

# 杜仲叶中桃叶珊瑚甙提取工艺优化的研究<sup>\*</sup>

马柏林<sup>1</sup>, 梁淑芳<sup>1</sup>, 韩冰<sup>2</sup>, 梁晓理<sup>1</sup>

(1 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100;

中国科学院  
2 西北农林科技大学 水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100)

**[摘要]** 在单因素试验的基础上, 以提取时间、提取温度以及料液比为因素, 以桃叶珊瑚甙提取率为指标, 用正交试验法对杜仲叶中桃叶珊瑚甙的提取工艺进行了优化研究。结果表明, 提取温度和提取时间对提取效果有显著影响, 影响提取效果的主次顺序为温度> 时间> 料液比。最佳提取参数为: 温度80℃, 时间1 h, 料液比1:8。

**[关键词]** 杜仲叶; 桃叶珊瑚甙; 提取工艺; 正交试验

**[中图分类号]** S794.908

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2005)02-0123-04

桃叶珊瑚甙(Aucubin)是一种环烯醚萜甙类化合物, 是杜仲、车前等中药材的有效成分之一。桃叶珊瑚甙又名珊瑚木甙, 是清湿热、利小便、镇痛、降压、保肝护肝、抗肿瘤等的活性物质, 能促进干细胞再生, 明显抑制乙型肝炎病毒DNA的复制, 其甙元及有效多聚体是一种抗菌素<sup>[1,2]</sup>。杜仲叶中含有几十种化学成分, 其中含桃叶珊瑚甙约15 g/kg<sup>[3]</sup>。目前, 有关桃叶珊瑚甙提取的研究主要以杜仲种子作原料<sup>[4,5]</sup>, 而以杜仲叶为原料提取桃叶珊瑚甙的研究尚未见报道。本研究探讨了杜仲叶中桃叶珊瑚甙的提取工艺, 以期对杜仲叶的开发利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验所用杜仲叶采自西北农林科技大学南校区校园内, 自然风干, 粉碎备用。

### 1.2 仪器与试剂

1.2.1 主要仪器 旋转蒸发器RE-52AA, 显微熔点仪, 微量进样器, UV 2102-紫外可见分光光度计。

1.2.2 试剂 乙醇、正丁醇、石油醚、甲醇、氯仿、乙醚、Ba(OH)<sub>2</sub>、硫酸溶液、香草醛, 均为分析纯。Epstahl试剂(对二甲氨基苯甲醛0.25 g, 冰醋酸50 g, 35%磷酸5 g, 水20 mL), 硅胶(Q 007 1~Q 015 4 mm, 青岛海洋化工厂)。

### 1.3 方法

1.3.1 桃叶珊瑚甙的提取 称取杜仲叶干粉适量,

以不同浓度的乙醇溶液为提取溶剂, 改变提取时间、温度、料液比、提取次数以确定各提取因素的变化范围, 以及各因素的最佳值。在此基础上, 进行正交工艺设计及试验。

1.3.2 桃叶珊瑚甙的定量分析 按文献[6]的方法进行。桃叶珊瑚甙的提取率/% =  $\frac{\text{得率}_{(\text{桃叶珊瑚甙})}}{\text{含量}_{(\text{桃叶珊瑚甙})}} \times 100$ 。

1.3.3 正交试验设计 根据单一提取条件对桃叶珊瑚甙提取率的影响实验结果, 选取对提取率影响较大的提取温度、提取时间和料液比3个因素, 并根据生产实际选定各因素的水平, 安排L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验, 对提取条件进行优化<sup>[7]</sup>。正交试验的因素和水平设计见表1。

表1 正交试验因素水平

Table 1 Level and factors of orthogonal test

| 水平 Level | 因素 Factors             |                           |                                 |
|----------|------------------------|---------------------------|---------------------------------|
|          | 时间/m in<br>Time<br>(A) | 温度/<br>Temperature<br>(B) | 料液比<br>Leaf-solven<br>ratio (C) |
| 1        | 30                     | 60                        | 1:6                             |
| 2        | 60                     | 70                        | 1:8                             |
| 3        | 90                     | 80                        | 1:10                            |

