

- 的影响[J]. 中药材, 2016, 39(5): 1032-1034.
- [9] 罗 磊, 康新艳, 朱文学, 等. 热泵远红外联合干燥金银花的工艺优化及品质控制[J]. 食品科学, 2016, 37(18): 6-12.
- [10] 王 宴. 不同干燥技术对川产细毡毛忍冬药用品质的影响[J]. 华西药学杂志, 2017, 32(2): 202-204.
- [11] 刘 艳, 何 兵, 熊 伟, 等. 不同加工方法对泸州山银花品质影响的研究[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(11): 1984-1988.
- [12] 罗 磊, 周燕燕, 朱文学, 等. 金银花多酚氧化酶特异性与抑制剂动力学研究[J]. 农业机械学报, 2014, 45(7): 202-208.
- [13] 常大伟, 魏送送. 酥梨多酚氧化酶的提取及其性质[J]. 食品工业, 2014, 35(2): 88-91.
- [14] Li Y X, Wills R B H, Golding J B, *et al.* Effect of halide salts on development of surface browning on fresh-cut ‘Granny Smith’ (*Malus domestica* Borkh) apple slices during storage at low temperature [J]. *J Sci Food Agric*, 2015, 95(5): 945-952.
- [15] 吕艳芳, 陈培丽, 李颖畅, 等. 曲酸对蘑菇多酚氧化酶的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2017, 17(4): 30-36.
- [16] Liu L, Cao S Q, Qi X Y, *et al.* The effect of pH on the activity, thermokinetics and inhibition of polyphenol oxidase from peach[J]. *J Food Sci Tech*, 2015, 52(11): 7465-7471.
- [17] Du Y J, Dou S Q, Wu S J. Efficacy of phytic acid as an inhibitor of enzymatic and non-enzymatic browning in apple juice[J]. *Food Chem*, 2012, 135(2): 580-582.
- [18] 马东来, 社会茹, 蒋翠岚, 等. Box-Behnken 响应面法优化浙贝母中二氧化硫残留量的测定[J]. 中成药, 2016, 38(7): 1556-1559.

## 五味子中五味子醇甲提取纯化工艺的优化

牟倩倩<sup>1,2</sup>, 马祖兵<sup>1</sup>, 孙 强<sup>1</sup>, 赵甜甜<sup>1</sup>, 谢 龙<sup>1</sup>, 李 化<sup>2\*</sup>, 李小芳<sup>1\*</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137; 2. 中国中医科学院中药研究所, 道地药材国家重点实验室培育基地, 北京 100700)

**摘要:** 目的 优化五味子中五味子醇甲提取纯化工艺。方法 在单因素试验基础上, 以乙醇体积分数、提取时间、提取温度为影响因素, 五味子醇甲提取率为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化提取工艺; 以五味子醇甲收率为评价指标, 上样液质量浓度、洗脱剂(乙醇)体积分数、洗脱剂用量为影响因素, Box-Behnken 响应面法优化纯化工艺。结果 最佳提取工艺为乙醇体积分数 81%, 提取时间 14 min, 提取温度 40 ℃, 料液比 1:10, 五味子醇甲提取率 0.587%。最佳纯化工艺为 AB-8 型大孔吸附树脂, 上样液质量浓度 0.06 g/mL, 体积流量 1.0 mL/min, 用量 160 mL; 洗脱剂体积分数 85%, 体积流量 2.0 mL/min, 用量 62 mL, 五味子醇甲收率 94.51%。结论 该方法操作简便, 稳定可靠, 可用于提取纯化五味子中五味子醇甲。

**关键词:** 五味子; 五味子醇甲; 提取; 纯化; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)02-0255-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.02.003

## Extraction and purification technique optimization for schisandrin from *Schisandra chinensis*

MOU Qian-qian<sup>1,2</sup>, MA Zu-bing<sup>1</sup>, SUN Qiang<sup>1</sup>, ZHAO Tian-tian<sup>1</sup>, XIE Long<sup>1</sup>, LI Hua<sup>2\*</sup>, LI Xiao-fang<sup>1\*</sup>

(1. Ministry of Education Key Laboratory for Standardization of Chinese Medicinal Materials; Sichuan Provincial Key Laboratory for Systematic Research,

收稿日期: 2018-04-08

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(ZXKT17065); 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201407003)

作者简介: 牟倩倩(1992—), 女, 硕士生, 从事中药新制剂、新剂型、新技术研究。Tel: 18382187463, E-mail: 511794338@qq.com

\*通信作者: 李 化(1976—), 女, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药质量评价研究。Tel: 13810631552, E-mail: lihua621@hotmail.com

