

题,这些优化目标之间往往相互冲突,近年来可以同时多个目标进行优化的遗传算法有很多,其中带精英策略的快速非支配排序遗传算法(NSGA-II)是应用最成功的一种。MATLAB R2014b 优化工具箱中函数(gamultiobj)就是一种基于NSGA-II改进的多目标优化算法,其使用支配和排序的思想,自动保留精英^[9],根据对群体中的所有个体进行排序,排在前面的Pareto最优个体有机会遗传到下一代群体。该函数虽然不能像外挂SGALAB工具箱一样给出多目标适应度曲线,但可以自动绘制第一前端分布图,即迭代停止时排列在最前端的Pareto最优个体,并能给出Pareto最优解集供决策者选择,为在MATLAB平台下解决多目标优化问题提供了简便易学的途径。因此,本实验对西洋参总皂苷正交试验设计结果采用逐步回归法建立二次模型,再通过MATLAB R2014b优化工具箱中的函数(gamultiobj)进行多目标优化,确定了最佳提取工艺,为相关研究提供了更可靠方便的新方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 131.

- [2] 周靖宇. 正交试验提取西洋参中总皂苷的研究[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(8): 489-491.
- [3] 仇丽霞, 刘桂芬, 何大卫, 等. 遗传算法在正交试验设计最优条件选择中的应用[J]. 现代预防医学, 2004, 31(4): 493-495.
- [4] 崔逊学. 多目标进化算法及应用[M]. 北京: 国防工业出版社, 2006.
- [5] 雷英杰, 张善文, 李续武, 等. MATLAB遗传算法工具箱及应用[M]. 1版. 西安: 西安电子科技大学出版社, 2005: 146-207.
- [6] 徐冰婉, 徐小雯, 黄家卫. 多目标遗传算法优化黄连的提取工艺[J]. 中成药, 2015, 37(4): 768-773.
- [7] 韩荣荣, 白云娥, 陈益. 非支配排序遗传算法多目标优化金莲花水提工艺的研究[J]. 药物分析, 2011, 31(11): 2082-2086.
- [8] 徐彦杰, 刘晓红, 杨晓文. 向量评估遗传算法优化珍珠菜抗肿瘤有效成分的研究[J]. 中国卫生统计, 2012, 29(6): 815-818.
- [9] 郁磊, 史峰, 王辉, 等. MATLAB智能算法30个案例分析[M]. 2版. 北京: 北京航空航天大学出版社, 2015.

亚临界水萃取康定鼠尾草中丹参酮类成分工艺的优化

冀恬, 董琦, 谭亮, 迟晓峰*

(中国科学院西北高原生物研究所, 藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810008)

摘要: 目的 优化亚临界水萃取康定鼠尾草中丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮II_A工艺。方法 在单因素试验基础上,以萃取压力、萃取时间、萃取温度、亚临界水体积流量为影响因素,3种丹参酮类成分提取率为评价指标,正交试验优化提取工艺。结果 最佳条件为萃取压力6 MPa,萃取时间90 min,萃取温度180 ℃,亚临界水体积流量4.0 mL/min,提取率达90.42%。结论 该方法稳定可行,绿色环保,可用于亚临界水萃取康定鼠尾草中丹参酮类成分。

关键词: 康定鼠尾草; 丹参酮I; 隐丹参酮; 丹参酮II_A; 亚临界水萃取; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2017)10-2190-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2017.10.045

亚临界水萃取是上世纪90年代中期发展起来的新型萃取技术^[1],由于是不使用酸、碱和催化剂的水在高温高压下的处理技术,具有无毒无害、安全性强、高效环保、操作简便的优势,被称为“绿色的处理法”,目前已经应用到天然产物、食品、环保等领域^[2-7]。康定鼠尾草*Salvia prattii* Hemsl.为唇形科鼠尾草属植物,产于四川西部和西北部、青海省南部,分布于海拔3 750~4 000 m的山坡草地上^[8]。该属植物早在几千年前就成为重要的药

用物种,为临床常用药,具有活血祛瘀、调经止痛、清热安神等功效^[9],富含丹参酮类化合物,有着抗菌、消炎、活血化瘀、促进伤口愈合等多方面作用^[10]。初步实验发现,康定鼠尾草中该类成分含有量较高,有较大开发利用价值。

