

微波辅助提取红景天苷的工艺研究

闵建华, 曹旻旻, 韦冬菊, 朱锦章, 章振鹏, 向飞军*

康美药业股份有限公司, 广东 揭阳 515300

摘要: 目的 优选红景天中红景天苷的微波辅助提取工艺。方法 利用 HPLC 法测定红景天中红景天苷, 运用正交试验, 以红景天苷转移率为考察指标, 筛选最佳微波提取工艺; 并将其与加热回流提取法及超声提取法进行比较。结果 微波提取红景天中红景天苷的最佳提取工艺参数: 微波功率中档 (462 W), 料液比为 1:10, 提取 3 次, 每次 90 s, 在此条件下, 红景天中红景天苷的转移率高达 99.86%。结论 微波辅助提取工艺具有效率高、时间短、能耗低、环保等优点, 为红景天苷的工业化生产和新药开发提供了参考。

关键词: 红景天; 红景天苷; 微波辅助提取; 正交试验; HPLC

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)08-1536-04

Research on microwave-assisted extraction technology of salidroside

MIN Jian-hua, CAO Min-min, WEI Dong-ju, ZHU Jin-zhang, ZHANG Zhen-peng, XIANG Fei-jun

Kangmei Pharmaceutical Co., Ltd., Jieyang 515300, China

Key words: *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et. Thoms.) H. Ohba; salidroside; microwave-assisted extraction; orthogonal test; HPLC

红景天为景天科植物大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et. Thoms.) H. Ohba 的干燥根和根茎。其性平、味甘、微苦, 具有益气活血、通脉平喘的功效, 用于气虚血瘀、胸痹心痛、中风偏瘫、倦怠气喘等症状^[1]。现代药理研究表明, 红景天中特有的红景天苷是该植物独特的有效成分, 对人体内分泌系统及代谢系统具有较好的调理作用, 还具有抗衰老、抗疲劳、抗缺氧、抗辐射、抗癌、抗寒冷等作用^[2-4]。微波辅助提取作为天然产物提取中一种非常有发展潜力的新型技术, 具有快速、溶剂用量少、提取效率高、成本低、环保等许多优点, 引起广泛关注^[5-8]。为此, 本实验拟采用正交设计方案, 以红景天苷转移率为指标, 优选出红景天苷微波辅助提取的工艺参数, 并将其与加热回流法、超声波提取法进行比较研究, 以期红景天苷的工业化生产和新药开发提供依据。

1 仪器与材料

安捷伦 LC 1100 液相色谱仪 (G1354A 四元泵、自动进样器、DAD 检测器、VWD 检测器、安捷伦高效液相化学工作站), TC-15 套式恒温器 (海宁

市新华医疗器械厂), FA2104 分析天平 (上海精密科学仪器有限公司), RE-52AA 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂), HWC-3 型微波提取设备 (天水华圆制药设备科技有限公司), KQ300YDB 型超声波发生器 (昆山市超声仪器有限公司)。

红景天苷对照品 (批号为 110818-200404, 中国药品生物制品检定所), 流动相中的甲醇、乙腈为色谱纯, 其他乙醇、甲醇均为分析纯。红景天药材购于广东省普宁市药材市场, 经湖北中医药大学生药理学教研室陈科力教授鉴定为大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et. Thoms.) H. Ohba 的根和根茎。

2 方法与结果

2.1 红景天苷的测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1%磷酸缓冲溶液 (15:85), 检测波长 278 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 °C。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取红景天苷 5 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

收稿日期: 2011-12-26

作者简介: 闵建华 (1983—), 男, 硕士, 研究方向为中药及其制剂的物质基础研究。Tel: (020)39389769 E-mail: minjianhua_008@163.com

*通讯作者 向飞军 Tel: (020)39389769 E-mail: kmyfzx@126.com

网络出版时间: 2012-07-06 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120706.1711.004.html>

2.1.3 供试品溶液的制备 取红景天药材粉末(过3号筛),精密称定,置微波提取器中,按照不同的工艺提取,合并提取液,滤过,浓缩,定容至100 mL,摇匀,得不同提取工艺要求的供试品溶液。

