

基于指纹图谱结合化学计量法评价丹参微波提取与传统提取法的差异性

徐 雪, 徐 剑*, 张永萍, 缪艳燕, 刘 耀, 周雪娇

贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025

摘 要: **目的** 采用 UPLC 建立丹参微波提取法与传统提取法的指纹图谱并鉴定主要色谱峰, 结合化学计量学方法比较不同提取方法化学成分的特征差异。 **方法** 采用超高效液相色谱, 以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相, 体积流量为 0.3 mL/min, 检测波长为 270 nm, 建立丹参传统提取法与微波提取法的指纹图谱; 对 8 个指标性成分进行含量测定, 采用 SPSS 22.0 软件进行主成分分析和 *t* 检验分析, 从而进一步评价丹参微波提取与传统提取法之间的差异性。 **结果** 传统提取法与微波提取法分别标定 16 个共有峰和 17 个共有峰, 且 8 个指标性成分的含量具有差异性。在相似度评价中, 对丹参不同提取法的指纹图谱进行对比, 相似度均 > 0.945。指标性成分的含量上, 微波提取法中指标性成分的综合质量分数均高于传统提取法, 8 个指标成分的均值表明微波提取法高于传统提取法, 与传统提取法比, 丹参素钠、原儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 II_A 的含量具有显著性差异 ($P < 0.05, 0.01$)。 **结论** 通过对指纹图谱的比较, 以及化学计量学方法评价, 丹参不同提取法下的整体化学组分类似, 通过 *t* 检验分析化学成分的含量具有一定差异, 且丹参微波提取法的含量高于传统提取法。微波提取法相较于传统提取法具有一定的优势, 此方法的建立可以为微波提取法在中药领域的广泛应用奠定基础。 **关键词:** 传统提取; 微波提取; 指纹图谱; 多指标成分; 主成分分析; 丹参素钠; 原儿茶醛; 迷迭香酸; 紫草酸; 丹酚酸 B; 隐丹参酮; 丹参酮 II_A; 丹参酮 I

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)17-4138-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.17.019

Based on fingerprint and multi-index components to evaluate difference of *Salvia miltiorrhiza* between microwave extraction method and traditional extraction method

XU Xue, XU Jian, ZHANG Yong-ping, MIAO Yan-yan, LIU Yao, ZHOU Xue-jiao

Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective To establish the UPLC fingerprint of *Salvia miltiorrhiza* microwave extraction method and traditional extraction method and identify the main chromatographic peaks, the chemometrics method was used to compare the chemical differences of different extraction methods. **Methods** The separation was performed on a chromatographic Waters ACQUITY UPLC BEH shield C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), with acetonitrile (A)-0.1% aqueous formic acid (B) as the mobile phase gradient elution. The flow rate was 0.3 mL/min, the detection wavelength was 270 nm, and the fingerprints of traditional extraction method and microwave extraction method of *S. miltiorrhiza*; The content of eight index components was determined, and SPSS 22.0 software was used for principal component analysis and *t*-test analysis to further evaluate the difference between microwave extraction method and traditional extraction method. **Results** The traditional extraction method and the microwave extraction method respectively calibrate 16 and 17 common peaks, and the content of eight index components was different. In the similarity evaluation, the fingerprints of different extraction methods of *S. miltiorrhiza* were compared, and the similarity was > 0.945. The content of the index components and the comprehensive mass fraction of the index components in the microwave extraction method were higher than the traditional extraction method, and the mean value of the eight index components showed that the microwave extraction method was higher than the traditional extraction method. Compared with the traditional extraction method, there were significant differences in the content of salvianic acid A sodium, protocatechuic aldehyde, rosmarinic acid, lithospermic acid, salvianolic acid B, cryptotanshinone, and tanshinone II_A ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Through the comparison of

收稿日期: 2019-08-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81760719); 贵州省普通高等学校中药民族药制剂重点实验室 (黔教合 KY 字 [2016] 005); 贵州省药物新剂型新工艺科技创新人才团队 (黔科合平台人才 [2017] 5655)

