

枸杞叶中甜菜碱的提取^①

党军^{a,b} 刘增根^{a,b} 陶燕铎^a 邵赞^a 梅丽娟^a 于瑞涛^a 王启兰^{②a}

^a(中国科学院西北高原生物研究所 西宁市西关大街 59 号 810008)

^b(中国科学院研究生院 北京市 100049)

摘 要 用正交试验比较固液比、浸提时间、浸提温度、超声时间对甜菜碱提取率的影响,选取的因素中,对柴达木枸杞叶甜菜碱提取率影响程度依次为:超声时间>固液比>浸提时间>浸提温度。最佳提取工艺是固液比(g/mL)为 1:60,60℃,浸提 4h,超声 10min。

关键词 枸杞叶;甜菜碱;提取工艺

中图分类号:O657.7⁺2 文献标识码:A 文章编号:1004-8138(2011)05-2194-04

1 引言

柴达木枸杞系属宁夏枸杞(*Lycium barbarum*)。枸杞叶(天精草),气味苦寒。《本草纲目》指出天精草能“除烦益志,补五劳七伤,壮心气,去皮肤骨节间风,消热毒,散疮肿。枸杞叶富含甜菜碱,以及多种氨基酸和微量元素等。近年的药理和临床研究表明,甜菜碱具有增强免疫力、降血脂、抗氧化、抗肿瘤^[1,2],促进脂肪代谢、抗脂肪肝^[3,4]、保护肾脏、降压、缓和应激、增进食欲、稳定维生素等多种药理作用。

目前国内外对枸杞叶甜菜碱的研究尚未见报道,而柴达木盆地盛产枸杞,大量枸杞叶有待开发利用。本文选取固液比、浸提时间、浸提温度及超声时间为比较因素,以甜菜碱的提取率为评价指标,利用正交试验 $L_9(3^4)$ 筛选水提枸杞叶的最佳工艺条件,为充分利用该药材资源提供参考依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Agilent1200LC 高效液相色谱输液泵(美国 Agilent 公司);AG204 电子分析天平(瑞士梅特勒公司);UPI-1-520T 超纯水器(成都超纯科技有限公司);HH-4 型电子恒温水浴锅(常州国华电器有限公司);JP300 型超声波提取器(武汉嘉鹏电子有限公司)。

甜菜碱对照品(北京恒元启天化工技术研究院,批号:A0135)。检测用水为色谱纯(18.25M Ω ·cm),实验用水为蒸馏水。

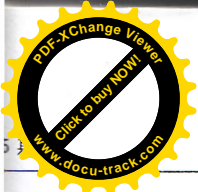
① 国家科技支撑计划项目(2007BA145B00)

② 联系人,手机:(0)18797150696;(0)13997068634;E-mail:dangjun1111@126.com;wql@nwipb.ac.cn

作者简介:党军(1986—),男,陕西省渭南市人,在读硕士,主要从事天然药物化学研究工作。

王启兰(1964—),女,青海省湟中县人,副研究员,硕士,主要从事微生物天然产物化学研究工作。

收稿日期:2010-12-07;接受日期:2010-12-30



供试材料

枸杞叶于2010年7月采自青海省都兰县。样品经中国科学院西北高原生物研究所高级工程师娟鉴定为枸杞属宁夏枸杞(*Lycium barbarum*)的叶。

实验方法

1 色谱条件

C₁₈柱(250mm×4.6mm,5μm),柱温:30℃;灵敏度:2.0AUFS;流动相:V(乙腈):V(0.2%磷酸)=15:85;流速:1.0mL/min;检测波长:192nm,进样量5μL。空白对照,标准品及样品色谱图见图1,图2及图3。

