

超临界 CO₂ 抗溶剂结晶葛根素工艺参数优选

张文成, 谢慧明, 高 杰

(合肥工业大学农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥

230009)

摘 要: 根据前期研究结果, 对采用响应曲面法关于结晶压力、温度和时间建立超临界 CO₂ 抗溶剂结晶葛根素工艺模型的变化规律进行响应曲面分析, 并优选出最佳工艺参数, 便于选择超临界 CO₂ 抗溶剂结晶葛根素条件。结果表明: 当结晶压力为 22.12 MPa, 温度为 32.35 °C, 时间为 2.17 h 时, 葛根素纯度高达 57.55%。

关键词: 超临界 CO₂ 抗溶剂; 葛根素; 结晶工艺; 优化

Optimization of Technology Parameters of Supercritical CO₂ Anti-solvent Crystallizing Puerarin

ZHANG Wen-cheng, XIE Hui-ming, GAO Jie

(Engineering Research Center of Bio-process, Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: According to forgoing research results, the changing orderlinesses of the model of purifying technology about crystallization pressure, temperature and time with response surface methodology (RSM) were analyzed, and the technology was optimized. On the conditions of crystallization pressure 22.12 MPa, temperature 32.35 °C, time 2.17 hours, the purity of puerarin was up to 57.55%.

Key words supercritical CO₂ anti-solvent; puerarin; crystallization technology; optimization

中图分类号: TQ028.32 Q946.885.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)10-0211-03

葛根是一种经济价值极高的天然植物资源, 是国家卫生部正式认定的药食两用植物。葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata*(willd) Ohwi 或甘葛藤 *Pueraria thomsonii* Benth 的干燥根, 甘葛藤习称“粉葛”, 是中医常用的祛风解表药, 《神农本草经》及《本草纲目》有用葛根治消渴、身热和诸痹等症的记载^[1]。化学、药理和临床研究证明葛根中异黄酮类化合物为有效成分, 具有有降低血管阻力, 改善脑及冠脉循环, 降低心肌耗氧量等药理作用^[2]。

葛根素为豆科植物野葛 (*Pueraria lobata* (willd.) ohwi) 根的主要有效成分, 即 4', 7-二羟基-8-D-葡萄糖基异黄酮^[1]。葛根素具有抗心律失常及降血压作用, 具有扩张冠状动脉, 保护心肌超微结构, 减少心肌梗死范围等作用, 具有扩张脑血管, 增加脑血流量, 改善大脑供血的作用, 具有改善耳、视网膜等器官微循环的作用等^[3-8]。

目前, 葛根素的分离纯化大都以溶剂萃取、色谱分离或溶剂结晶为主要手段。因此, 葛根素的高效纯化方法或工艺已受到业界高度关注。本实验采用超临界 CO₂ 抗溶剂 (supercritical CO₂ anti-solvent, SAS)^[9] 结晶方

法进行高效分离葛根素研究。

鉴于 SAS 结晶葛根素工艺条件内存在一定的协同或拮抗关系。因此, 本研究采用响应曲面分析法 (response surface methodology, RSM)^[10] 建立了超临界 CO₂ 抗溶剂结晶分离葛根素工艺模型。为了探索超临界 CO₂ 抗溶剂结晶葛根素工艺条件, 本实验重点讨论模型中以结晶压力、温度和时间为变量的响应曲面的变化规律, 并优选出最佳工艺参数, 以期超临界 CO₂ 抗溶剂结晶法高效分离葛根素提供更可靠的基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

葛根提取物 (葛根素含量约为 10%) 合肥拓峰公司;
葛根素标准品 中国药品生物制品检定所; 乙醇 (分析纯)、甲醇 (色谱纯) 江苏淮安恒天有限公司。
HPLC 检测仪 (配 2487 紫外检测器) 美国 Waters 公司。

