·中药工业·

苦杏仁中苦杏仁苷的闪式提取工艺研究

禹琦*

（湖南娄底市中心医院，湖南　娄底　417000）

［摘要］ **目的**：研究闪式提取法从苦杏仁中提取苦杏仁苷的最佳工艺。**方法**：采用单因素试验和 $L_9(3^4)$ 正交试验设计，以苦杏仁苷为指标，对闪式提取的影响因素进行考察，并与文献报道的方法进行比较。**结果**：闪式提取法的最佳工艺是 70% 乙醇，提取时间 1 min，料液比 1∶6。**结论**：此工艺简单、高效、节能，提取率高，有利于苦杏仁苷的提取。

［关键词］ 闪式提取；苦杏仁；苦杏仁苷；正交试验

Smashing Extraction for Extracting Amygdalin form Semen Armeniacae Amarum

YU Qi*

（*Loudi Central Hospital*，*Hunan Loudi* 417000，*China*）

［**Abstract**］ **Objective**：To study the optimal technology conditions of smashing extraction for extracting amygdalin form Semen Armeniacae Amarum. **Methods**：The influence factors on the smashing extraction were investigated by single-factor experiment and $L_9(3^4)$ orthogonal design taking the extraction rate of amygdalin as the index. And smashing extraction were compared with other methods reported in literature. **Results**：The optimal technique of the smashing extraction was as follows：70% ethanol was taken as solvent，the ratio of material and liquid was 1：6，extracting time was 1 minute. **Conclusion**：The extraction process is simple，efficient，energy saving and with high extraction rate，which is beneficial to the extraction of amygdalin.

［**Keywords**］ Smashing extraction；Semen Armeniacae Amarum；amygdalin；orthogonal experiment

doi：10.13313/j.issn.1673-4890.20170701002

苦杏仁为蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim.、西伯利亚杏 *Prunus sibirica* L.、东北杏 *Prunus mandshurica*（Maxim.）Koehne 或杏 *Prunus armeniaca* L. 的夏季采收的干燥种子。具有降气止咳平喘、润肠通便之功能。常用于咳嗽气喘、胸满痰多、肠燥便秘[1]。其主要有效成分是苦杏仁苷，也称维生素 B_{17}，具有止咳[2]、平喘[3]之功能，此外，其对心血管[4]、消化系统[5-6]、免疫系统[7-8]、泌尿系统等[9]也具有药理作用。

目前关于苦杏仁苷的提取报道较多，主要是煎煮、回流、超声等传统方法，都存在提取时间较长、溶剂消耗大、能耗大等问题。苦杏仁苷是一种氰苷类物质，分为 D 型和 L 型，前者有药理活性后者却没有。而 D 型苦杏仁苷在高温下会转变成 L 型从而失去药理活性[10]。所以常规提取方式有可能会引起 D 型苦杏仁苷的异构化，而导致失活。闪式提取技术是一种新型提取方法，它是利用闪式提取器将浸泡在溶剂里的物质快速破碎，并通过超强振动与高速搅拌让有效成分迅速释放出来的一种提取方法[11]。闪式提取时间短至几分钟甚至几秒钟，溶剂用量小，能耗低，且无须加热，有利于对热不稳定物质的提取[12-13]。目前还未见到有关苦杏仁苷闪式提取法的报道。笔者通过实验研究闪式提取法提取苦杏仁苷，希望为苦杏仁苷的提取提供一种新的思路和方法。

1　仪器与试药

JHBE—50S 闪式提取器（河南金鼎科技发展有限公司）；Agilent1100 液相色谱仪；BT224S 型电子天平（北京赛多利斯仪器系统有限公司）；XL-60C 型中

* ［通信作者］ 禹琦，副主任中药师，研究方向：中药学，Tel：（0738）8287132，E-mail：3567482098@qq.com

药粉碎机(湖南旭众机械设备有限公司)。

苦杏仁苷对照品(中国食品药品检定研究院，批号：110820-201607)；苦杏仁(长沙佰佳中药饮片有限责任公司)；乙腈为色谱纯；水为纯化水，其余试剂均为分析纯。