李小芳(1964—), 女, 博士, 博士生导师, 从事中药新制剂、新剂型、新技术研究。Tel: 13808195110, E-mail: lixiaofang918@163.com

Development and Utilization of Chinese Medicine Resources—State Key Laboratory Breeding Base Co-founded by Sichuan Province and MOST; College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. State Key Laboratory Breeding Base for Genuine Medicinal Materials; Institute for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**KEY WORDS:** *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.; schisandrin; extraction; purification; Box-Behnken response surface method

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实, 习称北五味子, 具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心之功效<sup>[1]</sup>。现代研究发现, 五味子木脂素类成分是五味子主要活性成分, 以含有量较高的五味子醇甲为代表, 具有镇静、抗惊厥、保护脑神经细胞、保肝等多种药理活性, 对肝炎、脑病等有良好的治疗作用<sup>[2-6]</sup>, 2015版《中国药典》也将其作为该药材质量评价指标成分。目前虽有多篇文献报道了五味子醇甲的提取纯化工艺<sup>[7]</sup>, 但传统方法(煎煮法、渗漉法、回流法、乙醇沉淀法), 普遍存在费时、效率低、样品杂质多等问题; 虽新技术(微波提取法、超临界提取法、高速逆流色谱法等)提高其提取纯化效果, 但设备成本较高, 操作繁琐, 不适合工业化生产。

超声提取法是通过超声波所具有的空化效应、热效应、机械效应来提高溶剂分子运动速度及穿透力, 用于提取中药有效成分的一种新技术, 以提取温度低、时间短、提取率高的独特优势在中药提取中得到广泛应用。大孔树脂是一种同时具备吸附及筛选功能的高分子聚合物, 因其理化性质稳定、不受无机物影响、交换速度快、易解吸、再生处理简单、价格便宜等诸多优点被广泛用于中药活性成分的分离纯化。因此, 本实验采用 Box-Behnken 响应面法优化五味子中五味子醇甲提取纯化工艺, 旨在为其他五味子木脂素类成分的提取纯化提供参考, 也为相关制剂的开发奠定基础。

## 1 材料

1.1 仪器 LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); KQ-5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Milli-Q 型超纯水制备仪(美国 Millipore 公司); FW80 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); BT125D 型电子天平(德国 Sartorius 公司); 旋转蒸发器(上海爱朗仪器有限公司); 离心机(德国 Eppendorf 公司); THZ-22 型恒温摇床(太仓市实验设备厂); 玻璃层析柱(内径 1.2 cm×40 cm)。

1.2 试药 五味子购于北京同仁堂药房, 经中国中医科学院中药研究所李化副研究员鉴定为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实。五味子醇甲对照品购于成都曼斯特生物科技有限公司(含有量>99%, 批号 MUST-15041804)。AB-8、LX-22、X-5 等大孔树脂均购于郑州勤实科技有限公司(批号 20160526)。甲醇为色谱纯(美国 Fisher 公司); 氢氧化钠、盐酸、无水乙醇等均为分析纯。

## 2 五味子醇甲提取工艺优化

2.1 含有量测定 参照 2015 版《中国药典》五味子项下含有量测定方法<sup>[1]</sup>, 以五味子醇甲含有量为横坐标( $X$ ), 峰面积为纵坐标( $Y$ )进行回归, 得到回归方程为  $Y = 21\ 468X + 8\ 548.6$  ( $R^2 = 0.999\ 8$ ), 在 7.725~92.70  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内线性关系良好。

2.2 单因素试验 考察不同乙醇体积分数(40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%)、料液比(1:5、1:10、1:20、1:30、1:40、1:50)、超声时间(5、10、20、30、40、50 min)、超声温度(20、30、40、50、60、70  $^{\circ}\text{C}$ )对五味子醇甲提取率的影响, 重复 2 次, 初始条件设置为料液比 1:40, 超声时间 20 min, 提取温度 30  $^{\circ}\text{C}$ , 超声功率 100 W, 结果见图 1。由图可知, 单因素试验中最优提取工艺为乙醇体积分数 90%, 料液比 1:10, 提取时间 20 min, 提取温度 40  $^{\circ}\text{C}$ 。

2.3 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上, 选择乙醇体积分数(A)、提取时间(B)、提取温度(C)作为影响因素, 五味子醇甲提取率(Y)作为评价指标, 设计 3 因素 3 水平(共 17 组试验, 其中 12 个为析因点, 5 个为中心点)响应面试验。因素水平见表 1, 结果见表 2。