作者简介: 徐 雪 (1994—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为中药、民族药的新剂型及新制剂。E-mail: 394920010@qq.com

*通信作者 徐 剑, 教授, 研究方向为中药、民族药的新剂型及新制剂。E-mail: 10423108@qq.com

fingerprints and chemometric methods, the overall chemical composition of *S. miltiorrhiza* under different extraction methods is similar. The content of chemical components is different by *t*-test, and the content of *S. miltiorrhiza* microwave extraction method is higher than traditional extraction method. It is concluded that the microwave extraction method has certain advantages compared with the traditional extraction method. The establishment of this method can lay a foundation for the wide application of microwave extraction method in the field of traditional Chinese medicine.

Key words: traditional extraction; microwave extraction; fingerprint; multi-index components; principal component analysis; danshensu sodium; protocatechuic aldehyde; rosmarinic acid; lithospermic acid; salvianolic acid B; cryptotanshinone; tanshinone II_A; tanshinone I

中药所含成分复杂, 中药有效成分的提取对阐明传统中药作用机制、开发新药等具有重要意义, 传统提取法的加热原理是由外部热源通过热辐射由表及里的传导方式加热^[1], 但存在提取率低、杂质含量高、耗时长等缺点^[2]。近年来, 许多高新技术被应用于中药有效成分的提取, 如微波辅助提取技术、酶法提取技术、膜提取分离技术、分子印迹技术等^[3], 其中微波提取技术原理是基于微波通过离子传导或偶极子旋转对分子的直接影响, 分子水平的运动和分子间的摩擦使电磁波的能量转化为热能, 提高基体的温度, 这种作用导致细胞破裂, 有利于化合物的提取。它可以减少溶剂用量、时间、温度和能源消耗, 具有有效的细胞壁破坏能力^[4], 从而更好地对化合物进行提取和分离。此外, 微波辐射加热具有一定程度的灭菌效果, 能够满足医疗卫生要求^[5]。微波提取已广泛应用于食品、工业等各个领域, 相比于传统提取方法, 微波提取法 (MAE) 具有显著的优点, 能大大节约反应时间, 所得目标物的提取率相对较高^[6]。基于课题组前期研究的基础^[2], 本研究选取复方丹参片中丹参为研究对象^[7], 建立了丹参传统提取与微波提取方法的指纹图谱, 分析了 11 批药材不同提取方法指纹图谱的异同, 进一步指认了丹参不同提取方法共有峰的成分并对其进行定量和差

异性分析, 为微波提取方法在中药领域的可持续发展奠定基础, 为新技术的开发提供参考依据。

1 仪器与试剂

Agilent1290 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司, DAD 型检测器); A2003 型分析天平 (上海良平仪表有限公司); AE240 型电子天平 [梅特勒托利多仪器 (上海) 有限公司]; SK8210 HP 型超声波清洗仪 (上海科导超声仪器有限公司); 离心机 (上海安亭科学仪器厂); HH-4 型数显恒温水浴锅 (常州澳华仪器有限公司); OPWO8S 型澳润微波提取器 (南京澳润微波科技有限公司)。

对照品丹参素钠 (批号 110855-201614)、原儿茶醛 (批号 110810-201608)、丹酚酸 B (批号 111562-201716)、隐丹参酮 (批号 110852-201807)、丹参酮 II_A (批号 110766-201721) 均购于中国食品药品检定研究院, 质量分数均大于 95%; 紫草酸 (批号 28831-65-4, 贵州迪大生物科技有限责任公司)、丹参酮 I (批号 2018120801, 江西佰草源生物科技有限公司) 质量分数 >98%; 甲醇、乙腈均为色谱纯 (美国 Tedia 公司); 屈臣氏水 (深圳屈臣氏蒸馏水有限公司)。11 批丹参样品信息见表 1。经贵州中医药大学孙庆文教授鉴定为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎, 并

