

基于多指标综合检测优选莲子心提取工艺

熊荣枝¹, 郭利伟^{1*}, 罗静波¹, 牛俊凡², 李俊凯²

(1. 长江大学动物科学学院, 湖北荆州 434025; 2. 长江大学农学院, 湖北荆州 434025)

[收稿日期] 2016-09-07 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 02-0044-05 [中图分类号] S853.74

[摘要] 为了更好地挖掘莲子心功效, 为后续研究提供理论基础, 以干浸膏得率、总生物碱含量、总黄酮含量作为判定指标, 采用正交试验设计法, 以乙醇浓度、乙醇用量、回流时间、回流次数作为考察因素, 综合评价各因素对莲子心提取效果的影响, 优选出最佳提取工艺。结果表明, 莲子心的最佳提取工艺为 30 倍量的 80% 乙醇, 回流提取 2 次, 每次 30 min。该优选工艺客观可行、合理稳定, 为深入研究莲子心的药理作用及其工业化大生产提供理论基础。

[关键词] 莲子心; 提取工艺优选; 干浸膏得率; 总黄酮含量; 生物碱含量; 多指标综合评价

Optimization of Extraction Technology for Lotus Plumule by Multiple - Index Comprehensive Detection

XIONG Rong - zhi¹, GUO Li - wei^{1*}, LUO Jing - bo¹, NIU Jun - fan², LI Jun - kai²

(1. College of Animal Sciences, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China;

2. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

Abstract: In order to better explore lotus plumule effect and provide theoretical basis for the follow - up study, the extraction technology of lotus plumule was optimized by orthogonal experiment. The extract yield, total alkaloid content and total flavonoids content were used as comprehensive evaluation indexes. The concentration of ethanol, amount of ethanol, extraction time, extraction times were selected as factors. The orthogonal design was used to comprehensively evaluate of the factors of the lotus plumule extraction effect influence, and choose the optimal optimum extraction process. The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: refluxing extracted 2 times with 30 folds, 80% ethanol, 30 min for each time. This result was concluded that the optimized extraction process was objective, practical, reasonable and stable, which provided a theoretical basis for the further study of the pharmacological effects of lotus plumule and its industrial production.

Key words: lotus plumule; optimization of extraction process; dry extract rate; total flavonoids; alkaloid content; comprehensive evaluation by multi - target components

基金项目: 国家自然科学基金项目(31602099)

作者简介: 熊荣枝, 从事中兽药及猪病防控方面的研究。

通讯作者: 郭利伟。E - mail: guolw@yangtzeu.edu.cn

莲子心为睡莲科植物莲 (*Nelumbo nucifera Gaertn.*) 成熟种子中的干燥幼叶和胚芽, 味苦, 性寒; 归心、肾经, 具有清心安神、交通心肾、涩精止血功效, 用于热入心包、神昏谵语、心肾不交、失眠遗精、血热吐血等症^[1]。现代研究表明, 莲子心中主要化学成分有生物碱类和黄酮类, 2015 年版《中国药典》的莲子心含量测定项下则以莲心碱为质量控制指标性成分^[2]。

目前, 莲子心的基础研究及其深加工技术的开发工作还显欠缺, 其相关产品研制多年, 仍不能形成稳定的产品进入市场, 主要是受莲子心提取液稳定性差的严重制约^[3-4]。为了更好地挖掘莲子心这一宝贵的天然资源, 优化其提取工艺要以多成分为指标, 才能建立更为合理的提取工艺。因此, 本试验选取干浸膏得率、总生物碱含量、总黄酮含量作为判定指标, 采用正交试验设计法优选莲子心的提取工艺, 为深入研究莲子心的药理作用及其工业化大生产提供理论基础。

1 材料

1.1 药品与试剂 莲子心, 湖北省荆州市广生堂大药房, 安徽友信药业有限公司产品, 原产地湖南, 生产批号: 150303; 芦丁标准品、莲心碱高氯酸盐, 中国药品生物制品检定所; 无水乙醇、NaNO₂、Al(NO₃)₃、NaOH、盐酸、十二烷基磺酸钠、冰醋酸均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 甲醇、乙腈、色谱纯, 德国 Merck 公司。

