

因素 A 为较显著因素。所以萃取压力应选择 25 MPa 最佳,其他 3 个因素影响不大。综合各因素考虑以极差为准,超临界萃取莪术挥发油中的 β-榄香烯的最佳萃取条件为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即最佳萃取条件为萃取压力 25 MPa、萃取温度 60 ℃、CO<sub>2</sub> 流量 8 L/h、萃取时间 90 min。

按此条件验证 3 次,并将其与常规水蒸气蒸馏相比较,结果见表 3。

表 3 β-榄香烯的最佳萃取条件验证  
Table 3 Verification of optimum extraction condition of β-elemene

方法	β-榄香烯/%
超临界萃取	0.027 1
水蒸气蒸馏	0.012 9

验证试验结果证明在最佳萃取工艺条件下 β-榄香烯萃取率相对最高,是常规水蒸气蒸馏的两倍。

### 3 讨论

3.1 通过以上实验分析发现与传统的水蒸气蒸馏法相比,超临界萃取中药挥发油有以下优势:萃取速度快,没有残留的有机溶剂,同时可以节省大量的有机溶剂,特别适合于那些对热不稳定物质的萃取。

3.2 本实验对一般超临界萃取的影响因素温度、压力、时间以及二氧化碳流量进行考察并筛选出最佳提取条件。其中考察了两个指标,出油率和 β-榄香烯。出油率在各因素水平下并没有显著差异,因此 β-榄香烯是主要指标。萃取是一个动态过程,随着萃取时间的增加,挥发油萃取率也会相应的增大。但是萃取是会饱和的,并非时间越长越好,有一个最佳值。一般认为温度对萃取率的影响比较复杂,一方面,温

度升高二氧化碳流体密度下降,导致流体溶解能力下降;另一方面,温度升高溶剂蒸汽压增大,二氧化碳流体的黏度减小,这又有利于萃取<sup>[5]</sup>。二氧化碳的流速也并非越大萃取效果越好,而有一个较佳值,这与本实验的结果一致。水蒸气蒸馏过程为高温低压,而超临界二氧化碳萃取过程为高压低温。这样可以提高有效成分的提取率,本实验结果也证实了这点。  
3.3 对于极性较大或相对分子质量较大的物质的萃取,要加入夹带剂。但夹带剂的加入给后处理过程带来很多不便,尤其不适合大规模的工业化生产。β-榄香烯的相对分子质量是 204,本人在预实验中考察了 95%乙醇作为夹带剂对提取效率的影响。加入夹带剂后,β-榄香烯的提取效率有所增加,但差异不显著。因此,有必要对夹带剂的种类以及剂量做进一步的探讨。

### References:

[1] Wu W Z, Liu K D, Tang X L, et al. Preliminary study on the antitumor immuno-protective mechanism of β-elemene [J]. *Chin J Oncol* (中华肿瘤杂志), 1999, 21 (6): 405.

[2] Gao S Q, Zhu C L. Study on optimum extraction process for volatile oil in *Rhizoma Curcumae* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11 (10): 878.

[3] Chen S L, You J, Wang G J. Extraction of essential oil from *Curcuma phaeocalis* by supercritical fluid extraction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (12): 902.

[4] Zhou X, Li Z W, Wang D P, et al. Study on constituents in *Curcuma phaeocalis* extract by supercritical fluid extraction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (11): 1223.

[5] Yan Y Z, Tong S Q, Chen G. Study on volatile oil from *Radix Curcuma Wenyujin* by supercritical fluid extraction [J]. *Bull Sci Teh* (科技通报), 2004, 20 (4): 355.