2.1.4 线性关系考察 精密称取红景天苷对照品适量,加入甲醇制成红景天苷质量浓度为1.6 mg/mL的溶液,再采用逐级稀释法分别制取红景天苷质量浓度为0.80、0.40、0.20、0.10、0.05 mg/mL的对照品溶液。精密吸取各质量浓度对照品5 μ L,分别注入液相色谱仪,测定,即得。结果表明,红景天苷的回归方程为 $Y=1\,227.71X-10.31$, $r=0.999\,8$;红景天苷在0.05~1.60 mg/mL线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 分别精密吸取红景天苷对照品溶液5 μ L,注入液相色谱仪,连续重复6次,测定峰面积。结果表明,红景天苷峰面积的RSD为0.4%。

2.1.6 重复性试验 取同一批(批号20110422)样品,制备6份供试品溶液,进样测定,计算得红景天苷质量分数的RSD为1.74%。

2.1.7 稳定性试验 取供试品(批号20110422)溶液,分别于0、4、8、16、24 h进样分析,计算红景天苷峰面积的RSD为2.58%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.1.8 加样回收率试验 取供试品粉末过3号筛,精密称定0.25 g,置于50 mL锥形瓶中,精密量取含红景天苷2.551 mg的对照品溶液2 mL置锥形瓶中,加入10 mL甲醇,密塞,摇匀,称定质量,超声处理30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,平行操作6次,得供试品溶液6份。进样测定,红景天苷的平均回收率为96.8%,RSD为1.2%。

2.1.9 样品测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各10 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积,计算样品中红景天苷的质量浓度。

2.2 单因素试验

以提取溶剂、溶剂用量、微波功率、原料粒度、浸泡时间、提取时间作为影响红景天苷转移率的单因素,各因素设置5~7个不同的水平,分别对20 g红景天药材进行提取工艺考察,找出不同因素的适宜范围。

转移率=提取液中红景天苷质量/原药材中红景天苷质量

2.2.1 提取溶剂对红景天苷提取效果的影响 为了研究溶剂体积分数对红景天苷提取效果的影响,本

实验设置了6个不同的溶剂体积分数,分别为水、20%、40%、60%、80%、95%乙醇。提取功率为中档(462 W),料液比1:10,每个样品提取3次,每次90 s,平行操作3份,测定,计算得红景天苷的平均转移率分别为87.00%、88.00%、91.62%、92.30%、93.76%、77.20%,结果表明80%乙醇最佳,由于水与80%乙醇对红景天苷的提取率相差并不大,考虑到工业生产的实际情况,选择水作为提取溶剂。

2.2.2 溶剂用量对红景天苷提取效果的影响 为了研究提取溶剂用量即料液比对红景天苷提取效果的影响,本试验设置了6个不同的提取溶剂倍数,分别为4、6、8、10、12、14倍量。提取溶剂为水,提取功率为中档(462 W),每个样品提取3次,每次90 s,平行操作3份,测定,计算得红景天苷的平均转移率分别为71.20%、83.50%、87.15%、91.24%、92.00%、92.36%,结果表明14倍量的溶剂最佳,但10倍量溶剂之后红景天苷的转移率差别并不明显,选择10倍量的提取溶剂用量。

2.2.3 提取功率对红景天苷提取效果的影响 为了研究提取功率对红景天苷提取效果的影响,本实验设置了5个不同的提取功率,分别为低档(119 W)、中低档(280 W)、中档(462 W)、中高档(595 W)、高档(700 W)。提取溶剂为水,料液比为1:10,每个样品提取3次,每次90 s,平行操作3份,测定,计算得红景天苷的转移率分别为88.33%、88.90%、91.70%、89.50%、81.60%,结果表明提取功率为中档(462 W)最佳。

