

1 mL 为对照),结果回收率 98.65%,RSD 值 0.6%。
2.3.6 样品测定:吸取样品溶液 3 mL(3 份),分别置于 50 mL 量瓶中,蒸馏水定容,吸取 1 mL 置于试管中,各管再加入 5%苯酚 1 mL,混匀,迅速加入浓硫酸 5 mL,摇匀,放入 85 ℃ 中加热 20 min,取出冷却置室温。在 490 nm 处测定吸光度。结果见表 1。

表 1 芦笋多糖的测定结果

Table 1 Determination of polysaccharide in *A. officinalis*

序号	A 值	芦笋多糖/%
1	0.272	79.24
2	0.271	78.95
3	0.272	79.24

3 讨论

本实验先后采用 18、16、15、12、5 kV 不同电压条件,结果在 15 kV 电压下电泳电流稳定,谱图清晰,分离效果好。采用 HPCE 测定芦笋多糖的单糖组分,其缓冲盐浓度和 pH 值对单糖组分的分离度影响较大,选用硼砂作缓冲溶液,分别配制 50 mmol/L, pH 9.5、pH 10、pH 10.5;75 mmol/L, pH 9.5、pH 10、pH 10.5;100 mmol/L, pH 9.5、pH 10、pH 10.5 的硼砂缓冲液,通过比较发现,75 mmol/L, pH 10.5 的硼砂缓冲液分离度最好。

本实验采用水提醇沉法提取芦笋粗多糖,运用 Sevage 法除蛋白, H₂O₂ 脱色,纯化后的多糖以 HPCE 分析单糖组成,苯酚-硫酸比色法测定多糖。通过芦笋多糖和混合单糖的毛细管电泳图谱比较,

可以鉴别出大部分单糖组分。毛细管电泳技术对多糖组分分离效果清晰、时间短、定量准确、进样量少,获得了较好的结果。按照各单糖的质量分数制作混合标准曲线,苯酚-硫酸法测芦笋多糖,测定结果更接近真实值。

References:

- [1] Sun C Y, Zhao B T, Yu Z F, *et al.* The Development of chemical components in *Asparagus officinalis* and their medical effects [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 2004, 23 (5): 1-5.
- [2] Ye K Z, Li B N, Wang K L, *et al.* Extraction and separation of polysaccharide [J]. *Guangzhou Food Sci Tech* (广州食品工业科技), 2004, 20 (3): 144-145.
- [3] Ye Y. Separation, purification and manufacturing of plant polysaccharide [J]. *Chin Food Add* (中国食品添加剂), 2001, 5: 29-31.
- [4] Ma L, Tan X L, Liu X M, *et al.* Different de-protein processes for extraction of polysaccharide from *Spirul in Platensis* [J]. *Food Sci* (食品科学), 2004, 25 (6): 116-120.
- [5] Li Z M, Wang B C, Zhou J, *et al.* Comparison of three methods of removing protein from polysaccharide extract in the plant [J]. *J Chongqing Univ* (重庆大学学报), 2004, 27 (8): 57-59.
- [6] Geng Y, Wang N B, Li H Y, *et al.* Composition analysis of polysaccharides from pollen by capillary electrophoresis [J]. *Shandong Sci* (山东科学), 2001, 14 (4): 10-13.
- [7] Ding K, Fang J N. Capillary electrophoresis of polysaccharides and its application [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1999, 17 (4): 346.
- [8] Chen C T, Sheu S J. Separation of coumarins by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. *Chromatogr A*, 1995, 7 (10): 323.
- [9] Sheu S J, Lu C F. Determination of six bioactive components of Hsiao-Chi-Tang by capillary electrophoresis [J]. *High Resol Chromatogr*, 1995, 18: 269.