## 显微颗粒图像分析仪测试黄芪微粉粒度的研究

杨 瑛, 杨永华, 温俊达, 彭小花, 蔡光先

(湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410006)

摘要:目的 建立黄芪微粉的粒度测定方法。方法 采用 Winner99 显微颗粒图像分析仪对黄芪微粉的粒度进行测定。结果 黄芪微粉粒度内控指标宜为 1~75 μm。结论 采用 Winner99 显微颗粒图像分析仪测定黄芪微粉的粒度,方法基本可行。

关键词:黄芪微粉;粒度;显微颗粒图像分析仪

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)03-0370-04

收稿日期:2005-06-02

基金项目:国家科技攻关计划课题“单味中药超微饮片的质量标准规范化研究”(2001BA701A43)

作者简介:杨 瑛(1965--),女,湖南人,副研究员,学士,研究方向为中药新药制剂与质量标准研究。

## Testing method for particle size of *Radix Astragali* ultrafine powder by microscopic image analyzer

YANG Ying, YANG Yong-hua, WEN Jun-da, PENG Xiao-hua, CAI Guang-xian  
(Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410006, China)

**Key words:** *Radix Astragali* ultrafine powder; particle size; microscopic image analyzer

微米中药系采用高科技的粉体工程技术,将传统中药微粉化,增加了表面积,能使植物药材细胞破壁率达 90% 以上,能大大提高中药材成分的溶出率及生物利用度。微米中药包括微米中药材、微米中药提取物和微米中药制剂。我院研制的中药超微饮片是一种采用超微粉碎、干(湿)法制粒、微波灭菌、真空包装等技术将中药材加工制成的微米级新型饮片。粉末粒度是微米中药生产中的一个关键工艺参数。为保证中药超微饮片的质量,本实验选择 Winner99 显微颗粒图像分析对中药超微粉末(简称中药微粉)粒度进行测试,建立了中药超微饮片的粉末粒度内控指标。

Winner99 显微颗粒图像分析仪对中药超微粉末粒度及其粒度分布的测试过程为:把待测样品制成分散均匀的样片,利用光学显微镜和专业级的摄像头获取颗粒信息,使用计算机图像分析技术进行分析处理,从而测试颗粒大小分布。

为此,实验针对中药超微粉末的特性,对黄芪微粉的分散介质选择、分散介质与粉末的比例、分散方式及所需时间进行了研究,并对 Winner99 显微颗粒图像分析系统测试黄芪微粉粒度的精密性、重现性进行了考察。

### 1 仪器

Winner99 显微颗粒图像分析系统(济南微纳仪器有限公司)。Winner99 显微颗粒图像分析仪包括三目显微镜、CCD 图像采集系统、计算机图像处理

软件三大部分,并配以 P4 866 PC 工作站、15 吋彩色 32 位真彩色 1 200×1 600 分辨率显示屏、打印机。SB3200—T 超声振荡器(必能信超声上海有限公司)。

### 2 对 Winner99 显微颗粒图像分析系统准确性的考察

一个粒度待测样品是成万上亿个单体颗粒组成的,如果每一个颗粒都是圆形的,那么从理论上说只要测出其中每个颗粒的直径,然后按大小对其进行统计归类,就能得出样品的粒度分布。然而在生产 and 科研实践中,样品的颗粒绝大多数都是非球形的,且形状也互不相同,既是非球形的,就不存在真实的直径。即使可以逐个测量每个颗粒,也无法用一个或几个统一的参数去描述数量如此巨大,而且形状、大小又各不相同的颗粒的大小,因此粒度仪测试结果的准确性只能通过对标准粒度物质的测试来比较与衡量。

2.1 与其他测试方法的比较:参照现行的激光粒度仪国际标准,用  $D_{50}$  等来衡量仪器的整体重复性。取标准粒度物质[国家标准物质 GBW(E) 120005、GBW(E) 120007,购自核工业部北京化工冶金研究院],用 Winner99 显微颗粒图像分析系统测试,与 Balplan 显微镜、TAI 库尔特粒度计(由核工业部北京化工冶金研究院提供)测试结果比较,结果见表 1。(其中  $D_p$  为峰值粒度,即在此粒度附近,单位粒度区间内颗粒最多。 $D_{50}$  为中位径,颗粒累积分布为 50% 的粒度; $X_{nl}$  为个数长度平均径。)

