

0.89%、1.36%。

2.7.6 稳定性试验:取供试品溶液间隔 3 h 进样,共 6 次,结果葛根素、芍药苷、黄芩苷峰面积 RSD 分别为 0.62%、1.36%、1.42%。

2.7.7 加样回收率试验:取批号 021284 抗脑衰胶囊 0.400 g,精密称定,准确加入适量葛根素、黄芩苷、芍药苷对照品,制备 6 份供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果葛根素平均回收率为 99.68%,RSD 为 1.23%;芍药苷平均回收率为 99.05%,RSD 为 1.06%;黄芩苷平均回收率为 98.56%,RSD 为 1.56%。

2.7.8 样品分析:取 6 批抗脑衰胶囊,制备供试品溶液,进样分析,计算其中葛根素、黄芩苷、芍药苷的质量分数,每批制剂平行测定 2 份,结果见表 3。

表 3 抗脑衰胶囊中指标成分的测定结果

Table 3 Determination of active components in Kangnaoshuai Capsula

批号	葛根素 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	黄芩苷 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	芍药苷 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
010105	588.1	2 268.9	2 647.5
021284	1 790.3	2 092.8	1 053.7
030527	2 792.2	1 760.6	1 855.1
030853	2 616.9	1 664.3	1 784.4
040428	3 050.7	1 869.3	2 274.0
040537	3 077.7	1 742.0	1 661.1

3 讨论

对流动相甲醇-0.4%磷酸溶液、乙腈-0.6%冰醋酸溶液、甲醇-乙腈-0.6%冰醋酸溶液和甲醇-

0.6%冰醋酸溶液梯度洗脱体系进行考察,结果以甲醇-0.6%冰醋酸溶液体系得到的色谱峰峰形和分离度较好。比较了 190~400 nm 波长下的色谱图,结果 280 nm 波长是色谱峰信息较多,分离情况良好;考察了不同体积流量对色谱分离的影响,体积流量为 0.9 mL/min 时,色谱峰信息量分布均匀,所有色谱峰均在 60 min,符合要求。

根据抗脑衰胶囊不同成分的理化性质和生产工艺条件,分别对提取方法、甲醇体积分数、提取时间按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,其中选用 50%甲醇、80%甲醇、无水甲醇作为溶剂,采用超声提取、回流提取、索氏提取 3 种方法,提取时间分别为 30、45、60 min,利用较好的色谱分离条件对其中葛根素、黄芩苷、芍药苷的量进行测定,利用直观分析法确定最佳供试品溶液制备方法为 80%甲醇作为溶剂,回流提取 60 min。

对于不同批号的抗脑衰胶囊的指纹图谱进行相似度分析发现,2001、2002 年批号的制剂相似度不足 0.8,2003 年以后批次相似度均大于 0.9,说明指纹图谱在共有峰的定性上,能够反映其质量成分的重现性;在峰面积的相对定量上,各批次胶囊质量之间指标成分的量不稳定,离散度较大,说明从原药材的选择、提取、干燥工艺的某一个环节存在问题。因此,利用定量测定与特定指纹图谱分析相结合方法评价抗脑衰胶囊质量是一种有效、可控、稳定的质量标准体系。

微波法提取丹参中丹酚酸 B 的研究

孙秀丽,秦培勇,谭天伟*

(北京化工大学生命科学与技术学院 北京市生物加工过程重点实验室,北京 100029)

摘 要:目的 采用微波提取技术提取丹参。方法 以丹酚酸 B 为指标,采用单因素方法考察了影响其收率的因素:提取溶剂体积分数、微波辐照时间、加热温度、微波输出功率、液固比、预浸泡时间及丹参粒径和提取次数。结果 最佳工艺为 30%乙醇为提取溶剂,按 10:1 的液固比,微波输出功率 650 W,70 ℃,辐照 7 min,预浸泡 90 min,提取 3 次,丹酚酸 B 收率可达到 7.92%。该微波法提取 5 min 比热回流法提取 5 h 的丹酚酸 B 收率还高。结论 微波提取技术提取丹参不仅缩短了提取时间而且节省了生产成本。

