

· 技术交流 ·

荔枝果皮中根皮苷的提取工艺研究

张贺兴¹, 刘胜来²

(1. 山东明仁福瑞达制药有限公司, 山东 济南250104; 2. 大连天宇制药有限公司, 辽宁 大连 116410)

摘要: 目的 优选荔枝果皮中根皮苷的提取工艺。方法 以不同浓度乙醇作为提取溶剂, 分别使用浸提法、回流法、超声波法提取荔枝果皮中的根皮苷, 用高效液相色谱测定根皮苷含量。采用 $L_9(3^4)$ 正交表确定最佳提取工艺。结果 热回流法提取效果较好, 40%乙醇溶液10倍量回流提取10 min为优化提取方案。结论 优选确定的提取工艺可用于提取荔枝果皮的根皮苷。

关键词: 荔枝; 果皮; 根皮苷; 提取工艺

中图分类号: S667.1 文献标识码: A 文章编号: 1672-979X (2011) 09-0332-03

Study on Extraction Technology of Phlorizin in Litchi Pericarp

ZHANG He-xing¹, LIU Sheng-lai²

(1. Shandong C.P. Freda Pharm Co., Ltd., Jinan 250104, China; 2. Dalian Tianyu pharmaceutical Co., Ltd., Dalian 116410, China)

Abstract: Objective To optimize the extraction technology of phlorizin in litchi pericarp. **Methods** With different concentrations of ethanol as solvents, the phlorizin in litchi pericarp was obtained by extraction method, heat reflux extraction method, ultrasonic extraction method, respectively, and was determined by HPLC. The optimal extraction technology was attained by $L_9(3^4)$ orthogonal test. **Results** The extraction yield was higher for heat reflux extraction method, and the optimal extraction technology was that 40% ethanol solution refluxing for 10min. **Conclusion** The optimal extraction technology can be used for the extraction of phlorizin in litchi pericarp.

Key Words: litchi; pericarp; phlorizin; extraction technology

根皮苷具有调节血压和血糖、保护心脏及清除体内自由基等作用, 属于黄酮类中的二氢查耳酮, 因主要存在于苹果、梨、荔枝等植物的根茎和根皮中而得名。根皮苷是新近研究开发的一种天然皮肤美白剂, 用其制成的化妆品因具有美白功效而深受欢迎, 在国际上日益受到重视^[1-5]。文献报道, 根皮苷在植物中多以根皮苷的形式存在^[6-9]。本文通过3种不同方法提

取荔枝果皮中的根皮苷, 比较了提取效率, 选择不同条件进行正交试验, 优化了荔枝果皮中根皮苷的提取工艺, 以期为更好地开发和利用荔枝果皮提供技术支持。

1 仪器与材料

1.1 仪器

2695系列高效液相色谱仪 (Waters)。

收稿日期: 2011-04-19

作者简介: 张贺兴 (1963-), 男, 山东济南人, 工程师, 从事天然药物研究 E-mail: kewwww@163.com

参考文献

- [1] 敬培胜, 赵先柱, 黄国琼, 等. 层次分析法在医药科技成果转化影响因素分析中的应用[J]. 重庆医学, 2008, 37 (24): 2859-2862.
- [2] 王海洋, 陈萌. 新型生物药企的春天[N]. 医药经济报, 20090528(A02).
- [3] 湖北省科技厅2007年度科技攻关计划项目“湖北省区域创新体系构建中科技中介机构发展与管理问题研究”课题组. 发达国

家科技中介机构的发展和管理[J]. 江汉论坛, 2009, (10): 140-143.

- [4] 国务院发展研究中心“技术创新服务体系发展政策与措施研究”课题组. 国外政府支持技术创新的几点经验[J]. 北方经济, 2006, (3): 22-24.
- [5] 贾玉花. 科技成果转化的中外比较分析[J]. 商场现代化, 2009, (569): 379-380.

