

# 不同采收期山茱萸总有机酸的含量变化规律研究

陈磊磊 陈随清 王 静

(河南中医学院药学院办公室,河南省郑州市金水区金水路1号,450008)

**关键词** 山茱萸;总有机酸;电位滴定法

山茱萸是山茱萸科植物山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)除去果核的干燥成熟果肉<sup>[1]</sup>,主产于我国的河南、浙江、陕西等省,具有补益肝肾、涩精固脱的功效,为常用中药材。现代研究证明:山茱萸中含有多种成分,如环烯醚萜苷类、有机酸类、鞣质类、多糖、氨基酸、维生素及矿质元素等。其中有机酸种类多、含量丰富,如熊果酸、齐墩果酸等<sup>[2]</sup>。目前发现多种有机酸均有生理活性,如齐墩果酸具有清热、保肝、消炎、抑菌、强心、利尿等作用<sup>[3]</sup>。研究不同采收期山茱萸总有机酸含量变化,可以为山茱萸最佳采收期提供科学依据。

## 1 材料与仪器

**1.1 材料及试剂** 山茱萸药材分别采自河南西峡、浙江临安、陕西佛坪,经鉴定为山茱萸科植物山茱萸果实(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.);酒石酸(天津石英钟厂霸州市化工分厂,纯度99.5%);氢氧化钠,邻苯二甲酸氢钾,酚酞,乙醇均为分析纯;双蒸水(自制)。

**1.2 仪器** 数控超声波清洗器(KQ-500DV,昆明市超声仪器有限公司);pH计(PHS-2C,上海大谱仪器有限公司);磁力搅拌器(78-HW,金坛市文华科教实验仪器厂);恒温水浴锅(HH-S,巩义市英峪予华仪器厂);电子天平(BS224S,北京赛多利斯仪器系统有限公司);热风循环烘箱(CT-C,常州市干燥设备厂有限公司)。

## 2 实验方法

**2.1 对照品溶液的配制** 精密称取105℃干燥至恒重的酒石酸1.5g,置100mL容量瓶中,加80%乙醇溶解并定容至刻度,配制成15.005mg/mL的酒石酸溶液,备用。

**2.2 NaOH溶液的配制** 取氢氧化钠饱和溶液上清液5.6mL,加新沸过的冷水定容至1000mL,密封保存,标定后使用。

**2.3 样品溶液的制备** 精密称取山茱萸粉末5.0g,

置于具塞锥形瓶中,加入10倍量80%乙醇溶液,称重,超声30min,补齐重量,过滤。滤渣重复提取1次,合并滤液,备用。

**2.4 样品溶液提取方法学考察** 为系统考察各种因素对提取结果的影响,采用正交实验,考察提取方法、乙醇浓度、提取时间、提取次数4个因素,测定总有机酸含量,选用L<sup>9</sup>(3<sup>4</sup>)正交表设计,因素、水平见下表1,实验结果和方差见表2、表3。

表1 因素水平表

序号	提取方法(A)	溶剂(B)	提取时间(C/h)	提取次数(D)
1	水浴回流	50%乙醇	0.5	1
2	超声提取	80%乙醇	1	2
3	冷浸过夜	乙醇	2	3

表2 正交试验设计及结果

编号	提取方法	提取溶剂	提取时间	提取次数	实验结果(%)
1	1	1	1	1	6.252
2	1	2	2	2	10.662
3	1	3	3	3	6.024
4	2	1	2	3	10.236
5	2	2	3	1	8.634
6	2	3	1	2	5.994
7	3	1	3	2	8.664
8	3	2	1	3	9.48
9	3	3	2	1	4.584
均值1	7.646	8.384	7.242	6.490	
均值2	8.288	9.592	8.494	8.440	
均值3	7.576	5.534	7.774	8.580	
极差	0.712	4.058	1.252	2.090	

表3 提取方法考察 方差分析表

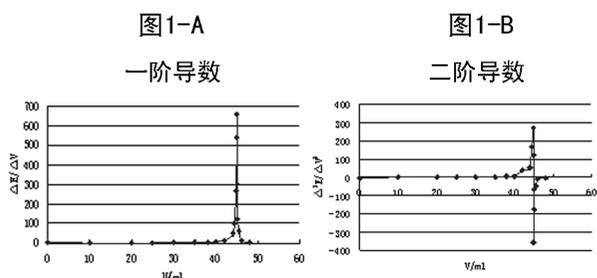
因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性P
提取方法	0.924	2	0.098	4.460	>0.05
提取溶剂	26.049	2	2.776	4.460	>0.05
提取时间	2.369	2	0.252	4.460	>0.05
提取次数	8.190	2	0.873	4.460	>0.05

由表2可以看出影响山茱萸总有机酸提取的主次因素为:B>D>C>A,从均值可看出最佳提取方案为:A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>。从表3可看出P>0.05,各因素对提取结果影响无显著性差异。最终选择超声提取,80%乙醇,提取时间1h,提取2次作为最佳提取条件,采用