表 1 提取工艺因素水平

Tab. 1 Factors and levels for extraction technique

水平	A 乙醇/%	B 提取时间/min	C 提取温度/ $^{\circ}\text{C}$
-1	80	5	20
0	90	12.5	30
1	100	20	40

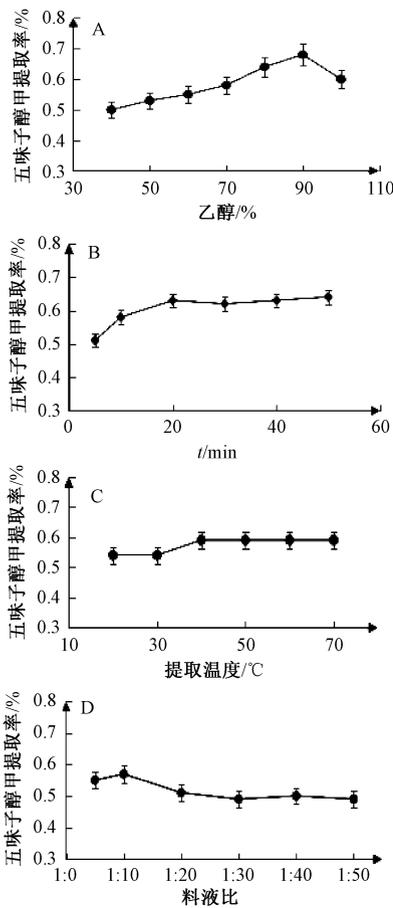


图1 各因素对五味子醇甲提取率的影响

Fig. 1 Effects of various factors on schisandrin extraction rate

表2 提取工艺试验设计及结果

Tab. 2 Design and results of tests for extraction technique

试验号	A 乙醇/ %	B 提取时间/ min	C 提取温 度/°C	Y 五味子醇甲 提取率/%
1	80	5	30	0.51
2	100	5	30	0.49
3	80	20	30	0.58
4	100	20	30	0.53
5	80	12.5	20	0.51
6	100	12.5	20	0.50
7	80	12.5	40	0.58
8	100	12.5	40	0.53
9	90	5	20	0.50
10	90	20	20	0.55
11	90	5	40	0.52
12	90	20	40	0.58
13	90	12.5	30	0.56
14	90	12.5	30	0.54
15	90	12.5	30	0.54
16	90	12.5	30	0.56
17	90	12.5	30	0.53

拟合, 得二次多项回归方程为  $Y = 0.55 - 0.016A + 0.028B + 0.019C - 7.5 \times 10^{-3}AB - 1.000 \times 10^{-3}AC + 2.5 \times 10^{-3}BC - 0.013A^2 - 5.5 \times 10^{-3}B^2 - 3.000 \times 10^{-3}C^2$ , 方差分析见表3。由表可知, 模型  $P < 0.01$ , 表明模型显著; 失拟项  $P > 0.05$ , 表明模型拟合度良好; 校正决定系数 0.923 2, 表明 92.32% 的响应值变化可用该模型来解释; 因素 A、B、C 对五味子醇甲提取率均有极显著影响 ( $P < 0.01$ ), 影响程度依次为  $B > C > A$ 。

表3 提取工艺方差分析

Tab. 3 Analysis of variance for extraction technique

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.013	9	$1.396 \times 10^{-3}$	9.35	0.003 8
A	$2.112 \times 10^{-3}$	1	$2.112 \times 10^{-3}$	14.15	0.007 1
B	$6.050 \times 10^{-3}$	1	$6.050 \times 10^{-3}$	0.53	0.000 4
C	$2.812 \times 10^{-3}$	1	$2.812 \times 10^{-3}$	18.84	0.003 4
AB	$2.250 \times 10^{-4}$	1	$2.250 \times 10^{-4}$	1.51	0.259 2
AC	$4.000 \times 10^{-4}$	1	$4.000 \times 10^{-4}$	2.68	0.145 7
BC	$2.500 \times 10^{-5}$	1	$2.500 \times 10^{-5}$	0.17	0.694 6
A <sup>2</sup>	$7.116 \times 10^{-4}$	1	$7.116 \times 10^{-4}$	4.77	0.065 3
B <sup>2</sup>	$1.274 \times 10^{-4}$	1	$1.274 \times 10^{-4}$	0.85	0.386 4
C <sup>2</sup>	$3.789 \times 10^{-5}$	1	$3.789 \times 10^{-5}$	0.25	0.629 8
残差	$1.045 \times 10^{-3}$	7	$1.493 \times 10^{-4}$	—	—
失拟项	$3.250 \times 10^{-4}$	3	$1.083 \times 10^{-4}$	0.60	0.647 3
绝对误差	$7.200 \times 10^{-4}$	4	$1.800 \times 10^{-4}$	—	—
总和	0.014	16	—	—	—

