

表 1 11 批茵陈配方颗粒特征图谱相似度评价结果

Tab. 1 Similarity of 11 batches of Formula Granule of Artemisiae Scopariae Herba

编号	批号	相似度/%
S1	0904181	0.991
S2	1002065	0.985
S3	1009047	0.998
S4	1101070	0.963
S5	1104052	0.991
S6	1108069	0.975
S7	1110021	0.988
S8	1207029	0.989
S9	1208142	0.998
S10	1306025	0.998
S11	1307024	0.995

声提取的方式；同时考察了不同溶剂(甲醇、70%甲醇、50%甲醇、70%乙醇和稀乙醇)和提取时间(10, 20, 30, 40 min), 结果表明以 50%甲醇超声处理 30 min 能较完全的将大多数成分提取出来。

### 3.2 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器对绿原酸对照品的甲醇溶液进行扫描, 发现绿原酸在 300, 330 nm 附近有较强的吸收。采用 DAD 检测器记录茵陈配方颗粒样品溶液在 190~400 nm 的 3D 吸收图, 发现检测波长为 327 nm 左右时能检测到最多的色谱峰, 而且分离度良好, 因此选择 327 nm 作为检测波长。

### 3.3 色谱系统的优化

在流动相系统选择中, 筛选了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸、乙腈-0.1%磷酸、甲醇-0.1%甲酸、乙腈-0.1%甲酸等不同组成的流动相, 最终确定以乙腈-0.1%磷酸进行梯度洗脱, 所得基线平稳, 色谱峰峰型对称且分离度高。

### 3.4 色谱柱的选择

比较了 ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(100 mm×4.6 mm, 3.5 μm)、Lichrospher-C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm, 5 μm)及 Megres5-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)的分离效果, 结果后者分离效果理想。

本实验所用茵陈配方颗粒样品均为江阴天江药业有限公司生产, 其原料药为菊科植物茵陈蒿 *Artemisia capillaries* Thunb. 春季采收的干燥地上部分(绵茵陈)。从所得特征图谱的分析结果来看, 各批样品的相似度较高, 均一性较好。各共有峰的相对保留时间比较稳定, 具有专属性。本实验为今后茵陈配方颗粒生产过程的质量控制提供了检测依据。

### REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 223-224.
- [2] SUN Y N, FEN. Research progress of *Artemisia capillaris* on chemical constituents and pharmacological effect [J]. China Mod Doc(中国现代医生), 2011, 49(21): 12-14.
- [3] XIE T, LIANG J Y, LIU J. Research progress of *Artemisia scoparia* and *Artemisia capillaris* on chemical constituents and pharmacological effect [J]. Strait Pharm J(海峡药理学), 2004, 16(1): 8-13.
- [4] DOU Z H, LUO L, HOU J Y, et al. Studies on liver protection of Yinchenhao decoction by seropharmacological method [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2012, 29(10): 868-871.
- [5] GAO Y, ZHANG Y T, XU Y L, et al. Study on HPLC fingerprint analysis of Roasted Malt Formula Granules [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(20): 115-118.
- [6] ZHANG Y T, GAO Y, XU Y L. HPLC characteristic chromatograms of Formula Granule of Coptidis Rhizoma [J]. Eval Anal Drug Use Hosp China(中国医院用药评价与分析), 2013, 13(1): 49-51.

收稿日期: 2013-12-16

## 文旦柚柚皮中柚皮苷的富集及其活性研究

林国荣(莆田学院环境与生物工程学院, 福建 莆田 351100)

**摘要:** 目的 采用热水浸提柚皮中柚皮苷, 并使用大孔吸附树脂对其进一步富集, 并考察其活性。方法 以柚皮苷的吸附率和解吸率为考察指标, 筛选不同大孔吸附树脂对柚皮苷的吸附性能和洗脱能力, 并初步考察柚皮苷抗氧化作用和镇静作用。结果 大孔树脂 HPD450 有较好的吸附效果, 工艺条件: 上样流速为 2 BV·h<sup>-1</sup>, 样液浓度为 2.36 mg·mL<sup>-1</sup>; 解吸最适工艺条件: 洗脱剂乙醇浓度为 50%, 用量为 4 BV, 流速为 3 BV·h<sup>-1</sup>。浓度为 3.75 mg·mL<sup>-1</sup> 的柚皮苷具有较好的抗

基金项目: 福建省高校服务海西建设重点项目(2008HX01)

