

超声法萃取丹参酮红色素的研究

毕小玲^{1,2}, 邓韵^{1,2}, 张干元², 蔡妙颜¹, 贲彦鸿², 范治国¹

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640) (2. 东莞劲芳生物医药孵化器有限公司, 广东 东莞 523808)

摘要: 应用功率超声法在常温下萃取丹参酮红色素成分。以色素得率和色价为综合指标来考察萃取效率。通过单因素试验和正交试验, 结果表明超声萃取色素的最佳工艺条件是: 取粒径为 40 目的丹参粉粒, 以 10 倍量浓度为 85%乙醇溶液超声萃取 9 min, 超声功率为 120 W。同传统萃取方法比较发现, 超声萃取法大大缩短了萃取时间, 且能获得更高的萃取效率。本研究为功率超声萃取技术的应用以及丹参酮红色素的开发奠定了一定基础。

关键词: 丹参酮; 色素; 超声; 萃取

中图分类号: R284.2; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)06-0030-05

Study on Ultrasonic Assisted Extraction of Tanshinones Red Pigment from

Salvia miltiorrhiza bunge

BI Xiao-ling^{1,2}, DENG Yun^{1,2}, Gary Chang², CAI Miao-yan¹, BEN Yan-hong², FAN Zhi-guo¹

(1. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)(2. Dongguan Jinfang Biomedical Incubator Co. Ltd., Dongguan 523808, China)

Abstract: Ultrasonic-assisted extraction (UAE) at room temperature was evaluated for the extraction of tanshinones red pigment from *Salvia miltiorrhiza bunge*. The extraction efficiency was analyzed using extraction rate and chroma value as indices. Results of single factor tests and orthogonal tests showed that the optimal particle size of tanshinones powder, ethanol content, liquid-solid ratio, extraction time and ultrasonic power of technologic parameters were 40 eyes, 85%, 10:1, 9min and 120 W, respectively. Compared with conventional extraction techniques, UAE was more effective with lower extraction time. These researches were helpful to the application of UAE and exploitation of the tanshinones red pigment.

Key word: Tanshinone; Pigment; Ultrasonic; Extraction

丹参(*Radix salviae miltiorrhizae*)为唇形科植物丹参(*Salvia miltiorrhiza bunge*)的干燥根及根茎, 是我国传统医药学中应用最早而且最广泛的药物之一, 具有活血散瘀、消肿止痛、通利关脉、养血安神、清心除烦之功效^[1,2]。对丹参有效成分的早期研究主要集中在脂溶性成分方面, 现已得到40余种化合物^[3], 它们多属于二萜醌类化合物, 总称为丹参酮, 是红色色素成分。研究表明, 丹参中萜醌类化合物具有抗血小板聚集作用^[4]、抗菌消炎作用^[5]和抗肿瘤作用^[6], 而且本身具有较强的还原性, 是良好的天然抗脂质氧化剂^[7], 同时具有较温和的调节性激素的作用^[8]。

丹参脂溶性色素成分的传统提取工艺是有机溶剂浸提^[9], 但是它存在着有机溶剂用量大、时间长、工序多、提取率低等缺点。

超声波提取的基本技术原理主要是利用超声波的空化作用加速植物有效成分的浸出提取。与常规提取法相比, 具有提取时间短、产率高、无需加热、低温提取、有利于有效成分的保护等优点。

本文研究了采用探头式功率超声系统提取丹参酮红色素成分的各条件对提取效率的影响, 并通过正交试验优选出工艺条件, 同时与传统的提取方法作出比较。

1 仪器和材料

材料和试剂: 丹参根药材由广东省中医院提供; 无水乙醇、95%乙醇、乙酸乙脂等均为国产分析纯; 实验用水(18 MΩ/cm)由 Millipore Milli-Q 超纯水系统制备。

UP400S 探针式超声处理系统(德国 Dr. Hiescher 公司), RE-52AAA 型旋转蒸发器(上海嘉鹏科技有限公司), DZF-6050 型真空干燥箱(上海一恒科技有

收稿日期: 2007-03-05

基金项目: 东莞市科技发展专项基金项目(2006D052)

