

# 广西苦丁茶嫩叶和老叶中熊果酸含量的比较

路 玫\*, 蒙大平, 荣延平

(广西壮族自治区人民医院药剂科, 广西 南宁 530021)

**[摘要]** 目的: 比较广西苦丁茶嫩叶与老叶中熊果酸含量的差异。方法: 用 80% 的乙醇溶液提取苦丁茶的嫩叶与老叶, 以 HPLC 法测定提取液中熊果酸的含量。结果: 苦丁茶老叶中熊果酸的平均含量为 1.211%, RSD= 2.45% ( $n=5$ ); 嫩叶中熊果酸的平均含量为 0.5735%, RSD= 2.43% ( $n=5$ )。结论: 广西苦丁茶老叶可利用价值较高。

**[关键词]** 苦丁茶; 熊果酸; HPLC; 含量比较

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)10-0014-02

广西苦丁茶为冬青属植物, 含有黄酮类化合物、熊果酸及多种皂苷。为了对广西苦丁茶老叶进行废物开发利用, 本试验考察了广西苦丁茶嫩叶及老叶中熊果酸的含量差异。

## 1 样品来源

苦丁茶老叶及嫩叶均于 2004 年 3~4 月采摘于广西天等县茶场, 经广西壮族自治区食品药品检验所黄捷副主任中药师鉴定为冬青科植物苦丁茶冬青 (*Ilex kudingcha* C. J. Tseng) 的叶。将采摘的苦丁茶叶分别用自来水洗净, 风干, 于 80℃ 恒温干燥 2h 备用。

## 2 仪器与试剂

Waters 液相色谱仪 (Waters600 泵, 7725i 六通阀, 996 二极管阵列检测器, Millennium32 数据处理系统); METTLER AE240 型电子天平 (瑞士)。

熊果酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 742-200111), 乙醇 (分析纯); 磷酸 (分析纯), 水为重蒸水。

## 3 方法与结果

**3.1 色谱条件** Novar-Pak C<sub>18</sub> 柱 (3.9 × 150 mm, 4.0 μm); 流动相为甲醇: 水: 磷酸 (85: 15: 0.1); 检测波长: 220 nm; 流速: 0.8 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温: 30℃。在此色谱条件下, 熊果酸的保留时间约为 13 min。

## 3.2 溶液的制备

**3.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取熊果酸对照品 8.34 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 得浓度为 0.834 mg · mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**3.2.2 供试品溶液的制备**<sup>[1]</sup> 将苦丁茶嫩叶和老叶分别剪碎后, 称取约 12.5 g 苦丁茶叶, 加入浓度为 80% 的乙醇溶液 200 mL, 于水浴回流提取两次, 每次 2.5 h。合并提取液, 滤过, 滤液于水浴挥干, 残渣以甲醇溶解并定容至 250 mL, 即得供试品溶液。

**3.3 色谱行为** 分别取熊果酸对照品溶液及供试品溶液, 在上述色谱条件下各进样 10 μL, 结果, 供试品溶液与对照品溶液在相同的保留时间有相似的色谱峰, 而且熊果酸与其他成分能够较好地分离, 结果见图 1。

**3.4 线性关系的考察** 分别精密吸取 3.2.1 项下对照品溶液 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0 mL 置于 10 mL 量瓶中, 以甲醇定容至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件, 分别进样 20 μL, 以熊果酸的进样量 ( $X$ ) 为横座标, 峰面积 ( $Y$ ) 为纵座标绘制标准曲线, 结果回归方程为:  $Y = 2.20 \times 10^5 X - 7.59 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ), 表明熊果酸的进样量在 (0.334~6.672) μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

**3.5 精密度试验** 精密吸取熊果酸对照品溶液 (浓度为 0.1668 mg · mL<sup>-1</sup>) 20 μL, 在上述色谱条件下重复进样 5 次, 测定峰面积, 结果其峰面积的 RSD = 1.34% ( $n=5$ ), 表明精密度良好。