表 1 丹参药材的来源

Table 1 Sample information of *S. miltiorrhiza*

样品编号	产地	生产批号	来源
1	安徽	C180612	贵州同济堂中药饮片有限公司
2	安徽	181201	亳州市京皖中药饮片厂
3	山东	18103109	贵州一品药业有限公司
4	山东	160107	贵州同济堂中药饮片有限公司
5	山东	D8050108	黄冈金贵中药产业发展有限公司
6	河北	20180810	云南泰华丰功药业有限公司
7	山东	20181219	江苏华洪药业科技有限公司
8	山东	20190104	江苏华洪药业科技有限公司
9	山东	181203	安徽省万生中药饮片有限公司
10	山东	180628	杭州华东中药饮片有限公司
11	山东	2018120801	上海上药华宇药业有限公司

将其编号为 SC1~SC11 (传统提取法^[7])、SW1~SW11 (微波提取法^[7])。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters ACQUITY UPLC BEH shield C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱; 柱温 25 ℃; 流动相为乙腈 (A)-0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~3 min, 7%~10% A; 3~5 min, 10%~16% A; 5~25 min, 16%~30% A; 25~38 min, 30%~54% A; 38~51 min, 54% A; 51~55 min, 54%~7% A; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 1 μL; 检测波长 270 nm。

2.2 对照品溶液制备

分别精密称取丹参素钠、原儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 对照品适量, 用甲醇配成质量浓度分别为 492.0、735.0、701.0、457.0、906.0、727.0、375.0、290.0 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备

称取丹参适量, 用 10 倍量 95% 乙醇加热回流 1.5 h, 提取液滤过备用; 药渣加 10 倍量 50% 乙醇回流 1.5 h, 滤过备用; 最后用 10 倍量水回流 2 h, 合并滤液并定容至 200 mL, 再取 4 mL 定容至 5 mL 量瓶, 取溶液 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液适量, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。以上加热方式分别采用水浴加热和微波加热制得传统提取法供试品和微波提取法供试品。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取 SC1 号样品, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 记录色谱图。以丹酚酸 B 峰为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 其 RSD 值均小于 2.59%, 表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 取 SC1 号样品 6 份, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别检测, 以丹酚酸 B 峰为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 其 RSD 值均小于 2.59%, 表明方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 取 SC1 号样品, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样检测色谱图。以丹酚酸 B 峰为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 其 RSD 值均小于 1.63%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5 指纹图谱建立及相似度分析

2.5.1 丹参不同提取法 UPLC 指纹图谱共有模式的建立 取不同批次的丹参药材, 精密称定, 分别按照供试品溶液的制备及检测方法进行检测, 将 11 批丹参传统提取方法的图谱 (SC1~SC11) 与微波提取方法的图谱 (SW1~SW11) 以 AIA 格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(国家药典委员会 2004A 版), 分别以 SC1 号样品和 SW1 的图谱为参照谱, 设定时间窗宽度为 0.1, 采用中位数法自动匹配生成不同提取方法的丹参指纹图谱共有模式 (即对照图谱), 计算 SC1~SC11 和 SW1~SW11 样品特征图谱的相似度分别为 0.997、0.998、0.997、0.994、0.994、0.989、0.989、0.988、0.981、0.996、0.998 和 0.986、0.995、0.994、0.985、0.997、0.980、0.986、0.980、0.993、0.994、0.966。11 个批次的药材采用不同提取方法, 相似度均大于 0.950, 表明各产地的药材具有较好的一致性, 为评价不同提取法奠定基础。

2.5.2 丹参传统提取与微波提取方法指纹图谱比较 将 11 批丹参样品不同提取方法 UPLC 指纹图谱依次导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》软件进行数据分析处理, 以传统提取方法的 SC1 图谱为参照谱, 计算 11 批丹参药材微波提取法与传统提取法指纹图谱的相似度, 结果见表 2, 微波提取与传统提取指纹图谱的相似度均大于 0.945, 表明丹参不同提取法下的整体化学组分相似, 但化学成分存在一定差异, 相似度最低的是 SW11 与 SW8 样品。

