

金樱子总有机酸的超声提取工艺研究

【摘要】目的：研究金樱子总有机酸的最佳超声提取工艺。方法：采用超声提取法，以总有机酸提取率为指标，考察超声功率、超声时间、乙醇体积分数三个因素，并利用正交试验法优化得到最佳提取工艺。结果：金樱子总有机酸的平均加样回收率为100.58%，RSD为2.42%；最佳超声提取工艺为超声功率为450W、超声时间60min、乙醇体积分数50%，在此条件下金樱子总有机酸平均提取率为0.76%。结论：正交试验法优化得到的金樱子总有机酸最佳超声提取工艺稳定，可行。

【关键词】金樱子；总有机酸；超声提取法；正交试验法；提取工艺

Study on Ultrasonic Extraction Technology of Total Organic Acids from Rosa Laevigata

[Abstract] Objective:To study the optimal ultrasonic extraction technology of total organic acids from Rosa laevigata . **Methods:**The extraction rate of total organic acids was taken as the index by ultrasonic extraction method. The ultrasonic power, ultrasonic time and ethanol volume fraction were investigated, and the optimal extraction process was obtained by orthogonal test. **Results:** The average recovery of total organic acids was 100.58%, RSD were 2.42%. The optimal extraction conditions were ultrasonic power of 450W, ultrasonic time of 60min and ethanol volume fraction of 50%. Under these conditions, the average extraction rate of total organic acids was 0.76%. **Conclusion:** The optimal ultrasonic extraction technology of total organic acids from Rosa laevigata is stable and feasible.

[Keywords] Rosa laevigata Total organic acid Ultrasonic extraction
Orthogonal test method Extraction technology

目 录

1 前言	1
2 材料与仪器	3
2.1 材料	3
2.2 仪器	3
3 方法与结果	4
3.1 对照品溶液制备	4
3.2 供试品溶液制备	4
3.3 电位滴定法的测定	4
3.4 电位滴定的可行性研究	4
3.4.1 枸橼酸对照品溶液突跃范围试验	4
3.4.2 金樱子供试品溶液突跃范围试验	5
3.5 方法学考察	6
3.5.1 精密度试验	6
3.5.2 稳定性试验	6
3.5.3 重复性试验	6
3.5.4 加样回收率试验	7
3.6 单因素试验	7
3.6.1 乙醇体积分数	7
3.6.2 超声功率	8
3.6.3 超声时间	9

3.7 正交试验优化	10
3.8 最佳工艺验证	12
4 讨论	13
4.1 提取溶剂的选择	13
4.2 NaOH 溶液浓度的选择.....	13
4.3 超声温度的控制	14
4.4 实验操作的注意事项	14
4.5 展望	15
5 结论	16
参考文献	17
致谢	19

1 前言

金樱子是蔷薇科植物金樱子的干燥成熟果实，《雷公炮炙论》对金樱子的记载，是众多文献记载里面最早的一个。金樱子在不同的文献记载中有着许多不同的别称，如在《蜀本草》中记载，五代后蜀时期人们称为“刺榆子”；在宋代的《开宝本草》中称为“刺梨子”；在极具岭南特色的地方本草书籍《生草药性备要》中称为“糖莺子”，等等。我国中部地区、华南地区、华东地区等都有药用植物金樱子的分布，其生长环境多为荒山多石的地方，正是金樱子分布地域广，而不同地区的叫法又各不相同，导致其别名很多，但细究会发现众多古籍都有对这味药的记载。金樱子功效有固崩止带，涩肠止泻，固精缩尿等，主治崩漏带下，遗尿尿频，遗精滑精，久泻久痢 Error! Reference source not found.。

在现代的研究报告中发现，金樱子主要化学成分包含黄酮类、苯丙素类、有机酸类以及多糖类、鞣质类等化合物。它的药理作用十分广泛，不仅具有收敛止泻的作用、而且能增强及调节免疫机能、还能抗氧化、降血脂、抗炎抗菌抗病毒，对神经、肝脏、肾脏也有保护作用 Error! Reference source not found.。

