

虎杖总鞣质的提取工艺优选及吸湿性考察

雷志钧, 夏新华*, 张婷, 陈飞
(湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

[摘要] **目的:** 优选虎杖总鞣质的提取工艺并考察其吸湿性。**方法:** 采用络合滴定法测定总鞣质含量。以总鞣质提取量为指标, 通过单因素试验确定提取温度, 利用正交试验考察丙酮体积分数、提取次数、料液比对总鞣质提取工艺的影响。将总鞣质粉末置于恒温恒压恒湿环境中, 通过每隔一段时间检测的质量变化以考察该成分的吸湿特性。**结果:** 最佳提取工艺为加5倍量30%丙酮超声提取3次, 每次30 min; 总鞣质平均提取量 $102.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.25%。虎杖总鞣质的临界相对湿度约50%, 在恒温恒压恒湿环境中24 h后基本达吸湿平衡。**结论:** 优选的提取工艺稳定可行, 虎杖总鞣质的吸湿性较强。

[关键词] 虎杖; 总鞣质; 吸湿性; 临界相对湿度; 络合滴定法

[中图分类号] R283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0030-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160030

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140627.0947.116.html>

[网络出版时间] 2014-06-26 11:01

Optimization of Extraction Technology of Total Tannins from Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix and Investigation of Its Hygroscopicity

LEI Zhi-jun, XIA Xin-hua*, ZHANG Ting, CHEN Fei

(School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of total tannins in Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix and investigate its hygroscopicity. **Method:** The content of total tannins was determined by complexometric titration. Taking extracting amount of total tannins as index, extraction temperature was selected by single factor test, orthogonal test was adopted to optimize extraction process with acetone concentration, extracting times and solid-liquid ratio as factors. Total tannins powder was placed in environment with constant temperature, humidity and pressure, weight change was measured periodically to investigate its hygroscopic properties. **Result:** Optimum extraction process was as following: extracted thrice with five times the amount of 30% acetone for 30 min each time; average extracting amount of total tannins was $102.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ with RSD of 1.25%. Critical relative humidity of total tannins in Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix was about 50%, it reached hygroscopic balance after 24 h in the environment with constant temperature, humidity and pressure. **Conclusion:** Optimized extraction process was stable and feasible, total tannins in Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix had strong hygroscopicity.

[Key words] Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix; total tannins; hygroscopicity; critical relative humidity; complexometric titration

[收稿日期] 20131210(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30973955/H2806); 湖南省中药学重点学科项目(湘教通[2011]76号); 国家中医药管理局“中药制剂学”重点学科项目(国中医药发[2009]30号)

[第一作者] 雷志钧, 硕士, 副教授, 从事中药新制剂及新技术研究, Tel: 0731-88458231, E-mail: lzj-707@163.com

[通讯作者] *夏新华, 博士生导师, 教授, 从事中药新制剂及新技术研究, E-mail: xxh001@163.com

虎杖别名假川七、土川七、红三七、三七或日本蓼,产于东亚地区,本品苦寒,破泄清热,且苦燥湿,寒凉血,清热解毒,主要成分为蒽醌类、苷类,黄酮类,此外还含有鞣质类^[1]。鞣质是存在于植物体内的一类结构比较复杂的多元酚类化合物,为黄色或棕黄色无定形松散粉末,在空气中颜色逐渐变深,具有强吸湿性,药理活性呈现独特性和多样性。虎杖鞣质对外伤出血具有明显止血作用,内服对上消化道出血亦有止血作用。本实验以总鞣质提取量为指标,拟通过正交试验优选虎杖中总鞣质的提取工艺,考察提取物的吸湿性,为虎杖固体制剂的质量控制提供参考。

1 材料

HH-600 型三用恒温箱(金坛市神科仪器厂),CP114 型电子天平(美国 Ohaus 公司),QE-500 型高速中药粉碎机(武义县屹立工具有限公司),SHH-150L 型生化培养箱(重庆四达实验仪器有限公司)。