红花黄色素提取工艺的研究

初 阳^{1,2}, 宋洪涛^{1*}, 陈大为², 李 丹², 罗轶凡²

(1. 南京军区福州总医院 药学科, 福建 福州 350025; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 对红花黄色素的提取工艺进行优化。方法 采用单因素试验法和正交试验法,以红花黄色素的提取率为主要考察指标,以红花黄色素在固形物中的质量分数及总出膏率为参考指标,对提取工艺进行考察。结果 红花黄色素的提取率。结论 该工艺可提高红花中红花黄色素的提取率。

关键词:红花;红花黄色素;正交试验

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)08-1161-04

Extracting process for safflower yellow in *Carthamus tinctorius*

CHU Yang^{1,2}, SONG Hong-tao¹, CHEN Da-wei², LI Dan², LUO Yi-fan²

(1. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China;

收稿日期:2005-11-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30200363);辽宁省博士启动基金资助项目(2001102042)

作者简介:初 阳(1980—),女,辽宁沈阳人,2003 级硕士研究生。Tel: (024) 23986318 E-mail: chuyang1980@yahoo.com.cn

* 通讯作者 宋洪涛 Tel: (0591) 83707254 E-mail: sohoto@sohu.com

2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To optimize the extraction of safflower yellow (SY) in *Carthamus tinctorius*. **Methods** Using the extracting rate of SY as main indicator, the content of SY in the dried and the extracting yield as reference indicators, the extracting process was studied by single factor method and orthogonal method. **Results** The optimum extracting procedure of SY was by 12 times of water soaking for 30 min, then decocting for 20 min and 2 times by dynamic extracting under 70 °C. **Conclusion** The optimum extracting procedure could increase the content and extraction efficiency of SY from *C. tinctorius*.

Key words: *Carthamus tinctorius* L.; safflower yellow (SY); orthogonal test

红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,具有活血通经、祛瘀止痛的功效,是传统的活血化瘀中药。红花活血的有效成分主要集中于水溶性的红花黄色素。红花黄色素(safflor yellow, SY)为查耳酮类化合物,具有抑制血小板聚集、抑制血栓形成、扩张血管、改善心肌缺血、降血压、抗氧化、抗炎、镇痛等作用^[1]。SY 的提取工艺虽已有报道,但文献多有出入,如吴冬青^[2]认为乙醇是提取红花黄色素最适溶剂,而杨志福等^[3~5]则以水为溶剂进行提取;周平兰^[3]虽对提取工艺进行了较详细的研究,但却没有给出最终的提取率、出膏率以及 SY 在固形物中的质量分数。本研究旨在为开发红花黄色素提供详尽的实验数据及科学依据。

1 仪器与材料

UV—2501PC 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);ZFQ85A 型旋转式蒸发仪(上海医械专机厂);668 型真空干燥箱(大连第四仪表厂);超声波清洗机(浙江省象山县石浦海天电子仪器厂)。

红花购自沈阳市药材公司,经鉴定为菊科植物红花 *C. tinctorius* L. 的干燥花;羟基红花黄色素 A 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111637-200301);红花黄色素(日本旭化成株式会社)。

2 方法与结果

2.1 红花黄色素测定方法的建立

2.1.1 储备液的配制:精密称取羟基红花黄色素 A 对照品 12.65 mg,置于 50 mL 量瓶中,加水溶解,定容至刻度,备用。

2.1.2 线性关系考察:精密吸取羟基红花黄色素 A 储备液 0.1、0.14、0.18、0.22、0.26、0.32 mL,分别置于 5 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,配成一系列质量浓度的对照品溶液,在 401 nm 波长处测定吸光度值。以吸光度(A)对羟基红花黄色素 A 的质量浓度(C)进行线性回归,回归方程为 $C = 20.004 A - 0.0582$, $r = 0.9998$,结果表明,羟基红花黄色素 A 在 5.06~16.19 μg/mL 与吸光度线性关系良好。

2.1.3 药材中红花黄色素的测定:取红花,置硅胶干燥器中干燥 24 h,研成细粉(过三号筛),精密称定 0.4 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入 25%甲醇 50 mL,称定质量,超声处理(功率 300 W,频率 50 kHz) 40 min,放冷,再称定质量,用 25%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,稀释,于 401 nm 波长处测定^[6],得到红花药材中红花黄色素的质量分数为 4.2%。

2.2 提取工艺的考察

2.2.1 最佳提取方法的考察:考察了超声法、渗漉法、温浸法 3 种方法,以提取率、SY 在固形物中的质量分数、出膏率为指标,比较 3 种方法,从中筛选出最优提取方案。

