

## 正交试验优选宣木瓜总皂苷的提取工艺

秦海军<sup>1,2</sup>, 张毅<sup>1,2\*</sup>, 马玲<sup>1,2</sup>, 陈师农<sup>1,2</sup>, 任燕茹<sup>3</sup>

(1. 安徽省药物研究所, 合肥 230022; 2. 安徽省中药研究与开发重点实验室, 合肥 230022;  
3. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230031)

[摘要] 目的: 优选宣木瓜总皂苷的提取工艺。方法: 以宣木瓜总皂苷得率为评价指标, 通过单因素试验筛选提取方法, 利用正交试验考察乙醇体积分数、提取温度、料液比及提取时间对宣木瓜总皂苷提取工艺的影响。采用UV测定总皂苷含量, 检测波长550 nm。结果: 最佳乙醇提取工艺为加20倍量80%乙醇于90℃提取3h; 宣木瓜总皂苷得率1.69%。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 为宣木瓜系列产品的开发提供参考。

[关键词] 宣木瓜; 总皂苷; 单因素试验; 正交试验; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)16-0045-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160045

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140627.0947.105.html>

[网络出版时间] 2014-06-26 10:32

## Optimization of Extraction Process for Total Saponins from *Chaenomelis Fructus* by Orthogonal Test

QIN Hai-jun<sup>1,2</sup>, ZHANG Yi<sup>1,2\*</sup>, MA Ling<sup>1,2</sup>, CHEN Shi-nong<sup>1,2</sup>, REN Yan-ru<sup>3</sup>

(1. Anhui Institute of Materia Medica, Hefei 230022, China;

2. Key Laboratory of Chinese Medicine Research and Development in Anhui Province, Hefei 230022, China;

3. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of total saponins from *Chaenomelis Fructus*.

**Method:** Taking yield of total saponins as index, extraction method was selected by single factor test, orthogonal test was adopted to optimize extraction process with ethanol concentration, extracting temperature, ratio of material to liquid and extraction time as factors. UV was employed to determine the content of total saponins with detection wavelength at 550 nm. **Result:** The best extraction process was as following: extracted 3 h with 20 times the amount of 80% ethanol at 90℃; yield of total saponins from *Chaenomelis Fructus* was 1.69%. **Conclusion:** This process was stable and feasible, it could provide a reference for development of series products of *Chaenomelis Fructus*.

[Key words] *Chaenomelis Fructus*; total saponins; single factor test; orthogonal test; extraction process

木瓜主产于安徽宣城、重庆綦江及湖北资丘, 分别习称为宣木瓜、川木瓜与资丘木瓜, 历代本草以宣木瓜为道地药材<sup>[1]</sup>。三萜皂苷类化合物是宣木瓜的主要药效成分之一<sup>[2]</sup>, 由齐墩果酸、熊果酸等以

皂苷元的形式与糖结合而成, 属于五环三萜类, 具有独特生理活性。宣木瓜总皂苷具有镇痛、消炎、抗菌、保肝、抗肿瘤等药理作用<sup>[3]</sup>。该药材具有独特的地道性, 一些有效部位可作为食品、功能性保健食品

[收稿日期] 20131218(004)

[基金项目] 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI04B06)

[第一作者] 秦海军, 硕士, 助理研究员, 从事中药新药研究, Tel: 15375457851, E-mail: ahqinhaijun@126.com

[通讯作者] \* 张毅, 硕士, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药新药研究, Tel: 13339299722, E-mail: yanzhang0312@126.com

品行业的原料,但目前尚无真正适合用于工业化生产的宣木瓜总有效部位的产品。故本实验采用单因素试验和正交设计优选宣木瓜总皂苷的提取工艺,为该药材总有效部位的系列产品开发提供参考。

## 1 材料

TU-1810 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司),AEY-210 型电子天平(湘仪天平仪器设备有限公司)。宣木瓜药材由宣城市开发区提供,经安徽省药物研究所张毅副研究员鉴定为蔷薇科植物贴梗海棠 *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai 的果实;齐墩果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110709-200505),试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 总皂苷的含量测定<sup>[4-5]</sup>