1.2 仪器 日本岛津 LC-10Avp 高效液相色谱仪及 Class-vp 色谱工作站, UV-Vis 检测器; UV-5500 PC 紫外分光光度计 (上海元析仪器有限公司)。

2 方法

2.1 正交试验设计 设计四因素三水平的正交试验。在单因素的基础上, 设定乙醇浓度(A)、乙醇用量(B)、回流时间(C)、回流次数(D) 4 个试验因素, 每个因素设计 3 个水平, 以干浸膏得率、总生物碱含量、总黄酮量为指标, 选择 L₉(3⁴) 进行正交试验, 研究提取工艺的最佳条件, 试验因素水平设计见表 1。

表 1 因素水平表

水平	因素			
	乙醇浓度 A/%	乙醇用量 B/(g · mL ⁻¹)	回流时间 C/(t · min ⁻¹)	回流次数 D/次
1	70	1:10	30	1
2	80	1:20	60	2
3	90	1:30	90	3

2.2 莲子心干浸膏的制备方法 称取粉碎好的干莲子心 5 g, 共 9 份, 按照正交设计方案制备, 85 °C 回流提取, 合并提取液, 浓缩, 减压干燥至恒重, 计算浸膏得率(w), 保存备用。

2.3 含量测定 莲子心总生物碱含量测定参照《中国药典》^[2] 含量测定方法, 用高效液相色谱法测定。莲子心总黄酮含量测定采用紫外分光光度法^[5]。分别制备标准曲线, 然后根据样品的吸光度求出含量。

2 结果与分析

2.1 正交试验直观分析结果 正交试验直观分析

$$X = \begin{pmatrix} 25 & 38.2 & 37.8 & 33.6 & 31.6 & 28.8 & 24.2 & 21 & 18.6 \\ 0.40 & 0.16 & 0.18 & 0.31 & 0.06 & 1.10 & 0.11 & 0.15 & 0.19 \\ 1.90 & 2.60 & 1.04 & 5.75 & 1.41 & 0.94 & 5.22 & 1.86 & 2.25 \end{pmatrix}$$

结果见表 2。在乙醇浓度为 70%、乙醇用量 1:10、提取 2 次、回流时间 60 min 的条件下莲子心干浸膏得率最高, 达到 38.2%; 在乙醇浓度为 80%、乙醇用量 1:30、回流提取 2 次、回流时间 30 min 的条件下莲子心生物碱的含量最高, 达到 1.10%; 在乙醇浓度为 80%、乙醇用量 1:10、回流提取 3 次、回流时间 60 min 的条件下莲子心总黄酮的含量最高, 达到 5.75%。

2.2 多指标综合分析莲子心提取工艺的结果 根据文献所给出的步骤^[6-8], 建立原始评价指标矩阵, 原始评价矩阵如下:

表2 正交试验直观分析结果

试验	因素				干浸膏得率/%	生物碱含量/%	总黄酮含量/%
	乙醇浓度 A/%	乙醇用量 B/(g·mL ⁻¹)	回流时间 C/min	回流次数 D/次			
1	70	1:10	30	1	25	0.40	1.90
2	70	1:20	60	2	38.2	0.16	2.60
3	70	1:30	90	3	37.8	0.18	1.04
4	80	1:10	60	3	33.6	0.31	5.75
5	80	1:20	90	1	31.6	0.06	1.41
6	80	1:30	30	2	28.8	1.10	0.94
7	90	1:10	90	2	24.2	0.11	5.22
8	90	1:20	30	3	21	0.15	1.86
9	90	1:30	60	1	18.6	0.19	2.25
得率	K1	33.7	27.6	24.9	25.1		
	K2	31.3	30.3	30.1	30.4		
	K3	21.3	28.4	31.2	30.8		
	R	12.4	2.7	6.3	5.7		
生物碱	K1	0.247	0.273	0.550	0.217		
	K2	0.490	0.123	0.220	0.457		
	K3	0.150	0.490	0.117	0.213		
	R	0.340	0.367	0.433	0.244		
总黄酮	K1	0.018	0.043	0.016	0.019		
	K2	0.027	0.020	0.035	0.029		
	K3	0.031	0.014	0.026	0.029		
	R	0.013	0.029	0.019	0.010		

