

# 超声波提取决明子蒽醌成分的研究

杨黎燕<sup>1</sup>, 赵新法<sup>2</sup> (1. 西安医学院药理学系, 陕西西安 710021; 2. 陕西能源职业技术学院, 陕西咸阳 712000)

**摘要** [目的] 确定超声提取决明子中的蒽醌类成分最佳工艺条件。[方法] 于 40 kHz 下采用超声提取决明子中的蒽醌类成分。在单因素试验的基础上, 以乙醇浓度、料液比、提取时间 3 因素进行正交试验, 优化超声波提取决明子中蒽醌的工艺条件, 并与热回流法提取效果进行对比。[结果] 3 种因素对超声波提取决明子中蒽醌提取率的影响程度依次为: 乙醇浓度 > 料液比 > 提取时间。最佳提取条件为: 乙醇浓度 80%, 料液比 1:30, 提取时间 20 min, 提取 2 次。与传统热回流提取法的比较结果表明, 超声波 20 min 的提取率相当于热回流 1.5 h 的提取率, 大大降低能耗节约成本。[结论] 超声法提取法避免了长时间高温加热对蒽醌有效成分的破坏。

**关键词** 蒽醌; 超声波提取; 正交试验

**中图分类号** Q681 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)05-01726-02

Study on Extracting Anthraquinone Component from *Cassia obtusifolia* L. by Ultrasound Wave

YANG Li-yan et al. (Department of Pharmacy, Xi'an Medicine College, Xi'an, Shaanxi 710021)

**Abstract** [Objective] The aim of the study was to confirm the optimum technics condition of extracting anthraquinone component from *Cassia obtusifolia* L. by ultrasound wave. [Method] The anthraquinone component from *C. obtusifolia* was extracted by ultrasound wave at 40 kHz. Based on single factor test the orthogonal experiment was conducted with 3 factors of ethanol concentration, solid-liquid ratio and extracting time to optimize the technics condition of extracting anthraquinone component from *C. obtusifolia* by ultrasound wave and compare its extracting effect with that by thermal refluxing extraction. [Result] The effects of 3 factors on extracting anthraquinone component in order were ethanol concentration > solid-liquid ratio > extracting time. The optimum extracting condition was 80% ethanol, solid-liquid ratio of 1:30 and extracting time of 20 min. [Conclusion] The ultrasound wave extraction can avoid the destruction of anthraquinone effective component caused by heating at high temperature for long time.

**Key words** Anthraquinone; Ultrasonic wave extraction; Orthogonal experimental

决明子 (*Cassia obtusifolia* L.) 为中国药典收载的常用中药, 含有丰富的人体必需营养素, 还含有多种活性功能成分, 具有清热明目, 润肠通便之功效<sup>[1]</sup>, 并且具有降压保肝、增强机体免疫、抗衰老等多种生理活性, 开发利用前景日趋广泛。传统提取植物蒽醌成分多采用热回流法、浸渍法、渗漉法。热回流法因长时间受热而易破坏其中的有效成分; 浸渍法不需要加热, 但提取时间长, 效率不高; 渗漉法提取率较高, 但溶剂消耗量大, 耗时长。为此, 笔者用超声提取决明子中的蒽醌, 旨在为决明子中蒽醌的提取提供理想的方法。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** KQ-250 超声波仪 (40 kHz, 昆山市超声仪器有限公司生产); TU-1800S 紫外分光光度计 (北京普析通用仪器设备有限公司生产); LDS-2A 离心机 (北京医用离心机厂生产); HH-4 数显恒温水浴锅 (常州国华电器有限公司生产); IFFL-D 型流动注射化学发光分析仪 (西安瑞科电子有限公司生产)。

1,8-二羟基蒽醌标准乙醚溶液 (1 mg/ml); 0.5% 醋酸镁-甲醇溶液; 10% 三氯化铁; 冰醋酸-25% 盐酸; 95% 乙醇; 氯仿; 甲醇。以上试剂均为分析纯, 水为二次亚沸水。产于陕西的决明子 (购于咸阳医药大厦)。

