

王莹,陈圆,聂倩倩,等.女贞子中齐墩果酸的提取工艺及其抗氧化活性[J].江苏农业科学,2017,45(16):174-176.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.16.044

# 女贞子中齐墩果酸的提取工艺及其抗氧化活性

王莹,陈圆,聂倩倩,李玲,张雨

(江苏农牧科技职业学院动物药学院,江苏泰州 225300)

**摘要:**以女贞子为原料,乙醇溶液为溶剂,超声辅助提取女贞子中的齐墩果酸;通过单因素试验对影响女贞子中齐墩果酸得率的料液比、提取时间、提取温度以及乙醇浓度进行探讨,在此基础上以正交试验优化工艺条件。结果表明,当料液比为 1:8、提取时间为 30 min、提取温度为 30 ℃、乙醇浓度为 85% 时,齐墩果酸的得率达到 2.58%;女贞子中齐墩果酸对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH 自由基)具有一定的清除能力,当齐墩果酸浓度达到 1.0 mg/mL 时,齐墩果酸对 DPPH 自由基的清除率高达 85.80%。

**关键词:**女贞子;齐墩果酸;超声;提取;抗氧化活性

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)16-0174-03

中药材女贞子是木樨科女贞、大叶女贞的干燥成熟果实,主要分布在浙江省、江苏省、湖南省等地。女贞子中含有齐墩果酸、多糖、熊果酸、氨基酸、挥发油等成分,其中重要的生物活性成分齐墩果酸具有护肝肾、抗病毒、抗炎、强心、利尿、抗肿瘤、降血糖以及镇静等作用,广泛应用于食品、医药、化妆品等领域<sup>[1-5]</sup>。本研究以女贞子为原料,以乙醇溶液为溶剂,采用单因素和正交试验对女贞子中齐墩果酸的提取工艺进行了优化,并研究了齐墩果酸的抗氧化活性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 原料处理** 本试验采用来自浙江省温州市经炮制过的女贞子原料。在 60 ℃ 条件下真空干燥,采用多功能粉碎机粉碎,过 20 目筛,密封贮藏,备用。

**1.1.2 试剂与仪器** 齐墩果酸标准品(色谱纯 HPLC ≥ 98%,成都艾科达化学试剂有限公司),其余试剂均为市售分析纯。HK-02A 多功能粉碎机(上海烨昌食品机械有限公司)、BSA124S 电子天平(赛多利斯)、KH-400KDV 数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)、UV754N 紫外-可见分光光度计(上海精科仪器有限公司)、RE-52 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、HH-1 数显恒温水浴锅(金坛市杰瑞尔电器有限公司)、M100 10~100 μL 移液枪(宁波市群安实验室仪器有限公司)

### 1.2 方法

**1.2.1 标准曲线的绘制** 根据邸金明等对齐墩果酸含量测定方法的研究<sup>[6]</sup>,本试验选择紫外分光光度法测定齐墩果酸的含量,选定的检测波长为 215 nm。准确称取齐墩果酸标准品 0.060 0 g 至 100 mL 容量瓶中,用甲醇溶解后定容,摇匀,

作为标准品溶液(浓度为 0.60 mg/mL)。分别移取齐墩果酸标准品溶液 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 mL 至 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀。在 215 nm 处分别测定其吸光度。以齐墩果酸标准品浓度(mg/L)对吸光度绘制标准曲线,进行线性回归得标准曲线方程,  $D_{215\text{nm}} = 0.0056C + 0.0216$ ,  $r^2 = 0.995$ 。结果表明,当齐墩果酸浓度在 30~150 mg/L 范围内时与吸光度具备良好的线性关系。

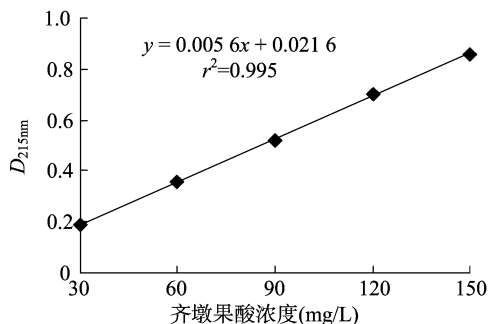


图1 齐墩果酸的紫外吸收标准曲线

**1.2.2 超声波辅助提取** 准确称取 5.0 g 干燥的女贞子粉末于 250 mL 具塞锥形瓶中,加入一定量的乙醇,按照设定的温度、时间进行超声辅助提取,提取结束后,减压抽滤,旋蒸,除去乙醇,得浸膏,将浸膏分散于 10 mL 蒸馏水中,用适量水饱和的正丁醇分 3 次进行萃取,收集萃取液,再次用旋转蒸发器除去正丁醇直至无醇味,用甲醇溶解并定容于 50 mL 容量瓶中。准确移取 0.50 mL 提取液稀释定容至 10 mL,按“1.2.1”法进行测定。

