

黄芩苷的水提法工艺研究

郑必胜, 王能青, 赵欣

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

摘要: 本文采用单因素试验, 运用紫外分光光度法作为黄芩苷的分析方法, 对黄芩苷的水提工艺的影响因素进行了考察, 并在此基础上进行正交实验, 优化提取工艺参数。结果表明, 当破碎度为块状, 加水量为药材重量的 8 倍, 煎煮 3 次, 每次 1.5 h 时, 黄芩苷的提取效果最好, 提取率为 23.0491%。

关键词: 黄芩苷; 水提; 紫外分光光度法; 单因素; 正交实验

中图分类号: TS201.2; **文献标识码:** A; **文章篇号:** 1673-9078(2008)01-0048-04

Study of the Water Extraction of Baicalin

ZHENG Bi-sheng, WANG Neng-qing, ZHAO Xin

(College of Light Industry and Food Sciences; South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The effects of several influential factors on the water extraction of baicalin were investigated by single factor experiment using UV-spectrometry for the determination of baicalin content. The extraction conditions were further optimized by orthogonal design. Results showed that, when the materials were crushed into pieces, the best water-solid ratio, reflux extraction times and the extraction time per times were 8, 3, and 1.5 h, respectively, under which the extraction yield reached 23.0491%.

Key words: baicalin; water extraction; UV-spectrometry; single factor experiment; orthogonal test

黄芩为唇形科植物黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的干燥根, 具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎的功效。主治热并发烧、目赤肿痛、肺热咳嗽等, 还具有很强的抗氧化作用和抗肿瘤作用^[1]。黄芩的主要成分为黄芩苷, 有关黄芩苷制备工艺的研究中黄芩的提取方法多采用醇提的方法, 对水提的方法鲜有报道。水煎煮法是中药传统的浸提方法之一, 且使用水煎煮法溶剂来源为蒸馏水或者普通自来水, 经济实惠, 应当给予足够的重视^[2-4]。

另外, 目前用于检测黄芩苷的方法有高压液相、高效毛细管电泳、反相高效液相法, 但上述方法要求有较昂贵的仪器, 且样品处理步骤繁琐, 不能满足工厂大批量快速检测和在线检测的需求^[5,6], 因此笔者认为要实现黄芩苷水提取工艺的研究及最终产品质量的在线控制, 使之能够满足工厂大批量在线检测的需求, 最简便、快捷的方法为紫外分光光度法。因此本文采用紫外分光光度法作为分析黄芩苷的手段, 对黄芩苷的水提制备工艺进行研究, 主要考察影响黄芩苷水提制备工艺的各影响因素, 并采用正交实验优化提取工艺。

收稿日期: 2007-09-11

作者简介: 郑必胜(1966-), 男, 副教授, 研究方向: 天然糖质分离纯化新方法新技术

1 材料与仪器

材料: 黄芩购于广州市清平中药市场, 经鉴定为真品; 对照品黄芩苷(含量测定用), 四川成都明波药业有限公司提供, 纯度大于 98%, 色谱纯; 试剂为分析纯, 水为蒸馏水。

仪器: 中药粉碎机, 电子天平, 真空泵, 低速离心机, 紫外分光光度计。

2 黄芩苷的分析方法

2.1 水溶黄芩苷对照品溶液的制备

精密称取 105 °C 干燥至恒重的黄芩苷标准品 5.0 mg, 置 250 mL 容量瓶中, 加蒸馏水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成质量浓度为 20 μg/mL 的标准溶液。

2.2 供试品溶液的制备

准确称取黄芩 18.6 g, 按照单因素和正交实验的要求进行预处理和提取, 提取物进行真空抽滤, 取部分滤液置于低速离心机中, 4000 r/min 离心 20 min, 精确量取上清液 1 mL, 置于 1000 mL 容量瓶中, 定容备用。

