

油茶果皮多元酚富集工艺研究

陈跃龙, 唐玲, 李红冰, 史丽颖, 冯宝民, 王永奇*

(大连大学生物工程学院, 辽宁 大连 116622)

摘要:目的 建立油茶果皮中多元酚的富集工艺。方法 油茶果皮用 60% 丙酮-水提取, 醋酸乙酯萃取后, 流经 D101 型大孔吸附树脂, 然后用不同浓度乙醇梯度洗脱, 最后紫外分光光度法测定多元酚含量。结果 60% 丙酮-水提取物中多元酚含量为 20.17%, 萃取后含量达到 30.6%, 用 30% 乙醇进行洗脱, 此组分含量可达 45%。结论 此工艺用于油茶果皮中多元酚的富集操作简单、效果好。

关键词: 油茶果皮; 多元酚; 大孔树脂; 富集工艺

中图分类号: R283 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2008)06-1369-01

Study on the Technology of Enriching Polyphenol from Camellia oleifera Abel Peel by Macroporous Resin

CHEN Yue-long TANG Ling LI Hong-bing SHI Li-ying FENG Bao-min WANG Yong-qi

(College of Bioengineering Dalian University Dalian 116622, China)

Abstract: Objective To establish a processing method for enriching polyphenol from Camellia oleifera Abel peel by macroporous resin that D101. Methods The peel of Camellia oleifera Abel was extracted by 60% acetone-H₂O and fractionated by ethyl acetate gradient alcohol elution was used to elute the components absorbed on macroporous resin and their contents were determined by spectrophotometry. Results The extraction of 60% acetone-H₂O was very good and the polyphenol was gathered in 40% alcohol. The content of polyphenol was 45%. Conclusion The processing technology can be used to enrich polyphenol from Camellia oleifera Abel peel.

Key words: Camellia oleifera Abel peel Polyphenol Macroporous resin Process

油茶果皮是油茶果实去籽后的干燥果壳。油茶 *Camellia oleifera* Abel 为山茶科山茶亚属油茶组植物, 在我国资源丰富。油茶根皮、花、种子、油粕早就被《中国药典》记载为药用^[1], 而茶油在 2005 年版《中国药典》才收载入药^[2]。现代研究证明, 油粕和油茶果皮均具有抑制肿瘤细胞生长的药理作用。到目前为止, 对油茶根皮、花、种子、油粕的研究均有报道^[3], 而对油茶果皮的研究却少之又少。前期研究得知油茶果皮含有大量的鞣质和皂苷类成分(钮炎星等。《中国粮食学会油脂专业分会第十四届学术年会论文集》)。为明确油茶果皮抗肿瘤作用的具体药用部位, 本文对采自广西巴马县的油茶果皮中多元酚类成分进行了富集工艺研究, 为进一步确认油茶果皮的抗肿瘤作用和开发应用提供理论依据。

1 仪器与试剂

Unico7200 可见分光光度计(尤尼科上海仪器有限公司); Laborat4000 型旋转蒸发器(Heidolph 公司); BP210 十万分之一电子天平(Sartorius 公司); JascoV-560 紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); 没食子酸(中国药品生物制品检定所); 所用试剂均为分析纯; 水为蒸馏水; 油茶果皮(2006-12 采自广西巴马县)。

2 方法与结果

2.1 样品提取 称取油茶果皮 250 g, 60% 丙酮-水回流提取 3 次, 1 h/次^[4], 合并提取液, 回收溶剂至干, 供用。

2.2 总多元酚含量测定

2.2.1 标准品与样品溶液的制备 精密称取 10 mg 干燥至恒重的没食子酸, 置于 100 ml 容量瓶中, 用水溶解, 精确配制 0.025

mg/ml 没食子酸标准品溶液, 备用。取 60% 丙酮-水提取浸膏 0.2457 g 置于 100 ml 容量瓶中, 加入水溶解至刻度, 摇匀过滤, 弃去初滤液 20 ml 左右。精确吸取续滤液 5 ml 置于 50 ml 棕色容量瓶, 加水稀释至刻度, 得样品溶液浓度为 0.2457 mg/ml。

