

# 姜黄素类化合物不同提取方法的工艺优化和比较

周培培, 杜欣韵, 刘宁芝, 王松林, 蒋建兰\*

(天津市生物与制药工程重点实验室, 天津大学化工学院制药工程系, 天津 300072)

**摘要:**在单因素试验基础上, 采用 CCD 响应面优化设计方法, 以超声提取为例, 研究超声提取、微波辅助提取与回流提取方法的最优工艺。结果表明, 3 种最优工艺的提取率分别为 37.39、36.38、38.80 mg/g。经综合比较发现, 超声提取具有时间短, 提取率较高, 操作方便等优势, 可用于大规模生产。

**关键词:**姜黄; 超声提取; 微波辅助提取; 回流提取; 响应面设计; 优化设计

**中图分类号:**TQ461; R284.2

**文献标志码:**A

**文章编号:**0253-4320(2015)06-0132-04

## Optimization and comparison of different extraction methods of curcuminoids

ZHOU Pei-pei, DU Xin-yun, LIU Ning-zhi, WANG Song-lin, JIANG Jian-lan\*

(Tianjin Key Laboratory of Biological and Pharmaceutical Engineering, Department of Pharmaceutical Engineering, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

**Abstract:** In order to obtain the most effective extraction process of curcuminoids, ultrasonic extraction, microwave-assisted extraction and reflux extraction are studied. On the basis of the single factor experiments, the three extraction methods are optimized by central composite design-response surface methodology respectively, taking ultrasonic extraction as an example. The results indicate that the yield of curcuminoids under three conditions are 37.39, 36.38 and 38.80 mg/g (per gram of rhizomes powder), respectively. By comprehensive comparison, ultrasonic extraction is found to be timesaving, efficient and handiness which may be utilized for industrial production.

**Key words:** *Curcuma Longa* L.; ultrasonic extraction; microwave-assisted extraction; reflux extraction; response surface methodology; optimal design

姜黄素类化合物是姜黄的主要活性成分, 占药材质量的 2% ~ 6%<sup>[1-3]</sup>。目前, 从姜黄属中已分离出 40 多种该类化合物<sup>[4]</sup>, 主要包括姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素等。其中具有良好抗肿瘤效果的姜黄素单体是研究热点<sup>[5]</sup>, 但是去除了姜黄素的姜黄素类化合物已被证实具有良好的抗肿瘤、抗炎、治疗糖尿病的活性<sup>[6]</sup>, 这证明姜黄素类化合物中的其他成分也有良好的生物活性。另外, 本实验室科研人员也证明了姜黄素类化合物整体的抗肿瘤活性<sup>[7]</sup>。

近年来, 超声因其良好的迅速加热与快速破壁效果, 被广泛地用于中药提取领域<sup>[8-9]</sup>。微波具有加热效率高, 时间短, 穿透性强等特点, 经常用于辅助化学反应<sup>[10-11]</sup>, 研究者利用微波辅助方式提取物料的有效成分<sup>[12]</sup>。目前有研究者利用超声和微波辅助法进行姜黄素的提取研究<sup>[13-14]</sup>, 有人把这 2 种提取方法与传统的回流提取法进行比较<sup>[15]</sup>。但是, 大多数研究者均是把超声或者是微波辅助的最优提取工艺与任意一回流的提取工艺进行比较, 得到了

超声或者是微波提取方法效果更优的结论, 这样的方式略有偏颇。

笔者利用中心组合设计 (Central Composite Design, CCD) 响应曲面法对姜黄素类化合物的超声提取方法、微波辅助提取方法与传统的回流提取方法进行优化, 获取各方法的最优工艺, 进而比较各方法最优工艺下的姜黄素类化合物的提取率, 及主要成分双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素和姜黄素的提取率, 同时比较各提取方法的优劣。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料、仪器以及试剂

姜黄: 产地四川, 批号为 20120701-1, 河北祁新中药颗粒饮片有限公司生产, 将姜黄药材粉碎过筛, 得 20 ~ 40 目的姜黄粉。

对照品: 姜黄素 (Curcumin, CUR) (质量分数为 98.8%, 110823—201004), 中国食品药品检定研究院生产; 去甲氧基姜黄素 (Demethoxycurcumin, DMC) (质量分数为 98%, 14031432)、双去甲氧基姜黄素