2.5.3 主成分分析 (PCA) 采用 SPSS 20.0 对 11 批丹参不同提取方法的共有峰进行 PCA, 结果得到

表 2 丹参微波提取与传统提取特征图谱相似度分析结果

Table 2 Similarity of 22 batches of samples

样品编号	相似度	样品编号	相似度
SC1	0.997	SW1	0.990
SC2	0.995	SW2	0.994
SC3	0.994	SW3	0.998
SC4	0.991	SW4	0.993
SC5	0.987	SW5	0.992
SC6	0.988	SW6	0.989
SC7	0.986	SW7	0.991
SC8	0.983	SW8	0.962
SC9	0.997	SW9	0.998
SC10	0.998	SW10	0.997
SC11	0.984	SW11	0.946

累积方差>85%的只有 1 个成分, PC1 的累积贡献率为 98.29%, 贡献率最大, 包含了更多的信息。即使成分 1 累积方差能达 85%以上, 在计算时也要将提取因子设置为“2”。所以采用 PC1、PC2 建立坐标系进行投影, 得到 11 批丹参不同提取方法 PCA 得分图, 见图 1。从图中可以看出, 除 SW11 和 SW8 离其他样品的投影点距离较远, 其余批次样品均相隔较近, 表明除 SW11 和 SW8 样品与其他样品有差异外, 其余样品均无差异, 此结果和相似度分析结果相一致。

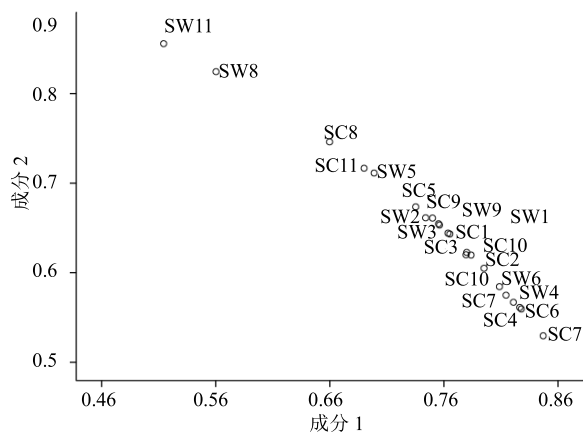


图 1 丹参不同提取方法的 PCA 图

Fig. 1 PCA diagram of different extraction methods of *S. miltiorrhiza*

2.5.4 共有峰的指认 对丹参不同提取方法共有峰的图谱进行指认, 与对照品比对后确定了其中 8 个成分, 分别为丹参素钠 (1 号峰)、原儿茶醛 (2 号峰)、迷迭香酸 (5 号峰)、紫草酸 (8 号峰)、丹酚酸 B (9 号峰)、隐丹参酮 (12 号峰)、丹参酮 I (15 号峰)、丹参酮 II_A (17 号峰), 如图 2 所示。

2.6 定量分析方法与结果

2.6.1 系统适应性试验 按照“2.1”项下的色谱条件进行检测, 8 种成分 (丹参素钠、儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A) 分离度均大于 1.5, 混合对照品溶液色谱图, 丹参传统提取、微波提取的对照图谱如图 3 所示。

2.6.2 线性关系 取“2.2”项下对照品溶液依次稀释到不同质量浓度, 每个质量浓度对照品溶液进样 1 μ L, 记录峰面积。以峰面积为纵坐标 (Y), 进样质量浓度为横坐标 (X), 进行线性回归, 即得回归方程及线性范围, 见表 3。