## 2 结果与分析

### 2.1 单一提取条件对桃叶珊瑚甙提取效果的影响

2.1.1 提取溶剂的影响 桃叶珊瑚甙易溶于水和甲醇, 可溶于乙醇和丙酮, 难溶于氯仿、苯、石油醚等

\* [收稿日期] 2004-03-12

[基金项目] 陕西省科技攻关项目(2003K11-G7(13))

[作者简介] 马柏林(1956-), 男, 陕西武功人, 教授, 主要从事天然产物的提取与研究。

[通讯作者] 梁淑芳(1954-), 女, 陕西武功人, 副教授, 主要从事天然产物研究。

亲脂性有机溶剂。杜仲叶所含成分十分复杂,宜采用混合溶剂选择性溶出桃叶珊瑚甙。考虑到溶剂的安全性、有效性、生产成本及便于操作等因素,本试验选用乙醇水溶液作为提取溶剂。

由图1可知,在乙醇浓度为0~60%时,桃叶珊瑚甙的提取率随乙醇浓度的升高而增加,并在60%时达到最高;在乙醇浓度为60%~70%时,提取率变化不大;大于80%时提取率有所下降。

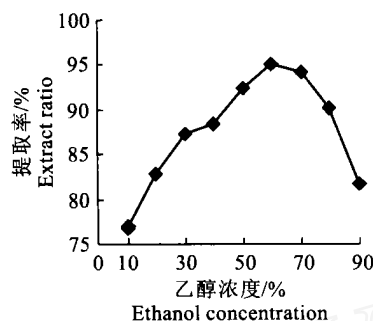


图1 提取溶剂浓度对提取率的影响

Fig 1 Effect of concentration on extracting rate

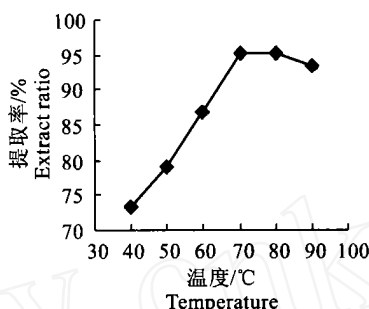


图2 提取温度对提取率的影响

Fig 2 Effect of temperature on extracting rate

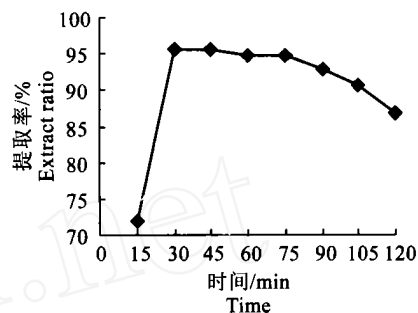


图3 提取时间对提取率的影响

Fig 3 Effect of extraction time on extracting rate

2.1.2 提取温度的影响 在桃叶珊瑚甙的提取过程中,随着温度升高,溶剂的黏度减小,浸提液扩散系数增加,促使浸提速度加快。由图2可知,提取温度在70℃以下时,随着温度的升高,桃叶珊瑚甙的提取率呈增加趋势;70~80℃时,提取率基本不变。而温度超过80℃时,桃叶珊瑚甙易被破坏,杂质溶出量也相应增大,提取液中桃叶珊瑚甙含量会有所减小。这是由于桃叶珊瑚甙具有烯醇式的缩醛结构,不稳定,高温加热易使其氧化分解<sup>[8,9]</sup>。

2.1.3 提取时间的影响 提取过程中,在植物原料细胞内外活性物质含量达到平衡前,提取率随提取时间的延长而增加。一旦细胞内外浓度达到平衡,活性物质就不再溶出。由图3可知,桃叶珊瑚甙在浸提

30 min 时提取率最高,延长提取时间,提取率不再增加。相反,由于长时间高温加热,部分桃叶珊瑚甙会被分解、破坏。因此,长时间浸提,提取率反而稍有下降。

2.1.4 提取次数的影响 由图4可知,提取次数越多,提取率越高。但是提取3次之后,杜仲叶中的活性物质已基本提取完全,再增加提取次数,提取率无显著增加。

2.1.5 料液比的影响 如果料液比过小,桃叶珊瑚甙不能很好地溶出,提取率低;如果料液比过大,则会给浓缩工作带来很大负担。由图5可知,料液比越大,桃叶珊瑚甙的提取效果越好。而料液比大于1:8时,桃叶珊瑚甙的浸出量再无显著增加。