收稿日期: 2014-11-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81102900)

作者简介: 周培培 (1990-), 女, 硕士生, zhou.cindy@163.com; 蒋建兰 (1972-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药现代化与新药研发, 通讯联系人, jljiang@tju.edu.cn。

(Bisdemethoxycurcumin, BDMC) (质量分数为 98%, 14031132), 上海同田生物技术股份有限公司生产。

试剂: 无水乙醇, 分析纯, 天津市江天化工技术有限公司生产; 甲醇、乙腈、冰醋酸, 色谱纯, 天津康科德科技有限公司生产; 去离子水, 天津大学自制。

仪器: 美国 LabAlliance 公司生产的高效液相色谱仪; 紫外可见分光光度计, TU1810 型, 北京普析通用生产; 微波炉, MM721NH1-PW 型, 广东美的微波电器制造有限公司生产; 恒温水槽, 8002 型, 上海德兆仪器仪表有限公司生产; 超声波清洗机, AS20500BT 型, 天津东科仪器设备有限公司生产; 电子分析天平, AL2004 型, 梅特勒-托利多仪器有限公司生产。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 含量测定方法

(1) 姜黄总素含量测定。以姜黄素为对照品, 采用紫外分光光度法, 测定波长 425 nm。采用标准曲线定量。

(2) 姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素使用 HPLC 标准曲线法同时定量, 计算其和作为姜黄三素量。液相条件: Waters Atlantis-T3 色谱柱 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250 mm), 乙腈-4% 冰醋酸溶液 (47:53), 流速为 1 mL/min, 检测波长为 425 nm, 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ , 进样为 20  $\mu\text{L}$ 。

### 1.2.2 超声提取工艺

称取 10.0 g 姜黄粉并置于锥形瓶中, 加入一定量的乙醇溶液, 浸泡 30 min, 在室温下超声一段时间后, 继续浸泡 30 min, 减压抽滤, 用无水乙醇将所得滤液定容至 500 mL, 摇匀即得。

在单因素试验基础上选择合适的因素和水平, 采用 CCD 响应面设计, 获取最优提取工艺。

### 1.2.3 微波提取工艺

称取 10.0 g 姜黄粉并置于锥形瓶中, 加入一定量的乙醇溶液, 浸泡 30 min, 过滤得湿粉, 将湿粉微波处理, 迅速将滤液倒入, 继续浸泡 90 min, 过滤得提取液, 用无水乙醇将所得滤液定容至 250 mL, 摇匀即得。

在单因素试验基础上选择合适的因素和水平, 采用 CCD 响应面设计, 获取最优提取工艺。

### 1.2.4 回流提取工艺

称取 25.0 g 姜黄粉于圆底烧瓶中, 分别加入一定量的乙醇溶液, 于 (79  $\pm$  1) $^{\circ}\text{C}$  回流 2 次, 回流时间一定 (从煮沸计时)。减压抽滤, 2 次提取液合并, 用无水乙醇定容至一定体积 (抽滤后的液体不到

500 mL 的定容至 500 mL; 超过 500 mL 的定容至 1 000 mL), 即得提取液。

由文献调研与经验可知, 选择合适的因素与水平, 采用 CCD 响应面设计, 获取最优提取工艺。

## 2 结果与讨论

### 2.1 超声提取法的工艺优化

以超声提取为例探究各提取方法的最优提取工艺。考察某因素对姜黄素类化合物提取率的影响时, 其他因素分别为无水乙醇, 液料比为 10, 超声功率为 300 W, 超声时间为 30 min。结果如图 1 所示。