女贞子中齐墩果酸得率 = 溶液中齐墩果酸的浓度 × 稀释倍数 × 定容体积 / 女贞子粉末质量 × 100% =  $(D_{215\text{nm}} - 0.0216) / 0.0056 \times (10/0.50) \times 50 \times 10^{-6} / 5.0 \times 100\%$ 。

**1.2.3 女贞子中齐墩果酸的抗氧化作用试验** 准确吸取 0.20 mL 不同浓度的女贞子齐墩果酸提取液于比色管中,加入预先配制好的 4 mL 0.15 mmol/L 的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH 自由基)甲醇溶液,摇匀后暗处放置 30 min,以样品溶剂为对照,测定其在 525 nm 处的吸光度 D,同时测

收稿日期:2016-04-14

基金项目:江苏省大学生实践创新训练计划(编号:201512806013Y)。

作者简介:王莹(1983—),女,硕士,讲师,主要从事药物分析研究。

Tel:(0523)86158186;E-mail:wonderful899@126.com。

定样品溶液在 525 nm 处的吸光度  $D_0$  及 DPPH 甲醇溶液在 525 nm 处的吸光度  $D_1$  <sup>[7-9]</sup>。

$$\text{清除率} = [1 - (D - D_0) / D_1] \times 100\%。$$

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对提取齐墩果酸的影响 准确称取 5.0 g 女贞子粉末 5 份,分别加入 30、35、40、45、50 mL 90% 乙醇(即料液比分别为 1:6、1:7、1:8、1:9、1:10, g: mL),在 30 ℃ 下超声 30 min 提取,结果见图 2。

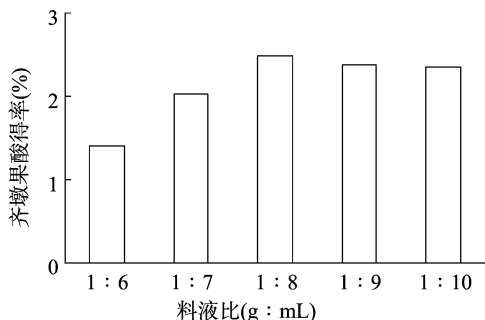


图2 料液比对齐墩果酸得率的影响

由图 2 可知,随着料液比的增大,从女贞子中提取齐墩果酸的得率逐步提高,当料液比达到 1:8 时,齐墩果酸得率达到峰值,之后基本保持不变。这是由于料液比较小时,乙醇溶液与药材间浓度梯度小,传质推动力相应较小<sup>[10]</sup>,齐墩果酸没有全部溶出,当料液比达到 1:8 时,齐墩果酸基本溶出。

2.1.2 超声时间对提取游离齐墩果酸的影响 准确称取 5.0 g 女贞子粉末 5 份,倒入具塞锥形瓶中,各加入 40 mL 90% 乙醇,在 30 ℃ 条件下分别超声 0、15、30、45、60 min。由图 3 可见,齐墩果酸的得率随着超声时间的增长不断增加,超声时间超过 30 min 后,齐墩果酸的得率趋于稳定。

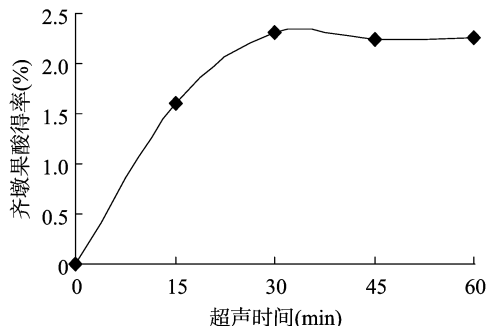


图3 超声时间对齐墩果酸得率的影响

在传统醇提工艺中,女贞子中齐墩果酸的回流提取时间长达 2~3 h<sup>[10-11]</sup>。与传统工艺相比,超声缩短了提取所需时间,效率大幅度提高。这可能是由于超声的空化作用有效地击破了植物细胞壁,使得细胞的通透性显著增大,加速齐墩果酸溶入乙醇溶液中<sup>[12]</sup>。

2.1.3 提取温度对提取游离齐墩果酸的影响 准确称取 5.0 g 女贞子粉末 5 份,各加入 40 mL 90% 乙醇,分别在 20~60 ℃ 条件下超声 30 min,结果见图 4。

