

渝产续断多糖超声波辅助提取工艺的优化

张 丹¹,陶燕铎²,谈利红¹,余 保¹,颜学伟¹,曹纬国¹

(1.重庆医科大学中医药学院,重庆 400016;2.中国科学院西北高原生物研究所,西宁 810000)

摘要: 为建立渝产续断(*Dipsacus asperoids*)多糖的最佳超声波辅助提取工艺,设计正交试验,以续断多糖的提取率为评价指标,对续断多糖的超声波辅助提取工艺参数进行考察。结果表明,最佳超声波辅助提取工艺为料液比 1:20(g:mL),提取时间 60 min,提取 4 次,测得续断多糖的平均提取率为 7.472%,RSD 为 2.12%,表明续断多糖超声波辅助提取工艺稳定,质量可控。

关键词: 续断(*Dipsacus asperoids*);多糖;正交试验;超声波辅助

中图分类号:S567.23*9;R284.2

文献标识码:A

文章编号:0439-8114(2015)02-0431-03

DOI:10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2015.02.044

Optimizing Microwave-Ultrasonic Assisted Technology of Extracting Polysaccharide from *Dipsacus asperoids* in Chongqing City with Orthogonal Design

ZHANG Dan¹,TAO Yan-duo²,TAN Li-hong¹,YU Bao¹,YAN Xue-wei¹,CAO Wei-guo¹

(1. TCM College,Chongqing University of Medical Sciences,Chongqing 400016, China;

2. The Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810000, China)

Abstract: To establish the optimal microwave-ultrasonic assisted technology of extracting polysaccharides from *Dipsacus asperoids* in Chongqing city, orthogonal experiment was conducted. The extraction percentage of polysaccharides was used as an evaluation index to screen the parameters of the microwave-ultrasonic assisted technology of extracting polysaccharides from *Dipsacus* L.. The ratio of materials to liquids was 1:20(g:mL), with 4 times of 2 h. The average extraction rate was 7.472%. RSD was 2.12%. The extraction was stable with controllable quality.

Key words: *Dipsacus asperoids*; polysaccharides; orthogonal experiment; microwave-ultrasonic assisted

续断为川续断科植物川续断(*Dipsacus asperoids*)的干燥根^[1],又名川断,具有补肝肾、强筋骨、续折伤、止崩漏、安胎等功效,主要用于胎漏、胎动不安、滑胎、腰膝酸软、跌打损伤和骨折等症。续断化学成分研究已较为深入,且多集中于其皂苷类成分^[2,3],已有研究表明续断类药材多糖含量较高,重庆作为续断的主产区之一,目前尚未有关于重庆产续断多糖的研究报道。多糖尤其是中药多糖具有增强机体免疫功能及抗肿瘤等药理作用,因此续断药材中含量较高的多糖类成分具有潜在的研究价值。本试验以重庆产续断为原料,采用正交试验法优选

续断多糖的超声波辅助提取工艺,为续断多糖的深入研究奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

续断药材采自重庆武隆后坪乡,经重庆医科大学王刚副教授鉴定为川续断。

UV-1750 型紫外可见分光光度计(岛津仪器有限公司);HH-6 型数显恒温水浴锅(金坛市荣华仪器制造有限公司);AL204 型电子分析天平(瑞士梅特勒托利多集团);KH5200DA 型数控超声波清洗器

收稿日期:2014-06-30

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划项目(2007BAI45B00);重庆市卫生局中医药科技项目(2010-1-146)

作者简介:张 丹(1979),女,陕西渭南人,副教授,主要从事药用植物资源开发与利用研究工作,(电话)13452905093

(电子信箱)zhangdan01234567@sina.com;通信作者,曹纬国,男,山东临沂人,副教授,主要从事中药与天然药物研究与开发,(电话)13389679838(电子信箱)cwgzd2001@sohu.com。

(昆山禾创超声仪器有限公司), DGG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司)。

葡萄糖标准品(中国药品生物制品检定研究院提供,批号为 110833),浓硫酸、正丁醇、氯仿、丙酮、无水乙醇、95%乙醇、石油醚、纯净水等均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 标准品溶液的配制 室温下精密称取干燥至恒重的葡萄糖标准品 51.8 mg, 置 50 mL 容量瓶中,加水溶解并定容至刻度,摇匀即得。