计算 Pij,将原始评价矩阵转换为“概率”矩阵。

$$P = \begin{pmatrix} 0.0966 & 0.1476 & 0.1461 & 0.1298 & 0.1221 & 0.1113 & 0.0935 & 0.0811 & 0.0719 \\ 0.1504 & 0.0602 & 0.0677 & 0.1165 & 0.0226 & 0.4135 & 0.0414 & 0.0564 & 0.0714 \\ 0.0826 & 0.1132 & 0.0454 & 0.2503 & 0.0612 & 0.0410 & 0.2274 & 0.0809 & 0.0978 \end{pmatrix}$$

计算各项评价指标的信息熵,Hi = [0.9876
0.8284 0.9898 0.9145]

计算第 i 项指标的权系数。Wi = [0.0460
0.6367 0.2715 0.3173]

对于 1 个 m 行 n 列的概率矩阵,综合评价指标 M_m
= $P_{1m} \times W_1 + P_{2m} \times W_2 + P_{3m} \times W_3 + \cdots + P_{nm} \times W_n$ 。

将概率矩阵的数据进行加权处理,得到综合评价
价指标 M,再进行方差分析,以确定最优试验方案。
正交试验结果见表 3,方差分析见表 4。

由极差分析结果可知,各因素对综合指标的影

响主次顺序为 C > B > A > D,即回流时间 > 乙醇用
量 > 乙醇浓度 > 回流次数。方差分析结果表明,各
因素对 M 值有显著性影响。最终确定最佳提取工
艺为 A2B3C1D2,即加 30 倍量 80% 乙醇,提取2 次,
每次 30 min。

2.4 验证试验 为确证该工艺的优劣和稳定性,
按最佳条件提取莲子心 3 批进行验证,测定各指标
成分提取率,计算综合评分,结果见表 5。RSD 为
0.996%。结果表明,优化后的莲子心提取工艺稳
定可行。

表3 综合评价指标 M 的直观分析结果

试验	因素				M
	乙醇浓度 A/%	乙醇用量 B/(g·mL ⁻¹)	回流时间 C/min	回流次数 D/次	
1	70	1:10	30	1	0.1264
2	70	1:20	60	2	0.0810
3	70	1:30	90	3	0.0642
4	80	1:10	60	3	0.1596
5	80	1:20	90	1	0.0394
6	80	1:30	30	2	0.2814
7	90	1:10	90	2	0.1028
8	90	1:20	30	3	0.0653
9	90	1:30	60	1	0.0798
K1	0.091	0.130	0.158	0.082	
K2	0.160	0.062	0.107	0.155	
K3	0.083	0.142	0.069	0.096	
R	0.077	0.080	0.089	0.073	

表4 综合评价指标 M 的方差分析表

因素	偏差平方和 SS	自由度 f	F 比	F 临界值	显著性
乙醇浓度 A	0.011	2	1.023	4.460	*
乙醇用量 B	0.011	2	1.023	4.460	
回流时间 C	0.012	2	1.116	4.460	
回流次数 D	0.009	2	0.837	4.460	
误差	0.04	8			

表5 验证试验结果

试验号	干浸膏得率/%	生物碱含量/%	总黄酮含量/%	M
1	28.2	1.11	1.02	0.2848
2	28.6	1.08	0.96	0.2768
3	28.8	1.16	1.00	0.2966

3 讨论与小结

多指标综合评价应用在活性生物提取工艺能够更好的优选出简单、高效、节约成本的工艺技术。如孙东东等^[9]运用多指标综合检测法以单体直铁线莲宁 B 提取率、总木脂素及总酚提取率等 3 项检测指标优选了板蓝根提取工艺。吴杨等^[10]将具有明确药理作用的木脂素类成分、酚酸类成分同时作为评价牛蒡子质量的指标性成分,全面评价了牛蒡子的质量优劣。可见,基于多指标综合评价能够优选生物活性物质的提取工艺,为实际生产中中药制剂工艺的优选,甚至制剂的质量控制提供有力的技术支撑,具有很好的借鉴意义。

