

加工方法对黄花蒿提取青蒿素含量的影响

冯世鑫¹, 马小军^{1,2*}, 闫志刚¹, 刘无垢³, 覃兴华³, 苏世东⁴

(1. 广西壮族自治区药用植物园, 南宁 530023; 2. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100094;

3. 广西仙草堂制药有限责任公司, 融安 545400; 4. 融安县农业技术推广站, 融安 545400)

摘要:通过对采收后的黄花蒿植株进行适当的处理及干燥温度和贮藏时间对比试验, 采用 HPLC 法测定, 探讨提高青蒿素含量的加工新方法。结果表明: 整株立式阴晾一定时间后晒干的处理随着阴晾时间的增加青蒿素含量呈抛物线状变化, 4~5 d 最高, 达显著水平, 之后逐渐下降; 随着干燥温度的升高青蒿素含量呈下降趋势, 40 °C 时叶片青蒿素含量较高; 随着贮藏时间的延长青蒿素含量逐渐下降, 贮藏 100 d 后下降明显。采收后整株立式阴晾 4~5 d 后再晒干方法能提高黄花蒿叶片的青蒿素含量。40 °C 的干燥温度能使叶片中青蒿素含量损耗较少。黄花蒿叶片的保质贮藏时间约 90 d。

关键词: 黄花蒿; 加工; 青蒿素

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2009)06-0857-03

Study on the machining method of the artemisinin content of *Artemisia annua*

FENG Shi-Xin¹, MA Xiao-Jun^{1,2*}, YAN Zhi-Gang¹,

LIU Wu-Gou³, TAN Xing-Hua³, SU Shi-Dong⁴

(1. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning 530023, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, China; 3. Rong'an Productivity Promotion Center, Rongan 545400,

China; 4. Center for Popularization of Agricultural Technical of Rongan County, Rongan 545400, China)

Abstract: The new method which may improve the artemisinin content were determined by HPLC through the contrast test on processing the post-harvest plant by suitable treatment and drying temperature and storage time. The result showed that: firstly, with increasing airing time in the shade, the artemisinin content showed parabolic change after the whole were dried and processed, 4-5 d highest, to significant level, and then gradually decreased; Secondly, with the drying temperature increased, artemisinin content showed a downward trend, artemisinin content of leaves was higher at 40 °C; Thirdly, with prolonging storage time, artemisinin content decreased gradually, and decreased significantly after 100 d. The result showed that: the whole plant were vertically aired 4-5 d and then dried in sun after harvesting, which could increase the artemisinin content of leaves. The artemisinin content of leaves had less loss under dry temperature of 40 °C. The quality preservation of leaves was about 90 d.

Key words: *Artemisia annua*; machining; artemisinin

黄花蒿 (*Artemisia annua*) 为菊科蒿属植物, 是青蒿素的唯一来源植物, 青蒿素及其衍生物是疟疾特效药 (胡世林, 2005)。黄花蒿中青蒿素含量低、不稳定, 提取率低是制约黄花蒿长期、大规模生产发展的主要原因。不同的黄花蒿种质和生长地域性及立地条件, 直接影响黄花蒿中青蒿素含量 (韦树根

等, 2008; 张荣沐等, 2008; 岑丽华等, 2007; 元四辉, 2007); 栽培中不同的播种期、给植株供氮量及不同的采收期也会影响青蒿素含量 (蒋运生等, 2008; 王满莲等, 2009)。此外, 加工方法及提取工艺也是影响青蒿素含量和回收得率的重要技术环节。本文通过对采收后的黄花蒿植株进行适当的处理及干燥温

收稿日期: 2009-06-17 修回日期: 2009-10-14

基金项目: 广西科技攻关项目 (桂科攻 0630002-3K) [Supported by Key Technologies Research and Development Program of Guangxi (0630002-3K)]

作者简介: 冯世鑫 (1966-), 男, 广西横县人, 管技师, 从事药用植物繁育及栽培研究。

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: xima@public. bta. net. cn)

度和贮藏时间对比试验,探讨提高青蒿素含量的加工方法,为黄花蒿采收加工提供模式。

1 材料与方方法

1.1 材料

全自动恒温干燥箱、高效液相色谱仪、石油醚、粉碎机、60目网筛及小型提取设备。供试品种为广西药用植物园培育的黄花蒿新品种“桂蒿1号”。实验地点选在融安县长安镇黄花蒿规范化种植研究基地。

