

正交试验优选金荞麦的提取工艺研究

王文彤, 张娜, 郑夺, 陶遵威

天津市医药科学研究所, 天津 300020

摘要: 目的 优选金荞麦中有效成分表儿茶素的提取工艺。方法 采用 HPLC 法测定表儿茶素, 以干膏得率和表儿茶素提取率为考察指标, 采用正交试验设计优选最佳提取工艺。结果 优选工艺为药材加 10 倍量 45%乙醇, 回流提取 3 次, 每次 1.5 h。结论 优选所得的工艺稳定可行, 可作为金荞麦的提取工艺。

关键词: 金荞麦; 表儿茶素; 提取工艺; 正交试验; HPLC

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)02-0303-02

Optimization of extracting technology for *Fagopyrum dibotrys* by orthogonal test

WANG Wen-tong, ZHANG Na, ZHENG Duo, TAO Zun-wei

Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China

Key words: *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara; epicatechin; extracting technology; orthogonal test; HPLC

金荞麦系蓼科植物金荞麦 *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara 的干燥根茎, 味微辛、涩、凉, 归肺经, 具有清热解毒、排脓去瘀之功效。现代药理研究表明金荞麦具有广泛的药理活性^[1], 其主要活性成分为表儿茶素、表儿茶素-3-没食子酸酯、原矢车菊素及原矢车菊素二没食子酸酯等^[2-3]。本实验考察了金荞麦的提取工艺, 以干膏得率和表儿茶素提取率为指标, 采用正交试验设计优选最佳提取工艺, 提高了金荞麦中活性成分表儿茶素的提取率。

1 仪器与材料

AE—240 型电子天平 (上海梅特勒公司), R—202 旋转蒸发器 (上海申胜生物技术有限公司), KQ—250B 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), PHS—25 pH 计 (上海虹益仪器仪表有限公司), 日本岛津 LC—10ATVP 高效液相色谱仪, SPD—10AVP 二极管阵列检测器, C—R3A 数据处理机。

金荞麦药材由温州药材公司提供, 由天津中医药大学窦志英教授鉴定为蓼科植物金荞麦 *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara 的干燥根茎, 经 HPLC 法^[4]测定其含表儿茶素 1.183 mg/g。乙醇 (化学纯)、甲醇 (色谱纯)、磷酸 (分析纯), 水为百事冰纯水, 表儿茶素对照品 (批号 110878-200102) 由中国药品生物制品检定所提供。

2 方法与结果

2.1 表儿茶素的 HPLC 法测定^[4]

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-磷酸水溶液 (pH 3.0) (17.5:82.5), 体积流量 0.7 mL/min; 检测波长 280 nm; 柱温 35 ℃; 进样体积 20 μL。理论塔板数以表儿茶素计不低于 5 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取表儿茶素对照品 10.07 mg, 加甲醇制成含表儿茶素 100.7 μg/mL 的溶液, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取金荞麦干膏 0.2 g, 加入甲醇少量, 超声 20 min 溶解后, 放冷, 滤过, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 取续滤液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.4 线性关系考察 精密称取表儿茶素对照品 10.07 mg, 加入甲醇使溶解并定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀即得。用 0.45 μm 微孔滤膜滤过后, 分别进样, 进样量依次为 10、20、30、40、50 μL, 每个质量浓度重复 3 次, 测定峰面积积分值。以表儿茶素质量浓度对峰面积平均值进行线性回归, 得回归方程 $Y=2 \times 10^7 X-21\,119$, ($r=0.999\,9$), 表明表儿茶素在 10.07~50.35 μg 与峰面积呈良好线性相关。

2.1.5 样品测定 分别精密吸取表儿茶素对照品和

收稿日期: 2011-08-02

作者简介: 王文彤 (1966—), 从事中草药提取、药物化学工作以及新药研发工作。Tel: (022)27236182 E-mail: wwt0331@sina.com

