

郝凤霞,李宏燕.几种不同产地枸杞中甜菜碱含量的比较[J].江苏农业科学,2014,42(7):330-332.

几种不同产地枸杞中甜菜碱含量的比较

郝凤霞¹,李宏燕²

(1.宁夏大学能源化工重点实验室,宁夏银川 750021; 2.宁夏大学机械工程学院,宁夏银川 750021)

摘要:根据《农业行业标准》中的相应方法提取枸杞中的甜菜碱,通过单因素试验优化其主要工艺条件,如料液比、提取时间、络合剂加入量、络合时间等。结果表明,甜菜碱提取的最佳工艺条件为:料液比 1 g : 60 mL,提取时间 2 h,提取液与络合剂的比为 1 : 5,络合时间 2 h,在此条件下,3 种不同地区枸杞中的甜菜碱含量由大到小排序为:甘肃枸杞(9.26%) > 青海枸杞(8.73%) > 宁夏中宁枸杞(8.71%)。

关键词:枸杞;甜菜碱;单因素;提取工艺

中图分类号: Q946.88;R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2014)07-0330-02

枸杞子为茄科植物枸杞(*Lycium chinense* Mill.)或宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)的干燥成熟果实,在国内外均有分布,其在国内的产区主要集中在西北地区,其中宁夏产的枸杞最为著名,是宁夏的“五宝”之一,此外甘肃、青海等地的枸杞品质也很高。现在医学研究表明,枸杞具有抗氧化、抗衰老、免疫调节、降血糖、降血脂等作用^[1-3]。甜菜碱是枸杞果、叶、柄中主要的生物碱之一,具有强烈的吸湿性能,此外还可以抗肿瘤、降血压、抗消化性溃疡及胃肠功能障碍,并且可以治疗肝脏疾病^[4],2010 版《中华人民共和国药典》中以甜菜碱和枸杞多糖作为评价枸杞质量的 2 个重要指标^[5]。本试验首先以宁夏中宁枸杞为研究对象,对其中的甜菜碱进行提取,并采用不同方法进行测定,采用单因素试验等多种方法优化其主要影响因素如料液比、提取时间、络合剂用量、络合时间等,初步建立从中宁枸杞中提取分离甜菜碱的工艺;再对甘肃和青海的枸杞进行测定,以比较不同地区枸杞中的甜菜碱含量,找出品种、产地对枸杞质量造成的差异性,以期对甜菜碱的进一步开发利用提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

中宁枸杞采自宁夏中宁县舟塔乡,青海枸杞、甘肃枸杞购自宁夏中宁枸杞交易市场。将枸杞置于电热鼓风干燥箱中,60℃连续烘干 20 h 后粉碎,过 40 目筛,放于冰箱中保存。

浓盐酸、饱和雷氏盐溶液(15 g/L)、99% 乙醚溶液、70% 丙酮溶液、甜菜碱标准品(纯度 > 99.99%)等试剂均为分析纯;实验室用水为蒸馏水。相应溶液的配制方法为:(1)99% 乙醚溶液:吸取 1 mL 水,加入到 99 mL 无水乙醚中;(2)70% 丙酮溶液:量取 30 mL 水,加入到 70 mL 丙酮中;(3)1.5 g/L 甜菜碱标准溶液:称取 0.150 0 g 甜菜碱标准品,置于 100 mL 烧瓶中,再加少量蒸馏水搅拌使之溶解,将溶液转移至

100 mL 容量瓶中用蒸馏水定容;(4)15 g/L 饱和雷氏盐溶液:称取 1.500 0 g 雷氏盐,加 90 mL 蒸馏水搅拌,用浓盐酸调节 pH 值至 1.0,于室温下不断搅拌 45 min 后抽滤,定容至 100 mL(现配现用)。

1.2 试验仪器

UV2450 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);L/L-S 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);DZF-6020 电热鼓风干燥箱(巩义市英峪予华仪器厂);7DL80-2B 台式离心机(上海安亭科技仪器厂);SHB-II 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)。

1.3 试验方法

称取 2.000 0 g 甜菜碱烘干样品,用 80 mL 蒸馏水溶解后于室温放置 3 h,不停地搅拌、混匀、抽滤、弃残渣。用浓盐酸调节 pH 值为 1.0 左右,抽滤后定容至 100 mL;吸取 3.00 mL 移入 10 mL 离心管中,加盖后在冰箱中存放 15 min;加入 5 mL 雷氏盐溶液,加盖后再置于冰箱内存放 1 h;取出在 1 000 r/min 条件下离心 15 min,弃去上清液,加入 99% 的乙醚 5 mL 摇匀,1 000 r/min 条件下离心 15 min;弃去上清液,加入 5.0 mL 70% 的丙酮溶液,测定吸光度。