表 1 不同方法测试标准粒度物质的结果

Table 1 Testing of standard particle size by different methods

编号	Balplan 显微镜/ $\mu\text{m}$			库尔特粒度计/ $\mu\text{m}$			显微图像分析/ $\mu\text{m}$		
	$D_p$	$D_{50}$	$X_{nl}$	$D_p$	$D_{50}$	$X_{nl}$	$D_p$	$D_{50}$	$X_{nl}$
GBW(E) 120005	16.5	16.9	17.0	15.8	14.9	15.67	16.3	16.8	16.4
GBW(E) 120007	35.0	35.7	35.9	38.04	37.50	38.33	33.3	34.0	33.5

2.2 同板内精密度的考察:取标准粒度物质,用 Winner99 显微颗粒图像分析系统测试,于 6 个视野摄像,分别统计 6 个视野的粒度测试结果,每次统计的颗粒数不少于 500 个,以  $D_p$  计算 RSD, GBW(E) 120005 为 1.27%, GBW(E) 120007 为 1.68%。

2.3 异板的重现性考察:用标准粒度物质制得 6 张

片子,用 Winner99 显微颗粒图像分析系统测试,分别统计 6 张片子的粒度测试结果,每次统计的颗粒数不少于 500 个,以  $D_p$  计算 RSD, GBW(E) 120005 为 2.42%, GBW(E) 120007 为 2.97%。

### 3 用 Winner99 显微颗粒图像分析系统测试黄芪微粉的方法研究

3.1 分散介质的选择:进行粒度测量前,必须选择

适宜的分散介质和分散剂(表面活性剂),制备成分散悬浮液,并借助于搅拌、超声波等进行分散处理,使聚集颗粒分散为原始粒子,并使原始粒子在分散液中保持良好的分散状态(俗称湿法分散)。分散介质应能充分分散样品,使被测颗粒在载玻片上分散均匀,以免颗粒太多,造成颗粒之间的覆盖与黏连。

黄芪微粉加分散介质并分别用乙醇、甘油、正丁醇、正辛醇分散,结果以采用正辛醇分散较好,其余 4 种方法颗粒均未能分散,有黏连。正辛醇分散黄芪微粉结果见图 1。

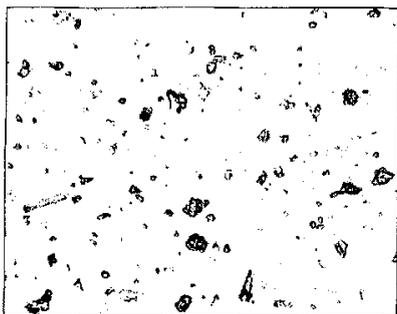


图 1 黄芪微粉在正辛醇中的分散

Fig. 1 Scattering of *Radix Astragalii* ultrafine powder in *n*-octyl alcohol

3.2 分散介质与粉末的比例以及不同超声时间的考察:取黄芪微粉与正辛醇按 1 : 50、1 : 100、1 : 200、1 : 500 (g/mL) 比例分别制片,超声时间分别为 1、3、5 min,结果超声分散的时间以 3 min 为宜,1 min 时未能使颗粒分散均匀,5 min 以后,超声时间延长时,颗粒又发生聚集现象。分散好的颗粒悬浮液应立即进行测试,不可放置太久,否则已分散的颗粒会再次团聚。

3.3 颗粒统计数对测试结果的影响考察:通过不同颗粒数的统计,其测试结果用参数  $D_p$ 、 $D_{50}$ 、 $X_{nl}$  比较粒度的变化情况(取 5 次结果的平均值),结果见表 2。结果颗粒统计数达到 500 个以上后,粒度测试的参数值基本变化不大。

表 2 颗粒统计数对测试结果的影响

Table 2 Testing of *Radix Astragalii* samples by different particle statistics

颗粒统计数	$D_p$	$D_{50}$	$X_{nl}$
500~ 900	3.76	34.02	5.54
900~1 200	4.04	35.76	5.60
1 200~1 600	3.90	34.28	5.22
1 800~2 200	3.96	35.04	5.12
2 200~2 800	3.92	33.44	5.18
RSD/%	2.61	2.62	4.27

