

超临界 CO₂ 萃取法去除橘红中重金属 Cu、As、Pb 的研究

李 琼, 梁成满*, 吴 婷

(华南理工大学化工与能源学院, 广东 广州 510640)

摘 要:目的 通过测定在不同的萃取条件下橘红中重金属的量, 探讨这些条件对超临界 CO₂ 萃取橘红中重金属的影响。方法 以二乙基二硫代氨基甲酸钠(NaDDC · 3H₂O)作为配合剂, 乙醇为夹带剂, 设计正交试验, 采用 ICP-MS 测定橘红中 Cu、As、Pb 的量。考察了萃取压力、温度、配合剂和萃取时间等条件。结果 在样品为 10 g 时, 萃取压力 25 MPa, 温度 60 °C, 配合剂 NaDDC 用量 2 g, 萃取时间 3 h, 夹带剂乙醇用量 10 mL, 萃取后重金属的量可达到美国 FDA 标准。结论 萃取后的药材中重金属量显著下降, 为降低中药材中重金属开辟了一条新的思路和研究方法。

关键词:橘红; 重金属; 超临界 CO₂ 萃取

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)07-1005-04

Removal of Cu, As, and Pb from chrysoidine by supercritical CO₂ extraction

LI Qiong, LIANG Cheng-man, WU Ting

(College of Chemical Engineering and Energy, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: **Objective** To make an attempt at some conditions on extracting heavy metals in chrysoidine by supercritical CO₂ extraction. **Methods** Taking sodium diethyldithiocarbamate trihydrate (NaDDC · 3H₂O) as chelating agent and ethanol as entrainer, the orthogonal test was designed and ICP-MS used to mensurate the contents of Cu, As, and Pb in chrysoidine under different conditions. According to the results, the factors including extracting pressure, temperature, chelating agent dosage, and time were studied. **Results** When the test sample was 10 g, the optimum condition was that extracting pressure: 25 MPa, the temperature: 60 °C, chelating agent dosage: 2 g, extracting time: 3 h, and the ethanol dosage: 10 mL. After extracting reaction, the contents of heavy metal in chrysoidine reached United States FDA standard. **Conclusion** The contents of heavy metal in Chinese herb medicine are notably decreased, and this way provides a new thought and research technique to decrease the contents of heavy metal.

Key words: chrysoidine; heavy metal; supercritical CO₂ extraction

中药是中国医药学的瑰宝,其具有疗效好、副作用小等特点。但是,中药材质量的好坏,直接影响到患者的安全和疗效;重金属是中药的重要污染物之一,铅(Pb)、镉(Cd)、铜(Cu)、汞(Hg)、砷(As)、锑(Sb)等重金属元素被人体吸收后,当蓄积至一定量时可引起免疫系统障碍,神经、内分泌、肝、肾功能受损,出现严重的中毒症状,因而世界各国对这些重金属元素在中药中的量也相应制定了严格的限量标准^[1]。降低中药材中重金属的量,并制订与国际接轨的重金属限量标准,进行中药材的质量控制,对于扩大中药材的出口,中药走向世界具有重要作用。因此,对于中药材中重金属的脱除研究,不仅可以解决

中药材的药用资源,确保用药的安全、合理和有效,而且也是中药材标准化研究的需要。本实验以橘红为研究对象,对脱除其中重金属进行研究。超临界 CO₂ 配合萃取不会引起对药物的二次污染;萃取温度较低,不会引起药物的损害和有效成分的损失;超临界 CO₂ 具有高效的传递特性,且对药物有一定的溶胀作用,因而萃取速度快,萃取率高^[2]。尽管目前利用超临界 CO₂ 萃取技术来大规模治理环境重金属污染的经济性的资料还比较欠缺,但对于小范围内特定条件下的重金属污染研究较多。随着超临界 CO₂ 流体萃取技术的日臻完善,比起传统的液液萃取、生物降解来说,超临界 CO₂ 萃取重金属技术的

