

- 集的影响[J]. 中国药理学通报, 1995, 1(3):209-212.
- [2] 方淑贤, 郑恒, 刘东, 等. 穿心莲内酯对二磷酸腺苷诱导血小板聚集的拮抗作用[J]. 医药导报, 2004, 23(11):805-806.
- [3] 何伟, 李伟. 大孔树脂在中药成分分离中的应用[J]. 南京中医药大学学报, 2005, 21(2):134-136.
- [4] 张静泽, 陈虹, 白淑芳. 大孔吸附树脂在中草药活性成分研究中的应用[J]. 辽宁中医学院学报, 2004, 6(4):290-291.
- [收稿日期] 2006-06-05

正交试验法优选葛根素提取工艺

韩剑¹, 曹伟², 尹华¹, 颜宏生¹, 王常亮¹ (1. 山东省皮肤病性病防治研究所, 山东 济南 250022; 2. 济南泰格医药科技有限公司, 山东 济南 250100)

[摘要] 目的: 探讨葛根素的最佳提取工艺。方法: 采用正交试验, 以葛根素含量为考察指标, 对葛根药材的提取条件进行优选。结果: 影响因素为: 提取次数 > 加水量 > 提取时间。结论: 葛根的最佳提取工艺为: 提取两次, 每次加 10 倍量水, 提取时间分别为 1.5 h 和 1 h。

[关键词] 葛根; 提取工艺; 葛根素; 提取得率

[中图分类号] R928 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2007)03-0332-02

Study on extraction of puerarin from Radix Puerariae by orthogonal test

HAN Jian¹, CAO Wei², YIN Hua¹, YAN Hong-sheng¹, WANG Chang-liang¹ (1. Shandong Provincial Institute of Dermatology and Venereology, Shandong Ji 'nan 250022, China; 2. Ji 'nan Taige Medical Technology Development Co., Ltd. Shandong Ji 'nan 250100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To search the best way to extract puerarin from *Radix Puerariae*. **METHODS** Based on orthogonal test, according to the content of Puerarin, select out the best way to extract *Radix Puerariae*. **RESULTS** The importance of three factors were as follows: the number of extraction > the volume of water > the duration of extraction. **CONCLUSION** *Radix Puerariae* should be extracted by water twice and add ten times water in each time, 1.5 and 1 hour later respectively.

KEY WORDS: *Radix Puerariae*; extraction technique; puerarin; extraction rates

葛根具有解肌退热、生津、透疹、升阳止泻之功效^[1]。本试验采用正交试验, 以葛根素为考察指标, 探讨以水为溶媒^[2-3]的情况下煎煮条件对葛根素提取得率的影响。

1 材料

高效液相色谱仪(日本岛津), 葛根素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 752-200108) 五氧化二磷、乙醇均为分析纯; 甲醇为色谱纯; 水为二次纯化水。葛根(购自济南建联中药店)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Ultrasphere C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 保护柱: Ultrasphere C₁₈ (4.5 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (25:75); 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 250 nm; 柱温: 30 °C。

2.2 溶液的制备

2.2.1 样品溶液 取葛根饮片 9 份, 每份 20 g, 置 500 mL 烧瓶中, 按正交试验安排(见表 3) 进行加热

回流提取, 合并提取液, 滤过, 滤液减压浓缩, 加水定容至 250 mL (每 1 mL 含 0.08 g 葛根药材), 得到 9 组样品液。

2.2.2 供试品溶液 精密移取样品液 1 mL, 加 30% 乙醇定容至 100 mL, 滤过, 备用。

2.2.3 对照品溶液 精密称取葛根素对照品 11.0 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 用 30% 乙醇溶解并定容, 摇匀, 即得(每 1 mL 含葛根素 0.110 mg)。

2.3 测定法^[4] 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪中测定。

2.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 2, 5, 10, 25, 50 mL, 分别稀释至 50 mL, 即得质量浓度为 4.4, 11.0, 22.0, 55.0, 110.0 mg · L⁻¹ 的对照品溶液。分别精密吸取 10 μL 溶液注入色谱仪, 记录峰面积, 以质量浓度(C) 为 X 轴, 峰面积(A) 为 Y 轴进行线性回归, 得回归方程: $Y = 41.04 X - 0.045$, $r = 0.99999$, 可见葛根素在 2.2 ~ 110.0 mg · L⁻¹ 范围内线性关系良好。色谱图见图 1。

[作者简介] 韩剑, 男, 学士, 药师, 电话: 13455137156, E-mail: weida-1@sina.com.cn

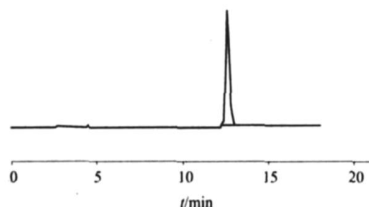


图 1 葛根素高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of puerarin

2.5 精密度试验 在上述色谱条件下,精密吸取葛根素对照品溶液(11.0 mg L⁻¹),重复进样 5 次,每次 10 μL,测定峰面积,结果 RSD 为 0.3 % (n=5)。

