

# 苦丁茶中熊果酸提取工艺研究

石敏娟<sup>1</sup> 王江<sup>2</sup> 袁秋贞<sup>1</sup> 任啸<sup>1</sup> 李博<sup>1</sup> 甘雪峰<sup>1</sup> 宋瑞<sup>3</sup> 姜珊珊<sup>1</sup>

(1. 陕西省中医医院, 陕西 西安 710003; 2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046;

3. 西电集团医院, 陕西 西安 710003)

**摘要:**目的 优化苦丁茶中熊果酸的提取工艺。方法 以 HPLC 法测定熊果酸, 采用单因素实验确定各因素的主要水平, 采用 L9(34) 正交试验, 对苦丁茶中熊果酸提取工艺进行优化。结果 熊果酸最优化工艺为 A3B3C2D1, 即 95% 乙醇, 固液比 1:14, 在 90℃ 水浴提取 2 次, 每次 1 小时, 熊果酸提取率为 1.72%。结论 利用正交试验优选的提取工艺, 熊果酸得率高, 重复性好, 工艺稳定可行。

**关键词:**苦丁茶; 熊果酸; 提取工艺

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1672-0571(2019)05-0107-04

DOI: 10.13424/j.cnki.mtcm.2019.05.032

苦丁茶是冬青科冬青属植物, 含有皂苷、黄酮、多酚等多种成分<sup>[1-2]</sup>, 具有降脂<sup>[3]</sup>、抗氧化<sup>[4]</sup>及降血糖<sup>[5-6]</sup>等保健及药用功效。熊果酸为五环三萜类化合物, 具有广泛生物活性, 是苦丁茶主要成分之一<sup>[7-9]</sup>。随着熊果酸广泛的应用于医药领域, 其市场需求不断增大, 从天然产物中分离提取成为获取熊果酸一个重要途径。研究表明, 苦丁茶中熊果酸的含量较高<sup>[10]</sup>, 可以作为熊果酸的重要原料。为此, 本研究拟对苦丁茶中熊果酸的提取工艺进行研究, 为苦丁茶的进一步开发及综合利用提供实验基础和理论依据。

## 1 材料和仪器

**1.1 仪器** Agilent1100 高效液相色谱(真空脱气机 G1379A、四元泵 G1311A、手动进样器、G1315B 紫外检测器); 电子天平: BS124s(北京赛多利斯仪器系统有限公司); 电热恒温水浴锅: HH-2(常州国华电器有限公司); 微孔滤膜: 0.45 μm。

**1.2 试药** 熊果酸标准品(中国药品生物制品检定所 110742-201216); 甲醇为色谱级; 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯; 苦丁经陕西中医药研究院杨智峰研究员鉴定为冬青科冬青属苦丁茶(Ilex kudinchia C. J. Tseng)。

## 2 实验方法和结果

### 2.1 熊果酸含量测定

**2.1.1 色谱条件与系统适用性试验** 色谱柱:

Hypersil ODS-2(250mm × 4.6mm id, 5 μm), 流动相: 甲醇: 0.1% 磷酸水溶液(85:15), 流速: 0.6ml/min, 柱温为 30℃, 检测波长为 210nm, 进样量 10 μL。在此色谱条件下的色谱图见图 1。

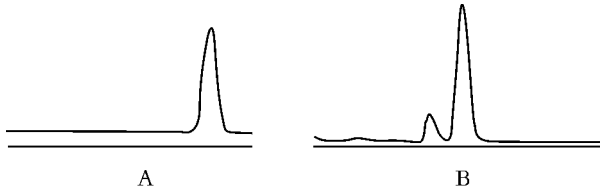


图1 (A为对照品溶液 B为供试品溶液)

**2.1.2 溶液制备** 熊果酸对照溶液的配制: 取熊果酸对照品 4.00mg, 精密称定, 至 10mL 容量瓶中, 用甲醇稀释到刻度, 得到浓度为 0.40mg/mL 标准溶液, 作为对照品贮备液。

供试品溶液配制: 取约 1g 苦丁茶粉末, 加 10mL 无水乙醇, 90℃ 水浴回流提取 2 次, 每次 1 小时, 过滤, 合并滤液, 用提取溶剂定容至 50mL, 作为样品。

**2.1.3 线性考察** 精确移取 0.40mg/mL 熊果酸对照品溶液 1, 2, 4, 5, 6, 10mL, 置于 10mL 容量瓶中, 用甲醇定容到刻度。分别吸取 10 μL, 按照拟定的色谱条件测定峰面积, 以峰面积(Y)为纵坐标, 以浓度(x)为横坐标, 绘制标准曲线。得到回归方程:  $Y = 10101x - 17.6$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明, 熊果酸 4.00 μg ~ 40.00 μg 范围内, 峰面积和进样量呈良好的线形关系。