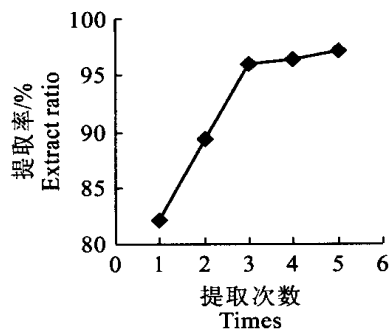


图4 提取次数对提取率的影响

Fig 4 Effect of extraction frequency on extracting rate

## 2.2 桃叶珊瑚甙提取条件的优化

2.2.1 正交试验 对桃叶珊瑚甙提取率的直观分析及方差分析见表2和表3。由表2和表3可知,提取温度和提取时间2个因素对桃叶珊瑚甙提取率都有

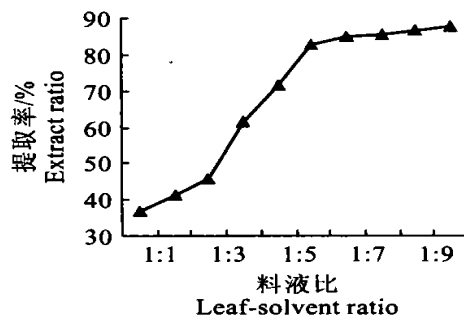


图5 料液比对提取率的影响

显著影响。影响提取效果的主次顺序为温度>时间>料液比,综合各因素K值并直观比较,得出理论上最佳工艺条件为A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即用体积分数60%乙醇水溶液在80℃,料液比1:8,提取1 h。

2 2 2 实验验证 按选定的最佳工艺条件A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>进行验证试验, 平行试验3次, 桃叶珊瑚甙的平均提取率为92%, 与试验结果一致。

2 2 3 追加试验 用85℃和A<sub>2</sub>C<sub>2</sub>条件进行追加

表2 正交试验设计及试验数据

Table 2 Design and date of orthogonal test

| 试验<br>Test order                 | 因素 Factor           |                         |                                | 提取率/%<br>Yield |
|----------------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------------------|----------------|
|                                  | 时间/min<br>Time<br>A | 温度/<br>Temperature<br>B | 料液比<br>Leaf-solvent ratio<br>C |                |
| 1                                | 30                  | 60                      | 1:6                            | 29.3           |
| 2                                | 30                  | 70                      | 1:8                            | 48.7           |
| 3                                | 30                  | 80                      | 1:10                           | 64.7           |
| 4                                | 60                  | 60                      | 1:8                            | 66.2           |
| 5                                | 60                  | 70                      | 1:10                           | 82.5           |
| 6                                | 60                  | 80                      | 1:6                            | 94.4           |
| 7                                | 90                  | 60                      | 1:10                           | 46.6           |
| 8                                | 90                  | 70                      | 1:6                            | 63.3           |
| 9                                | 90                  | 80                      | 1:8                            | 95.3           |
| K <sub>1</sub>                   | 142.7               | 142.1                   | 187.0                          |                |
| K <sub>2</sub>                   | 243.1               | 194.5                   | 210.2                          | 591.0          |
| K <sub>3</sub>                   | 205.2               | 254.4                   | 193.8                          |                |
| 最优水平<br>Excellent level          | A <sub>2</sub>      | B <sub>3</sub>          | C <sub>2</sub>                 |                |
| R                                | 100.4               | 112.3                   | 23.2                           |                |
| 主次顺序<br>Primary and<br>secondary | B                   | A                       | C                              |                |