关键词:丹参;丹酚酸 B;微波提取

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2007)03-0379-04

收稿日期:2006-07-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20325622;20576013;50373003);国家“十五”攻关项目(2004BA411B05);博士点基金资助项目(20030010004);北京市科委科技计划重大项目(D0205004040211)

作者简介:孙秀丽(1980—),女,吉林省榆树人,硕士研究生,主要从事天然产物提取方面的研究。 Tel:(010)64450590

Email:2004000825@grad. buct. edu. on

* 通讯作者 谭天伟 Tel:(010)64416691 E-mail: twtan@mail. buct. edu. cn

Microwave-assistant extraction of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza*

SUN Xiu-li, QIN Pei-yong, TAN Tian-wei

(Beijing Bioprocess Key Laboratory, College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge; salvianolic acid B; microwave-assistant extraction

丹参中主要有水溶性成分酚酸类化合物和脂溶性成分丹参酮类化合物。丹参中水溶性成分以丹酚酸B的量最高。目前,工业上提取丹参有效成分主要以热回流法为主^[1],但是该方法提取时间长且收率低。Pan等^[2]利用微波提取技术对丹参中的丹参酮类成分进行提取,证实了微波法与热回流法、索式提取法相比,具有提取高效、快速、节省时间、溶剂和能源等优点。本实验以丹参中水溶性成分丹酚酸B为指标成分,对丹参的微波提取法采用单因素实验优化,探求了微波提取丹酚酸B的最佳工艺条件,并比较了微波法和传统的热回流提取法,为微波提取丹参的工业化生产提供了依据。

1 仪器与材料

HWC3L—A型微波萃取设备(天水华圆制药设备有限责任公司),台式离心机(上海安亭科学仪器厂),美国 Alltech 高效液相色谱。

丹参饮片购自北京同仁堂医药股份有限公司,由北京仟草厂中药饮片有限公司质检科倪晓红鉴定,符合《北京市中药饮片标准》2000年版和《中国药典》2005年版,经实验室加工制成丹参切片和粉碎机粉碎过筛得到丹参细粉(60目)。无水乙醇、冰醋酸(分析纯,北京化工厂),甲醇(色谱纯,北京百灵威化学技术有限公司),丹酚酸B对照品(中西器材大全,质量分数 $\geq 98\%$)。

2 方法与结果

2.1 微波法提取丹酚酸B:称10g丹参细粉,加入提取溶剂100mL,置于微波提取罐中,进行微波提取,改变提取溶剂体积分数、微波辐照时间、微波输出功率、提取温度和液固比,将其离心分离得到的上清液,即为提取液。

2.2 丹酚酸B的HPLC法分析^[3,4]

2.2.1 色谱条件:色谱柱:ODS C₁₈反相柱(250mm $\times$ 4.6mm,5 μ m);流动相:1%甲醇-1%醋酸(60:40);体积流量:1mL/min;检测波长:280nm;进样量:20 μ L。结果丹酚酸B的保留时间约为25.5min。

2.2.2 标准曲线的绘制:准确配制0.4mg/mL丹酚酸B对照品溶液,分别取出2、4、6、8mL定容于10mL量瓶中,配成0.08、0.16、0.24、0.32、0.4

mg/mL丹酚酸B对照品溶液,进样测定。以丹酚酸B峰面积对进样量绘制标准曲线,得标准曲线的方程为 $Y=695\ 122\ X-229\ 312$, $r=0.999\ 7$,线性范围为1.6~8.0 μ g。