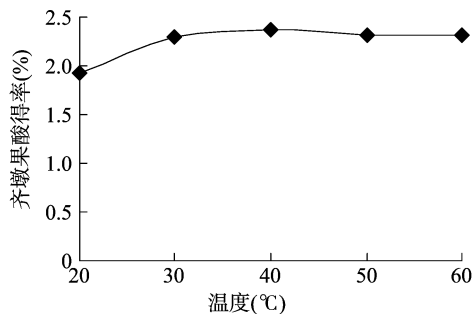


图4 提取温度对齐墩果酸得率的影响

由图 4 可知,提取温度在 20~40 ℃ 内,女贞子中齐墩果酸的得率随着提取温度的升高而略有增大,当温度超过 40 ℃,齐墩果酸的得率基本不变。

2.1.4 乙醇浓度对提取游离齐墩果酸的影响 准确称取 5.0 g 女贞子粉末 5 份,分别加入 40 mL 浓度为 80%、85%、90%、95%、100% 的乙醇,在超声温度 30 ℃、提取时间 30 min 条件下进行超声提取,结果见图 5。

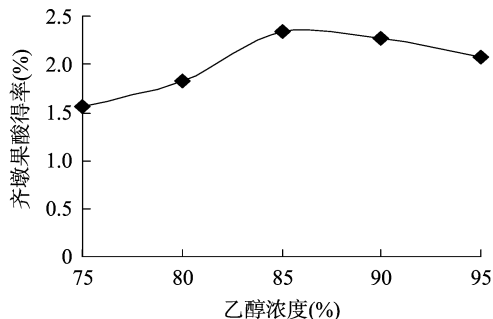


图5 乙醇浓度对齐墩果酸得率的影响

由图 5 可见,在其他条件不变的情况下,随着乙醇浓度的增大,齐墩果酸的得率先增大后减小,当乙醇浓度为 85% 时,齐墩果酸的得率最高。这是由于齐墩果酸在 50%~85% 乙醇溶液中,溶解度随醇浓度的升高而增加<sup>[13]</sup>,即醇浓度升高有利于齐墩果酸的溶出;但当乙醇体积分数超过 85% 时,高浓度的乙醇溶液具有强烈的吸水作用,影响女贞子细胞的溶胀,抑制齐墩果酸的释放,从而导致齐墩果酸得率下降<sup>[14]</sup>。

### 2.2 女贞子中齐墩果酸提取条件的优化

2.2.1 正交试验 在单因素试验的基础上,以料液比(A)、提取时间(B)、提取温度(C)、乙醇浓度(D)为因素,采取  $L_9(3^4)$  正交进行试验,正交设计见表 1,所得结果见表 2。以齐墩果酸的得率为指标,通过直观分析正交试验的结果,优化女贞子中齐墩果酸的最佳提取条件。

表 1 超声波辅助提取法正交试验因素水平

水平	因素			
	A:料液比 (g: mL)	B:超声时间 (min)	C:提取温度 (°C)	D:乙醇浓度 (%)
1	1:6	15	30	80
2	1:7	30	40	85
3	1:8	45	50	90

从表 2 可以看出,通过比较料液比、超声时间、提取温度、乙醇浓度这 4 个因素的  $R$  值,发现  $R_B > R_A > R_D > R_C$ ,说明超

表 2 超声波辅助提取法正交试验结果

试验号	A	B	C	D	齐墩果酸得率 (%)
1	1	1	1	1	1.37
2	1	2	2	2	2.22
3	1	3	3	3	2.28
4	2	1	2	3	1.45
5	2	2	3	1	2.25
6	2	3	1	2	2.41
7	3	1	3	2	1.72
8	3	2	1	3	2.51
9	3	3	2	1	2.27
$k_1$	1.957	1.513	2.097	1.963	
$k_2$	2.037	2.327	1.980	2.117	
$k_3$	2.167	2.320	2.083	2.080	
$R_j$	0.210	0.814	0.117	0.154	

声时间对女贞子中齐墩果酸得率的影响最大,料液比次之。由正交试验结果可知,较优的提取条件为  $A_3B_2C_1D_2$ ,即料液比为 1 g : 8 mL、超声时间为 30 min、提取温度为 30 ℃、乙醇浓度为 85%。

