

岩白菜 SFE - CO₂ 萃取物中岩白菜素的降解动力学研究*

孙海林¹, 魏泽英¹, 刘海周², 李文军^{1△}

(1. 云南中医学院, 云南昆明 650500; 2. 云南蓝钻生物科技有限公司, 云南昆明 650500)

[摘 要] 目的: 研究岩白菜 SFE - CO₂ 萃取物中岩白菜素的降解动力学。方法: 采用紫外分光光度法, 考察在贮藏阶段、光照条件下和干燥工序中岩白菜素类的含量变化, 得出降解规律。结果: 岩白菜 SFE - CO₂ 萃取液在避光条件下贮藏, 20d 内降解率 18.46%; 在光照条件下的降解符合零级反应动力学方程, 降解速率常数 $k = 1.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 半衰期 $t_{1/2} = 30.7 \text{ d}$; 干燥时在 0 ~ 12h 内岩白菜素类的浓度升高, 而在 12h 后浓度下降。12h 后干燥工序在 60℃、70℃、80℃、90℃、100℃ 的降解符合零级反应动力学方程, 活化能为 $18.7 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。结论: SFE - CO₂ 萃取液宜低温干燥, 萃取物应密闭避光保存。

[关键词] 岩白菜; SFE - CO₂ 萃取物; 岩白菜素; 降解; 动力学

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000—2723(2012)06—00010—04

岩白菜为虎耳草科岩白菜属植物岩白菜 *Bergenia purpurascens* (Hook. f. et Thoms.) Engl. 的干燥根茎, 又名呆白菜、矮白菜、滇岩白菜、石白菜、蓝花岩陀、红岩七、雪头开花等^[1-2]。主产于东亚、南亚北部和中亚东南部, 我国主要分布于滇西北、滇中、滇中北各地, 四川西部、西藏东南部也有分布。岩白菜具有镇咳、祛痰、护肝、抗病毒、抗溃疡、抗炎及降血脂等作用^[3]。其中主要有效成分岩白菜素属于异香豆精类化合物, 分子结构中含有二个酚羟基和一个内酯结构, 在遇光、空气、酸、碱和受热等条件下、易氧化变质或开环水解, 给制剂生产过程带来一定的难度, 甚至影响产品的质量和疗效。

超临界流体萃取技术 (Supercritical Fluid Extraction, SFE) 是近年来发展起来的集提取和分离于一体的新技术。与传统的中药提取技术相比较, SFE - CO₂ 技术具有许多独特的优点: 提取温度低, 适用于热敏性强、易氧化分解的成分的提取; 提取时间短、效率高, 无有机溶剂残留, 提取物纯度高, 能保留原药特性等^[4]。经前期实验, 在较佳工艺条件下得到岩白菜 SFE - CO₂ 萃取物中岩白

菜素占浸膏量达 28.65%, 高于常规乙醇提取法 (岩白菜素占浸膏量 11.59%), 说明 SFE - CO₂ 提取具有一定的选择性, 提取的杂质较少, 提取物可在干燥后入药, 是中药有效成分提取的一种可靠有效的方法。为此我们对岩白菜 SFE - CO₂ 工艺的后处理过程进行考察, 对岩白菜 SFE - CO₂ 萃取物进行贮藏、干燥工序的降解动力学研究, 为 SFE - CO₂ 法的工艺优化、进行科学合理的生产提供依据。

1 材料与仪器

1.1 仪器

HA221 - 50 - 06 超临界萃取装置 (南通华安超临界萃取有限公司生产); Precisa XS - 125A 型电子天平 (瑞士产); UV - 2450 紫外 - 可见分光光度计 (日本岛津); BUCHI - R - 200 旋转蒸发器 (瑞士); DHG - 9055A 电热鼓风干燥箱 (上海一恒科技有限公司); SHH - SDT 三箱式综合药品稳定性试验箱 (重庆市永生实验仪器厂)。

1.2 试药

岩白菜药材 (同一批次) 购于昆明菊花村药材市场, 经云南中医学院杨树德教授鉴定为虎耳草

* 基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目 (NO: 2010Y445)

收稿日期: 2012—10—19 修回日期: 2012—11—07

作者简介: 孙海林 (1977 ~), 女, 安徽怀远人, 讲师, 主要从事有机化学和药物稳定性研究工作。△通信作者: 李文军, E-mail: 1478279424@qq.com

