

微波法提取枸杞叶甜菜碱工艺的研究

党军^{1,2}, 王瑛^{1,2}, 陶燕铎², 邵贇², 梅丽娟², 王启兰^{2*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所 810008; 2. 中国科学院研究生院 北京市 100049)

摘要: 研究微波法提取枸杞叶中甜菜碱的最佳工艺, 考察工艺参数对枸杞叶中甜菜碱提取率的影响。以甜菜碱提取率为指标, 通过 $L_9(3^4)$ 正交实验与方差分析优选出枸杞叶中甜菜碱最佳提取工艺条件。结果表明, 最佳工艺为固液比为 (g: ml) 1:10, 20 min, 微波功率 200 w。枸杞叶中甜菜碱最佳提取率平均值可高达 4.48%。该工艺简单、稳定、可行。

关键词: 微波提取法; 甜菜碱; 正交实验; 提取工艺

中图分类号: Q599

文献标识码: A

文章编号: 1006-8376(2011)03-0027-03

枸杞 (*Lycium barbarum* L.) 俗名天精草, 国内宁夏、青海、新疆、河北、内蒙等地分布广泛^[1]。甜菜碱是枸杞叶中主要成分之一, 在体内起甲基供应体的作用, 具有抗脂肪肝的作用^[2,3]。廖国玲、杨文等^[4]测定了不同产地宁夏枸杞甜菜碱含量。微波提取法是近年来发展起来的新型提取技术, 与经典的回流法、超声法相比, 此法具有快速、高效等优点。已广泛用于中药、食品添加剂等有效成分的提取和研究。本研究通过正交实验优选微波法提取甜菜碱最佳工艺, 为进一步开发利用枸杞叶甜菜碱提供基础。

1 材料与方

1.1 材料与仪器

枸杞叶 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梅丽娟鉴定为枸杞属宁夏枸杞 (*Lycium barbarum*) 的叶; 甜菜碱标准品, 购自北京恒元启天化工技术研究院, 批号: A0135; 色谱用水为色谱纯, 提取用水为分析纯。

高效液相色谱仪 美国安捷伦科技有限公司; Agilent1200LC 高效液相色谱输液泵; AG204 电子分析天平; UPI-1-520T 超纯水器; MG08S-2B 型微波实验仪; DG-120 中药粉碎机。

1.2 实验方法

1.2.1 枸杞叶材料的制备 将自然阴干的枸杞叶粉碎过 45 目筛, 得到实验所需材料。

1.2.2 正交实验设计 根据单因素预试验并参考相关文献, 本实验采用正交实验, 枸杞叶粉碎度为 45 目,

选取固液比、提取时间、微波功率为因素, 每个因素取 3 个水平, 用 $L_9(3^4)$ 正交表设计安排实验, 以甜菜碱含量为考察指标, 正交实验因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

水平	因素		
	A 固液比 /g: ml	B 提取时间 /min	C 微波功率 /w
1	1:6	15	200
2	1:8	20	250
3	1:10	25	300

1.2.3 检测方法 甜菜碱检测采用 Agilent1200LC 高效液相色谱。色谱条件: Hypersil NH2 柱 (250 mm × 4.6 mm 5 μ L) 柱温 30 $^{\circ}$ C; 流动相为乙腈-水 = 85:15; 流速 0.9 ml · min⁻¹; 检测波长 195 nm, 进样 5 μ L。

1.2.4 标准品的制备 精密称取甜菜碱标准品 2.5 mg, 以 18.25M Ω · cm 色谱纯水定容于 5 mL 容量瓶中, 摇匀, 得浓度为 0.5 g · L⁻¹ 的标准品溶液备用。精密吸取甜菜碱标准品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12 μ L, 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: $Y = 82.64143X + 5.16$, $r = 0.99996$ 。结果表明甜菜碱在 1 μ g ~ 6 μ g 范围内呈良好的线性关系。

供试品的制备 按正交实验设计将阴干的枸杞叶粉末在不同的工艺条件下称取 5 g, 用 $L_9(3^4)$ 正交表安排实验 (见表 2), 微波提取, 过滤至 100 mL 容量瓶中, 静置, 用 0.45 μ m 针头式微孔过滤器过滤后进样。空白对照, 标准品及样品色谱图分别见图 1, 图 2 及图 3。

收稿日期: 2011-04-11

作者简介: 党军, 男 (1986-) 在读硕士, 研究方向为天然产物研究与开发

* 通讯作者

课题来源: 国家科技支撑计划项目 (2007BAI45B00)

表 2 甜菜碱微波提取工艺正交实验结果

试验号	A	B	C	D	药材中甜菜碱质量分数 /mg · g ⁻¹
1	1	1	3	2	30.90
2	2	1	1	1	30.40
3	3	1	2	3	31.06
4	1	2	2	1	36.53
5	2	2	3	3	36.87
6	3	2	1	2	44.69
7	1	3	1	3	41.57
8	2	3	2	2	32.98
9	3	3	3	1	33.96
K1	109.0	92.36	116.66		
K2	100.25	118.09	100.57		
K3	109.71	108.51	101.73		
R	9.46	25.73	16.09		