2 结果与分析

2.1 甜菜碱标准曲线的绘制

取 6 支试管,分别加入 0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mL 甜菜碱标准溶液,再分别加入 2.5、2.4、2.3、2.2、2.1、2.0 mL 蒸馏水,使最终总体积为 3 mL,使其浓度分别为:0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50 mg/mL。在冰箱中存放 15 min 后分别滴加 5 mL 雷氏盐溶液,再置于冰箱中 3 h,取出后在 1 000 r/min 离心 15 min,弃去上清液,加入 99% 的乙醚 5 mL,1 000 r/min 离心 15 min,自然挥发至干。以 70% 丙酮溶液作为空白,用紫外-可见分光光度计测定吸光度,确定甜菜碱标准溶液的最大吸收波长为 523 nm,在此波长处测定各个浓度的吸光度值,并绘制甜菜碱的标准曲线。甜菜碱紫外色谱图及甜菜碱标准曲线分别见图 1、图 2,甜菜碱标准曲线为 $y = 0.50024x - 0.09502$, $r^2 = 0.9945$ 。

2.2 甜菜碱提取的单因素试验

2.2.1 料液比 按“1.3”中的提取方法,以中宁枸杞为试验

收稿日期:2013-09-24

基金项目:宁夏自然科学基金(编号:NZ12122)。

作者简介:郝凤霞(1978—),女,宁夏中宁人,硕士,讲师,研究方向为天然产物有效成分提取与分离及药物检测。Tel:(0951)2062322; E-mail:hao_fx@nxu.edu.cn。

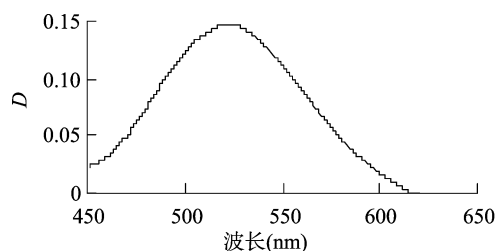


图1 甜菜碱紫外-可见光谱图

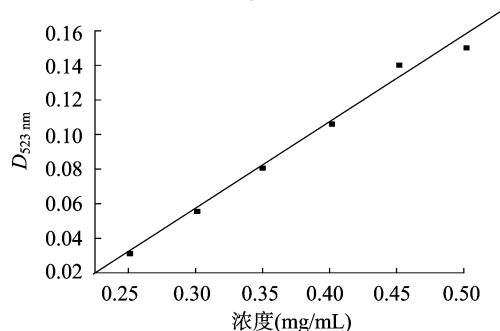


图2 甜菜碱工作曲线

材料,分别选择不同的料液比 1 g : 10 mL、1 g : 20 mL、1 g : 40 mL、1 g : 60 mL、1 g : 80 mL 做浸提试验,根据试验所得数据,以提取率为纵坐标、料液比为横坐标作图,结果见图 3。由图 3 看出,随着料液比的增大,甜菜碱的提取率逐渐增加;当料液比达到 1 g : 60 mL 时,提取率开始下降,因此选择提取料液比 1 g : 60 mL。

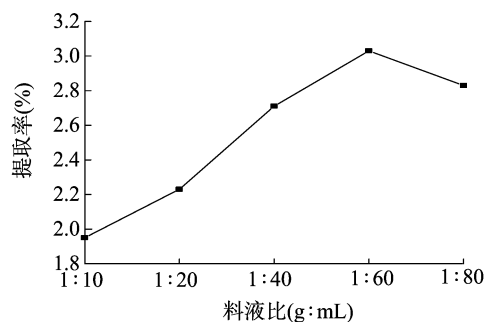


图3 不同料液比的提取率

2.2.2 提取时间 按“1.3”节中的提取方法,在确定了 1 g : 60 mL 的料液比前提下,分别选择不同的浸取时间 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 做浸提试验,根据得到的数据,以提取率为纵坐标、时间为横坐标作图,结果见图 4。由图 4 可见,随着提取时间的增加,枸杞中甜菜碱的提取率逐渐增加;当提取时间达到 2 h 时,提取率开始下降,且提取时间为 1、2 h 间的枸杞甜菜碱提取率差别不大,因此选择提取时间 2 h。