1.2 方法

采用 RSM-Design-Expert 6.0.10 中的 Box-Behnken 法, 对抗溶剂结晶葛根素的三个主要工艺参数结晶压

收稿日期: 2007-08-10

基金项目: 教育部科技创新工程重大项目培育基金项目 (704027); 国家自然科学基金资助项目 (29976008)

作者简介: 张文成 (1973-), 男, 副研究员, 博士, 主要从事超临界流体结晶新方法研究。

力、温度和时间进行试验设计, 建立超临界CO₂抗溶剂结晶提纯葛根素的实验工艺模型, 并进行响应曲面分析。

葛根素纯度检测方法参照中华人民共和国药典^[11]。

1.3 响应曲面(RSM)试验设计

采用Box-Behnken方法, 以压力、温度、时间三个因子为自变量, 分别以 X_1 、 X_2 、 X_3 表示, 根据研究经验和有关报道, 其取值范围确定为10~22MPa、40~70℃和1~3h; 其对应编码分别为 X_1 、 X_2 、 X_3 , 且 $X_1 = (x_1 - 16)/6$; $X_2 = (x_2 - 55)/15$; $X_3 = (x_3 - 2)/1$ 。

而前期研究结果获得超临界CO₂抗溶剂结晶提纯葛根素的工艺模型为:

$$Y = 51.02 + 3.83X_1 - 5.94X_2 + 0.80X_3 - 1.77X_1^2 - 1.92X_2^2 - 2.82X_3^2 + 0.14X_1X_2 + 0.30X_1X_3 + 0.05X_2X_3 \quad (1)$$

由显著性分析和相对误差分析可知, 该模型是可行的。为此, 有必要对获得的三元二次方程(模型)进行曲

面分析, 优选最佳参数, 为加工工艺提供准确、科学的数据。

2 工艺模型的响应曲面结果与分析

模型(1)中 X_1 、 X_2 、 X_3 交互作用对响应值——纯度Y的影响如图1~3所示。

从图1中可以看出, 温度不变, 随着压力的增大, 葛根素的纯度呈现上升趋势增大。如当 $X_3 = 2h$, 温度为55℃, 压力为10MPa时葛根素的纯度为45.32%, 压力为16MPa时的纯度为51.06%; 压力恒定, 温度在40~70℃范围内变化, 温度对纯度的影响是呈负效应关系。如当 $X_3 = 2h$, 压力为16MPa时, 50℃葛根素的纯度52.41%, 60℃时葛根素的纯度为48.45%。

从图2中可以看出, 时间不变, 随着压力的增大, 葛根素的纯度呈现增加趋势。如当 $X_2 = 55℃$, 时间为

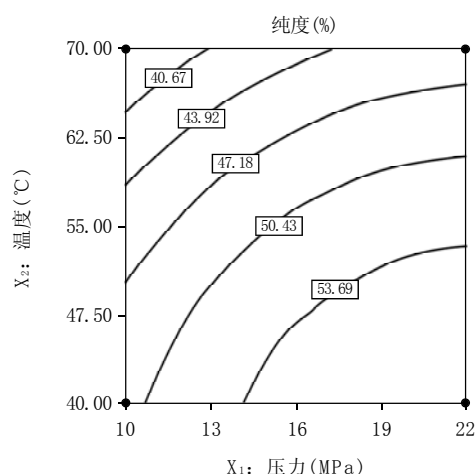


图1 纯度 $Y=f(X_1, X_2, 2h)$ 的响应曲面和等高线

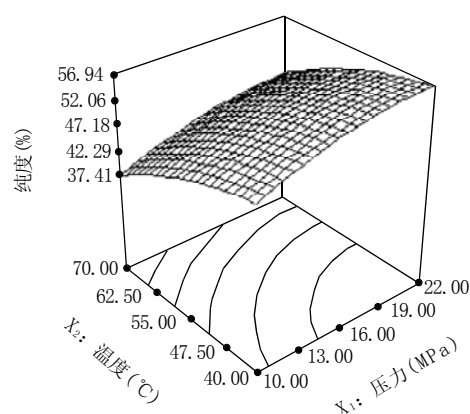


Fig.1 Contour plot and response surface plot of effects of crystallization pressure and temperature on purity ($x_3=2h$)