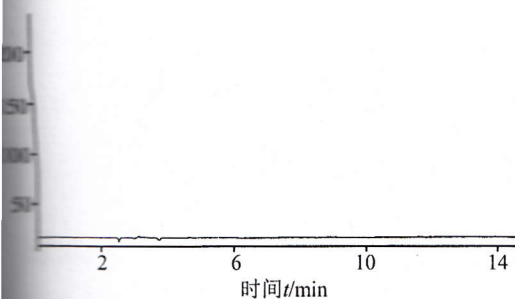


图1 空白对照色谱图

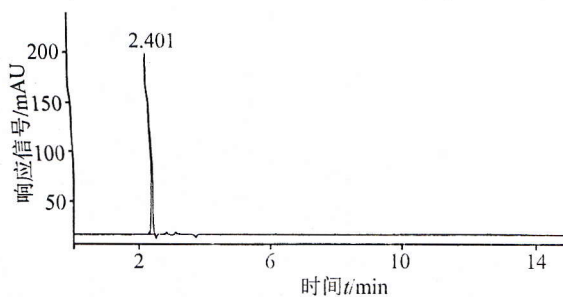


图2 甜菜碱对照品色谱图

2 样品的提取

根据文献报道及预实验结果,选定固液比、浸提时间、浸提温度、超声时间作为考察的4个因素,选择3个不同水平,以甜菜碱提取率为考察指标,因素水平表见表1。

2.1 对照品溶液的制备

准确称取甜菜碱对照品2.3mg置于50mL容量瓶中,加少量色谱纯水溶解,转移至5mL容量瓶中,用适量色谱纯水稀释至刻度,摇匀,得浓度为0.46mg/mL的对照品溶液,备用。

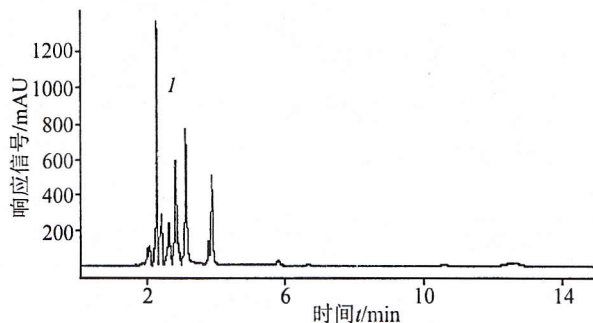


图3 样品色谱图

1—甜菜碱。

表1 因素水平表

水平	固液比 A (g/mL)	浸提时间 B (h)	浸提温度 C (℃)	超声时间 D (min)
1	1:40	4	40	10
2	1:60	8	50	20
3	1:80	12	60	30

2.2 样品溶液的制备

称取1g阴干的枸杞叶子粉末(过45目筛),用L₉(3⁴)正交表安排试验(见表2),高温浸提,超声时间至100mL容量瓶中,用蒸馏水定容,作为供试液。

结果与讨论

甜菜碱的校准曲线及线性范围

准确吸取甜菜碱对照品溶液1、3、5、7、9μL,在上述色谱条件下依次进样,以进样量(x)为横坐

标, 峰面积(y)为纵坐标得回归方程: $y = 90.37x + 6.11$, $r = 0.99998$ 。结果表明甜菜碱在0.46—4.14 μg 范围内呈良好的线性关系。

3.2 正交试验及结果

取样品溶液, 过直径为0.45 μm 的微孔滤膜, 分别进样5 μL , 结果见表2。由表2直观分析可知, R 值, 影响因素的大小顺序为 $D > A > B > C$, 最佳提取工艺是 $A_2B_1C_3D_1$, 即固液比(g/mL)为1:60, 60 $^\circ\text{C}$, 浸提4h, 超声10min。

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验表及结果

试验号	A	B	C	D	药材中甜菜碱含量(mg/g)
1	1	1	3	2	50.96
2	2	1	1	1	51.21
3	3	1	2	3	48.79
4	1	2	2	1	49.84
5	2	2	3	3	50.41
6	3	2	1	2	49.76
7	1	3	1	3	47.50
8	2	3	2	2	50.51
9	3	3	3	1	50.22
K1	148.30	150.96	148.47	151.27	
K2	152.13	150.01	149.14	151.23	
K3	148.77	148.23	151.59	146.70	
R	3.83	3.73	3.12	4.57	

3.3 正交试验方差分析

按方差分析理论得方差分析结果见表3。表3表明将浸提温度(C)当成误差时, 固液比(A)、浸提时间(B)、超声时间(D)都没有显著差异, 这表明4因素对甜菜碱的提取都是比较重要的。

