	25	60	320

从表2可以看出,通过对超声提取温度、溶剂体积、超声提取时间、超声功率的综合评价,对提取率影响的主次顺序为A>B>C>D,上述结果表明:溶剂体积对白芍总苷的提取结果影响最大,超声提取时间影响最小。根据实验结果与分析,最佳的提取工艺条件为A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>即超声提取温度为60℃,溶剂体积为25 mL,超声作用时间为40 min,超声功率为320 W。在这个最佳条件下试验,白芍总苷提取率1.945%。

表2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交实验结果与分析Tab. 2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal experiment results and analysis

编号	A	B	C	D	白芍总苷 提取率/%
1	1	1	1	1	1.420
2	1	2	2	2	1.564
3	1	3	3	3	1.844
4	2	1	2	3	1.472
5	2	2	3	1	1.648
6	2	3	1	2	1.615
7	3	1	3	2	1.583
8	3	2	1	3	1.868
9	3	3	2	1	2.050
K <sub>1</sub>	4.828	4.475	4.903	5.118	
K <sub>2</sub>	4.735	5.08	5.086	4.762	
K <sub>3</sub>	5.501	5.509	5.075	5.184	
K <sub>1</sub> 均值	1.609	1.492	1.634	1.706	
K <sub>2</sub> 均值	1.578	1.693	1.695	1.587	
K <sub>3</sub> 均值	1.834	1.836	1.692	1.728	
极差 R	0.225	0.344	0.061	0.141	

### 3 结 语

通过正交试验对超声提取白芍总苷的结果表明,溶剂体积对白芍总苷的提取结果影响最大,超声提取时间影响最小。根据实验结果与分析,最佳的提取工艺条件为:超声提取温度为60℃,溶剂体积为25 mL,超声作用时间为40 min,超声功率为320 W。在这个最佳条件下试验,白芍总苷提取率1.945%。

### 参考文献(References):

- [1] 刘宇文,熊耀康,姚振生,等.云芝多糖超声提取方法的研究[J].江西科学,2006,24(4):179-181.  
LIU Yu-wen, XIONG Yao-kang, YAO Zhen-sheng, et al. Studies on the ultrasonic extraction of coriolus versicolor polysaccharides[J]. *Jiangxi Science*, 2006, 24(4):179-181. (in Chinese)
- [2] 郭孝武.超声提取杜仲叶中黄酮类物质工艺研究[J].陕西师范大学学报:自然科学版,2005,33(4):59-61.  
GUO Xiao-wu. Ultrasonic extracting technology of flavonoid compound in *Eucommia ulmoides* leaves[J]. *Journal of Shanxi Normal University: Natural Science Edition*, 2005, 33(4):59-61. (in Chinese)
- [3] 朱英,孙腹娣,毛桦.地锦草总黄酮的超声提取工艺研究[J].中国中医药科技,2006,13(6):413-415.  
ZHU Ying, SUN Fu-di, MAO Hua. *Euphorbia humifusa* ultrasonic extraction of total flavonoids technology[J]. *China Traditional Chinese Medicine Science and Technology*, 2006, 13(6):413-415. (in Chinese)
- [4] Kang S S, Shin K H, Chi H J, et al. Galloylpaeniflorin, a new acylated monoterpene glucoside from peony root[J]. *Arch Pharm Res*, 1991, 14(1):52-53.
- [5] Watanabe H. Psychotropic effects of Sino Japanese traditional medicines[J]. *Yakubutsu Seishin Kodo*, 1993, 13(2):951-952.
- [6] 朱蕾,魏伟,郑咏秋.白芍总苷对胶原性关节炎大鼠滑膜的作用及机制[J].药学报,2006,41(2):166-170.  
ZHU Lei, WEI Wei, ZHENG Yong-qiu. Effect and mechanism of action of total glucosides of peony on synoviocytes from rats with collagen-induced arthritis[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2006, 41(2):166-170. (in Chinese)
- [7] 吴英华,任凤莲,蔡小华,等.紫外分光光度法测定白芍总苷的含量[J].应用化工,2007,36(8):822-824.  
WU Ying-hua, REN Feng-lian, CAI Xiao-hua, et al. Determination of paeniflorin in *Paeonia lactiflora* pall by UV spectrophotometry[J]. *Applied Chemical Industry*, 2007, 36(8):822-824. (in Chinese)
- [8] 谢晓梅,廖自荣.芍药中芍药苷提取方法的比较研究[J].中国中医药科技,2005,12(2):99-100.  
XIE Xiao-mei, LIAO Zi-rong. Paeniflorin Paeniflorin comparative study of extraction methods[J]. *China Traditional Chinese Medicine Science and Technology*, 2005, 12(2):99-100. (in Chinese)

(责任编辑:朱明)