

青蒿有效部位的提取工艺优化及驱蚊效果评价

李其凤¹, 朱伟¹, 陈沛泉¹, 高岩¹, 王琪¹, 胡艳山¹, 宋健平², 邓长生^{1*}

(1. 广州中医药大学科技产业园现代中成药工程研究中心, 广州 510445;
2. 广州中医药大学, 广州 510006)

[摘要] **目的:** 优选青蒿有效部位的提取工艺并评价其驱蚊效果。**方法:** 采用单因素试验筛选青蒿驱蚊有效部位的提取方法; 以挥发油得率为指标, 通过正交试验考察时间、温度及压力对提取工艺的影响, 确定最佳提取工艺。以有效保护率为指标, 评价青蒿提取物的驱蚊效果。**结果:** 采用超临界 CO₂ 萃取工艺, 其最佳萃取工艺为温度 60 ℃, 压力 30 MPa, 时间 2 h, 挥发油得率约 0.35%。制备的青蒿驱蚊提取物(质量浓度 > 0.05 g·mL⁻¹) 在 2 h 内有效保护率达 99%。**结论:** 优选的提取工艺稳定合理, 具有较好的驱蚊作用。

[关键词] 青蒿; 驱蚊; 超临界 CO₂ 提取

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0020-03

[doi] 10.11653/syjf2013080020

Optimization of Extraction Technology of Effective Parts in *Artemisia annua* and Evaluation of Its Repellent Effect

LI Qi-feng¹, ZHU Wei¹, CHEN Pei-quan¹, GAO Yan¹, WANG Qi¹,
HU Yan-shan¹, SONG Jian-ping², DENG Chang-sheng^{1*}

(1. Engineering Research Center of Modern Chinese Patent Medicines, Sci-tech Industrial Park,
Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510445, China;
2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of effective parts in *Artemisia annua* and evaluate its repellent effect. **Method:** Extraction method of repellent effective parts in *A. annua* was screened by single factor test; With yield of volatile oil as index, effects of time, temperature and pressure on extraction technology was investigated by orthogonal test. Repellent effect of the extract was evaluated with effective protection rate as index. **Result:** Supercritical CO₂ extraction technology was adopted, optimum technology was as following: temperature 60 ℃, pressure 30 MPa, extraction time 2 h, yield of volatile oil approximately 0.35%. Effective protection rate of these prepared extract of *A. annua* (concentration > 0.05 g·mL⁻¹) reached 99% in 2 hours. **Conclusion:** This optimized technology was reasonable and stable and its extract had well repellent effect.

[Key words] *Artemisia annua*; mosquito repellent; supercritical CO₂ extraction

[收稿日期] 20121114(008)

[基金项目] 广东省科技计划项目(2012B010300005)

[第一作者] 李其凤, 硕士, 制药工程师, 从事中药新药、保健品、化妆品的研发, Tel: 02087470715, E-mail: liqifeng1123@126.com

[通讯作者] * 邓长山, 硕士, 助理研究员, 从事中药新药、保健品、化妆品的研发, Tel: 02087470715, E-mail: des19811202@hotmail.com

蚊子作为多种疾病的媒介, 给人类健康造成严重威胁, 探索并开发新的防治蚊媒病方法已成为当前的研究热点^[1-3]。由于化学驱避剂会引起皮肤刺激和毒副作用, 植物源蚊虫驱避剂正日益受到重视^[4-6]。青蒿性味苦、辛, 微寒, 有特殊香气, 具有抗疟、抗病毒、抗肿瘤、抗心律失常、清热解暑等活性, 民间早有利用青蒿驱蚊的用法^[7-13]。本实验通过单因素试验筛选青蒿驱蚊有效部位的提取方法, 在此

基础上,以挥发油得率为指标,采用正交试验优选青蒿有效部位的提取工艺,并考察其驱蚊效果。

1 材料

BL-410SC 型电子天平(德国 Sartorius 公司),1L SFE 性超临界萃取仪(广州轻工研究所),白纹伊蚊 *Aedes albopictus* (Skuse)(广东省疾病预防控制中心提供,批号 120715),试剂均为分析纯。青蒿购自广东丰顺青蒿 GAP 种植基地,批号 110913,经广东省中医院药学部黄志海主任中药师鉴定为菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua* L. 的干燥地上部分。