科岩白菜属植物岩白菜 *Bergenia purpurascens* (Hook. f. et Thoms.) Engl. 的干燥根茎。岩白菜素对照品购于中国药品生物制品检定所; CO₂ 气体(昆明氧气厂生产, 食品级, 纯度≥99.9%); D-101 大孔吸附树脂(天津农药股份有限公司树脂分公司生产); 去离子水。所用试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

精密称量 3.10mg 岩白菜素对照品置于 50mL 容量瓶中, 加甲醇溶解, 并定容至刻度, 得到 62μg/mL 的岩白菜素对照品溶液。

2.2 标准曲线的制备

精密量取上述对照品溶液 1.3mL、2.2mL、3.1mL、4.0mL、4.9mL 置 10mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 以甲醇为空白对照, 于波长 274nm 处测定吸收度^[5]。以吸收度为纵坐标, 浓度为横坐标, 进行线性回归, 得到标准曲线为 $y = 0.02347c + 0.00534$ ($r = 0.99992$)。表明岩白菜素对照品在 8.06μg/mL ~ 30.38μg/mL 范围内线性关系良好。

2.3 SFE - CO₂ 萃取物制备

取岩白菜药材适量, 按照以下工艺条件进行萃取: 萃取压力 18MPa, 萃取温度 55℃; 夹带剂(70% 乙醇)加入量 500mL, 流速控制在 1.0L/h; CO₂ 流量 20L/h; 萃取时间 2h; 分离 I 压力 6.5MPa, 分离温度为 40℃; 分离 II 压力 6MPa, 温度 35℃。收集萃取液, 减压浓缩至乙醇回收完全, 得 SFE - CO₂ 萃取液。

2.4 供试品溶液的制备

SFE - CO₂ 萃取液用去离子水补足至一定体积后, 精密吸取等量溶液若干份, 分别进行贮放、干燥处理。用去离子水溶解待测样品, 并完全转移至准备好的 D-101 大孔吸附树脂柱中, 使其静置吸附 30min 后, 用 6BV 去离子水洗脱, 弃去水洗液, 再用 6BV 的 20% 乙醇洗脱, 收集 20% 乙醇洗脱液 250mL, 摇匀, 取出适量置 10mL 容量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 作为测定岩白菜素含量的供试品溶液。

2.5 含量测定

取供试品溶液适量, 以甲醇为空白对照, 于波长 274nm 处测定吸收度, 按岩白菜素标准曲线回归方程计算含量。

2.6 岩白菜 SFE - CO₂ 萃取物的降解动力学

2.6.1 岩白菜 SFE - CO₂ 萃取液避光条件下的降解动力学

精密吸取等量岩白菜 SFE - CO₂ 萃取液, 置于三角烧瓶中, 于避光条件下室温贮放 25d, 间隔一定时间取样品测定含量。结果见表 1。

表 1 避光贮放阶段的含量 (n=6)	
时间 t/d	岩白菜素类含量* ($\bar{c} \pm SD$) /mg · g ⁻¹
0	114.87 ± 0.13
5	107.98 ± 0.73
10	101.33 ± 0.85
15	94.11 ± 0.42
20	93.66 ± 0.65
25	93.71 ± 0.40

* 含量均折算成药材标示含量

结果表明, 岩白菜 SFE - CO₂ 萃取液在避光条件下贮放, 20d 内降解率 18.46%, 20d 后基本不再降解。

2.6.2 岩白菜 SFE - CO₂ 萃取液光照条件下的降解动力学

精密吸取等量岩白菜 SFE - CO₂ 萃取液, 置于烧杯中, 放入装有日光灯的药品稳定性试验光照箱中(照度 45 001x ± 5 001x, 温度 25℃), 间隔一定时间取样品测定含量。结果见表 2。

表 2 光照条件下的含量 (n=6)	
时间 t/d	岩白菜素类含量* ($\bar{c} \pm SD$) /mg · g ⁻¹
0	114.87 ± 0.13
5	106.88 ± 0.57
10	98.94 ± 0.55
15	90.54 ± 0.73
20	78.22 ± 0.88
25	67.23 ± 0.81

经回归分析, 得回归方程 $c = 116.5 - 1.9t$ ($r = -0.9955$)。结果显示, 岩白菜 SFE - CO₂ 萃取液在光照条件下的降解符合零级反应动力学方程, 降解速率常数 $k = 1.9\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 半衰期 $t_{1/2} = 30.7\text{d}$ 。