2.2.2 测定波长的选择 标准品与样品加磷钼钨酸-碳酸钠显色剂^[5], 30 min 后用分光光度计在 400~800 nm 范围内, 对标准品和样品进行波长扫描, 结果在 754 nm 左右有最大吸收, 故以没食子酸最大吸收为基准, 选择 754 nm 作为测定波长。

2.2.3 标准曲线的绘制 精密吸取没食子酸标准溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ml 分别置于 10 ml 棕色容量瓶中, 加水至 5 ml 再分别加入 1 ml 磷钼钨酸, 用 29% 碳酸钠溶液稀释至刻度, 摇匀。以相同试剂为空白, 30 min 后在 754 nm 处测定其吸光度(A)。以 A 值为纵坐标, 体积 V(ml) 为横坐标, 得回归方程: $A = 0.3155V + 0.0079$ ($r = 0.9998$), 线性关系良好, 其线性范围为 0.0125~0.0625 mg/ml。

2.2.4 样品多元酚含量测定 精密吸取样品溶液 1.0 ml 置于 10 ml 棕色容量瓶, 依照标准曲线绘制项下的方法测定吸光度, 并计算多元酚含量, 浸膏中总多酚的含量为 20.17% ($n=5$), $RSD = 0.42%$ 。

2.3 萃取工艺研究 取干燥浸膏 10 g 直接加醋酸乙酯萃取, 可稍微加热, 然后减压下回收醋酸乙酯, 得到萃取样品 1.8 g 采用上述方法测定萃取物中多元酚含量, 结果为 30.6%, 收率为 18%。

2.4 大孔吸附树脂富集工艺研究

2.4.1 大孔吸附树脂的处理 将大孔树脂装入吸附柱中, 并保持 95% 乙醇液面高出树脂, 浸泡。之后 95% 乙醇洗涤树脂层, 至流出液加蒸馏水不呈白色浑浊(1:3 比例), 再用蒸馏水洗至无醇味即可。然后用 4% NaOH 溶液 1~2 体积动态洗涤-水洗至中性-4% HCl 1~2 体积酸洗, 最后用蒸馏水洗至中性备用。

2.4.2 洗脱溶剂考察 将萃取浸膏水溶解后流经处理好 D101 大孔吸附树脂, 静态吸附过夜。之后控制流速 3 ml/min 分别用水、浓度为 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 的乙醇溶液进行梯度洗脱, 各个梯度洗脱终点用磷钼钨酸-碳酸钠做指示剂。然后将

收稿日期: 2007-08-14 修订日期: 2007-12-18

基金项目: 辽宁省大连市科技计划项目(NQ 2007A13GX087)

作者简介: 陈跃龙(1982-), 男(汉族), 山西运城人, 现为大连大学在读硕士研究生, 主要从事天然活性物质的研究工作。

* 通讯作者简介: 王永奇(1946-) 男(汉族), 吉林德惠人, 现任大连大学生物工程学院教授, 博士学位, 主要从事天然药物的研究和开发工作。

各个梯度下洗脱液减压回收,将样品干燥测定多元酚含量。结果见表 1。

表 1 不同梯度多元酚含量及在水中的溶解性 %

| 洗脱剂 | 多元酚含量 | 水中溶解性 |
|-------|-------|-------|
| 水 | 56.4 | 易溶于水 |
| 10%乙醇 | 43.0 | 易溶于水 |
| 20%乙醇 | 52.4 | 易溶于水 |
| 30%乙醇 | 54.1 | 易溶于水 |
| 40%乙醇 | 37.9 | 微溶于水 |
| 50%乙醇 | 3.6 | 难溶于水 |

得到水—30%乙醇洗脱样品共 1.26g 收率为 12.6%。

2.4.3 工艺可行性考察 取干燥浸膏 10g 重复以上萃取过程,直接用 30%乙醇进行洗脱,得到洗脱样品 1.17g 并且多元酚含量为 4%,收率为 11.7%,与上述测定结果接近。

从以上结果看出,此工艺用于油茶果皮中多元酚的富集操作简单、重复性好。

3 讨论

经过大量文献调研表明,以没食子酸为对照品测定多元酚含量,方法简便、稳定性好、易于操作。结合油茶果皮中含有大量没食子酸及其衍生物,故选择以没食子酸为对照品,以分光光度法测定多元酚的含量。