2.2.3 络合剂量 按照“1.3”节中的提取方法,在确定了提取料液比和提取时间的情况下,分别选择提取剂与络合剂的体积比 1 : 1、1 : 2.5、1 : 5、1 : 7.5 做浸取试验,根据试验所得数据,以提取率为纵坐标、络合剂的量为横坐标作图,结果见图 5。由图 5 看出,随着络合剂雷氏盐的量不断增加,甜菜碱提取率也逐渐上升,当提取液与络合剂的体积比达到 1 : 5 时,提取率仍在增加,但是与从 1 : 2.5 到 1 : 5 的增加幅度相比,1 : 5 至 1 : 7.5 的增幅在减小,因此选择提取液与络合剂

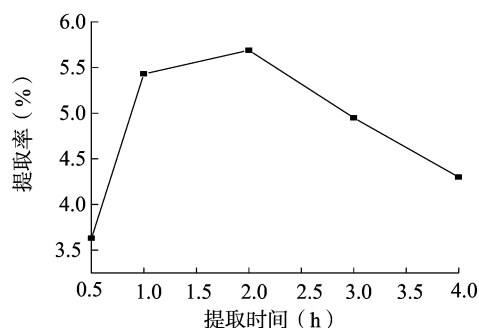


图4 不同时间的提取率

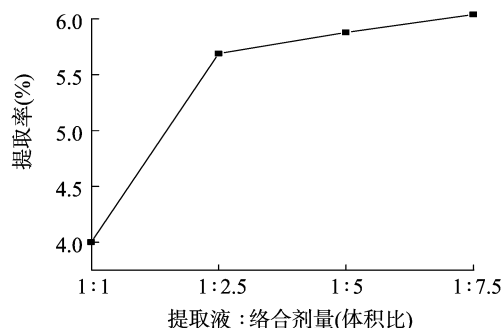


图5 不同体积络合剂的提取率

的比值 1 : 5。

2.2.4 络合时间 根据“1.3”节中的提取方法,在确定了料液比、提取时间和络合剂量的前提下,分别选择不同的络合时间 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h 做浸取试验,根据试验所得数据,以提取率为纵坐标、络合时间为横坐标作图,结果见图 6。由图 6 看出:随着络合时间的增加,枸杞甜菜碱提取率逐渐增加;当络合时间达到 2 h 时提取率达到最大值,随后又开始下降,因此选择的络合时间为 2 h。

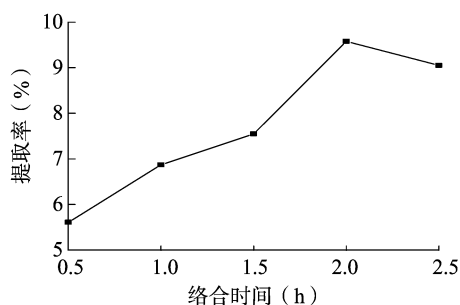


图6 不同络合时间的提取率

2.3 综合比较试验

采用优化后的《农业行业标准》中的相关提取工艺对宁夏、甘肃、青海 3 个不同产地的枸杞进行提取,即以 1 g : 60 mL 的料液比静置提取 2 h,以 1 : 5 的络合剂同时络合 2 h 后显色,用紫外-可见分光光度计在 523 nm 处测定吸光度,计算 3 种不同产地枸杞中甜菜碱的含量,并对其进行比较,测定结果见表 1。

由表 1 可以看出,不同产地枸杞中的甜菜碱存在一定的差异,其中甘肃枸杞中甜菜碱含量最高,为 9.26%;其次是青海枸杞,为 8.73%;最少的是宁夏中宁枸杞,为 8.71%。

付 明,李胜华,张 婷,等. RP-HPLC 法测定湘西藤茶二氢杨梅素的含量[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):332-334.

RP-HPLC 法测定湘西藤茶二氢杨梅素的含量

付 明,李胜华,张 婷,胡 兴

(民族药用植物资源研究与利用湖南省重点实验室/湘西药用植物与民族植物学湖南省高校重点实验室/
怀化学院生命科学系,湖南怀化 418008)

摘要:采用索氏提取法、乙醇浸提法、超声波-乙醇法提取藤茶中二氢杨梅素(dihydromyricetin,DMY),RP-HPLC 法测定其含量。结果表明,超声波-乙醇法提取率最高,采用 Sino chrome C₁₈ 柱,以甲醇-0.1% 磷酸(体积比 27:73) 为流动相,检测波长为 294 nm 时,线性关系良好($r=0.999\ 2$),平均加样回收率为 97.8%, $RSD=0.69\%$;重现性试验 RSD 为 0.33%,说明该方法准确、可信度高。湘西藤茶 DMY 含量在 5 月底达到最高,叶中约 25.43%,茎中约 6.22%, 因此其最佳采摘时期为 5 月底。