**2.1.1 对照品溶液制备** 精密称取齐墩果酸对照品 4.9 mg,置 50 mL 量瓶中,加无水乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得。

**2.1.2 供试品溶液制备** 精密称取宣木瓜粗粉 3.0 g 至具塞锥形瓶中,加入 70% 乙醇 100 mL,超声 1 h,过滤,滤液减压回收至无醇味,加石油醚脱脂,弃去石油醚层,加等体积的水饱和正丁醇萃取 4 次,合并正丁醇层,水浴挥干,残渣加无水乙醇溶解并定容至 100 mL,滤过,即得。

**2.1.3 检测波长的选择** 精密吸取对照品溶液和供试品溶液 2.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加入 5% 亚硝酸钠 1 mL,放置 6 min;加入 5% 三氯化铝 1 mL,放置 6 min;加入 4% 的氢氧化钠 5 mL,静置 15 min;用 70% 乙醇定容,摇匀,于  $2\ 500\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清液,对照管以相应试剂为空白,供试品管以未经显色的样品溶液为空白,于 400 ~ 700 nm 扫描,结果显示二者均在 550 nm 处有最大吸收。

**2.1.4 标准曲线的制备** 精密吸取对照品溶液 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL 置具塞试管中,按 2.1.3 项下方法测定吸光度(A),以 A 为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程  $Y = 9.142\ 9X + 0.005\ 2$  ( $r = 0.999\ 4$ ),线性范围 0.019 6 ~ 0.098 0 mg。

**2.1.5 精密度试验** 精密称取宣木瓜粗粉 3.0 g,共 6 份,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下方法测定 A,计算总皂苷含量的 RSD 1.81%,表明仪器精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 精密吸取对照品溶液 0.6 mL,共 5 份,按 2.1.3 项下方法测定 A,计算 RSD 0.22%,表明本法重复性良好。

**2.1.7 稳定性试验** 精密吸取供试品溶液 0.1

mL,分别于 10,20,30,40,50,60 min 按 2.1.3 项下方法测定 A,计算总皂苷含量的 RSD 2.18%,表明供试品溶液在 1 h 内基本稳定。

**2.1.8 加样回收率试验** 精密称取已知含量的宣木瓜粗粉 9 份,各加入等量齐墩果酸对照品溶液,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下方法测定 A,计算平均加样回收率 100.30%,RSD 1.45%。

**2.2 不同提取方法考察** 宣木瓜中三萜皂苷类化合物不易溶于水,易溶于乙醇、甲醇等有机试剂,故拟定以 80% 乙醇作为提取溶剂。精密称取宣木瓜粉 20 g,共 3 份,分别采用超声法(提取 2 次,每次 40 min)、回流法(80 °C 水浴回流提取 2 次,每次 1 h)及索氏法(至提取液呈无色)提取,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下方法测定 A,计算总皂苷得率分别为 1.73%,1.62%,1.60%。说明 3 种方法基本能将大部分总皂苷,其中超声法提取的总皂苷得率最高,但不适合工业化大生产,故选择回流法。

### 2.3 单因素试验考察<sup>[6-7]</sup>

**2.3.1 乙醇体积分数** 精密称取宣木瓜粉 20 g,共 4 份,分别加入 20 倍量 60%,70%,80%,90% 的乙醇溶液于 80 °C 热浸提 3 h,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,计算各提取液中总皂苷得率分别为 1.05%,1.12%,1.54%,1.41%,表明 80% 乙醇的提取效果最高。

**2.3.2 温度** 精密称取宣木瓜粉 20 g,共 4 份,加 20 倍量 80% 乙醇分别于 70,80,90,100 °C 热浸提 3 h,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,计算总皂苷得率分别为 1.58%,1.53%,1.69%,1.69%。

**2.3.3 料液比** 精密称取宣木瓜粉 20 g,共 5 份,分别加入 10,15,20,25,30 倍量 80% 乙醇于 90 °C 回流提取 3 h,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,计算总皂苷得率分别为 1.42%,1.57%,1.69%,1.67%,1.68%,结果表明料液比 > 1:20 后,总皂苷得率变化均趋于稳定。