**3.6 稳定性试验** 精密吸取新配制的同一供试品溶液 20 μL, 每隔 1 h 进样测定 1 次, 连续测定 5 次, 结果测定结果的 RSD = 1.82% ( $n=5$ ), 说明在 5 h 内, 供试品溶液的稳定性良好。

**[收稿日期]** 2008-02-02

**[基金项目]** 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科攻 0330001-1C)

**[通讯作者]** \* 路玫, Tel: (0771) 2186165

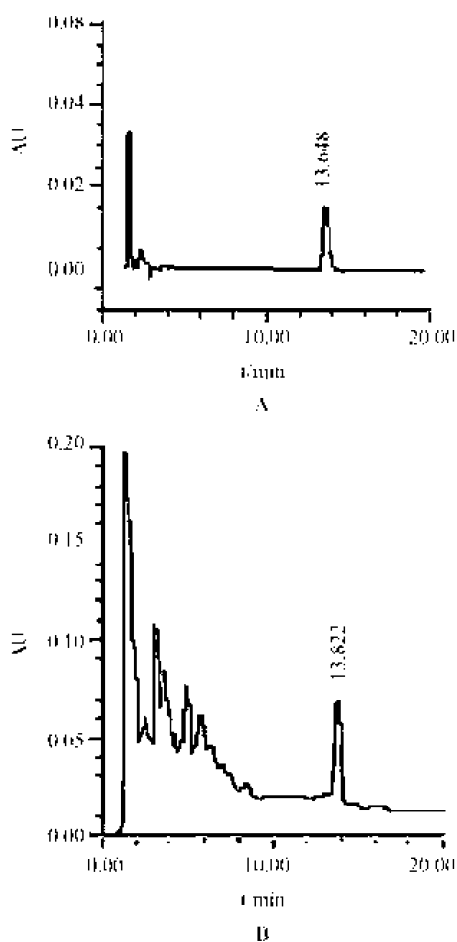


图 1 高效液相色谱图

A 熊果酸对照品; B 苦丁茶样品

**3.7 重复性试验** 取同一批样品(批号: 040417) 5 份, 每份约 12.5g, 按 3.2.2 项下操作, 将供试品溶液依样品含量测定项下测定, 结果测得样品中熊果酸的平均含量为 0.578%, RSD= 1.28% (n= 5), 表明本方法的重复性良好。

**3.8 加样回收率试验** 取已测知含量的苦丁茶嫩叶样品(批号 040417) 5 份, 每份约 0.5 g, 分别精密加入 0.834 mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液 3.0 mL, 依 3.1 项下操作, 将所得的提取液以 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 弃去初滤液, 取续滤液在上述色谱条件下进样 20 μL, 按样品含量测定方法测定, 计算平均回收率, 结果见表 1。熊果酸的平均回收率为 98.84%, RSD= 2.79%。

**3.9 样品的含量测定** 将适量的苦丁茶提取液以 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 弃去初滤液, 取续滤液为供试品溶液。精密吸取熊果酸对照品溶液及苦丁茶嫩叶和老叶的供试品溶液各 10 μL, 按上述色谱条件, 每个样品进样 3 次, 取平均值计算熊果酸的含量。结果见表 2。

表 1 回收率试验结果(n= 6)

Tab 1 Results of recovery rate of Ursolic Acid(n= 6)

样品称量 量(g)	原有量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.476	2.751	2.502	5.207	98.16		
0.499	2.884	2.502	5.286	96.00		
0.504	2.913	2.502	5.352	97.48	98.84	2.79
0.493	2.849	2.502	5.273	96.88		
0.497	2.873	2.502	5.420	101.80		
0.484	2.797	2.502	5.367	102.72		

表 2 广西苦丁茶中熊果酸的含量测定结果(%)

Tab 2 Results of content determination in leaves  
of Guangxi Kudingcha(n= 3)

	样品	含量(%)	平均含量(%)	RSD%
老叶	040317	1.189		
	040322	1.176		
	040406	1.248	1.211	2.45
	040415	1.210		
	040420	1.232		
	040417	0.578	0.574	2.43
嫩叶	040405	0.577		
	040408	0.562		
	040421	0.558		
	040426	0.593		

#### 4 讨论

本实验曾选择液固比、提取时间、提取次数、乙醇浓度为考察因素, 采用正交试验法优选苦丁茶叶中熊果酸的提取工艺, 结果, 最佳提取条件为: 液固比 16: 1, 乙醇浓度 80%, 水浴提取两次, 每次 2.5 h。因此本实验按上述条件提取供试品。

从测定结果可知, 广西苦丁茶老叶中熊果酸的平均含量为 1.211%, 嫩叶中熊果酸的平均含量为 0.574%。苦丁茶老叶的可利用价值较高, 因此, 如选用老叶作为从苦丁茶中提取熊果酸的原料, 产率将比嫩叶高, 且能更好地保护和利用资源。

#### [参考文献]

[1] 任秀莲, 钟世安, 魏琦峰, 等. 苦丁茶中熊果酸的提取工艺[J]. 南大学学报(自然科学版) 2004, 35(1): 70-74.