关键词:藤茶;最佳采摘期;超声波-乙醇法;二氢杨梅素(DMY);RP-HPLC

中图分类号: R284.1;O657.7⁺2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0332-03

藤茶别称显齿蛇葡萄(*Ampelopsis grossedentata*),属葡萄科蛇葡萄属。湘西少数民族将其制成保健茶,长年饮用可强身健体,还可治疗感冒、咽喉肿痛、黄疸型肝炎等症^[1]。藤茶有抗氧化作用^[2-3],含有大量黄酮类物质,其中主要是二氢杨梅素(dihydromyricetin,DMY)。有研究表明,藤茶叶中总黄酮含量达 45%^[4-5],DMY 含量达 16.32%~33.03%^[6],这是非常罕见的,吸引了许多学者开展相关研究。黄酮物质可抑制

脂质过氧化^[7]、抑菌^[8]、降血压、降血糖^[9-10]、减轻肝细胞变性和肿胀^[11]、增强单核巨噬细胞吞噬功能和溶血功能、抗肿瘤、祛痰止咳等。随着研究的深入,DMY 降血糖、抗氧化、抑菌、抗肿瘤等活性成为研究热点。本研究以湘西藤茶为原料,从索氏提取法、乙醇浸提法、超声波-乙醇法中选择 DMY 提取率最高的方法提取样品 DMY,再用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法对不同时期、不同部位 DMY 含量进行测定,确定湘西藤茶的最佳采摘时期,为其合理开发提供理论依据。

收稿日期:2013-09-15

基金项目:湖南省科技计划(编号:2013FJ6090);湖南省高校科技创新团队支持计划(编号:2010212);湖南省“十二五”植物学重点建设学科项目(编号:201142)。

作者简介:付 明(1966—),女,湖北荆门人,副教授,主要从事植物生物化学研究。E-mail:fm6988@163.com。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

藤茶采自湖南省怀化市。DMY 对照品(纯度 99%,湖南省张家界至诚生物有限公司);甲醇、磷酸(天津市科密欧化学试剂有限公司),均为色谱纯。

发现,采用《农业行业标准》的方法,甜菜碱得率为 3.35%,而采用《中华人民共和国药典》的方法,甜菜碱得率 3.13%,且蒸馏水冷浸法比 80% 乙醇热回流法提取方法安全、简单易操作,成本低,因此选用《农业行业标准》作为提取甜菜碱的方法。

不同地区枸杞中的甜菜碱含量不同,可能与枸杞生长地域、环境、湿度、日照等生态环境因素有关,如枸杞作为中成药配伍使用时,应严格控制及规范枸杞产地、采摘期等,使中成药中枸杞的甜菜碱和多糖等指标符合药典规定。

参考文献:

[1] 谢 忱,徐丽珍,李宪铭,等. 枸杞子化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(5):35-36.
[2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1979:1518.
[3] 徐月红,何 岚,徐莲英,等. 枸杞的免疫药理研究进展[J]. 中药材,2000,23(5):295-298.
[4] 张宇金,高世勇,何立巍. 甜菜碱的生物活性研究[J]. 哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2006,22(1):13-16.
[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2009:232-233.

表 1 3 种不同地区枸杞中甜菜碱含量比较

枸杞种类	重复	质量(g)	体积(mL)	质量比(mg/mL)	含量(%)	RSD(%)
宁夏中宁枸杞	I	1.015 0	100	0.535	8.78	1.29
	II	1.013 6	100	0.522	8.58	
	III	1.016 3	100	0.535	8.77	
	平均				8.71	
青海枸杞	I	1.005 2	100	0.530	8.79	1.22
	II	1.014 1	100	0.524	8.61	
	III	1.008 9	100	0.533	8.80	
	平均				8.73	
甘肃枸杞	I	1.013 4	100	0.560	9.21	0.97
	II	1.013 7	100	0.569	9.36	
	III	1.012 4	100	0.559	9.20	
	平均				9.26	

3 结论

提取甜菜碱时采用《农业行业标准》中的《蒸馏水冷浸法》和《中华人民共和国药典》中的《80% 乙醇热回流法》这 2 种方法作为提取甜菜碱的方法,比较这 2 种方法的甜菜碱得率