

# 陈皮总黄酮测定方法及水提取动力学模型的建立

夏振文 赵阳 张欣 杨春静 薛丹 尹兴斌 倪健

**【摘要】 目的** 建立陈皮总黄酮测定方法,同时对其水煎煮的提取动力学过程进行模拟,建立其动力学方程并进行验证。**方法** 采用紫外分光光度法,对其方法学进行考察;使用该方法测定不同提取时间和溶剂倍量下陈皮水提液中总黄酮浓度,以简化的数学动力学模型为基础,推算出方程参数并进行方程拟合。**结果** 橙皮苷在 0.004712 ~ 0.03534 mg/mL 具有良好的线性关系,回归方程为  $Y = 30.877X - 0.0072$ ,  $r = 0.9991$ , 平均回收率为 99.98%, RSD = 1.77%;拟合的动力学模型结果为:  $C_B = (8.3223 \times t^{0.5} / M - 2.8401)^{0.5902}$ , 验证结果良好。**结论** 陈皮总黄酮测定方法稳定可行,重现性好。模型适用并能良好的描述陈皮水提取的动力学过程。

**【关键词】** 陈皮; 总黄酮; 紫外分光光度法; 提取动力学模型

**【中图分类号】** R284.2 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.12.009

**Study on establishment of determination method and dynamical model of water-extraction for total flavonoids in dried tangerine peel** XIA Zhen-wen, ZHAO Yang, ZHANG Xin, et al. School of Chinese

Maeria Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: NI Jian, E-mail: njtcm@263.net

**【Abstract】 Objective** To establish the determination method for total flavonoids in dried tangerine peel and simulate its dynamical process of decoction extraction in order to establish the dynamical equation. **Methods** Ultraviolet spectrophotometry was used to investigate its methodology. And this method was used to determine concentration of total flavonoids in different extraction time (t) and solvent load (M). Based on the simplified model, correlation parameters were deduced and the equation was fitted. **Results** Hesperidin had good linear relation in the range of 0.004712 ~ 0.03534 mg/mL ( $Y = 30.877X - 0.0072$ ,  $r = 0.9991$ ), the average recovery was 99.98%, and RSD was 1.77%. The fitting dynamical model was as follows:  $C_B = (8.3223 \times t^{0.5} / M - 2.8401)^{0.5902}$ , and with satisfactory verification result. **Conclusion** The determination method for total flavonoids in dried tangerine peel was stable, feasible and repeatable. The model was applicative, which could describe the dynamical process of water-extraction for dried tangerine peel well.

**【Key words】** Dried tangerine peel well; Total flavonoids; Ultraviolet spectrophotometry; Dynamical model for extraction

陈皮(Citri Reticulatae Pericarpium)为芸香科植

物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮<sup>[1]</sup>,是一种药食同源的中药。陈皮辛、苦,温,归脾、肺经,具有理气健脾,燥湿化痰的功效,主治脘腹胀满,食少吐泻,咳嗽痰多等症。现代科学研究表明,陈皮含有很多化学成分,主要有黄酮类化合物、挥发油类、柠檬苦素类、生物碱类和微量元素(钙、钾、镁、钠、锂、铁、锌、锰)等<sup>[2]</sup>。

黄酮作为陈皮中一大类主要活性成分,种类繁多,主要包括橙皮苷(陈皮苷、橘皮苷),新陈皮苷、

基金项目:北京市“十病十药”研发项目(Z141100002214020);国家自然科学基金面上项目(81173563);北京中医药大学协同创新建设计划(2013-XTX-03)

作者单位:100102 北京中医药大学中药学院

作者简介:夏振文(1987-),2013 级在读硕士研究生。研究方向:中药制剂新剂型及新技术研究。E-mail:min90-cheng@163.com

通讯作者:倪健(1964-),博士,教授,博士生导师。研究方向:中药新剂型与新技术。E-mail:njtcm@263.net

川陈皮素(蜜橘黄素)、柚皮苷元(柑橘素)、二氢川陈皮素、红橘素等<sup>[3]</sup>,现代研究表明黄酮类化合物具有抗自由基、抗氧化、抗癌、防癌、抗菌、抗炎、抗病毒、抗过敏及抗糖尿病并发症等多种生理活性及药理作用,且无毒无害,对肿瘤、心血管病等多种疾病的治疗和预防有重要意义。由此可见,陈皮中总黄酮具有很好的开发前景和利用价值,有必要对陈皮中总黄酮的提取进行研究。参考本课题组已建立的黄酮类成分的提取动力学模型<sup>[6-10]</sup>,本实验对陈皮中总黄酮的水提取动力学过程进行了研究,建立陈皮总黄酮成分水煎煮提取的动力学模型,以扩大提取动力学方程的适用范围,建立黄酮类成分普适的提取预测模型的验证,丰富数据库资源,提高预测准确性。

