

杏仁中苦杏仁甙的水提取工艺及其含量的测定

李 强, 陈锦屏

(陕西师范大学食品工程系 陕西 西安 710062)

摘 要: 本文用水为溶剂提取杏仁中的苦杏仁甙, 采用紫外分光光度法, 以甲醇为溶剂, 在检测波长为 219nm 处测定苦杏仁甙的含量, 并讨论了料液比、浸泡时间、提取时间以及提取次数对苦杏仁甙的水提取工艺的影响。结果表明: 紫外分光光度法测定杏仁中苦杏仁甙在 0.01~0.10mg/ml 浓度范围内, 线性关系良好($r=0.9996$), 平均回收率在 99.751%~102.124%, 相对标准偏差为 0.9749%, 可见此测定法快速、简便、稳定、准确、可靠; 水提取杏仁中苦杏仁甙时, 影响提取效果的主次顺序为提取时间>料液比>浸泡时间。最佳提取参数为: 提取时间 20min, 料液比 1:10, 浸泡时间 3min, 提取 2 次。

关键词: 苦杏仁甙; 提取; 测定

Water Extracting Process for Amygdalin in Almond and Its Content Determination

LI Qiang, CHEN Jin-ping

(Department of Food Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: In this paper, amygdalin was extracted by water and determined by ultraviolet spectrophotometry. The solvent was methanol, the detection wavelength was 219nm. And the effects of the ratio between amygdalin and water as extracting solvent at different solid-liquid ratios, the soaking time and the length of extracting time were discussed. The experimental results indicated that the concentration is in the range of 0.01~0.10mg/ml with the r as 0.9996. The recovery is from 99.751% to 102.124%, and the coefficient of variation is 0.9749%. This method is rapid, simple, stable and accurate, reliable; the effectiveness orders with different ratios of amygdalin and water are: extracting time > solid-liquid ratio > soaking time. The optimum technological conditions are: extracting time 20min, solid-liquid ratio 1:10, soaking time 30min and 2 times extract.

Key words: amygdalin; extraction; determination

中图分类号: R248.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)09-0140-04

杏仁(*Semen armeniacae amarae*)又叫杏核仁, 它为蔷薇科(*Rosaceae*)落叶乔木植物杏(*Prunus armeniaca* L.)或山杏(*Prunus armeniaca* L. Var. *ansu* Masim)等果实的干燥种子^[1]。苦杏仁甙是传统中药杏仁中的有效成分, 经证实它具有镇咳平喘、润肠通便、抗肿瘤等作用^[2], 由于其药用价值高, 对杏仁中苦杏仁甙的提取及含量测定研究具有十分重要的意义。目前已报道的苦杏仁甙含量测定方法有硝酸银滴定法^[3]、薄层扫描法^[4]、HPLC 法^[5]等。为充分开发利用此药材, 控制其质量, 本文以水作为提取剂, 研究了提取时不同料液比、不同浸泡时间、不同提取时间的条件下提取杏仁中苦杏仁甙, 以纯度大于 99% 的苦杏仁甙为对照品, 采用 UV 法, 在波长 219nm 处对杏仁中苦杏仁甙进行了含量测定, 目前该法还未见报道。

1 材料与方法

1.1 仪器

紫外分光光度计 UV-3010 日本日立; SHB-111 循环水式从用真空泵 郑州长城科工贸有限公司; 旋转蒸发器 RSE-52 AA 上海亚荣生化仪器厂。

1.2 材料与试剂

新疆轮台县小白杏杏仁; 苦杏仁甙标准品(纯度大于 99%) Sigma 公司; 石油醚、甲醇(均为分析纯)、去离子水。

1.3 方法

1.3.1 提取方法

精密称取一定量经粉碎机粉碎并过筛的杏仁, 加入适量石油醚在室温下震荡浸提 24h, 过滤, 滤渣用石油

收稿日期: 2005-09-30

作者简介: 李强(1979-), 女, 硕士研究生, 研究方向为果品蔬菜加工工艺。

表1 吸光度与苦杏仁甙浓度的关系
Table 1 Relationship between absorbency and amygdalin concentrations