通讯作者: 邓韵(1979-), 男, 硕士, 主要研究方向为天然药物化学与工程

限公司), Fabr-Nr 型电子分析天平 (德国 Sartorius 公司), Unico-UV2102PC 型紫外扫描分光光度计 (上海 Unico 公司), 恒温水槽, HG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱, SHZ-C 型循环水式真空泵 (巩义英峪豫华仪器厂)。

2 实验方法

2.1 超声萃取装置和萃取工艺流程的确定

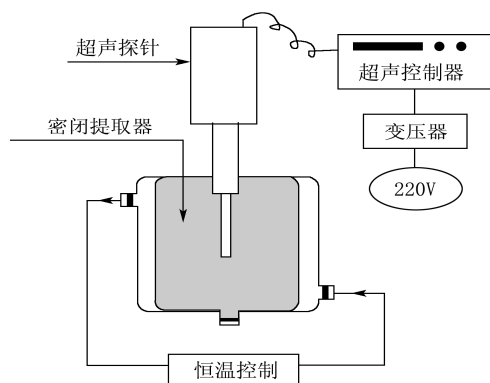


图 1 UP400S 超声处理系统

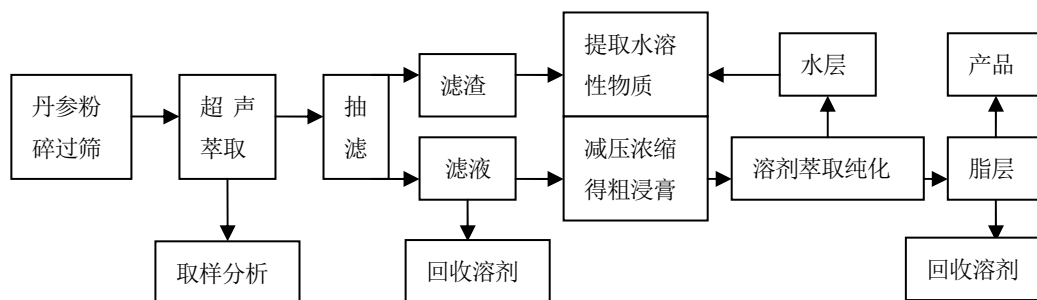


图 2 超声萃取和纯化丹参酮色素成分的工艺流程

2.2 萃取溶剂的选择及色素吸收光谱的测定

根据色素成分的溶解性、有机溶剂的毒性、成本等,我们选用酒精为提取剂。用浓度分别为 55%、65%、75%、85%、95%的乙醇在相同的其他萃取条件下进行实验。取少量样品,用 85%乙醇定容,以 85%乙醇为空白,在波长 400~700 nm 可见光段下扫描,测定其最大吸收波长及其吸光度。

2.3 色素产品萃取效率的测定

目前国内外常采用色价法或者产率法测定色素的

萃取效率,本实验以色价 $E_{1cm}^{1\%}$ (λ_{max}/nm)和色素得率 (e)为考核指标,以二者乘积的综合得分作为萃取率 (E)的评价指标。即:

$$E = E_{1cm}^{1\%} \times e = \frac{A \times n}{w} \times \frac{w}{W} \times 100\% = \frac{A \times n}{W}$$

其中, A - 以 85%乙醇为空白,在 $\lambda_{max}=434nm$ 处的吸光

度; n - 稀释倍数; W - 原料重量 (g); w - 产品重量,本实验每次均称取 20.0 g 丹参粉末。

图 1 为本实验的固-液萃取丹参酮色素物质装置,其包括:超声发生器和超声控制器,通过超声控制器输出不同频率、功率、占空比的功率超声能量,本实验采用频率 24 kHz、占空比 0.5 (工作 0.5 s 停 0.5 s);超声探针,本实验选用 S14/Tip14 型探针,直径 14 mm,最大功率密度 $105 W/cm^2$,即最大输出功率为 160 W;密闭提取器,装有丹参粉和萃取溶剂的混合体系,采用 30 °C 恒温水浴控制。

采取常温恒温超声萃取,避免传统提取方法中高温和萃取时间过长导致丹参酮类物质的分解。丹参中水溶性非色素总酚酸成分有很高的药用价值,在提取色素成分的同时,要兼顾非色素成分的回收利用。色素粗提物中含有部分非色素成分,尤其是部分水溶性酚酸药用成分,能使色素着色力低,且贮存中易吸潮,须进一步纯化分离。本实验利用色素成分易溶于有机溶剂而不溶于水的特性,采用乙酸乙酯萃取法纯化分离工艺,实现脂溶性色素成分与水溶性非色素成分的分离,精制色素。整个工艺流程如图 2。