作者简介: 林国荣, 男, 硕士, 副教授 Tel: (0594)2696445

E-mail: ptlgrclub@163.com

氧化作用,以 20 mg·kg<sup>-1</sup> 给药时,小白鼠进入睡眠时间较短且行动比较缓慢。结论 HPD450 可用于富集柚皮中的柚皮苷,得到的产物具有较好的镇静和安眠作用。

关键词: 文旦柚; 柚皮苷; 富集; 抗氧化; 镇静

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)10-1197-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.10.009

## Study on Enrichment and Function of Naringin from Shaddock Peel

LIN Guorong(Putian University College of Environmental and Biological Engineering, Putian 351100, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To extract naringin from pomelo with hot water and enriched by macroporous resin, and then observe its function. **METHODS** The adsorption and elution performances of various macroporous resins were screened using the adsorption rate and desorption rate as indexes. **RESULTS** HPD450 had the best adsorption effect. The optimal adsorption conditions were 2 BV·h<sup>-1</sup> of upflow rate and 2.36 mg·mL<sup>-1</sup> of concentration as well as the optimal desorption conditions were 50% of ethanol concentration, 4 BV of dosage and 3 BV·h<sup>-1</sup> of flow rate. The preliminary function study indicated that naringin had a sound anti-oxidation performance at a concentration of 3.75 mg·mL<sup>-1</sup>. In addition, the mice presented less sleep latencies and moved relative slowly at a dosage of 20 mg·kg<sup>-1</sup> of naringin. **CONCLUSION** HPD450 has the good adsorption effect, suggesting that naringin has good sedative and hypnotic effects.

**KEY WORDS:** shaddock; naringin; enrichment; antioxidant; sedation

柚子是芸香科植物柚的成熟果实,味酸甜、略带苦味,含有丰富的维生素 C 及大量其他营养素。传统中医认为,柚皮具有止咳、化痰、理气、抗炎、止痒等功效。文旦柚柚皮(又名橘红)中含有柚皮苷、新橙皮苷、香精油等,其中柚皮苷是一种二氢黄酮类化合物,也是柚皮中的主要成分。现代医学研究表明,柚皮苷具有多方面的药效,包括对活性氧 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除作用<sup>[1]</sup>,平喘、镇咳、祛痰、抗衰老<sup>[2]</sup>,对链脲菌素引起的糖尿病大鼠肾脏并发症<sup>[3]</sup>和神经病变<sup>[4]</sup>有很好的预防作用,并有抗肿瘤、抗微生物、抑酶等活性,在医药工业上可用于生产防治心脑血管等疾病的各种药物。在食品工业上,柚皮苷可作为天然着色剂和风味改良剂,在饮料以及高级糖果中起到增强风味的作用。度尾文旦柚为福建省第一个获得国家原产地标志认证的水果品牌,其果实大小适中,气味芳香,果肉汁甜味美。度尾文旦柚年产量>2 万吨,年产柚皮量>0.4 万吨,这些副产物没能充分利用,一方面不利于文旦柚产业进一步发展和优化,另一方面也不利于资源环境保护。因此对这些副产物的利用和综合开发,充分发挥农工医药产业链的示范作用,对地方的经济发展将起重要的促进作用,研究度尾文旦柚皮中柚皮苷的提取及其功能具有重要意义。本实验采取热水提取法浸提柚皮中的柚皮苷,使用大孔吸附树脂对柚皮苷进一步富集,对柚皮苷的最适富集工艺进行

研究,并对柚皮苷的生物活性进行初步的研究,为进一步开发莆田文旦柚资源提供科学理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与仪器

度尾文旦柚柚皮产自莆田市仙游度尾,由莆田学院李国平教授鉴定为 *Citrus grandis*; 清洁级昆明种小鼠,♀♂各半,体质量(23.0±1.7)g,由福建医科大学实验动物研究所提供,实验动物合格证号: GB/T 14925-49。

柚皮苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号: 110722-201005,纯度 100%); HZ802、HZ816 大孔吸附树脂(华东理工大学华震科技有限公司); AB-8、D101 大孔吸附树脂(天津光复精细化工研究所); HPD450 大孔吸附树脂(沧州宝恩吸附材料科技有限公司)。无水乙醇、正丁醇、硫代巴比妥酸、抗坏血酸、亚油酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、三氯乙酸、二甲基亚砷均为分析纯。

pHS-3zz 型精密 pH 计(上海分析仪器厂); Sartorius BS 210S 电子天平(德国 Sartorius 公司); 752 紫外-可见分光光度计(北京普析); 旋转蒸发器(EYELA 公司); THZ-82 恒温振荡器(江苏天由有限公司); KQ3200B 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