1.2.2 供试品溶液的制备 称取已烘干的续断药材粉末 10 g, 置圆底烧瓶中加入 80 mL 石油醚回流提取脱脂,共计 2 次,每次 2 h。药渣挥去溶剂后,加入 80 mL 95%乙醇回流提取 2 次,每次 1.5 h,药渣挥去溶剂后,加水 200 mL,100 °C 水浴提取 5 次,每次 2 h,合并提取液,浓缩并定容至 1 000 mL,即得供试品溶液。

1.2.3 标准曲线的制备 吸取上述标准品溶液 0、0.5、1.0、2.0、4.0、5.0 mL 于 50 mL 容量瓶中,加去离子水稀释至刻度,得系列葡萄糖标准品溶液。各吸取 0.5 mL 置于 10 mL 具塞试管中,再分别加入 5% 苯酚 1.0 mL,摇匀后迅速加入浓硫酸 4.0 mL,摇匀后 30 °C 水浴 30 min,冰水浴冷却 15 min,在 489 nm 下测定其吸光度,以吸光度 A 为纵坐标,葡萄糖标准品浓度 C 为横坐标制作标准曲线^[4,5]。

1.2.4 正交试验设计^[6,7] 选定影响多糖提取率的料液比(g:mL,下同)、提取时间以及提取次数作为考察因素,以多糖提取率作为考察指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验考察各因素的影响,因素与水平见表 1。

表 1 因素与水平

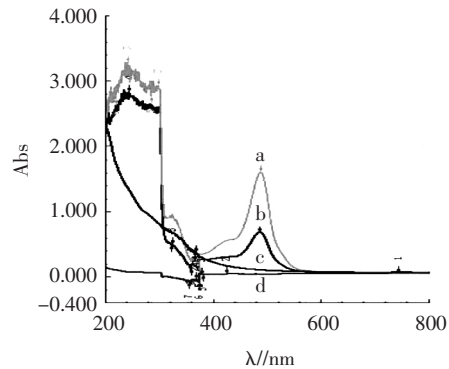
水平	因素		
	料液比(A)	提取时间(B)/min	提取次数(C)
1	1:10	20	2
2	1:20	40	3
3	1:30	60	4

2 结果与分析

2.1 最大吸收波长的确定

精密量取供试品溶液与标准品溶液各 0.05 mL,置 5 mL 容量瓶中,分别加 1.0 mL 去离子水、4% 苯酚溶液 1.0 mL,摇匀,加入浓硫酸 5.0 mL,40 °C 水浴加热 15 min,置冰水浴中冷却 5 min,以相应的试剂为空白,同时制备供试品与标准品的未显色样品,按照紫外可见分光光度法,在 200~800 nm 范围内进行光谱扫描,续断多糖与葡萄糖样品显色后均在

489 nm 处有最大吸收,且对应未显色样品在 489 nm 处几乎没有吸收,结果见图 1。因此选择 489 nm 为测定波长。



a.葡萄糖显色后;b.续断多糖显色后;c.续断多糖显色前;d.葡萄糖显色前

图 1 紫外可见光谱扫描图

2.2 标准曲线的绘制

精密吸取上述标准品溶液 0、0.5、1.0、2.0、4.0、5.0 mL 于 50 mL 容量瓶中,加去离子水稀释至刻度,得系列葡萄糖标准品溶液。以吸光度 A 为纵坐标,葡萄糖标准品浓度 C 为横坐标进行线性回归,得到标准曲线为: $A=7.87C+0.00436$, $r=0.9993$,结果表明,葡萄糖浓度在 0.01036~0.10360 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.3 正交试验结果

以续断多糖的提取率为评价指标,筛选续断多糖的超声波辅助提取工艺,正交试验结果见表 2。由表 2 极差分析可知,各因素的主次顺序为 A、C、B,最佳提取工艺为 $A_2C_3B_3$,即用 1:20 的料液比提取 4 次,提取时间为 60 min,且续断多糖超声波辅助提取工艺中一定要控制好料液比和提取次数。分别精密称取 3 份续断药材,每份 50 g,依据正交试验优选

表 2 正交试验结果

试验号	A	B	C	提取率/%
1	1	1	1	4.171
2	1	2	2	4.212
3	1	3	3	6.363
4	2	1	2	6.039
5	2	2	3	7.269
6	2	3	1	6.563
7	3	1	3	6.921
8	3	2	1	5.871
9	3	3	2	6.509
x_1	4.915	5.710	5.535	
x_2	6.624	5.784	5.587	
x_3	6.434	6.478	6.851	
R	1.709	0.768	1.316	