莲子心是《中国药典》收录的草药,各地广泛种植,资源丰富,有重要的食疗作用^[1]。作为药食两用品种,莲子心具有抗肿瘤、保护心血管功能、抗氧化、抑制肝纤维化、降血糖、抑菌抗炎等作用^[11]。有关其化学成分的研究主要集中生物碱和黄酮两类化合物上。单锋采用 UPLC-ESI/Q-TOF-MS/MS 技术,在正离子模式下分析鉴定出莲子心中的 32 种功效物质,其中 26 种为生物碱,6 种为黄酮类成分^[12]。目前在莲子心质量评价中所选用的指标各不相同,有的选取总生物碱为指标性成分,有的选取总黄酮为指标性成分,如袁小红^[13]以总生物碱含量、干浸膏得率为指标,对水提取法、水提取醇

沉法、半仿生提取法、半仿生提取醇沉法提取莲子心中成分进行比较研究,优选莲子心的提取方法。雷鹏等^[14]以甲基莲心碱转移率为评价指标,采用正交实验法对莲子心的提取工艺进行了优选。刘产明等^[15]采用正交试验设计法,以莲子心总生物碱得率为指标,考察了不同影响因素对莲子心提取工艺的影响。赵婉等^[16]通过单因素控制法和正交试验,研究了超声波萃取法提取莲子心总黄酮的最佳工艺。

以单成分提取研究优化提取工艺存在一定的局限性,而将具有明确药理作用的生物碱类成分和黄酮类成分同时作为指标性成分,更能全面反映莲子心提取工艺的优劣。因此,本试验以干浸膏得率、总生物碱含量和总黄酮含量作为评价指标,采用多指标综合评价的方法优化了莲子心的提取工艺。

参考文献:

- [1] 何锦婷,虞舜. 莲子心的现代临床应用[J]. 长春中医药大学学报,2012,28(3):544-546.
- [2] 国家药典编委会. 中华人民共和国药典2015年版一部[S].
- [3] 郑宝东. 莲子科学与工程[M]. 北京:科学出版社,2010:1.
- [4] 吴梅青. 莲子心生物碱提取分离、鉴定及制剂研究概述[J]. 时珍国医国药,2012,23(9):2278-2280.
- [5] 林志钦. 莲子心总黄酮的提取纯化及其功能性研究[D]. 福

州:福建农林大学,2012.

- [6] 王仁杰,周恩丽,李森,等. 多指标正交试验法优选小续命汤醇提组药材的乙醇提取工艺[J]. 世界科学技术:中医药现代化,2015,17(9):1795-1800.
- [7] 吴璐,杨华生. 基于信息熵理论的中药提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):29-31.
- [8] 王晖,陈丽,陈垦,等. 多指标综合评价方法及权重系数的选择[J]. 广东药学院学报,2007,23(5):583-589.
- [9] 孙东东,何立巍,陈建伟,等. 基于多指标综合检测优选板蓝根提取工艺[J]. 北京中医药大学学报,2013,36(3):183-187.
- [10] 吴杨,周坚,闵春艳,等. 多指标正交试验优化牛蒡子提取工艺研究[J]. 世界中西医结合杂志,2015,10(1):40-42,61.
- [11] 李希珍. 莲子心化学成分及生物活性的研究[D]. 长春:吉林大学,2016.
- [12] 单锋. 荷叶、莲子心药效分化的分子机理研究[D]. 成都:成都中医药大学,2015.
- [13] 袁小红. 莲子心4种提取方法的比较研究[J]. 中国药房,2006,17(8):637-638.
- [14] 雷鹏,刘韶,李新中,等. 正交实验优选莲子心提取工艺[J]. 中国医学工程,2005,13(3):255-256,267.
- [15] 刘产明,卢宇. 多因素评价莲子心总生物碱提取工艺[J]. 中药材,2005,28(1):50-52.
- [16] 赵婉,黄中梅. 莲子心总黄酮的超声波萃取工艺研究[J]. 武汉生物工程学院学报,2014,12(4):247-250.

(编辑:陈希)