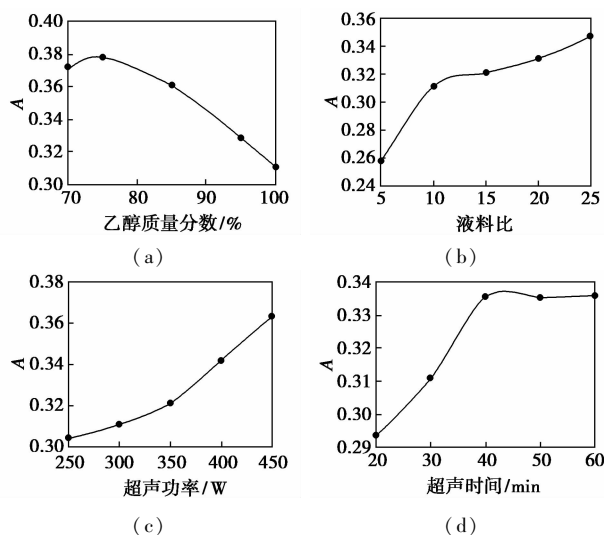


图 1 超声提取单因素试验

#### 2.1.1 单因素试验结果

由图 1 可知, 随着乙醇质量分数的增加, 提取率先升高后降低。在约 75% 附近取得最高值。随着液料比的增加, 姜黄素类化合物的提取率先急速增大, 后增速变缓。这是因为在液料比较小时, 传质未达到平衡; 液料比到达 10 后, 传质趋于平衡, 但因为溶剂增多, 提取液浓度降低, 平衡稍向右移, 浓度稍有增加。随着超声功率的增大, 提取率呈线性增高, 这与超声功率的动力学模型基本相符。随着超声时间的延长, 姜黄提取率基本上呈线性增加。但是当超声波的破壁率到达最高值后, 姜黄颗粒之间固液接触面也不再随着时间线性增加, 故选取拐点 40 min 作为最佳提取时间。

#### 2.1.2 CCD 响应面设计分析

在单因素试验基础上, 选择对提取率影响较大的 3 个因素: 乙醇质量分数、液料比和超声功率, 并选取合适的水平范围, 如表 1 所示。利用 Design-expert 8.0.6 软件并根据 CCD 响应曲面法设计试验, 测得各样品姜黄总素的质量分数。

表 1 响应面因素水平表

因素	水平				
	-1.68	-1	0	1	1.68
A:乙醇质量分数/%	64.89	70.00	77.50	85.00	90.11
B:液料比	13.18	20.00	30.00	40.00	46.82
C:超声功率/W	376	400	435	470	494

以姜黄总素的质量分数为响应值,采用 Design-expert 8.0.6 软件进行回归分析,拟合得到模型的最适函数为二次多项式函数,具体表达式为:

$$Y_1 = -170.8292 + 3.2142 \cdot A - 0.0425 \cdot B + 0.3965 \cdot C - 0.0040 \cdot AB + 0.0007 \cdot AC + 0.0020 \cdot BC - 0.0228 \cdot A^2 - 0.0079 \cdot B^2 - 0.0006 \cdot C^2$$

对回归方程进行方差分析,如表 2 所示。回归模型  $F$  值为 195.31,  $P < 0.0001$ ,表明回归模型显著性良好。残差值中的失拟项  $F$  值为 4.46,  $P > 0.05$ ,与随机误差相比不显著,表明模型不受随机误差影响。显著性拟合结果表明,模型的拟合性好,可信度高,可以良好地描述 3 种因素与响应值之间的真实关系。该模型各因素即乙醇质量分数、液料比与超声功率对模型影响均极显著,各因素之间存在

表 2 姜黄总素 CCD 回归模型系数的显著性检验结果

方差来源	平方和	自由度	均方	$F$ 值	$Pr > F$
模型	58.87	9	6.54	195.31	< 0.0001
A	15.09	1	15.09	450.49	< 0.0001
B	3.61	1	3.61	107.67	< 0.0001
C	1.22	1	1.22	36.31	0.0001
AB	0.73	1	0.73	21.85	0.0009
AC	0.26	1	0.26	7.73	0.0195
BC	4.00	1	4.00	119.42	< 0.0001
$A^2$	23.67	1	23.67	706.70	< 0.0001
$B^2$	8.93	1	8.93	266.76	< 0.0001
$C^2$	7.19	1	7.19	214.74	< 0.0001
残差	0.33	10	0.03		
失拟项	0.27	5	0.06	4.46	0.0631
随机误差	0.06	5	0.01		
总和	59.21	19			