2.2.3 供试品溶液的制备:将离心分离得到的提取液用0.45 μ m微孔滤膜滤过,得到滤液,精密吸取滤液1mL置于10mL量瓶中,定容摇匀后即得。

2.2.4 测定:精密吸取供试品溶液,注入液相色谱仪,测定峰面积,按标准曲线方程计算丹酚酸B的质量浓度。

2.3 丹酚酸B收率的计算:按照《中国药典》2005年版一部丹参项下的方法测得丹参药材中丹酚酸B的质量分数为8.05%。

丹酚酸B的收率=提取液中丹酚酸B的质量/丹参药材的质量 $\times 100\%$

2.4 各因素对丹酚酸B收率的影响

2.4.1 溶剂体积分数对丹酚酸B收率的影响:丹酚酸B易溶于水溶液,因此本实验采用乙醇水溶液可以将其提取出来。10g丹参细粉,150mL溶剂,微波辐照4min,加热温度70 $^{\circ}$ C,微波输出功率450W提取,结果见图1。结果表明,随乙醇体积分数的增加,丹酚酸B的收率逐渐增大,当乙醇体积分数达到30%时,收率达到最大,随后收率随乙醇体积分数的增加逐渐减少。所以少量醇的加入更有利于增大水溶性成分丹酚酸B的收率。

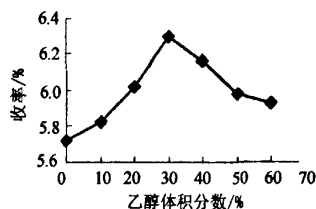


图1 乙醇体积分数对丹酚酸B收率的影响
Fig.1 Effect of ethanol concentration on extract yield of salvianolic acid B

2.4.2 微波辐照时间对丹酚酸B收率的影响:10g丹参细粉,150mL溶剂,乙醇体积分数为30%,加热温度70 $^{\circ}$ C,微波输出功率450W,结果见图2。物料中有效成分受辐照时间的影响较大。丹酚酸B的收率随微波辐照时间的增大,收率逐渐增大;但增大

到一定程度后随辐照时间的增加,收率反而有所下降。这是因为丹酚酸类物质在高温下长时间受热容易造成分解,故微波辅助提取时间不宜过长,以不超过 7 min 为宜。

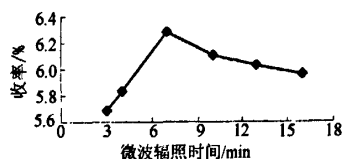


图 2 微波辐射时间对丹酚酸 B 收率的影响

Fig. 2 Effect of microwave-assistant extraction time on extract yield of salvianolic acid B

2.4.3 加热温度对丹酚酸 B 收率的影响:10 g 丹参细粉,150 mL 溶剂,乙醇体积分数为 30%,微波辐照 7 min,微波输出功率 450 W,结果见图 3。表明,当温度迅速升至 70 ℃ 时,丹酚酸 B 的收率最高,这是因为微波加热可以在短时间内迅速升温,避免了丹酚酸 B 在加热过程中的分解。而传统的热回流提取工艺,热的供给由蒸汽传导给提取溶剂,传热速度慢,不能将溶剂在短时间内升高到提取所需的温度,造成丹酚酸 B 在加热过程中分解。此后随温度的升高,丹酚酸 B 的收率下降,温度越高,收率越低。所以,加热温度过高也会使丹酚酸类物质发生分解,所以微波提取也要选择合适的加热温度。

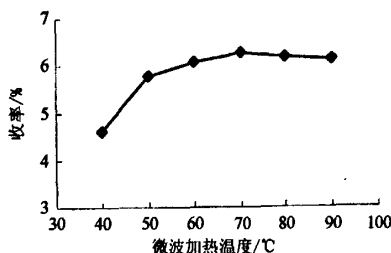


图 3 加热温度对丹酚酸 B 收率的影响

Fig. 3 Effect of microwave-assistant extraction temperature on extract yield of salvianolic acid B

2.4.4 微波输出功率对丹酚酸 B 收率的影响:10 g 丹参细粉,150 mL 溶剂,乙醇体积分数为 30%,微波辐照 7 min,加热温度 70 ℃,结果见图 4。随微波输出功率的增加,收率增大;此后,随微波输出功率的增加收率逐渐减小。这是因为,微波输出功率太低(450 W)达到设置温度的时间长,丹酚酸 B 的提取不完全;微波输出功率太高(大于 650 W)达到设置温度的时间缩短,在总的辐照时间不变的前提下,延长了受热时间,会使丹酚酸 B 发生分解。微波迅速升温达到所需温度对一些热不稳定性物质提取非常

