

微波辅助半仿生法提取藤茶的工艺优选

倪峰, 黄仁杰*

(福建卫生职业技术学院, 福州 350101)

[摘要] 目的: 优选中药藤茶的微波辅助半仿生法提取工艺。方法: 以蛇葡萄素为评价指标, HPLC 测定指标成分含量, 采用均匀设计法优选藤茶提取工艺参数。结果: 最佳提取工艺为 3 次提取用水 pH 分别为 6.0, 7.5, 9.0, 微波处理时间依次为 3, 1.5, 1.5 min。结论: 微波辅助半仿生提取法可有效、快捷地提取藤茶中有效成分。

[关键词] 半仿生提取; 微波辅助; 藤茶; 蛇葡萄素; 均匀设计

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0027-03

Optimization of Extraction Technology for *Ampelopsis grossedentata* by Microwave-assisted Semi-bionic Method

NI Feng, HUANG Ren-jie*

(Fujian Health College, Fuzhou 350101, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize microwave-assisted semi-bionic extraction technology of *Ampelopsis grossedentata*. **Method:** With ampelopsin as index which was determined by HPLC, extraction technology parameters was optimized by uniform design. **Result:** Optimum extraction technology were: pH values of water in three times for extracting were 6.0, 7.5, 9.0, microwave processing time of 3, 1.5, 1.5 min, respectively. **Conclusion:** Microwave-assisted semi-bionic extraction technology could effectively and quickly extract effective components from *A. grossedentata*.

[Key words] semi-bionic extraction; microwave-assisted; *Ampelopsis grossedentata*; ampelopsin; uniform design

藤茶又名甜茶藤、藤婆茶、莓茶, 味甘、性凉, 具有清热解暑、祛风湿、强筋骨之功效。其最主要活性成分为蛇葡萄素(又名二氢杨梅素), 属二氢黄酮醇类化合物, 具有广泛的药理活性, 极具开发潜力^[1]。近年来报道了很多藤茶提取技术, 如逆流法^[2]、微波辅助法^[3]、乙醇辅助法^[4]、超声波辅助溶剂法^[5]等。这极大地促进了藤茶的研究利用, 但普遍存在费时、耗能、有机溶剂污染等缺点。

半仿生提取法(SBE)是将整体药物研究法与分

子药物研究法相结合, 从生物药剂学角度模拟口服给药及药物经胃肠道转运的原理, 为经消化道给药的中药制剂设计的一种新的提取工艺^[6]。本研究将微波辐射替代传统的煎煮加热方式, 达到均匀加热、破坏细胞结构和缩短加热时间的同时, 以提取液中蛇葡萄素含量为考察指标, 通过均匀设计法优选半仿生提取工艺, 以建立一种高效、环保, 可有效避免因长时间的加热处理而引起有效成分破坏的新方法。

1 材料

LC-2010A 型高效液相色谱仪(日本岛津, LC-solution 色谱工作站), EL204-2C 型电子分析天平(瑞士梅特勒公司), VIP272 型微波萃取器(上海惠而浦家用电器有限公司), 蛇葡萄素对照品(纯度 > 98%, 张家界生力生物有限公司, 批号 060629), 藤茶购于福建泰宁县开善食用菌公司, 经我院中药教

[收稿日期] 20120515(015)

[基金项目] 福建省教育厅科技项目(JB09259); 福建省科技厅重点项目(2011Y0015)

[第一作者] 倪峰, 博士, 研究员, 从事中药活性成分研究, Tel: 0591-22869895, E-mail: nf5910@163.com

[通讯作者] * 黄仁杰, 硕士, 副教授, 从事新药开发, Tel: 0591-22869860, E-mail: hrj3@163.com

研究室魏捷副教授鉴定为葡萄科植物显齿蛇葡萄 *Ampelopsis grossedentata* (Hand. -Mazz.) W. T. Wang 的干燥茎叶。甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 均匀试验设计 根据 SBE 法理论,在药材粒度、提取用水倍数、微波功率、滤过等条件不变的前提下,以提取液中蛇葡萄素含量为考察指标,选用 $U_9(9^1 \times 3^3)$ 均匀设计拟水平表安排试验^[7-8],见表 1。