渗漉法:取红花适量,加 12 倍量水,浸渍 2 h,以 1 mL/min 缓缓渗漉。再加 10 倍量水,重复操作。合并流出液,测定提取率,滤液浓缩后烘干,测定各项指标。

超声法:取红花适量,加 12 倍量水,浸泡 30 min,超声 20 min,滤过。再加 10 倍量水,继续超声 20 min,滤过。合并滤液,测定提取率,滤液浓缩后烘干,测定各项指标。

温浸法:取红花适量,加 12 倍量水,浸泡 30 min,于 80 °C 下温浸 20 min,滤过。滤渣再加 10 倍量水,继续温浸 20 min,滤过,合并滤液,测定提取率,滤液浓缩后烘干,测定各项指标。结果见表 1。采用渗漉法和超声法,SY 的提取率都较低,而出膏率与温浸法相同,证明固形物中含有较多杂质;相对于其他两种方法,温浸法具有较高的提取率。

表 1 不同提取方法的考察结果 (n=3)

Table 1 Investigation of various extracting methods (n=3)

提取方法	提取率/%	SY 在固形物中的质量分数/%	出膏率/%
渗漉法	33.38±1.14	12.35±1.45	11.35±1.27
超声法	79.56±1.51	10.70±4.81	31.24±3.88
温浸法	90.42±2.09	11.42±3.29	33.24±0.98

2.2.2 红花黄色素热稳定性考察:红花黄色素不稳

定,遇热易分解。考察红花黄色素热稳定性,为下一步提取工艺研究奠定基础。取红花黄色素,配制成一定质量浓度溶液,于不同温度下加热,隔一定时间测量吸光度值,考察红花黄色素的热稳定性,结果见表 2。不同温度下加热 1 h,吸光度值变化均较小,红花黄色素的稳定性均较好;随加热时间增加,温度越高吸光度值降低越明显,红花黄色素的稳定性越差。因此在提取过程中,应尽量缩短 SY 的提取时间以满足稳定性的要求。

表 2 红花黄色素热稳定性考察结果 (n=3)

Table 2 Investigation on thermostability of SY (n=3)	
温度/	吸光度 A
C	0 h 1 h 2 h 3 h 4 h
40	0.412 0.412 0.411 0.410 0.411
50	0.412 0.412 0.412 0.412 0.411
60	0.412 0.412 0.410 0.409 0.409
70	0.411 0.411 0.410 0.404 0.396
80	0.411 0.411 0.407 0.401 0.394
90	0.411 0.410 0.404 0.399 0.390

2.2.3 最佳提取溶剂的考察:一般认为从中药中提取有效成分,最佳提取溶剂是水和乙醇,但不同的提取溶剂可以影响到中药的出膏率及提取率,因此需对溶剂进行考察。本实验选择水,10%、30%、50%、95%乙醇为溶剂,浸泡 30 min,在 80 ℃条件下温浸 2 次,每次 20 min,所加溶剂倍量为 12 倍量、10 倍量,测量各项指标,结果见表 3。当提取溶剂是乙醇时,随着乙醇体积分数的增加,SY 在提取液中的质量浓度反而降低,说明乙醇不是 SY 的最佳提取溶剂,且乙醇提取带进的脂溶性杂质较多,将会给后续处理带来很多不必要的麻烦,因此选择水作为最佳提取溶剂。

表 3 不同提取溶剂的考察结果 (n=3)

Table 3 Investigation on various extracting solvents (n=3)			
提取溶剂	提取率/%	SY 在固形物中的质量分数/%	出膏率/%
水	90.42±2.09	11.42±3.29	33.24±0.98
10%乙醇	80.91±1.57	10.38±3.06	32.73±2.35
30%乙醇	75.19±1.47	11.16±1.30	28.29±2.01
50%乙醇	70.38±2.35	12.60±3.06	23.46±2.69
95%乙醇	7.43±3.04	1.57±1.05	19.89±3.06

2.2.4 动静态提取方法考察:常见中药的水提取工艺流程为静态提取法,近年来,动态提取法在工业生产中也成为可能^[7],本实验在 80 ℃温浸条件下,提取 2 次,考察动静态提取方法对各项指标的影响,比较动静态提取方法效果的优劣,结果见表 4。动态提取方法与静态提取方法相比,SY 在固形物中的质量分数、出膏率变化不明显,但提取率有提高。

