

食用土当归中总有机酸的纯化工艺优选

杨菁,彭腾*,凌智群,李鸿翔,禹亚杰,李大萍

(成都中医药大学,中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地,
中药材标准化教育部重点实验室,成都 611137)

[摘要] 目的:优选食用土当归中总有机酸的纯化工艺。方法:采用酸碱滴定法测定总有机酸含量。以总有机酸质量分数和转移率为指标,联用有机溶剂萃取法与酸碱法,通过单因素试验考察萃取溶剂、碱种类、碱用量、碱化次数、酸沉 pH 对总有机酸纯化工艺的影响。结果:最佳纯化工艺条件为加 2 倍量石油醚萃取 4 次,以 1.0% KOH 溶液作为碱化试剂,碱化数 3 次,加盐酸至 pH 1,酸沉后用石油醚萃取 3 次;总有机酸质量分数由提取物的 14.71% 提高到 65.08%,转移率达 76.17%。结论:该工艺稳定可靠,可为食用土当归资源的综合利用提供实验依据。

[关键词] 食用土当归;总有机酸;有机溶剂萃取法;纯化工艺;酸碱滴定法
[中图分类号] R284.2;R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)08-0025-03
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014080025
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000031.html>
[网络出版时间] 2014-02-07 15:15

Optimization of Purification Process for Total Organic Acids from
Roots of *Aralia cordata*

YANG Jing, PENG Teng*, LING Zhi-qun, LI Hong-xiang, YV Ya-jie, LI Da-ping

(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research,
Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Key Laboratory of Standardization of
Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize purification process of total organic acids from roots of *Aralia cordata*. **Method:** The content of total organic acids was determined by acid-base titration. With purity and transferring rate of total organic acids as indexes, combining with organic solvent extraction and acid-base method, effects of extraction solvents, reagent for alkalization and its concentration, alkalizing times and pH of acid settling on purification process of total organic acids were investigated by single factor tests. **Result:** Optimum purification technology was selected as follows: extracted four times with two-fold volume of petroleum ether, 1.0% KOH as alkalization reagent, three times for alkalization, pH 1 of acid settling by hydrochloric acid, extracted three times with petroleum ether after acid settling; Under these purification conditions, purity of total organic acids increased from 14.71% in extract to 65.08% with transferring rate of 76.17%. **Conclusion:** This purification process was stable and feasible, which could provide experimental evidence for comprehensive utilization of *A. cordata* resources.

[Key words] *Aralia cordata*; total organic acids; organic solvent extraction; purification process; acid-base titration

[收稿日期] 20130808(012)
[基金项目] 四川省科技支撑计划项目(2011SC0235)
[第一作者] 杨菁,在读硕士,从事中药药效物质基础及质量标准研究,E-mail:YangJingQing1124@163.com
[通讯作者] *彭腾,博士,副教授,从事中药药效物质基础及质量标准研究,E-mail:Pengteng1973@sina.com

食用土当归具有祛风活血、解热镇痛、疏风补虚、利尿消肿之功效,主要用于治疗风湿痹痛、腰膝酸软、头痛目眩等证,以野生品为主,主要分布于长江流域及以南山区,是一种药食两用的传统中药^[1]。该药味含有皂苷、挥发油、有机酸等化学成分^[2-3],现代药理研究表明有机酸为其抗炎镇痛的有效成分^[4-7],但有关其总有机酸的研究尚未见报道。在前期研究基础上^[3-4],本实验结合有机溶剂萃取法和酸碱法纯化食用土当归总有机酸,探索最佳纯化条件,为食用土当归资源的合理开发提供参考。

1 材料

FA2004N 型电子天平(上海民怡仪器仪表有限公司),PHs-2c 型酸度计(成都方丹科技开发公司),DZG-6020 型真空干燥箱(上海信森实验仪器有限公司)。食用土当归购于四川省成都市荷花池中药材市场,经成都中医药大学蒋桂华教授鉴定为五加科楸木属植物食用土当归 *Aralia cordata* Thunb. 的根及根茎;试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 食用土当归提取物的制备 称取食用土当归粗粉 1 kg,加 8 倍量 95% 乙醇于 75 ℃ 回流提取 2 次,每次 1 h,抽滤,合并滤液,减压回收乙醇,置 50 ℃ 真空干燥箱中干燥 24 h,即得。