2　方法与结果

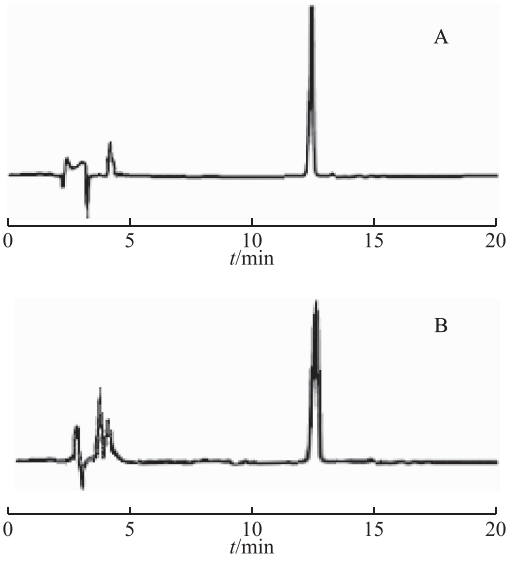
2.1 苦杏仁苷的含量测定方法

2.1.1 色谱条件　色谱柱为 Kromasil C_{18}柱(150 mm × 4.6 mm，5 μm)；流动相为乙腈 - 0.1% 磷酸溶液(8∶92)；检测波长：207 nm；流速：1.0 mL·min^{-1}；柱温：25 ℃；进样量：10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备　将苦杏仁苷对照品干燥至恒重，精密称量 10.3 mg，放入容量瓶中，加入甲醇溶液定容至 100 mL，摇匀，制成质量浓度为 103 μg·mL^{-1}的苦杏仁苷对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备　将苦杏仁粉碎，过二号筛，精密称量粉末约 0.3 g，按相应实验条件制备出提取液，过滤，滤液回收乙醇，浓缩至浸膏，减压干燥，得提取物。精密称量提取物 20 mg，放入容量瓶中，精密加入甲醇 100 mL，摇匀使其完全溶解，过滤，取续滤液即得供试品溶液。

2.1.4 HPLC 法专属性　取对照品溶液和供试品溶液分别进样测定，供试品和对照品色谱图在相应时间有对应色谱峰，且供试品色谱图中苦杏仁苷色谱峰与其他组分分离良好，结果见图 1。



注：A. 对照品；B. 供试品。

图 1　对照品和供试品的 HPLC 图

2.1.5 标准曲线的建立　取干燥至恒重的苦杏仁苷对照品 15.1 mg，放入容量瓶中，加入甲醇溶液定容至 50 mL，摇匀。精密量取上述溶液 1、2、4、6、8、10 mL，分别移入甲醇至 10 mL 容量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，滤过。按 2.1.1 项下色谱条件测定，记录峰面积，以峰面积(Y)为纵坐标，以苦杏仁苷浓度(X)为横坐标，绘制标准曲线，计算得回归方程：$Y = 9.144\ 8X + 3.521\ 1$，$r = 0.999$。表明苦杏仁苷在 30.2 ~ 302 μg·mL^{-1}有良好的线性关系。

2.1.6 精密度试验　取苦杏仁苷对照品溶液，按 2.1.1 项下色谱条件重复测定 6 次，记录峰面积，算出苦杏仁苷含量，并计算得 RSD 值为 1.05%。表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验　配制供试品溶液，分别在室温下放置 0、2、4、6、8、10、12 h，按 2.1.1 项下色谱条件测定 6 次，记录峰面积，算出苦杏仁苷含量，并计算得 RSD 值为 1.31%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.1.8 重复性试验　取同一批苦杏仁，精密称取 6 份，分别按 2.1.3 项下制备成供试品溶液，并按 2.1.1 项下色谱条件测定，记录峰面积，算出苦杏仁苷含量，并计算得 RSD 值为 1.53%。说明其重复性良好。

2.1.9 回收率试验　采用加样回收法，精密移取已知含量的苦杏仁 6 份，每份约 0.15 g，加入对照品溶液适量，挥干溶液。按 2.1.3 项下制备并按 2.1.1 项下色谱条件进行测定，记录峰面积，算出苦杏仁苷含量，结果苦杏仁苷的平均回收率为 98.56%，RSD 为 1.71%。说明回收率良好。见表 1。

表 1　加样回收率试验结果($n = 6$)

编号	样品中的含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	5.77	5.76	11.38	97.36	98.56	1.71
2	5.82	5.76	11.61	100.49		
3	5.56	5.76	11.28	99.34		
4	5.60	5.76	11.37	100.24		
5	5.89	5.76	11.45	96.45		
6	5.83	5.76	11.44	97.47		

2.2 闪式提取工艺的考查

2.2.1 脱脂和提取次数考查　由于苦杏仁内含有大

量油脂，有文献[14-15]报道，提取前需进行脱脂，所以笔者先对脱脂工艺进行考查，同时考查提取次数。精密称量苦杏仁粉末 6 份，每份约 0.3 g，其中 3 份样品（记为 A_1、A_2、A_3）不用石油醚脱脂，另外 3 份用石油醚（记为 B_1、B_2、B_3）脱脂，其余提取条件都相同：提取电压为 100 V，溶剂为 70% 乙醇，料液比（g∶mL）为 1∶10，提取时间为 1 min。按 2.1.3 项下制备并按 2.1.1 项下色谱条件测定，记录峰面积，算出苦杏仁苷含量。结果见表 2。