2.2.4 原料粒度对红景天苷提取效果的影响 为了研究原料粒度对红景天苷提取效果的影响,本实验设置了5个不同的粒度,分别过10目(1号筛)、24目(2号筛)、50目(3号筛)、65目(4号筛)、80目(5号筛),提取溶剂为水,料液比为1:10,每个样品提取3次,每次90 s,平行操作3份,测定,计算得红景天的转移率分别为73.22%、83.66%、86.85%、87.33%、89.06%,结果表明原料粒度越小,红景天苷转移率越高,但滤过等后处理也相对繁琐,因此粒度选择为过50目筛(3号筛)。

2.2.5 浸泡时间对红景天苷提取效果的影响 为了研究浸泡时间对红景天苷提取效果的影响,本实验设置了7个不同的浸泡时间,分别为0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h。提取溶剂为水,料液比为1:10,每个样品提取3次,每次90 s,平行操作3份,

测定, 计算得红景天苷的转移率分别为 77.72%、83.78%、86.73%、89.45%、84.58%、87.35%、81.77%, 结果表明浸泡 1.5 h, 红景天苷转移率最佳。

2.2.6 提取时间对红景天苷提取效果的影响 为研究提取时间对红景天苷提取效果的影响, 本试验设置了 5 个不同的提取时间, 分别为 30、60、90、120、150 s。提取溶剂为水, 料液比为 1:10, 每个样品提取 3 次, 平行操作 3 份, 测定, 计算得红景天苷的转移率为 80.15%、86.67%、91.33%、91.12%、88.74%, 结果表明提取 90 s, 红景天的转移率最佳。

2.3 正交试验

以单因素试验结果为参考, 对料液比 (A)、提取时间 (B)、提取次数 (C) 进行 4 因素 3 水平正交试验。以红景天苷转移率为指标, 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验确定最佳提取条件。准确称取干燥的红景天粉末 (过 50 目) 20 g, 浸泡 1.5 h, 分别按表 1 的试验条件进行微波辅助提取, 每个试验条件平行操作 3 份, 滤过, 合并滤液, 60 °C 以下减压浓缩, 浓缩液定容至 250 mL, 测定各次提取液中红景天苷的质量浓度, 计算其平均转移率, 结果及极差分析见表 1, 方差分析结果见表 2。

在 3 个因素中, 对红景天苷转移率的影响程度依次为 $C > B > A$, 其中因素 C 对红景天苷转移率有显著影响。据测定结果并考虑省时节能、降低成本, 优选出最佳提取工艺为 $A_2B_3C_3$, 即 10 倍水微波提取 3 次, 每次 90 s。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果 ($n=3$)

Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test ($n=3$)

试验号	A	B/s	C/次	D(误差)	转移率/%
1	8 (1)	60 (1)	1 (1)	(1)	80.48
2	8 (1)	90 (2)	2 (2)	(2)	85.65
3	8 (1)	120 (3)	3 (3)	(3)	90.77
4	10 (2)	60 (1)	2 (2)	(3)	87.63
5	10 (2)	90 (2)	3 (3)	(1)	88.48
6	10 (2)	120 (3)	1 (1)	(2)	82.40
7	12 (3)	60 (1)	3 (3)	(2)	90.64
8	12 (3)	90 (2)	1 (1)	(3)	80.12
9	12 (3)	120 (3)	2 (2)	(1)	92.64
K_1	256.90	258.75	243.00	261.60	
K_2	258.51	254.25	265.92	258.69	
K_3	263.40	265.81	269.89	258.52	
R	6.50	11.56	26.89	3.08	

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	7.639	2	3.823	
B	22.636	2	11.329	
C	140.462	2	70.301	$P < 0.05$
D (误差)	1.998	2		

$$F_{0.05}(2, 2) = 19.00 \quad F_{0.01}(2, 2) = 99.00$$

2.4 工艺验证试验

取同批红景天药材 (过 50 目筛) 3 份, 每份 20 g, 分别按照最佳提取工艺进行试验, 红景天苷的转移率分别为 91.27%、93.46%、94.06%, RSD 为 1.58%, 表明本提取工艺较为稳定可靠, 且提取率较高。