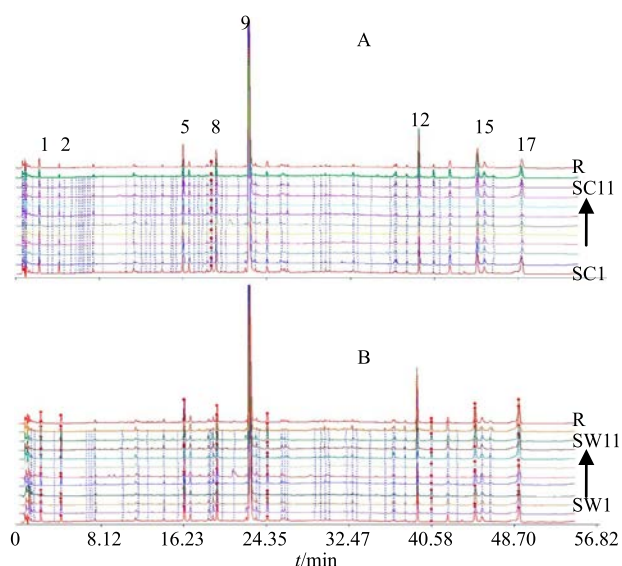
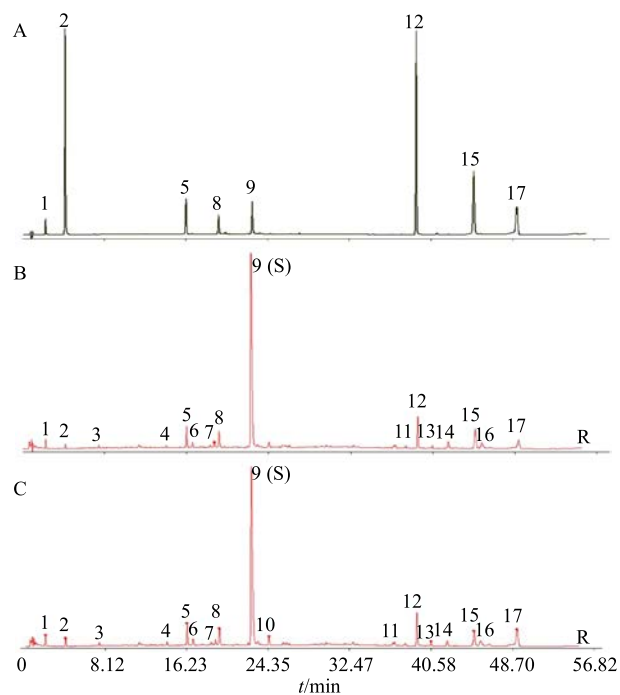


图 2 11 批丹参传统提取 (A) 与微波提取 (B) 指纹图谱的叠加图

Fig. 2 Traditional extraction and microwave extraction fingerprint overlay of 11 batches of *S. miltiorrhiza*



1-丹参素钠 2-原儿茶醛 5-迷迭香酸 8-紫草酸 9-丹酚酸 B
12-隐丹参酮 15-丹参酮 I 17-丹参酮 II_A
1-danshensu sodium 2-protocatechuic aldehyde 5-rosmarinic acid
8-lithosperic acid 9-salvianolic acid B 12-cryptotanshinone
15-tanshinone I 17-tanshinone II_A

图 3 混合对照品 (A)、丹参传统提取 (B) 及微波提取 (C) 供试品指纹图谱

Fig. 3 Chromatogram of mixed reference substances (A), traditional extraction (B) and microwave extraction (C) control fingerprint of *S. miltiorrhiza*

表 3 各被测成分的标准曲线方程、相关系数和线性范围

Table 3 Regressive equations, linear ranges of investigated components and correlation coefficients

成分	回归方程	r^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
丹参素钠	$Y=1\,519\,X-9.726$	0.999 0	4.662~ 492.0
原儿茶醛	$Y=1\,067\,X-6.997$	1.000 0	6.930~ 110.0
迷迭香酸	$Y=3\,419\,X-3.457$	0.999 0	6.615~ 105.0
紫草酸	$Y=2\,633\,X-3.891$	1.000 0	3.199~ 457.0
丹酚酸 B	$Y=1\,970\,X+11.07$	1.000 0	8.568~2 526.0
隐丹参酮	$Y=1\,223\,X-1.721$	0.999 0	6.867~ 109.0
丹参酮 I	$Y=1\,767\,X+5.126$	0.999 0	1.960~ 96.2
丹参酮 II _A	$Y=237\,X+49.57$	0.999 0	9.620~ 481.0