2.3 吸收波长的选择

取对照品溶液和供试品溶液, 在紫外分光光度计上 200~400 nm 处进行扫描, 以蒸馏水作空白建立基

线, 结果表明二者峰型相似, 最大吸收波长均为 275 nm, 故选用 275 nm 作为测定波长。

2.4 标准曲线的制备

分别吸取水溶黄芩苷对照品溶液分别稀释至 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 、8.0 $\mu\text{g/mL}$ 、12.0 $\mu\text{g/mL}$ 、16.0 $\mu\text{g/mL}$ 、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 。以水为空白对照, 按照紫外分光光度法^[7]在 275 nm 处测定吸光度。以吸光度 A 为纵坐标, 质量浓度 C 为横坐标, 绘制标准曲线。经线性回归统计, 得标准曲线方程: $A=0.0583C+0.0031$, $R^2=0.9997$ (见图 1), 表明 C 在 1.0~20.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与吸光度 A 呈良好的线性关系。

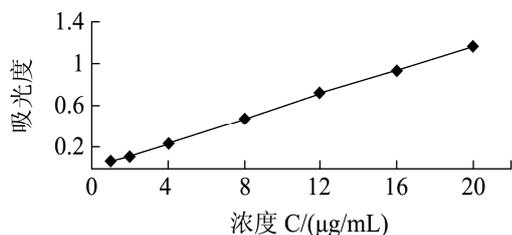


图 1 水溶黄芩苷对照品的工艺曲线

2.5 验证实验

重现性实验 RSD 为 1.5% ($n=5$), 精密度实验 RSD 为 0.4%, 加样回收实验测得平均回收率为 100.2%, RSD 为 0.9%。相关系数均符合要求, 表明所建立方法适用于水浸提液中的黄芩苷含量测定。

2.6 测定方法

应用紫外分光光度计定量测定程序, 在测定波长 275 nm 处分别测定样品的吸光度, 按线性回归方程算出相应的质量分数, 再换算出样品中黄芩苷的含量。

2.7 黄芩苷提取率的计算

$$EY = \frac{c \times 1000 \times v}{18.6 \times 1000000} \times 100\%$$

式中, c —样品的质量浓度, 由测得的吸光度值经线性回归方程换算而得, 单位 $\mu\text{g/mL}$;

1000—样品测定前稀释的倍数;

v —加水量, 即煎煮时所加的水总量, 单位 mL;

18.6—样品的原料的质量, 单位 g;

1000000—g 换算成 μg 的系数, 单位 $\mu\text{g/g}$ 。

3 实验方法

单独改变某个因素, 固定其余影响因素, 进行单因素实验, 研究各因素对水提黄芩中有效成分黄芩苷的影响。然后在此基础上进行正交实验, 优化提取工艺参数^[8,9]。

3.1 考察物料粒径对黄芩苷提取率的影响

分别称取块状 (市场直接购得、未经粉碎的直径

1 cm 左右的块状黄芩切片)、10 目、40 目的黄芩原料 18.6 g, 置于不同的锥形瓶中, 加入 186 mL 水, 浸泡半小时, 然后加热至沸, 于微沸水中回流提取 2 h, 抽滤、滤液于 4000 r/min 离心 20 min, 精密量取上清液 1 mL, 置于 1000 mL 容量瓶中, 定容混匀, 待测。考察不同物料粒径对黄芩苷提取率的影响, 从而选择效果较好的参数。

3.2 考察提取时间对黄芩苷提取率的影响

称取 18.6 g 块状黄芩原料 5 份, 各加入 186 mL 水, 浸泡半小时, 然后加热至沸, 于微沸水中分别回流提取 0.5 h, 1 h, 1.5 h, 2 h, 2.5 h, 其它同 3.1。考察提取时间对黄芩苷提取率影响的变化规律。

3.3 考察提取次数对黄芩苷提取率的影响

称取 18.6 g 块状黄芩原料 1 份, 加入 186 mL 水, 浸泡 0.5 h, 然后加热至沸, 于微沸水中回流提取 1 h, 真空抽滤, 再加入 186 mL 水, 进行第二次微沸回流提取, 时间为 1 h, 真空抽滤, 合并滤液, 其他同 3.1。同样的方法分别对 1 次、2 次、3 次、4 次提取进行考察, 即多次提取每次提取时间为 1 h, 合并滤液, 其他同 3.1。