度; n - 稀释倍数; W - 原料重量 (g); w - 产品重量,本实验每次均称取 20.0 g 丹参粉末。

2.4 各条件对萃取效率的影响

萃取实验工艺条件主要包括液料比、超声功率、提取时间、乙醇浓度和药材颗粒大小,根据初步试验,其条件分别确定为液料比 10:1(v/m)、120 W 超声功率、提取 9 min、溶剂浓度 85%和 40 目颗粒,针对这几个因素改变其中一个因素条件分别做各个单因素试验,考察它们对提取率的影响。

2.5 萃取工艺条件的优化选择

为考察多种因素对提取效果的综合影响,在大量单因素对比试验的基础上,确定最佳液固比,选取其他四个因素做进一步的正交优化试验。

2.6 其他萃取方法的对照

方法 1 (索式提取法):称取丹参粉 20.0 g 置索式提取器中,用 85%乙醇溶液 200 mL 进行水浴加热

回流提取,直至提取液无色,即提取完全。

方法2(冷浸法):称取丹参粉20.0g置密闭容器中,室温25℃下用85%乙醇溶液200mL浸泡24h。

3 结果与分析

3.1 乙醇浓度的选择及色素吸收光谱图

各浓度萃取液的吸收光谱如图3所示,可以发现,乙醇浓度大于75%的萃取液在 $\lambda=434\text{ nm}$ 处均有吸收峰,且观察发现萃取液颜色呈深红色;浓度低于65%时无最高吸收峰,且发现萃取液颜色呈棕褐色,说明乙醇浓度过低,水含量过多不利于色素成分的萃取,而溶出大量极性非色素成分使其呈棕褐色。故须选用浓度高于75%的乙醇作为萃取溶剂。

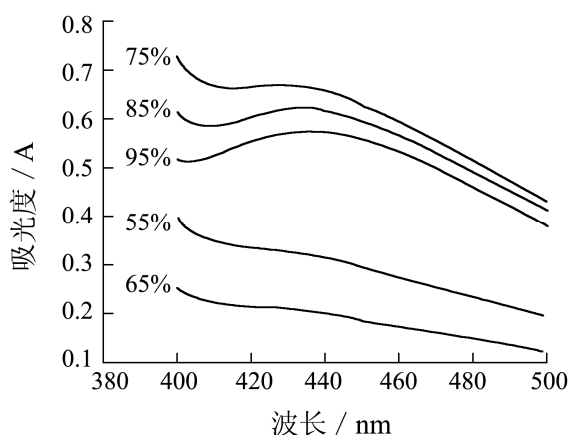


图3 不同溶剂浓度萃取液的吸收光谱图

3.2 单因素试验结果及分析

3.2.1 液料比对萃取效率的影响

丹参粉末质量与所用溶剂的体积比过低,不利于色素成分充分溶解萃取出来,而过高则会降低超声波在液体中的空化效应的集中强度,实验选择液料比(v/m)分别为4:1、6:1、8:1、10:1、12:1和14:1的条件下,研究超声波破碎萃取中溶剂体积对提取率的影响,结果如图4。

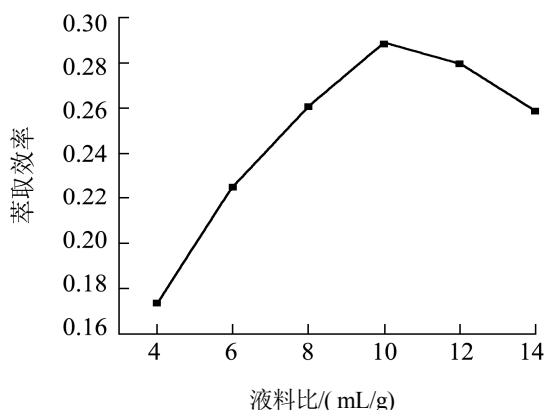


图4 液料比对萃取效率E的影响

从图4可看出,液料比为4:1和6:1时提取效率过低,不利于细胞破碎和有效成分的释出和溶解,而且过滤分离时损失比率过大;液料比为10:1,提取效率最高达0.297,可把大部分丹参酮红色素提取出来。随着溶剂量的增加,提取效率有所降低,其原因是溶液体积过大时,探头式超声萃取中,超声能量对沉滞低层的丹参颗粒的乳化效果、机械冲击和空化效应的强度减弱,影响超声萃取效果,所以后面的实验均选择液料比为10:1。