## 1.2 方法

**1.2.1 标准曲线的绘制**<sup>[2]</sup>。精密吸取 0.1 mg/ml 的 1,8-二羟基蒽醌标准液 0.02、0.05、0.10、0.15、0.20 ml 于 10 ml 具塞试管中, 水浴上加热除去乙醚, 残渣加 0.5% 醋酸镁-甲醇溶液溶解至刻度, 摇匀, 以 1 号试剂为空白, 于 512 nm 波长处测定其吸光度, 以吸光度 A 对浓度 C 作图, 绘制标准曲线。其线性回归方程为:  $A = 0.044 C (\mu\text{g/ml}) + 0.0138$ ,  $r = 0.9997$  ( $n = 6$ )。

样品在 5~30  $\mu\text{g/ml}$  内线性关系良好。

**1.2.2 单因素试验**。在预试验的单因素试验基础上, 分别考察了样品粉碎粒度 (20、30、40 目)、提取时间 (5、15、20、25、30 min)、提取溶剂 (乙醇) 的浓度 (50%、60%、70%、80%、90%、95%)、料液比 (1:10、1:20、1:25、1:30、1:35)、提取次数 (10、20、30 min 下各 1 次、2 次) 对蒽醌提取率的影响, 以确定相关因素及其范围。

**1.2.3 正交试验**。称取决明子细粉 3 份, 每份 2 g, 在以上单因素试验的基础上, 选取乙醇浓度、料液比、提取时间 3 个因素, 在 40 kHz 下超声波提取 2 次, 离心, 滤液定容至 100 ml, 进行正交试验。因素水平设计见表 1。

另设热回流试验作对比: 称取决明子细粉 3 份, 每份 2 g, 分别加浓度 80% 乙醇 30 ml, 水浴回流 1.5 h, 提取 2 次, 离心, 滤液定容至 100 ml。

表 1 因素与水平设计  
Table 1 Factors and level design

水平 Level	浸提时间(A)//h Extracting time	料液比(B)//W/V Solid-liquid ratio	乙醇的浓度(C)//% Concentration of ethanol
1	10	1:15	60
2	20	1:25	70
3	25	1:30	80

**1.2.4 总蒽醌含量的测定**。分别精密吸取“1.2.2”和“1.2.3”下超声波及热回流的样品液 1 ml 于 25 ml 具塞试管中, 置于水浴上蒸干; 冷却后, 残渣加 3 ml 蒸馏水溶解, 加 10% 三氯化铁于沸水浴上加热, 再加冰醋酸-25% 盐酸 2 ml 于沸水浴上水解结合蒽醌, 并不断摇振; 冷却至室温, 倾入分液漏斗中, 用 5~10 ml 氯仿萃取 2 次, 合并萃取液, 加少量蒸馏水洗滌, 收集氯仿液; 水浴上蒸干, 残渣用 10 ml 0.5% 醋酸镁-甲醇液溶解, 于 512 nm 处测吸光度, 从标准曲线上读出样品中蒽醌的含量。依下式计算总蒽醌提取率。

$$\text{提取率} = \frac{C_{\text{实测}} \times V_{\text{样}} \times \text{稀释倍数}}{W_{\text{样}} \times \text{药材含量}} \times 100\%$$

**作者简介** 杨黎燕 (1968-), 女, 陕西西安人, 硕士, 副教授, 从事天然产物及药物分析研究。

**收稿日期** 2007-08-24

式中,  $C_{\text{实测}}$  为样品测定的浓度,  $\text{mg/ml}$ ;  $V_{\text{样}}$  为样品定容体积,  $\text{ml}$ ;  $W_{\text{样}}$  为样品重量,  $\text{g}$ 。

2.1.2.5 游离蒽醌含量的测定。吸取各提取液 2 ml 于分液漏斗中, 加水 3 ml 剧烈摇动, 用 5~10 ml 氯仿萃取 2 次, 依“1.2.4”操作。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