收稿日期:2005-11-08

基金项目:教育部高等院校博士点基金资助(20020561026);广东省自然科学基金重点项目(036556)

作者简介:李 琼(1968—),女,湖南郴州人,高级实验师,博士生,主要从事超临界 CO₂ 萃取和色谱分离等方面的研究工作。

Tel: (020) 88372146 E-mail: ceqiong1@scut.edu.cn

* 通讯作者 梁成满 E-mail: cherman2004@163.com

节能、省时、省力的优势将会逐步显示出来。

本实验采用正交设计实验,以二乙基二硫代氨基甲酸钠(NaDDC)作为配合剂,乙醇为夹带剂,在 15~25 MPa 的萃取压力和 40~60 °C 的萃取温度内,分析比较配合剂用量、温度、压力和时间等因素对超临界 CO₂ 萃取橘红中重金属的影响,并找出较佳的工艺条件组合。

1 材料、试剂与仪器

橘红购于广州市黄沙梯云路清平药材市场,药材经广东省中药研究所王玉生主任中药师鉴定为 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥外果皮。剔除原药样品中所含的泥土、杂物,以双蒸水清洗 2~3 次,放入烘箱内于 60 °C 下烘干至恒重。取出冷却后粉碎,过 40 目筛,将筛好的粉末密封于样品袋中置于干燥器备用。

二乙基二硫代氨基甲酸钠[铜试剂(NaDDC)],广州化学试剂厂,分析纯;CO₂,广州市卓正气体有限公司,体积分数 99.5%;双蒸水,电阻率在 5×10⁵ Ω 以上;Cu、As、Pb 标准溶液(1 000 μg/mL):广州分析测试中心;调谐液:Li、Y、Ce、Tl,广州分析测试中心,质量浓度均为 1 000 μg/mL,混合;内标混合标准溶液:Sc、Y、In、Bi,广州分析测试中心,质量浓度均为 1 000 μg/mL,混合。

飞利浦果蔬粉碎机(转速 1 400 r/min);超临界萃取装置(该装置所用容器材质均为不锈钢,温度的控制采用冷机空气冷却,压力由调节阀控制,用于固-液萃取操作,溶剂为超临界 CO₂ 气体,装置的主要技术参数见表 1;ICP-MS(美国安捷伦公司),HP4500—100 型电感耦合等离子体质谱仪,Bington 雾化器。振荡培养箱(太仓市华美生化仪器厂),QHZ—98A 全温度振荡培养箱(30 °C,150 r/min)。

表 1 超临界萃取装置主要技术参数

Table 1 Main parameters of supercritical extractive apparatus

组 件	压力/MPa	温度/°C	容积/mL
萃取罐	≤32	≤150	100
分离罐	≤32	≤150	200
储 罐	≤20	-10~30	200

2 方法与结果

2.1 试验原理:CO₂ 从钢瓶出来进入储罐冷却成液体,由高压泵压进混合罐与金属配合剂混合。然后一起进入装有橘红物料的萃取罐,金属配合剂与橘红中带电的金属离子通过配合衍生效应生成电中性的配合物,增强其在 SCF-CO₂ 中的溶解度,再进行萃取。萃取后经过分离柱和分离罐把重金属配合物解

析下来,收集并检测。考虑到 NaDDC 在超临界 CO₂ 流体中溶解度良好但不稳定易分解,而金属离子难溶于超临界 CO₂ 中,故采取萃取前在样品中加入夹带剂乙醇,充分混合后再进行超临界配合萃取。

2.2 试验流程:称取经粉碎并过 40 目筛的橘红药材粉末 10 g,加 10 mL 无水乙醇溶液搅拌均匀,按所设定的条件进行超临界萃取,然后检测萃取前后橘红中的金属元素的变化,其中重金属的检测采用 ICP-MS 法^[3]。