虎杖购自湖南三湘大市场,由本校周日宝教授鉴定为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎和根,标本保存于湖南中医药大学药学技能中心实验室;氨水缓冲液(称氯化铵 2 g 溶于 20% 氨水 10 mL 中,加水稀释至 100 mL)、铬黑 T 指示液(取铬黑 T 0.1 g 溶于氨水缓冲液 2 mL 中,加乙醇至 20 mL^[2])、EDTA 标准溶液、醋酸锌标准溶液(天津市光复精细化工研究所),水为蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取液的制备^[3] 在预试验基础上,精密称取虎杖 20 g,置于 1 L 圆底烧瓶中,加入定量的一定体积分数丙酮溶液,于 45 °C 超声提取数次,每次 30 min,合并提取液并置于旋转蒸发器中,于 45 °C 减压回收至无丙酮味,得浓缩液 200 mL,加入乙醇 600 mL,静置,待沉淀完全后,抽滤,得滤液,于 55 °C 减压回收至无醇味,即得。

2.2 总鞣质的含量测定^[4] 取提取液 20 mL 于 (37 ± 1) °C 水浴温热 15 min。精密量取 1 mol · L⁻¹ 乙酸锌溶液 10 mL 置于 200 mL 量瓶中,加浓氨水摇匀至白色沉淀溶解,将已温热的提取液转入含锌量瓶中,置 37 °C 水浴中并不断振摇,继续温热 30 min,冷却至室温,加水定容至 200 mL,过滤,取续滤液 10 mL,加入铬黑 T 指示剂 4 滴,以 0.05 mol · L⁻¹ EDTA 标准液滴定,溶液由紫红色变为蓝色即为终点,计算总鞣质含量。

$$\text{总鞣质} = 0.1556 \times (V_{Zn} C_{Zn} - 20 \times V_{EDTA} C_{EDTA}) \times 100\% / W$$

式中 0.1556 为络合量法参量因素的平均值^[5], V_{Zn} 为量取的乙酸锌溶液体积, C_{Zn} 为乙酸锌溶液的摩尔浓度, V_{EDTA} 为滴定消耗的 EDTA 滴定液体积, C_{EDTA} 为 EDTA 滴定液的摩尔浓度, W 为样品质量(20 g)。

2.3 提取温度考察 总鞣质的提取受溶剂浓度和用量、提取次数、温度等因素交互影响。为试验控制方便,选取温度作为单因素试验考察,结果发现超声温度 45 °C,回收丙酮温度 45 °C,回收乙醇温度 55 °C 时虎杖总鞣质的提取率较高。

2.4 正交试验考察 确定选取丙酮作为提取溶剂,以料液比、丙酮体积分数、提取次数为考察因素,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验^[6],以总鞣质提取量为评价指标,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 虎杖总鞣质提取工艺正交试验因素水平

水平	A 料液比	B 丙酮体积分数/%	C 提取次数/次
1	1:5	30	1
2	1:10	50	2
3	1:15	70	3

表 2 虎杖总鞣质提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D(空白)	总鞣质/mg · g ⁻¹
1	1	1	1	1	82.0
2	1	2	2	2	77.0
3	1	3	3	3	93.4
4	2	1	2	3	78.8
5	2	2	3	1	94.2
6	2	3	1	2	67.4
7	3	1	3	2	91.8
8	3	2	1	3	81.2
9	3	3	2	1	61.2
K_1	25.24	25.26	23.06	23.82	
K_2	24.04	25.24	21.78	23.62	
K_3	23.50	22.28	27.94	25.34	
R	0.58	0.99	2.05	0.57	

表 3 总鞣质提取量方差分析

方差来源	SS	MS	F	P
A	0.529	0.264	0.900	>0.05
B	1.960	0.980	3.320	>0.05
C	7.040	3.520	11.930	>0.05
D(误差)	0.590	0.295		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

由直观分析可知,各因素对虎杖中总鞣质提取

工艺的影响顺序为 $C > B > A$ 。方差分析表明各因素对提取工艺的影响均无显著性差异,确定最佳提取组合 $A_1B_1C_3$,即丙酮体积分数 30%,料液比 1:5,提取数 3 次。按优选的提取条件进行 3 次验证试验,结果总鞣质平均提取量 $102.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.25%,说明优选的提取工艺稳定可行。