2.2.2 验证试验结果 采用正交试验确定的优化条件进行提取,女贞子中齐墩果酸得率平均达 2.58% (表 3),高于表 2 中所有试验组合的齐墩果酸得率。

表 3 试验结果验证

序号	齐墩果酸得率 (%)
1	2.56
2	2.61
3	2.58
平均值	2.58

2.3 女贞子中游离齐墩果酸的抗氧化活性

女贞子中游离的齐墩果酸对 DPPH 自由基具有一定的清除能力,且清除能力与齐墩果酸浓度呈现明显的量效关系 (图 6),即随着齐墩果酸浓度的升高,对 DPPH 自由基的清除能力不断升高。当齐墩果酸浓度为 0.2 mg/mL 时,齐墩果酸对 DPPH 自由基的清除率最小,仅有 27.20%。而当齐墩果酸浓度达到 1.0 mg/mL 时,齐墩果酸对 DPPH 自由基的清除率高达 85.80%,且趋于稳定。

3 结论与讨论

本试验采用超声辅助提取女贞子中的齐墩果酸,在提取过程中,料液比、超声时间、提取温度以及乙醇浓度等因素均能直接影响齐墩果酸的得率。与传统溶剂提取法相比,超声辅助提取无需高温,提取效率高。当料液比为 1 g : 8 mL、超声时间为 30 min、提取温度为 30 ℃、乙醇浓度为 85% 时,齐墩果酸得率为 2.58%。齐墩果酸对 DPPH 具有较好的清除能力,清除能力随着齐墩果酸质量浓度的增加而增强,当质量浓度为 1.0 mg/mL 时,齐墩果酸对 DPPH 自由基的清除率高

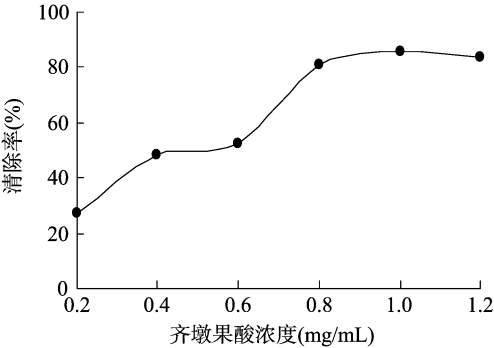


图 6 女贞子中游离齐墩果酸对 DPPH 的清除作用

达 85.80%。

参考文献:

[1] 吕佳飞,李文飞,冯伟,等. 微波法提取红枣中齐墩果酸的工艺条件优化研究[J]. 化工技术与开发,2010,39(6):21-24.

[2] 陈秋实,吴杰,李威,等. 从木瓜成叶中提取齐墩果酸及羟丙基-β-环糊精包合工艺研究[J]. 中药材,2010,3(5):804-806.

[3] 刘智华. 女贞子齐墩果酸的提取及其降血糖作用研究[D]. 杨凌:西北林业科技大学,2007.

[4] 吴林蔚,蒲菁,陈晓珍,等. 齐墩果酸对卵巢癌细胞 IGROV1 和乳腺细胞 MDA-MB-231 生长的抑制作用[J]. 应用与环境生物学报,2010,16(2):202-204.

[5] 赵龙铨,贺兴隆,金礼吉,等. 齐墩果酸和甘草次酸衍生物的合成与表征及抗癌活性研究[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版),2010,33(4):474-476.

[6] 邸金明,刘彬彬,赵婧,等. 齐墩果酸 5 种含量测定方法的比较研究[J]. 西北药学杂志,2013,28(5):483-486.

[7] 王兴娜,汪晶,黄午阳,等. 青梅果实不同极性组分的抗氧化活性[J]. 江苏农业学报,2016,32(1):211-215.

[8] 彭长连,陈少薇,林植芳,等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展,2000,27(6):658-661.

[9] 朱海军,生静雅,张普娟,等. 贮藏温度对薄壳山核桃抗氧化功能及品质的影响[J]. 江苏农业学报,2015,31(2):449-453.

[10] 黄湘兰,彭拓华. 正交试验对女贞子提取工艺的优选[J]. 中药材,2000,23(10):644-645.

[11] 郭宇洁,任焱,葛艳艳,等. 正交试验法比较女贞子中齐墩果酸与特女贞苷的乙醇提取工艺[J]. 中成药,2013,35(2):277-281.

[12] 杨义芳,孔德云. 中药提取分离新技术[M]. 北京:化学工业出版社,2010.

[13] 唐凤翔,朱忠敏,李小虎. 乙醇-水体系中齐墩果酸的溶解度和反应结晶介稳区[J]. 高校化学工程学报,2011,25(5):893-896.

[14] 王莹,王华,张龙,等. 响应面法优化朝天椒中辣椒碱类物质的提取工艺[J]. 中国调味品,2015,40(3):37-41.