

正交试验法优选芦丁粗品提取工艺

郝述虎 金继曙 刘云飞¹ (安徽省医学科学研究所, 合肥 230061)

摘要 用正交试验法优选了芦丁粗品的提取工艺, 通过22次试验, 用3个指标对结果进行直观分析和综合分析, 筛选出了芦丁粗品的最适提取工艺。用此工艺提取的粗品经精制符合质量标准规定。

关键词 芦丁 提取工艺 正交试验

芦丁(Rutin)系从中药槐米提取的有效成分, 药用具有维生素P样作用和抗辐射作用, 为合成羟乙基芦丁等之原料, 还可作为天然防晒剂^[1], 因此需求量较大。为提高芦丁收率, 有关文献^[2-5], 曾对芦丁的提取工艺作过系统报道, 总之所采用的提取方法, 有的生产成本低, 有的不适合工业化大生产, 有的收率低, 有的含量不稳定。为了解决这些问题, 我们根据芦丁的理化性质并尽可能多考虑影响收率的因素, 采用正交试验法对芦丁粗品提取工艺进行实验研究。

实验部分

1 实验材料与仪器

槐米采购于合肥市中药材批发部, 经鉴定为豆科植物槐(*Sophora japonica* L.)的干燥花蕾。净选除杂, 碾碎备用, 按《中国药典》1990年版一部槐米下的方法测得含芦丁量为22.97%。

试剂均为AR。

紫外分光光度仪: 日本岛津UV-240型。

2 实验内容与结果

2.1 正交试验设计 在文献^[6]的基础上, 结合工作实践经验, 我们采用 $L_{18}(6^1 \times 3^2)$ 正交表, 其因素水平见表1。

2.2 提取工艺流程: 取已处理过的槐米10g, 加入抗氧剂亚硫酸钠, 按正交设计表2各实验序号项下实验条件进行实验, 先加4倍量刚煮沸过的石灰水, 加热继续微沸一定时间, 迅速滤过, 滤液在60—70℃下酸化析出沉淀, 静置, 滤渣再加水提取3次, 合并水提液、酸化, 沉淀静置一段时间后, 过滤, 水洗至近中性, 得粗品在120℃下干燥恒重, 称重, 记于表2。

2.3 标准曲线绘制: 参照《中国药典》1990年版一部槐米项下标准曲线的制备方法进行。用最小二乘法经线性回归, 可得 $A = 0.01136C - 0.0096(C$ 的

¹ 安徽中医学院中药系95届毕业生

表1 提取工艺因素水平表

	A 酸 沉 pH	B 用 水 量 (倍)	C 碱 提 pH	D 煮提时间 (min)	E 静置时间 (h)	F 抗氧剂用量 (%)
1	6	14	9	50	6	0.5
2	4	10	13	30	24	0
3	1	12	11	40	12	1
4	3					
5	2					
6	5					