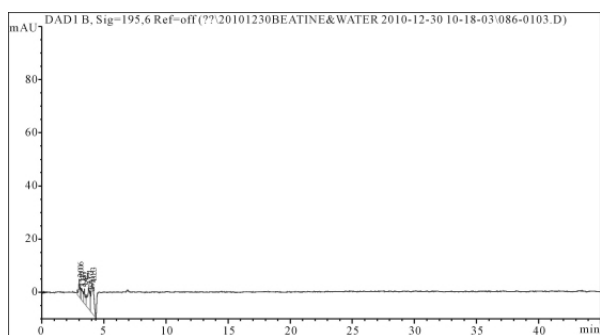


图 1 空白对照色谱图

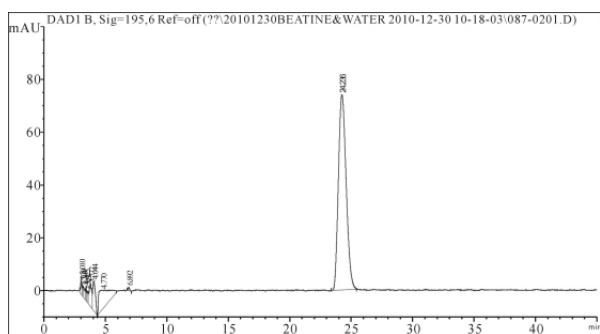


图 2 甜菜碱标准品色谱图

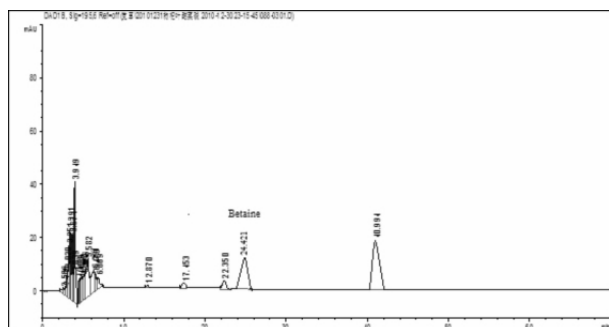


图 3 样品色谱图

2 结果与讨论

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 直观分析极差 R 值,影响因素的大小顺序为 B > C > A,最佳提取工艺是 A3B2C1,即固液比(g: ml)为 1: 10,20 min,微波功率 200 w。

按方差分析理论得方差分析结果见表 3。表 3 表明将 D 因素当成误差项时,固液比(A)、微波时间(B)、微波功率(C)都没有显著差异,这表明此三因素对甜菜碱的提取都是比较重要的,而且此三因素对甜菜碱的提取率的影响程度没有显著性差异。

表 3 方差分析表

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	24.126	2	12.063	1.621	>0.05
B	100.726	2	50.363	6.766	>0.05
C	60.073	2	30.036	4.035	>0.05
误差	14.887	2	7.443		

注: F_{0.05}(2, 2) = 19.00

由于最佳工艺流程在正交表中,因此取 3 份 5 g 粉碎至 45 目的枸杞叶,按 A3B2C1 工艺条件进行验证,结果见表 4

表 4 验证试验结果

试验号	A	B	C	D	药材中甜菜碱质量分数/mg · g ⁻¹	RSD/%
1	2	1	3	2	43.98	
2	2	1	3	2	44.59	1.01
3	2	1	3	2	44.86	

表 4 结果表明,按最佳工艺条件下提取,提取率可保持最优,而且重复性良好。

3 结论

枸杞资源量大,主要分布于宁夏、新疆、内蒙古、青海等地,青海柴达木盆地枸杞种植面积虽然大,但枸杞叶多不被有效利用。枸杞叶中含有黄酮、蛋白、甜菜碱等活性成分。甜菜碱属于季铵型生物碱,极性较大,最大吸收波长 192 nm,这使得该化合物的检测比较困难,利用大连依利特氨基柱可实现峰形尖锐、出峰时间适宜,使得目标产物的检测容易。目前利用微波提取法还不能直接得到高纯度的甜菜碱,还需进一步的分离纯化,但相对于其他提取方法,采用本实验所得提取工艺所得到的甜菜碱占原

料的平均百分比为 4.48% ,提取率比较高 ,为进一步将废弃枸杞叶转化为可利用资源提供依据。通过验证实验也证明了该工艺简单、稳定、可行 ,具有推广意义。

参考文献

- [1] 高业新 ,李新虎. 宁夏枸杞的道地性研究 地球学报 [J]. 2003 24(2) : 193 ~ 195.
- [2] 谢忱 ,徐丽珍 ,李宪铭 ,等. 枸杞子化学成分研究. 中国中药杂志 [J]. 2001 26(5) : 323 ~ 324.
- [3] 张宇金 ,高世勇 ,何立巍. 甜菜碱的生物活性研究. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版) [J]. 2006 22(1) : 13 ~ 16.
- [4] 廖国玲 ,杨文 ,张自萍. RP - HPLC 法测定不同产地宁夏枸杞甜菜碱含量 [J]. 宁夏医学杂志 ,2007 29(6) : 492 ~ 493.

Study on Microwave Extraction Technology of Betaine from *Lycium barbarum* Leaves

DANG Jun^{1 2} , WANG Ying^{1 2} , TAO Yan - duo² , SHAO Yun² ,
MEI Li - juan² , WANG Qi - lan^{2*}

(1. Northwest Institute of Plateau Biology Chinese Academy of Sciences , Xining 810008;

2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences , Beijing 100049 , China)

Abstract: The optimum microwave extraction technology of betaine from *Lycium barbarum* leaves was studied and the impacts of every technology parameter on extraction rate of betaine were investigated. Extraction rate of betaine was taken as index. L₉(34) orthogonal design and analysis of variance were adopted to optimize the technological conditions of microwave extraction of betaine. The results showed that the rate of solid and liquid , extraction time and microwave power were 1: 10 (g: ml) , 20min , 200w , respectively , and the average of betaine extraction rate was up to 4.48% . The technology was simple , stable and feasible.

Key words: microwave extraction; betaine; orthogonal experiment; extraction technology