标样浓度 C(mg/ml)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.10
吸光度	0.061	0.130	0.178	0.240	0.297	0.350	0.408	0.461	0.514	0.564

醚清洗后挥干, 称重, 得到去油杏仁粉, 将杏仁粉过 100 目筛后备用。精密称取 1.5g, 放入磨口三角瓶中, 用定量的水浸泡提取, 过滤, 收取滤液, 浓缩, 定容至 50ml 容量瓶中, 摇匀得苦杏仁甙提取液。

1.3.2 分析方法^[6]

1.3.2.1 苦杏仁甙的紫外吸收光谱

以甲醇为溶剂配制苦杏仁甙标准溶液(0.1mg/ml), 置 1cm 石英小池, 放在紫外分光光度计上, 选择 200 ~ 300nm 波长范围测定吸收 A 值, 并以甲醇作空白记录其紫外吸收光谱。苦杏仁甙于波长 219nm 处出现最大吸收峰(见图 1), 因此确定检测波长为 219nm。

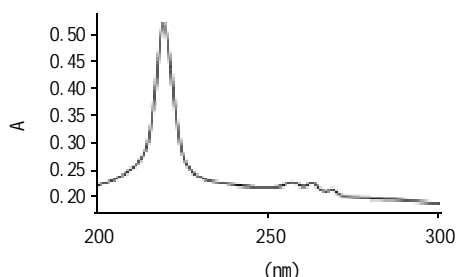


图1 苦杏仁甙在甲醇溶液中的紫外吸收光谱
Fig.1 UV absorption spectrum of amygdalin

1.3.2.2 标准曲线的绘制

精密称取经 105 °C 干燥至恒重的苦杏仁甙标准品 5mg, 用甲醇溶解定容至 50ml, 制得 0.1mg/ml 苦杏仁甙标准溶液。准确移取标准溶液 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10ml, 用甲醇分别定容至 10ml, 得到浓度为 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10mg/ml 的系列标准溶液。用甲醇溶液做参比, 分别放入 1cm 石英池内, 在 219 波长处分别测定其吸光度, 结果见表 1。

以浓度 C 为横坐标, 吸光度 A 为纵坐标进行线性回归, 回归方程为 $A=505679C+0.0141$, 相关系数 $r=0.9996$ (见图 2)。

经查检验相关系数的临界值表得临界相关系数 $r_{(99.9\%, n-2)}=0.872 < r$, 说明苦杏仁甙浓度在 0.01 ~ 0.10mg/ml 范围内, 在波长 219nm 处测其吸光度值与浓度呈良好的线性关系, 可按标准曲线法进行定量分析^[7]。

1.3.2.3 供试液制备

精密移取一定量苦杏仁甙提取液, 水浴加热浓缩至干, 冷却, 用甲醇溶解定容至 10ml 容量瓶中, 摇匀,

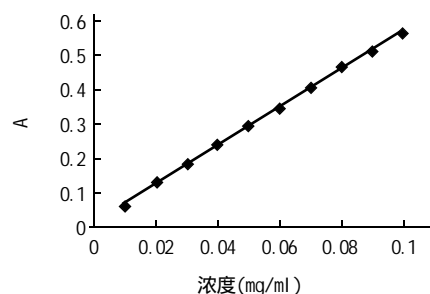


图2 苦杏仁甙标准曲线
Fig.2 The standard curve of amygdalin

作为供试液, 备用。

1.3.2.4 供试液的测定

将供试液放入 1cm 石英池内, 用甲醇溶液做参比, 在 219 波长处分别测定其吸光度, 重复 3 次, 根据回归方程计算溶液浓度, 进而计算出苦杏仁甙含量。测得新疆小白杏杏仁中苦杏仁甙含量为 3.084%。