供试品溶液各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 按外标法计算, 即得。

2.2 液料比对金荞麦中表儿茶素提取率的影响

分别称取 5 份金荞麦各 50 g, 按料液比 1:6、1:8、1:10, 加入适量的提取溶剂 45%乙醇, 回流提取, 回收溶剂至少量, 移至蒸发皿中继续蒸发浓缩至膏状, 称量后真空干燥 12 h。取干膏 0.2 g, 加甲醇溶解, 超声 20 min 后定容到 10 mL 量瓶中, 在相同 HPLC 条件下测定。在提取时间和提取次数一定的条件下, 随着提取溶剂用量的增加, 金荞麦中表儿茶素的提取率也相应地提高, 因此选择料液比 1:10。

2.3 因素水平的选择

提取时间 (A)、提取次数 (B) 和提取溶剂乙醇体积分数 (C) 是决定提取率的重要因素。在单因

素筛选的基础上, 拟按 3 因素 3 水平试验, 见表 1。

2.4 正交试验设计

按照 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验, 取金荞麦根茎 50 g, 粉碎过 60 目筛, 置于 1 000 mL 圆底烧瓶中, 分别加入 10 倍量正交表中相应体积分数的乙醇, 与药材混合, 回流提取, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩成膏, 干燥, 即得样品, 用 HPLC 法分别对正交试验所得到的干膏中表儿茶素进行定量测定, 得到样品的干膏得率和表儿茶素提取率。结果见表 1。

表儿茶素提取率 = 干膏中表儿茶素的质量 / 金荞麦饮片
中表儿茶素总质量

综合评分 = (干膏量 / 14.6 $\times$ 0.4 + 提取率 / 56.5 $\times$ 0.6) $\times$ 100

综合评分的直观分析结果为 $C > B > A$, 直观分析最佳工艺为 $C_1B_3A_3$, 即 45%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 1.5 h 为宜。

表 1 正交试验设计及结果
Table 1 Results of orthogonal test

试验号	因 素				干膏得率 / %	表儿茶素提取率 / %	综合评分
	A / h	B / 次	C / %	D (空白)			
1	0.5 (1)	1 (1)	45 (1)	1	7.0	40.2	52.28
2	0.5 (1)	2 (2)	70 (2)	2	11.0	45.9	63.81
3	0.5 (1)	3 (3)	95 (3)	3	3.4	43.8	51.17
4	1.0 (2)	1 (1)	70 (2)	3	9.6	44.7	60.62
5	1.0 (2)	2 (2)	95 (3)	1	3.2	43.7	50.79
6	1.0 (2)	3 (3)	45 (1)	2	29.2	56.5	100.00
7	1.5 (3)	1 (1)	95 (3)	2	2.8	43.2	49.71
8	1.5 (3)	2 (2)	45 (1)	3	25.8	53.6	92.26
9	1.5 (3)	3 (3)	70 (2)	1	19.2	43.1	72.07
K_1	167.26	162.61	244.54	175.14			
K_2	211.41	206.86	196.50	213.52			
K_3	214.04	223.24	151.67	204.05			
R	46.78	60.63	92.87	38.38			

2.5 验证试验

分别称取 3 份金荞麦各 50 g, 加入 10 倍量 45%乙醇, 回流 1.5 h, 提取 3 次, 旋转蒸发回收溶剂至少量, 移至蒸发皿中继续蒸发浓缩至膏状, 称质量后真空干燥 12 h。取浓膏 0.2 g, 加甲醇溶解, 超声 20 min 后定容至 10 mL 量瓶中, 在相同 HPLC 条件下测定。结果金荞麦中表儿茶素的提取率分别为 54.1%、54.5%、54.3%。

3 讨论

本实验为金荞麦有效成分的提取提供了最佳工

艺条件, 并且在提取溶剂上进行了改进, 结果表明, 本工艺稳定, 切实可行, 且所得有效成分的提取率提高。

参考文献

- [1] 盛华刚, 朱立俏, 林桂涛. 金荞麦的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2011, 26(2): 156-158.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [3] 刘永隆, 房其年. 金荞麦有效成分的研究 [J]. 药学学报, 1983, 18(7): 545-546.
- [4] 何美珊, 钱炳辉, 王兆龙, 等. HPLC 法测定金荞麦中表儿茶素含量 [J]. 中草药, 2005, 36(3): 441-442.