1.2 方法

(1)采收后处理:将黄花蒿整株砍下,置于室内,三株搭靠或靠栏,竖起、分散打开,立式如自然生长状,在常温下阴晾,设阴晾时间0 d(当天采收当天晒)、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d共8个处理,然后在太阳下晒1~2 d至干,打落、筛出叶片。(2)干燥温度:将当天采收的黄花蒿,人工取下叶片,分别置于40、50、60、70℃的全自动恒温干燥箱中烘2 d。另取一份置于室内常温阴干。分别测定它们的青蒿素含量。(3)贮藏时间:取按传统加工处理(当天采收当天晒)的黄花蒿叶片,用洁净的布袋包装,在常温下,置室内干燥通风处存放。分别在存放时间30、60、90、120、150、180、210 d后采样,测定青蒿素含量。(4)青蒿素测定:采用高效液相色谱(HPLC)

法(熊春媚等,2007)进行。

2 结果和分析

2.1 整株立式阴晾时间对黄花蒿中青蒿素含量的影响

不同阴晾时间对黄花蒿叶片中青蒿素含量有不同程度的影响,阴晾0~4 d,青蒿素含量呈上升趋势,4 d、5 d处理的最高,之后逐渐下降,阴晾7 d处理的青蒿素含量已低于0 d处理的。表1方差分析表明:处理4和处理5明显高于其它处理,达显著水平($P < 0.05$),二者间差异不显著,青蒿素含量均为1.37%;它们与CK相比青蒿素含量提高29.24%。即:阴晾4~5 d处理,能明显提高黄花蒿中青蒿素含量,比当天采收当天进行暴晒的传统加工处理方法提高29.24%。

2.2 干燥温度对叶片中青蒿素的影响

不同干燥温度对叶片青蒿素含量有不同程度的影响,随着干燥温度的升高黄花蒿中青蒿素含量逐渐下降,温度达70℃时,青蒿素含量已下降至0.52%(表2)。表2方差分析表明,处理1的青蒿素含量最高,达极显著水平($P < 0.01$),各处理受温度影响从小到大的排序为:处理1>处理5>处理2>处理3>处理4,而区组间差异不显著($P > 0.05$),说明不同的温度处理影响黄花蒿中青蒿素的含量。

表1 不同的阴晾处理对青蒿素含量的影响

Table 1 Effects of different shade process on the content of artemisinin

处理号 Treatment No.	处理 Treatment	重复 I Repeatio I (%)	重复 II Repeatio II (%)	重复 III Repeatio III (%)	青蒿素含量 Content of arlemisinin (%)	比较 Compare to CK (%)
1	阴晾 1 天后晒干	1.02	1.08	1.10	1.07eC	0.94
2	阴晾 2 天后晒干	1.12	1.13	1.15	1.13dC	6.60
3	阴晾 3 天后晒干	1.21	1.19	1.23	1.21cB	15.00
4	阴晾 4 天后晒干	1.37	1.40	1.35	1.37aA	29.24
5	阴晾 5 天后晒干	1.38	1.37	1.36	1.37aA	29.24
6	阴晾 6 天后晒干	1.31	1.33	1.30	1.31bA	23.58
7	阴晾 7 天后晒干	0.91	0.93	0.90	0.91fD	14.15
CK	阴晾 0 天后晒干(当天收当天晒)	1.00	1.14	1.04	1.06eC	—

注:各处理的多重比较采用 Duncan 法;同列中不同小写和大写字母分别表示在 5% 和 1% 的水平下差异显著。下同。

Note: Duncan's multiple range test was used to determine difference among treatments; Different small and capital letters in the same column indicate the significant difference at the 5% and 1% levels respectively. The same below.