响应面分析见图2, 可知最优提取工艺为乙醇体积分数 81.06%, 提取时间 13.96 min, 提取温度 39.61 °C, 料液比 1 : 10, 五味子醇甲提取率 0.581%, 考虑到实际操作的可行性, 将其修正为乙醇体积分数 81.00%, 提取时间 14 min, 提取温度 40 °C, 料液比 1 : 10。按上述优化工艺进行 5 批验证试验, 测得五味子醇甲提取率为 0.587%, 与预测值 0.581% 相当 (偏差 0.71%), 表明该工艺准确可靠。

### 3 五味子醇甲纯化工艺优化

3.1 样品溶液制备 称取五味子干燥粉末适量, 按最优提取工艺提取五味子醇甲, 合并浓缩提取液, 适量去离子水定容, 即得, 并测定其质量浓度  $C_0$ 。

3.2 树脂型号筛选 精密称取预处理后的 7 种大孔树脂 (AB-8、X-5、D-101、LX-22、LX-68、HPD450、LSA-21) 各 1.0 g, 置于 125 mL 具塞磨口三角瓶中, 加入已测定质量浓度的样品溶液 30 mL ( $V_1$ ) 于摇床中, 在 25 °C、80 r/min 下吸附 12 h 以达到饱和, 减压抽滤, 测定滤液中五味子醇甲质量浓度  $C_1$ 。将充分吸附后的大孔树脂用

然后, 通过 Design Expert 软件对表 2 数据进行

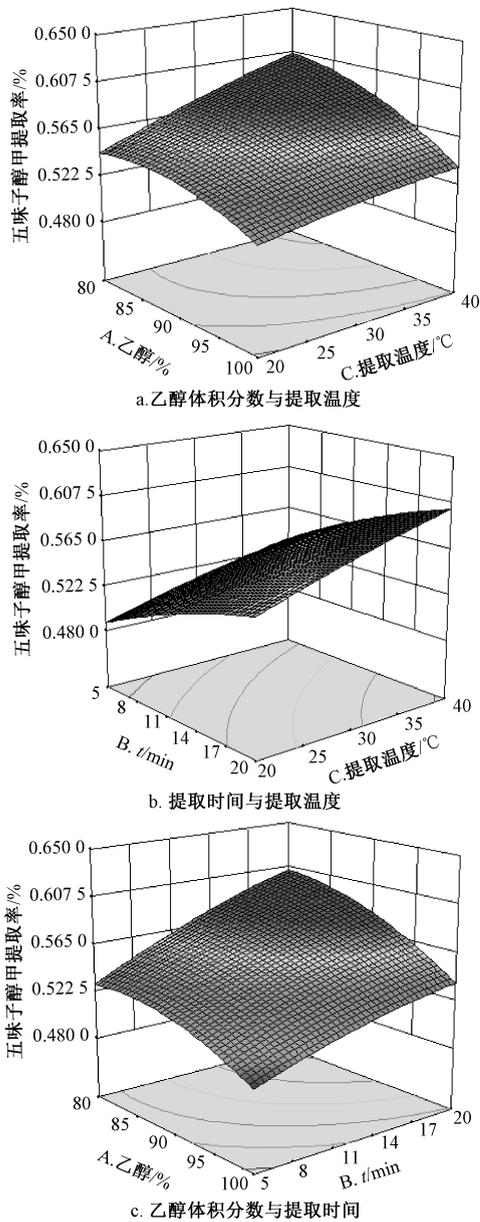


图2 各因素响应面图(提取工艺)

Fig. 2 Response surface plots for various factors (extraction technique)

蒸馏水清洗至表面无样品溶液残留,抽滤,置于具塞磨口三角瓶中,加入95%乙醇50 mL ( $V_2$ ),25℃下振荡12 h (80 r/min),测定解吸液中五味子醇甲质量浓度  $C_2$ ,计算树脂对该成分的吸附率及解吸率,公式分别为吸附率 =  $[(C_0 - C_1) V_1 / C_0 V_1] \times 100\%$ 、解吸率 =  $[C_2 V_2 / (C_0 - C_1) V_1] \times 100\%$ ,结果见图3。由图可知,AB-8大孔树脂对五味子醇甲的吸附率和解吸率均最高,与前期报道<sup>[8]</sup>一致,故选择其进行下一步实验。