2.6 稳定性试验 在上述色谱条件下,精密吸取供试品溶液 10 μL,分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 进样,测定峰面积,结果 RSD 为 1.2 %,显示供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 回收率试验 在上述色谱条件下,精密称取已知含量的样品 9 份,精密加入葛根素对照品适量,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,测得峰面积并计算含量。结果显示,平均回收率为 100.4 %, RSD 为 1.7 % (n=9),见表 1。

表 1 回收率试验 (n=9)

Tab 1 Recovery of the method (n=9)

编号	样品中 含量/mg	加入对照 品量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	均值 /%	RSD /%
1	0.288	0.216	0.501	98.6		
2	0.301	0.216	0.515	99.1		
3	0.255	0.216	0.469	99.1		
4	0.291	0.270	0.567	102.2		
5	0.304	0.270	0.581	102.6	100.4	1.7
6	0.262	0.270	0.526	97.8		
7	0.337	0.324	0.667	101.8		
8	0.333	0.324	0.661	101.2		
9	0.290	0.324	0.617	100.9		

2.8 因素水平表 见表 2。

表 2 因素水平表

Tab 2 Level of orthogonal factor

水平	A 提取次数/次	B 加水量/倍	C 提取时间/h
1	1	6	1
2	2	8	1.5
3	3	10	2

2.9 试验方法与结果 根据因素水平表,选用选用 L₉ (3⁴) 表进行试验,见表 3。试验结果见表 4。

由表 3、表 4 的数据可知,提取次数对葛根素含量的提取影响最大,以直观分析得最佳提取工艺为 A₃B₃C₃。因提取两次和提取 3 次的数据相差较小,考虑到生产时能量节约及生产周期不宜过长,将提取次数定为 2 次;每次加 10 倍量水;提取时间对葛根素的提取几无影响,可任选一水平,采用第一次提 1.5 h,第二次提 1 h。

结合正交实验结果,比较提取两次和提取三次对葛根素提取量的影响,实验如下。

表 3 正交试验结果

Tab 3 Design and result of orthogonal experiment

序号	因素				指标 葛根素含量/g L ⁻¹
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.74
2	1	2	2	2	0.92
3	1	3	3	3	1.15
4	2	1	2	3	1.34
5	2	2	3	1	1.56
6	2	3	1	2	1.63
7	3	1	3	2	1.69
8	3	2	1	3	1.71
9	3	3	2	1	1.72
1	5.89	8.44	9.46	9.50	
1	10.48	9.70	9.27	9.57	
1	12.15	10.38	9.79	9.45	
R ₁	2.09	0.65	0.17	0.04	
2	2.81	3.77	4.08	4.02	
2	4.53	4.19	3.98	4.24	
2	5.12	4.50	4.40	4.20	
R ₂	0.77	0.24	0.14	0.07	

表 4 方差分析

Tab 4 Variation analysis

来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	0.960	2	0.480	106.67	高度显著
B	0.089	2	0.0445	9.89	有影响
C	0.032	2	0.016	3.56	
误差	0.009	2	0.0045		

注: F_{0.05}(2, 2) = 19.0, F_{0.01}(2, 2) = 99.0

取葛根 6 份,每份 20 g,分别按下表试验后,滤过,滤液减压浓缩,加水定容至 250 mL (每 1 mL 含 0.08 g 葛根药材),得到 6 组样品液。分别检测葛根素含量,结果见表 5。

表 5 验证试验及结果表

Tab 5 Confirming test and result

实验号	1	2	3	4	5	6
提取次数/次	3	3	3	2	2	2
提取时间/h	1.5, 1, 1	1.5, 1, 1	1.5, 1, 1	1.5, 1	1.5, 1	1.5, 1
加水量/倍	10, 10, 10	10, 10, 10	10, 10, 10	10, 10	10, 10	10, 10
葛根素含量/g L ⁻¹	1.69	1.73	1.66	1.62	1.58	1.64

3 讨论

实验结果表明,提取次数对葛根的葛根素提取有一定影响。提取三次的的数据稍高,但与提取两次相差不大。为了节省能源,减少加热对有效成分的破坏,将提取次数定为两次。正交试验结果表明,葛根的最佳提取工艺为提取两次,每次加 10 倍量水,提取时间分别为 1.5, 1 h。

参考文献:

[1] 廖洪波, 贺稚非, 王光慈, 等. 葛根的研究进展及展望[J]. 食品工业科技, 2003, 24(2): 81-83.
 [2] 张新广, 王冬梅. 葛根素提取工艺的研究[J]. 中药材, 2004, 27(9): 680-682.
 [3] 杨红, 杨红琳. 用薄层色谱法对水和乙醇作葛根成分提取溶剂的比较研究[J]. 华西药学杂志, 1994, 9(1): 35-38.
 [4] 中国药典. 一部[S]. 2005: 273.

[收稿日期] 2006-01-24