2.5 虎杖总鞣质吸湿性的测定

2.5.1 饱和溶液配制 按室温下溶解度称取乙酸钾、氯化镁、碳酸钾、乙酸钾、溴化钠、氯化钠、氯化钾、硝酸钾适量,分别配成饱和溶液,分别置于玻璃干燥器中形成相对湿度为 22.45%, 33.00%, 42.76%, 47.05%, 57.70%, 75.28%, 84.26%, 94.48%,放入 25 °C 恒温培养箱内恒温 24 h,形成恒温恒湿的密闭环境。

2.5.2 吸湿性测定^[7] 将提取的总鞣质粉末置于 45 °C 烘箱 24 h,转至有变色硅胶的干燥器中,放置 24 h 备用。取干燥至恒重的虎杖总鞣质粉末适量,置底部盛有氯化钠过饱和溶液的玻璃干燥器中,放入 25 °C 恒温培养箱内恒温 24 h,此时干燥器内相对湿度 75%。在已恒重的称量瓶底部放入厚约 2 mm 的总鞣质粉末(约 0.33 g),准确称重后置于上述玻璃干燥器内(称量瓶盖打开)于 25 °C 保存,定时称量,计算吸湿率,绘制吸湿曲线,见图 1,结果表明虎杖总鞣质 24 h 后基本达吸湿平衡。

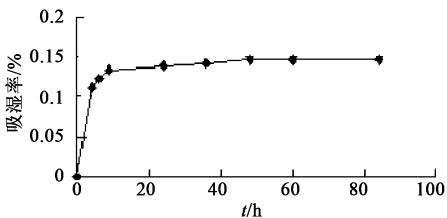


图 1 虎杖总鞣质在 NaCl 饱和溶液中吸湿率线($n=2$)

2.5.3 临界相对湿度(CRH)的测定 将干燥至恒重的待测粉末放入已干燥至恒重的扁称瓶内,厚约 1~2 mm,共 8 份,称定质量,分别置于盛有 2.5.1 项下 8 种不同盐过饱和溶液的干燥器中,于恒温培养箱中 25 °C 保存 7 d,定时计量,计算吸湿率,以吸湿率为纵坐标,相对湿度(RH)为横坐标作图,曲线两端切线的交点对应的横坐标即为 CRH^[8],结果表

明虎杖总鞣质干粉的 CRH 50%,说明该成分的吸湿性较强。

3 讨论

总鞣质的含量测定方法较多,包括皮粉吸附法、高锰酸钾法、比色法等,这些方法各有优缺点,本文采用络合滴定法测定总鞣质含量,因为鞣质分子中多个邻位羟基可作为多基配体与一个中心离子络合,形成环状螯合物,在不同 pH 下产生沉淀的性质,通过用 EDTA 返滴定过量金属离子来确定总鞣质含量。该方法准确度和精密密度均高,而且滴定终点较清晰明显。

鞣质类成分为强还原剂,在空气中易被氧化,为保证含量测定结果的准确,必须使总鞣质提取、样品溶液制备及含量测定连续进行,不允许提取液在试验中途中过夜或放置过长时间。吸湿性试验的总鞣质粉末必须绝对干燥,以免影响试验结果,低温恒温干燥后可采用硅胶或五氧化二磷保持,提取总鞣质时要严格控制温度以避免鞣质类成分分解。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:194.
- [2] 栗世婷,何琳,周武杰. 不同提取条件下对诃子中鞣质含量的影响[J]. 包头医学,2008,32(1):26.
- [3] 雷志丹,夏新华,雷志钧,等. 以五倍子为原料摸索提取“乙肝宁”中鞣质提取方案[J]. 中国当代医药,2012,19(15):10.
- [4] 江发寿,赵继红,但建明,等. 沙枣鞣质的含量测定[J]. 基层中药杂志,2002,16(2):25.
- [5] 张宏方,马振亚,胥冰. 珠芽蓼中鞣质的含量测定[J]. 陕西中医学院学报,2000,23(3):32.
- [6] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京:中国农业出版社,2000:9.
- [7] 彭淑娟,王亚静,田慧,等. 番泻叶提取物的吸湿性及辅料对其影响的研究[J]. 中国药房,2012,23(3):225.
- [8] 杜若飞,冯怡,刘怡,等. 中药提取物吸湿特性的数据分析与表征[J]. 中成药,2008,30(12):1767.

[责任编辑 刘德文]