3.4 考察加水量对黄芩苷提取率的影响

称取 18.6 g 块状黄芩原料 5 份, 分别加入质量为原料 6、8、10、12、15 倍的蒸馏水, 提取方法同 3.1。考察不同的加水量对黄芩苷提取率的影响规律。

3.5 正交试验设计

水煎煮法提取黄芩苷, 选择主要影响其提取效率的加水量、煎煮时间、煎煮次数及破碎度作为考察因素, 各因素选取三水平, 运用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计法进行试验。因素水平安排见表 1。

表 1 水煎煮工艺因素水平表

| 水平 | A(破碎度) | B(煎煮次数/次) | C(煎煮时间/h) | D(加水量/倍数) |
|----|--------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 块状 | 1 | 1 | 6 |
| 2 | 10目 | 2 | 1.5 | 8 |
| 3 | 40目 | 3 | 2 | 10 |

4 结果与讨论

4.1 破碎度对黄芩苷提取率的影响

由图 2 可以看出, 随着物料粒径的减小, 黄芩苷提取率呈下降的趋势。一般来讲, 通过适当的预处理 (如粉碎) 使物料粒径尽可能的小, 这样有利于使大量的成分转化为游离状态, 同时有利于增加溶剂与物料接触的单位面积, 溶剂也便于渗透, 按理说, 提取率应该会随破碎度的增大而呈上升趋势才对, 而本实验却刚好相反。笔者以为这可能是由于在煎煮过程

中, 块状的物料在沸腾状态下更容易形成泡核, 形成大量气泡, 使得沸腾更加剧烈, 药材在溶液中剧烈翻腾, 更有利于溶剂的渗透和加快溶剂在物料表面的流通速度, 从而更快的把有效成分导出并保持料液接触面的浓度差。相反, 物料粒径减少后, 上述优势体现不明显, 从而也导致了提取率的下降。事实在做实验的过程中, 观察到的现象是块状原料很容易起泡, 剧烈翻腾, 而在同样的条件下5目的原料翻腾就没有那么剧烈, 起泡也较少, 而40目的则基本没有大的气泡, 很难剧烈翻腾, 这也跟猜想相吻合。

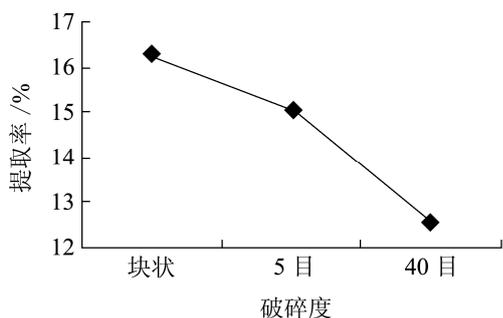


图2 破碎度与提取率关系曲线

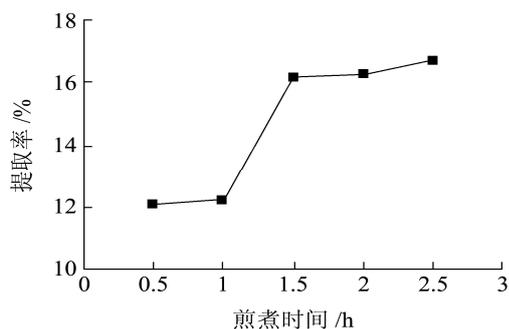


图3 煎煮时间与提取率关系曲线

4.2 煎煮时间对提取率的影响

由图3可以看出, 在1h内煎煮时间对提取率影响不大, 1~1.5h提取率变化明显, 1.5h后又趋向稳定。浓度差是有效成分提取的主要动力, 在1h内, 虽然有效成分浓度差大, 但由于提取时间不够, 有效成分只是缓慢被提出, 而1~1.5h之间是有效成分快速提出的集中时间段, 1.5h后由于固相中的浓度差逐渐减少, 提取速率也逐渐减慢, 直至动力为零, 有效成分不再溶解。