2.3 单因素考察

2.3.1 萃取压力的考察:一般说来,当压力升高时,超临界 CO₂ 的密度和极性提高,从而提高配合剂和金属配合物在超临界 CO₂ 中的溶解度。崔洪友等^[4]研究发现,NaDDC 在 10~30 MPa 的溶解度随压力的增大而增大。配合剂在超临界 CO₂ 中的浓度增加,有利于加速配合反应速度,且反应生成的极性金属配合物也更易溶于极性增强了的超临界 CO₂ 相中。

由图 1 来看,Pb 和 As 的萃取率均先降低再升高,在 20 MPa 处于最低,这跟各种影响因素在此刻谁处于主导地位有关,而 Cu 的脱除率是一直攀升上去的,这也说明压力大有利于重金属离子的萃取。

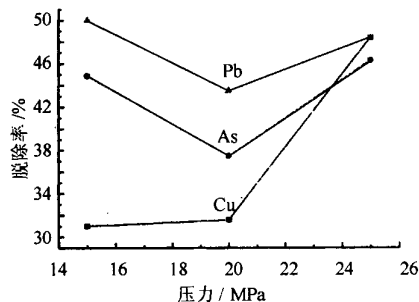


图 1 压力-脱除率关系

Fig. 1 Relationship between pressure and removal rate

2.3.2 萃取温度的考察:温度对金属离子配合萃取的影响主要表现在:影响超临界 CO₂ 的密度、影响配合剂和金属配合物的饱和蒸汽压、配合反应的速度以及金属离子和金属配合物从基质上脱附几个方面。另外,由于配合剂在酸性体系中的不稳定性,温度还会影响配合剂的分解速度^[4]。

萃取温度影响是两种抗衡的趋势综合作用的结果:当温度升高时,配合剂和金属配合物的挥发性增大,使配合剂和金属配合物溶于超临界 CO₂ 中的能力增强,同时超临界 CO₂ 的密度减小,使溶质的溶解度增大;另一方面溶剂超临界 CO₂ 的密度减小,降低了所能溶解的样品量。另外,由于配合剂在酸性体系中的不稳定性,温度还会影响配合剂的分解速

度。因此,重金属脱除率也基本保持随温度增加的趋势,见图 2。

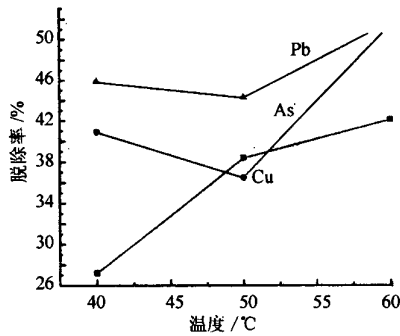


图 2 温度-脱除率关系

Fig. 2 Relationship between temperature and removal rate

2.3.3 配合剂用量的考察:从图 3 可看出,配合剂的用量对萃取效果有显著影响。超临界 CO₂ 配合萃取金属离子表明,配合剂过量 10 倍之内时脱除率随配合剂的过量倍数呈线性增大关系,但随即呈下降趋势,而且当配合剂量过量得太多,其本身所含的重金属也不能忽视。