2.1.1 样品粒度对决明子蒽醌提取率的影响。在超声频率为 40 kHz, 超声功率为 100 W, 提取时间为 20 min 条件下, 样品粒度为 20、30、40 目对蒽醌提取率影响不大, 且过度粉碎, 物料容易黏结在一起, 导致过滤困难和提取液混浊不清。为了便于操作, 原料粒度以 20 目为宜。

2.1.2 提取时间对决明子蒽醌提取率的影响。在其他条件不变的情况下, 改变超声作用的时间进行试验, 探讨超声时间对蒽醌提取效果的影响, 其结果见图 1。由图 1 可知, 随着时间的延长, 提取率提高; 时间过短, 溶出物少且蒽醌含量低; 时间过长, 随着超声波对细胞膜破碎作用的加大, 溶液中溶出物增加, 但杂质含量也相应增加, 影响提取质量。试验中发现, 超声提取时间达到 20 min 以后, 提取率升高很少, 说明在超声提取过程中, 也有可能存在对浸提出的有机物的合成和分解作用, 所以选择提取时间为 10、20、25 min 进行正交试验。

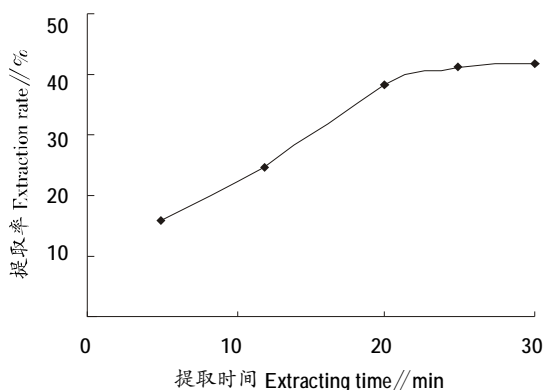


图 1 不同提取时间对决明子蒽醌提取率的影响

Fig. 1 Effect of extracting time on extraction rate of anthraquinone from *Cassia obtusifolia* L.

2.1.3 乙醇浓度对决明子蒽醌提取率的影响。在其他条件不变的情况下, 改变乙醇浓度进行试验, 探讨乙醇浓度对蒽醌提取效果的影响, 其结果见图 2。由图 2 可知, 随着乙醇

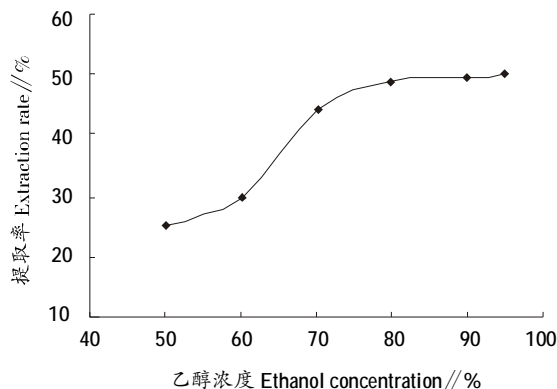


图 2 不同乙醇浓度对决明子蒽醌提取率的影响

Fig. 2 Effect of ethanol concentration on extraction rate of anthraquinone from *Cassia obtusifolia* L.

浓度的增加, 总蒽醌的提取率也在增加, 但当乙醇浓度达 80% 以后, 提取率改变很小。蒽醌类是醇溶性有机物质, 当乙醇浓度增加时, 有利于蒽醌类物质的提取; 另外, 水的比热、极性较大, 对介质吸收超声波的能力有一定影响。综合考虑, 选择乙醇浓度为 60%、70%、80% 进行正交试验。

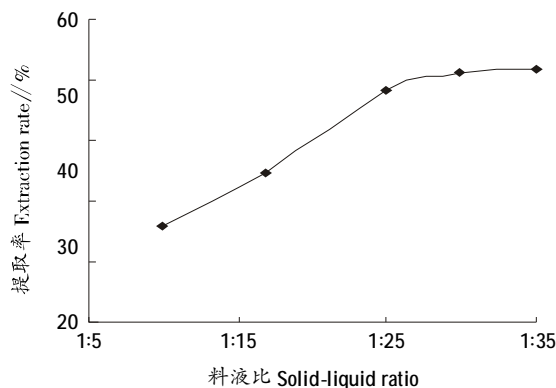


图 3 不同料液比对决明子蒽醌提取率的影响

Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on extraction rate of anthraquinone from *Cassia obtusifolia* L.

