

文章编号: 2096-1618(2016)04-0372-05

藏红花药物高能超声提取的工艺参数优化

王保强, 杨小平, 李永红

(成都信息工程大学电子工程学院, 四川 成都 610225)

摘要:高能超声空化效应运用于中药成分提取的关键问题是工艺设计的科学性。为揭示超声空化效应的作用机制,探索藏红花超声提取工艺的最佳化,采取理论分析和实验验证,对高能超声提取中药的作用机制进行了研究,并基于藏红花提取物药用成分的 HPLC 检测数据,实现超声提取工艺的参数优化。研究表明,超声空化效应的能量特征及其作用机制是可控的。另外,依据提取物中主要成分(Crocus-I 和 Crocus-II)含量最大化原则,得知藏红花超声提取工艺的最佳参数为:功率密度为 $2.0 \sim 3.0 \text{ W/cm}^3$;提取时间为 $20 \sim 30 \text{ min}$ 。

关键词:生物工程;中藏药;藏红花提取;高能超声;声空化效应;超声化学法;参数优化

中图分类号: TB556

文献标志码: A

0 引言

藏红花(Crocus sativus L.)是鸢尾科番红花属多年生花卉,最早主要分布于欧洲、中亚、地中海沿岸至喜马拉雅山麓,亦称藏红花,明朝时列入《本草纲目》名贵中药材。其花含藏红花素约2%,含藏红花酸二甲酯、藏红花苦素约2%、藏红花醛等挥发油0.4%~1.3%及丰富的维生素B₂、球茎含葡萄糖、氨基酸、皂甙^[1-2]。

由于藏红花含有多种珍贵的药食用成分,其成分的保护性提取利用成为有意义的课题。

研究和实践证明,常温条件下基于声化学机制的药物提取比煎煮等提取工艺具有诸多优势。文中重点介绍两方面研究:揭示超声空化效应的作用机制;依据提取物中的药用成分含量,探索藏红花超声提取工艺参数的最佳化。

1 研究内容与方法

1.1 声空化效应与声化学机制

声空化效应分为稳态与瞬态空化效应,主导声化学机制的主要能量来源于后者。

液体中的空化气泡在声能作用过程中,随着声波压力大小的周期性变化,其体积也随之变化,直至闭合爆裂。在增长到极大并迅速爆裂瞬间,将产生高压(400~700 MPa)、高温(16000 K)、发光、放电

(1 kV/cm)等能量聚变效应^[3-5],即瞬态空化效应。瞬态声空化效应伴随的能量聚变作用于其他物质,将导致该物质发生各种物理、化学变化,这就是声化学机制。

在瞬态声空化的研究中,利用动力学方法,基于Rayleigh-Plesset及Gilmore模型^[6-7],分析液体性质、超声场参量,参考公式(1)所描述的声空化产出率的定量关系,从而探索声化学机制的可控性。

声空化率 $r_1 = kC_1$,其中, C_1 是空化核初始浓度, k 是多元函数,是影响反应率的关键。

$$k = k_0 \exp\left[\frac{-EP_{\min}KC_1}{RT \cdot P_{\max}(r-1)^2}\right] \quad (1)$$

其中, P_{\min} 表示气泡崩溃前内部的压力, P_{\max} 表示介质对空化核的最大压力, R 是气体常数, T 为介质宏观温度, E 表动能, r 表比热,大写 K 是混合物对 r_1 的影响系数。

1.2 基于声化学机制的中藏药提取技术

如上所述,瞬态声空化效应将产生高压爆破、高温放电等能量聚变,即声化学机制。该机制作用于中药材料,将导致药材组织结构发生各种物理、化学变化,其中药用物质将被快速转移到溶液中。课题利用集束型高能超声对中藏药红景天、川续断、黄芩、藏红花等多种药材进行提取研究,并对其提取物的化学成分进行HPLC检测分析。与其他中藏药提取技术进行对比,充分证明高能超声中藏药提取工艺具有诸多优势^[8-9]。

研究表明,采用高能超声提取工艺与常规煎煮回流提取工艺相比,绝大多数中藏药的提取率提高11%

~65%,对热敏性和挥发性药物效果更佳。除此以外,也验证利用超声在常温下提取药物有效成分,还具有工效高、耗能低、无碳排放等优点^[10]。

文中将以藏红花中的藏红花苷 I 和藏红花苷 II 提取为例,进行多组交叉实验研究。

1.3 实验研究

1.3.1 实验内容

以常规中药煎煮提取工艺作为参照组,以不同工艺参数的超声提取工艺作为对照组;采用高效液相色谱仪(HPLC)分析技术,对各组藏红花的提取物进行药用成分含量测试;将测试数据进行对照分析,获得藏红花超声提取的最佳工艺参数。