## 1 仪器与药物

陈皮药材(生产批号:401003645,北京同仁堂有限责任公司),由北京中医药大学中药鉴定系刘春生教授鉴定;橙皮苷对照品(生产批号:1807/16335,纯度>98%,月旭材料科技上海有限公司);Tu180 型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);DZKW-4 型水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);甲醇为分析纯(北京化工厂),水为蒸馏水。

## 2 方法

### 2.1 陈皮总黄酮测定方法的建立

2.1.1 对照品溶液和供试品溶液的制备 精密称取橙皮苷标准品 11.78 mg 到 50 mL 容量瓶中,用甲醇定容到刻度,得到 0.2356 mg/mL 的橙皮苷标准品溶液。取陈皮 15.00 g,加 300 mL 蒸馏水回流提取 60 分钟,滤过,得陈皮水提液作为供试品溶液。

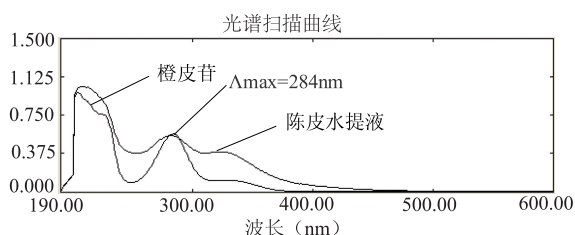


图1 橙皮苷、陈皮水提液紫外吸收光谱图

2.1.2 测定波长的选择 取上述 2 种溶液,取适量蒸馏水稀释后用紫外可见分光光度计在紫外区(190~600 nm)进行扫描,结果,供试品溶液在 28~285 nm 处均有最大吸收,而橙皮苷标准品溶液在

284 nm 处有最大吸收,故选定 284 nm 作为测定波长<sup>[5]</sup>。

2.1.3 标准曲线的测定 精密吸取上述橙皮苷标准品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.5 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,以相应蒸馏水溶液为空白对照,在 284 nm 处测定其吸光度。结果表明,在 0.004712~0.03534 mg/mL 范围内,吸光度( $Y$ )和橙皮苷质量浓度( $X$ )呈良好线性关系,其回归方程为: $Y = 30.877X - 0.0072$ ,  $r = 0.9991$ 。

2.1.4 精密度实验 取浓度为 0.2356 mg/mL 的橙皮苷溶液 0.8 mL,置 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,重复进样 6 次,计算其 RSD 为 0.0876%,表明精密度良好。

2.1.5 稳定性实验 精密吸取同一供试品溶液,分别于配置后 10、20、30、40、50、70、90、120、150 分钟进行含量测定,测定其吸光度并计算 RSD 为 0.15%,试验证明稳定性良好。

2.1.6 重复性实验 取 15.00 g 陈皮药材,加水 300 mL 回流提取 60 分钟,滤过,取提取液 100  $\mu$ L 至 10 mL 量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,测定含量,以上实验重复进行 6 次,计算相对标准偏差,结果 RSD 为 1.29%,试验证明重复性良好。

2.1.7 回收率实验 精密称取陈皮药材 1.00 g,置 50 mL 的圆底烧瓶中,再分别加入橙皮苷标准品 1.698 mg,加 20 mL 蒸馏水,回流提取 30 分钟,提取液放冷,取续滤液 60  $\mu$ L 至 10 mL 量瓶中,平行 6 份,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,进行含量测定。以上实验重复进行 6 次,结果平均回收率 99.98%,RSD 为 1.77%。

可以看出,所建立的陈皮总黄酮测定方法的各项方法学考察符合规定,因此根据此方法对其水提过程中的陈皮总黄酮含量进行考察,建立其提取动力学模型并进行验证。

### 2.2 陈皮水提取动力学模型的研究

2.2.1 基于 FICK 定律得到的中药材提取通用的动力学模型 基于 FICK 定律以及希格比理论对提取过程的微观阐释,同时也根据实际应用的需求,选取重要的影响因素如提取时间、溶剂倍量、颗粒粒度作为实验参数,简化或转化复杂的非必求参数例如传质系数、药材密度、颗粒数目,以减小方程的复杂程度。但文献中应用到的方程大都存在方程