2.6.3 精密度试验 取 SC1 号样品的供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积,计算丹参素钠、原儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的 RSD 分别为 0.41%、0.98%、0.85%、0.33%、0.32%、0.27%、1.42%、0.55%,表明仪器精密度良好。

2.6.4 稳定性试验 取 SC1 号样品的供试品溶液,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样并记录峰面积,计算丹参素钠、原儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的 RSD 分别为 0.84%、0.82%、0.85%、0.87%、0.70%、0.63%、1.43%、2.96%,表明本方法的稳定性良好。

2.6.5 重复性试验 取 SC1 号样品,按照“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行分析,记录峰面积并计算丹参素钠、原儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的 RSD 值分别为 0.64%、0.42%、0.85%、0.61%、0.35%、0.37%、2.670%、1.94%,表明本方法的重复性良好。

2.6.6 加样回收率试验 精密量取已测定量的 SC1 号样品提取液 2 mL,6 份,加入混合对照品适量,按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行分析,记录峰面积并计算回收率。结果表明丹参素钠、原儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的平均回收率分别为 98.61%、101.20%、102.80%、100.30%、102.60%、96.87%、98.26%、99.18%,RSD 分别为 1.49%、0.88%、0.93%、0.72%、0.52%、0.97%、2.06%、0.72%,均小于 2%,符合《中国药典》2015 年版的规定,表明回收良好,方法可靠。

2.6.7 样品测定 精密称取丹参药材,分别按“2.3”

项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项下色谱条件下测定,根据回归方程计算各成分含量,结果见表 4。由表 4 可知,各个批次丹参微波提取法中 8 个成分均高于传统提取法。丹参微波提取中指标性成分总质量分数明显高于传统提取法。从指标性成分的均值上也明显地看出,丹参微波提取法的含量高于传统提取法。进一步采用 SPSS 软件对 8 个指标性成分进行 t 检验,与传统提取法相比,化合物丹参素钠、原儿茶醛、紫草酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 II_A 具有极显著性差异 ($P<0.01$),迷迭香酸具有显著性差异 ($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

本实验分别考察了乙腈-0.1%甲酸水、乙腈-0.01%磷酸水、乙腈-0.1%乙酸水作为流动相,结果表明,选用乙腈-0.1%甲酸水时,峰形及分离度最好。在上述的条件下进行全波长扫描,在 270 nm 波长下,色谱图噪音较少,响应值较好。分别对 25、30、35 °C 的柱温进行考察,选用 25 °C 的柱温时,色谱峰的峰形较好,柱压相对较小。分别对 1、1.5、2 μL 3 个进样体积进行考察,选用 1 μL 的进样体积时丹参酸 B 不会产生平头峰,不超过检测限。最终确定的色谱条件是采用 Waters ACQUITY UPLC BEH shield C₁₈ (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱,流动相为乙腈(B)-0.1%甲酸水溶液(A),柱温 25 °C,进样量 1 μL ,检测波长 270 nm,体积流量 0.3 mL/min。

3.2 丹参传统提取与微波提取相似度的评价

指纹图谱具有“模糊性”和“整体性”,可以更加直观地了解所分析物质所含的成分^[10-11]。本实验采用不同的提取方法对 11 批丹参药材进行提取,

表 4 11 批丹参不同提取方法 8 种成分含量测定结果

Table 4 Determination of eight components in 11 batches of *S. miltiorrhiza* by different extraction methods