的最佳工艺条件提取续断多糖,结果测得续断多糖的平均提取率为 7.472%,RSD 为 2.12%,说明该工艺稳定可行。

3 小结与讨论

本研究通过正交试验设计,初步建立了渝产续断多糖的超声波辅助提取工艺为料液比 1:20,提取时间为 60 min,提取 4 次,结果测得续断多糖的平均提取率为 7.472%,RSD 为 2.12%,表明该工艺稳定可行,为渝产续断的进一步开发利用奠定了基础。与已有研究结果^[8-10]相比,渝产续断多糖含量高于黔产续断和五鹤续断,说明续断多糖的含量产地差异性较大,重庆为续断主产区,续断质量较优。

苯酚-硫酸法是利用多糖在硫酸的作用下先水解成单糖,并迅速脱水生成糖醛衍生物,然后与苯酚生成橙黄色化合物,颜色持久,在 490 nm 左右有最大吸收,采用紫外可见分光光度法测定,简单、快速、灵敏、重复性好。

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.
- [2] 刘 永,卫莹芳,闫 婕,等.不同产地续断中总皂苷的含量测定[J].时珍国医国药,2009,20(11):2767-2768.
- [3] 董玉琼,何晓红,钟国跃,等.正交法优选川续断的提取工艺[J].中国中药杂志,2007,32(11):1107-1109.
- [4] 王文平,郭祀远,李 琳,等.苯酚-硫酸法测定野木瓜中多糖含量的研究[J].食品科学,2007,28(4):276-279.
- [5] 李 妍,魏建和,许旭东,等.苯酚-硫酸法定量测定桔梗多糖的研究[J].时珍国医国药,2009,20(1):5-7.
- [6] 吴 彦,魏和平.大蓟多糖提取分离及含量测定[J].光谱实验室,2010,27(1):98-101.
- [7] 李 强,谢 杨,丁宗保,等.正交设计优选黄石斛多糖提取工艺[J].安徽农业科学,2010,38(28):15608-15609.
- [8] 翟 琨,向东山,武 芸,等.五鹤续断中多糖提取工艺的研究[J].安徽农业科学,2007,35(31):9807-9808.
- [9] 武 芸,丁 莉.五鹤续断多糖的提取及动态分布规律的研究[J].时珍国医国药,2009,20(6):1325-1326.
- [10] 杨武德,姜 辉,郭露玫.黔产续断总皂苷和多糖含量的测定[J].贵州农业科学,2011,39(5):73-74.

(责任编辑 龙小玲)

(上接第 360 页)

3 小结与讨论

黄瓜始花期早的前期产量不一定高,前期产量的高低与根瓜的膨大速度有一定的关系,在本试验中始花期最早的为津绿 26,根瓜采收期最早的为津绿 26 和津绿 30,其中津绿 30 的前期产量最高。哈杂一号和哈研 3 号的始花期较早,但其根瓜采收期却最晚,可能是因为这两个品种均属于雌性系,每个节位均有 3~5 朵雌花,雌花多相互间竞争养分,致使根瓜迟迟不能膨大,故在生产上应及时疏花疏果,以免影响前期产量。

结瓜数和单瓜重对产量的影响最大,其次是雌花着生的节位对产量的影响也较大。生产上应选择株高、第 1 雌花节位、节间距适中,结瓜数多、单果质量大、成瓜率高的品种进行生产^[6]。

在早春日光温室黄瓜品种的筛选试验中,共有 9 个密刺型黄瓜品种,通过农艺性状和早熟丰产的调查中筛选出津绿 30、津绿 26 和哈杂一号 3 个品种较适合本地区早春日光温室的栽培。

参考文献:

- [1] 谭耀宇.黄瓜引进品种比较试验[J].现代农业科技,2010(3):149-150.
- [2] 李水凤,钟 莉,徐一平,等.几个有限生长类型番茄农艺性状的比较试验[J].长江蔬菜,2009(20):35-36.
- [3] 浙江农业大学.蔬菜栽培学各论(南方本)[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [4] 郜凤梧.大棚黄瓜早熟高产栽培实用技术[M].北京:科学技术文献出版社,1987.
- [5] 沈 颖,李 锡,王 海,等.黄瓜种质资源研究进展与展望[J].中国蔬菜,2006(增刊):77-81.
- [6] 钟金仙,罗 英.黄瓜品种主要农艺性状相关与主成分分析[J].中国农学通报,2012,28(4):131-134.

(责任编辑 韩 雪)