1.3.2.5 精密度实验

用苦杏仁甙对照品溶液(0.5mg/ml)于一日内在 219nm 波长下重复测量吸光值 6 次, 得日内精密度, $RSD=0.4089\%$, $n=6$; 用同一份溶液连续测量 6 日, 得日间精密度, $RSD=0.4978\%$, $n=6$ 。

1.3.2.6 重现性实验

精密称取经去油处理后并过 100 目筛的杏仁粉 6 份, 每份 1.5g, 精密移取 0.5ml 经提取、定容后的样品测定液, 用甲醇定容至 10ml 容量瓶, 在 219nm 波长下测量吸光度 A, 计算 $RSD=0.2940\%$, $n=6$ 。

1.3.2.7 稳定性实验

用同一份杏仁提取液放置 48h, 分别于以下时间 0.5、1、2、4、8、12、24、36、48h 测定其吸光度, 计算 $RSD=0.3565\%$, $n=9$ 。实验结果表明, 在实验条件下, 苦杏仁甙供试液的吸光度在 48h 内基本保持不变。

1.3.2.8 回收率实验

取已知苦杏仁甙含量的样品, 共 6 份, 每份约 1.5g, 分别加入苦杏仁甙对照品, 按样品测定液的制备项下提取、定容后, 精密移取 0.5ml 用甲醇二次定容至 10ml 容量瓶, 并在 219nm 波长下测定苦杏仁甙含量, 计算平均回收率, 结果见表 2。

2 结果与分析

表2 回收率实验结果(n=6)
Table 2 Results of recovery experiment(n=6)

项目	样品含量 (mg)	标准品加入量 (mg)	回收量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	80.502	5.857	86.396	100.632	100.9458	0.9749
2	80.891	6.528	87.418	99.985		
3	81.003	5.776	86.854	101.298		
4	80.676	5.218	85.881	99.751		
5	80.357	6.027	86.512	102.124		
6	79.981	5.463	85.547	101.885		

在苦杏仁甙的提取工艺中,诸多因素影响苦杏仁甙的提取得率,经初步实验选定料液比、浸泡时间、提取时间为主要因素,分别对以上因素做单因素试验。

2.1 单因素试验结果

2.1.1 料液比对苦杏仁甙提取得率的影响

浸泡时间为30min,提取时间为15min,料液比(g:ml)分别为1:4、1:6、1:8、1:10、1:12、1:14时,其提取效果如图3所示。

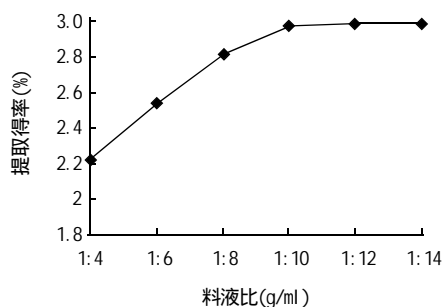


图3 料液比对提取得率的影响
Fig.3 Effect of solid-liquid ratio on yield

由图3可以看出,苦杏仁甙的提取得率与料液比有关。当料液比为1:10时苦杏仁甙的提取得率(2.971%)要比料液比为1:4时的提取得率(2.227%)高0.744%。这是因为随着水量增加,会降低水中苦杏仁甙的浓度,增加苦杏仁甙与水的接触面,从而使苦杏仁甙的溶解率增大,但当料液比大于1:10时,苦杏仁甙的一次浸提率趋于稳定,即一定比例的水已将有效成分基本溶出完全。故从节约溶剂量和降低后续工序的成本等方面综合考虑,选择料液比为1:10。

