

· 药物制剂与药品质量控制 ·

超声-微波协同提取苍术中苍术素的工艺^{*}

戈振凯,赵永恒,杨彩霞,邱婧然

(湖北医药学院药学院药物分析教研室,十堰 442000)

摘要 目的 优选苍术中苍术素的最佳超声-微波协同提取工艺。方法 以苍术素提取率为考察指标,采用超声-微波协同提取工艺,通过单因素和正交实验优化苍术素的提取工艺,并与单一的超声提取、微波提取法进行比较。结果 最佳提取工艺为:以75%乙醇为提取溶剂,料液比1:30 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),50℃微波超声处理20 min,微波功率200 W,超声功率600 W。采用超声-微波协同提取工艺得到的苍术素提取率较单独采用超声或微波提取率高。结论 超声-微波双辅助协同提取工艺具有效率高、时间短、能耗低、环保等优点,为苍术素的工业化生产和新药开发提供参考。

关键词 苍术素;正交试验;微波;超声;提取工艺

中图分类号 R286;TQ460.6

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2018)04-0470-03

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2018.04.015

Extractive Technology of Atractylodin from *Atractylodesrhizoma* by Ultrasonic and Microwave

GE Zhenkai, ZHAO Yongheng, YANG Caixia, QIU Jingran (Department of Pharmaceutical Analysis, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China)

ABSTRACT Objective To investigate extractive technology of atractylodin from *Atractylodesrhizoma* by ultrasonic and microwave. **Methods** Using the extractive efficiency of atractylodin as index, the ultrasonic and microwave extractive technology was optimized by single factor test and orthogonal test, and compared with single ultrasonic method and single microwave method. **Results** The optimum parameters of extractive technology were a ratio of solid/liquid 1:30 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) with the extraction solvent of 75% ethanol, the microwave power of 200 W, and the ultrasonic power of 600 W for 20 min at the temperature of 50℃. The combined use of ultrasonic and microwave assisted extraction provided higher extraction efficiency than each of them alone. **Conclusion** The ultrasonic and microwave assisted extraction has the advantages of high efficiency, short time, low energy consumption and environmental protection, which provides reference for the industrial production and development of new drug.

KEY WORDS Atractylodin; Orthogonal test; Microwave; Ultrasonic; Extractive technology

苍术为菊科苍术属植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 或北苍术 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎。具有燥湿健脾、祛风散寒、明目之功效^[1]。苍术素在苍术中相对含量较高,是苍术的特征成分,能有效延缓胃排空时间,具有防止胃损伤,抗炎、利胆等作用^[2-4]。目前《中华人民共和国药典》及工业化生产多采用苍术素作为苍术的质量控制指标。近年来,超声和微波萃取技术在中药有效成分的提取方面得到了广泛的应用。超声提取是利用超声波在水介质中产生的机械振动及空化产生的微射流对细胞表面产生冲击、剪切,使细胞壁破裂,从而使中药有效成分溶出^[5-6]。微波是一种非离子的电磁辐射,具有较强的穿透力和无温度梯度的加热方式;在微波电磁场中

极性分子快速转向及定向排列,从而产生撕裂和相互摩擦引起发热,使能量快速传递并得到充分利用,加速细胞内有效成分的溶出及扩散,两种方法协同使用,可在短时间内充分利用微波产生的能量及超声波对细胞的破坏能力,加速有效成分的溶出,从而大大减少萃取时间、降低能耗、提高萃取效率^[7-8]。苍术素的提取方法主要有水蒸气蒸馏、回流提取、超声提取、微波辅助提取^[9]及超临界 CO_2 流体提取等^[10]。迄今为止,超声-微波双辅助协同提取工艺未见报道。笔者以武当山区苍术药材为原料,采用超声-微波双辅助协同提取苍术中苍术素,并探讨该工艺的最佳提取条件。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 日本岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪; SPD-20A 紫外检测器; SIL-20A 自动进样器; CTO-10AS VP COLUM 柱温箱。XH-300A 祥鹄电脑微波超声波组合合成/萃取仪(北京祥鹄科技发展有限公司); KQ-250DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); CLF-04 型 200 g 密封型手提式粉碎机

收稿日期 2016-10-27 修回日期 2017-06-20

基金项目 *湖北医药学院研究生启动基金资助计划项目(2013QDJZR13)

作者简介 戈振凯(1986-),湖北襄阳人,讲师,硕士,研究方向:药物分析。电话:0719-8843016, E-mail:gezhenkai@163.com。

(浙江省温岭市创力药材器械厂);SQP-电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司,感量:0.01 mg)。
1.2 试药 苍术素对照品(含量 99.7%,批号:111924-201404,中国食品药品检定研究院);苍术药材(购于湖北省十堰市),经湖北医药学院邓雪华副教授鉴定为苍术属植物茅苍术的干燥根茎;甲醇为色谱纯(美国天地有限公司),水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 苍术素的含量测定方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱:InertSustainR C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(80:20);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:334 nm;柱温:30℃;进样量:10 μL。