#### 1.2 方法

**1.2.1 柚皮苷的提取** 将新鲜柚皮置于 80 °C 的烘干箱中干燥至恒重,用高速万能粉碎机将柚皮粉

碎,称取 5.00 g 于 250 mL 锥形瓶中,加入 90 mL 蒸馏水置于 70 °C 的恒温水浴锅中进行提取,趁热用 300 目绢布过滤,分离出柚皮残渣,再将提取液进行抽滤,收集滤液得到柚皮苷粗提液。用紫外分光光度计于 283 nm 处测定吸光度,根据柚皮苷标准曲线计算提取液中的柚皮苷含量和柚皮苷提取率<sup>[5]</sup>。

**1.2.2 柚皮苷标准曲线的绘制** 精密称取干燥后的柚皮苷对照品 4.0 mg,加适量无水乙醇溶解并定容至 1.0 mL,再吸取上述柚皮苷母液 0, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 mL,分别置于试管中,并分别对应加入无水乙醇 10, 9.7, 9.6, 9.5, 9.4, 9.3 mL,得到不同浓度的标准柚皮苷溶液各 10 mL,以无水乙醇为空白对照试样,用紫外分光光度计在 283 nm 处测定其吸光值。以柚皮苷浓度  $C$  为横坐标,吸光值  $A$  为纵坐标绘制曲线,得回归方程: $A=38.163C+0.0007$ ,相关系数  $r=0.9999$ ,线性范围为 0~28.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**1.2.3 柚皮苷的总含量确定** 精确称取 5.00 g 柚皮粉末,在提取温度为 70 °C,料液比为 1:18(溶剂为蒸馏水)的条件下反复提取数次,每次 2.0 h,直至提取液中柚皮苷物质几乎检测不出为止,并以多次浸提出的柚皮苷提取量作为文旦柚柚皮中的柚皮苷总含量,并以此为依据进行后续提取液提取率的计算。

**1.2.4 静态树脂筛选实验** 量取已处理好大孔树脂<sup>[6]</sup>AB-8、D101、HZ816、HZ802、HPD450 各 3 mL 置于 100 mL 的锥形瓶中,加入待测液 20 mL,在室温条件下封口置于恒温振荡器振荡 6 h,频率为 140  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,充分吸附后将上述吸附近饱和的树脂进行抽滤处理,取滤液测其吸光度,然后再将树脂重新置于三角瓶中,加入 50%乙醇 20 mL 在同等条件下封口于恒温振荡器中振荡 3 h 进行解吸,最后测定解吸液  $\text{OD}_{283\text{nm}}$  值,计算出其吸附率和解吸率<sup>[7]</sup>,选出适合柚皮苷富集的大孔树脂。

**1.2.5 HPD450 吸附树脂动态分离纯化柚皮苷条件的考察** 量取 15 mL 处理好 HPD450 大孔吸附树脂,湿法装柱。分别取 1.77  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的柚皮苷溶液 400 mL,以 1, 2, 3  $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$  流速上柱进行动态吸附,收集流出液,测定漏出液柚皮苷浓度,确定其最适上样流速;分别取 1.18, 1.77, 2.36  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的柚皮苷溶液 400 mL,以 2  $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$

流速上柱进行动态吸附,收集流出液,测定漏出液柚皮苷浓度,确定其最适上样浓度。

按相同上样条件进行吸附,通过改变洗脱剂流速(2, 3  $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$ )、乙醇浓度(35%, 50%, 75%) and 适宜乙醇浓度的用量进行试验,考察其最适洗脱流速、洗脱液浓度和用量。

