

均匀设计法优化黄芩水煎液的絮凝工艺研究

武 焯^{1,2}, 刘志萍³, 黎晓敏^{1*}, 丁 平², 苏 亮²

(1. 西南大学, 重庆 402460; 2. 重庆市动物疫病预防控制中心, 重庆 401147; 3. 西南大学植物保护学院, 重庆 400715)

黄芩是唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 为中医常用药。黄芩苷是其有效成分之一, 具有抗菌、抗氧化、抗过敏等多种功效^[1]。对黄芩苷提取方法报道很多, 有水提回流、超声、冷浸、索氏提取等^[2]。絮凝提取法因其使用简便、成本低, 有效成分损失少而越来越受到人们的重视。对黄芩苷提取方法的试验设计以正交试验设计居多^[3,4], 均匀设计目前只在水提醇沉法^[5]与醇提法^[6]上应用, 而在絮凝法上尚未见报道。本研究采用均匀设计法对黄芩水煎液的絮凝工艺进行了研究, 旨在促进絮凝工艺在中药制药行业的应用。

1 仪器与试剂

Ultrospec 4300 Pro 紫外分光光度仪(美国安玛西亚)。

黄芩药材由重庆市中药研究院提供, 经西南大学药学教研室罗音久副教授鉴定为唇形科植物黄芩 *S. baicalensis* Georgi 的干燥根; ZTC₁₊₁ I 型絮凝剂购于北京正天成澄清技术有限公司; 黄芩苷对照品(质量分数为 98.5%)购于安徽 DELTA 天然有机化合物信息中心; 甲醇(AR 级)。

2 方法与结果

2.1 黄芩苷测定方法的建立

2.1.1 测定波长选择: 取黄芩苷对照品配制成 14.940 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 在 200~500 nm 进行扫描, 结果黄芩苷在 277 nm 处有最大吸收值, 故选 277 nm 为测定波长。

2.1.2 标准曲线绘制: 取黄芩苷对照品适量, 用 50% 甲醇配制成质量浓度为 0.019 6、0.348 4、1.219 0、4.268 0、10.460 0、15.189 0、45.567 0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 在 277 nm 处测定吸光度值。以质量浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 计算得其回归方程 $Y = 0.004\ 63 + 0.059\ 99\ X$, $r = 0.999\ 96$ 。表明黄芩苷在 0.019 6~45.567 0 $\mu\text{g/mL}$ 与吸光度值呈良好的线性关系。

2.1.3 样品测定: 将絮凝后的水煎液用 50% 甲醇稀释 500 倍, 在 277 nm 处测定吸光度值, 以外标法计算黄芩苷在水煎液中的质量浓度。

2.2 均匀设计法优化絮凝工艺

2.2.1 絮凝剂溶液的制备: 将 ZTC₁₊₁ I 型絮凝剂的 A、B 组分用双蒸水分别配制成 1% 质量浓度的溶液 500 mL 备用。

2.2.2 因素与水平的选择: 经预试验, 选取絮凝剂质量浓度(X_1)、絮凝时间(X_2)、pH 值(X_3)、温度(X_4)作为考察因素, 因素与水平列于表 1。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素			
	$X_1/(\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	X_2/min	X_3	$X_4/^\circ\text{C}$
1	2	20	4	50
2	4	40	6	60
3	6	60	8	70
4	8	80	10	80
5	10	90		
6	11	100		
7	12	110		
8	14	120		

2.2.3 均匀设计: 取黄芩药材 100 g, 第 1 次加 10 倍水, 煎煮 1 h, 第 2、3 次加 8 倍水煎煮 40 min, 合并 3 次煎煮液, 滤过, 浓缩至含生药质量浓度为 0.125 g/mL, 平均分为 8 份, 按表 2 中的设计方案进行试验。将絮凝后的水煎液滤过, 备用。选择 $U_8(8^2 \times 4^2)$ 均匀设计表安排试验, 试验方案设计及结果列于表 2。

表 2 $U_8(8^2 \times 4^2)$ 均匀设计方案与结果Table 2 Scheme and results of $U_8(8^2 \times 4^2)$ unifrom design

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	黄芩苷/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
1	2	40	8	80	15.010
2	4	80	4	70	7.667
3	6	100	8	60	13.808
4	8	120	4	50	7.377
5	10	20	10	80	9.171
6	11	60	6	70	10.178
7	12	90	10	60	9.131
8	14	110	6	50	9.128

收稿日期: 2007-09-29

基金项目: 重庆市科委重点科学基金攻关课题 (8216)

作者简介: 武 焯(1978—), 男, 山西人, 兽医师, 硕士, 从事中药指纹图谱研究。E-mail: swaucq@126.com

* 通讯作者 黎晓敏 Tel: (023) 46751418 E-mail: lixiaomin662@sina.com

将表2数据代入均匀设计软件,在 $\alpha=0.05$ 水平下进行多元回归分析,得到回归方程: $Y=b(0)+b(1)X_1+b(2)X_2+b(3)X_3+b(4)X_4+b(5)X_1X_3$,其中 $b(0)=-26.9$, $b(1)=0.875$, $b(2)=0.0790$, $b(3)=1.37$, $b(4)=0.237$, $b(5)=0.125$ 。