1.3.2 实验原理

中药药用成分提取分离工艺,是依据中药物质中有效成分或有效成分群体的存在状态、极性、溶解性等设计采用的一类技术^[11-12]。实验以煎煮提取工艺作为对照,探讨高能超声提取工艺的机制控制和工艺参数优化问题。

然后,对各种工艺提取物的成分含量进行检测对照,并获取相关信息。

1.3.3 实验材料与仪器

藏红花30 g、DJS-2000 超声仪、试剂瓶、纱布、电子天平、温度计。(国标西红花苷 II 备用)

1.3.4 实验方案及实验数据

对照组(A):

- (1)藏红花 3 g,纯净水 80 g
- (2)煎煮提取工艺,沸水明火煎煮20 min
- (3)过滤,得提取液 A,称重(64.7 g)

实验组 1(B)

(1)藏红花 3 g,纯净水 45 g,初始水温 21 ℃,(结束水温自动上升至 50 ℃)。

(2)H 功率密度(2.8 W/cm³),超声波频率 F = 1000 kHz,萃取20 min。

(3)过滤,得提取液 B,称重(38.2 g)。

实验组 2(C)

(1)藏红花 3 g,纯净水 45 g,初始水温 21 ℃;(结束水温自动上升至 55 ℃)。

(2)H 功率密度(2.8 W/cm³),超声波频率 F = 25 kHz,萃取20 min。

(3)过滤,得提取液 C,称重(35 g)。

实验组 3(D)

(1)藏红花 3 g,纯净水 45 g,初始水温 21 ℃;(结

束水温自动上升至 45 ℃)

(2)高功率密度(1.4 W/cm³),超声波频率 F = 25 kHz,萃取20 min。

(3)过滤,得提取液 D,称重(34.6 g)。

1.3.5 提取液成分含量 HPLC 检测

HPLC 检测的有关材料与参数设计如下^[13]。

试剂/材料:

50%的酒精;色谱级别的甲醇;Milli-Q 水;藏红花 II 标准品20 mg配制浓度为0.316 mg/ml。

样品:

A、B、C、D 提取物250 μl,50%的酒精稀释一半,用0.45 μM滤膜过滤。

设定仪器工作参数:

柱温 35 ℃;

样品池温度 25 ℃;

检测波长 440 nm;

数据采集时间 45 min;

流速 1.0 ml/min。

(1)标准品藏红花苷 II 的 HPLC 图谱

按照以上试剂配制方法和技术参数设置,对标准品藏红花苷 II 进行 HPLC 检测,获得的图谱如图 1 所示。

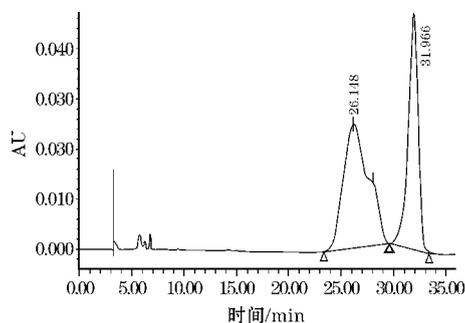


图1 藏红花苷 II 的 HPLC 图谱

由图 1 可见,标准品藏红花苷 II 的谱线峰值分布在 26.148 min 和 31.966 min,主峰接近 32 min。

(2)煎煮工艺提取物(A)的主要成分含量作为对照组,首先利用常规煎煮提取工艺,获得提取物作为对照品 A。

提取工艺按下列步骤进行操作:

取藏红花 3 g,纯净水 80 g,浸泡 30 min 作预制材料;

将预制材料加热至沸腾,改文火煎煮 20 min;过滤,得提取液 A,称重(64.7 g)备用。

利用上述样品配制和 HPLC 技术参数设置,对提取物 A 进行 HPLC 检测,所得提取物的 HPLC 图谱如

图2所示。

对图2进行分析可知,利用常规煎煮提取工艺所得提取物的 HPLC 图谱中,32.063 min处表征的是藏红花 II 含量;17.018 min处表征的是藏红花 I 含量,其面积分别是 32.8 伏秒和 82.4 伏秒。

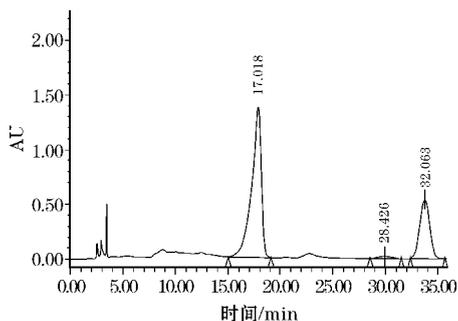


图2 煎煮提取物成分的 HPLC 图

(3) 1000 kHz 超声提取物 B 的成分含量

首先,利用1000 kHz高频超声工艺,按照上述实验方案,对藏红花进行提取,得到提取物 B。然后,利用上述样品配制和 HPLC 技术参数设置,对提取物 B 进行 HPLC 检测,得到如图3所示图谱。