形式复杂,需要求解的参数过多,且求解困难这一问题,因此欲建立与实际生产相适应的模型,就必须解决上述问题,通过一系列假设和数学推导最终得到中药材提取通用的动力学模型<sup>[6-7]</sup>:

$$C_B = \left[ \frac{af_1}{\sigma_1(M-R)} t^{\frac{1}{2}} \right]^{\frac{1}{1-n}} \quad (1-1)$$

它表示了煎煮出的有效成分浓度与提取时间、溶剂倍量及颗粒粒度之间的函数关系。 $C_B$  为提取液中目标成分的质量浓度,单位为 mg/mL。 $M$  为溶剂倍量,单位为 mL/g。 $\sigma$  对于性状不同的饮片代表不同的含义,对于葛根这种近似为正方体形的药材,其代表饮片的一个边长,单位是  $\mu\text{m}$ 。 $f$  为方程中的一个固定参数,与药材中目标成分的含量有关。 $R$  为干药材的吸溶剂率,由于本实验使用溶剂为水,即为药材的吸水率。 $n$  值与扩散系数有关,值为负。

**2.2.2 理论基础** 由于中药材饮片多数存在形状不规则的问题,故每味药材的粒径值即  $\sigma_1$  是不易通过实验的方式确定的(除了少数形状比较规则的中药饮片如葛根等)。另外,在实际生产中,药材多以饮片投料,粒径这一因素是固定不变的。所以有必要对方程进行简化,将  $\sigma_1$  这个参数由需要实验直接测定转变为最终固定参数  $a$  当中的一部分。这样减少药材粒径的直接测定能够增加模型的准确性,扩大模型的适用范围,并且和实际生产情况更加接近。因此根据合理的数学推导<sup>[8]</sup>,得到了简化后的模型:

$$C_B = \left[ \frac{af_1}{M-R} t^{\frac{1}{2}} \right]^{1/n-1} \quad (1-2)$$

两边同时取对数可以得到:

$$\ln C_B = \frac{1}{1-n} \ln af_1 + \frac{1}{(1-n)} \ln \left( \frac{t^{\frac{1}{2}}}{M-R} \right) \quad (1-3)$$

通过对不同时间和溶剂倍量作为自变量 $[t^{1/2}/(M-R)]$ ,提取液浓度  $C_B$  为因变量。分别代入上述方程中,可以求得  $a$  和  $n$  值。从而得到提取动力学方程进行预测。

### 2.3 陈皮模型方程建立试验方法

**2.3.1 固定参数  $f_1$  和  $R$  的测定** 根据公式(1-1)的推导过程可知, $f_1 = \frac{2(C_{1b}-C_{10})}{\sqrt{\pi}}$ 。 $C_{10}$  为溶液沸腾时溶液中溶质的浓度, $C_{1b}$  为沸腾时溶质药材的浓度, $(C_{1b}-C_{10})$  应当为药材有效成分的浓度,基于本实验,该值应为本批次陈皮药材中总黄酮的含量。以 2010 年版《中华人民共和国药典》(一部)陈皮项下

含量测定中供试品溶液的处理方法<sup>[1]</sup>,制备陈皮的总黄酮测定的供试品溶液,按照上述建立的含量测定方法进行测定,得到本批次陈皮总黄酮含量,并计算  $f_1 = 0.089526$ ,

分别取药材约 2.00、4.00、8.00、12.00、16.00、20.00 g 置于 500 mL 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 300 mL,加热回流 60 分钟,滤过,取出称重。以药材湿重与干重的差值为  $Y$  对药材干重  $X$  做线性回归,回归方程的斜率即为中药材吸收溶剂率  $R$ 。平行进行 3 次,求算其平均值,求得陈皮的吸水率  $R$  为 2.8401 mL/g。

**2.3.2 提取时间对提取率的影响** 采用圆底三口烧瓶,电热套加热进行水煎煮提取,为减少水分蒸发,安装了回流冷凝装置。固定溶剂倍量  $M = 12$  mL/g,在提取时间点为 10 分钟、20 分钟、30 分钟、40 分钟、50 分钟、60 分钟时分别取出 5 mL 提取液后再补充 5 mL。提取液放冷,待测;固定溶剂倍量  $M = 16$  mL/g,在提取时间点为 10 分钟、20 分钟、30 分钟、40 分钟、50 分钟、60 分钟分别取出 5 mL 提取液后再补充 5 mL。提取液放冷,待测。