表 2　脱脂和提取次数对苦杏仁苷提取的影响（n = 3）　%

编号	第一次提取含量	第二次提取含量	总含量	平均含量
A_1	3.52	0.03	3.55	
A_2	3.55	0.04	3.59	3.56
A_3	3.49	0.04	3.53	
B_1	3.48	0.04	3.52	
B_2	3.52	0.05	3.57	3.56
B_3	3.50	0.04	3.59	

由结果可知，脱脂和不脱脂对苦杏仁苷的提取含量没有影响；且第一次提取已将苦杏仁苷基本提取完全。所以确定提取时无须脱脂，提取次数为一次。

2.2.2 电压强度的选择　精密称量苦杏仁粉末 4 份，每份约 0.3 g，选取 60、80、100、120 V 4 种强度电压进行考查。其余提取条件都相同：溶剂为 70% 乙醇，料液比（g∶mL）为 1∶10，提取时间为 1 min，提取次数 1 次。按 2.1.3 项下制备并按 2.1.1 项下色谱条件测定，记录峰面积，算出苦杏仁苷含量。结果见图 2。

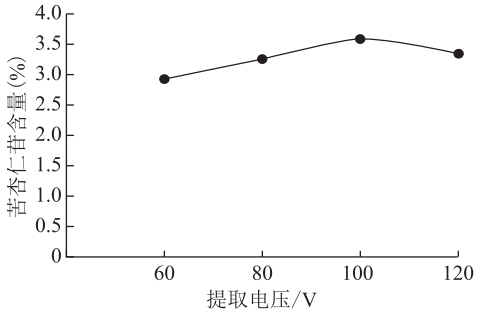


图 2　电压强度对苦杏仁苷提取的影响（n = 3）

由结果可知，提取电压为 100 V 时提取含量最高，故选择电压为 100 V。

2.2.3 正交试验　参考有关文献[16-17]，并通过单因素试验，采用 $L_9(3^4)$ 正交设计，选择乙醇浓度、料液比（g∶mL）和提取时间 3 个因素进行正交试验，优选最佳工艺。因素水平表见表 3，试验结果和方差分析分别见表 4～5。

表 3　因素水平考察表

水平	因素		
	A 乙醇浓度（%）	B 料液比/g∶mL	C 提取时间/min
1	60	1∶6	1.0
2	70	1∶8	1.5
3	80	1∶10	2.0

表 4　$L_9(3^4)$ 正交试验结果

试验号	A	B	C	D	苦杏仁苷含量（%）
1	1	1	1	1	3.79
2	1	2	2	2	2.95
3	1	3	3	3	2.62
4	2	1	2	3	3.78
5	2	2	3	1	3.69
6	2	3	1	2	3.83
7	3	1	3	2	3.02
8	3	2	1	3	3.32
9	3	3	2	1	2.61
X_1	9.36	10.59	10.94	10.09	
X_2	11.3	9.96	9.34	9.8	
X_3	8.95	9.06	9.33	9.72	
R	2.35	1.53	1.61	0.37	

表 5　正交试验方差分析

因素	离差平方和	自由度	均差	F 值	显著性
A	1.05	2	0.53	41.58	*
B	0.39	2	0.20	15.60	
C	0.57	2	0.29	22.66	*
D	0.03	2	0.01		

注：$F_{0.05(2,2)}$ = 19.0。

由表 5 可知，因素 A（乙醇浓度）和因素 C（提取时间）对提取结果有显著性影响，而因素 B（料液比）则无显著性影响。三个因素影响的顺序是 A（乙醇浓度）＞C（提取时间）＞B（料液比）。综合结果，优选出最佳闪式提取工艺为 $A_2B_1C_1$，即 70% 乙醇，料液比 1∶6，提取时间 1 min。

2.3 验证试验

在正交试验中没有 $A_2B_1C_1$ 最佳工艺组合，为验证此工艺的可靠性，精密称取苦杏仁 3 份，按优选出的最佳工艺组合进行提取，计算苦杏仁苷含量。

结果分别为 3.82%、3.88%、3.85%，证明此工艺合理，重复性好。

2.4 提取方法比较

采用乙醇回流法[18]和水提法[19]做为对照，采用文献中所提供的方法提取苦杏仁苷，并计算含量和转移率，与闪式提取法结果对比，结果见表 6。

表 6　各提取方法的比较（$n=3$）

提取方式	提取次数	提取时间	料液比	苦杏仁苷含量(%)	转移率(%)
闪式提取	1	1 min	1∶6	3.85	96.18
乙醇回流	2	1.5 h	1∶6	1.75	43.72
水提	2	1.5 h	1∶10	2.29	57.33