2.5 不同方法提取红景天中红景天苷工艺的比较

将本实验优选的微波提取工艺与文献所优选出的加热回流提取工艺及超声提取工艺进行比较, 进行不同提取方法的优选。

2.5.1 加热回流提取法^[9] 取红景天药材粉末 (过 50 目筛) 20 g, 精密称定, 加 10 倍量 40% 乙醇溶液, 浸泡 1.5 h 后, 加热回流提取 2 次, 第 1 次 2 h, 第 2 次 1 h, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩后, 定容到 250 mL, 测定, 计算红景天苷的转移率为 70.51%。

2.5.2 超声提取法^[10] 取红景天药材粉末 (过 50 目筛) 20 g, 精密称定, 至具塞锥形瓶中, 按料液比 1:10 加入水, 浸泡 1.5 h 后, 提取 1 次, 时间为 1 h, 滤过, 合并提取液, 减压浓缩后定容至 250 mL, 测定, 计算红景天苷的转移率为 82.81%。

2.5.3 微波提取法 取红景天药材粉末 (过 50 目筛) 20 g, 精密称定, 预先浸泡 1.5 h 后, 按正交试验优选的工艺参数进行微波提取, 滤过, 合并提取液, 定容至 250 mL, 测定, 计算红景天苷的转移率为 92.86%。

结果表明, 微波提取与加热回流提取及超声提取比较, 红景天苷的转移率有所提高, 且提取时间大大缩短了, 相比之下, 微波提取红景天苷具有提取率高、时间短、能耗低等优点。

3 讨论

微波能在短时间内穿透红景天细胞组织内部, 使其内部分子极化迅速升温, 达到提取效果。中药材含水量的多少, 直接影响到微波提取的效果, 药材细胞内含水量充足, 才能吸收足够的微波能量, 细胞壁才能被击破, 红景天苷才能释放出来, 因此

药材应预先浸泡。

本实验以红景天苷的转移率为考察指标, 优选出微波提取的最佳工艺: 提取溶剂为水, 微波功率462 W, 料液比1:10, 提取3次, 每次90 s。相对加热回流工艺及超声提取工艺, 微波提取红景天苷的提取时间短, 提取效率高, 可以降低生产成本、提高提取效率且环保, 适合工业化大生产。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] Han X, Zhang T Y, Wei Y, *et al.* Separation of salidroside from *Rhodiola crenulata* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 971(1/2): 237-241.
- [3] Majewska A, Grażyna H, Mirosława F, *et al.* Antiproliferative and antimitotic effect, S phase accumulation and induction of apoptosis and necrosis after treatment of extract from *Rhodiola rosea* rhizomes on HL-60 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 103(1): 43-52.
- [4] Seo W G, Pae H O, Oh G S, *et al.* The aqueous extract of *Rhodiola sachalinensis* root enhances the expression of inducible nitric oxide synthase gene in RAW264.7 macrophages [J]. *J Ethnopharmacol*, 2001, 76(1): 119-123.
- [5] 程一帆, 苟虹, 谭淇文. 正交试验优选阿胶、龟甲胶、鹿角胶的微波炮制胶珠工艺的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 45-48.
- [6] 张萍, 廖正根, 梁新丽, 等. 均匀设计优选舒胸片处方药材的微波辅助提取工艺的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(1): 45-49.
- [7] 刘永练, 郑成, 毛桃嫣, 等. 微波提取人参中活性成分人参皂苷的研究 [J]. 广州大学学报: 自然科学版, 2006, 5(6): 52-55.
- [8] Luo H Y, Wang B, Yu C G, *et al.* Optimisation of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Enteromorpha prolifera* by orthogonal test [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(4): 321-325.
- [9] 卢永昌, 林鹏程, 鲍寿海. 大花红景天中红景天苷的提取及含量测定 [J]. 青海师范大学学报: 自然科学版, 2005(1): 34-37.
- [10] 吴少雄, 郭祀远, 李琳, 等. 超声波法提取大花红景天有效成分的工艺研究 [J]. 食品科技, 2006(1): 46-49.