目前,丹参酮类成分的提取方式主要采用回流^[11-12]、超声^[13]、超临界CO₂^[14]等,前两者应用大量有机溶剂,存在污染环境、成本高等缺点,而后者存在气体消耗量大、

收稿日期: 2016-09-14

基金项目: 中国科学院仪器设备功能开发技术创新项目(1g201408)

作者简介: 冀恬(1986—),女,实验师,研究方向为分析测试。E-mail: jitian@nwipb.cas.cn

*通信作者: 迟晓峰(1985—),男,助理研究员,研究方向为天然产物研究。E-mail: xfchi@nwipb.cas.cn

成本高等劣势。亚临界水萃取以水为原料，大大降低了成本，而且无溶剂残留，绿色环保，故本实验采用该方法提取该类成分，并通过正交试验优化提取工艺，为大批量生产提供参考依据。

1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器 Waters 515 型高效液相色谱仪，配置二元梯度泵、Waters 2996 二极管阵列检测器、Empower 色谱工作站；KQ-100E 型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；摩尔元素型超纯水机（上海摩勒生物科技有限公司）；程序升温式亚临界水萃取设备（自研）。

1.2 试剂 丹参酮 I（批号 110867-200406）、隐丹参酮（批号 110852-200806）、丹参酮 II_A（批号 110766-201520）对照品均由中国食品药品检定研究院提供；甲醇为色谱纯（山东禹王实业有限公司）。

1.3 材料 康定鼠尾草采自青海省玉树藏族自治州，经中国科学院西北高原生物研究所陈世龙研究员鉴定为唇形科植物康定鼠尾草 *Salvia prattii* Hemsl.，取其干燥根部，粉碎，过 40 目筛，备用。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备 精密称取丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II_A 对照品各约 2 mg，甲醇溶解，定容于 10 mL 量瓶中，即得。

2.2 色谱条件 LiChrospher C₁₈ 色谱柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm）；流动相甲醇-水（60：40）；检测波长 270 nm；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30℃；进样量 10 μL。

2.3 亚临界水萃取 精密称取一定量样品置于亚临界水萃取釜中，当系统各部分均达到设定温度后，将萃取剂（超纯水）泵入萃取系统中，萃取釜升压至设定压力，收集器收集萃取液，动态萃取一定时间，回收萃取液，得到浸膏，称定质量。取适量浸膏配制成甲醇溶液，置于冰箱中密封保存，待分析（流程图见图 1）。

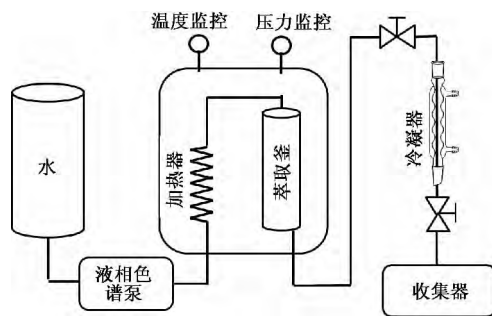
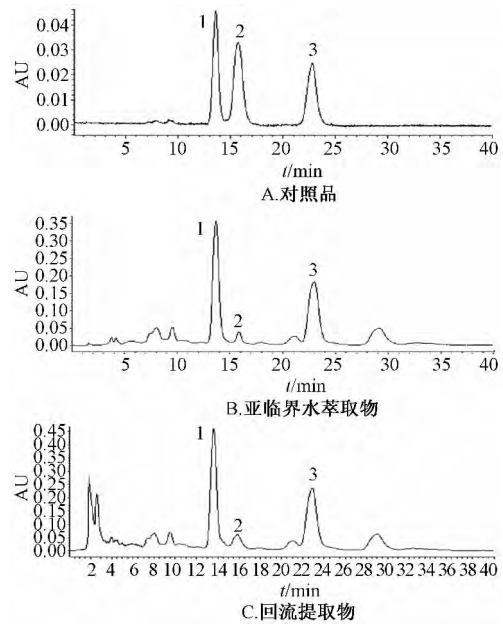