2.1.2 标准曲线的绘制 在避光条件下,精密称取苍术素对照品 23.5 mg,置 100 mL 棕色量瓶中,用甲醇溶解并定容,作为对照品储备液。精密量取苍术素对照品储备液各 0.5,1,2,3,5,10 mL,分别置 25 mL 棕色量瓶中,以甲醇定容,混匀,即得系列苍术素对照品溶液。取经孔径 0.45 μm 微孔滤膜过滤后的续滤液注入液相色谱仪,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定峰面积,以溶液浓度(*X*, μg·mL⁻¹)为横坐标,峰面积(*Y*)为纵坐标,绘制标准曲线,求得苍术素回归方程为: $Y = 1.262 \times 10^5 X - 3.084 \times 10^4$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围为 4.686 ~ 93.72 μg·mL⁻¹。

2.2 提取工艺单因素实验

2.2.1 提取溶剂与提取温度的选择 取适量苍术粉末(过筛孔内径 0.300 mm 筛),在料液比为 1:25 (g·mL⁻¹)、超声功率 250 W、微波功率 400 W、提取时间 30 min、提取温度为 45℃的条件下,考察乙醇体积分数对苍术素提取率的影响;在料液比为 1:30 (g·mL⁻¹)、提取溶剂为 75%乙醇、超声功率 250 W、微波功率 400 W、提取时间 30 min 的条件下,考察温度对苍术素提取率的影响。结果显示,乙醇体积分数在 50%~95% 范围内,随着乙醇体积分数的提高,苍术素提取率逐渐增加,在乙醇体积分数为 75% 时苍术素提取率最大。因此,选择 75% 的乙醇作为最适提取溶剂;随着温度的升高,苍术素的提取率逐渐增大,当温度达 50℃ 时提取率最大,随着温度进一步升高,提取率反而下降,主要是因为温度过高,会使苍术中有些成分挥发或结构被破坏而使提取率降低,因此选择最佳提取温度为 50℃。

2.2.2 料液比的考察 在超声功率 250 W、微波功率 400 W、萃取时间 30 min,提取温度 50℃,提取溶剂为 75%乙醇的条件下,考察不同料液比(g·mL⁻¹)对苍术

素提取率的影响。随着溶剂量增加,苍术素的提取率逐渐增加,这是因为溶剂量越大,苍术素溶出越充分,提取率就越高,当料液比达到 1:30 时,提取率达最大;再次提高溶剂量,其提取率反而下降,这可能是因为加大溶剂量,提高了提取过程的溶质推动阻力,溶剂升高到相同温度所需要时间亦变长,影响溶质在溶剂中的扩散,从而降低了提取率。

2.2.3 超声、微波功率的考察 通过预实验考察超声、微波功率对苍术素提取率的影响,结果显示,随着功率的增加苍术素的提取率呈增大趋势,当微波功率超过 400 W 时,提取率的增加趋于平缓,超声功率超过 400 W 时,提取率有轻微的下降。主要原因是随着功率的增加,苍术素成分已基本提取完全,且功率的增加使得其对细胞内物质的选择性加热的差异性减小,使得苍术素的结构被破坏,同时溶解的杂质增多而降低了苍术素提取率。

2.2.4 萃取时间的考察 实验结果显示,随着萃取时间的增加,苍术素提取率明显增加,这是因为提取时间越长,溶剂对苍术素的溶出越充分,但是当萃取时间超过 30 min 时,提取率逐渐趋于平缓,不再发生明显的变化;且随着时间的增加,使得苍术受热时间延长,导致苍术素结构的破坏及杂质组分的溶出增加,因此选择萃取时间一般应不超过 30 min。

2.3 超声-微波协同提取工艺优化

2.3.1 正交实验设计与方法 在单因素试验的基础上,选择对苍术素提取率影响较大的因素:料液比(A)、提取时间(B)、微波功率(C)、超声功率(D),进行 L₉(3⁴) 正交试验,见表 1。以苍术素提取率为考察指标,提取温度为 50℃,提取溶剂为 75%的乙醇,优化苍术中苍术素的超声-微波协同提取工艺。

表 1 正交试验因素水平
Tab.1 Levels and factors of orthogonal test

水平	料液比(A)/ (g·mL ⁻¹)	提取时间 (B)/min	微波功率 (C)/W	超声功率 (D)/W
1	1:25	20	200	200
2	1:30	30	400	400
3	1:35	40	600	600

2.3.2 正交试验及方差分析 制备供试品 9 份,分别按表 1、表 2 正交试验设计进行提取。以苍术素提取率作为考察指标进行方差分析,结果见表 2、表 3。从表 2、表 3 分析可以得出,各因素对苍术素提取率影响大小顺序为 D>C>A>B,即超声功率>微波功率>料液