表 4 动静态提取考察结果 (n=3)

Table 4 Investigation on dynamic and static extraction (n=3)			
方式	提取率/%	SY 在固形物中的质量分数/%	出膏率/%
动态提取	94.69±2.01	11.67±3.23	34.08±1.93
静态提取	90.42±2.09	11.42±3.29	33.24±0.98

2.2.5 提取温度的考察:取 5 g 红花,加 12 倍量水,浸泡 30 min,分别在 40、60、70、80、100 ℃提取 20 min,放冷,滤过。再加 10 倍量水,相同条件下继续提取 20 min,放冷,滤过,合并滤液,测定各项指标,结果见表 5。当温度升至 100 ℃时,出膏率最大,但 SY 在固形物中的质量分数及提取率均较少,说明在高温时,红花黄色素降解,同时提取出的杂质增多;当温度降至 40 ℃时,提取率则明显降低,说明 40 ℃条件下提取不完全;故红花的最佳提取温度在 60~80 ℃。

表 5 不同提取温度的考察结果 (n=3)

Table 5 Investigation on various extracting temperatures (n=3)			
温度/℃	提取率/%	SY 在固形物中的质量分数/%	出膏率/%
40	69.34±1.28	10.66±3.67	27.33±2.31
60	86.08±2.69	11.65±4.79	31.03±3.04
70	95.21±3.01	10.44±3.64	38.29±2.78
80	90.42±1.07	11.42±3.66	33.24±2.65
100	84.25±1.94	8.76±3.79	40.39±2.86

2.2.6 提取时间的考察:称取红花 5 g,加 12 倍量水,于 70 ℃下提取,于 10、20、30、40、50 min 时,分别取样 5 mL,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液测定红花黄色素的质量浓度,结果见表 6。红花黄色素质量浓度随时间呈先升后降趋势,温浸时间应在 10~30 min 较好。

表 6 不同温浸时间的考察结果 (n=3)

Table 6 Investigation on various warm extracting times (n=3)	
时间/min	红花黄色素/(mg·mL ⁻¹)
10	1.81±3.41
20	2.22±2.79
30	2.26±2.45
40	2.19±3.49
50	2.16±2.57

2.2.7 溶剂用量的考察:称取红花 5 g,分别加入 10、14、18 倍量水,浸泡 30 min,于 70 ℃下提取 20 min,放冷,滤过。第 2 次较第 1 次的溶剂用量减少 2 倍,再次于 70 ℃下提取 20 min,放冷,滤过,合并滤液,测定各项指标,结果见表 7。当所加溶剂用量为 10 倍量时,提取率较低;当所加溶剂用量增至 14、18 倍量时,提取率较高且各项指标相近;说明溶剂用量

表 7 不同溶剂用量的考察结果 (n=3)
Table 7 Investigation on various solvents consumption (n=3)

溶剂用量/倍	提取率/%	SY 在固形物中的质量分数/%	出膏率/%
10	79.34±1.47	12.03±3.25	27.69±2.37
14	92.67±1.96	11.89±4.08	32.73±3.34
18	92.79±2.78	11.37±3.27	34.27±2.79

并非越多越好,只要将红花药材充分浸泡,得到较高提取率即可。

2.3 正交试验:预试发现提取温度、提取时间、溶剂用量对红花黄色素提取率均有较大影响。采用 L₉(3⁴)正交设计表安排试验,以提取率为主要考察指标,因素与水平见表 8,试验方案及结果见表 9,方差分析见表 10。

试验时,取 5 g 红花药材,先用水浸泡 30 min,然后浸入规定温度水浴箱中开始计时。同法提取 2 次,第 2 次较第 1 次的溶剂用量减少 2 倍,温浸过程中辅以搅拌,滤过分离药渣,合并滤液,测定红花黄色素质量浓度,计算各项指标。

表 8 因素水平
Table 8 Factors and levels

水 平	因 素		
	A 提取温度/℃	B 提取时间/min	C 第一次提取溶剂用量/倍
1	60	10	12
2	70	20	14
3	80	30	16

表 9 L₉(3⁴)正交设计试验的结果 (n=3)
Table 9 Results of L₉(3⁴) orthogonal test (n=3)