2.3 贮藏时间对黄花蒿中青蒿素含量的影响

贮藏时间对黄花蒿叶片中青蒿素含量有不同程度的影响,随着贮藏时间的延长黄花蒿中青蒿素含量逐渐下降,贮藏时间至 300 d 时,青蒿素含量下降至 0.59%(处理 10),已到了不能利用的临界值。从表 3 方差分析得知:处理 1、处理 2 和处理 3 的青蒿

素含量最高,达显著水平($P < 0.01$),三个处理间差异不明显,其余处理受贮藏时间的影响,引起青蒿素含量下降的幅度从小到大的顺序为:处理 4>处理 5>处理 6>处理 7>处理 8>处理 9>处理 10。说明黄花蒿叶片的贮藏时间在 90 d 内青蒿素含量虽有所下降,但差异不显著。

表 2 不同干燥温度对青蒿素含量的影响

Table 2 Effects of different drying temperatures on the content of artemisinin

处理号 Treatment No.	干燥温度 Drying temperature (°C)	重复 I Repeatio I (%)	重复 II Repeatio II (%)	重复 III Repeatio III (%)	青蒿素含量 Content of artemisinin (%)
1	40	1.09	1.12	0.99	1.07aA
2	50	0.80	0.78	0.82	0.80bB
3	60	0.63	0.58	0.62	0.61cC
4	70	0.48	0.57	0.52	0.52Dc
5	常温阴干	0.86	0.83	0.88	0.86bB

表 3 不同的贮藏时间对青蒿素含量的影响

Table 3 Effects of different storage times on the content of artemisinin

处理号 Treatment No.	贮藏时间 Storage time (d)	重复 I Repeatio I (%)	重复 II Repeatio II (%)	重复 III Repeatio III (%)	青蒿素含量 Content of artemisinin (%)
1	30	1.18	1.13	1.15	1.15aA
2	60	1.17	1.16	1.09	1.14aA
3	90	1.10	1.15	1.12	1.12aA
4	120	0.98	1.01	1.03	1.01bB
5	150	0.94	1.00	0.90	0.95cBC
6	180	0.87	0.90	0.84	0.87dC
7	210	0.75	0.76	0.81	0.77eD
8	240	0.72	0.74	0.70	0.72efDE
9	270	0.66	0.70	0.68	0.68fE
10	300	0.61	0.54	0.62	0.59gF

3 结论和讨论

(1) 整株立式阴晾一定时间后晒干的处理能提高黄花蒿中青蒿素含量, 阴晾 4~5 d 后晒干达最高, 为 1.37%, 比当天采收当天晒的传统采收法提高 29.24%。其作用机理有待进一步研究。(2) 加工干燥温度的高低直接影响黄花蒿中青蒿素含量, 随着干燥温度的升高青蒿素含量逐渐下降, 40 °C 时含量较高, 差异显著; 70 °C 时最低, 仅 0.52%。杨水平等(1997)的研究认为自然晒干的效果最好, 青蒿素含量比阴干的样品含量高 23.76%, 比 60 °C 烘干的高 101.7%。这与我们的研究结果相一致。(3) 贮藏时间对叶片中青蒿素影响较大, 随着贮藏时间的延长青蒿素含量逐渐下降, 常温条件下布袋存放 90 d 青蒿素含量基本不变, 之后便迅速下降。加工生产中黄花蒿叶片不宜贮藏过长。(4) 选择恰当的检测方法, 准确反映黄花蒿中青蒿素含量尤为重要, 目前青蒿素含量的测定有双波长薄层扫描法、紫外分光光度法(李典鹏等, 1995)、柱前衍生 RP-HPLC 法(刘金磊等, 2007)、高效液相色谱法等, 各种方法

有各自的优缺点。用高效液相色谱测定青蒿提取物中青蒿素的含量, 与柱前衍生测定方法进行比较, 其方法简单准确, 分离效果好(熊春媚等, 2007)。(5) 生产中提取工艺的不同直接影响青蒿素提取率, 郝金玉等(2002)的研究表明, 微波辅助提取法比用传统的热提取、索氏提取法需要的时间短, 大大提高提取速率。胡森等(2006)应用超临界 CO₂ 从黄花蒿中萃取青蒿素, 在其优化条件下萃取 4 h, 萃取率达 95% 以上, 萃取物纯度在 15% 以上。韦国锋等(2007)应用大孔吸附树脂法提取青蒿素时, 选择对青蒿素的吸附量大, 解吸容易的 ADS-17 树脂, 用 90% 乙醇作洗脱剂, 青蒿素得率和提取率分别高达 0.3% 和 75% 以上, 其含量大于 99%。

综上所述, 黄花蒿的加工方法是影响黄花蒿青蒿素提取率、减少损耗的重要技术环节, 在原料的加工处理、干燥温度、贮藏时间及提取工艺等方面均为决定因素, 处理得当将提高青蒿素产量。

参考文献:

- 胡世林, 许有玲. 2005. 纪念青蒿素 30 年[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 7(2): 1-2
- Cen LH(岑丽华), xu L(徐良), Huang ZG(黄荣岗), et al. 2007. Effect of diferent latitude and different cultivation measures on Arteannuin content of *Artemisiaannua*(不同纬区及不同栽培土地条件对黄花蒿青蒿素含量的影响)[J]. *Anhui Agn Sci Bull* (安徽农学通报), 13(13): 46-47
- Hao JY(郝金玉), Han W(韩伟), Shi ChO(施超欧), et al. 2002. Microwave-assisted extraction of artemisinin from *Artemisia annua*(黄花蒿中青蒿素的微波辅助提取)[J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 33(8): 385-387
- Jiang YS(蒋运生), Qi XX(漆小雪), Wei JQ(韦记青), et al. 2008. Effect of sowing date on growth, yield and Artemisinin of *Artemisia annua*(播种期对黄花蒿生长、产量及青蒿素含量的影响)[J]. *Seed*(种子) 27(10): 14-15
- Li DP(李典鹏), Liang XY(梁小燕), Chen XZ(陈秀珍). 1995. Determination of Qinghaosu in *Artemisia annua* in various colinties, Gnanxi by TLC-UV spectrophoto meter(采用薄层层析—紫外分光光度法测定不同产地黄花蒿中青蒿素含量)[J]. *Guihaia*(广西植物), 15(3): 254
- Liu JL(刘金磊), LI DP(李典鹏), Wei X(韦霄). 2007. Determination of Artemisinin in *Artemisia annua* with RP-HPLC(黄花蒿中青蒿素含量的 RP-HPLC 法测定)[J]. *Guihaia*(广西植物), 27(5): 808-810
- Wang ML(王满莲), Wei X(韦霄), Jiang YS(蒋运生), et al. 2009. Effect of soil nitrogen levels on the growth, photosynt hetic oeroerties and artemisinin content of *Artemisia annua* seedling(氮对黄花蒿生长、光合特性和青蒿素含量的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), 29(2): 260-263
- Wei GF(韦国锋), Huang ZL(黄祖良), He YC(何有成). 2007. The extracation of Artemisinin by CRoPoRoUS resin(大孔吸附树脂提取青蒿素的研究)[J]. *Ion Exchange and Adsorption*(离子交换与吸附) (下转第 801 页 Continue on page 801)

表 2 两面针叶脉特征解剖镜观察结果
Table 2 Nerve characters of *Zanthoxylum nitidum* under AM

分类群 Taxon	脉序 Venation	叶基 Leaf base	一级脉 Primary nerve	二级脉 Secondary nerve	三级脉 Tertiary nerve	四级脉 Quarternary nerve	盲脉 Cecum nerve	末级脉 Terminal nerve
类型一	弓曲羽 状脉	两侧 对称	直向行走, 粗壮, 占 叶宽 3.2%	每侧 9~10 条, 以 50°~70° 从主脉开出, 二级脉环每侧 2~3 个, 脉环不规则	不规则 网状	脉岛发育不 完善	1 个分支	结环
类型二	弓曲羽 状脉	两侧 对称	基部和叶尖弯曲, 粗壮, 占叶宽 2.5%	每侧 10~11 条, 以 70°~85° 从主脉开 出, 二级脉环每侧 3~4 个, 脉环规则	规则 网状	脉岛发育完 善	1 个分支	结环
类型三	弓曲羽 状脉	两侧 对称	基部和叶尖弯曲, 粗壮, 占叶宽 2.2%	每侧 8~9 条, 以 60°~75° 从主脉开出, 二级脉环每侧 2~3 个, 脉环规则	不规则 网状	脉岛发育完 善	1 个分支	结环
毛两 面针	弓曲羽 状脉	两侧不 对称	基部和叶尖弯曲, 细, 占叶宽 1.7%	每侧 9~10 条, 以 60°~75° 从主脉开出, 二级脉环每侧 5~6 个, 脉环规则	不规则 网状	脉岛发育完 善	1 个分支	结环

参考文献:

- 国家药典委员会. 2005. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社: 116-117
- 黄成就. 1997. 中国植物志(第 43 卷第 2 分册)[M]. 北京: 科学出版社: 13-16
- 覃青云, 杨卫豪. 2003. 两面针在口腔护理用品中的应用研究 [A]. 2003 年中国牙膏工业学术研讨会(论文集), 1-6
- Huang ZX(黄治勋), Li ZH(李志和). 1980. A study on the active ingredient of anti-tumor of *Zanthoxylum nitidum* (两面针抗肿瘤有效成分的研究)[J]. *Acta Ahimica Sin*(化学学报), 38(6): 535-542
- Li DN(李丹妮), Liu HG(刘华钢), Liu LM(刘丽敏). 2008. Study of nitidine chloride inducing apoptosis in SMMC-7721 cells and its mechanism(氯化两面针碱诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡及机制研究)[J]. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*(中药药理与临床), 24(5): 23-25
- Liu HG(刘华钢), Wang BL(王博龙), Qin SH(秦三海), et al. 2007a. Study on G2/M phase arrest and apoptosis of human carcinoma of mouth floor KB cells in vitro induced by nitidine chloride(氯化两面针碱体外诱导人口腔鳞癌 KB 细胞 G2/M 期阻滞及凋亡的研究)[J]. *Lishizhen Med Mat Med Res*(时珍国医国药), 18(9): 2104-2106
- Liu HG(刘华钢), Qin SH(秦三海), Wang BL(王博龙), et al. 2007b. Effect of Nitidine chloride induced apoptosis in two nasopharyngeal carcinoma cell lines *in vitro*(氯化两面针碱体外诱导两种鼻咽癌株的细胞凋亡)[J]. *W C J · P S*(华西药理学杂志), 22(5): 514-516
- Liu HG(刘华钢), Liu LM(刘丽敏), Luo D(罗丹), et al. 2009. Antitumor effect and mechanism of nitidine chloride(氯化两面针碱的体内抗肿瘤作用及其机制)[J]. *W C J · P S*(华西药理学杂志), 24(1): 030-031
- Liu SH(刘绍华), Qin QY(覃青云), Fang K(方望), et al. 2005. The determination of nitidine chloride and L-sesamin of *Zanthoxylum nitidum* growing in ten areas of Guangxi(广西十个不同产地的两面针中活性成分的分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), 25(6): 591-595
- Wang BL(王博龙), Liu HG(刘华钢), Yang B(杨斌), et al. 2007. Anticancer activity of nitidine chloride from *Zanthoxylum nitidum* on multidrug resistant KBV200 cells *in vitro*(氯化两面针碱体外对人口腔鳞癌多药耐药细胞 KBV200 的抗癌活性)[J]. *Chin J Pharm Toxicol*(中国药理学与毒理学杂志), 21(6): 512-515
- Yu LY(余丽莹), Huang BY(黄宝优), Tan XM(谭小明), et al. 2009. The survey of wild germplasm of *Zanthoxylum nitidum* in Guangxi(广西两面针野生种质资源调查)[J]. *Guihaia*(广西植物), 29(2): 231-235, 284

(上接第 859 页 Continue from page 859)

- 子交换与吸附)23(4): 373-377
- Wei SG(韦树根), Ma XJ(马小军), Feng SX(冯世鑫), et al. 2008. Evaluation on germplasm resources of main production area of *Artemisia annua* in China(中国黄花蒿主产区种质资源评价)[J]. *China J Chin Mat Med*(中国中药杂志), 33(3): 241-243
- Xiong CM(熊春媚), Guo YD(郭亚东), Ma YH(马银海), et al. 2007. Determination of Arteminin in *Artemisia annua* by HPLC(高效液相色谱测定黄花蒿中青蒿素的含量)[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 19: 271-273
- Yuan SH(元四辉). 2007. Determination of Artemisinin in *Artemisia annua* by the ultraviolet spectrophotometric(不同产地栽培青蒿中青蒿素的含量测定)[J]. *J Chin Med Mat*(中药材), 30(10): 1257-1259
- Zhang RS(张荣沐), Zhao M(赵敏), Han S(韩颂). 2008. Study on contents of Artemisinin in *Artemisia annua* introduced from different provenances(引种的不同种源黄花蒿青蒿素含量的研究)[J]. *Chem Industry Fore Products*(林产化学与工业), 28(6): 83-87
- Zhong FL(杨水平), Chen HR, Chen M. 1997. Effects of harvest time, components parts of plant and drying methods on artemisinin content[J]. *Chin J Chin Med Mat*, 22(7): 405-407