4.3 提取次数对提取率的影响

由图4可以看出, 随着提取次数的增加, 黄芩苷提取率先呈快速上升, 后趋于平稳的趋势。与4.2类似, 提取1、2次时, 有效成分浓度差大, 提取率上升快, 提取3、4次时, 浓度差变小, 甚至消失, 提取动力减少以至消失, 从而导致提取率趋于稳定。

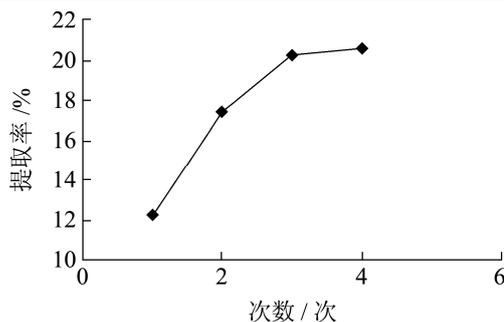


图4 提取次数与提取率关系曲线

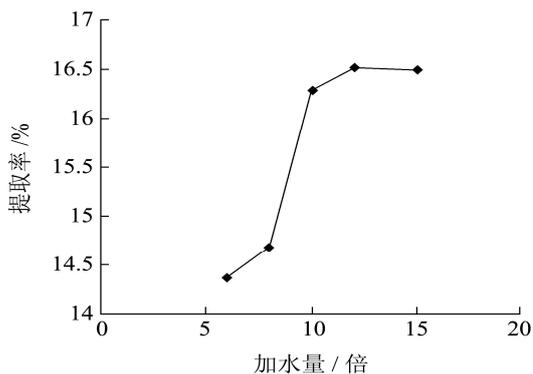


图5 加水量与提取率关系曲线

4.4 加水量对提取率的影响

由图5可以看出, 随着料液比的增大, 黄芩苷提取率先呈快速增长, 后趋于平稳, 甚至有小幅下滑的趋势。这是因为溶剂量大, 溶剂中的有效成分浓度低, 物料与溶剂边界层的有效成分浓度差大, 扩散推动力较大, 所以提取率高。相反, 溶剂中有效成分浓度高, 扩散推动力小, 不利于扩散, 有效成分提取率低。但是, 提取率不是随着料液比的增大而无限增大的, 当溶剂量达到某一定值后, 提取率难以增加, 甚至可能由于溶剂量太多而造成回收过程中有效成分损耗加大而略微下降。

4.5 正交实验优化黄芩有效成分提取工艺的优化

由表2正交试验分析结果表明, 在影响水煎煮法提取黄芩苷的四个主要因素(破碎度、煎煮时间、煎煮次数、加水量)中, 破碎度的影响最大, 加水量的影响最小。其对提取工艺影响的主次关系为: 破碎度(A) > 煎煮次数(B) > 煎煮时间(C) > 加水量(D)。表3方差分析结果直接来自正交设计助手软件, 由表3方差结果表明, 破碎度即A因素对黄芩苷提取率有显著性影响, B、C、D因素影响不显著。在本实验参数的基础上, 为了获得较高的提取率, 同时节约溶剂用量, 减少提取时间, 水煎煮提取的最佳组合条件为A₁B₃C₂D₂, 即破碎度为块状, 加水量为药材重量的8倍, 煎煮3次, 每次1.5h。此条件下的提取正交实验没有设计, 单独按此条件提取, 得黄芩苷提取率为