方程回归显著性检验:标准差 $s=0.0313$, F 检验临界值 $F_{0.1}(5,2)=9.2926$, F 检验值 $F_t=1754.6$,复相关系数 $r=0.9999$,显著性:显著。

2.3 试验工艺优化及验证:将表2的数据代入计算机,按回归方程预测 Y 最大值及此时各因素的值。得到 $Y_{\max}=36.50\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时, $X_1=2.0\text{ g/mL}$, $X_2=120.0\text{ min}$, $X_3=10.0$, $X_4=80.0\text{ }^\circ\text{C}$ 。

在 $\alpha=0.05$ 时, Y 的变动区间^[7]估计为 $Y^*=Y_{\max}\pm 3\times s$,即 $Y^*=36.28\sim 36.73\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。在最高提取率所对应的试验条件下安排试验,进行优化验证,分别进行3次试验,结果所得提取液中黄芩苷的质量浓度分别为 36.31 、 36.48 、 $36.55\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。所得数据均落在 Y^* 值估计范围之内,说明优化回归方程是可信的。故最佳絮凝工艺为 $X_1=2.0\text{ g/mL}$, $X_2=120.0\text{ min}$, $X_3=10.0$, $X_4=80.0\text{ }^\circ\text{C}$ 。

2.4 絮凝效果检验^[8]

2.4.1 双缩脲试验(Biuret反应):取药液1 mL,加入10% NaOH溶液2滴,摇匀,滴入0.5%硫酸铜溶液,边加边摇匀,观察颜色变化。如呈红紫色,表明含有多肽或蛋白质。结果呈阴性。

2.4.2 氯化钠-白明胶反应:取药液1 mL,加入1%的氯化钠白明胶试剂1~2滴,如出现白色沉淀或浑浊表明含鞣质。结果呈阴性。

2.4.3 淀粉- I_2 反应:取药液1 mL,加入 I_2 溶液,如有蓝色或蓝紫色出现,表明含有淀粉。结果呈阴性。

2.4.4 多糖试验和 α -萘酚试验(Molish反应):取药液5 mL水浴蒸发到1 mL,加入95%乙醇2 mL,若出现沉淀,滤过,并用少量乙醇洗涤。将沉淀溶解在2 mL水中,取1 mL加入5% α -萘酚乙醇溶液2~3滴,摇匀,沿试管壁缓缓加入浓硫酸0.5 mL,如在药液与硫酸交界面处,很快地形成紫红色环,表明样品含有多糖。结果呈阳性。

3 讨论

在进行絮凝程序优化时,发现pH值最佳值是10.0。这是因为药液呈碱性时,黄芩中的多羟基黄酮

苷类在药液中充分溶解,有利于提高提取率。当 $\text{pH}>10$ 时,不利于絮凝剂发挥作用; $\text{pH}<10$ 时,不利于黄芩苷的溶出。从絮凝时间来看,时间过短,起不到絮凝作用,时间过长,又加长了生产周期;对絮凝温度进行考察,絮凝剂在药液中需要最适温度,在此温度下,絮凝剂能在药液中充分分散。温度过低使絮凝缺乏必须的水化条件;温度过高,分子运动加快,使得絮凝颗粒细小,不利于沉淀。从絮凝剂浓度上看,高浓度的絮凝剂对胶体杂质有保护作用,造成有效成分损失大;浓度过低时,起不到絮凝效果。

本研究中黄芩苷在最优絮凝工艺条件下的提取率分别为 36.31 、 36.48 、 $36.55\text{ }\mu\text{g/mL}$,平均为 $36.45\text{ }\mu\text{g/mL}$,平均收率29.16%,远高于水提醇沉法所得的最高收率15.9%^[3]。在对黄芩苷分子进行分析时,发现黄芩苷为一连有葡萄糖醛酸结构的黄酮衍生物,有一定的脂溶性。在传统醇沉工艺中,用70%乙醇洗涤,可能给黄芩苷造成了一定的损失。而作为高分子絮凝剂的ZTC₁₊₁I型絮凝剂通过吸附架桥作用,使体系中粒度较大的颗粒及具有斯托克沉降趋势的悬浮颗粒絮凝沉淀,形成大块絮团加快沉降和滤过速度,而保留绝大多数有效的高分子物质,提高了黄芩苷的收率。

从絮凝效果检验中可以看出,ZTC₁₊₁I型絮凝剂较好地保留了多糖,去除了蛋白质、鞣质、淀粉,表现出了明显的絮凝优势。秦雪梅等^[9]也报道絮凝法较传统醇沉法更好地保留了苷类、多糖等水溶性物质,保障了成品有效物质与稳定性。