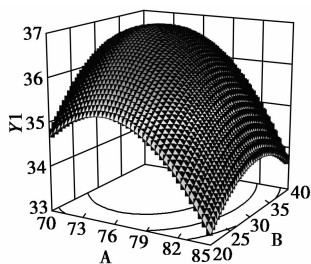


图 2 乙醇质量分数(A)与液料比(B)的交互作用

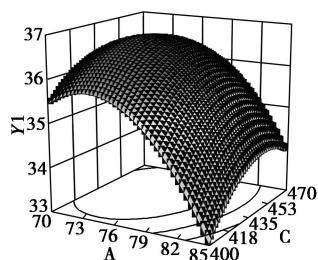


图 3 乙醇质量分数(A)超声功率(C)的交互作用

着交互作用,如图 2 和图 3 所示,各因素的二次项也显著影响提取效果,可见各因素对响应值的影响不是简单的线性关系。

### 2.1.3 最优工艺预测与验证

CCD 模型预测的最优提取工艺为:乙醇质量分数为 74%,液料比为 36.2,超声功率为 450 W,且预测的最优提取率为 37.00 mg/g。在该工艺下重复 3 次,结果如表 3 所示。3 次试验的  $RSD$  值小于 2%,说明试验重复性良好,与预测值的偏差为 1.05%,这证明 CCD 模型预测性能良好,预测出的最优工艺可信度较高,提取率为 37.39 mg/g。

表 3 最优工艺验证结果表

响应值	验证值/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )			平均值/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	$RSD$ / %	偏差/ %
	1	2	3			
$Y_1$	36.95	37.78	37.44	37.39	1.12	1.05

## 2.2 不同提取方式的最优提取工艺

微波辅助提取与回流提取的工艺研究优化过程与超声提取工艺研究相似。微波辅助提取在单因素试验基础上,选取对提取影响较大的乙醇质量分数(70%~90%)、液料比(14~22)与微波时间(40~90 s)作为考察因素;回流提取方法则根据经验与文献查询,选取乙醇质量分数(70%~80%)、液料比(8~12)和回流时间(90~150 min)作为考察因素。使用 CCD 响应面优化法,分别设计试验方案,发现在微波辅助提取模型中,乙醇质量分数对模型的影响极显著;回流模型中,乙醇质量分数与液料比对模型影响极显著,且在两模型中,各因素对响应值的影响不是简单的线性关系。

经计算分析得各提取方法的最优工艺,进行 3 次重复验证,结果微波辅助最优工艺与回流提取最优工艺的重复性均良好,偏差均小于 2%,这证明 CCD 模型预测性能良好,预测出的最优工艺可信度较高。并定量测定最优工艺下的双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素与姜黄素的质量分数,如表 4

所示。

表4 不同提取方法最优提取工艺表

提取方法	乙醇质量分数/%	液料比	功率/W	时间
超声提取	74	36.2	451	40 min
微波辅助提取	69	22.8	385	55 s
回流提取	78	11.5	水浴 79℃	116 min

提取方法	$w(Y_1)/$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$w(\text{BDMC})/$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$w(\text{DMC})/$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$w(\text{CUR})/$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )
超声提取	37.39	10.66	7.49	12.78
微波辅助提取	36.38	9.84	6.95	12.13
回流提取	38.80	11.27	7.81	13.75

注:回流提取进行2次,每次条件均与表中相同。

### 2.3 3种提取方法的比较

由表4可知,3种提取方法的姜黄总素的最优提取效率基本一致,其中回流提取的效率稍高,超声次之。双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素与姜黄素3种成分所占总素的比值基本一致。另外,3种成分质量分数和约占总姜黄素的80%左右,是姜黄素类化合物的主要成分。

3种提取工艺的乙醇质量分数相似,均在75%附近,且CCD模型分析表明,乙醇质量分数对姜黄提取率均有显著影响,乙醇质量分数是影响姜黄素类化合物提取的重要原因。

超声提取最优工艺用时40 min,且操作简单,虽然液料比较高,溶剂消耗量大,但可回收利用。相对来说,微波辅助提取方法虽然提取率略低,但所需时间短,耗能少,因是湿粉微波,每次的可处理量大。回流提取法的提取率最高,但是耗时长,工艺过程相对繁琐。3种提取方法各有优势,超声与微波提取设备虽然前期投资较大,但是生产效率高,收效快,耗能低,因乙醇质量分数要求不高,提取溶剂可回收使用,降低了过程成本,且相比较来说,超声的提取效果较优,操作步骤少,故最终选取超声提取工艺的最优工艺作为提取工艺。