有利,可以避免其在长时间或高温下的分解。用微波法提取热不稳定性物质时,要选择合适的微波输出功率,充分发挥微波辅助提取丹酚酸类热不稳定性物质的最大优点。

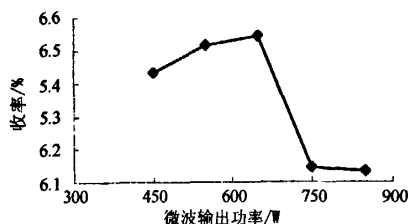


图 4 微波输出功率对丹酚酸 B 收率的影响

Fig. 4 Effect of microwave power on extract yield of salvianolic acid B

2.4.5 液固比对丹酚酸 B 收率的影响:10 g 丹参细粉,乙醇体积分数为 30%,微波辐照 7 min,加热温度 70 ℃,微波输出功率 650 W,结果见表 1。随液固比的增加,收率逐渐增大,这是因为丹酚酸 B 为水溶性物质,溶于水。随液固比的增加,丹参药材得到完全浸润,使得有效成分很好的溶出;液固比 10:1,丹酚酸 B 收率达到最大;此后,随液固比的增加,收率下降,这是因为较高的液固比使得微波在一定的能量下需加热更多的溶液,所需时间延长,收率反而下降。考虑到溶剂利用的经济效益,在合适的范围内选择较小的液固比较合适,而且较高的液固比给后期的溶液处理也带来了一定的麻烦。

表 1 提取溶剂和液固比对丹酚酸 B 收率的影响

Table 1 Effect of liquid/solid ratio on extract yield of salvianolic acid B

液固比/(g · mL ⁻¹)	收率/%	液固比/(g · mL ⁻¹)	收率/%
8 : 1	5.10	20 : 1	5.80
10 : 1	6.01	25 : 1	5.77
15 : 1	5.99		

2.4.6 预浸泡时间对丹酚酸 B 收率的影响:10 g 丹参细粉,100 mL 溶剂,乙醇体积分数为 30%,微波辐照 7 min,加热温度 70 ℃,微波输出功率 650 W,结果见图 5。收率随预浸泡时间的增加而增加,这是因为通过浸泡的方法提高了丹参细粉中的含水量,在微波辐照下,丹参的细胞组织内部产生局部的高温、高压,压迫了丹参的细胞组织,加快了目标成分由组织向溶剂中的传递过程。由此可见,室温下预浸泡时间对提高丹酚酸 B 的收率有利。

上述实验确定了微波辅助法提取丹酚酸 B 的最佳工艺条件:将丹参细粉(60 目)预浸泡 90 min、10 倍量 30%乙醇提取 7 min、加热至 70 ℃、在微波输出功率为 650 W 时提取 3 次,其收率可达到

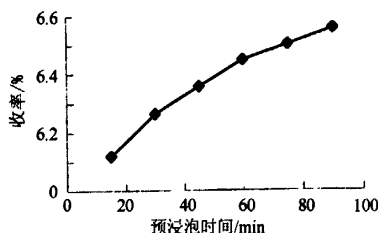


图 5 预浸泡时间对丹酚酸 B 收率的影响

Fig. 5 Effect of pre-leaching time on extract yield of salvianolic acid B

7.92%。

2.4.7 丹参选料粒度的影响和提取次数的确定:用 30%乙醇 150 mL、微波辐照 7 min、加热温度 70 ℃、液固比 10:1、微波输出功率 450 W、丹参不浸泡直接进行微波提取。两种粒度丹参的丹酚酸 B 的收率见表 2。可见丹参粒度变小,丹酚酸 B 的收率会有所提高,尤其是对于一次提取而言,丹参的粒度是影响收率的重要因素,且两次提取基本上可以达到一个相当高的收率水平,主要是由于粒度变小,比表面积增大,植物细胞、组织受破坏程度较大,从而利于有效成分的扩散。

