

杏仁提取条件的探讨

白海波 南志成 宋子荣(杭州 310007 海南养生堂药物研究中心)

摘要 目的:研究苦杏仁中有效成分苦杏仁苷的最佳提取条件。方法:采用 2 次重复的正交实验法,以加水倍数、提取时间、提取次数 3 个因素,每个因素选取 3 个水平进行实验。结果:因素 A(加水倍数)有显著影响,因素 B(提取时间)和因素 C(提取次数)对苦杏仁苷的含量有极显著影响。结论:最佳提取工艺 A₂B₂C₂,即用 10 倍量水提取 2 次,每次 1h。

关键词 正交实验法;苦杏仁;苦杏仁苷;提取工艺;HPLC

Study on different extraction process of amygdalin in Apricot-kernel

Bai Haibo, Nan Zhicheng, Song Zirong(Hainan Yangshengtang Medical Research Centre, Hangzhou, 310007)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To optimize the extraction process of amygdalin in apricot-kernel. **METHOD:** The optimum extraction was investigated by the orthogonal design with three parameters of amount of water, extraction hours and times of extraction and amygdalin determined by HPLC. **RESULTS:** The factors influencing this extraction efficiency were as follow: C > B > A (A: amount of water, B: extraction hours, C: times of extraction) **CONCLUSION:** The optimum extraction conditions were 10 fold of water, extraction twice, 1 hour once.

KEY WORDS orthogonal design, apricot-kernel, amygdalin, extraction process, HPLC

苦杏仁(Semen Armeniacae Amarum)为蔷薇科植物山杏 Prunus L. var. ansu Maxim. 东北杏(辽杏) Prunus mandshurica Koehne、西伯利亚杏 Prunus sibirica L. 及杏 Prunus armeniaca L. 的干燥成熟种子。苦杏仁具有止咳、平喘、润肠之功效,其主要成分为苦杏仁苷。本研究以苦杏仁苷为主要考察指标,采用正交实验法研究了苦杏仁提取条件对苦杏仁苷含量的影响。

1 实验材料及仪器

1.1 材料

苦杏仁于 2001 年 7 月购于华东医药股份有限公司中药材分公司。(2001-6-20);标准品苦杏仁苷来源于中国药品生物制品检定所(820-200002),其它试剂均为分析纯。

1.2 仪器

LC-10A 高效液相色谱仪(日本岛津),SPD-10A 可见紫外检测器,CLASS-VP 色谱工作站

1.3 色谱条件

流动相乙腈:水(15: 85),流速 1m l/m in,波长 215nm,色谱柱 150mm × 4.6mm C₁₈,柱温 32℃。

2 实验方法与结果

2.1 苦杏仁的炮制

苦杏仁中有效成分苦杏仁苷在一定温度和湿度下易被自身所含的苦杏仁酶及樱叶酶等分解,因此苦杏仁须炮制后入药。本工艺采用水焯法对苦杏仁炮制前后苦杏仁苷含量进行比较,即各取粉碎的杏仁 10g,用 100ml 水,置电热褰中加热,焯杏仁待水沸腾后立即加入保持沸腾 10min 后放冷,此时将两份杏仁同时加热,记时,焯杏仁 50min,另一份 60min,定容 100ml,作 100 倍稀释,以上过程重复一次,HPLC 测定杏仁苷含量,结果未水焯杏仁杏仁苷损失 28%。因此,本工艺采取杏仁水焯 10min 工艺进行炮制。

2.2 苦杏仁苷提取的正交试验

表 1 影响杏仁提取效果的三因素三水平表

因素	A 加水倍数	B 提取时间(h)	C 提取次数
水平 1	8	0.5	1
水平 2	10	1	2
水平 3	12	1.5	3

为获得炮制后杏仁水提工艺的较佳条件,取炮制杏仁药材 5g,按表 2 条件加水提取,提取液按不同体积用水定容至 100ml 和 250ml, HPLC 测定杏仁苷含量。以杏仁苷的提取量为考察指标,选用 L₉(3⁴) 正交表(表 1),按 3 因素 3 水平进行正交试验,有关试验结果及分析见表 2,表 3。