2.6.3 岩白菜 SFE - CO₂ 萃取液干燥工序的降解动力学^[6]

精密吸取等量岩白菜 SFE - CO₂ 萃取液，置于

三角烧瓶中，分别放入 60℃、70℃、80℃、90℃、100℃ 的干燥箱中，间隔一定时间取样品测定含量。结果见图 1、图 2 和表 3。

表 3 不同干燥温度含量 (n = 6)

时间 t/h	岩白菜素类含量* ($\bar{c} \pm SD$) /mg · g ⁻¹				
	333K	343K	353K	363K	373K
0	114.87 ± 0.13	114.87 ± 0.13	114.87 ± 0.13	114.87 ± 0.13	114.87 ± 0.13
4	120.10 ± 0.62	122.62 ± 0.29	118.12 ± 0.58	115.84 ± 0.26	115.11 ± 0.13
8	137.90 ± 0.94	132.71 ± 0.47	130.44 ± 0.37	132.71 ± 0.71	120.22 ± 0.37
12	143.62 ± 0.53	142.57 ± 0.20	139.44 ± 0.43	141.59 ± 0.29	136.69 ± 0.47
24	134.94 ± 0.49	132.87 ± 0.43	131.33 ± 0.52	125.62 ± 0.68	116.90 ± 0.54
36	128.13 ± 0.58	122.05 ± 0.31	118.44 ± 0.78	111.47 ± 0.53	95.33 ± 0.60
48	120.71 ± 0.78	108.87 ± 0.70	104.69 ± 0.63	97.88 ± 0.79	76.51 ± 0.36
60	106.96 ± 0.44	100.76 ± 0.30	92.98 ± 0.48	79.96 ± 0.88	65.20 ± 0.48

表 4 干燥工序回归方程及 Arrhenius 方程

T/K	回归方程	r	k/mg · g ⁻¹ · h ⁻¹	t _{1/2} /d
333	c = 153.14 - 0.7296t	-0.9903	0.7296	4.4
343	c = 153.71 - 0.8968t	-0.9978	0.8968	3.6
353	c = 153.24 - 0.9963t	-0.9967	0.9963	3.2
363	c = 156.60 - 1.2583t	-0.9989	1.2583	2.6
373	c = 153.14 - 1.5281t	-0.9946	1.5281	2.1
Arrhenius 方程: lnk = -2252.2 × 1/T + 6.4355				
r = -0.9927				

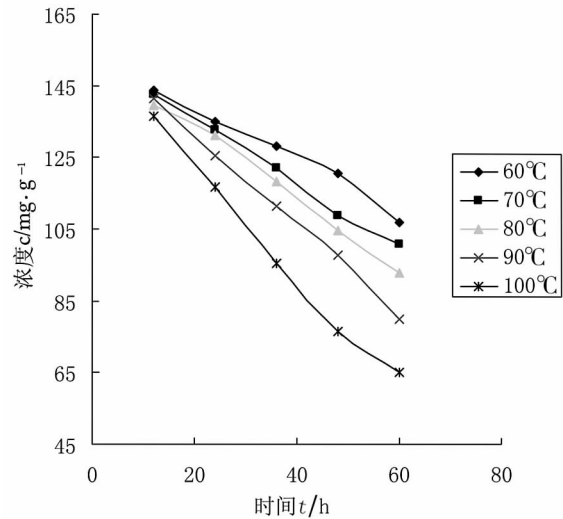


图 1 干燥工序 c - t 图

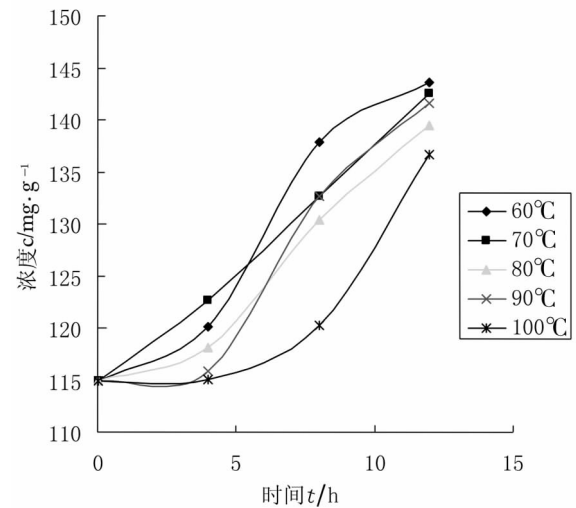


图 2 0 - 12h 干燥工序 c - t 图

结果显示：在 0 ~ 12h 内 SFE - CO₂ 提取物中岩白菜素类的浓度升高，而在 12h 后浓度下降。经回归分析，12h 后干燥工序在 60℃、70℃、80℃、90℃、100℃ 的降解符合零级反应动力学方程，见表 4。