**1.2.6 柚皮苷的体外抗氧化性** 脂质过氧化物(lipid peroxide, LPO)是由氧自由基引发的多不饱和脂肪酸发生过氧化反应的产物,此类产物可进一步分解,产生大量的醛类、醇类和烃类物质。醛类物质中以丙二醛最具代表性,其含量可反映被测体系中脂质过氧化作用的强度。作为脂质过氧化物浓度测定的经典方法,硫代巴比妥酸法(TBA 法)在生命科学研究领域已被广泛采用。TBA 法测定脂质过氧化物的原理是基于 1 分子丙二醛可与 2 分子硫代巴比妥酸发生缩合反应,在酸性条件下形成红色化合物,该化合物在 532 nm 处有最大吸收峰,其吸光值的大小与被测体系中脂质过氧化物的浓度成正比<sup>[8]</sup>。对柚皮苷的体外抗氧化活性试验采用 TBA 法<sup>[9-10]</sup>。具体方法为:在加有亚油酸 0.12 mL、无水乙醇 10 mL 和 0.05  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  磷酸盐缓冲液(pH 7.0)10 mL 的 6 个 25 mL 量瓶中,各加入不同浓度(1.87, 3.75, 5.62, 7.50  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )的柚皮苷溶液 1 mL、抗坏血酸溶液(0.2  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 1 mL 和空白对照后,用蒸馏水定容至 25 mL 备用。

**1.2.7 柚皮苷对小鼠镇静和安神的作用** 把小鼠分为 4 组,每组 6 只,分别喂以生理盐水和 3 种不同浓度(20, 30, 40  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )的柚皮苷溶液,连续 3 d,灌胃后观察其进入睡眠时间的差异,以及活动强度和在管中跑动的距离。

## 2 结果与分析

### 2.1 文旦柚柚皮苷总含量的测定

文旦柚柚皮苷总含量的测定结果见表 1,由表可知文旦柚皮中柚皮苷提取总量随着提取次数的增加而升高,但柚皮苷从第 2 次提取开始其提取量增长缓慢,当提取次数达到第 4 次时,此时测定 OD 值仅为 0.27,相当于每克柚皮粉末中柚皮苷提取量仅增加 0.11 mg,故以提取 4 次的柚皮苷提取量作为文旦柚柚皮中柚皮苷的总量。由此可知柚皮苷第 1 次提取率为 76.96%,提取 2 次提取率为 94.00%,提取 3 次提取率达 99.70%,考虑到能耗和生产效益,试验中选择提取次数 2 次为宜。

表 1 柚皮苷总量的确定

Tab. 1 Determination of naringin content

提取次数	提取量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	相对提取率/%
1	28.32	76.96
2	6.27	17.04
3	2.10	5.71
4	0.11	0.30
总量	36.80	

## 2.2 大孔树脂静态筛选

不同型号的树脂对同种物质的吸附率和解吸率是不同的, 考察结果见表 2。由表 2 可以得到 AB-8 和 HPD450 在这 5 种树脂中能够较好地吸附样液中的柚皮苷, 但是 AB-8 的解吸率只有 58.21%。虽然 D-101 树脂的解吸率是这 5 种树脂中最好的, 可达 89.53%, 但是其吸附率较低, 而 HPD450 的解吸率也可达到 84.34%, 综合考虑吸附效果和解吸效果, 故选用 HPD450 进行柚皮苷的分离纯化。

表 2 各大孔树脂的吸附和解吸能力

Tab. 2 The adsorption and desorption capacity of the macroporous resin

树脂种类	柚皮苷的吸附率/%	柚皮苷的解吸率/%
AB-8	81.06	58.21
D-101	74.84	89.58
HZ-816	67.10	62.35
HZ-802	62.47	73.67
HPD450	81.31	84.34

## 2.3 不同上样流速对 HPD450 树脂吸附柚皮苷的影响

考察不同流速对柚皮苷吸附的影响结果见图 1。由图 1 可知, 随着流速的增加, 树脂对柚皮苷的吸附量呈下降状态,  $1 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$  对柚皮苷的吸附效果是最好的, 达到 86.37%, 为了减少时间成本, 因此, 本试验采用流速为  $2 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$ , 其吸附率达到 85.6%。