表 2 关于杏仁药材提取条件的正交试验表

试验号	A	B	C	D	杏仁苷提取量 (mg)	
1	1	1	1	1	66.57	67.25
2	1	2	2	2	94.09	110.35
3	1	3	3	3	99.1	105.88
4	2	1	2	3	70.12	78.72
5	2	2	3	1	147.67	161.43
6	2	3	1	2	76.41	61.81
7	3	1	3	2	95.16	78.58
8	3	2	1	3	99.5	76.12
9	3	3	2	1	76.66	72.11
I _j	543.24	456.4	447.66	591.69		
II _j	596.16	689.16	502.05	516.4		
III _j	498.13	489	687.82	529.44		
离均差平方和 (I ² + II ² + III ²)/9-CT	802.52	5240.35	5285.87	539.65		
误差平方和	814.75					

表 3 影响杏仁药材提取因素的方差分析

来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	802.52	2	401.26	4.43	P < 0.05
B	5240.35	2	2620.18	28.94	P < 0.01
C	5285.87	2	2642.93	29.19	P < 0.01
D	539.65	2	269.82	2.98	
误差	814.75	9	90.53		

查方差分析表, $F_{0.01}(2,9) = 8.02$, $F_{0.05}(2,9) = 4.26$

结果分析: 以杏仁苷提取量为指标, 则:

A 因素: 显著性因素, 且 II > I > III

B 因素: 极显著性因素, 且 II > III > I

C 因素: 极显著性因素, 且 III > II > I

由上可见, 较佳提取条件应为 A₂B₂C₃, 即每次加 10 倍量水, 回流提取 3 次, 每次 1h。

2.3 提取次数的选择

由于提取次数对杏仁苷提取量的影响最为显著, 为进一步优化杏仁水提工艺, 进行了水提次数的优选实验。称取 10g 炮制杏仁药材, 加 10 倍水, 沸水提取 1h, 共提取 4 次, 各次均定容至 100ml, 10 倍稀释, 测定第一、二次水提液和 4 次水提液中总杏仁苷含量, 结果见表 4。

表 4 杏仁提取次数对杏仁苷的影响

次数	水提杏仁苷含量占总提取量的百分比(%)
第 1 次	74
第 1、2 次	94

由表 4 可知, 确定杏仁最佳提取工艺为 10 倍量水提取 2 次, 每次 1h。

2.4 水煎时间对杏仁苷含量影响

有文献采用硝酸银滴定法测定杏仁苷, 认为杏仁水煎条件以 8 倍水, 10m in 为佳^[1], 为探讨水煎时间是否影响杏仁苷含量, 取粉碎的悻杏仁 10g, 用 100ml 水, 置电热褰中加热, 于 30m in, 60m in, 90m in, 120m in 时各取出 200μl, 稀释 100 倍, HPLC 测定杏仁苷含量, 结果表 5。

表 5 水煎时间对杏仁苷含量的影响

时间(m in)	杏仁苷含量(峰面积)
30	228712
60	265178
90	288333
120	293497

由表 5 可见, 悻杏仁水煎 2h, 杏仁苷含量不会下降。

3 讨论

以上结果表明, 苦杏仁的最佳提取工艺为用 10 倍量水提取 2 次, 每次 1h。通过对水悻与未水悻杏仁的研究结果可知, 苦杏仁炮制是十分必要的, 此与文献报道一致^[2], 《中国药典》列苦杏仁生品入煎剂宜后下有其依据。另外有文献采用硝酸银滴定法认为, 生苦杏仁的水煎时间 10m in 最佳^[1], 本研究采用 HPLC 进一步探讨了水煎时间对悻杏仁苷含量的影响, 结果表明苦杏仁炮制后水提 2h 内, 杏仁苷的含量不会下降, 而且提取时间也是影响苦杏仁苷的显著因素。本研究采用 HPLC 测定苦杏仁苷含量, 以有重复的正交试验设计对炮制后的杏仁进行研究, 所得结果较为可靠, 这些结果为大生产提供了有意义的参考。

参考文献

- 1 陈惠红. 用正交实验探讨苦杏仁煎煮条件对苦杏仁苷含量的影响. 中医药研究, 2000, 16(3): 51.
- 2 钱先庆. 关于生、悻杏仁水煎液中苦杏仁苷含量比较的实验报告. 时珍国药研究, 1996, 7(1): 29.

收稿日期: 2002-01-07