比>提取时间,且超声功率的影响呈现差异显著性($P<0.05$)。根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 $A_2B_1C_1D_3$,即料液比1:30,提取时间20 min,微波功率200 W,超声功率600 W。

表 2 正交试验设计与结果

Tab.2 Design and results of orthogonal experiment					
实验号	料液比 (A)	提取时间 (B)	微波功率 (C)	超声功率 (D)	苍术素提取率/ (mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	1.113
2	1	2	2	2	1.143
3	1	3	3	3	1.240
4	2	1	2	3	1.280
5	2	2	3	1	1.135
6	2	3	1	2	1.132
7	3	1	3	2	1.134
8	3	2	1	3	1.183
9	3	3	2	1	1.127
K ₁	1.165	1.176	1.143	1.125	
K ₂	1.182	1.154	1.183	1.136	
K ₃	1.148	1.166	1.170	1.234	
R	0.034	0.022	0.040	0.109	

表 3 方差分析

Tab.3 Variance analysis					
因素	偏差平方和	自由度	F	F _{临界值}	P 值
料液比(A)	0.002	2	2.000	19.000	>0.05
提取时间(B)	0.001	2	1.000	19.000	>0.05
微波功率(C)	0.003	2	3.000	19.000	>0.05
超声功率(D)	0.022	2	22.000	19.000	<0.05
误差		0.00	2		

2.4 工艺验证及不同提取方法的比较 重复性试验:取同批苍术药材粉末(过孔径 0.300 mm 筛)6 份,按照最佳提取工艺和含量测定方法进行苍术素的提取测定,测定苍术素的峰面积,计算峰面积的 RSD ($n=6$) 为 1.43%。取同批苍术药材(过筛,筛孔内径 0.300 mm)3 份,分别按照最佳提取工艺进行试验,得苍术素的平均提取率为 1.21 mg·g⁻¹。将优化所得提取工艺与参考文献所得微波提取及超声提取法进行对比实验。微波提取法:微波功率 600 W、料液比 1:30 (g·mL⁻¹),以 75%乙醇为提取溶剂,50 ℃微波处理 20 min;超声提取法:超声功率 250 W,提取溶剂为 75%的乙醇,料液比为 1:30(g·mL⁻¹),50 ℃超声提取 60 min。以上 3 种提取方法结果见表 4,由表 4 可以得出,超声-微波协同提取与单一的超声和微波提取比较,提取率有所提高,且提取时间缩短;相比之下,超声-微波协同提取具有提取

表 4 3 种提取方法的比较

Tab.4 Comparison of three methods of extraction				
提取法	取样量/ g	溶液 体积/mL	提取 时间/min	苍术素提取率/ (mg·g ⁻¹)
超声提取	2.01	60	60	1.17
微波提取	2.02	60	20	1.14
超声-微波协同提取	2.01	60	20	1.21

率高、时间短、能耗低等优点。

3 讨论

本实验结果表明,单独使用超声提取的方法如需达到相同的提取率需要延长超声提取时间;而单独采用微波提取,相同提取时间苍术素的提取率相对较低,提取不够充分;超声-微波协同提取与单一的微波提取及超声提取比较,超声-微波协同提取苍术素提取率更高。本法操作简便,结果可靠,稳定性好,可作为苍术中苍术素的提取工艺,超声-微波协同提取具有高效、快速、节能、无污染等特性。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:161.

[2] 赵子剑,肖胜,赵永新,等. 苍术药理作用的文献再评价[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(7):607-609.

[3] NAKAI Y, KIDO T, HASHIMOTO K, et al. Effect of the rhizomes of *Atractylodes lancea* and its constituents on the delay of gastric emptying [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 84(1):51-55.

[4] 周军,赵晨,王杰. 藿香正气不同制剂中苍术素的含量测定[J]. 药物分析杂志,2012,32(8):1476-1478.

[5] 万水昌,王志祥,乐龙,等. 超声提取技术在中药及天然产物提取中的应用[J]. 西北药学杂志,2008,23(1):60-62.

[6] 李玉琼,王长远,全越,等. 响应面法优化超声辅助芸豆蛋白糖基化反应[J]. 中国生物制品学杂志,2016,29(5):538-547.

[7] 涂瑶生,毕晓黎. 微波提取技术在中药及天然药物提取中的应用及展望[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2005,7(3):65-69.

[8] 张英,俞卓裕,吴晓琴. 中草药和天然植物有效成分提取新技术——微波协助萃取[J]. 中国中药杂志,2004,29(2):104-108.

[9] 王道武,于威威,陈志敏,等. 微波辅助提取及气相色谱-质谱联用分析苍术挥发油成分[J]. 时珍国医国药,2010,21(11):3020-3024.

[10] 王姿媛,何泽民. 苍术-厚朴药对超临界萃取工艺研究及质量控制[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(4):155-158.