表2 正交设计表

试 验	因 素						结 果			
序 号	A	B	C	D	E	F	重量W (g)	含量Y (%)	综合评分 W+0.01Y	外 观 (10分制)
1	1(6)	1(14)	3(11)	2(30)	2(24)	1(0.5)	1.68	78.0	2.46	8.0
2	1	2(10)	1(9)	1(50)	1(6)	2(0)	1.46	78.4	2.24	7.5
3	1	3(12)	2(13)	3(40)	3(12)	3(1)	1.63	78.2	2.41	8.0
4	2(4)	1	2	1	2	3	1.55	79.9	2.35	8.5
5	2	2	3	3	1	1	1.75	80.6	2.56	8.0
6	2	3	1	2	3	2	1.45	79.5	2.25	7.5
7	3(1)	1	1	3	1	3	1.65	79.2	2.44	7.5
8	3	2	2	2	3	1	1.60	78.1	2.38	7.5
9	3	3	3	1	2	2	1.30	78.8	2.09	7.0
10	4(3)	1	1	1	3	1	1.60	78.2	2.38	7.5
11	4	2	2	3	2	2	1.44	78.6	2.23	7.0
12	4	3	3	2	1	3	1.60	79.1	2.39	7.5
13	5(2)	1	3	3	3	2	1.41	79.0	2.20	7.0
14	5	2	1	2	2	3	1.60	79.6	2.40	7.5
15	5	3	2	1	1	1	1.52	78.7	2.31	7.5
16	6(5)	1	2	2	1	2	1.48	79.2	2.27	8.0
17	6	2	3	1	3	3	1.84	80.2	2.64	9.0
18	6	3	1	3	2	1	1.64	80.7	2.45	8.5
I	4.77	9.37	9.40	9.27	9.46	9.79				
II	4.75	9.69	9.22	9.41	9.21	8.54				
III	4.55	9.14	9.58	9.52	9.53	9.87				
IV	4.64								总和=28.2	
V	4.53									
VI	4.96									
I/3	1.59	3.12	3.13	3.09	3.15	3.26				
II/3	1.58	3.23	3.07	3.14	3.07	2.85				
III/3	1.52	3.05	3.19	3.17	3.18	3.29				
IV/3	1.55									
V/3	1.51									
VI/3	1.65									
R	0.14	0.18	0.12	0.08	0.11	0.44				
均方差和	0.0134	0.0165	0.0072	0.0033	0.0065	0.1209				

表2.2 六种因素方差分析表

方差来源	离差平方和	自 由 度	均 方	F 值	显 著 性
组 间	94.67	5	18.93	183.25	显 著 ($P<0.0$)
组 内	1.550	15	0.1033		
合 计	96.22	20	$F_{0.05}(5,15)=2.90$		

表2 正交设计表

试验	因 素						结 果		
序 号	A	B	C	D	E	F	重 量 (g)	含 量 (%)	外 观 (10分制)
1	1(6)	1(14)	3(11)	2(30)	2(24)	1(0.5)	1.68	78.0	8.0
2	1	2(10)	1(9)	1(50)	1(6)	2(0)	1.46	78.4	7.5
3	1	3(12)	2(13)	3(40)	3(12)	3(1)	1.63	78.2	8.0
4	2(4)	1	2	1	2	3	1.55	79.9	8.5
5	2	2	3	3	1	1	1.75	80.6	8.0
6	2	3	1	2	3	2	1.45	79.5	7.5
7	3(1)	1	1	3	1	3	1.65	79.2	7.5
8	3	2	2	2	3	1	1.60	78.1	7.5
9	3	3	3	1	2	2	1.30	78.8	7.0
10	4(3)	1	1	1	3	1	1.60	78.2	7.5
11	4	2	2	3	2	2	1.44	78.6	7.0
12	4	3	3	2	1	3	1.60	79.1	7.5
13	5(2)	1	3	3	3	2	1.41	79.0	7.0
14	5	2	1	2	2	3	1.60	79.6	7.5
15	5	3	2	1	1	1	1.52	78.7	7.5
16	6(5)	1	2	2	1	2	1.48	79.2	8.0
17	6	2	3	1	3	3	1.84	80.2	9.0
18	6	3	1	3	2	1	1.64	80.7	8.5
I	4.77	9.37	9.40	9.27	9.46	9.79	总和 = 28.2		
II	4.75	9.69	9.22	9.41	9.21	8.54			
III	4.55	9.14	9.58	9.52	9.53	9.87			
IV	4.64								
V	4.53								
VI	4.96								
R	0.43	0.55	0.36	0.25	0.32	1.33			

单位为 $\mu\text{g/ml}$), 相关系数 $r = 0.9992$ 。

2.4 样品溶液的制备及含量测定: 样品溶液的制备参照对照品溶液的制备^[7]。精密吸取样品溶液3.0 ml, 置25 ml 量瓶中, 照标准曲线制备项下的方法, 自“加水至 6 ml”起依法测定吸收度, 计算其含量, 记于表2.1。