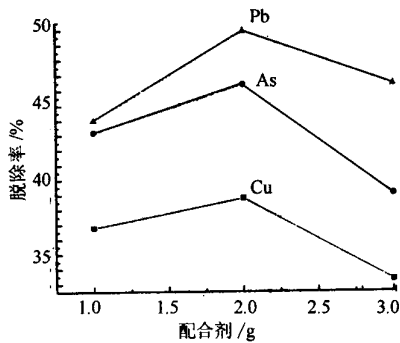


图 3 配合剂用量-脱除率关系

Fig. 3 Relationship between chelating agent dosage and removal rate

2.3.4 萃取时间的考察:从图 4 中可以看出:随着萃取时间的延长,重金属元素脱除率变化的趋势有

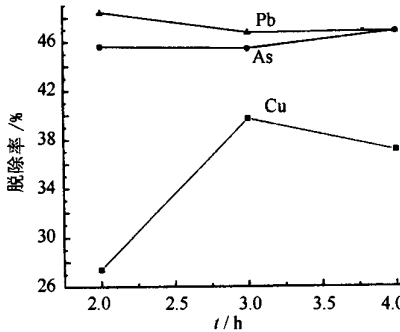


图 4 时间-脱除率关系

Fig. 4 Relationship between time and removal rate

所不同,对铜的影响较大,3 h 后呈下降趋势;而对砷和铅的影响则不大。

2.4 因素水平的确定:根据文献报道^[5~7]重金属的超临界 CO₂ 萃取条件,并考虑实验设备水平,选择脱除重金属时萃取压力、温度、配合剂用量和萃取时间 4 因素 3 水平正交设计,其因素水平表见表 2。采用 L₉(3⁴)正交表设计试验,以重金属脱除率为指标进行考察,选择最佳条件。

重金属脱除率=(原橘红中重金属元素的量-处理后橘红中重金属元素的量)/原橘红中重金属元素的量×100%

表 2 因素水平

Table 2 Factors and levels

水平	因 素			
	A 压力/MPa	B 温度/°C	C 配合剂用量/g	D 时间/h
1	15	40	1	2
2	20	50	2	3
3	25	60	3	4

2.5 正交试验结果分析:见表 3。

表 3 正交试验设计及其结果

Table 3 Designs and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	脱除率/%		
					Cu	As	Pb
1	15	40	1	2	16.3	45.9	46.3
2	15	50	2	3	40.3	44.5	50.7
3	15	60	3	4	36.5	44.3	53.0
4	20	40	3	3	24.7	34.3	40.5
5	20	50	1	4	34.4	26.3	36.7
6	20	60	2	2	35.6	52.0	53.3
7	25	40	2	4	40.5	42.6	50.8
8	25	50	3	2	30.4	38.8	45.6
9	25	60	1	3	54.1	57.5	48.9
Cu k ₁	31.03	27.2	36.8	27.4			
k ₂	31.6	38.4	38.8	39.7			
k ₃	48.4	42.1	33.3	37.1			
R	17.37	14.9	5.5	12.3			
As k ₁	44.9	40.9	43.2	45.6			
k ₂	37.5	36.5	46.4	45.4			
k ₃	46.3	51.3	39.1	46.8			
R	8.8	14.8	7.3	1.4			
Pb k ₁	50.0	45.9	44.0	48.4			
k ₂	43.5	44.3	49.9	46.7			
k ₃	48.4	51.7	46.4	46.8			
R	6.5	7.4	5.9	1.7			

根据极差大小,对于重金属脱除率的影响主次为 B>A>C>D,即萃取温度>萃取压力>配合剂用量>萃取时间。超临界 CO₂ 脱除橘红中重金属的较佳组合萃取条件为: A₃B₃C₂D₂,即萃取压力 25 MPa、萃取温度 60 °C、配合剂量 2 g、萃取时间 3 h。

2.6 适宜的工艺条件及结果:结合以上的正交试验结果,提出了一个适宜的工艺条件,并进行了实验验证。在 60 °C、25 MPa、2 g NaDDC 为配合剂、萃取时间为 3 h、实验样品为 10 g。按以上萃取条件做验证

试验,可以得到各重金属的脱除率分别为 55.2%、59.2%、52.0%。表 5 的结果表明,超临界配合萃取后橘红中的重金属量可达到 FDA 标准。

表 4 最佳工艺的萃取效果

Table 4 Extractive effects under optimum technics

重金属	萃取前的量/ (mg · kg ⁻¹)	萃取后的量/ (mg · kg ⁻¹)	FDA 标准/ (mg · kg ⁻¹)	脱除率 /%
Cu	18.28	8.19	<20.0	55.2
Pb	3.296	1.34	<3.0	59.2
As	0.353	0.166	<0.2	53.0