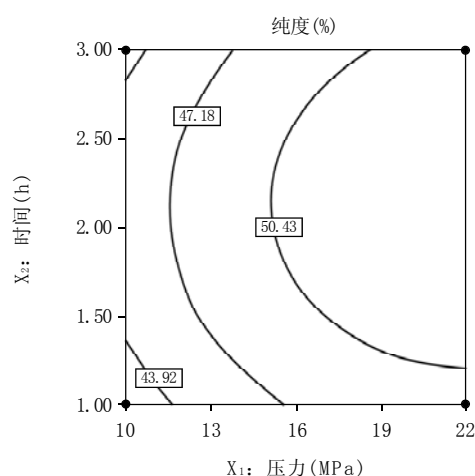


图2 纯度 $Y=f(X_1, 55℃, X_3)$ 的响应曲面和等高线

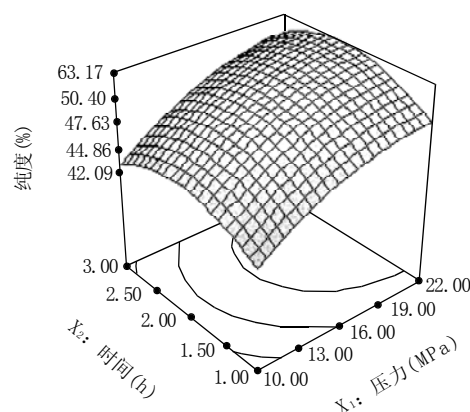
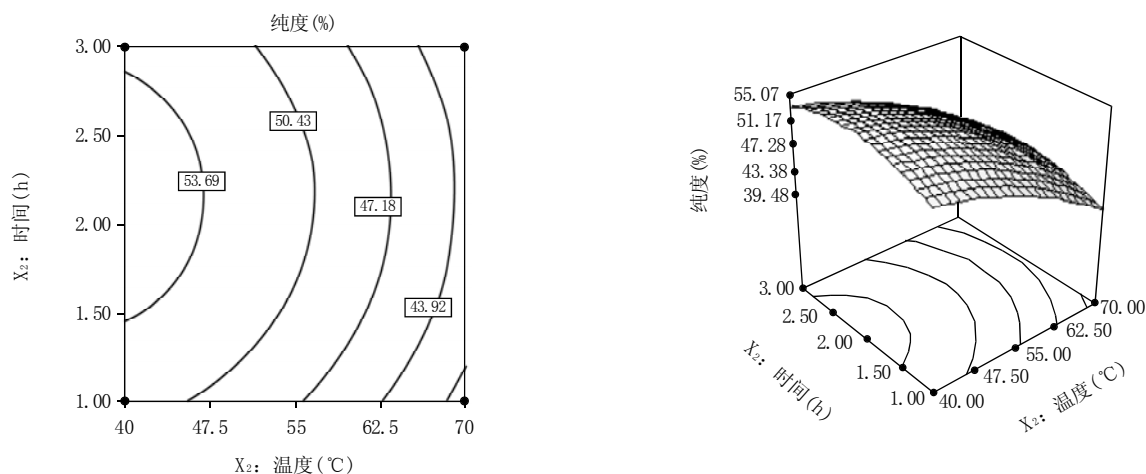


Fig.2 Contour plot and response surface plot of crystallization pressure and temperature on purity ($x_2=55℃$)

图3 纯度 $Y=f(16\text{MPa}, X_2, X_3)$ 的响应曲面和等高线Fig.3 Contour plot and response surface plot of crystallization temperature and time on purity ($x_1=16\text{MPa}$)