2.1.4 料液比对决明子蒽醌提取率的影响。在其他条件不变的情况下, 改变料液比进行试验, 探讨不同料液比对蒽醌提取效果的影响, 其结果见图 3。由图 3 可知, 当料液比从 1:10 增加到 1:30 时, 提取率急剧上升, 随着料液比继续增加, 提取率又呈下降趋势。故选择料液比为 1:15、1:25、1:30 进行正交试验。

2.1.5 提取次数对决明子蒽醌提取率的影响。在其他条件不变的情况下, 选择不同提取时间, 分别提取 1 次、2 次, 考察不同时间下, 提取次数对决明子蒽醌提取率的影响, 其结果见表 2。

表 2 不同提取次数对决明子蒽醌提取率的影响  
Table 2 Effect of extracting time on extraction rate of anthraquinone from *Cassia obtusifolia* L.

浸提时间 // min Extracting time	浸提次数 // 次 Extracting times	提取率 // % Extraction rate
10	1	25
	2	34
20	1	37
	2	45
30	1	38
	2	42

由表 2 可知, 提取 2 次的提取率大于提取 1 次的提取率, 但随着提取时间的增加, 提取次数对提取率的影响逐渐减少。在较短的提取时间下, 提取次数对提取率仍有较大的影响, 随着时间的延长, 蒽醌的提取率已达到一个较高的水平; 进一步增加提取次数时, 由于原料中的大部分蒽醌成分已被提取, 因此蒽醌提取量已不能保持原有的增加率。综合考虑, 在选择较短的提取时间的前提下, 选择提取次数为 2 次进行正交试验。

2.2 正交试验结果 正交试验结果见表 3。由表 3 可知, 各因素影响提取率的程度大小顺序为:  $C > B > A$ , 即最大影响因素是乙醇浓度, 其次为料液比, 提取时间的影响最小。各因素的最佳组合为  $A_2B_3C_3$ , 即乙醇浓度 80%, 料液比 1:30, 提取时间 20 min, 提取 2 次。按试验优化的最佳提取条件, 与传统热回流法作了提取试验对比, 结果见表 4。由表 4 可

(下转第 1743 页)

mol/L 范围内氢氧化钠用量考察试验结果表明,氢氧化钠最佳浓度为 0.2 mol/L。

2.2 鲁米诺浓度的影响  $5.0 \times 10^{-2}$ ~ $5.0 \times 10^{-4}$  mol/L 范围内不同浓度的鲁米诺对发光强度的影响试验结果表明,当鲁米诺浓度为  $2.0 \times 10^{-3}$  mol/L 时,有最大化学发光强度。

2.3 高锰酸钾浓度的影响 试验结果表明,高锰酸钾浓度为  $5.0 \times 10^{-4}$  mol/L 时,具有最大信噪比。

2.4 校准曲线、样品测定 为了提高测定的精密度和准确度,校准曲线按镁(II)浓度的分段绘制。以化学发光强度 Y 和镁(II)浓度 x 进行线性回归的基本参数列于表 1。

表 1 校准曲线线性范围及回归方程  
Table 1 Linear range and regression equation of calibration curve

浓度范围/g/ml Concentration range	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient
$8.0 \times 10^{-8}$ ~ $1.0 \times 10^{-6}$	$Y=74.53x-35.16$	0.996 3
$1.0 \times 10^{-6}$ ~ $8.0 \times 10^{-5}$	$Y=379.18x-470.33$	0.998 4

对浓度为  $8.0 \times 10^{-7}$  g/ml 镁(II)溶液连续进行 11 次平行测定,相对标准偏差为 2.3%,计算得该方法镁(II)检出限为  $3.3 \times 10^{-8}$  g/ml,换算成叶绿素为  $1.1 \times 10^{-6}$  g/ml。按试验方法测定新鲜菠菜叶绿素含量与分光光度法测定含量对照结果见表 2。