方法	样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)								总质量分数/(mg·g ⁻¹)
		丹参素钠	原儿茶醛	迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II _A	
传统提取法	SC1	1.427	0.114	1.178	1.693	43.210	0.694	0.471	0.469	49.260
	SC2	1.707	0.116	2.088	2.565	53.830	0.804	0.551	0.168	61.830
	SC3	1.452	0.114	1.760	2.154	53.400	0.866	0.789	0.174	60.700
	SC4	2.321	0.162	2.399	2.427	36.200	0.342	0.439	0.054	44.340
	SC5	1.880	0.127	0.916	1.666	31.970	0.686	0.608	0.416	38.260
	SC6	2.209	0.056	2.439	1.720	54.720	0.323	0.142	0.124	61.730
	SC7	2.118	0.163	2.678	2.225	38.320	0.176	0.155	0.004	45.840
	SC8	1.597	0.150	0.987	1.625	29.900	1.296	0.509	0.606	36.670
	SC9	1.583	0.119	2.098	1.715	49.950	1.037	0.585	0.686	57.780
	SC10	1.457	0.113	2.309	1.878	46.080	0.841	0.456	0.267	53.410
	SC11	1.715	0.101	1.116	2.268	31.780	1.122	0.727	0.522	39.350
	平均值	1.770	0.121	1.815	1.994	42.670	0.744	0.494	0.317	
微波提取法	SW1	2.339	0.173	1.412	2.213	48.060	0.836	0.677	0.538	56.250
	SW2	2.862	0.307	2.239	2.742	53.790	1.020	0.213	1.194	64.370
	SW3	2.573	0.190	2.785	2.855	69.310	1.160	0.783	1.231	80.890
	SW4	3.054	0.263	2.444	2.874	39.170	0.404	0.544	0.056	48.810
	SW5	2.336	0.226	1.139	2.131	38.750	0.888	0.750	1.130	47.340
	SW6	3.077	0.124	2.694	2.482	68.860	0.416	0.172	0.619	78.450
	SW7	2.721	0.258	2.882	2.539	39.230	0.236	0.163	0.385	48.420
	SW8	1.726	0.232	1.187	2.085	31.670	1.516	0.493	1.592	40.510
	SW9	2.482	0.273	3.040	2.434	72.340	1.363	0.879	1.080	83.890
	SW10	2.719	0.267	3.873	2.794	61.560	1.172	0.614	0.979	73.980
	SW11	2.030	0.163	1.150	2.280	37.210	1.815	0.949	2.148	47.750
	平均值	2.538**	0.225**	2.259*	2.494**	50.910**	0.984**	0.567	0.996**	

与传统提取法比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs traditional extraction method

建立了相应的指纹图谱并对其相似度进行分析。结果丹参在化学成分的种类、数量上无明显差异。即使采购于不同地区, 2 种提取工艺的相似度均达到 0.950 以上, 说明丹参药材的整体差异很小, 药材批次之间的化学组分基本相似, 质量相对稳定。最后对传统提取和微波提取的指纹图谱进行对比, 丹参微波提取与传统提取指纹图谱的相似度均大于 0.945, 说明微波提取法对丹参的化学组分影响较小。进一步采用 PCA 法^[12-15]对其结果进行分析, 结果和相似度的结果一致, SW11 和 SW8 样品与其他样品间有一定差异, 这是由药材本身质量决定的。

3.3 含量分析

本实验采用 UPLC 测定丹参微波提取与传统提取中丹参素钠、原儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、丹

酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 8 个成分的含量, 22 个样品进行比较, 除了 SW2、SW3 及 SW8 样品中丹参酮 I 成分外, 其余的含量均比传统提取法的高, 但含量之间的差异很小。从总质量分数的结果可以看出微波提取法均大于传统提取法。丹参的化学成分主要包括丹参酮类的脂溶性成分和酚酸类的水溶性成分^[16], 本实验中指标性成分既有水溶性又有脂溶性成分, 而最终微波提取法中总质量分数均高于传统提取法, 所以微波提取法对脂溶性成分和水溶性均具有较好的提取效果。采用 t 检验进行分析, 结果表明微波提取法与传统提取法具有差异性。结合含量的结果综合分析, 微波提取法优于传统提取法。