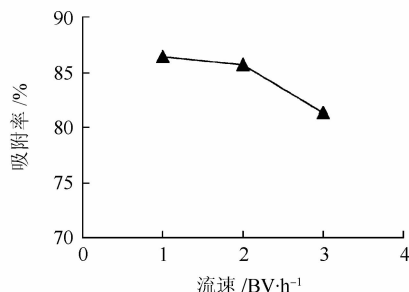


图 1 流速对吸附柚皮苷的影响

Fig. 1 Effect of flow rate on absorption of naringin

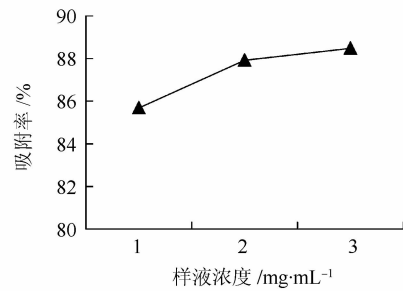


图 2 上样液浓度对吸附柚皮苷的影响

Fig. 2 Effect of sample concentration on absorption of naringin

## 2.4 不同样液浓度对 HPD450 树脂吸附柚皮苷的影响

考察不同样液浓度对柚皮苷吸附的影响结果如图 2。由图 2 可知, 随着样液质量浓度的增加, 在同等条件下柚皮苷的吸附量呈上升趋势。当用于上样的样液中柚皮苷含量一样时, 其中浓度为  $2.36 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的吸附效果是最好的, 并且上样时间用的最少, 这对提高生产的经济效益具有重要的意义。

## 2.5 不同乙醇浓度对柚皮苷解吸的影响

考察不同乙醇浓度对柚皮苷解吸的影响结果如图 3。由图 3 可知, 乙醇对柚皮苷的解吸具有很好的效果, 当乙醇浓度为 50% 时的解吸效果最好, 解吸率达 96.79%, 用 50% 乙醇洗脱时柚皮苷从第 3 管开始就漏出, 而且集中在第 3 到第 7 管间, 这对节省洗脱剂乙醇的用量、减少生产费用具有深远的意义。而当乙醇浓度继续增加到 75%, 柚皮苷洗脱量略有降低。所以考虑生产效益, 节约经济成本, 柚皮苷的适宜解吸剂乙醇浓度应选择 50%。

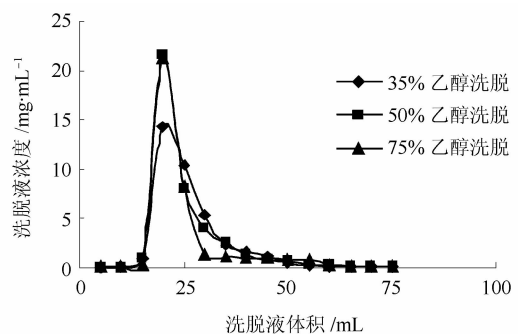


图 3 乙醇浓度对柚皮苷洗脱的影响

Fig. 3 Effect of ethanol concentration on naringin elution

## 2.6 不同洗脱流速对柚皮苷解吸的影响

考察洗脱剂乙醇体积分数为 50% 时不同洗脱

流速的影响结果见图 4, 从图 4 可以看出 2 个不同流速的洗脱曲线相差无几, 但是  $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$  的洗脱不仅可以减少试验的时间, 而且解吸率也略高于  $2 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$ , 所以柚皮苷的洗脱流速选  $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$  为宜。

