

锁阳中儿茶素的提取工艺优化

周泽斌, 刘素君*, 王应红(乐山师范学院化学与生命科学学院, 四川 乐山 614004)

摘要: 目的 优选锁阳中儿茶素的最佳提取工艺。方法 以儿茶素为考察指标, 用高效液相色谱法测定其含量, 采用正交实验法对儿茶素的提取工艺进行优选。结果 最佳提取工艺为 60% 的乙醇, 10 倍的溶剂, 超声提取 30 min。结论 优化得到的工艺简便易行, 稳定性好。

关键词: 锁阳; 儿茶素; 提取工艺; 正交实验

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)03-0213-03

Optimization of Extraction Process of Catechin in the Cynomorium

ZHOU Zebing, LIU Sujun*, WANG Yinghong (Department of Chemistry and Life Sciences, Leshan Teachers College, Leshan 614004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the extraction process of catechin in cynomorium. **METHODS** The orthogonal design method was used to optimize extraction process of catechin in cynomorium which was determined by HPLC as observing index. **RESULTS** The optimum extracting procedure was as follows: the raw powder of cynomorium extracted with 60% ethanol, with 10 folds of the solvent volume and ultrasonic extract for 30 min. **CONCLUSION** The optimum extracting process is simple, stable and efficient.

KEY WORDS: cynomorium; catechin; extraction process; orthogonal design method

锁阳, 又名不老药、锈铁棒、地毛球、羊锁不拉^[1], 为锁阳科植物锁阳 *Cynomorium sogarium* Rupr. 的干燥肉质茎, 多数寄生于蒺藜科白刺等植物根上, 是中蒙药中的常用药。性甘温, 具有补肾、益精、润肠之功效, 能止泻健胃, 主治肠热、胃炎、消化不良、痢疾等^[2]。目前, 大量研究证明锁阳黄酮类化合物主要为儿茶素(catechin)、柑桔

素(4'-O-吡喃葡萄糖)及一种以柑桔素为苷元的配糖体。近几年研究表明, 黄酮类化合物有明显的抗溃疡、抗菌、抗炎、降血脂等药用保健功能; 有防止动脉硬化或栓塞等效果, 可作血管保护剂; 对胸闷、心悸及早搏均有一定作用; 对眩晕综合征、急性耳鸣、口臭等症状有防治功能^[3]。根据其主要的药理作用, 常艳旭等^[4]认为锁阳中以儿茶素

基金项目: 国家科技支撑项目(2007BAC18B04)

作者简介: 周泽斌, 男, 工程师 Tel: (0833)2276046
Tel: (0833)2270785

E-mail: zouzebing1969@126.com

*通信作者: 刘素君, 女, 博士, 副教授

E-mail: zouliurui@126.com

为代表的黄酮类,熊果酸为代表的三萜类,多糖与鞣质可以看作是指标性成分。为了更好地开发利用锁阳药材,本试验以儿茶素为指标,采用正交实验法对儿茶素的提取工艺进行优化,选择最佳提取工艺条件。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

FZ102型植物粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);KQ318T型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);ZFQ85A旋转蒸发器(上海医械专机有限公司);DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂);SHB-III循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);DHG-9240A型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司);日本岛津LC-2010A高效液相色谱仪;LC-2010紫外检测器。

1.2 试剂

锁阳饮片于2008年3月购于乐山市中药材有限公司(批号:0707267),经四川大学生命科学学院杨志荣教授鉴定为锁阳科植物锁阳 *Cynomorium sogarieum* Rupr.; (+)-儿茶素对照品(中国药品生物制品检验所,批号:080312,纯度:98.5%);乙醇(食用级,浓度为95%);石油醚为分析纯;三氯甲烷为分析纯;乙酸乙酯为分析纯;水为去离子水;乙腈为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 儿茶素的含量测定

2.1.1 色谱条件 Shim-pack VP-ODS C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(10:90);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:280 nm;柱温:室温;进样量:5 μL。

2.1.2 标准曲线 取儿茶素对照品适量,精密称定,放于量瓶中加适量甲醇-水(1:1)超声10 min。冷至室温后用甲醇-水(1:1)定容,摇匀,微孔滤膜过滤,取续滤液即得对照品溶液。将配制好的对照品溶液(含儿茶素 0.150 mg·mL⁻¹),依次精确进样1, 2, 5, 10, 15, 20 μL 测定峰面积,得到儿茶素的线性回归方程为: $Y=715\ 834X+31\ 241(r=0.998\ 1)$ 。结果表明,儿茶素的进样量在0.150~3.00 μg 内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.1.3 供试品溶液的制备与测定 称取儿茶素提取物0.25 g加甲醇25 mL溶解,滤过,定容至50 mL量瓶中,摇匀。进样5 μL测得峰面积,计算儿茶素含量。色谱图见图1。

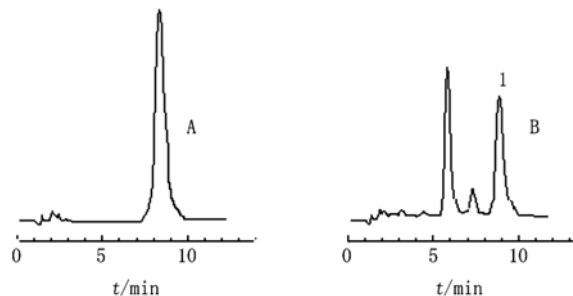


图1 高效液相色谱图

1-儿茶素; A-对照品; B-供试品

Fig 1 HPLC chromatogram

1-catechin; A-control; B-sample

2.2 正交实验设计

根据儿茶素的性质及初步预试实验结果,采用L₉(3⁴)正交表,锁阳用乙醇提取,以儿茶素的提取率为评价指标,选择乙醇浓度、溶剂用量、提取时间3个因素,每个因素设3个水平,因素水平见表1,实验设计结果见表2,方差分析见表3。