**2.3.4 提取时间** 精密称取宣木瓜粉 20 g,共 4 份,分别加入 20 倍量 80% 乙醇于 90 °C 回流提取 1,2,3,4 h,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,计算总皂苷得率分别为 1.47%,1.55%,1.68%,1.66%,结果表明当提取时间延长至 3 h 后,总皂苷得率变化均趋于稳定。

**2.4 正交试验优选提取工艺条件<sup>[8]</sup>** 在单因素试验基础上,选择提取温度、乙醇体积分数、料液比和

提取时间为考察因素,以总皂苷得率为指标,精密称取宣木瓜粉 100 g,共 9 份,按  $L_9(3^4)$  正交表进行试验,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,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 宣木瓜总皂苷提取工艺正交试验因素水平

水平	A 提取温度 /℃	B 乙醇体积 分数/%	C 料液比	D 提取时间 /h
1	70	70	1:10	1
2	80	80	1:15	2
3	90	90	1:20	3

表 2 宣木瓜总皂苷提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	总皂苷得率/%
1	1	1	1	1	0.95
2	1	2	2	2	1.46
3	1	3	3	3	1.55
4	2	1	2	2	1.42
5	2	2	3	3	1.69
6	2	3	1	1	1.16
7	3	1	3	3	1.47
8	3	2	1	1	1.25
9	3	3	2	2	1.57
$K_1$	1.32	1.28	1.12	1.40	
$K_2$	1.42	1.47	1.48	1.36	
$K_3$	1.43	1.43	1.57	1.41	
R	0.04	0.06	0.15	0.01	

表 3 总皂苷得率方差分析

方差来源	SS	MS	F	P
A	0.002 5	0.001 3	6.541 4	>0.05
B	0.006 4	0.003 2	16.611 5	>0.05
C	0.038 0	0.019 0	98.031 8	<0.05
D(误差)	0.000 4	0.000 2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ ,  $f$  均为 2。

由直观分析可知,各因素对宣木瓜总皂苷提取工艺的影响顺序为  $C > B > A > D$ 。以极差最小的 D 因素为误差项进行方差分析,结果表明因素 C 对宣木瓜总皂苷提取效果的影响显著,其余因素则无显著性影响,确定最佳提取工艺为  $A_3B_2C_3D_3$ ,即提取温度 90 ℃,乙醇体积分数 80%,料液比 1:20,提取时间 3 h。

### 3 讨论

宣木瓜是我省宣城地区的道地药材,具有丰富的营养成分、显著的保健作用、独特的临床效果和重要的经济价值,应用前景广泛。通过正交试验对宣木瓜总皂苷的提取工艺进行优化,可提高宣木瓜的综合利用率,为其总有效部位的系列产品开发提供原料。预试验对提取次数进行考察,结果发现提取 1 次即可将宣木瓜中总皂苷提取完全,该工艺利于扩大化生产。

### [参考文献]

- [1] 邹传宗. 木瓜活性成分及药理作用研究概述[J]. 园艺与种苗,2012(3):55.
- [2] 杨松杰. 木瓜属植物种质资源研究进展[J]. 湖北农业科学,2011,50(20):4116.
- [3] 林丹,郭素华. 木瓜化学成分、药理作用研究进展[J]. 海峡药学,2009,21(10):85.
- [4] 罗兰,崔永霞,王淑美,等. 脑脉通有效部位中总皂苷的含量测定[J]. 中国药房,2010,21(19):1761.
- [5] 黄勇,许倩兮,彭光华. 藏药雪灵芝中总皂苷含量的测定[J]. 中国药师,2010,13(1):94.
- [6] 贺红军,邱宗荫. 正交试验优选茅莓总皂苷的提取工艺[J]. 中国药房,2012,23(7):611.
- [7] 张榕文,李耿,杨广荣,等. 响应曲面法优化人参总皂苷动态连续循环提取工艺[J]. 中国药业,2013,22(16):55.
- [8] 秦海军,刘永,田军,等. 柴附消乳颗粒提取工艺的实验研究[J]. 安徽医药,2011,15(2):151.

[责任编辑 刘德文]