有机酸类化合物是中药中的一类重要活性成分，但在过去的研究中，有机酸类物质并不受科研人员的重视，有关于有机酸类的课题和文献较少，专家和科学技术人员们更多偏向于研究黄酮类、萜类、生物碱类等活性成分，正是随着天然药物学和药理学这些新兴学科的设立和发展，较为小众化的有机酸类化合物及其药理活性才受到关注，并越发得到重视和研究，发掘它的作用功效和药理作用机制以及研究其临床综合应用等。报道中特别常见的包括没食子酸、绿原酸、熊果酸、齐墩果酸、枸橼酸等等 Error! Reference source not found.。随着深入研究，有机酸诸多潜在的药理作用被挖掘，例如，阿魏酸具有对抗血小板聚集的功效；琥珀酸、水杨酸、丁香酸等有助于冠心病的防治；三萜类有机酸则被发现具有拮抗疱疹病毒的活性 Error! Reference source not found.；有的熊果酸还是潜在的抗炎和抗关节炎成分 Error! Reference source not found.。所以，有机酸的研究是大势所趋，而有机酸的提取是首要工作，鉴于蔷薇科植物金樱子的果实酸味较重，且目前对金樱子总有机酸提取工艺的研究少之又少，因此可以对此展开深入的探究。

随着时代的发展，提取有机酸的方法技术愈发先进。传统的方法有煎煮、渗漉、回流提取、水蒸汽蒸馏法等等。虽然传统溶剂萃取技术具有介质成本低、设备简单、易于工业化生产等优点，但存在耗时长、药材量消耗大、耗能多、劳动强度较大、收率不高、长时间高温下会损坏热敏元件和残留有害物质等诸多不足的地方。现如今，高新提取技术也在不断的发展和创新，超声波提取技术、超临界流体萃取技术、微波萃取技术、酶解技术、联用技术、半仿生提取技术等各有优势 Error! Reference source not found.。例如，植物细胞存在细胞壁，细胞内有效成分被包裹于植物细胞壁内，乙醇很难渗透使之脱离溶解出来，而超声提取法中，超声波具有超强的穿透力，在超声波高速和强烈振动的作用下，大量的金樱子肉细胞的细胞壁破裂，加快了提取溶剂渗入药材细胞内部的速率，有效成分充分溶解于提取溶剂中，极大地增强了中药材的提取效果 Error! Reference source not found.，除此之外，超声提取一般在常温左右下进行，避免了有效成分的化学结构被高温破坏。但是在提取不同药物的特定有效成分时，并不是说使用高新提取技术就一定比传统的提取工艺要好，在实际生产中需要根据每种有机酸独特的理化性质来选择合适的提取工艺。例如，超声波提取技术与传统技术相比确实能加快提取效率，但超声波会助推一些氧化还原反应向正方向进行，也能降解和解聚一些大分子化合物，或形成更复杂的化合物，影响我们特定成分的提取率。因此，在采用超声提取技术时，应探究超声功率、提取溶剂、提取时间等因素相互影响后的最优提取条件，致力于将所需有效成分提取率提升至最高。

通过查阅文献可知，测定中药材中总有机酸的方法有很多，如直接电位法测定提取物的 pH 值、电位滴定法 Error! Reference source not found. Error! Reference source not found.、紫外光谱法 Error! Reference source not found. Error! Reference source not found.、近红外光谱法 Error! Reference source not found. 等。而电位滴定法准确度较高、操作相对便捷，受到科研和技术人员的青睐，是应用相对较多的一种。虽然酸碱滴定法也有被用来测定中药材总有机酸的含量，但多数的中药提取物溶液的颜色较深，难以通过观察颜色的变化来确定滴定终点，这会对滴定终点的准确性有所影响甚至无法得出实验结果。相比之下，选择利用电动势的变化来判定滴定终点的电位滴定法测定中药材总有机酸的含量，可以弥补酸碱滴定法的不足，用此方法来测定金樱子总有机酸的含量更为可靠 Error! Reference source not found.。