图 1 亚临界水萃取流程图

2.4 回流提取 参照文献 [11-12]，确定工艺为精密称取已粉碎的药材 50 g，20 倍量 95% 乙醇浸泡 24 h 后，回流 4 h，过滤，重复 1 次，合并滤液，浓缩为丹参浸膏，称定质量，取适量配制成甲醇溶液，置于冰箱中密封保存，待分析。

2.5 样品测定 将对照品溶液、亚临界水萃取物、回流提取物注入色谱仪，在“2.2”项色谱条件下分析，色谱图

见图 2。



1. 隐丹参酮 2. 丹参酮 I 3. 丹参酮 II_A

图 2 各成分色谱图

2.6 单因素试验

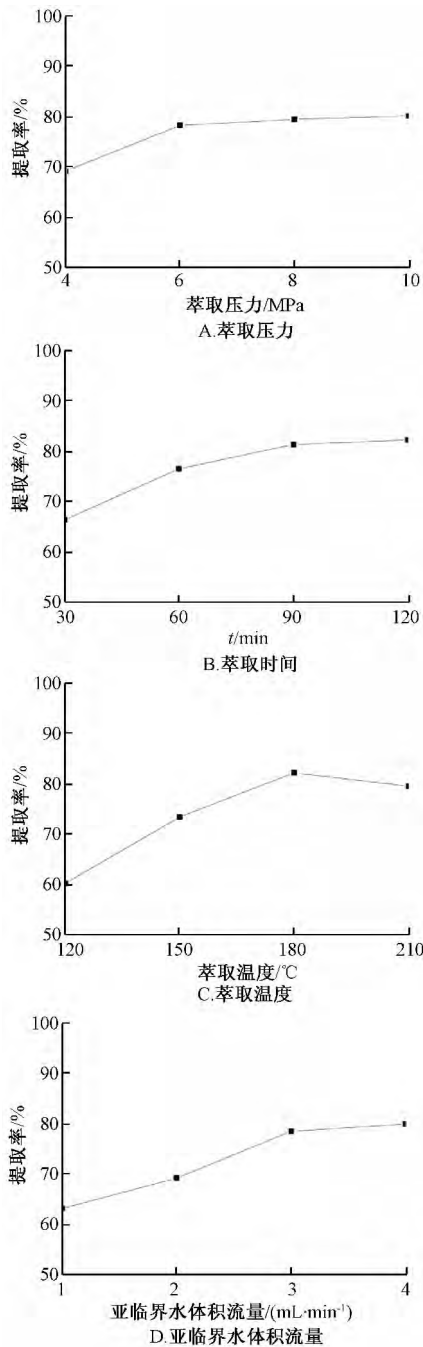
2.6.1 萃取压力 图 3A 显示，在萃取时间 60 min、萃取温度 150℃、亚临界水体积流量 2.0 mL/min 条件下，随着萃取压力升高，丹参酮类成分提取率也随之增加，但达到 6 MPa 后变化较小。

2.6.2 萃取时间 图 3B 显示，在萃取压力 6 MPa、萃取温度 150℃、亚临界水体积流量 2.0 mL/min 条件下，丹参酮类成分提取率随萃取时间延长而增加，但 90 min 后变化较小，表明基本完全萃取。

2.6.3 萃取温度 图 3C 显示，在萃取压力 6 MPa、萃取时间 60 min、亚临界水体积流量 2.0 mL/min 条件下，随着萃取温度升高，丹参酮类成分提取率增加，但到 180℃ 后开始有下降趋势，这可能是由于温度升高会使热稳定性差成分发生热降解，反而导致提取率下降。

2.6.4 亚临界水体积流量 图 3C 显示，在萃取压力 6 MPa、萃取时间 60 min、萃取温度 150℃ 条件下，亚临界水体积流量对萃取效果的影响有两面性。一方面，提高体积流量时，萃取剂和物料接触面间的滞留层厚度减小，增大了扩散系数，有利于传质；另一方面，提高体积流量又可缩短溶剂在萃取釜中的停留时间，从而降低一定时间内溶质的扩散量，不利于传质。结果表明，当体积流量达到 3.0 mL/min 后，其对丹参酮类成分提取率的影响较小。