表3 方差分析结果

Table 3 Analysis of variance

| 变异来源<br>Variation<br>origin | 偏差平方和<br>Sum of<br>squares | 自由度<br>Degrees of<br>freedom | 均方<br>Mean<br>square | F    | 显著性<br>Significance |
|-----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------|------|---------------------|
| A                           | 1 713.6                    | 2                            | 856.8                | 31.5 | *                   |
| B                           | 2 105.0                    | 2                            | 1 052.5              | 38.7 | *                   |
| C                           | 94.8                       | 2                            | 47.4                 | 1.7  |                     |
| S <sub>e</sub> <sup>2</sup> | 54.4                       | 2                            | 27.2                 |      |                     |

3 结论与讨论

1) 从杜仲叶中提取桃叶珊瑚甙时, 影响提取效果的主次顺序为温度> 时间> 料液比。温度和时间对提取效果有显著影响, 提取中应该严格控制。

2) 由正交试验结果可知, 用60% 乙醇水溶液提取3次的工艺中, 杜仲叶中桃叶珊瑚甙的最佳提取工艺条件为: 料液比1:8, 温度80℃, 每次1 h。

虽然普通实验室目前都采用分光光度法测定桃叶珊瑚甙的含量, 而且, 吸光度与桃叶珊瑚甙的含量成正比, 但吸光度并不能直接表示提取率。与文献

[4, 5]采用吸光度为指标相比, 本试验选用提取率为指标考查桃叶珊瑚甙的提取程度, 更能直观地反映本实验所采用提取方法的提取效果。

文献[4, 5, 8, 9]涉及到提取桃叶珊瑚甙的方法, 但都没有验证试验和追加试验。本研究设计了验证试验和追加试验, 从实际应用的角度对正交试验结果的正确性进行考查和验证, 进一步增强了正交试验优选出的最佳提取工艺条件的可靠性, 也说明了桃叶珊瑚甙的提取以80℃为宜, 在高于80℃温度下进行, 提取率降低。

## [参考文献]

- [1] 管淑玉, 苏薇薇. 杜仲化学成分与药理研究进展[J]. 中药材, 2003, 26(2): 124- 129
- [2] 王文明, 宠晓萍, 成 军, 等. 杜仲化学成分研究概况(Ⅱ)[J]. 西北药学杂志, 1998, 13(2): 60- 62
- [3] 李家实, 阎玉凝. 杜仲皮与叶化学成分初步研究[J]. 中药通报, 1986, 11 (8): 41- 42
- [4] 马柏林, 梁淑芳, 张康健, 等. 杜仲种子中桃叶珊瑚甙的提取分离研究[J]. 西北林学院学报, 1999, 14(4): 69- 72
- [5] Peng M i-jun, Zhou Chun-shan, Dong Chao-qing, et al. Study on the technology of extracting iridoids compounds from *Eucommia ulmoides*[J]. Natural Product Research and Development, 2003, 15(6): 521- 527.
- [6] 马柏林, 梁淑芳, 张康健. 薄层色谱分离和分光光度法测定桃叶珊瑚甙[J]. 分析化学, 2000, 28(3): 346- 348
- [7] 朱燕堂. 应用概率统计方法[M]. 西安: 西北工业大学出版社, 1986. 114- 120
- [8] 邓 勇, 彭 明. 杜仲叶有效成分的提取[J]. 农业工程学报, 1997, 13(3): 230- 234
- [9] 董娟娥, 马柏林, 仝小林, 等. 提高杜仲叶主要活性物质提取率的研究[J]. 西北林学院学报, 2002, 17(1): 64- 67.

Study on optimized technology of extracting aucubin from *Eucommia* leafMA Bai-lin<sup>1</sup>, LIANG Shu-fang<sup>1</sup>, HAN Bing<sup>2</sup>, LIANG Xiao-li<sup>1</sup>

(1 College of Life Sciences, Northwest A &amp; F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Science,

Northwest A &amp; F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** On the basis of single factor experiment, the optimum technology extracting aucubin from *Eucommia* leaves was studied by orthogonal test. An orthogonal test table  $L_9(3^4)$  was used with the factors of extracting temperature, time and the ratio of leaf to liquid. The extracting rate of aucubin was the indication in orthogonal test. The optimum technological condition was temperature 80℃, time 1 h, stock ratio 1:8. And temperature and time had notable influence on the extracting results.

**Key words:** *Eucommia* leaf; aucubin; extracting technology; orthogonal test