参考文献

- [1] 张 曦,李 宏,侯茂君,等.黄芩及其有效成分的药理学研究进展[J].天津药学,2000,12(4):8-10.
- [2] 赵越平,雷其云,苏永芝.黄芩中黄芩苷不同提取方法的比较[J].第四军医大学学报,1996,17(6):475-476.
- [3] 李成文,闫东海,陈建玉.黄芩苷提取工艺研究[J].中成药,2003,25(8):666-669.
- [4] 王佩琪,王成明,卢静华.正交试验法优选超声提取黄芩苷的研究[J].中医药学刊,2004,22(11):2133-2134.
- [5] 李 展,高微微,林文卫,等.均匀设计法优化黄芩提取工艺[J].中草药,2001,32(7):606-607.
- [6] 王小平,毛友昌,钟瑞建.黄芩苷醇提工艺优选[J].江西中医学院学报,2003,15(4):49-50.
- [7] 陈章荣,徐开俊,吴洪元,等.壳聚糖对黄芩煎煮液的絮凝作用[J].中国药科大学学报,1999,30(3):227-230.
- [8] 廖正福,廖 森.均匀设计法提取枸杞棕红色素[J].精细化工,1997,14(2):55-57.
- [9] 秦雪梅,漆小梅,秦 霞,等.中药水提液絮凝澄清工艺的合理性考查[J].中国医院药学杂志,1999,19(12):721-723.

均匀设计法优化黄芩水煎液的絮凝工艺研究

作者: [武焯](#), [刘志萍](#), [黎晓敏](#), [丁平](#), [苏亮](#)

作者单位: [武焯\(西南大学, 重庆, 402460; 重庆市动物疫病预防控制中心, 重庆401147\)](#), [刘志萍\(西南大学植物保护学院, 重庆, 400715\)](#), [黎晓敏\(西南大学, 重庆, 402460\)](#), [丁平, 苏亮\(重庆市动物疫病预防控制中心, 重庆, 401147\)](#)

刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)

英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年, 卷(期): 2008, 39 (5)

参考文献(9条)

1. [张曦;李宏;侯茂君](#) [黄芩及其有效成分的药理学研究进展](#) 2000 (04)
2. [赵越平;雷其云;苏永芝](#) [黄芩中黄芩苷不同提取方法的比较](#) 1996 (06)
3. [李成文;闫东海;陈建玉](#) [黄芩苷提取工艺研究](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2003 (08)
4. [王佩琪;王成明;卢静华](#) [正交试验法优选超声提取黄芩苷的研究](#)[期刊论文]-[中医药学报](#) 2004 (11)
5. [李展;高微微;林文卫](#) [均匀设计法优化黄芩提取工艺](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2001 (07)
6. [王小平;毛友昌;钟瑞建](#) [黄芩苷醇提工艺优选](#)[期刊论文]-[江西中医学院学报](#) 2003 (04)
7. [陈章荣;徐开俊;吴洪元](#) [壳聚糖对黄芩煎煮液的絮凝作用](#)[期刊论文]-[中国药科大学学报](#) 1999 (03)
8. [廖正福;廖森](#) [均匀设计法提取枸杞棕红色素](#) 1997 (02)
9. [秦雪梅;漆小梅;秦霞](#) [中药水提液絮凝澄清工艺的合理性考查](#)[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 1999 (12)

本文读者也读过(10条)

1. [郝武常. 朱宇红](#) [高效液相色谱法测定利鼻片中黄芩苷的含量](#)[会议论文]-2004
2. [王栋. 赵远征. 隋丽华. 韩国柱](#) [反相高效液相色谱法测定痤疮颗粒中黄芩苷的含量](#)[期刊论文]-[辽宁中医药大学学报](#)2008, 10 (2)
3. [王如伟. 张国勇. 李颂华. 岩崎纯夫. 李水福](#) [康肤洗剂的抗菌实验研究](#)[期刊论文]-[中草药](#)2002, 33 (9)
4. [赵宝珍. 李仲兴. 王秀华. 岳云升. 陈晶波. 李继红](#) [五倍子等5种中药水煎剂对表皮葡萄球菌的抗菌活性观察](#)[期刊论文]-[中国感染控制杂志](#)2004, 3 (3)
5. [杨志强](#) [三种中药水煎剂的体外抗菌试验研究新进展](#)[期刊论文]-[中国中医药现代远程教育](#)2009, 7 (1)
6. [任玲玲. 张春枝. 陈吉平. 梁鑫淼. REN Ling-ling. ZHANG Chun-Zhi. CHEN Ji-ping. LIANG Xin-miao](#) [黄芩的抗菌活性及HPLC分析](#)[期刊论文]-[精细化工](#)2005, 22 (8)
7. [冯则怡](#) [黄芩外用治疗皮肤病](#)[期刊论文]-[新中医](#)2004, 36 (5)
8. [杨明. YANG Ming](#) [黄芩和黄柏对耐甲氧西林金葡萄球菌的疗效对比观察](#)[期刊论文]-[中国医药指南](#)2010, 08 (19)
9. [张建伟. 王中原. 范红伟. ZHANG Jian-wei. WANG Zhong-yuan. FAN Hong-wei](#) [中药水提液的絮凝和选择性絮凝](#)[期刊论文]-[中草药](#)2006, 37 (8)
10. [方涛. Tao FANG](#) [植物抗菌剂-黄芩甙的提取及其抗菌性研究](#)[期刊论文]-[染整技术](#)2008, 30 (1)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200805022.aspx