3.2.2 颗粒大小对萃取效率的影响

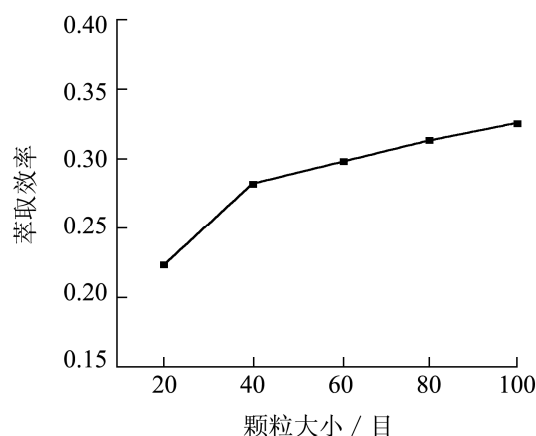


图5 颗粒大小对萃取效率E的影响

由图5可知,丹参粒径的减小,使其比表面积增加,液-固界面增加,明显提高了萃取效率;而超过40目后,萃取效率改善不明显,样品颗粒过细,实验或者工业生产中不易操作处理,因此在实际应用中的意义不大,故选择20~80目的样品作为后面正交试验的考察对象。

3.2.3 乙醇浓度对萃取效率的影响

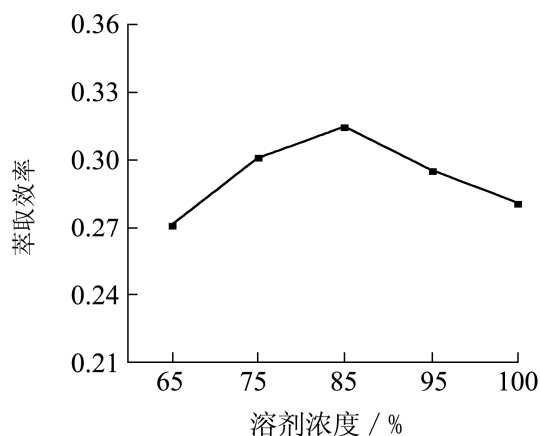


图6 乙醇浓度对提萃取效率E的影响

图6可知,当用乙醇浓度过低时,尽管产率较高,但溶液颜色呈红褐色,非色素成分等杂质较多,色价

低, 萃取效率较低。浓度在 85%左右萃取效果最好, 可以推断, 溶剂中的少量水对脂溶性色素成分起着协同萃取的作用, 而且较高浓度的乙醇便于回收利用。

3.2.4 提取时间对萃取效率的影响

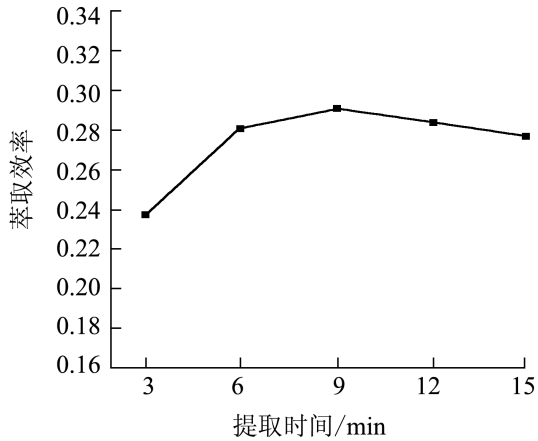


图7 提取时间对萃取效率E的影响

图7的结果表明, 随超声波总辐射时间的增加, 提取率也随之提高。时间为6 min和9 min时, 提取效率分别达到0.285和0.302。之后随着时间延长, 提取效率反而略有降低, 这是因为超声连续辐射时间过长, 超声热效应使局部温度过高, 丹参酮色素成分里的丹参酮IIA和隐丹参酮容易受热分解^[11], 引起得率有所下降。