3.3 上样液质量浓度考察 取经预处理的AB-8大孔树脂5 g,湿法上柱,配制0.05、0.1、0.2、

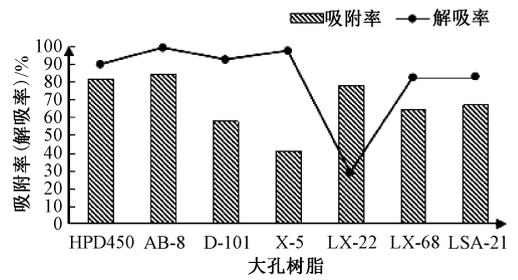


图3 大孔树脂吸附率及解吸率

Fig. 3 Adsorption and desorption rates of macroporous resins

0.3、0.4 g/mL 样品溶液,以2 mL/min 体积流量动态吸附,待上柱样品溶液全部通过树脂柱后收集流出液,测定五味子醇甲质量浓度,计算吸附率,结果见图4。由图可知,随着上样质量浓度增加吸附率先增加后降低,在0.1 g/mL 时最高,故确定上样液质量浓度为0.1 g/mL。

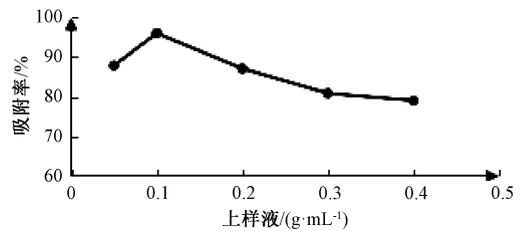


图4 上样液质量浓度对吸附率的影响

Fig. 4 Effect of sample concentration on adsorption rate

3.4 上样液体积流量考察 取经预处理的AB-8大孔树脂5.0 g,湿法上柱,将1.0 g/mL 样品溶液以0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL/min 体积流量上样吸附,收集过柱残液,测定五味子醇甲质量浓度,计算吸附率,结果见图5。由图可知,上样液体积流量在0.5~1.0 mL/min 之间时吸附率变化不大,之后随着其增加而逐渐降低,为缩短纯化周期,故确定上样液体积流量为1.0 mL/min。

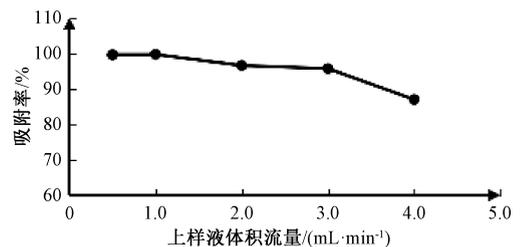


图5 上样液体积流量对吸附率的影响

Fig. 5 Effect of sample volumetric flow rate on adsorption rate

3.5 上样液用量考察 取经预处理的AB-8大孔树脂5.0 g,湿法装柱,将0.1 g/mL 样品溶液以

1.0 mL/min 体积流量连续上样, 流出液每 20 mL 收集 1 管, 测定五味子醇甲质量浓度, 绘制泄漏曲线, 结果见图 6。由图可知, 随着上样液用量增加流出液中泄漏的五味子醇甲含量也随之增加, 达到 160 mL 时该成分明显泄露, 达到 180 mL 时其质量浓度已超过初始的 10%, 故确定上样液用量为 160 mL。

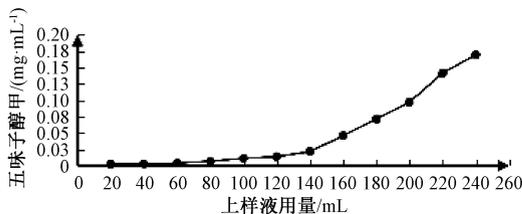


图 6 上样液用量对五味子醇甲质量浓度的影响

Fig. 6 Effect of sample consumption on schisandrin concentration

3.6 洗脱剂体积分数考察 取经预处理的 AB-8 大孔树脂 5.0 g, 湿法装柱, 将 0.1 g/mL 样品溶液以 1.0 mL/min 体积流量上样吸附, 先用 2 BV 去离子水冲洗除杂, 再用 30%、50%、70%、80%、95% 乙醇各 50 mL 以 1 mL/min 体积流量洗脱, 收集洗脱液, 测定五味子醇甲质量浓度, 计算解吸率, 结果见图 7。由图可知, 随着洗脱剂体积分数增加解吸率不断增加, 在 80% 时最高, 之后逐渐下降, 故确定洗脱剂体积分数为 80%。