2h, 压力为13MPa时葛根素的纯度为48.64%, 压力为16MPa时葛根素的纯度为51.05%; 当压力恒定, 增加时间有利于葛根素纯度的提高, 而时间超过一定值后, 纯度变化平缓, 再增加时间, 抗溶剂结晶葛根素的纯度有所下降。 $X_2=55^\circ\text{C}$, 压力为16MPa时, 时间为1h时葛根素的纯度为48.12%, 时间为2h时葛根素的纯度为51.05%, 时间为2.5h时葛根素的纯度却为50.48%。

从图3中可以看出, 时间不变, 随着温度的增大, 葛根素的纯度呈现下降趋势。如当 $X_1=16\text{MPa}$, 时间2h, 温度为 50°C 时葛根素的纯度52.33%, 温度为 55°C 葛根素的纯度51.05%, 温度为 60°C 葛根素的纯度达46.27%;

当温度恒定, 增加时间, 一定范围内有利于提高葛根素的纯度, 但是超过一定值后, 纯度有所下降。如 $X_1=16\text{MPa}$, 温度为 55°C 时, 当时间为1h葛根素的纯度为47.62%, 时间为2h葛根素的纯度为51.05%, 时间为2.5h葛根素的纯度为50.01%, 说明时间太长对葛根素纯度提高有负效应。

再对三维非线性回归模型(1)进行求一阶偏导, 并令其为零, 得出达到较高纯度的条件: $X_1=1.02$, $X_2=-1.51$, $X_3=0.17$, 此时 $Y=57.55$; 转化为实际参数, 即在压力为22.12MPa, 温度 32.35°C , 时间2.17h下, 纯度高达57.55%。在该条件下, 试验值为59.02%, 两者相对偏差远小于5%。

3 结论

3.1 在温度与时间保持不变的条件下, 随着结晶压力的增加, 葛根素的纯度呈增长变化趋势; 在压力与时间保持不变的条件下, 随着温度的增加, 葛根素的纯度呈下降变化趋势; 在压力与温度保持不变的条件下, 随

时间的增加, 葛根素的纯度先增加, 后下降, 且变化趋势由急变缓。

3.2 响应曲面法(RSM)获得的超临界 CO_2 抗溶剂结晶葛根素的最佳工艺参数: 结晶压力22.12MPa, 温度 32.35°C , 时间2.17h, 此条件下可获得纯度高达57.55%的葛根素。经验证, 试验值为59.02%, 两者相对偏差远小于5%, 更充分证明该工艺参数的优选是合理可靠的。

参考文献:

- [1] 中国医学科学院药物研究所. 中草药现代研究[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993.
- [2] 安伟建, 夏光成, 郭瑞. 不同产地葛根总黄酮含量的比较(简报)[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(6): 339.
- [3] 李淑梅, 刘斌, 陈海芬, 等. 葛根素注射液对急性心肌梗塞患者血浆内皮素及肾素血管紧张素系统的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(6): 339-341.
- [4] 刘健民, 马莉, 何伟平. 葛根素治疗突发性聋的疗效观察[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(11): 1044-1045.
- [5] 冯英, 王明英. 复方丹参及葛根素注射液治疗缺血性眼病疗效观察[J]. 医学检验与临床, 2006, 17(6): 86.
- [6] 唐瑜. 葛根素对脑缺血再灌注损伤保护机制的研究现状[J]. 四川生理科学杂志, 2006, 28(4): 177-179.
- [7] 高翔, 李涛, 高全, 等. 葛根素预处理与缺血预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 贵阳医学院学报, 2006, 31(6): 523-526.
- [8] 李东娟, 潘贺葵, 陈幼娥, 等. 葛根素联合高压氧治疗突发性耳聋[J]. 中国康复, 2005, 20(6): 360.
- [9] WERLING J O, DEBENEDETTI P G. Numerical modeling of mass transfer in the supercritical antisolvent process: miscible conditions[J]. J Supercrit Fluids, 2000, 18(1): 11-24.
- [10] AMBATI P, AYYANNA C. Optimizing medium constituents and fermentation conditions for citric acid production from palmyra jaggery using response surface method[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2001, 17(4): 331-335.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.