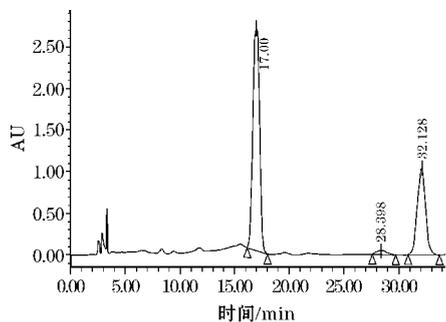


图3 高频超声提取物成分的 HPLC 图

对图3进行分析可知,利用高频超声提取工艺所得提取物的 HPLC 图谱中,32.128 min处表征的是藏红花 II 含量;17.0 min处表征的是藏红花 I 含量,其面积分别是 54.4 伏秒和 117.1 伏秒。与煎煮工艺相比,高频超声提取物中藏红花苷 I 和藏红花 II 含量分别高出42.1%和65.9%。

(4) 25 kHz 超声提取物(C)的成分含量

为了验证超声波频率对藏红花提取效果的影响,按照实验方案,将上述实验的超声频率由1000 kHz降低到25 kHz,其他工艺参数(功率密度、提取时间及介质温度等)均不变,得到超声提取物 C,并对其进行 HPLC 检测,结果如图4所示。

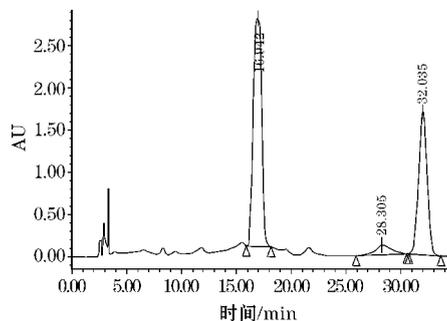


图4 低频超声提取物成分的 HPLC 图

对图4进行分析可知,25 kHz低频超声提取工艺所得提取物的 HPLC 图谱中,32.128 min处表征的藏红花 II 含量所对应的面积是 90.2 伏秒;17.0 min处表征藏红花 I 含量对应的面积是 144.6 伏秒。与图3对照可见,在其他工艺参数相同的前提下,与高频(1 MHz)超声提取工艺相比,低频(25 kHz)超声提取物中藏红花苷 I 和藏红花 II 含量分别高出23.5%和65.8%。

(5) 功率密度对提取物成分含量的影响

与前项实验对照,仍选用频率、功率相同的超声提取设备,除了将溶剂中的功率密度减小1倍(超声提取器的容积增大1倍)外,其余工艺参数均不改变,得到提取物(D),对应的 HPLC 图谱如图5所示。

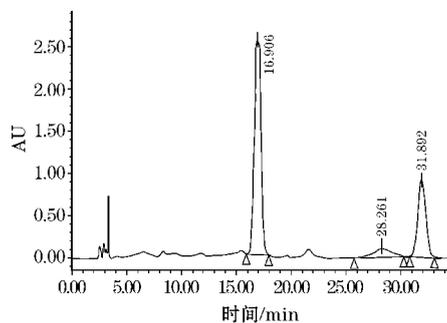


图5 1/2 功率密度提取物成分的 HPLC 图

与图4比较可知,图5中藏红花苷 I 和藏红花 II 含量对应的谱线面积分别为 108.1 伏秒和 47.3 伏秒。均小于图4对应的 144.6 伏秒和 90.2 伏秒。说明在功率密度减小50%、其他工艺参数不变的情况下,提取物中藏红花苷 I 和藏红花 II 含量分别减少到原来值的0.748倍和0.524倍。

2 研究结果

通过理论研究和实验检验,结合 HPLC 检测图谱及其数据统计,针对上述研究内容,可以得到以下研究结果:

(1)高能超声中药提取具有诸多优势。与常规煎煮提取工艺相比,在工艺参数设计比较科学合理的前提下,基于声化学机制的高能超声提取物中藏红花苷 I 和藏红花苷 II 含量分别高出42.1%和65.9%以上。

(2)超声频率对藏红花药用成分提取率的影响:在其他工艺参数相同的情况下,25kHz 低频超声比1MHz 高频超声对应藏红花苷 I 和藏红花苷 II 的提取率分别高23.5%和65.8%。