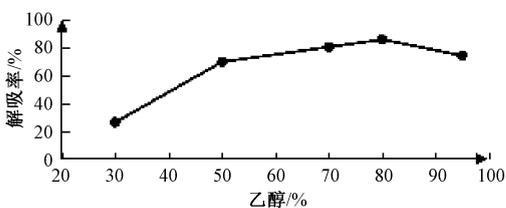


图 7 洗脱剂体积分数对解吸率的影响

Fig. 7 Effect of eluent concentration on desorption rate

3.7 洗脱剂体积流量考察 取经预处理的 AB-8 大孔树脂 5.0 g, 湿法装柱, 将 0.1 g/mL 样品溶液以 1.0 mL/min 体积流量上样吸附, 先用 2 BV 去离子水冲洗除杂, 再用 50 mL 80% 乙醇以 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL/min 体积流量洗脱, 收集洗脱液, 测定五味子醇甲质量浓度, 计算解吸率, 结果见图 8。由图可知, 随着洗脱剂体积流量增加解吸率先稍有增加再缓慢下降, 在 2.0 mL/min 时最高, 故确定洗脱剂体积流量为 2.0 mL/min。

3.8 洗脱剂用量考察 取经预处理后的 AB-8 大孔树脂 5.0 g, 湿法装柱, 将 0.1 g/mL 样品溶液以

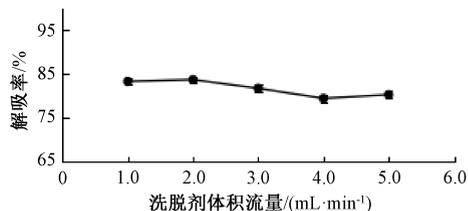


图 8 洗脱剂体积流量对解吸率的影响

Fig. 8 Effect of eluent volumetric flow rate on desorption rate

1.0 mL/min 体积流量上样, 先用 2 BV 去离子水洗涤, 再用 80% 乙醇以 2.0 mL/min 体积流量洗脱, 分段收集洗脱液, 每份 10 mL, 测定五味子醇甲质量浓度, 绘制洗脱曲线, 结果见图 9。由图可知, 当洗脱剂用量达到 50 mL 时五味子醇甲基本洗脱完全, 为更加充分地洗脱, 故确定洗脱剂用量为 60 mL。

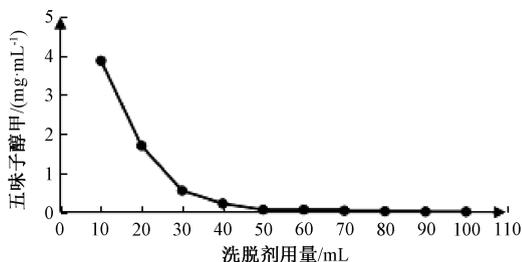


图 9 洗脱剂用量对五味子醇甲质量浓度的影响

Fig. 9 Effect of eluent consumption on schisandrin concentration

3.9 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上, 选择上样液质量浓度 (A)、洗脱剂体积分数 (B)、洗脱剂用量 (C) 作为影响因素, 五味子醇甲收率 (Y, 吸附率×解吸率) 作为评价指标, 根据 Box-Behnken 中心试验方案进行 3 因素 3 水平设计。因素水平见表 4, 结果见表 5。

表 4 纯化工工艺因素水平

Tab. 4 Factors and levels for purification technique

水平	A 上样液/(g·mL <sup>-1</sup> )	B 洗脱剂/%	C 洗脱剂用量/mL
-1	0.05	70	50
0	0.1	80	60
1	0.15	90	70

然后, 通过 Design Expert 软件对表 5 数据进行拟合, 得二次多项回归方程为  $Y = 90.94 - 4.51A + 3.27B + 1.63C - 0.0025AB + 0.11AC - 2.41BC + 1.55A^2 - 8.64B^2 - 5.24C^2$ , 方差分析见表 6。由表可知, 模型  $P < 0.01$ , 表明模型显著; 失拟项  $P > 0.05$  不显著, 表明模型拟合程度良好; 校正决定系数

表 5 纯化工艺试验设计及结果

Tab. 5 Design and results of tests for purification technique

试验号	A 上样液/ (g·mL <sup>-1</sup> )	B 洗脱剂/ %	C 洗脱剂用 量/mL	Y 五味子醇甲 收率/%
1	0.05	70	60	85.04
2	0.05	90	60	92.90
3	0.05	80	50	90.41
4	0.05	80	70	91.92
5	0.15	70	60	74.07
6	0.15	90	60	82.68
7	0.15	80	50	82.37
8	0.15	80	70	84.33
9	0.1	70	50	69.66
10	0.1	70	70	79.69
11	0.1	90	50	78.26
12	0.1	90	70	79.66
13	0.1	80	60	89.74
14	0.1	80	60	91.13
15	0.1	80	60	89.00
16	0.1	80	60	92.63
17	0.1	80	60	92.19