3.4 水分对测试结果的影响:取新制备的黄芪微粉

适量,共 2 份,一份置于烤箱中,60~70 °C 干燥约 4 h,取出,冷却(含水分为 5.2%);另 1 份置于空气中 6 h(含水分为 6.8%),分别测试粒度,结果见表 3。从分离的颗粒图像结果来看,水分高的颗粒较易黏连,故应控制水分在适当范围。

表 3 含不同水分的黄芪微粉粒度测试结果比较

Table 3 Comparison on particle size distribution of *Radix Astragalii* samples containing different moisture

项目	$D_p$	$D_{50}$	$X_{nl}$
水分 5.2% 微粉	3.68	25.7	6.48
水分 6.8% 微粉	3.82	36.56	6.68

3.5 同板内精密度的考察:于 5 个视野摄像,分别统计 5 个视野的粒度测试结果,每次统计的颗粒数不少于 500 个,其测试结果用参数  $D_p$ 、 $D_{50}$ 、 $X_{nl}$  比较粒度的变化情况,结果见表 4。

表 4 同板内精密度的考察

Table 4 Precision of particle size with one piece of glass

编号	$D_p$	$D_{50}$	$X_{nl}$
1	4.0	26.9	7.5
2	4.4	31.2	7.8
3	5.3	31.5	8.1
4	5.4	30.0	8.5
5	5.3	32.9	8.5
RSD/%	13.07	7.03	5.42

3.6 多次测试的重现性考察:5 次制片测试,每次统计的颗粒数不少于 500 个,其测试结果用参数  $D_p$ 、 $D_{50}$ 、 $X_{nl}$  比较粒度的变化情况,结果见表 5。

表 5 多次测试的重现性考察

Table 5 Reproducibility of particle size by repetitious testings

编号	$D_p$	$D_{50}$	$X_{nl}$
1	5.8	37.3	8.3
2	4.4	38.6	7.4
3	4.3	35.2	8.2
4	5.1	37.9	8.1
5	5.1	37.9	8.9
RSD/%	12.36	3.48	6.55

4 Winner99 显微颗粒图像分析系统与其它方法测试黄芪微粉的粒度结果比较

采用 Winner99 显微颗粒图像分析系统测试黄芪微粉的结果见图 2、3。应用 Winner3000 激光粒度分析仪(干法分离)与 BT-9300 型激光粒度分析仪(湿法分离)对黄芪微粉进行分析比较,结果见表 6。结果表明,采用 3 种粒度测试方法测试黄芪微粉的粒度,均在 1~75  $\mu\text{m}$ 。

## 5 讨论

粒度测量的关键技术在于样品的分散。对于分散介质的选择,既要考虑供试样品的质地特征,也要

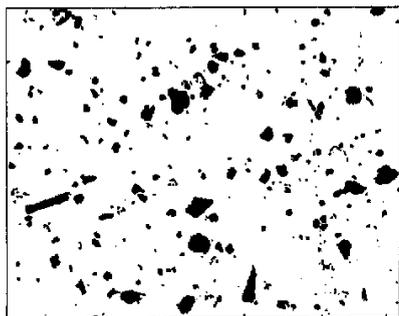


图 2 黄芪微粉在正辛醇中的分散(经软件处理后效果)  
Fig. 2 Scattering of *Radix Astragalii* ultrafine powder in *n*-octyl alcohol (post-treatment by software)

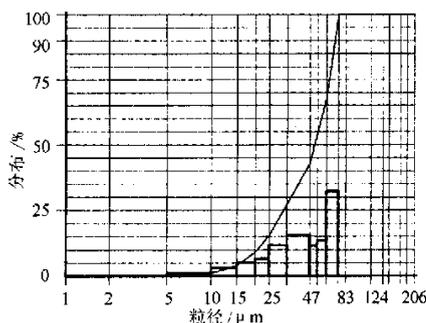


图 3 黄芪微粉粒度分布图

Fig. 3 Distribution of *Radix Astragalii* ultrafine powder  
兼顾样品的化学性质,尽量减少对供试样品的溶解,避免与其发生化学反应。