2.7 正交试验 根据单因素试验结果，选择萃取压力（A）、萃取时间（B）、萃取温度（C）、亚临界水体积流量（D）作为影响因素，采用正交试验进行优化，因素水平见表 1，结果见表 2。由此可知，最佳提取条件为萃取压力 6 MPa，萃取时间 90 min，萃取温度 180℃，亚临界水体积流量 4.0 mL/min。



注: 提取率 = (亚临界水萃取物中丹参酮类成分总含量 / 投料中丹参酮类成分总含量) × 100%

图3 单因素试验结果

表1 因素水平

水平	A 萃取压力 / MPa	B 萃取时间 / min	C 萃取温度 / °C	D 亚临界水体积流量 / (mL·min ⁻¹)
1	4	60	150	2.0
2	6	90	180	3.0
3	8	120	210	4.0

2.8 验证试验 取药材 50 g 置于萃取釜中, 在最优工艺下萃取, 回收萃取液, 得到浸膏, HPLC 法测定丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II_A 含量, 计算提取率, 平行 3 次,

表2 正交试验结果

试验号	A	B	C	D	丹参酮类成分提取率 / %
1	1	1	1	1	75.6
2	2	1	2	2	88.4
3	3	1	3	3	85.2
4	3	2	2	1	89.2
5	1	2	3	2	86.8
6	2	2	1	3	78.8
7	2	3	3	1	80.2
8	3	3	1	2	81.7
9	1	3	2	3	87.3
K ₁	83.067	81.667	78.700	83.233	—
K ₂	84.933	85.633	88.300	82.467	—
K ₃	83.067	83.767	84.067	85.367	—
R	1.866	3.966	9.600	2.900	—

结果见表 3。由表可知, 丹参酮类成分平均提取率达 90.42%, 隐丹参酮含量最高, 丹参酮 II_A 次之, 丹参酮 I 最低。

表3 验证试验结果 (n=3)

批次	丹参酮 I / %	隐丹参酮 / %	丹参酮 II _A / %	丹参酮类成分提取率 / %
1	0.070	3.09	1.87	89.94
2	0.066	3.01	1.82	91.32
3	0.068	3.00	1.84	90.01

2.9 方法比较 表 4 显示, 亚临界水萃取法和回流提取法的提取率差异不大, 均在 90% 左右, 但前者提取时间大大缩短; 后者得率虽然略高, 但共萃取物较多。

表4 2种方法比较结果

方法	提取溶剂	提取时间 / min	浸膏得率 / %	丹参酮类成分提取率 / %
亚临界水萃取	亚临界水	90	8.76	90.42
回流提取	乙醇	480	21.32	92.03

3 讨论与结论

亚临界水萃取是一个动态过程, 萃取温度、萃取时间、液料比、亚临界水体积流量是影响萃取效果的主要参数, 其中以萃取温度最为主要。温度过低, 活性成分萃取效率低; 温度过高, 则会导致某些活性成分分解。因此, 探索亚临界水萃取的最适温度尤为重要, 同时进一步考察不同活性成分在不同温度下的稳定性也很有必要。

本实验以康定鼠尾草为原料, 优化了丹参酮类成分亚临界水萃取工艺, 确定最佳条件为萃取压力 6 MPa, 萃取时间 90 min, 萃取温度 180 °C, 亚临界水体积流量 4.0 mL/min, 提取率达到 90% 左右。而且, 该方法稳定可行, 可为进一步开发该类成分提供理论依据。

参考文献:

- [1] Teo C C, Tan S N, Yong J W H, et al. Pressurized hot water extraction (PHWE) [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(16): 2484-2494.
- [2] Plaza M, Turner C. Pressurized hot water extraction of bioac-