表 2 提取次数对丹酚酸 B 收率的影响

Table 2 Effect of various extracting times on extract yield of salvianolic acid B

粒径大小	丹酚酸 B 收率/%			
	1 次	2 次	3 次	总收率
丹参切片	1.08	1.20	1.01	3.29
丹参细粉	6.42	1.02	0.11	7.55

2.5 微波工艺与传统热回流工艺的比较:10 g 丹参细粉,在提取溶剂体积分数(30%乙醇)、液固比(15:1)、提取温度(70℃)等条件基本相同的情况下采用实验优选的最佳微波工艺与热回流提取进行比较,结果见表 3。可见微波提取 5 min 比热回流提取 5 h 得到丹酚酸 B 的收率还要高一些。此外,生产成本也明显降低,节省了能源。

表 3 微波提取与热回流提取丹参中丹酚酸 B 的比较

Table 3 Comparison between microwave-assistant extraction and hot reflux on extracting of salvianolic acid B from *S. miltiorrhiza*

提取方法	提取时间/ min	收率/ %	功率/ W	能耗/ (kW·h)
微波法	5	6.86	2 000	0.17
热回流法	300	6.71	500	2.5

3 讨论

研究了微波提取溶剂体积分数、辐照时间、加热时间、微波输出功率、液固比、预浸泡时间及丹参粒径和提取次数对丹参中丹酚酸 B 收率的影响,确定了最佳的提取工艺路线:30%乙醇为提取溶剂,按 10:1 的液固比,微波输出功率 650 W,70 ℃,辐照 7 min,提取 3 次得到丹酚酸 B 的收率为 7.92%。传统的热回流提取工艺,热的供给由蒸汽通过传导给提取溶剂,传热速度慢,不能将溶剂的温度在短时间内由室温升高到提取温度,造成提取物中丹酚酸 B 在逐渐加热过程中的分解。微波提取法由于具有快速提取的优点,减少了提取物在高温下的受热时间,对于在高温下长时间的受热易分解的丹酚酸 B 类物质的提取是十分有利的。微波辅助法提取丹酚酸 B 与传统的热回流法相比,大大缩短了提取的时间,节省了生产成本。

References:

- [1] Lin C F, Zhang Y Q, Dai J Y, et al. Comparison of different extraction methods for *Radix Salviae Miltiorrhizae* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1999, 21(8): 385-388.
- [2] Pan X J, Niu G G, Liu H Z. Comparison of microwave-assistant extraction and conventional extraction techniques for the extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Biochem Eng J*, 2002, 12: 71-77.
- [3] Li Y Z, Chen R L, Chen X K, et al. Determination of salvianolic acid B and tanshenone I_A in Danshen preparations by HPLC [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2005, 25(6): 523-525.
- [4] Yue X D, Qu G W, Li G S, et al. Stability of salvianolic acid B in water solution [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(2): 205-207.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975 年、1976 年、1979 年、1985-1994 年(80 元/年),1995-1997 年(110 元/年)、1998 年(120 元/年)、1999 年(135 元/年)、2000 年(180 元/年)、2001-2003 年(200 元/年)、2004 年(220 元/年)、2005 年(260 元/年)、2006 年(280 元/年)。1996 年增刊(50 元)、1997 年增刊(45 元)、1998 年增刊(55 元)、1999 年增刊(70 元)、2000 年增刊(70 元)、2001 年增刊(70 元)、2002 年增刊(65 元)、2003 年增刊(65 元)、2004 年增刊(65 元)、2005 年增刊(65 元)、2006 年增刊(65 元)。欢迎订购。订购者请直接与《中草药》杂志编辑部联系。

电话:(022) 27474913 23006821

传真:(022) 23006821

E-mail: zcyzjb@tjipr.com