2.2 总有机酸的含量测定 精密称取食用土当归提取物 1.0 g,加无水乙醇溶解,加适量活性炭脱色,滤过,即得供试品溶液。向供试品溶液中滴加酚酞指示剂 2 滴,摇匀,用标定好的氢氧化钠滴定液(0.094 5 mol·L⁻¹)滴定至溶液呈粉红色,同时作空白对照,氢氧化钠滴定液每 1 mL 相当于贝壳杉烯酸(C₂₀H₃₀O₂) 28.554 mg,总有机酸含量以贝壳杉烯酸计。

2.3 总有机酸纯化工艺考察

2.3.1 萃取溶剂 精密称取食用土当归提取物 3.0 g,共 5 份,加水 60 mL 使溶解,分别加等体积正丁醇、三氯甲烷、乙醚、乙酸乙酯、石油醚萃取至萃取层呈无色,合并萃取液,减压回收溶剂,干燥,称定质量,计算浸膏中总有机酸质量分数分别为 13.93%,18.08%,20.93%,21.18%,29.38%,转移率分别为 50.93%,56.96%,62.49%,68.60%,73.46%,表明萃取溶剂极性越小,越有利于总有机酸的萃出,故选择石油醚作为萃取溶剂。

2.3.2 碱种类 精密称取食用土当归提取物 15.0 g,加水 300 mL 使溶解,加 2 倍量石油醚萃取 4 次,合

并萃取液并浓缩至 300 mL,均分成 5 份,分别用质量分数均为 5.0% 的 KOH,NaOH,NaHCO₃,Na₂CO₃,Ca(OH)₂ 溶液等体积萃取 3 次,合并碱水层,加浓盐酸调 pH 约 2,静置至室温,加等体积石油醚萃取 3 次,合并石油醚萃取层,回收溶剂,干燥,称定质量,计算总有机酸质量分数及转移率,结果见图 1,表明 KOH 对有机酸的碱化作用最强且最完全,故选择 KOH 作为碱化试剂。

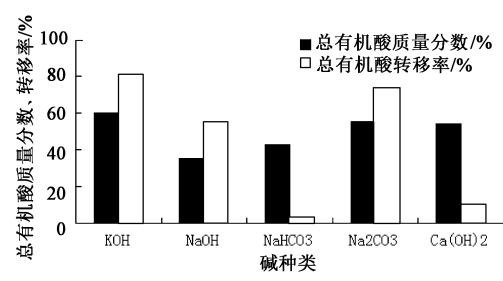


图 1 食用土当归中总有机酸纯化工艺的碱种类考察

2.3.3 KOH 用量 精密称取食用土当归提取物 27.0 g,加水 540 mL 使溶解,加 2 倍量石油醚萃取 4 次,合并萃取液并浓缩至 540 mL,均分为 9 份,分别用不同质量分数的 KOH 溶液等体积萃取 3 次,其他操作同 2.3.2 项,计算总有机酸质量分数及转移率,结果见图 2,表明 KOH 质量分数在 0.50%,1.0% 时,总有机酸质量分数及转移率最大,但试验过程中发现 KOH 质量分数为 0.50% 时萃取溶液乳化现象很严重,故选择 1.0% KOH 溶液作为碱化溶液。

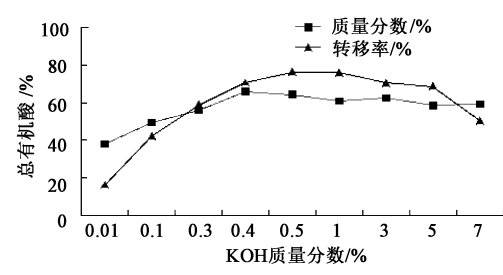


图 2 食用土当归中总有机酸纯化工艺的碱用量考察

2.3.4 KOH 碱化次数 精密称取食用土当归提取物 12.0 g,加 20 倍量水使溶解,加 2 倍量石油醚萃取 4 次,合并萃取液并浓缩至 240 mL,均分成 4 份,分别加入等体积 1.0% KOH 溶液萃取 1,2,3,4 次,其他操作同 2.3.2 项,计算总有机酸质量分数分别为 36.60%,48.57%,62.64%,58.95%,转移率分别为 58.78%,61.96%,74.26%,75.18%,表明碱化 3 次的效果较好。