1.2 药材

荔枝(购自蔬菜水果批发市场),根皮苷对照品(纯度>99%,批号:G34698,四川维克奇生物科技)。

1.3 试剂

无水乙醇为分析纯,甲醇为色谱纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Spherisorb CNRP(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水=40:60(v/v);检测波长:286 nm;进样量:20 μL。

2.2 标准曲线的制备

精密称取根皮苷对照品约2 mg,用流动相溶解并稀释至50 mL,分别精密量取0.5, 2, 5, 10, 20 mL至20 mL容量瓶中,用流动相定容,制得不同浓度(1.05, 4.2, 10.5, 21, 42 μg/mL)的标准溶液。通过HPLC测定,以根皮苷浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,制备标准曲线,得回归方程: $Y=5.13 \times 10^4 X - 2.47 \times 10^4$, $r=0.9998$,线性范围:1.05~42 μg/mL。

2.3 根皮苷提取方法的选择

取新鲜荔枝果皮(连衣)2 000 g 60 °C以下烘干,粉碎过10目筛。分别准确称取荔枝皮粉末10.0 g,共3份,按以下方法提取根皮苷,均用HPLC测定根皮苷含量。根皮苷色谱图见图1。

2.3.1 热回流提取法 加10倍量60%乙醇水溶液、回流提取30 min,真空抽滤提取液,水浴蒸干,用60%

乙醇溶解至2 mL。

2.3.2 超声波提取法 加10倍量60%乙醇水溶液,超声30 min,真空抽滤提取液,水浴蒸干,用60%乙醇溶解至2 mL。

2.3.3 恒温浸提法 加10倍量60%乙醇水溶液,恒温30 °C,温浸30 min,真空抽滤提取液,水浴蒸干,用60%乙醇溶解至2 mL。

3种方法提取的根皮苷含量分别为 0.88×10^{-5} , 0.67×10^{-5} , 0.61×10^{-5} g/g,乙醇热回流法的提取效率明显高于其他两种方法。所以,确定单因素提取方法为乙醇加热回流法。

2.4 回流法提取根皮苷实验

以提取时间30 min,乙醇溶液10倍为固定条件,乙醇浓度分别为0%, 20%, 40%, 60%, 80%和100%时,根皮苷含量分别为 0.31×10^{-5} , 0.66×10^{-5} , 1.03×10^{-5} , 0.98×10^{-5} 和 0.86×10^{-5} g/g。结果表明,乙醇溶液浓度在40%左右最有利于根皮苷提取。

以40%乙醇溶液10倍量为固定条件,沸腾回流时间分别为5, 10, 20 min时,提取的根皮苷分别为 0.88×10^{-5} , 1.22×10^{-5} , 1.10×10^{-5} g/g。结果发现10 min后随提取时间的增长,根皮苷的提取效率下降。

2.5 回流法提取根皮苷的正交试验方案设计

准确量取荔枝果皮10 g,9份,分别置入圆底烧瓶,按表1、2选择的因素和水平试验,测定根皮苷含量。因素水平见表1。

表1 工艺因素水平表

水平	A 乙醇浓度 %	B 乙醇溶液用量/倍	C 提取时间/min
1	30	6	5
2	40	8	10
3	50	10	20

对表1结果进行统计学处理,见表2和表3。

表2正交试验结果表明,影响荔枝果皮中根皮苷提取效率的因素按影响大小依次为: B>A>C,即提取溶媒用量对根皮苷提取效率影响最大,其次为提取时间,再次为提取溶媒(乙醇)的浓度。试验结果,最佳提取工艺条件为A₂B₃C₂。

方差分析结果显示,提取溶媒用量对根皮苷提取率的影响有统计学意义($P<0.05$),而提取时间和提取溶媒浓度对统计结果无显著影响。所以,最佳提取

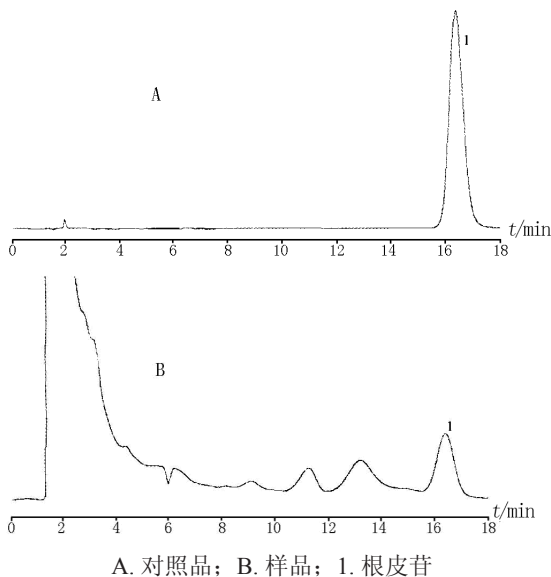


图1 根皮苷色谱图

表2 L₉ (3⁴) 正交试验方案与结果

试验号	A	B	C	根皮苷含量/ 10 ⁻⁵ g/g
1	1	1	1	0.877 8
2	1	2	2	1.047 3
3	1	3	3	1.102 3
4	2	1	2	1.075 3
5	2	2	3	1.093 5
6	2	3	1	1.203 3
7	3	1	3	0.763 0
8	3	2	1	0.954 5
9	3	3	2	1.197 3
K1	121.09	108.64	121.42	
K2	134.88	123.81	132.79	
K3	116.59	140.11	118.35	
R	18.29	31.47	14.44	