0.973 0, 表明 97.30% 的响应值变化可用该模型来解释; 因素 A、B、C、BC、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup> 对五味子醇甲收率有显著影响 (P<0.05), 影响程度依次为 A>B>C。

表 6 纯化工艺方差分析

Tab. 6 Analysis of variance for purification technique

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	746.01	9	82.89	28.00	0.000 1
A	162.72	1	162.72	54.96	0.000 1
B	85.54	1	85.54	28.89	0.001 0
C	21.26	1	21.26	7.18	0.031 6
AB	2.500×10 <sup>-5</sup>	1	2.500×10 <sup>-5</sup>	8.444×10 <sup>-6</sup>	0.997 8
AC	0.051	1	0.051	0.017	0.899 6
BC	23.18	1	23.18	7.83	0.026 6
A <sup>2</sup>	10.18	1	10.18	3.44	0.106 1
B <sup>2</sup>	313.97	1	313.97	106.05	<0.000 1
C <sup>2</sup>	115.40	1	115.40	38.98	0.000 4
残差	20.72	7	2.96	—	—
失拟项	11.07	3	3.69	1.53	0.337 0
误差	9.66	4	2.41	—	—
总离差	766.74	16	—	—	—

响应面分析见图 10, 可知最优纯化工艺为上样液质量浓度 0.06 g/mL, 洗脱剂体积分数 84.35%, 洗脱剂用量 61.98 mL, 五味子醇甲收率 95.155%, 考虑到实际操作可行性, 将其修正为上样液质量浓度 0.06 g/mL, 洗脱剂体积分数 85%, 洗脱剂用量 62 mL。按上述优化工艺进行 3 批验证试验, 测得五味子醇甲收率为 94.51%, 与预测值 95.155% 相当 (偏差 0.33%), 同时含有量为 46.54%, 表明该工艺准确可靠。

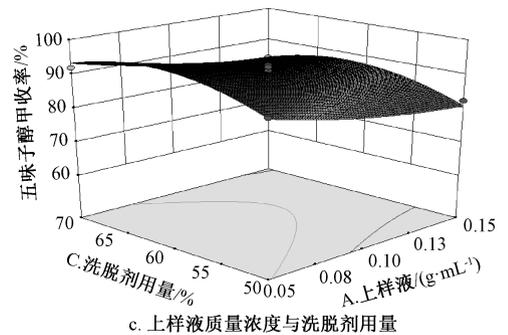
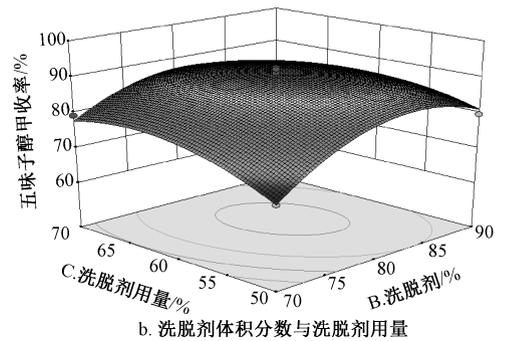
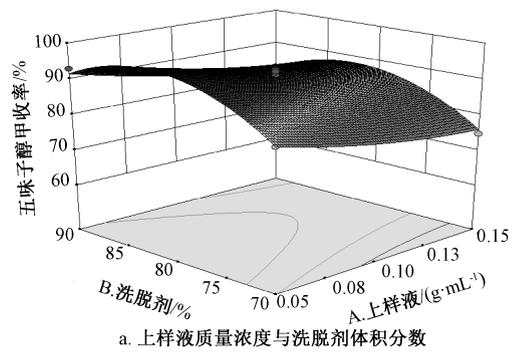


图 10 各因素响应面图 (纯化工艺)

Fig. 10 Response surface plots for various factors (purification technique)

#### 4 讨论

王磊<sup>[9]</sup>对五味子醇甲超声提取工艺进行研究, 但仅考察了提取溶剂、料液比、超声功率 3 个因素。本实验在此基础上补充了提取时间、提取温度, 使该工艺条件更系统, 而且优化所得提取溶剂、料液比及该条件下五味子醇甲提取率与该报道一致, 表明该结果准确可靠。李洪洋等<sup>[10]</sup>对五味子醇甲大孔树脂纯化工艺进行研究, 但仅采用单因素试验优化上样液质量浓度等几种参数, 而且未测定吸附率、解吸率、收率、含有量等, 本实验在单因素试验基础上通过 Box-Behnken 响应面法考察影响其纯化效果的工艺条件, 使实验结果更具体准确。