由结果可知，相比另外两种方法，闪式提取法无论从提取次数、提取时间、料液比还是苦杏仁苷的含量和转移率都较好。

3　讨论

近年来对苦杏仁苷的提取研究较多，但还未见闪式提取方法的报道。本实验通过单因素考查和正交试验确定了闪式提取法的最佳工艺，即不须脱脂，提取次数为一次，电压为 100 V，溶剂为 70% 乙醇，料液比为 1∶6，提取时间为 1 min。该工艺简单、节能，苦杏仁苷的含量和转移率都较好，有利于苦杏仁药物的综合利用与开发。

笔者在正交试验之前，对乙醇浓度、料液比和提取时间 3 个因素分别进行了单因素考查，得到的最优水平分别为 70%、1∶8 和 1.5 min，然后再选取此水平以及高低两个水平进行正交试验。

传统提取方法为水提、醇提、超声等提取方式，水提、醇提等提取时间一般需 3 h，超声提取时间也需 30 min 以上，而闪式提取法仅仅只需 1 min，大大缩短了提取时间，该方法工艺简单、高效节能。并且闪式提取法是将物质快速破碎，通过超强振动与高速搅拌让有效成分迅速释放出来的一种提取方法，无需加热，不会破坏有效成分。所以闪式提取法是一种具有发展前景的新技术。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2015.

[2] 甘露. 大鼠 pEGFP-N1-BKβ_1 真核表达载体的构建及苦杏仁苷对支气管平滑肌细胞增殖的研究[D]. 武汉：华中科技大学，2007.

[3] 李寅超，郭琰，张金艳. 苦杏仁和桔梗平喘作用的配伍研究[J]. 中药药理与临床，2012，28(2)：111-114

[4] Deng Jiagang，Li Chunyang，Wang Hailian，et al. Amygdalin mediates relieved atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice through the induction of regulatory Tcells[J]. Biochem Biophys Res Commun，2011，411(3)：523-529.

[5] 蔡莹，李运曼，钟流. 苦杏仁苷对实验性胃溃疡的作用[J]. 中国药科大学学报，2003，34(3)：254-256.

[6] 海科，宋福成，周欣，等. 苦杏仁苷对博莱霉素诱导的大鼠肺纤维化血清蛋白标志物的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志，2010，28(4)：260-263.

[7] 方伟蓉，李运曼，钟林霖. 苦杏仁苷对佐剂性炎症影响的实验研究[J]. 中国临床药理学与治疗学，2004，9(3)：289-293.

[8] 郑巧玲，郭义曹，孙杰，等. 苦杏仁苷促进人血 T 淋巴细胞早熟凝集染色体增殖的实验研究[J]. 环境与职业医学，2009，26(6)：572-574.

[9] 郭君其，盛明雄，谭建明，等. 苦杏仁苷抑制大鼠肾脏纤维化的实验研究[J]. 实用医学杂志，2007，23(17)：2628-2630.

[10] 范学辉，张清安，刘梅，等. 苦杏仁脱苦方法研究进展[J]. 食品工业科技，2014，35(7)：396-399.

[11] 杨炳川，方应权. 马尾松松针苦杏仁苷的闪式提取研究[J]. 中成药，2014，36(6)：1309-1311.

[12] 孟庆举，刘晓谦，杨华，等. 闪式提取技术的进展[J]. 中国实验方剂学杂志，2013，19(19)：349-354.

[13] 邓引梅，宋发军，崔永明，等. 甘草叶苦杏仁苷提取工艺[J]. 中南民族大学学报(自然科学版)，2008，27(1)：41-43.

[14] 邹小娟，谢和兵，钱芳. HPLC 法测定苦杏仁中苦杏仁苷含量的方法研究[J]. 中国药事，2009，23(1)：33-36.

[15] 张守平，刘瑛丽，曹洪锦. 苦杏仁 3 种提取工艺中苦杏仁苷提取率的比较[J]. 齐鲁药事，2010，29(11)：656-657.

[16] 王玥，杜守颖，吴清. 白芍中芍药苷的闪式提取工艺研究[J]. 北京中医药大学学报，2013，36(12)：845-847.

[17] 李文烈，王一波，曹海芳. 牛蒡子中牛蒡苷闪式提取的工艺研究[J]. 广西中医药，2015，38(2)：75-78.

[18] 邓康颖，谭晓梅，罗佳波. 一种苦杏仁苷提取物的制备方法[J]. 中华中医药学刊，2010，28(10)：2172-2174.

[19] 张志军. 正交试验法优选苦杏仁苷的提取工艺[J]. 中医药导报，2015，21(10)：56-57.

（收稿日期　2017-07-01）