表3 方差分析结果

方差来源	离均差平方和	自由度 ν	均方	F	P
A	2.909	2	1.454	1.617	0.382
B	1.280	2	0.640	0.712	0.584
C	1.798	2	2.300	1	—
D	4.601	2	2.300	2.558	0.281

注: $P < 0.05$ 。

3.4 最佳工艺验证试验

为了保证提取工艺的重现性和可行性, 对优选的方案进行验证试验, 结果见表4。可见该工艺稳定可行, 重现性好。

表4 验证试验结果

试验号	A	B	C	D	药材中甜菜碱含量(mg/g)	RSD (%)
1	2	1	3	1	51.17	
2	2	1	3	1	51.33	0.26
3	2	1	3	1	51.44	

4 结论

固液比(g/mL)为1:60, 60 $^\circ\text{C}$ 、浸提4h、超声10min对柴达木枸杞叶甜菜碱可实现最优提取, 药材中平均含量为51.31mg/g。最佳检测条件为: C_{18} 柱(250mm \times 4.6mm, 5 μm), 柱温:30 $^\circ\text{C}$, 检测波长192nm, 流动相: $V(\text{乙腈}) : V(0.2\% \text{磷酸溶液}) = 15 : 85$, 流速1.0mL/min, 该方法方便、灵



甜菜碱在
分析极差
(g/mL)为
(mg/g)

比(A)、浸
的。
P
1.382
1.584
1.281

见该工艺
RSD
(%)
1.26
提取,
IC,检测
方便、灵

效、可靠、快速,为以后枸杞叶的开发与利用提供理论依据。

参考文献

[1] 白寿宁. 宁夏枸杞研究[M]. 银川:宁夏人民出版社,1998. 552—554.
 [2] 钱斌丛,宇文萍. 枸杞子的化学成分及药理研究新进展[J]. 中医药学报,2000,(4):33—35.
 [3] 谢忱,徐丽珍,李宪铭等. 杨世林枸杞子化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(5):323—324.
 [4] 张宇金,高世勇,何立巍等. 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.

Extraction of Betaine in Leaf of *Lycium Barbarum*

DANG Jun^{a,b} LIU Zeng-Gen^{a,b} TAO Yan-Duo^a SHAO Yun^a
 MEI Li-Juan^a YU Rui-Tao^a WANG Qi-Lan^a

^a(Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, P. R. China)

^b(Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China)

Abstract The effects of ratio of solid and liquid, extraction time, extraction temperature, ultrasonic time on extraction rate of betaine in leaf of Qaidam *Lycium barbarum* were studied by orthogonal design. The order of factors affecting extraction rate of betaine was ultrasonic time > ratio of solid and liquid > extraction time > extraction temperature. The optimum extractions were as follows: solid-liquid ratio of 1 : 60, extraction temperature of 60°C, extraction time of 4h, ultrasonic time of 10min.

Key words Leaf of *Lycium Barbarum*; Betaine; Extraction Technics

关于赠送作者样刊、发放稿酬和购买书刊的通知

各有关作者:

本刊赠送作者发表自己论文的当期刊物(样刊),均按篇赠送2本,用挂号印刷品邮件,按稿件中标明的作者联系人姓名和地址邮出。样刊是赠品,一次性的,遗失不再补赠。若遗失或作者还有需要,请在出版之日起2个月之内汇款购买(2011年,60元/本,免收邮寄费),逾期不再办理。欲购买者,请通过电子邮件(发到 qpsys@periodicals.net.cn)与本编辑部联系。

由于普通印刷品邮寄的送达时间不稳定,若作者急需,最迟请在接到《发表通知》的电子邮件后,3日内预交特快专递费(30元/件),过时不候。

给作者发放的稿酬均邮寄给联系人,在发表之日后约20日左右汇出。请各位联系人接到邮局通知后,务必及时到邮局领取。若2个月未领[或作者联系人地址不正确(如挂名的、摆设的)、姓名有误],被邮局退回,本刊不再补发。

由于联系人是作者签署的《论文著作权转让书》确认的,因而变更联系人必须另签“变更《论文著作权转让书》的承诺书”。

《光谱实验室》编辑部