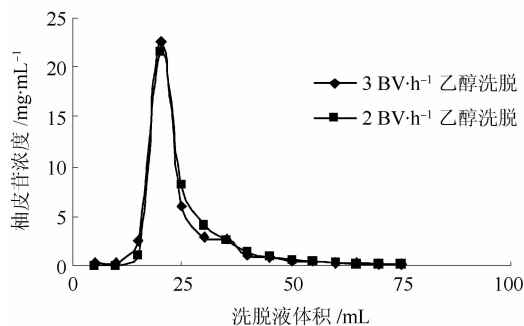


图 4 流速对柚皮苷洗脱的影响

Fig. 4 Effect of flow velocity on naringin elution

## 2.7 洗脱剂用量

随着洗脱剂用量的增多, 收集的流出液中柚皮苷浓度先增大随后减小, 结果见图 5。

收集到第 12 管流出液时柚皮苷浓度接近 0, 表明此时柚皮苷已基本洗脱完全, 因此确定 60 mL, 即 4 BV 为洗脱剂用量。

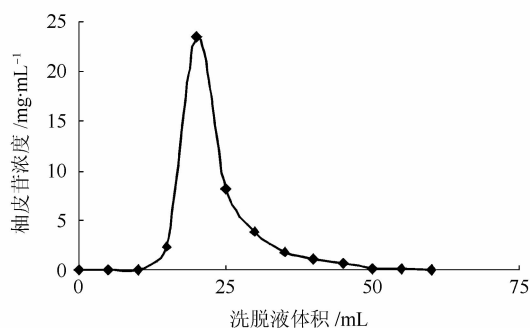


图 5 洗脱剂用量对柚皮苷洗脱的影响

Fig. 5 Effect of eluant concentration on naringin elution

## 2.7 柚皮苷功能的研究

**2.7.1 柚皮苷抗氧化性的研究** 柚皮苷抗氧化性的研究结果见表 3。由表 3 可知, 随着加入柚皮苷含量的增加, 在 532 nm 处的吸光值随着时间的增加呈先下降后上升的状态, 但是加柚皮苷浓度为  $3.75 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  待测液的吸光值虽然也跟着时间的增加而上升, 且其增加幅度比较小, 并且与阳性对照组抗坏血酸的接近, 与空白对照组比较,  $P < 0.01$ , 说明该浓度的柚皮苷溶液具有较好的抗氧化能力。当浓度达到  $7.50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  时, 其吸光值均比空白对照组高, 说明高浓度的柚皮苷溶液的抗氧化能力大大下降。

表 3 柚皮苷抗氧化活性的研究

Tab. 3 Study on the antioxidant activity of naringin

组别	OD 532 nm (第 1 天)	OD 532 nm (第 2 天)	OD 532 nm (第 3 天)
阳性对照抗坏血酸组	0.007	0.012	0.017
空白对照组	0.048	0.125	0.287
$1.87 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 柚皮苷溶液组	0.014	0.044	0.071
$3.75 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 柚皮苷溶液组	0.007	0.017	0.029
$5.62 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 柚皮苷溶液组	0.022	0.031	0.047
$7.50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 柚皮苷溶液组	0.049	0.154	0.361

## 3.7.2 柚皮苷镇静作用的研究

考察柚皮苷的镇静和安神作用, 结果见表 4~6。由表 4, 5 可观察到与对照组相比, 喂以柚皮苷溶液的小白鼠的行动迟缓且跑动的距离及进入睡眠时间随喂药浓度的增加呈负相关, 柚皮苷给药量为  $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  对小白鼠具有很好镇静和安眠效果 ( $P < 0.05$ ); 各组随着时间的增加, 小白鼠进入睡眠和每分钟跑动的距离越来越长, 但差异不显著。由表 6 可知每组小白鼠的体质量每天均有增加, 但是喂药量为  $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的小白鼠体质量却下降, 可能是高浓度的柚皮苷对其造成一定影响。综上结果, 喂给柚皮苷浓度为  $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的小白鼠进入睡眠时间较短且行动比较缓慢, 就具有较好的镇静和安眠作用。

表 4 柚皮苷含量对小白鼠跑动距离的影响

Tab. 4 Effect of naringin content on mouse distance running

柚皮苷给药量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	跑动距离/ $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$		
	第 1 天	第 2 天	第 3 天
0	400	420	501
20	330	402	415
30	238	258	276
40	207	239	267

表 5 柚皮苷含量对小白鼠进入睡眠的影响

Tab. 5 Effect of naringin content into the sleep of mice

柚皮苷给药量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	进入睡眠时间/min		
	第 1 天	第 2 天	第 3 天
0	15	16.5	15
20	5.5	5.5	6
30	4	5	5.5
40	3.5	3.5	4

表 6 柚皮苷含量对小白鼠体质量的影响

Tab. 6 Effect of naringin content on the body weight of mice

柚皮苷给药量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	平均体质量/g		
	第 1 天	第 2 天	第 3 天
0	25.002	26.631	27.364
20	25.008	26.162	27.237
30	25.012	26.271	27.152
40	25.012	25.002	24.891

### 3 讨论

在适宜提取的条件下, 文旦柚皮中柚皮苷的总量为  $36.80 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。柚皮苷分离纯化的最适条件: 以  $2 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$  流速上样, 上样浓度(柚皮苷)为  $2.36 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 洗脱剂乙醇浓度为 50%, 洗脱剂用量为 4 BV, 洗脱流速为  $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

对柚皮苷的功能进行了初步研究, 结果柚皮苷具有一定的抗氧化能力, 当浓度为  $3.75 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  时具有较好的抗氧化能力, 但随着浓度的增加, 其抗氧化能力有所下降。这与谢贞建等<sup>[11]</sup>的枳实类黄酮(含有柚皮苷、新橙皮苷等)体外抗氧化作用研究中有些不同, 其结果是随着柚皮苷提取液浓度增加对 $\cdot\text{OH}$ 清除率增大, 其对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用都呈正相关, 并且纯化前后的提取物对各自由基的清除效果没有太大的差异, 说明枳实粗提物中含有的多糖类、蛋白质等成分可能也具有清除效果。