### 3 结论与讨论

试验结果表明,以浓度  $8.0 \times 10^{-7}$  g/ml 镁(II)溶液进行

(上接第 1727 页)

表 3 正交试验结果(n=3)  
Table 3 Result of orthogonal test

试验号码 Test No.	浸提时间 (A)//min Extracting time	料液比 (B)//W/V Solid-liquid ratio	乙醇浓度 (C)//% Ethanol concentration	总蒽醌提取率//% Extraction rate of total anthraquinone
1	1	1	1	41.7
2	1	2	2	46.2
3	1	3	3	54.9
4	2	1	2	47.1
5	2	2	3	61.0
6	2	3	1	46.9
7	3	1	3	56.0
8	3	2	1	41.1
9	3	3	2	57.0
R	3.1	4.6	14.1	

表 4 超声波和热回流提取蒽醌成分的对比  
Table 4 Comparison of anthraquinone extraction by ultrasonic and hot reflux

提取方法 Extracting method	提取时间//min Extracting time	总蒽醌//% Total anthraquinone	游离蒽醌//% Dissociated anthraquinone	结合蒽醌//% Combined anthraquinone
热回流法 Hot reflux method	180	62.3	14.8	47.5
超声波法 Ultrasonic method	40	62.1	14.5	47.6

注:表中时间分别为提取 2 次的总时间。Note: Time in the table is the total time of 2 extractions.

### 参考文献

[1] 江苏新医学院.中药大辞典(上册)[M].上海:上海科学出版社,1986:949.

表 2 叶绿素样品分析结果  
Table 2 Analysis result of chlorophyll samples

样品 Samples	测定值//g/kg Measured value	RSD//%	光度法 <sup>①</sup> //g/kg Spectrophotometry
1	5.6	2.1	2.48
2	10.3	1.9	2.50
3	20.1	2.4	2.54

干扰性试验,在相对误差不超过 $\pm 5\%$ 的情况下,至少可允许 1 000 倍的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Cl}^-$ ,500 倍的  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 存在,不产生干扰,同倍的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 有干扰,由于植物提取液中  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 在分离过程中被除去,因而对叶绿素的测定经萃取-反萃取后可直接用于测定。该方法无需叶绿素标准物质,且分析方法简单、快速、灵敏,已用于蔬菜叶绿素含量测定,结果令人满意。但对叶绿素 a、b 各自含量的确定有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 曾昭琼.有机化学[M].3 版.北京:高等教育出版社,1993.
- [2] 《全国主要湖泊、水库富营养化调查研究》课题组.湖泊富营养化调查规范[M].北京:中国环境科学出版社,1987.
- [3] 汪志国,王静,李国刚.双波长分光光度法同时测定叶绿素 a、b[J].中国环境监测,1999,15(5):21-22.
- [4] FATIMA L,CANJURA,STEVEN J,et al.Separation of Chlorophyll compounds and their polar derivatives High-Performance Liquid Chromatography[J].J Agric Food Chem,1991,39:1102-1105.

知,超声波 20 min 的提取率相当于热回流 1.5 h 的提取率。

### 3 结论与讨论

超声波提取的优点是利用超声波的空化现象,造成被破碎物细胞壁及整个生物体破裂,而且整个破碎过程瞬间完成;同时超声波产生的震动作用加强了胞内物质的释放、扩散及溶解,加速植物中的有效成分进入溶剂,进一步增大了有效成分的溶出<sup>②</sup>。超声法提取全过程无需加热,一般在常温下进行,避免了长时间高温加热对蒽醌有效成分的破坏,尤其可用于热不稳定成分的提取,可降低能耗。该试验表明,不同因素影响决明子蒽醌提取率的大小顺序为:乙醇浓度>料液比>提取时间。蒽醌最优提出条件为:乙醇浓度 80%,料液比 1:30,提取时间 20 min,提取 2 次。

[2] 吴银生,陈坚.望江南中蒽醌类成分的比色测定[J].现代中药研究与实践,1996(2):39-40.

[3] 应从副.超声学[M].北京:科学出版社,1990:511.