由 Arrhenius 方程计算出干燥工序的活化能 E = 2252.2 × 8.314 × 10⁻³ = 18.7kJ · mol⁻¹。

3 小结与讨论

SFE - CO₂ 萃取液在光照条件下不稳定，随着光照时间加长，降解速度加快。在生产中的 SFE - CO₂ 萃取阶段，药材成分的萃取、分离是在萃取

釜、分离釜中进行, 整个过程处于避光环境中, 有利于岩白菜素类的稳定存在, 萃取液的后处理阶段亦应该在避光条件下进行。

SFE - CO₂ 萃取物在避光条件下保存仍发生降解, 说明空气对岩白菜素类稳定性的影响也较大。提示提取物应密闭保存。

SFE - CO₂ 萃取液在干燥过程的各个温度下, 0 - 12h 内岩白菜素类的含量均上升, 12h 后下降, 降解符合零级反应。60℃ 降解较慢, 随温度升高, 降解加快, 90℃、100℃ 降解较为迅速。

岩白菜 SFE - CO₂ 萃取物作为岩白菜制剂生产的中间产物, 具有比传统醇提物岩白菜素类含量高的优点, 同时 SFE - CO₂ 萃取技术无有机溶剂残留, 且对蛋白质及多糖无萃取能力, 对重金属及农药也很难萃取出来, 所得的提取物质量较好。但岩白菜素类属于酚类化合物, 易于降解, 因而在生产过程中, 除了采用优选的萃取工艺提取外, 提取液在后处理过程中, 应在较低温度下干燥并密闭避光

保存, 以保证岩白菜 SFE - CO₂ 萃取物的质量。在药材的运输、加工过程中尽可能避免光照并对温度的影响进行控制。

[参考文献]

- [1] 云南药物研究所. 云南重要天然药物 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2006: 276 - 283.
- [2] 吕修梅, 王军宪. 岩白菜属植物的研究进展 [J]. 中药材, 2003, 26 (1): 58 - 60.
- [3] 王刚, 麻兵继. 岩白菜素的研究概况 [J]. 安徽中医学院学报, 2002, 21 (6): 59 - 62.
- [4] 李卫民. 中药现代化与超临界流体萃取技术 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 96.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 384.
- [6] 苏子仁, 曾惠芳, 曾元儿, 等. 丹参醇提工艺中丹参酮 II A 降解动力学研究 [J]. 中成药, 1997, 19 (12): 1 - 3.

(编辑: 迟 越)

Degradation Kinetics of Bergenin in the SFE - CO₂ Extraction of *Bergenia Purpurascens*

SUN Hai - lin¹, WEI Ze - ying¹, LIU Hai - zhou², LI Wen - jun^{1Δ}

(1. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650500;

2. Yunnan Lanzuan Biology Science & Technology Co., Ltd, Kunming Yunnan 650500)

[ABSTRACT] Objective: To study degradation kinetics of bergenin in the SFE - CO₂ extraction of *Bergenia Purpurascens*. Methods: To find the law of degradation, the contents of bergenin were tested by UV - visible spectrophotometer under storage, drying and light irradiation conditions. Results: The rate of degradation of the SFE - CO₂ extraction of *Bergenia Purpurascens* was 18.46% within 20 days when kept away from light. The degradation reaction was the zero - order under light irradiation, the reaction - rate constant was $1.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ and the half life was 30.7d. When drying, the concentration of bergenin increased within 12 hours and then decreased. The degradation reaction was the zero - order at 60℃, 70℃, 80℃, 90℃, 100℃ and the activation energy was $18.7 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Conclusion: The SFE - CO₂ extraction of *Bergenia Purpurascens* should be dried under lower temperature, sealed and kept away from light when storage.

[KEY WORDS] *bergenia purpurascens*; SFE - CO₂ extraction; Bergenin; degradation; kinetics