3.2.5 超声功率对萃取效率的影响

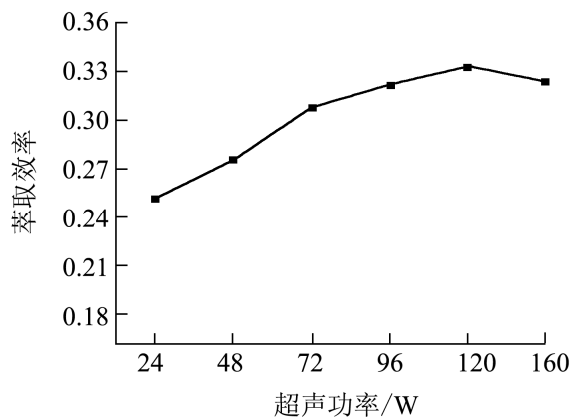


图8 超声功率对萃取效率E的影响

由图8可知, 超声波的输出功率对提取率有较大影响。超声波通过空化效应破碎细胞的过程实际就是空化泡形成、振动、膨胀、压缩和崩溃闭合的过程, 输出功率的增大, 有利于液体中空穴的形成, 产生更多的空化泡, 使整个破碎过程作用增强。在本实验所用仪器最大输出功率160 W的情况下, 输出功率提高至72 W之后, 提取率增加得不再明显, 到120 W时萃取效率达到最大值0.334; 而全功率输出时, 萃取效

率有所降低, 这是因为功率过大, 聚集的热能未能及时释放使溶液体系温度过高, 促使热稳定性不好的丹参酮成分易发生降解^[10], 萃取效率降低。因此, 超声萃取天然产物有效成分时, 应选择合适的超声功率, 既可以优化萃取效果又利于节约能量。

3.3 萃取条件的优化选择

3.3.1 正交试验设计

根据单因素试验结果后选取4因素合适的三个水平, 进行 $L_9(3)^4$ 正交试验设计, 如表1。

表1 因素水平表

水平	A(乙醇浓度/%)	B(提取时间/min)	C(超声功率/W)	D(颗粒大小/目)
1	75	6	96	20
2	85	9	120	40
3	95	12	144	80

3.3.2 正交试验结果及分析

试验结果的直观分析和方差分析结果分别见表2和表3。

表2 $L_9(3)^4$ 正交试验设计及试验数据结果

试验号	A	B	C	D	萃取效率
1	1	1	1	1	0.1407
2	1	2	2	2	0.3885
3	1	3	3	3	0.3696
4	2	1	2	3	0.3601
5	2	2	3	1	0.2296
6	2	3	1	2	0.2772
7	3	1	3	2	0.2436
8	3	2	1	3	0.2639
9	3	3	2	1	0.1736
K_1	0.8988	0.7443	0.6819	0.5439	
K_2	0.8670	0.8820	0.9222	0.9093	
K_3	0.6810	0.8250	0.8427	0.9936	
k_1	0.2996	0.2481	0.2273	0.1813	
k_2	0.2890	0.2940	0.3074	0.3031	
k_3	0.2270	0.2735	0.2809	0.3312	
r	0.0726	0.0459	0.0801	0.1499	

表3 方差分析结果

因素	SS	df	F	$F_{0.05}$	$F_{0.1}$	P	有无显著差异
A	0.009	2	1.227	5.140	3.460	>0.1	无
B	0.003	2	0.409	5.140	3.460	>0.1	无
C	0.010	2	1.364	5.140	3.460	>0.1	无
D	0.038	2	5.182	5.140	3.460	<0.1	有

结果表明, 以 $A_1B_2C_2D_3$ 为最优工艺条件。四因

素的极差结果表明, 其对萃取效率的影响程度为: D (颗粒大小) > C (超声功率) > A (乙醇浓度) > B (提取时间); 方差分析发现, A、B、C 因素均无显著性差异, D 呈显著性差异。这说明颗粒过大萃取效果不理想, 有效成分浸出很不完全; 而且超声萃取过程中超声功率对萃取效率的影响大于提取时间。考虑 A 因素无显著性差异, 浓度为 75% 和 85% 时萃取效率相近, 同时考虑生产中乙醇的回收与利用, 乙醇浓度为 85% 左右较为合适。同时发现颗粒大小为 40 目和 80 目时萃取效率变化不大, 考虑生产成本和便于实际生产中的提取分离等原因, 故选择 40 目更为合适。因此实际生产工艺应选 $A_2B_2C_2D_2$ 为宜。