2.1.2 浸泡时间对苦杏仁甙提取得率的影响

料液比(g:ml)为1:10,提取时间为15min,浸泡时间分别为0、10、20、30、40、50min时,其提取效果如图4所示。

由图4可以看出,用95℃以上的沸水直接提取苦杏仁甙时的提取得率(2.577%)比用常温水浸泡10min后提取的提取得率(2.717%)要高出0.140%,这可能是因为一定时间内沸水更容易使杏仁中的苦杏仁甙溶出,但随着

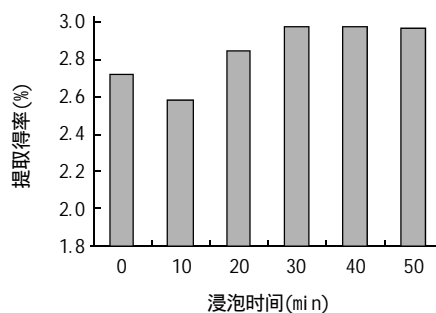


图4 浸泡时间对提取得率的影响
Fig.4 Effect of soak time on yield

浸泡时间的增加,苦杏仁甙在常温水中的溶解率逐渐增高,直至浸泡30min时,溶解率达到最高,之后溶解率趋于稳定,提取得率也不在增加。

2.1.3 提取时间对苦杏仁甙提取得率的影响

料液比(g:ml)为1:10,浸泡时间为15min,提取时间分别为0、10、20、30、40、50min时,其提取效果如图5所示。

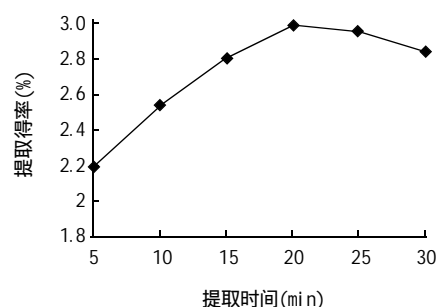


图5 提取时间对提取得率的影响
Fig.5 Effect of extrat time on yield

由图5可知,杏仁中苦杏仁甙的提取得率在5min时较低,仅为2.197%,5~20min范围内苦杏仁甙得率随提取时间的延长而明显提高,当提取时间20min时,提取得率达到最高值(2.983%)。当提取时间在20min以上时,提取效果随时间的增加有所下降,这是因为在高温下提取,时间过长部分杏仁蛋白变性,使得苦杏仁甙不易溶入水中,而且长时间加热也会使部分苦杏仁甙被破坏,提取得率下降,故从效益考虑,确定浸提时间为20min最佳。

2.2 正交试验设计

在单因素试验的基础上,为了考察多因素的综合效应,选择料液比、浸泡时间、提取时间为考察因素,以测得的杏仁中苦杏仁甙含量为考察指标,每个因素选3个水平,选用 $L_9(3^4)$ 正交表对芦笋中总黄酮提取工艺进行研究,以确定较佳的工艺条件。各因素的试验安排及苦杏仁甙的提取得率结果见表3。

表3 正交试验设计及试验数据(完全随机模型)

Table 3 Design and data of orthogonal test(totally random model)

试验	因素				提取得率 (%)
	料液比 (g:ml)	浸泡时间 (min)	提取时间 (min)	空列	
	A	B	C	D	
1	1(1:8)	1(20)	1(10)	1	1.999
2	1	2(30)	2(20)	2	2.171
3	1	3(40)	3(30)	3	1.788
4	2(1:10)	1	2	3	2.888
5	2	2	3	1	1.924
6	2	3	1	2	2.069
7	3(1:12)	1	3	2	1.873
8	3	2	1	3	2.084
9	3	3	2	1	2.143
I	5.958	6.160	6.152	6.066	
II	6.281	6.179	6.602	6.113	
III	6.100	6.000	5.585	6.160	
K ₁	1.986	2.053	2.051	2.022	
K ₂	2.094	2.060	2.201	2.038	
K ₃	2.033	2.000	1.862	2.053	
R	0.108	0.060	0.339	0.031	

