

红枣中齐墩果酸提取工艺的研究

曹艳萍¹, 杨秀利², 薛成虎¹

(1. 榆林学院化学系, 陕西 榆林 719000 2. 济南大学化学化工学院, 山东 济南 250022)

摘要: 对红枣中齐墩果酸的 95% 乙醇提取工艺进行了研究。用 HPLC 法测定齐墩果酸含量, 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验, 优选了工业参数。结果表明: 对提取效果影响因素依次为浸提温度>浸提时间>料液比>粒度。最佳提取工艺条件是: 浸提温度 70℃, 浸提时间 3h, 料液比 1:20, 原料粒度 100 目。提取率为 1.581g/kg。

关键词: 红枣; 齐墩果酸; 提取; 工艺

Study on Extraction Technology of Oleanolic Acid in *Zizyphus jujuba* Date

CAO Yan-ping¹, YANG Xiu-li², XUE Cheng-hu¹

(1. Department of Chemistry, Yulin College, Yulin 719000, China;

2. College of Chemical Technology, Ji'nan University, Jinan 250022, China)

Abstract: The extraction technology of oleanolic acid in *Zizyphus jujuba* mill was studied with ethanol as extractor. The contained amount of quercitr was assayed by HPLC. The best conditions were chosen through $L_9(3^4)$ orthogonal test. The results showed the first factor affecting extraction rate was volume percentage of ethanol, and the second and the third ones were temperature and ratio of feed liqued respectively. The best extraction conditions were 70% ethanol as extractant with the granularity of 100 mesh at the temperature of 50 °C for 3 h. The extraction rate was 1.549 g/kg.

Key words *Zizyphus jujuba* dates, oleanolic acid, extraction, technology

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)10-0165-03

红枣(*Zizyphus jujuba* dates), 又名中华大枣、枣、华枣, 为鼠李科枣属植物枣树(*Zizyphus jujuba* Mill)的果实。是卫生部批准的药食兼用品种之一。红枣中含有丰富的糖类、VA、VB₁、VB₂、VC、VP、生物碱、黄酮类物质以及钙、铁、硒、锰等微量元素和多种氨基酸等营养成分, 红枣皮薄肉厚, 香甜脆郁、营养丰富, 素有“木本粮食”、“天然维生素丸”之称, 是一种优质食品。同时为传统中药, 临床应用广泛。具有保肝、护脾、补血、抗肿瘤等作用^[1-2]。

齐墩果酸是红枣的主要活性成分^[2-3]。齐墩果酸又名

土当归酸, 简称 OA。具有降低谷丙转氨酶, 促进细胞再生, 防止肝硬化, 抗炎和强心作用, 是治疗肝炎的有效成分^[4], 近年又证明其具有一定的抗癌活性^[5-6], 且毒副作用小, 安全性高, 有广阔的临床应用前景, 因此受到广泛关注。目前, 以小花清风藤、木瓜、女贞子等为原料提取齐墩果酸工艺的研究已有报道^[7], 但从红枣中提取齐墩果酸的工艺研究还未见报道。本研究从陕北红枣中提取齐墩果酸的最佳工艺条件, 其目的在于为齐墩果酸药物的获得和红枣的开发利用寻找一条新的途径。

收稿日期: 2007-07-19

基金项目: 陕西省科技计划项目(2006K02-G4)

作者简介: 曹艳萍(1958-), 女, 教授, 主要从事天然物质应用方面的研究。

- [3] 何大庆, 曹双俊, 欧阳敏. 浅谈宠物及其饲料市场[J]. 广东饲料, 2003, 12(2): 17-19.
- [4] 金征宇. 挤压食品[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
- [5] JULIAN F, VINCENT V. The quantification of crispness[J]. J Sci Food Agric, 1998, 78: 162-168.
- [6] 安红周, 金征宇, 赵晓文, 等. 机筒温度对挤压工程重组米理化特性

- 和物性的影响[J]. 食品科技, 2005(3): 20-23.
- [7] 赵学伟, 魏益民, 张波. 小米挤压膨化产品的吸湿特性及其对质构的影响[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(3): 87-90.
- [8] 王文贤, 刘学文, 谢永洪, 等. 鸡肉-大米膨化食品双螺杆挤压工艺参数的优化研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20(6): 223-226.