- tives [J]. *Trac-Trends Anal Chem*, 2015, 71: 39-54.
- [3] Ong E S, Len S M. Pressurized hot water extraction of berberine, baicalin and glycyrrhizin in medicinal plants [J]. *Anal Chim Acta*, 2003, 482(1): 81-89.
- [4] Khajenoori M, Asl A H. Subcritical water extraction [M]. 2013: 459-487.
- [5] Yang Y, Bowadt S, Hawthorne S B, et al. Subcritical water extraction of polychlorinated biphenyls from soil and sediment [J]. *Anal Chem*, 1995, 67(24): 4571-4576.
- [6] Ramos L, Kristenson E M, Brinkman U A T. Current use of pressurized liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis [J]. *J Chromatog A*, 2002, 975(1): 3-29.
- [7] Ibañez E, Kubátová A, Seňoráns F J, et al. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary plants [J]. *J Agr Food Chem*, 2003, 51(2): 375-382.
- [8] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志: 第66卷[M]. 北京: 科学出版社, 1977: 70-71.
- [9] 陈蕙芳, 马永华, 卞学伟. 植物活性成分辞典: 第2册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 888-890.
- [10] 梁勇, 羊裔明, 袁淑兰. 丹参酮药理作用及临床应用研究进展[J]. *中草药*, 2000, 31(4): 304-306.
- [11] 张霄翔, 陈少兵, 王艳萍. 总丹参酮提取与纯化工艺研究[J]. *中药材*, 2008, 31(3): 431-434.
- [12] 杨广德, 张继业, 张莉, 等. 丹参中丹参酮Ⅱ_A和隐丹参酮的提取方法研究[J]. *药物分析杂志*, 2006, 26(12): 1807-1810.
- [13] 胡广林, 王小如, 黎先春. 丹参分析样品中丹参酮的超声波辅助提取[J]. *天然产物研究与开发*, 2006, 18(6): 1010-1012.
- [14] 姚建国, 蒋永红, 周卯星, 等. 超临界二氧化碳萃取丹参中的丹参酮[J]. *山西中医学院学报*, 2003, 4(1): 41-44.

金银花罐组式逆流提取工艺的优化

郑佳盛, 王守箐*

(临沂大学药学院, 山东 临沂 276000)

摘要: 目的 优化金银花罐组式逆流提取工艺。方法 以干浸膏、绿原酸、木犀草苷、芦丁得率为评价指标, 乙醇体积分数、料液比、提取温度、提取时间为影响因素, 正交试验优化提取工艺。结果 最佳条件为金银花粉碎成粗粉, 每罐加入12倍量70%乙醇, 60℃下提取3次, 每次60 min, 木犀草苷、芦丁、干浸膏得率明显高于传统单罐提取, 溶剂用量和出液量显著降低。结论 该方法稳定可靠, 提取率高, 溶剂用量、能耗低, 可用于罐组式逆流提取金银花。

关键词: 金银花; 罐组式逆流提取; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2017)10-2193-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2017.10.046

金银花是大宗中药材之一, 工业上一般采用单罐提取, 提取液经浓缩、干燥后得到提取物, 但其出液量大, 不仅造成浓缩能耗高, 长时间受热还会导致有效成分损失。罐组式逆流提取(MCCE)技术可以用1份溶剂通过溶剂套用, 对药材进行多次提取, 具有节省溶剂、减少后续蒸发浓缩能耗、提取条件温和等优点^[1-4], 特别适合大宗中药材的提取^[5-6]。

在金银花提取工艺优化过程中, 常以绿原酸或木犀草苷得率为考察指标^[7-12], 但由于没有全面考虑药材各有效成分, 该方法有明显缺陷, 考虑更多指标时常常出现矛盾的结论。加权评分法是工程经济中常用的多目标评价和优化的方法, 用于中药提取工艺优化时较部分指标优化更全面科学。本实验采用该方法, 以绿原酸、木犀草苷、芦

丁、干浸膏得率为评价指标, 分别赋予权重, 采用正交试验考察乙醇体积分数、料液比、提取时间、提取温度对提取工艺的影响, 为工业生产应用MCCE技术提取该药材提供参考。

1 材料与仪器

1.1 材料 金银花(产地山东省临沂市平邑县)采自平邑金陵中药园。绿原酸、木犀草苷、芦丁对照品购自中国食品药品检定研究院。乙腈为色谱纯; 水为超纯水; 其他试剂为分析纯。

1.2 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪(配置DAD检测器); RE52-99 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); HH-S6 数显恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂); D2F-6021 真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

收稿日期: 2017-02-03

作者简介: 郑佳盛, 男, 研究方向为制药工程

* 通信作者: 王守箐, 男, 副教授, 研究方向为药物分析。Tel: 13562978168, E-mail: angshouqing@lyu.edu.cn