此方法对山茱萸样品总有机酸进行 3 次提取试验, 提取的总有机酸含量平均为 10.51%。

2.5 测定方法 参照《中国药典》2010 年版附录 VIII A 电位滴定法与永停滴定法<sup>[4]</sup>, 精密移取 20mL 待测溶液置于 250mL 锥形瓶中, 置电磁搅拌器上, 将连接有 pH 计的 pH 复合电极插入液面下, 放入搅拌子, 开启搅拌, 记录电位值, 用 0.1mol/L NaOH 滴定液滴定, 开始时可每次加入较多的量, 搅拌, 记录电位; 至将近终点前, 则应每次加入少量, 搅拌, 记录电位; 至突跃点已过, 仍应继续滴加几次滴定液, 并记录电位。照电位滴定法确定滴定终点的方法计算滴定终点。

2.6 酒石酸对照品突跃范围模拟试验 准确吸取酒石酸对照品溶液 20mL, 按 2.4 项测定方法, 用 0.1178mol/L NaOH 滴定液测定。酒石酸对照品一阶导数滴定曲线和二阶导数滴定曲线分别为图 1-A, 图 1-B。由图 1-A 可见曲线对应的最大值为 44.95mL, 图 1-B 可计算出曲线过原点的值为 44.91mL, 曲线显示滴定终点明显。二阶导数计算过程能减少滴定误差造成的影响, 使结果更准确, 因此本实验结果采用二阶导数进行计算。



## 2.7 电位滴定方法学考察

2.7.1 标准曲线的建立 从酒石酸对照品溶液中分别吸取 5mL、8mL、20mL、40mL, 用 80% 乙醇稀释至 50mL, 以上 5 个浓度分别用 2.4 项下电位滴定法测定, 以消耗的 NaOH 的量为纵坐标, 以所含酒石酸的量为横坐标, 建立标准曲线, 得回归方程  $Y = 17.584x - 0.1176$ ,  $R^2 = 0.9999$ , 表明酒石酸在 0.0300mg ~ 0.3001mg 线性关系良好。

2.7.2 稳定性考察 称取样品粉末 10.0020g, 按 2.3 项方法提取得样品液, 分别在 0、2、4、8、12、20h, 按 2.4 项进行测定, 计算 RSD 值为 0.39%, 表明样品液在 20h 内稳定。

2.7.3 精密性考察 称取样品粉末 10.0014g, 按 2.3 项方法提取得样品液, 按 2.4 项下测定 6 次, 计算 RSD 值为 0.48%, 表明本法精密性良好。

2.7.4 重现性考察 取同一山茱萸样品粉末 6 份, 按 2.3 项方法提取得样品液, 按照 2.4 项下进行测定, 计

算 RSD 值为 1.55%, 表明本法重现性良好。

2.7.5 加样回收率 精密称取已知含量的样品粉末 5 份, 加入与样品含量相近的酒石酸标准品, 按 2.3 项方法制备样品溶液, 按照 2.4 项下进行测定, 计算加样回收率平均值为 101.44%, RSD 值为 1.56%。

## 3 实验结果

按 2.3 项方法制备样品溶液, 按照 2.4 项下进行测定, 计算样品中酒石酸的含量。3 个地方不同采收期山茱萸药材的样品总有机酸含量测定结果。见表 4。

表 4 3 个地方山茱萸样品总有机酸含量(%)

采收时间	8月 16日	8月 30日	9月 15日	9月 25日	10月 5日	10月 15日	10月 25日
河南西峡样品	2.11	2.89	4.63	5.26	7.14	8.33	9.03
陕西佛坪样品		6.86	6.85	8.33	9.13	11.94	8.89
浙江临安样品	2.06	2.81	4.58	5.05	7.09	7.59	8.54

## 4 讨论

4.1 对测定结果分析, 3 个产地的样品总有机酸含量随果实的逐渐成熟呈增长趋势, 说明总有机酸有一个逐渐积累的过程。同一时期 3 个产地样品的总有机酸含量差异较大, 但对总有机酸达到相近含量的时间进行比较, 显示陕西比河南、浙江提前 20 天左右, 这与 3 个地区山茱萸成熟期和传统采收期的差异一致。通过本实验可看出山茱萸总有机酸含量与山茱萸果实成熟期有相关性, 山茱萸总有机酸含量动态变化规律可以为确定最佳采收期提供依据。

4.2 总有机酸测定多采用酸碱滴定法, 由于中药材提取液颜色较深, 使指示剂的选择受到限制, 同时滴定终点不明显, 用活性炭脱色会对有机酸有一定吸附, 影响测定结果。我们采用直接电位滴定法, 避免酸碱滴定法中有机酸提取液颜色对滴定终点的干扰, 结果表明电位滴定法测定山茱萸总有机酸, 方法的重现性、精密性、稳定性都比较好, 可操作性强。

4.3 在提取过程中, 比较了水、丙酮和 50% 乙醇 3 种不同溶媒的提取效率, 结果水和 50% 乙醇对总有机酸提取率较高, 50% 乙醇提取液在滴定中突跃明显, 所以在提取方法考察中选取不同浓度的乙醇进行考察。

## 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(2010 年版一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 26.
- [2] 李平, 余象煜. 山茱萸果实的化学成分. 中国野生植物资源, 1990, (3): 13.
- [3] 杨剑芳, 路福平, 高文远, 等. 山茱萸的化学、药理及开发应用研究进展. 现代生物医学进展, 2006(12): 127-131.
- [4] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(2010 年版一部附录) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 46.

(2010-11-26 收稿)◎