3 结论

在本实验中使用 NaDDC 作为超临界 CO₂ 萃取橘红中重金属的配合剂,研究了压力、温度及配合剂用量对重金属萃取效率的影响。采用 L₉(3⁴) 正交表设计试验,确定了最佳萃取条件,萃取后的药材中重金属的量显著下降,为降低中药材中重金属开辟了一条新的思路和研究方法。通过实验研究得到超临界 CO₂ 萃取橘红中的重金属的较佳萃取条件为压力 25 MPa、温度 60 ℃、配合剂量 2 g、萃取时间 3 h;压力对铜的萃取影响很大,随着压力增大,萃取率增大;温度对各离子的萃取率影响都很大;萃取时间对铜的萃取率影响较大,但对砷、铅的影响不明显。

就超临界 CO₂ 萃取中药中重金属,笔者认为今

后的工作应从以下两个方面入手:一是对配合萃取本身的机制的研究,通过选用适宜的配合剂与改性剂,取得更多的热力学与动力学数据,建立超临界流体萃取重金属的理论模型;二是对样品的研究,从重金属形态与基体的角度进行研究,一方面可以提高萃取的选择性与效率,一方面可以在保持中药有效药性的前提下,将有毒重金属萃出,降低其量,才能使配合萃取重金属的科研有意义。

References:

- [1] Xu L Y, Tao J S, Feng Y. Review of the development and manufacture of Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22 (1): 6-21.
- [2] Wen Z, Dang Z, Yu S D, et al. Research progress of supercritical carbon dioxide fluid extract ion of heavy metals [J]. *Prog Chem* (化学进展), 2001, 13 (4): 310-314.
- [3] Liang P, Hu B, Chen H, et al. Study on determination of trace elements in traditional Chinese medicine by ICP-MS with microwave digestion [J]. *Chin J Spec Lab* (光谱实验室), 2001, 18 (4): 509-512.
- [4] Cui H Y, Shen Z Y, Wang T. Supercritical CO₂ chelating extraction of metal ions and its effecting factors [J]. *Environ Protec Chem Ind* (化工环保), 2000, 20 (4): 14-19.
- [5] Osawa K, Matsumoto T, Maruya M T, et al. Studies of the antibacterial activity of plant extracts and their constituents against periodontopathic bacteria [J]. *Bull Tokyo Dent Coll*, 1990, 31 (1): 17-21.
- [6] Nicholson F A, Smith S R, Alloway B J, et al. An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales [J]. *Sci Total Environ*, 2003; 205-219.
- [7] Robert W, Peters C. Extraction of heavy metals from contaminated soils [J]. *J Hazard Mater*, 1999, 66: 151-210.

肠内菌群对积雪草苷的代谢转化研究

翁 骏,吕秋军*,田 瑛,张 敏,卞广兴,温利青

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所,北京 100850)

摘 要:目的 通过离体、在体实验研究大鼠肠道内菌群对积雪草苷的代谢作用,并确定代谢产物的化学结构。方法 将积雪草苷加入大鼠肠内细菌的菌酶溶液中,温孵一定时间后,以 TLC 和 LC-MS 法检测体外实验代谢产物,LC-MS 法检测在体实验大鼠尿、血中的代谢产物。结果 发现了 3 个积雪草苷的代谢产物,鉴定了代谢产物的结构。结论 积雪草苷可被大鼠肠内菌群代谢,原形物和代谢产物均为吸收入血成分。

关键词:积雪草苷;肠内菌群;代谢物

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)07-1008-04

Metabolism and transformation of asiaticoside by intestinal flora

WENG Jun, LÜ Qiu-jun, TIAN Ying, ZHANG Min, BIAN Guang-xing, WEN Li-qing

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Key words: asiaticoside; intestinal flora; metabolites

积雪草苷(asiaticoside)为五环三萜类皂苷,是 伞形科植物积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban 的

收稿日期:2005-09-23

作者简介:翁 骏(1978—),男,北京市人,在读硕士生,研究方向为新药筛选。E-mail: wengjunpharm@hotmail.com

*通讯作者 吕秋军 Tel: (010) 66932201 E-mail: lqj66@yahoo.com.cn