(3)超声功率密度的影响:由于超声功率密度是影响瞬态声空化率的重要因素,必然直接影响藏红花苷提取率。例如,在其他工艺参数相同的情况下,将超声功率密度降低50%,藏红花苷 I 和藏红花苷 II 的提取率分别降低到原来值的0.748倍和0.524倍。

3 结论

综合上述研究结果,结合实践经验可以确定,适用于藏红花的高能超声提取工艺参数如下:

- (1) 超声频率:25 ~ 60 kHz;
- (2) 超声功率密度:2.0 ~ 3.0 W/cm³;
- (3) 药材溶液比:1:10 ~ 1:16;
- (4) 提取时间:20 ~ 30 min;
- (5) 溶媒温度:20 °C ~ 50 °C。

根据近几年来利用高能超声的空化效应对多种中藏药(包括红景天、川续断、黄芩、藏红花等)的药用成分进行提取实验的数据分析,可以推断,上述工艺参数同样适应于其他花叶型中藏药有效成分的超声提取^[14]。

参考文献:

- [1] Doche ML, Hihn JY. Influence of ultrasound power and frequency upon corrosion kinetics of zinc in saline media [J]. *Ultrasonics sonochemistry*, 2008, 10(6):357-362.
- [2] 黄璐琦,王永炎. 中药材质量标准研究[M]. 北京:人民卫生出版社,2010.
- [3] Hromadkova Z. Ultrasonic extraction of plant materials-investigation of hemicellulose release from buckwheat hulls [J]. *Ultrasonics sonochemistry*, 2003, 10(3):127-133.
- [4] 王保强,尹蓉莉. 超声生物材料处理与声学参数的调控[J]. *生物医学工程学杂志*, 2004, 20(5):662-665.
- [5] Wang Bao-qiang, Deng Changjian, Li Yiding. The design optimization of ultrasonic equipment for Chinese traditional medicine extraction [J]. *IEEE Proc. of 06 ICMA*, 2006:463-468.
- [6] Feng R, Zhao YY, Zhu CP, Mason TJ. Enhancement of ultrasonic cavitation yield by multi-frequency sonication [J]. *Ultrasonics sonochemistry*, 2002, 9(5):231-236.
- [7] Manef Chtourou, Rami Abdelhédi. Solvent free synthesis of 2-propenones catalyzed by commercial acid-clays under ultrasound irradiation [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2010, 17:246-249.
- [8] 季文军,代文婷. 中药藏红花的研究概况[J]. *Strait Pharmaceutical Journal(海峡药学)*, 2011, 23(10).
- [9] Moussatov A. Cone-like bubble formation in ultrasonic cavitation field [J]. *Ultrasonics sonochemistry*, 2009, 10(4):191-195.
- [10] S. Gereshetc. Characterization of the extracellular polysaccharide of porphyridium sp.: molecular weight determination and rheological properties [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 50(2):183-189.
- [11] Gogate PR, Wilhelm AM. Some aspects of the design of sonochemical reactors [J]. *Ultrasonics sonochemistry*, 2007, 10(6):325-330.
- [12] Sergio PC, Roberta S. Effects of sonication on the Reactivity of Chitin Toward its Heterogeneous deacetylation [J]. *International Journal of Polymeric Materials*, 2011, 5(8):695-700.
- [13] Hongmei Lin, Yonggang Zhang, Mei Han, et al. Aqueous ionic liquid based ultrasonic assisted extraction of eight ginsenosides from ginseng root [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2013, 20:680-684.
- [14] Yinshi Sun, Zhengbo Liu, Jianhua Wang, et al. Aqueous ionic liquid based ultrasonic assisted extraction of four acetophenones from the Chinese medicinal plant *Cynanchum bungei* Decne [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2013, 20:180-186.

Optimization of Tech-Parameters for Medicine Extraction in Crocus Sativus L. based on HIU

WANG Bao-qiang, YANG Xiao-ping, LI Yong-hong
(College of Electronic Engineering, CUIT, Chengdu 610225, China)

Abstract: The key problem for Chinese medicine based on HI ultrasonic cavitation is the technique scientificness. For understanding the reaction mechanism of ultrasonic cavitation and the technical optimization of extracting Crocus sativus L based on the content of medicine composition in extraction. The mechanism of ultrasonic extraction through the theory and experiment are used for obtaining the technique optimization according to the data of HPLC detection. The conclusions are that the characters of ultrasonic energy could be controlled and the best technical characters are . The power density is $2.0\text{--}3.0\text{ W/cm}^3$ and the extracting time is 20–30 min according to the content maximization.

Key words: biological engineering; Chinese tibetan medicine; extraction of Crocus Sativus L. ; high intensity ultrasound (HIU); acoustical cavitation; ultrasonic chemistry-method; parameter optimization