### 3 结论

姜黄素类化合物的最优超声提取工艺为:乙醇质量分数为75%,液料比为36.2,功率为450 W,时间为40 min;最优微波辅助湿粉提取工艺为:乙醇的质量分数为69%,液料比为22.8,功率为385 W,时间为55 s;最优回流提取工艺为:乙醇质量分数为78%,液料比为11.5,水浴温度为79℃,回流时间为116 min,在该条件下回流2次。

3种最优提取工艺下姜黄素类化合物的最优提

取率为37.39、36.38 mg/g和38.80 mg/g。双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄与姜黄素是姜黄素类化合物的主要成分,在3种提取方法中,3种成分的质量分数一致,各成分占姜黄总素的比例基本不变。

乙醇质量分数对姜黄素类化合物提取效果的影响较大。3种提取方式各有优势,回流提取效率高,微波辅助提取时间短,超声提取操作简单。经综合考虑生产效率,最终优选超声提取工艺作为最终生产工艺。

### 参考文献

- [1] Prasad S, Tyagi A K, Aggarwal B B. Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin; The golden pigment from golden spice[J]. *Cancer Research And Treatment*, 2014, 46(1): 2-18.
- [2] 李时珍. 本草纲目[M]. 重庆: 重庆出版社, 2006: 221.
- [3] Ammon H P, Wahl M A. Pharmacology of *Curcuma longa*[J]. *Planta Med*, 1991, 57(1): 1-7.
- [4] Zhou Dong-hu, Wang Xuemin, Yang Mingmin, et al. Combination of low concentration of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) and curcumin strongly suppresses the growth of non-small cell lung cancer in vitro and in vivo through causing cell cycle arrest[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(6): 12023-12036.
- [5] 石英辉, 郭炳彦, 韩瑞, 等. 姜黄素胶囊对慢性心力衰竭患者TNF- $\alpha$ 、脂联素水平以及心功能的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2010, 4: 395-396+398.
- [6] Aggarwal B B, Yuan W, Li S Y, et al. Curcumin-free turmeric exhibits anti-inflammatory and anticancer activities; Identification of novel components of turmeric[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2013, 57(9): 1529-1542.
- [7] Jiang Jian-lan, Jin Xiao-li, Zhang Huan, et al. Identification of anti-tumor constituents in curcuminoids from *Curcuma longa* L. based on the composition-activity relationship[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, 70: 664-670.
- [8] 刘晔, 罗书勤, 王博超, 等. 超声辅助提取落叶松树皮原花青素的工艺研究[J]. *现代化工*, 2011, S1: 250-252+254.
- [9] 张卫红, 吴晓霞, 马空军. 超声波技术强化提取天然产物的研究进展[J]. *现代化工*, 2013, 7: 26-29.
- [10] 安保贞, 张金生, 李丽华, 等. 微波辅助合成掺杂态聚苯胺及其性能研究[J]. *现代化工*, 2014, 3: 108-110.
- [11] 周兴, 孙四娟, 霍登平, 等. 微波消解-ICP-AES法测定电镀金层中的杂质元素含量[J]. *现代化工*, 2014, 7: 163-166.
- [12] 范建凤, 郝宇飞. 微波-表面活性剂协同提取万寿菊叶黄素工艺研究[J]. *现代化工*, 2008, S2: 398-400+402.
- [13] Rouhani Sh, Alizadeh N, Salimi Sh, et al. Ultrasonic assisted extraction of natural pigments from rhizomes of *curcuma longa* L. [J]. *Prog Color Colorants Coat*, 2009, 2: 103-113.
- [14] 唐课文, 易健民, 李立. 微波萃取吸附分离法提取姜黄素的研究[J]. *化工进展*, 2005, 6: 647-650.
- [15] Wakte P S, Sachin B S, Patil A A, et al. Optimization of microwave, ultra-sonic and supercritical carbon dioxide assisted extraction techniques for curcumin from *Curcuma longa*[J]. *Separation And Purification Technology*, 2011, 79(1): 50-55. ■