表 1 藤茶微波辅助半仿生法提取工艺优选 $U_9(9^1 \times 3^3)$ 均匀试验因素水平

No.	A 第 1 煎水 pH	B 第 2 煎水 pH	C 第 3 煎水 pH	D 总时间 /min
1	2.0	7.0	8.0	6
2	4.0	6.5	9.0	2
3	2.5	6.5	9.0	4
4	3.0	7.5	8.5	2
5	5.5	7.0	8.5	2
6	3.5	7.0	8.0	6
7	4.5	7.5	9.0	4
8	5.0	7.5	8.0	4
9	6.0	6.5	8.5	6

注:3 次微波处理时间分配比为 2:1:1。

2.2 溶液配制

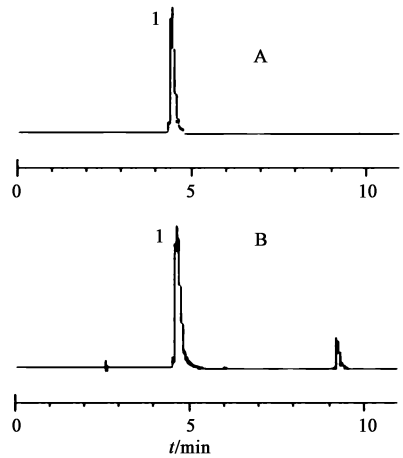
2.2.1 对照品溶液 精密称取蛇葡萄素对照品适量,加甲醇溶解,定容摇匀,制得 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液,备用。

2.2.2 提取液的制备 称取藤茶药材粉末 9 份(40 目),每份 10 g,按均匀设计表安排,分别经微波辐射处理 3 次(3 次加水量依次为药材量 10,8,8 倍,水 pH 按表 1 且均预先煮沸),用 4 层纱布加 100 目筛网趁热过滤,以转速 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,合并上清液,加乙醇定容至 300 mL,摇匀备用。

2.3 蛇葡萄素含量测定

2.3.1 色谱条件 Hypersil ODS2 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), LC-10VP 紫外检测器,流动相甲醇-水-磷酸(65:35:0.2),流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 292 nm,进样量 20 μL,柱温 25 °C。此条件下,蛇葡萄素与其他组分达到基线分离,对测定无干扰。见图 1。

2.3.2 线性关系的考察 取蛇葡萄素对照品溶液适量,以甲醇稀释成 4.0,8.0,12.0,16.0,24.0,32.0



A. 对照品; B. 样品; 1. 蛇葡萄素

图 1 藤茶提取液 HPLC

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 系列质量浓度溶液,经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,分别进样 20 μL,记录峰面积。以蛇葡萄素质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 1.82 \times 10^7 C + 2.27 \times 10^2$ ($r = 0.9995$),蛇葡萄素质量浓度在 $4.0 \sim 32.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.3.3 精密度试验 量取同一蛇葡萄素对照品溶液,连续进样 5 次,测定各峰面积,结果 RSD 0.34%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取同一批号藤茶样品 6 份,按 2.2.2 项下方法操作,依法进样,记录峰面积,计算 RSD 2.21%,表明样品的制备与检测方法稳定,重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0,1,2,4,8,12 h 依法进样,测定峰面积,计算 RSD 1.56%,表明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.6 加样回收率试验 精密量取已知含量的藤茶供试品溶液 6 份,分别加入蛇葡萄素对照品溶液 2.0 mL,依法测定,结果见表 2,说明该检测方法的准确度较好。

表 2 蛇葡萄素加样回收率试验

No.	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.199	0.1931	97.02	98.13	2.33
2	0.199	0.1916	96.28		
3	0.199	0.2020	101.53		
4	0.199	0.1932	97.11		
5	0.199	0.2000	100.54		
6	0.199	0.1917	96.31		