同时, 本研究比较了甲醇和乙醇作为提取溶剂对五味子醇甲提取效果的影响, 发现后者效果稍

优,同时考虑到工业生产中它相对更加安全、便宜,故选择乙醇作为提取溶剂。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 66.  
[2] Yang S H, Jeng C J, Chen C H, et al. Schisandrin enhances dendrite outgrowth and synaptogenesis in primary cultured hippocampal neurons [J]. *J Sci Food Agric*, 2011, 91(4): 694-702.  
[3] 周妍妍, 刘艳丽, 董春雪, 等. 五味子醇甲对 APP/PS1 双转基因痴呆模型小鼠脑组织突触素、 $\alpha$ -突触核蛋白表达的影响[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(8): 1076-1079.  
[4] 王 洋, 戚好文, 胡咏武, 等. 五味子醇甲对介导的肝纤维化抑制作用的初步研究[J]. *第四军医大学学报*, 2008, 29(9): 816-818.

[5] 肖 飞, 翁 文, 罗焕敏. 五味子醇甲对  $\beta$ -淀粉样蛋白损伤 PC12 细胞的预保护及治疗作用[J]. *中药材*, 2010, 33(3): 397-401.  
[6] Hu D, Cao Y F, He R R, et al. Schisandrin, an antioxidant lignan from *Schisandra chinensis*, ameliorates  $A\beta$ 1-42-induced memory impairment in mice[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2012, 2012: 721721.  
[7] 牟倩倩, 贺敬霞, 凌成利, 等. 五味子醇甲提取纯化方法的研究进展[J]. *中成药*, 2017, 39(3): 583-587.  
[8] 程振玉, 宋海燕, 杨英杰, 等. AB-8 大孔吸附树脂静态纯化北五味子木脂素工艺研究[J]. *北方园艺*, 2015(7): 141-145.  
[9] 王 磊. 响应面法优化五味子中五味子醇甲超声提取[J]. *广州化工*, 2012, 40(24): 69-71.  
[10] 李洪洋, 文连奎. 大孔树脂分离纯化五味子醇甲的研究[J]. *食品与机械*, 2011, 27(3): 56-58, 62.

## 大孔吸附树脂分离纯化油橄榄叶总黄酮

李 俊, 刘孟源, 方升平, 王维香\*  
( 西华大学食品与生物工程学院, 四川 成都 610039)

**摘要:** 目的 通过大孔吸附树脂分离纯化油橄榄叶总黄酮。方法 以总黄酮吸附量、解吸率为评价指标, 筛选大孔吸附树脂。以总黄酮质量浓度、上样液体积流量及 pH 值、洗脱液(70%乙醇)体积流量为影响因素, 总黄酮吸附率为评价指标, 正交试验优化吸附条件。结果 HPD-300 型大孔吸附树脂吸附-解吸效果最优, 吸附量 181.91 mg/g, 解吸率 87.28%。最佳工艺为径高比 1:10, 上样液质量浓度 3.25 mg/mL, 体积流量 2 BV/h, pH 值 5.0, 体积 16 BV, 洗脱液体积流量 1 BV/h, 总黄酮吸附率 83.5%, 得率 10.19%, 质量分数 87.38%, 回收率 80.74%。结论 该方法稳定可靠, 可用于大孔吸附树脂分离纯化油橄榄叶总黄酮。

**关键词:** 油橄榄; 叶; 总黄酮; 分离; 纯化; 大孔吸附树脂

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)02-0261-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.02.004

## Isolation and purification of total flavonoids from *Olea europaea* leaves with macroporous adsorption resin

LI Jun, LIU Meng-yuan, FANG Sheng-ping, WANG Wei-xiang\*  
(College of Food and Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China)

**KEY WORDS:** *Olea europaea* L.; leaves; total flavonoids; isolation; purification; macroporous adsorption resin

收稿日期: 2018-04-09

基金项目: 四川省科技厅国际合作与交流项目(2008HH0019); 四川省教育厅重大培育项目(16CZ0015)

作者简介: 李 俊(1996—), 男, 研究方向为生物工程

\*通信作者: 王维香(1968—), 女, 博士生, 副教授, 从事生物活性物质分离提取及功能研究。E-mail: wang\_weixiang@hotmail.com