2 方法与结果

2.1 提取方式的选择 青蒿产生驱蚊作用的主要成分为挥发油类,因此,试验拟比较水蒸气蒸馏、超临界 CO₂ 萃取、乙酸乙酯萃取 3 种方法,超临界萃取物及乙酸乙酯萃取物采用 2010 年版《中国药典》一部附录 XD 挥发油测定方法甲法进行测定,挥发油得率 = 挥发油得量/药材质量 × 100%。结果提取物得率分别为 0.33%, 2.98%, 1.53%;挥发油得率依次为 0.33%, 0.31%, 0.24%;提取时间分别为 10, 2, 2 h。前者得到的挥发油气味有焦味。后者会产生较多蜡质物,颜色难看。综合考虑,选择超临界 CO₂ 萃取法。

2.2 提取工艺优选 在预试验基础上,称取已烘干粉碎过一号筛的青蒿粗粉 9 份,每份 1 kg,选取萃取温度、压力及时间为考察因素,以挥发油得率为指标,通过正交试验优选青蒿驱蚊有效部位的提取工艺,收集解析出的超临界提取物,称重,计算得率;测定挥发油含量,计算挥发油得率。因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 青蒿超临界萃取工艺正交试验因素水平

水平	A	B	C
	萃取温度/℃	萃取压力/MPa	萃取时间/h
1	40	20	1
2	50	25	2
3	60	30	3

由直观分析可知,各因素对萃取工艺的影响顺序为萃取温度 > 萃取压力 > 萃取时间;方差分析表明因素 A, B 对萃取工艺具有显著性影响;最佳萃取工艺为 A₃B₃C₂, 即萃取温度 60 ℃, 萃取压力 30 MPa, 萃取时间 2 h。

2.3 验证试验 称取已烘干粉碎过筛的青蒿 3 份,每份 5 kg,按优选工艺进行 3 次验证试验,结果超临界提取物得率分别为 3.03%, 3.02%, 2.99%, 挥发

表 2 青蒿超临界萃取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D(空白)	挥发油得率/%
1	1	1	1	1	0.24
2	1	2	2	2	0.25
3	1	3	3	3	0.30
4	2	1	2	3	0.26
5	2	2	3	1	0.26
6	2	3	1	2	0.29
7	3	1	3	2	0.30
8	3	2	1	3	0.30
9	3	3	2	1	0.35
K ₁	0.79	0.80	0.83	0.85	
K ₂	0.81	0.81	0.86	0.84	
K ₃	0.95	0.94	0.86	0.86	
R	0.16	0.14	0.03	0.02	

表 3 挥发油得率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.005 07	2	0.002 5	76.00	<0.05
B	0.004 07	2	0.002 0	61.00	<0.05
C	0.000 20	2	0.000 1	3.00	>0.05
D(误差)	0.000 07	2	0.000 03	1.00	

注: $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$, $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

油得率依次为 0.35%, 0.37%, 0.34%。说明该提取工艺合理稳定。

2.4 驱蚊效果试验^[18-20]

2.4.1 试验样品 青蒿提取物,为黄绿色半固体,由广州中医药大学科技产业园有限公司提供,批号 120306。

2.4.2 供试蚊虫 白纹伊蚊由广东省疾病预防控制中心提供。羽化后 4~5 d 未吸血的雌性成蚊,饲养于蚊笼(40 cm × 30 cm × 30 cm)中,实验室温度(26 ± 1) ℃,相对湿度(70 ± 10)%。

2.4.3 攻击力试验 志愿者将暴露面积 4 cm × 4 cm 手背,伸入有 300 只白纹伊蚊的蚊笼内,停留 2 min,停落的蚊虫多于 30 只者为攻击力合格,此人及此笼蚊虫可用于驱蚊试验。

2.4.4 驱蚊试验 青蒿提取物加乙醇溶解,稀释成不同质量浓度[0.01(A), 0.02(B), 0.05(C), 0.1(D), 0.5(E)] g · mL⁻¹, 共 5 组。在志愿者双手手背各画出 5 cm × 5 cm 皮肤面积,右手按 1.5 μL · cm⁻² 剂量均匀涂抹供试样品,水冲洗组志愿者涂抹供试

样品后 5 min 自来水冲洗晾干;未冲洗组志愿者涂抹供试样品后自然晾干。暴露 4 cm × 4 cm 皮肤,严密遮蔽其余部分,左手为空白对照。把手伸入蚊笼,停留 2 min,观察、记录前来吸血的蚊虫数;每 2 h 测试 1 次,计算有效保护率,结果见表 4。