23.0491%，提取率均高于正交实验所设计的九个组合。

表2 正交实验结果

| 实验号 | A | B | C | D | 黄芩苷提取率/% |
|-------------|--------|--------|--------|--------|----------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 16.5262 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 22.0899 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 22.7907 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 16.9451 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 19.0374 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 19.5499 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 13.8168 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 15.7084 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 16.4840 |
| K1 | 61.407 | 47.288 | 51.048 | 52.048 | |
| K2 | 55.532 | 56.836 | 55.519 | 55.456 | |
| K3 | 46.009 | 58.825 | 55.645 | 55.444 | |
| \bar{k}_1 | 20.469 | 15.763 | 17.261 | 17.349 | |
| \bar{k}_2 | 18.511 | 18.945 | 18.506 | 18.486 | |
| \bar{k}_3 | 15.336 | 19.608 | 18.548 | 18.481 | |
| R | 5.103 | 3.845 | 1.287 | 1.137 | |

表3 正交结果方差分析

| 变异来源 | 偏差平方和 | 自由度 | F比 | 显著性 |
|-----------|--------|-----|-------|-----|
| A(破碎度) | 40.254 | 2 | 2.255 | * |
| B(煎煮时间/h) | 25.356 | 2 | 1.421 | |
| C(煎煮次数/次) | 3.207 | 2 | 0.180 | |
| D(加水量/倍) | | 2 | 0.144 | |
| 误差 | 2.573 | 8 | | |

5 结论

5.1 用水提法提取黄芩苷，溶剂成本低，操作简便易行，提取率较高，可充分利用资源，缺点是水的后续浓缩回收工序没有醇的容易。

5.2 以水作溶剂的水系紫外分光光度法测定水提取物

中黄芩苷的含量是可行的，操作简便、快速、准确，可以广泛应用于工业生产中，满足工厂大批量快速检测和在线检测的需求；

5.3 通过对黄芩苷提取工艺的单因素和正交实验研究，为了获得较高的提取率，同时节约溶剂用量，减少提取时间，水煎煮提取的最佳组合条件为A₁B₃C₂D₂，即破碎度为块状，加水量为药材重量的8倍，煎煮3次，每次1.5h。

参考文献

- [1] 王轶晶,冯君,于洪儒,等.不同分析方法对黄芩苷纯化的优选[J].锦州医学院学报,2006,27(2):39-40
- [2] 陈顺伟,滕水明,柏明娥,等.栀子黄色素浸提条件的优化选择研究[J].浙江林业科技,2002,22(6):14-17
- [3] 张红医,赵淑军,成谦,等.中药黄芩提取方法的优化[J].河北大学学报(自然科学版),2006,26(4):390-395
- [4] 周芳,池汝安.黄芩苷制备工艺的优化[J].湖北农业科学,2006,45(6):814-816
- [5] 王晓琴,赵瑛,支德娟,等.水提取物中黄芩苷含量的测定方法[J].时珍国医国药,2006,17(10):1898-1899
- [6] 黄捷,何颂华.正交实验研究玉莲降火片最佳生产工艺[J].数理医药学杂志.2002,15(1):80-81
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典一部[S].北京:化学工业出版社,2005,附录28
- [8] Tong Lu,Jue Song, et al. Comparative pharmacokinetics of baicalin after oral administration of pure baicalin, *Radix scutellariae* extract and Huang-Lian-Jie-Du-Tang to rats[J]. Journal of Ethnopharmacology.2007,110(3):412-418
- [9] Haibin Qu,Yanhong Ma et al. Simultaneous determination of eight active components in Chinese medicine 'YIQING' capsule using high-performance liquid chromatography. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis[J],2007, 43(1): 66-72

用大米做原料的环保快餐盒

在不久前的中国第十届科技博览会上，展出了这样一项专利，利用陈化粮做原料，制作各种形状的环保可食用的大米餐具。这种新餐具外观与普通发泡塑料无异，质地柔软，没有异味，最快30分钟可以完全降解。并且餐具是以陈化粮为原料的产品，生产过程中不添加化学成分，陈化粮中的黄菌霉素等有害物质在高温生产过程中，将完全被消除，不仅无毒无害无污染，甚至可以直接食用，还可以回收作为家畜的饲料。

(新闻来源：中国食品科技网)