表4 正交设计方差分析表(完全随机模型)

Table 4 The table of variance analysis of orthogonal test

变异来源	平方和	自由度	均方	F	显著水平
第1列	0.01747	2	0.00874	11.86464	0.07773
第2列	0.00644	2	0.00322	4.37619	0.18601
第3列	0.17314	2	0.08657	117.5704	0.00843
第4列*	0.00147	2	0.00074		
误差	0.00150	2	0.00074		
总和	0.19853				

注:此正交试验方差分析是用DPS数据处理软件所做,当显著水平值<0.05时为极显著,0.1<显著水平值<0.5时为较显著,显著水平>0.1时为不显著(*表示空列)。

根据表3中的数据进行方差分析,结果见表4。由表4可知,因素C(提取时间)影响极显著,因素A(料液比)较显著,因素B(浸泡时间)不显著。各因素对杏仁中苦杏仁甙水提工艺的影响大小次序为:提取时间>料液比>浸泡时间;综合各因素K值并直观比较,得出杏仁中苦杏仁甙水提工艺理论上的最佳工艺条件为A₂B₂C₂,即提取时间为20min,料液比为1:10,浸泡时间为30min。

2.3 提取次数对苦杏仁甙提取得率的影响

选用正交试验所得最佳工艺条件,分别提取1、2、3、4次,提取效果如图6所示。

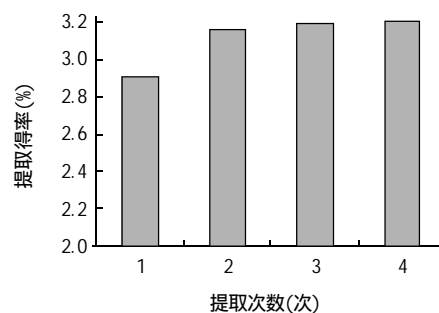


图6 提取次数对提取得率的影响

Fig.6 Effect of extrat times on yield

由图6可知,提取次数越多,提取得率越高。但是提取2次与3次所得到的苦杏仁甙量差别不大,可见提取2次后杏仁中苦杏仁甙已基本提取完全,再增加提取次数,提取率无显著增加。

3 结论

3.1 以纯度大于99%的苦杏仁甙为标准品,采用紫外分光光度法,在波长为219nm处测定杏仁中苦杏仁甙的含量,准确度与硝酸银滴定法基本一致。本法不仅稳定,灵敏度高,方法简便,而且节约测定时间和试剂,为测定杏仁中苦杏仁甙的含量提供了良好的方法。

3.2 从杏仁中提取苦杏仁甙时,影响提取效果的主次顺序为提取时间>料液比>浸泡时间。提取时间和料液比对提取效果有显著影响,提取中应该严格控制。

3.3 由试验可知,水提取杏仁中苦杏仁甙时,最佳提取参数为:提取时间20min,料液比1:10,浸泡时间3min,提取2次。

参考文献:

- [1] 杨春,卢建明,梁霞,等.杏仁的营养价值与开发利用[J].山西食品工业,1999,2(6):23.
- [2] 贾玉海.常用中药八百味精要[M].北京:学苑出版社,2000,(7):426-427.
- [3] 侯嵘桥.苦杏仁的炮制原理[J].沈阳药科大学学报,1997,14(2):130.
- [4] 刑国秀,李楠,杨美燕,等.天然抗肿瘤药物维生素B₁₇的研究进展[J].中国新医药,2003,2(5):42-44.
- [5] 沙明,曹爱民,姜丽,等.高效液相色谱法测定苦杏仁中杏仁甙的含量[J].药物分析杂志,1996,16(6):397.
- [6] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中国药典1990年版(第二部)[M].广州:广东科技出版社,1990.附录24.
- [7] 宋清.定量分析中的误差和数据评价[M].北京:人民教育出版社,1986.126-141.