2.3.7 样品含量测定 精密吸取供试品溶液 1.0

mL,置 10 mL 量瓶中,甲醇稀释定容,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,分别进样 20 μL ,记录峰面积,计算含量,结果均匀设计安排的 9 个提取液样品中蛇葡萄素质量浓度分别为 4.37, 3.55, 4.14, 3.31, 3.73, 4.72, 4.45, 4.61, 5.16 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($n=3$)。

2.4 均匀设计分析 将均匀设计试验数据用 SPSS 11.5 for window 统计软件进行多元线性回归,采用 Enter 法拟合得回归方程 $Y = -0.579 + 0.186A + 0.140B + 0.198C + 0.351D$,复相关系数 0.981,决定系数 $R^2 = 0.963$,经方差分析 $P = <0.01$,回归方程有效。通过对回归方程分析,可知各因素对结果的影响顺序为 $D > C > A > B$,且各因素水平与指标值呈正相关,即在所考察水平范围内,各因素水平值越大,提取液中蛇葡萄素的含量越高。故确定藤茶的半仿生提取法最佳工艺条件为 3 次提取用水 pH 依次为 6.0, 7.5, 9.0,微波处理时间依次为 3, 1.5, 1.5 min。理论预测值 5.475 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.5 验证试验 分别称取藤茶药材粉末(40 目)50 g 共 3 份,按照优化所得工艺条件,制备 3 批样品,分别测定提取液中蛇葡萄素的含量。结果,提取液中蛇葡萄素的平均质量浓度为 5.12 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,RSD 3.42%,接近预测值,说明优选条件合理、可行。

3 讨论

半仿生提取法是模拟药物经胃肠道的转运过程,药物应依次经过酸性、碱性溶液的处理。研究中发现蛇葡萄素在偏碱性溶液中受热易变色,为尽量缩短在提取过程中药物的受热过程,减少不稳定现象的发生,采用具有加热快速、均匀且能有效破坏细胞结构的微波处理代替长时间煎煮,既能保证藤茶的提出率,减少耗能,又不破坏有效成分。

本试验研究对象为单味药材,蛇葡萄素为其最主要活性成分,且含量占药材干重达 20% ~ 28%,

此外还有极少量的杨梅黄素、豆甾醇、 β -谷甾醇等^[9]。因此,浸膏量大小不能直接反映提取效率的高低,故选取蛇葡萄素含量为唯一评价指标。

提取工艺筛选结果显示,微波处理时间对藤茶的提取效率有很大的影响,为确证半仿生提取法对藤茶提取效果的影响,研究中曾设计将 3 次提取溶剂均改为未经调 pH 的纯化水,同样以微波处理相同时间,结果发现纯化水为溶剂的提取量仅为半仿生提取法 40% 左右,说明半仿生提取法的酸碱连续提取能有效提高藤茶提取物中活性成分的含量。

[参考文献]

- [1] 董倩倩,陈立峰. 二氢杨梅素药理研究进展[J]. 中兽药,2005,3(5):295.
- [2] 李卫,宁正祥. 逆流法提取二氢杨梅素研究[J]. 食品科学,2004,25(11):192.
- [3] 杨玲,郑成,韦藤幼. 从藤茶中提取二氢杨梅素的微波萃取工艺研究[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(5):636.
- [4] 郑成,林玺凡,兰国勇,等. 乙醇辅助法提取藤茶中的二氢杨梅素的研究[J]. 广东化工,2006,33(10):5.
- [5] 姚茂君,黄继红. 二氢杨梅素的超声波辅助溶剂提取工艺[J]. 食品与生物技术学报,2007,26(3):20.
- [6] 张兆旺,孙秀梅. 关于中药药剂现代化的思考[J]. 中成药,2001,23(11):843.
- [7] 蔡梅超,徐男,张超,等. 半夏白术天麻汤方药用半仿生提取法工艺条件优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):21.
- [8] 程小平,吴国泰,徐强松,等. 当归四逆汤半仿生提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):58.
- [9] 黄仁杰,叶雅沁,鄢雪梨,等. 比值-导数荧光法测定藤茶中的蛇葡萄素[J]. 分析实验室,2009,28(1):110.

[责任编辑 仝燕]