本实验首先建立并比较丹参不同提取法的指纹图谱, 指认了 2 种提取法共有的 8 个化学成分, 定

性分析的结果证明了丹参不同提取法整体化学组分的相似性。由定量结果可知,不同提取法对丹参含量上具有差异性。本实验先采用定性分析不同提取法之间的相似性,其次再分析不同提取法之间的差异性,综合评价不同提取法之间的差异性。在实验过程中,使微波提取时间、温度、溶剂类型和液固比与传统提取法保持一致,评价 2 种不同加热方式的提取法对丹参化学成分的影响,最终得出不同提取法对丹参化学成分有显著性差异且微波提取法的含量高于传统提取法。微波在加热过程中遇到不同介质会发生反射、吸收和穿透的现象,对于极性溶剂则具有吸收的作用即本实验采用的是水和不同比例的乙醇。本实验采用了常压微波提取法中的固定溶剂提取方法,使提取时压力和溶剂流动性与传统提取法保持一致,从而更好地评价微波提取法与传统提取法之间的差异性。微波提取法属于绿色工程,并且符合环境保护的要求。该方法已广泛应用于各个领域,对于有机金属的污染^[8]、化妆品^[9]中的残留等都采用微波提取法。本实验阐述了微波提取法对丹参化学成分无明显变化,从而为微波中药微波提取技术的工业化实现提供理论依据,将对提高中药制造业的现代化水平具有重要的推动作用。

参考文献

- [1] 焦士龙. 微波提取中药有效成分实验研究 [D]. 天津: 天津大学, 2006.
- [2] 潘胜菊, 杨立勇, 徐 剑. 等. 基于多指标评价的丹参微波提取与传统提取的工艺对比研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(10): 2160-2163.
- [3] 陈肖肖. 中药有效成分提取离技术研究进展 [J]. 临床合理用药, 2013, 6(17): 178-179.
- [4] Kit W C, Shir R C, Sze Y L, *et al.* Enhanced microalgal protein extraction and purification using sustainable microwave-assisted multiphase partitioning technique [J]. *Chem Engin J*, 2019, 367: 1-8.
- [5] 金 时. 木豆叶黄酮微波提取工艺及其抗氧化活性研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2014.
- [6] 李娅丽. 动态微波提取人参皂苷及多糖 [D]. 武汉: 武汉工程大学, 2015.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [8] 翟玉娟. 离子液体微波提取在中草药化学成分提取中的应用 [D]. 长春: 吉林大学, 2010.
- [9] 汪子明. 微波辅助提取中草药、调料和化妆品中化学成分的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2007.
- [10] 姚 静, 施钧瀚, 桂新景, 等. 基于 HPLC 指纹图谱评价的当归补血汤传统汤剂与配方颗粒汤剂的成分差异分析 [J]. 中草药, 2019, 50(11): 2567-2574.
- [11] 周 洁. 荔枝核指纹图谱及抗氧化活性相关性研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2018.
- [12] 彭 亮, 杨冰月, 张 琳, 等. 野生与栽培远志 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 4998-5003.
- [13] 曾慧婷, 沙秀秀, 朱邵晴, 等. 丹参及丹参茎叶水提物 UPLC 指纹图谱研究与丹酚酸类成分定量分析 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(4): 602-609.
- [14] 周 欣, 张 琳, 毛 婵, 等. 基于化学计量学方法结合正交偏最小二乘判别分析的陈皮饮片 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2019, 50(9): 2194-2200.
- [15] 曾慧婷, 沙秀秀, 宿树兰, 等. 不同产地丹参茎叶 UPLC 指纹图谱与化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2017, 48(4): 767-772.
- [16] 李 伟, 李淑明, 李挺洋, 等. 复方丹参滴丸中君药丹参的质量标志物研究 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2000-2006.