2.3.5 酸沉 pH 精密称取食用土当归提取物

21.0 g,加 20 倍量水使溶解,加 2 倍量石油醚萃取 4 次,合并萃取液并浓缩至 420 mL,加入等体积 1.0% KOH 溶液萃取 3 次,合并碱水层,等分为 7 份,分别加盐酸调 pH 至 1,2,3,4,5,6,7,静置至室温,其他操作同 2.3.2 项,计算总有机酸质量分数及转移率,结果见图 3,表明随着 pH 的减小,总有机酸质量分数及转移率逐渐增大,故选择酸沉 pH 1。

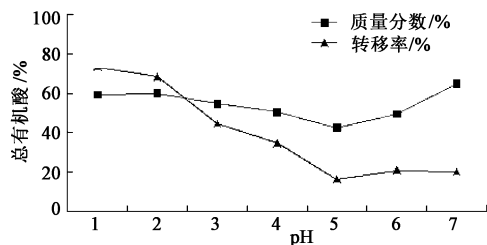


图 3 食用土当归中总有机酸纯化工艺的酸沉 pH 考察

2.3.6 酸沉后萃取次数 精密称取食用土当归提取物 9.0 g,加 20 倍量水使溶解,加 2 倍量石油醚萃取 4 次,合并萃取液并浓缩至 180 mL,加入等体积 1.0% KOH 溶液萃取 3 次,合并碱水层,加盐酸至 pH 1,静置至室温,均分成 3 份,分别加等体积石油醚萃取 1,2,3 次,其他操作同 2.3.2 项,计算总有机酸质量分数分别为 53.37%,60.24%,65.08%,63.56%,转移率分别为 60.38%,68.75%,76.17%,75.96%,表明萃取 3 次即可萃取完全。

3 讨论

本课题组前期试验中采用正交试验优选了食用土当归总有机酸的提取工艺参数,本文采用的酸碱滴定法亦为前期试验建立的,该方法简单易操作,为较常用的有机酸类物质含量测定方法^[8]。

根据药材中有机酸类成分结构和性质的不同,常采用的分离纯化方法有酸碱法、离子交换色谱法、大孔树脂吸附法及活性炭吸附法等^[9]。研究表明食用土当归中有机酸类物质主要为二萜羧酸,极性较小,易溶于低极性有机溶剂而难于水,食用土当归提取物加水溶解仅能溶解其中约 60% 有机酸类化合物。预试验比较了 30% 乙醇和 50% 乙醇溶解提取物后通过大孔吸附树脂和阴离子交换树脂,结果

发现大量有机酸类物质未被吸附,故选择酸碱法对食用土当归总有机酸进行纯化。因单独使用有机溶剂萃取法或酸碱法均不能除掉大量杂质,只有将 2 种方法相结合才能达到较理想的纯化效果。

预试验考察了纯化工艺中食用土当归提取物的加水量,发现加 15 倍量水溶解时,水溶液中总有机酸浓度较大,萃取时易发生严重的乳化现象,故选择料液比 1:20。

[参考文献]

- [1] 包柏林. 中药九眼独活的研究[J]. 药学实践杂志, 1998,16(1):34.
- [2] 黄蕾蕾,熊世平,周治,等. 食用土当归挥发油化学成分的研究[J]. 中药材,2001,24(4):274.
- [3] 彭腾,董小萍,邓赟,等. 栽培食用土当归根的化学成分研究[J]. 中药材,2005,28(1):996.
- [4] 彭腾. 栽培食用土当归抗炎镇痛的化学成分研究[D]. 成都:成都中医药大学,2005.
- [5] Kim T D, Lee J Y, Cho B J, et al. The analgesic and anti-inflammatory effects of 7-oxosandaracopimaric acid isolated from the roots of *Aralia cordata* [J]. Arch Pharm Res, 2010,33(4):509.
- [6] Cho J H, Lee J Y, Sim S S, et al. Inhibitory effects of diterpene acids from root of *Aralia cordata* on IgE-mediated asthma in guinea pigs [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2010,23(3):190.
- [7] Kang O H, Chae H S, Choi J G, et al. Ent-pimar-8(14), 15-dien-19-oic acid isolated from the roots of *Aralia cordata* inhibits induction of inflammatory mediators by blocking NF- κ B activation and mitogen-activated protein kinase pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2008,601(1/3):179.
- [8] 马莉,唐健元,李祖伦,等. 板蓝根提取物中总有机酸和水杨酸含量测定方法研究[J]. 中国中药杂志, 2006,31(10):804.
- [9] 陈宝龙,冯坤,郑朝华,等. 山楂三萜酸类有效部位提取纯化工艺比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(12):60.

[责任编辑 全燕]