3.3.3 证实试验

按选定的 $A_2B_2C_2D_2$ 条件进行三次验证试验, 其萃取效率结果平均值为 0.3864, 与正交试验最大值 0.3885 相近。

3.4 与传统提取方法的比较

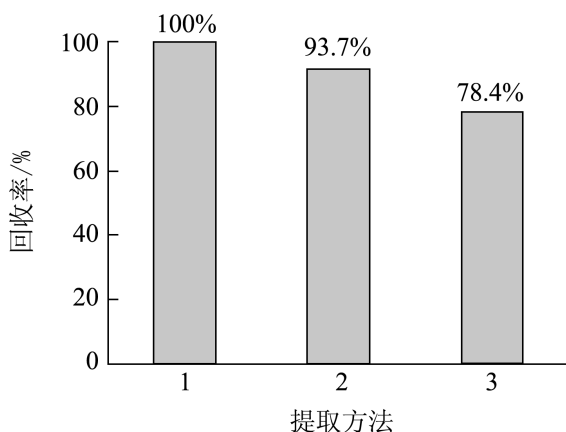


图9 超声萃取和其他提取方法的比较

图9知, 方法2—超声萃取法的回收率为 93.7%, 方法3—冷浸 24 h 的回收率仅为 78.4%, 这表明超声萃取 9 min 就能够基本萃取出丹参酮红色素大部分成分。

4 结论

丹参酮红色素最佳提制工艺条件为: 取粒径为 40 目的丹参粉粒, 以 10 倍量浓度为 85% 乙醇溶液超声萃取 9 min, 超声功率为 120 W。

通过超声辅助溶剂萃取得到了较好的提取效果, 比普通的冷浸提取既节省时间又提高了收率。这主要是因为超声波强化了植物细胞的破碎作用, 同时增强了乳化作用, 加大了萃取两相间的接触面积, 加强了丹参颗粒内有效成分向外的扩散作用, 使提取效果得到了显著的提高。

参考文献

- [1] 郭济贤. 丹参的研究与临床应用[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1992.1
- [2] 徐任生. 丹参—生物学及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 1990.1
- [3] 杜冠华, 张均田. 丹参现代研究概况与进展(续一)[J]. 医药导报, 2004, 23(6): 355-360
- [4] H. W. Luo, X. J. Hu, N. Wang, J. Jiang. Acta Pharm(Sinic). 1988, 23: 830
- [5] G. Hondts, Y. Keezuka, M. Tabata. Chem. Pharm. 1988, 36: 408
- [6] 袁淑兰, 王修杰, 等. 丹参酮抗肿瘤作用及其机理的研究[J]. 癌症, 2003, 22(12): 1363-1366
- [7] 孙利芹, 姜爱莉, 林剑. 丹参抗氧化成分的提取及其活性研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(4): 53-55
- [8] 王忠永, 邱会芬. 丹参酮对痤疮患者血清性激素水平的影响及临床疗效观察[J]. 中国医师杂志, 2001, 3(4): 311-312
- [9] X. Pan, G. Niu, H. Liu. J. Chromatogr. A, 2001, 922: 371
- [10] 卢文彪, 曾元儿, 钟镜金, 等. 丹参制剂中丹参酮 IIA 的稳定性影响因素考察[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(1): 7-9
- [11] 陈雷, 杨屹, 张新祥, 等. 密闭微波辅助萃取丹参中有效成分的研究[J]. 高等学校化学学报, 2004, 25(1): 35-38

(上接第 24 页)

参考文献

- [1] 蒋爱民. 畜产食品工艺学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000
- [2] 罗秀文. 全面质量管理基础知识[M]. 北京: 科学普及出版社, 1989

- [3] 周李宏, 吴武典. 延长广式香肠货架期的研究[J]. 现代商贸工业, 2001, (11): 49-50
- [4] 王仲礼. 台式香肠生产工艺与技术[J]. 肉类工业, 2005, 289(5): 1-3
- [5] 刘美玉, 任发政, 朱茂云. 临洛关驴肉香肠的加工技术及保鲜方法[J]. 食品研究与开发, 2006, (10): 98-101