**2.3.3 溶剂倍量对提取的影响** 固定提取时间为 20 分钟,分别于 10、12、14、16、18 和 20 溶剂倍量下,取出一定体积提取液,放冷,待测;固定提取时间为 40 分钟,分别于不同 10、12、14、16、18 和 20 溶剂倍量下,取出一定体积提取液,放冷,待测。

## 3 结果

### 3.1 提取时间和溶剂倍量对提取的影响结果

采用上述建立的紫外分光光度法进行含量测定。对上述所有提取数据进行整理,求得  $\ln[t^{1/2}/(M-R)]$  和  $\ln C_B$  进行线性回归。结果见表 1,图 2。

### 3.2 模型的检验结果

把图 2 中的回归方程和(1-3)式中相应数值联立, $1/(1-n) = 0.5902$ , $1/(1-n) \ln af_1 = 1.2506$ 。可以求得  $n = -0.6943$ , $\alpha = 92.9600$ ,代入(1-2)式中求得本次研究所建立的陈皮总黄酮水煎煮提取过程动力学模型: $C_B = (8.3223 \times t^{0.5}/M - 2.8401)^{0.5902}$ 。根据所建立的动力学方程式,可以计算出不同提取时间、不同溶剂倍量条件下陈皮水提液中总黄酮的浓度,计算结果见表 2。

以上检验数据表明,本次研究所建立的动力学模型能比较好地与试验结果相吻合,各条件下的试

验数值与计算数值的标准偏差基本能满足工业标准偏差要求(小于 10%)。

表 1 不同 $t$ 和 $M$ 下的提取结果				
$t$ (分钟)	倍量	$C_B$	$\ln[t^{1/2}/(M-R)]$	$\ln C_B$
10	12	2.0053	-1.0635	0.6958
20	12	2.4336	-0.7170	0.8894
30	12	2.6866	-0.5142	0.9883
40	12	2.8304	-0.3704	1.0404
50	12	2.9665	-0.2588	1.0874
60	12	3.0419	-0.1677	1.1125
10	16	1.5444	-1.4259	0.4347
20	16	1.8761	-1.0793	0.6292
30	16	2.0103	-0.8766	0.6983
40	16	2.1531	-0.7327	0.7669
50	16	2.2251	-0.6212	0.7998
60	16	2.2865	-0.5300	0.8270
20	10	2.9245	-0.4706	1.0731
20	12	2.4336	-0.7170	0.8894
20	14	2.1332	-0.9145	0.7576
20	16	1.8761	-1.0793	0.6292
20	18	1.7446	-1.2208	0.5565
20	20	1.5027	-1.3447	0.4073
40	10	3.3650	-0.1241	1.2134
40	12	2.8304	-0.3704	1.0404
40	14	2.5592	-0.5679	0.9397
40	16	2.1531	-0.7327	0.7670
40	18	2.0499	-0.8742	0.7178
40	20	1.7578	-0.9981	0.5641