富集多元酚的方法很多,传统的有醋酸铅沉淀法、明胶沉淀

法、溶剂法等,但作为药物应用来讲有其自身缺点,用大孔吸附树脂与乙醇洗脱体系结合则无污染且易于溶剂回收。同时多元酚在水中的溶解性大于在醋酸乙酯中,即多元酚在水中的分配比大于在醋酸乙酯中的分配比,所以要采用先水溶解提取物再醋酸乙酯萃取的方法,在水中仍会残有大量多元酚,萃取不完全。为了避免多元酚在水中的残留,选用了醋酸乙酯直接萃取的方法,实验结果表明此富集工艺效果较好。据报道植物中的多元酚类成分对肿瘤预防和控制恶化有重要作用。通过此富集工艺获得了油茶果皮中的多元酚类成分,这也为确认油茶果皮的抗肿瘤作用和开发应用提供了一条新途径。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典,上册[M]. 上海:上海科学技术出版社,2000:1603
 [2] 国家药典委员会. 中国药典, I 部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:278
 [3] 王永奇,等. 药用山茶属植物的研究[J]. 大连大学学报,2006,27(4):50
 [4] 林生深,张晋,张红,等. 从油茶果皮中提取天然抗氧化剂的研究[J]. 广东工业大学学报,1997,14(2):45
 [5] 王坤,鲁静. 中药材中鞣质含量测定方法研究[J]. 中国药事,2004,18(6):361

广西不同产地与加工方法山银花中绿原酸的含量比较

王柳萍¹, 辛宁^{1*}, 张守平², 彭英奎¹, 欧阳明秀²

(1. 广西中医学院, 广西南宁 530001; 2. 山东东阿阿胶股份有限公司, 山东聊城 252201)

摘要:目的 分析比较广西不同产地、不同加工方法山银花中绿原酸含量。方法 采用高效液相色谱法(HPLC)进行测定。色谱柱为 ODS-2 HYPERSIL (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈—0.4%磷酸(12:88), 检测波长 327 nm。结果 绿原酸在 0.25~2 μg 范围内线性关系良好(r=0.999 90), 样品平均回收率为 100.6%, RSD=2.98% (n=6)。结论 南宁九塘、罗城怀群乡、罗城龙岸乡、融水杆桐乡的山银花绿原酸的含量较高;以脱水加工的山银花中绿原酸含量最高,蒸干、熏硫的次之。

关键词: 山银花; 绿原酸; 高效液相色谱

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0805(2008)06-1370-02

Comparison of the Chlorogenic Acid Content of Flos Lonicerae with Different Origins and Different Processing Methods

WANG L iu-ping¹, XIN N ing^{1*}, ZHANG Shou-ping², PENG Y ing-kuai¹, OUYANG M ing-xiu²

(1. Guangxi Traditional Chinese Medical University Nanning 530001, China; 2. Dong'e Jiao Company Limited Shandong Liaocheng 252201, China)

Abstract: Objective To compare the chlorogenic acid content of Flos Lonicerae with different origins and different processing methods. Methods Experiments were performed on ODS-2 HYPERSIL column (250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile—0.4% H₃PO₄ (12:88), and the detection wavelength was 327 nm. Results The standard curve of chlorogenic acid was linear with the regression coefficient of 0.999 90 in the testing range of 0.25~2 μg. The average recovery was 100.6%, with RSD of 2.98% (n=6). Conclusion Content of chlorogenic acid in Flos Lonicerae from Jiutang Huaqun of Luocheng Longan of Luocheng Rongshui of Liuzhou was relatively higher. Chlorogenic acid in dehydrated Flos Lonicerae was relatively higher, the steamed and the one smoked with sulfur followed.

Key words: Flos Lonicerae; Chlorogenic acid; HPLC

收稿日期: 2007-07-16 修订日期: 2007-12-28

基金项目: 广西科技厅科技攻关项目 (N^o桂科攻 0424008-2D)

作者简介: 王柳萍 (1978-), 女(壮族), 广西南丹人, 现任广西中医学院讲师, 硕士学位, 主要从事中药商品质量与标准研究工作。

* 通讯作者简介: 辛宁 (1957-), 女(汉族), 广东南海人, 现任广西中医学院教授, 学士学位, 主要从事中药商品质量与标准研究工作。