本实验基于蔷薇科植物的果实类药材金樱子含有多种有机酸成分,且药用植物金樱子分布广泛,获取中药材原料的途径便捷容易,以此为对象开展有机酸提取工作,具有应用价值和可行意义。通过采用超声提取法,以金樱子总有机酸提取率为指标,进行单因素分析,并利用正交试验法优化得到金樱子总有机酸最佳超声提取工艺。

2 材料与仪器

2.1 材料

金樱子药材(批号:201101301、220700981,产地:广东,生产厂家:康美药业股份有限公司),枸橼酸对照品(批号:200107-190301,纯度:99%,生产厂家:江苏永健医药科技有限公司),其余试剂见表1。

表 1 主要试剂

名称	规格	生产厂家
氢氧化钠标准溶液	0.1002 mol/L	广州臻萃质检技术服务有限公司
磷酸盐标准缓冲溶液	PH=6.86	广检(广州)检测科技有限公司
邻苯二甲酸氢钾缓冲溶液	PH=4.00	广检(广州)检测科技有限公司
四硼酸钠标准缓冲溶液	PH=9.18	广检(广州)检测科技有限公司
95%乙醇	分析纯	广东广式试剂科技有限公司

2.2 仪器

表 2 主要实验仪器设备

仪器名称	型号	生产厂家
数控超声波清洗器	KH-500DE	昆山禾创超声仪器有限公司
酸度计	PHS-3C	上海佑科仪器仪表有限公司
万分之一电子天平	BSA224S	赛多利斯科学仪器公司
六两装高速万能粉碎机	QE-300	浙江屹立工贸有限公司
超薄磁力搅拌器	lab disc white	德国 IKA 集团

3 方法与结果

3.1 对照品溶液制备

精密称取枸橼酸对照品 25 mg，放入 50 mL 容量瓶，以 70%乙醇定容，得到枸橼酸对照品溶液（0.5 mg/mL），并将其放在 4°C的环境下冷藏备用。

3.2 供试品溶液制备

精密称取金樱子粉末 2.0 g，放入 100mL 具塞锥形瓶，加入 70%乙醇 100 mL，设置超声功率为 400 W，温度为 40 °C，提取时间为 30 min，过滤得到供试品溶液。

3.3 电位滴定法的测定

精密称取金樱子粉末 2.0 g，按“3.2”项下方法制备供试品溶液，精密吸取供试品溶液 30 mL 置于 100 mL 烧杯中，加入 10 mL 的蒸馏水，再加入搅拌子，用 0.01002 mol/L 浓度的 NaOH 溶液进行电位滴定，绘制 $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ 对 V 的二阶导数曲线图。图中 $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ 等于 0 的点所对应的体积即为滴定终点所消耗 NaOH 的体积。

3.4 电位滴定的可行性研究

3.4.1 枸橼酸对照品溶液突跃范围试验

精密吸取 10 mL 枸橼酸对照品溶液，置于 100 mL 烧杯，加入蒸馏水 20 mL，按“3.3”项下方法用 0.01002 mol/L 的 NaOH 溶液进行电位滴定，绘制 $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ 对 V 的二阶导数曲线，见图 1。结果显示，枸橼酸对照品溶液二阶导数曲线突跃明显， $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ 等于 0 的点便是滴定终点，实际消耗 7.75 mL NaOH 滴定液，与理论所需消耗 NaOH 体积（7.7969 mL）的相对偏差为 0.43%。