湿法分散中最常用的分散介质为乙醇,但它能以任何比例与水混溶;也有采用甘油的,甘油为黏稠液体,能与水或乙醇混溶。较高级的醇为黏稠的液体,在水中的溶解度随着相对分子质量增大而降低。如在 25℃ 的 100 g 水中,正丁醇的溶解度为 7.9 g、正己醇为 0.6 g、正辛醇为 0.5 g。鉴于正辛醇的结构

表 6 不同测试方法的粒度结果比较

Table 6 Comparison on particle size distribution of *Radix Astragalii* samples by different testing method

粒径/ μm	Winer3000		BT-9300		Winner99	
	频率	累积	频率	累积	频率	累积
	分布/%	分布/%	分布/%	分布/%	分布/%	分布/%
1	2.52	3.68	5.49	5.49	0.0	0.0
2	10.21	12.72	7.12	12.61	0.0	0.0
4	17.94	30.66	10.63	23.24	1.0	1.0
8	22.51	53.21	14.3	37.54	5.8	6.8
16	16.54	69.75	14.73	52.27	10.5	17.3
32	12.9	82.65	23.92	76.19	35.8	53.1
64	14.75	97.39	20.31	96.50	40.2	87.3
74	2.61	100.00	3.50	100.00	12.7	100.0

及其理化性质的特点,更近似生物相。所以选用正辛醇为分散介质较为适宜。

由于中药种类的复杂性:植物药、动物药、矿物药;物料特性的复杂性:韧性的、脆性的、高硬度的、低硬度的,含纤维量大的、含油率高的、含糖多的、富含淀粉的,以及中药材中组成成分的复杂性;从小分子到大分子,绝大多数是有机化合物,因此,应针对不同样品的特征选择不同的分散介质。

Winner99 显微颗粒图像分析系统测试标准粒度物质,其精密度和重现性 RSD 均在 3% 以内,以  $D_p$ 、 $D_{50}$ 、 $X_{nl}$  为参数,测试黄芪微粉其精密度和重现性的 RSD 分别为 12.36%、3.48%、6.55%,可能与黄芪微粉粒度的宽分布特征有关。对于宽分布的中药微粉的粒度测试方法,有待进一步研究。

致谢:济南微纳公司和丹东市百特仪器有限公司董青云先生分别采用 Winner3000 干粉激光粒度分析仪和 BT-9300 型激光粒度分布仪代测黄芪微粉的粒度。

## 渗漉法提取两面针活性成分工艺的研究

刘绍华<sup>1</sup>, 覃青云<sup>1</sup>, 方 堃<sup>1</sup>, 唐献兰<sup>1</sup>, 杨卫豪<sup>1</sup>, 张祥民<sup>2</sup>

(1. 柳州两面针股份有限公司博士后工作站, 广西 柳州 545001; 2. 复旦大学 化学系, 上海 200433)

**摘要:**目的 研究渗漉法提取两面针中具有镇痛、抗炎和止血活性成分新棒状花椒酰胺工艺。方法 在两面针的提取中对新棒状花椒酰胺有影响的 3 个因素:乙醇体积分数、浸泡时间和渗漉体流量,每个因素选择 3 个指标,通过正交试验进行工艺的优选,以新棒状花椒酰胺的提取率为评价指标,采用 HPLC 法测定两面针提取液中新棒状花椒酰胺。结果 最佳提取工艺条件是两面针用乙醇体积分数为 95%、浸泡时间为 72 h、渗漉体流量为 3.9 mL/min 的时,两面针提取液中新棒状花椒酰胺的质量分数最高,为 0.74%。结论 渗漉法提取两面针活性成分的

收稿日期:2005-06-24

作者简介:刘绍华(1962—),男,广西桂林人,博士,副教授,研究方向为靶向药物的开发研究。

Tel:(0772) 2506054 E-mail:lshaohual8@yahoo.com.cn