试验号	A	B	C	D (误差)	提取 率/%	SY 在固形物中 质量分数/%	出膏 率/%
1	1	1	1	1	78.78	10.97	30.16
2	1	2	2	2	89.25	10.71	35.01
3	1	3	3	3	88.09	10.04	36.84
4	2	1	2	3	83.38	10.84	32.31
5	2	2	3	1	95.61	11.47	35.88
6	2	3	1	2	92.35	10.28	37.74
7	3	1	3	2	80.91	11.25	30.94
8	3	2	1	3	94.69	11.67	34.08
9	3	3	2	1	93.27	9.85	39.77

提取率 K ₁	85.373	81.023	88.607	89.220
K ₂	90.447	93.183	88.633	87.503
K ₃	89.623	91.237	88.203	88.720
R	5.074	12.160	0.430	1.717

表 10 方差分析
Table 10 Variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	方差 F 比	显著性
A	44.479	2	9.510	P<0.05
B	255.967	2	54.729	
C	0.348	2	0.074	
D(误差)	4.680	2	1.000	

F_{0.05}(2,2)=19

以提取率为主要考察目标,同时考察出膏率及

SY 在固形物中的质量分数。各因素对提取效果的影响程度依次为 B>A>C,提取时间有显著性影响。由表 9 可以看出,不同提取条件对提取率和出膏率均有较大影响,而对 SY 在固形物中的质量分数则影响不大。直观来看各因素的最佳水平组合为 A₂B₂C₂;如果从节约能源的角度考虑,最佳水平组合为 A₂B₂C₁。

2.4 提取工艺的确定:根据试验结果,最终确定红花提取工艺为红花药材浸泡 30 min,2 次提取溶剂用量分别为 12 倍量和 10 倍量,70 ℃下温浸,20 min 后放冷,滤过,即得红花黄色素提取液。按此工艺进行提取,提取率为 96.46%,SY 在固形物中质量分数为 10.94%,出膏率为 37.03%。

3 讨论

单因素试验表明,温浸法为红花黄色素最佳提取方法;红花黄色素遇热易分解,提取时间不应超过 1 h;动态提取法较静态提取法能提取出更多的红花黄色素;水为红花黄色素的最佳溶剂;提取温度不能高于 80 ℃;单次提取时间应控制在 30 min 以内。

正交试验表明,提取时间对红花的提取有显著性影响。以提取率为指标,提取时间对提取率有较大影响,保持一定的提取时间,可使浸泡完全,红花黄色素收率高;提取温度对提取率的影响次之,将提取温度控制在一定范围内,既可提高提取率,又可减少红花黄色素的降解;溶剂用量对提取率影响较小,在保持将红花药材充分浸泡的前提下,从节约能源角度考虑,可适当减小溶剂用量。最佳提取工艺为红花药材浸泡 30 min;2 次提取溶剂用量为 12 倍量和 10 倍量,提取温度 70 ℃,提取次数为 2 次,单次提取时间 20 min,提取方式为动态提取。

References:

[1] Wang H L. A summary on modern research of safflower yellow [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol (中国中医药科技), 1998, 5 (5): 333-334.
[2] Wu D Q, Lin M, Xu Y T, et al. Study on extraction technology of yellow pigment from *Carthamus tinctorius* [J]. Chin Wild Plant Resour (中国野生植物资源), 2004, 23 (1): 50-52.
[3] Zhou P L, Xia X H. The optimal technology for the extraction of safflower yellow [J]. J Hunan Coll Tradit Chin Med (湖南中医学院学报), 2004, 24 (1): 11-12.
[4] Zhang B X, Wang Y Q, Li J S, et al. Condent determination of safflower yellow by spectrophotometry [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2002, 22 (2): 137-138.
[5] Yang Z F, Wen A D, Jiang Y P, et al. The content effect on different extraction of safflower yellow [J]. Northwest Pharm J (西北药学杂志), 2000, 15 (6): 255-256.
[6] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
[7] Zeng G S. Technice comparison on static, dynamic state extraction of Chinese traditional medicine [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 1989, 11 (3): 8-9.