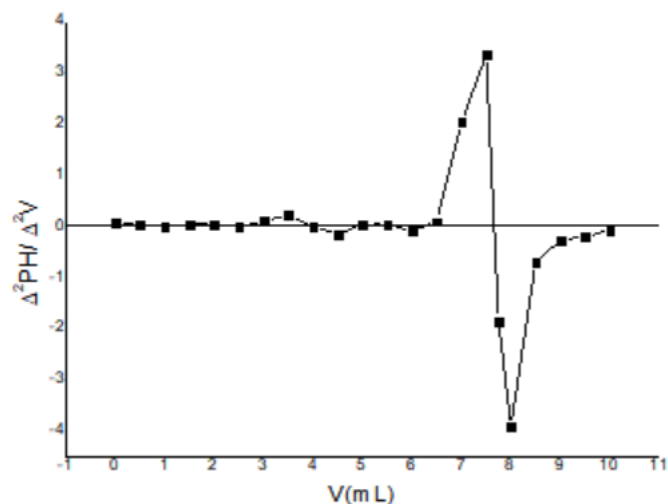


图 1 枸橼酸对照品溶液的 $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ 滴定曲线

3.4.2 金樱子供试品溶液突跃范围试验

精密称取金樱子粉末 2.0 g，放入 100 mL 具塞锥形瓶，加入 70%乙醇 100 mL，按“3.2”项下方法制备金樱子供试品溶液。精密吸取供试品溶液 30 mL 放入 100mL 烧杯中，加入 10 mL 蒸馏水，按“3.3”项下方法用 0.01002 mol/L 的 NaOH 溶液进行电位滴定，绘制 $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ 对 V 的二阶导数曲线图，见图 2。结果显示，金樱子供试品溶液二阶导数曲线突跃明显， $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ 等于 0 的点便是滴定终点，滴定终点对应消耗 NaOH 滴定液 5.25 mL。

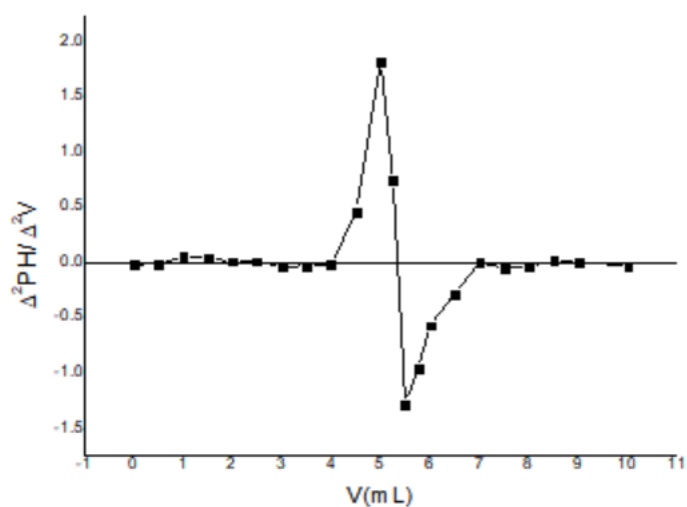


图 2 金樱子供试品溶液的 $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2v$ 滴定曲线

3.5 方法学考察

3.5.1 精密度试验

精密吸取 6 份枸橼酸对照品溶液 10 mL, 分别放入 100 mL 烧杯中, 各加入 20 mL 蒸馏水, 按“3.3”项下方法用 0.01002 mol/L 的 NaOH 溶液进行电位滴定, 绘制 $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ 对 V 的二阶导数曲线图, 测得消耗 NaOH 溶液体积, 计算 RSD 为 1.91%, 见表 3。结果表明该仪器精密度良好。

表 3 精密度试验结果

序号	消耗 NaOH 体积 (mL)	平均值 (mL)	RSD (%)
1	7.50		
2	7.60		
3	7.75		
4	7.90	7.73	1.91
5	7.80		
6	7.80		

3.5.2 稳定性试验

精密称取金樱子粉末 4.0 g, 放入 250 mL 具塞锥形瓶, 加入 70%乙醇 200 mL, 按“3.2”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取 6 份供试品溶液各 30 mL, 分别放入 100 mL 烧杯中, 加入蒸馏水 10 mL, 于 0、2、4、6、8、10 h 按照“3.3”项下方法用 0.01002 mol/L 的 NaOH 溶液进行电位滴定, 绘制 $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ 对 V 的二阶导数曲线图, 测得消耗 NaOH 溶液体积, 计算 RSD 为 2.00%, 见表 4。结果表明该金樱子供试品溶液在 10 h 内基本稳定。

表 4 稳定性试验结果

序号	放置时长 (h)	消耗 NaOH 体积 (mL)	平均值 (mL)	RSD (%)
1	0	5.25		
2	2	5.20	5.18	2.00
3	4	5.25		

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。

如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/557044123200006062>