表3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值
A	0.037 8	3	0.012 6	126.143 1
B	0.103 2	3	0.034 4	344.023 1
C	0.024 1	3	0.008 0	80.373 9
误差	0.000 3	3	0.000 1	

注: $F(0.05)(3,3) = 9.28$

条件为40%乙醇溶液10倍量, 回流提取10 min。

2.6 结果验证

按2.5项优化筛选所得工艺条件重复3次试验, 分别称取荔枝果皮20, 40, 60 g, 置入圆底烧瓶, 分别加40%乙醇溶液10倍量, 加热沸腾, 回流提取10 min, 根皮苷含量分别为 1.216×10^{-5} , 1.219×10^{-5} , 1.218×10^{-5} g/g。结果表明, 上述提取工艺稳定可行。

3 讨论

通过试验, 在热回流法、超声波法和恒温浸提法3种方法中, 热回流法提取荔枝果皮中的根皮苷的效率最高。其工艺合理、成本低、操作简单, 为开发荔枝果皮的生产工艺, 特别是乙醇浓度的选择提供了试验基础。此外, 本实验发现, 根皮苷的提取时间越长, 提取效果越低, 在提取过程中根皮苷发生了何种变化使其提取效率降低有待进一步研究。

参考文献

- [1] 谢阳, 赖维. 荔枝果皮中根皮苷的提取, 纯化、鉴定以及根皮素的人体美白功效评价[D]. 中山大学, 2008.
- [2] 冯雪娇, 曹学丽, 李艳, 等. 根皮苷的应用及分离纯化研究进展[J]. 北京工商大学学报·自然科学版, 2008, 26(4): 1316.
- [3] 董华强, 宁正祥. 根皮苷与糖尿病防治[J]. 食品科技, 2006, 31(12): 192-195.
- [4] 李益明, 方京冲, 杨秀芳, 等. 血糖变化对糖尿病大鼠骨骼肌GLUT4表达的影响[J]. 中国糖尿病杂志, 2000, 8(3): 164-167.
- [5] 张宏岐, 汪望植, 邹坤, 等. 杨进湖北海棠提取物的体外抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2008, 33(11): 183-186.
- [6] 谢阳, 赖维, 万苗坚, 等. 荔枝果皮中的美白剂根皮苷的提取、纯化及鉴定[J]. 中国美容医学, 2008, 17(7): 1032-1034.
- [7] 刘丹, 於洪建, 王朋书. 从蔷薇科植物的皮根枝叶及榨汁废液中提取根皮苷的工艺: 中国, 200510016291.4[P]. 2005-10-19.
- [8] 刘和, 王瑞花, 张玉龙, 等. 苹果树体内根皮苷含量变化研究[C]// 雷建军. 园艺学进展(第五辑). 广州: 广州出版社, 2002, (5): 229-235.
- [9] 徐凯, 吕海涛. 正交试验优选苹果皮中根皮苷提取工艺[J]. 中南药学, 2009, 7(7): 497-499.

本刊采用“中华人民共和国法定计量单位”, 如: 物质的量浓度 c (M_r 或 A_r 已准确测得时)及其单位mol/L, mmol/L, μ mol/L等; 或质量浓度 ρ (混合物或 M_r 、 A_r 未准确测得时)及其单位g/L, mg/L, μ g/L等。组合单位符号中的斜线只限1条, 如mg/kg/d应改为mg/(kg·d)。单位与数值之间均空1/4字。参考文献所用计量单位, 在引用时可不修改。

文中表述尽量使用国际代号和缩写, 如: 3 d, 4 h, 5 min, 6 s, 100 IU (国际单位); r/min (转速), P (概率), n (样本数)等。国际代号不能用于无数字的文句中, 如每天不应写作每d。非公知缩写文中首次出现时应注明中(英)文名称。

只在必要时使用图和表。图应清晰。表采用“三线式”。图和表均应有序号和题名。图表中量和单位采用量/单位的形式, 如: λ/nm ; l/m ; t/d 。