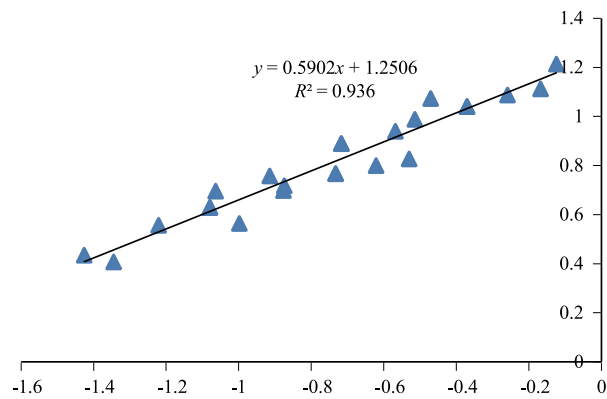


图 2  $\ln[t^{1/2}/(M-R)]$  和  $\ln C_B$  回归方程

表 2 模型检验结果				
$t$ (分钟)	倍量	实测值 (mg/mL)	计算值 (mg/mL)	相对偏差 (%)
10	14	1.7415	1.6592	4.9603
20	14	2.1120	2.0358	3.7436
30	14	2.3643	2.2945	3.0399
40	14	2.5614	2.4979	2.5442
50	14	2.7255	2.6679	2.1602
60	14	2.8673	2.8153	1.8456
10	18	1.4690	1.3848	5.7332
20	18	1.7809	1.6991	4.5941
30	18	1.9937	1.9150	3.9451
40	18	2.1599	2.0847	3.4805
50	18	2.2982	2.2266	3.1145
60	18	2.4179	2.3497	2.8205
10	20	1.3706	1.2871	6.0912
10	18	1.4685	1.3848	5.7011
10	16	1.5889	1.5054	5.2568
10	14	1.7415	1.6592	4.7259
10	12	1.9438	1.8643	4.0891
10	10	2.2295	2.1561	3.2939
30	20	1.8608	1.7800	4.3432
30	18	1.9937	1.9150	3.9451
30	16	2.1579	2.0818	3.5256
30	14	2.3643	2.2945	2.9502
30	12	2.6390	2.5782	2.3035
30	10	3.0268	2.9817	1.4909

4 讨论

本实验陈皮总黄酮的测定方法精密度、稳定性、重复性、加样回收率均符合要求,稳定可行,可以用于陈皮总黄酮的测定。推导出的提取动力学模型对陈皮总黄酮的水提过程也有很好的适用性。但在实验中发现,超过一定范围后预测误差就会偏大,实验中超过 80 分钟后,浓度增长很缓慢。分析原因可能是因为陈皮果皮质地柔软,总黄酮的成分容易煎出,因此陈皮煎煮过程中溶液能较快的达到饱和。在工业生产时,综合考虑到效率、能耗,一次提取时间不长,因此本动力学模型具有一定的参考价值<sup>[11]</sup>。

由实验结果可知,陈皮中总黄酮测定,通过简化后的模型,对两边同时取对数,得到了提取液浓度与提取时间和溶剂倍量之间的线性关系。然后在此基础上求解  $a$  和  $n$  更加方便,同时可以根据所

(下转本期 1523 页)

有实验数据回归得到整体拟合度更高的回归方程,把两个因素之间共同作用的关系体现出来。相比课题组之前<sup>[6-8]</sup>研究中选择的求取  $n$ 、 $a$  平均值更能反映整体趋势。

黄酮类成分药材的提取动力学模型的建立和推广,可以为含黄酮类成分中药材的提取工艺标准化、最佳化提供理论基础和应用工具。通过建立的动力学模型,可以快速判断各因素变化对提取物质量的影响,不仅可以减少提取环节的研究周期,降低成本和消耗,而且可以规范中药提取行为,保证提取物质量的稳定性、一致性。由黄酮类成分提取动力学模型可以推测,中药中其他几大类的成分(如生物碱、皂苷、甾体类,多糖等)的提取也可能适用此提取动力学模型,这有待于后续研究证明。

### 参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:176-177.
- [2] 张志海,黄耀兵,王彩云,等. 陈皮的化学成分及药理作用研究进展[J]. 西北药学杂志,2005,20(1):47-48.

- [3] 李伟伟,张国伟. 陈皮黄酮类成分研究进展[J]. 中国医学创新,2014,11(24):154-156.
- [4] 欧立娟,刘启德. 陈皮药理作用研究进展[J]. 中国药房,2006,17(10):787-789.
- [5] 林林,莫云燕,黄庆华,等. 不同年份新会陈皮总黄酮及橙皮苷的含量动态分析[J]. 时珍国医国药,2008,19(6):1432-1433.
- [6] 韩林辛,玄律,倪健,等. 刺五加水煎煮提取动力学模型的建立[J]. 中成药,2011,33(2):240.
- [7] 张晋,陈杨,倪健,等. 水煎煮法提取葛根总黄酮的动力学模型适用性研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(17):2788-2792.
- [8] 陈杨,豆浩然,董晓旭,等. 大豆黄卷总黄酮测定方法及水提取动力学模型的建立[J]. 中华中医药学刊,2014,32(12):2904-2906.
- [9] 陈杨,付京,申明睿,等. 提取动力学模型的简化及黄芩总黄酮模型适应性研究[J]. 中国中药,2014,39(2):230-234.
- [10] 张晋,李新存,倪健,等. 水煎煮法提取骨碎补总黄酮的动力学模型适用性研究[J]. 北京中医药大学学报,2014,37(2):121-125.
- [11] 许梦洁,董晓旭,陈杨,等. 枸杞总黄酮测定方法的简化及水提取动力学模型的建立[J]. 中华中医药学刊,2015,33(2):330-333.

(收稿日期:2015-04-30)

(本文编辑:董历华)