1 材料与方法

1.1 原料

红枣：采自陕西榆林市清涧县，烘干，粉碎，过筛，备用。

1.2 仪器与试剂

日本岛津高效液相色谱仪(包括LC-10ATvp泵、SPD-10Avp紫外检测器和SPD-M10Avp)；7725型手动进样阀 美国Rneodyne公司，ANASTAR色谱工作站 奥泰科技有限公司；KQ-250B型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司。

齐墩果酸对照品(批号0709-9803) 中国药品生物制品检定所；甲醇及其他试剂均为分析纯。

1.3 色谱条件

Kromail ODS色谱柱(150mm×4.6mm, 0.5μm)；流动相为甲醇:0.05%冰醋酸水溶液(88:12)；流速为1.0ml/min；柱温为室温(26℃)；检测波长为225nm；进样量20μl；在该色谱条件下齐墩果酸的保留时间是11.30min。

1.4 标准曲线的测定

精密称取干燥至恒重的齐墩果酸对照品10.0mg置于10ml量瓶中，加甲醇5ml超声处理5min，用甲醇稀释至刻度，摇匀得浓度为1mg/ml的对照品储备液。

分别从齐墩果酸对照品母液中精密吸取0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml于10ml容量瓶中，以甲醇稀释至刻度，摇匀，并用0.45μm微孔滤膜过滤。依次进样20μl，重复3次，在选定色谱条件下进行测定，记录色谱图。

1.5 供试品溶液制备

精密称取干燥至恒重的红枣粉末1g，经实验条件提取后，过滤，准确定溶至100ml，测前稀释100倍，并用0.45μm微孔滤膜过滤。

1.6 样品含量的测定

精密吸取样品溶液20μl，在选定色谱条件下按外标法以峰面积计算，对齐墩果酸含量进行测定。

1.7 红枣中齐墩果酸提取工艺优化

1.7.1 正交试验因素水平设计

由单因素试验可知红枣中齐墩果酸提取率与乙醇的浓度呈正相关，并与提取溶剂酸度有关，考虑到经济、回收及以后扩大生产等问题，试验选用95%工业乙醇作提取溶剂，并用稀盐酸调其pH4。试验选用提取时间、提取温度、料液比、样品粒度作为考察因素，采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行优选。正交试验各因素水平如表1所示。

1.7.2 提取次数的确定

按正交试验得到齐墩果酸的最优提取方案，进行提取次数实验。

表1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	A时间(h)	B浸提温度(℃)	C料液比(m/V)	D粒度(目)
1	1	30	1:15	60
2	3	50	1:20	80
3	5	70	1:30	100

2 结果与分析

2.1 线性关系

以峰面积对浓度进行线性回归，得回归方程： $Y=1.3589X-0.45433$ ， $r=0.9999$ 。线性范围为1.0~20μg。

2.2 色谱图

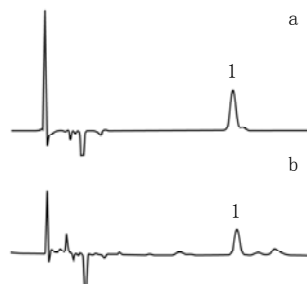


图1 齐墩果酸对照品(a)红枣样品(b)的HPLC图谱

Fig.1 HPLC chromatograms of standards oleanolic acid(a) and sample (b)

2.3 齐墩果酸提取试验结果

以齐墩果酸提取率为指标，对表1所选定的考察因素做 $L_9(3^4)$ 正交试验，其结果见表2，方差分析见表3。

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果
Table 2 $L_9(3^4)$ orthogonal test design and result

试验号	A	B	C	D	提取率(g/kg)
1	1	1	1	1	0.931
2	1	2	2	2	1.205
3	1	3	3	3	1.313
4	2	1	2	3	1.389
5	2	2	3	1	1.317
6	2	3	1	2	1.537
7	3	1	3	2	1.203
8	3	2	1	3	1.252
9	3	3	2	1	1.572
T_1	3.449	3.523	3.720	3.820	
T_2	4.243	3.774	4.166	3.945	
T_3	4.027	4.422	3.833	3.954	
K_1	1.150	1.174	1.240	1.273	
K_2	1.414	1.258	1.389	1.315	
K_3	1.342	1.474	1.278	1.318	
R	0.264	0.300	0.149	0.045	

由试验结果并通过极差R的大小以及方差分析可知，各试验因素对齐墩果酸提取率影响的大小次序为：

表3 方差分析
Table 3 Analysis of variance

方差来源	Q	f	S ²	F	显著性分析
浸提温度 B	0.01597	2	0.007985	38.02	*
时间 A	0.01242	2	0.006210	29.57	*
料液比 C	0.00400	2	0.00200	9.52	
误差	0.00042	2	0.00021	1	