2.5 初步结果: 从正交表2.1可以看出, 影响芦丁收率的因素排列依次为 $F > B > A > C > E > D$, 芦丁粗品提取可能好的条件为 $A_6B_2C_3D_3E_4F_3$, 即酸

沉 $\text{pH} = 5$, 用水量为10倍, 碱提 $\text{pH} = 11$, 煮提时间为40 min, 静置时间为12 h, 抗氧剂用量为投料量的1%。

2.6 第二批小网试验: 依据上述试验结果, 对诸影响因素进行分析, 结果表明: 是否加抗氧剂以及酸沉 pH 大小直接影响粗品外观颜色(用10分制评分), 而抗氧剂用量和用水量多少对粗品收率影响较大。其余因素如煮提时间、静置时间分别由碱提 pH 和酸沉 pH 大小决定, 即碱提 pH 值大煮提时

间应短些为好, 碱提 pH 值小煮提时间可适当延长; 酸沉 pH 值小静置时间短, 酸沉 pH 值大静置时间长。因此, 抗氧剂用量、用水量、酸沉 pH 三个因素尤其重要, 有必要安排第二批正交试验, 展望更好的条件。通过确定碱提 pH = 11, 煮提时间为 40 min, 静置时间为 12 h, 以 A₆、B₂、F₃ 为参考值安排因素水平表 3。进行第二次撒小网试验, 获得满意效果(每次试验槐米投料量仍为 10 g)。从正交表 4 可以看出, 粗品外观指标都在 9.0 分以上,

其中收率最高的条件是抗氧剂用量为 6%, 用水量为 12 倍, 酸沉 pH 仍为 5。

表 3 因素水平表

	抗氧剂用量(%)	用水量(倍)	酸沉 pH
1	1	12	4
2	6	10	5

表 4 L₄(2³) 正交设计表

试验序号	因 素			结 果		
	抗氧剂用量(%)	用水量(倍)	酸沉 pH	重量(g)	含量(%)	外观(10分制)
1	1(1)	1(12)	1(4)	1.85	78.8	9.0
2	2(6)	1	2(5)	2.74	78.4	9.5
3	1	2(10)	2	1.65	79.0	9.0
4	2	2	1	2.48	78.2	9.5

讨论与小结

由于芦丁提取工艺受多种因素影响, 因此用一次正交试验优选芦丁提取工艺时, 往往难以找到最适工艺条件。本文用二次正交试验及对其结果进行直观分析和综合分析, 筛选出了芦丁粗品的最适提取工艺, 即抗氧剂用量为投料量的 6%, 用水量为 12 倍, 碱提 pH = 11, 煮提时间为 40 min, 酸沉 pH 为 5 (沉淀过滤时水洗次数减少), 静置时间为 6 h (为缩短实验周期, 我们通过反复试验证明, 每次静置时间只要不少于 6 h, 对收率影响很小)。用此工艺提取的粗品经精制, 符合部颁标准 [WS₁-49 (B)-89] 规定。

致谢 本所分析室王晓华、吴宗好帮助测定紫外吸收度。合肥市医药公司李敏鉴定药材。

参 考 文 献

- 1 宋廷生等, 天然防晒剂——芦丁. 日用化学工业, 1991, (5), 47
- 2 李松武等. 芦丁提取新工艺. 中成药, 1990, 12 (9), 12
- 3 湖南 415 医院药局. 从槐米中提取芦丁的新工艺. 中草药通讯, 1977, (10), 21—23.
- 4 王昌利等. 超声提高芦丁得率的实验研究. 中成药, 1993, 15(2), 7—8
- 5 曹永刚. 芦丁提取工艺的研究. 中国医药工业杂志, 1993, 24(2), 51—52
- 6 朱键银. 芦丁提取工艺的研究. 中成药, 1993, 15(8), 4—5
- 7 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典一九九〇年版(一部). 北京: 人民卫生出版社, 1990, 315