目前在国内还没有关于柚皮苷镇静方面的研究。通过研究柚皮苷的镇静作用时发现, 给药小白鼠随着柚皮苷给药量的增加, 小白鼠的行动愈加的迟缓, 并且进入睡眠的时间越短, 而且在管道中跑动的距离也更短, 说明柚皮苷具有的镇静作用与其浓度呈正相关的。柚皮苷给药量为  $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的小白鼠进入睡眠时间较短且行动比较缓慢, 具有较好的镇静和安眠作用。

采用度尾文旦柚柚皮作为原材料, 价格低廉, 且提取柚皮苷安全性高, 操作简单, 采用 HPD450 作为柚皮苷吸附的载体, 操作步骤简单, 吸附能力强, 其解吸率大, 可以得到较高的柚皮苷浓度。本实验希望为利用大孔树脂富集度尾文旦柚柚皮中柚皮苷的工业化生产提供参考。

### REFERENCES

- [1] PEN S H, HUANG Y M, LIU S L, et al. Study on Liang Ping shaddock peels antioridation activity [J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2006, 34(1): 3-8.
- [2] ZHAO K, CHANG C, YANG H T, et al. Experimental study of shaddock peels extract on antiasthmatic [J]. China Pharm(中国药师), 2006, 9(11): 1003-1004.
- [3] WANG X J, HE G F, ZHANG H, et al. Effect of hespridin and aminoguanidine on kidney function and morphology in STZ-induced diabetic rats [J]. Chin J Endocrinol Metab(中华内分泌代谢杂志), 1996, 1(12): 34-36.
- [4] WANG X J, HE G F, ZHANG H, et al. Effect of hespridin on function and structure in peripheral nerve of STZ-induced diabetic rats [J]. Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志), 1996, 12(6): 642-645.
- [5] ZHOU S L, WANG H F, DU J X. Ethanol extraction technology of naringin from grapefruit peel [J]. Transact Chin Soc Agric Eng(农业工程学报), 2006, 22(7): 184-187.
- [6] ZHOU W W, YE Y P. Separation and purification processes of total alkaloids from *Corydalis yanhusuo* with macroporous adsorption resins [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(3): 268-271.
- [7] HUI X M. A study of the big-hole resin's absorption of glycoside in semen cassiae [J]. J Ningxia Teachers Univ(宁夏师范学院学报), 2007, 28(6): 45-48.
- [8] HU Y F, HU P L, MENG J, et al. Chinese rose antioxidant research [J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2000, 21(4): 24-26.
- [9] MIYAKE Y, YAMAMOTO K, MORIMITSU Y, et al. Isolation of C-glucosylflavone from lemon peel and antioxidative activity of flavonoid compounds in lemon fruit [J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(12): 4619-4623.
- [10] HUANG X S, WANG J H, LU F S. Antioxidant effect of ginger [J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 1997, (4): 16-17.
- [11] XIE Z J, JIAO S R, TANG P C. Antioxidation *in vitro* of flavonoids from *Frutus Aurantii Immatures* [J]. Chem Ind Forest Prod(林产化学与工业), 2009, 29(4): 33-35.

收稿日期: 2013-12-23

## Box-Behnken 效应面法优化龙葵中总生物碱的提取工艺

王桂玲, 房建强, 王克娜, 赵雪梅(泰山医学院, 山东 泰安 271016)

**摘要:** 目的 优选龙葵中总生物碱的提取工艺。方法 采用单因素试验结合 Box-Behnken 效应面法, 以总生物碱提取率为指标, 考察乙醇体积分数、料液比、提取时间、提取次数等因素对提取工艺的影响, 采用酸性染料比色法, 利用紫外分光光度计测定总生物碱的含量。结果 确定龙葵中总生物碱提取的最佳工艺条件: 乙醇体积分数为 63.72%, 料液比为 1:41.23, 提取时间为 54.93 min, 提取 2 次, 总生物碱提取率为  $1.40 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结论 Box-Behnken 效应面法用于龙葵中总生物碱提取工艺条件的优选是可行的, 模型预测效果较好。

基金项目: 泰山医学院学校青年科学基金(2010ZRQN013)

作者简介: 王桂玲, 女, 硕士, 讲师 Tel: 15092858942 E-mail: Wgl20050711@sina.com