注: (1) 因素 D 影响小, 故作为方差分析的误差处理; (2) $F_{0.05}(2, 2)=19$, $F_{0.01}(2, 2)=99$; (3) * 表示因素影响显著。

$B > A > C > D$, 即对红枣中齐墩果酸提取影响最大的因素是浸提温度, 其后依次为时间、料液比和粒度。最佳提取条件是: $A_2B_3C_2D_3$, 即提取时间 3 h, 提取温度 70℃, 料液比 1:20, 原料粒度 100 目。

2.4 提取次数的影响

在上述最优提取条件下, 分别进行一级、二级、三级、四级提取实验, 齐墩果酸提取结果见表 4。

表4 提取次数对 OA 提取率的影响
Table 4 Effect of times on OA extract ratio

提取次数	1	2	3	4
OA 提取率 (g/kg)	1.132	1.581	1.614	1.664

如表 4 所示, 红枣中大部分齐墩果酸可 2 次提出, 第 3 次提出较少部分, 而第 4 次提出很少。在上述优化条件下提取 2 次, 提取率可达 95%。从经济因素考虑, 实验确定提取次数为 2 次。

3 讨论

3.1 以 95% 乙醇为溶剂, 从红枣中提取齐墩果酸的最佳工艺条件为: $A_2B_3C_2D_3$, 即浸提时间 3 h, 浸提温度 70℃, 料液比 1:20, 原料粒度 100 目, 提取 2 次, 齐墩

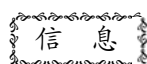
果酸提取率可达到满意的效果, 提取提取率为 1.581g/kg。

3.2 齐墩果酸是一种天然来源的药物, 属于五环三萜类化合物, 结构复杂, 人工合成步骤较多, 目前仍依赖从植物中提取得到, 虽然借助越来越先进的技术和越来越精密的仪器, 今后人工合成的比重会越来越大, 但由于从植物中提取得到的齐墩果酸为天然药物, 对人体毒副作用小, 加之它在植物中分布较广, 药源比较丰富, 在天然药物开发利用已成为世界潮流的今天, 齐墩果酸提取的前景仍很广阔。

3.3 我国是红枣主产区, 产量约占世界总产值的 90% 以上; 其主要分布在黄河中下游, 集中在冀、鲁、豫、陕、晋等省。陕西省在全国红枣产区中产量居前列。榆林市是陕西省红枣生产的主要区域, 1998 年完成了百万亩红枣基地建设, 目前种植面积达 180 多万亩, 已挂果的 140 多万亩, 年产红枣近 30 万吨, 其资源十分丰富。

参考文献:

- [1] 魏虎来. 大枣水提取物和有机硒化合物抗白血病作用的实验研究[J]. 甘肃医学院学报, 1996(9): 33-35.
- [2] 李淑子, 张本. 大枣的化学和药理研究概况[J]. 中草药, 1983, 14(10): 39.
- [3] 陈静, 唐荣. 大枣齐墩果酸含量的测定[J]. 使用中西医结合临床, 2004, 4(1): 66.
- [4] 季宇彬. 中草药有效成分药理与应用[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1995: 322.
- [5] ZHU Yong-ming. Synthesis and anti-HIV activity of oleanolic acid derivatives[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2001(11): 3115-3118.
- [6] 赵骏, 蓝茹. 从齐墩果酸结构分析抗肝细胞损伤的作用机制[J]. 中草药, 1998, 29(12): 844.
- [7] 唐春红, 项昭保. 木瓜中齐墩果酸的提取分离及含量测定[J]. 中国野生植物资源, 2006, 20(2): 48.



AMPK 基因突变导致肌肉糖原增加 可能用于 II 型糖尿病治疗

一个由 Mary-Ellen Harper、Robert Dent 和 Ruth McPherson 博士领导的渥太华研究组联合来自美国加州伯克力的研究人员对 AMPK (腺苷单磷酸活化蛋白激酶) 基因进行了深入研究。这种酶控制着我们细胞中的能量数量。在两个没有亲缘关系的家族中的成员细胞中发现的这种基因的突变导致肌肉中 AMPK 活性加倍。

该研究组还发现, 这种突变导致一种肌肉脂肪储存量的减少和肌肉糖原的增加。这一发现可能用于 II 型糖尿病的治疗, 因为肌肉中储存的高水平的脂肪与胰岛素抗性的发生有关。

另外, 常用的糖尿病药物二甲双胍是通过增加 AMPK 活性来起作用的。因此, 这项发现为制药研究提供了有价值的信息。这项研究的发现还可能引起运动生理学家的极大兴趣。