有效保护率 = (空白组停落蚊数 - 受试组停落蚊数) / 空白组停落蚊数 × 100%

表 4 不同质量浓度青蒿提取物驱蚊有效保护率

青蒿提取物质量 浓度/g·mL	有效保护率%				
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h
0.01	45.72	32.07	31.66	30.58	28.47
0.02	73.54	52.13	43.25	37.83	31.02
0.05	99.24	85.42	53.17	44.16	32.91
0.1	99.17	87.86	63.69	59.64	47.57
0.5	99.39	90.26	78.45	69.39	60.18

人体试验结果表明,青蒿提取物驱蚊效果与其质量浓度有关,质量浓度越高驱蚊效果越好;青蒿提取物驱蚊效果与时间有关,涂药后 2 h 有效保护率均较高,但时间越长驱蚊效果越差。

3 讨论

超临界 CO₂ 萃取技术具有溶剂残留量低、有效成分不易失活、生产过程易于控制等优点。该方法应用于青蒿挥发油的提取,可提高挥发油得率,同时缩短提取时间^[21]。青蒿提取物的驱蚊机制可能是提取物中挥发油类成分通过挥发在周围空气中形成气溶胶,从而形成有保护作用的有效驱避空间,使蚊虫忌避而产生驱避作用。青蒿提取物质量浓度越高驱蚊效果越好,达 0.05 g·mL⁻¹后,在涂药 2 h 内,有效保护率基本不再增加,但在更长的时间内显示质量浓度越高有效保护率越高,这可能与青蒿提取物中有效驱蚊物质为挥发性成分有关。青蒿提取物驱蚊时间较短,需进行更深入研究,以制备长效制剂。综上所述,青蒿超临界提取物驱蚊效果较显著,与传统驱避剂相比具有安全、高效、无毒的特点,可将其开发为一系列驱蚊产品,具有较好的应用前景。

[参考文献]

[1] 周水森,汤林华,盛慧锋,等. 2004 年全国疟疾形势[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2006,24(1):1.

[2] Hemingway J, Craig A. Perspectives: parasitology, enhanced; new ways to control malaria[J]. Sci, 2004, 303(5666):1984.

[3] 董桂蕃,李承毅. 国外驱避剂研究动向[J]. 中华卫生杀虫药械,2001,7(1):5.

[4] 林翔云. 纯天然驱蚊液和驱蚊油及其应用研究[J]. 中华卫生杀虫药械,2012,8(4):358.

[5] 胡林,黄晓东,夏坚. 灭蚊、驱蚊植物及其活性成分研究的挑战与机会[J]. 华东交通大学学报,2006,23(2):154.

[6] T Burfield. Reekie mosquitoes, malaria and essential oils[J]. Int J Aromatherapy, 2005, 15(1):30.

[7] 赵生芳,张瑞琴. 青蒿研究的现状[J]. 中国药师, 2003,6(11):733.

[8] 张东,杨岚,杨立新,等. 野生及栽培青蒿挥发油成分的气相色谱-质谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009,15(8):33.

[9] 胡媛. 青蒿研究进展[J]. 海峡药学, 2010, 22(11):624.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社,2010:184.

[11] 李兰芳,郭淑英,张畅斌,等. 青蒿有效部位及其成分的解热作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12):65.

[12] 张丽勇,林秀梅,战月. 不同方法提取青蒿挥发油成分分析及抗菌活性比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(22):60.

[13] 刘芳. 青蒿挥发油抗植物病原真菌活动的研究[J]. 白城师范学院学报,2009,23(6):26.

[14] 张晓蓉,陈功锡,陈良. 驱蚊抑菌绿色蚊香工艺研制及其效果评价[J]. 天然产物研究与开发,2011,23(5):962.

[15] 赵天明,徐溢,盛静. 青蒿中有效成分的提取分离技术研究进展[J]. 中成药,2010,32(7):1195.

[16] 庞斐. 超临界液体色谱提纯青蒿素的实验研究[D]. 天津:天津大学,2007.

[17] 钱国平,杨亦文,吴彩娟. 超临界 CO₂ 从黄花蒿中提取青蒿素的研究[J]. 化工进展,2005,24(3):286.

[18] 国家技术监督局. GB/T17322. 10—1998 农药登记卫生用杀虫剂的室内药效评价驱避剂[S]. 北京:中国标准出版社,2005.

[19] 齐荔红,刘晔,陈磊. 防蚊止痒液驱蚊止痒效果研究[J]. 海峡药学,2010,22(10):25.

[20] 郑剑,陈超. 3 种驱避剂驱蚊效果的评价研究[J]. 中华卫生杀虫药械,2010,16(5):342.

[21] 李杏花. 超临界萃取技术在中药成分提取分离中的应用研究进展[J]. 亚太传统医药,2011,7(2):154.

[责任编辑 全燕]