表1 正交实验的因素和水平

Tab 1 The orthogonal experiment factors and levels

水平	乙醇浓度(A)/%	提取时间(B)/min	料液比(C)/倍
1	40	30	6
2	60	60	8
3	80	90	10

表2 L₉(3⁴) 正交实验表

Tab 2 The orthogonal experiment

试验号	A	B	C	提取率/%
1	1	1	1	3.45
2	1	2	2	8.86
3	1	3	3	10.48
4	2	1	2	14.39
5	2	2	3	16.45
6	2	3	1	11.22
7	3	1	3	15.63
8	3	2	1	8.52
9	3	3	2	10.67
K1	7.597	11.490	7.730	
K2	14.020	11.277	11.307	
K3	11.940	10.790	14.520	
R	6.432	0.700	2.047	

注:提取率=HPLC含量×浸膏重量/样品重量×100%

Note: Extraction rate=content weight of extract/weight of sample×100%

表3 方差分析

Tab 3 Variance analysis

方差来源	离差平方和(SS)	自由度(f)	均方(MS)	F	F(临)
A	64.450	2	23.23	0.66	4.460
B	0.772	2	0.39	0.01	4.460
C	69.222	2	34.67	0.99	4.460
误差	140.74	8			

按均匀取样的规则取锁阳100 g,正交实验表安排实验,每组2次平行实验,以儿茶素提取率

为评价指标,测定结果取平均值。

从表 2 中数据直观分析,不同因素水平综合评分 $A_2 > A_3 > A_1$, $B_1 > B_2 > B_3$, $C_3 > C_1 > C_2$, 3 个因素的极差大小顺序为 $R_A > R_C > R_B$, 乙醇浓度对儿茶素提取率影响最大,提取时间和乙醇用量次之。由表 3 中数据方差分析可知,几个因素对儿茶素提取率没有显著性影响。综合以上因素,确定最佳提取工艺为 $A_2B_1C_3$,即 60%的乙醇,10 倍的溶剂,超声提取 30 min。

2.3 验证实验

根据上述方差分析结果中确定的最佳条件(60%的乙醇,10倍的溶剂,超声提取30 min)进行重复实验。HPLC检测确定供试样品中儿茶素含量,重复3次,进行验证实验,儿茶素的平均提取率为15.98%,提取率较高且具有重复性,验证了所选工艺参数的合理性。

3 讨论

由于儿茶素性质活泼,长时间处于高温或与氧接触,极易被氧化成醌类物质,所以适当的缩短儿茶素的提取时间对儿茶素具有保护作用。故选提取时间分别为 0.5, 1.0, 1.5 h,并在减压浓缩时加入一定量维生素 C 作为抗氧化剂以防儿茶素被氧化。在预实验筛选了超声次数,超声 1 次儿茶素提取不完全,而超声 2 次和 3 次没有显著性差异,因此正交实验设计时没有选超声次数,在试验过程中,都超声 2 次。

不同浓度乙醇溶液极性不同,对儿茶素的溶解度也不同,根据文献[4]随着乙醇浓度增大其对

儿茶素溶解度也增大故选择乙醇浓度分别为 40%, 60%, 80%。虽然增大料液比可以加快有效成分的溶出,但是会同时增大杂质成分的溶出,料液比的处理量亦增大,所以选择料液比分别为 1:6, 1:8 和 1:10。比较了回流、超声、冷浸 3 种提取方法,结果超声的提取效果明显好于回流和冷浸,所以选用超声提取方法。

本试验通过正交实验法超声提取锁阳中儿茶素,以儿茶素的含量为考察指标,考察了乙醇浓度、提取时间、料液比3个因素,得到了从锁阳中提取儿茶素的最佳提取工艺:60%乙醇条件下以 1:10 的料液比超声提取30 min。此工艺与其他工艺^[5]比较,有操作简单,耗时短,提取率较高等优点,可为工业化生产提供理论基础。

REFERENCES

- [1] Dictionary of Chinese Herbal Medicines (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House, 1977: 2395.
- [2] ZHANG S J, ZHANG S Y, HU J P. Studies on polysaccharide of *Cynomorium songaricum* Rupr [J]. Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2001, 26(6): 409-411.
- [3] KANG X P, KASIMU R N, LIU Y T. Determination and optimum extraction of the total flavones of Xinjiang's *Cynomorium songaricum* Rupr. [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2009, 20(1): 105-106.
- [4] CHANG Y X, SU G E. Discuss on effective and targeted component of *Cynomorium songaricum* Rupr.[J]. Res Pract Chin Med(现代中药研究与实践), 2005, 19(3): 55-60.
- [5] LU Y P, HE Q, YAO K, et al. Optimization conditions for the extraction of catechin [J]. J Sichuan Univ: Eng Sci Ed(四川大学学报: 工程科学版), 2004, 36(2): 65-68.

收稿日期: 2009-06-19