

龙葵总多糖的闪式提取工艺优选

黄越燕*, 谭荣德, 吴世平

(嘉兴学院医学院, 浙江嘉兴 314001)

[摘要] 目的: 优选龙葵总多糖的闪式提取工艺, 为该药材的资源开发提供参考。方法: 采用苯酚-硫酸法测定总多糖含量, 检测波长 490 nm。以总多糖提取量和浸膏得率为综合评价指标, 采用正交试验考察提取电压、提取时间、提取次数、料液比对龙葵总多糖闪式提取工艺的影响, 并与热水回流法和超声法进行比较。结果: 最佳提取工艺为加 30 倍量水于 80 V 提取 2 次, 每次 2 min。热水回流法、超声法及闪式提取法的总多糖提取量分别为 3.760, 3.232, 4.585 mg·g⁻¹。结论: 闪式提取法的提取效率显著高于其他 2 种提取方式, 适用于龙葵总多糖的提取, 该工艺简单、迅速, 具有良好的应用前景。

[关键词] 龙葵; 多糖类; 闪式提取法; 浸膏得率

[中图分类号] R283.6; R284.2; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)03-0024-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syjx.2015030024

Optimization of Flash Extraction Process of Total Polysaccharides from *Solanum nigrum* HUANG Yue-yan*, TAN Rong-de, WU Shi-ping (College of Medicine, Jiaxing University, Jiaxing 314001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize flash extraction process of total polysaccharides from *Solanum nigrum*. **Method:** Phenol-sulfuric acid method was used to determine the content of total polysaccharides with detection wavelength at 490 nm. With extracting amount of total polysaccharides and yield of extract as comprehensive index, effects of extraction voltage, extraction time, extraction times and solid-liquid ratio on flash extraction process were investigated by orthogonal test. Optimum flash extraction process was compared with hot reflux method and ultrasonic method. **Result:** Optimum flash extraction process was adding 30 times the amount of water at 80 V and extracting 2 times for 2 min of each time. Extracting amounts of total polysaccharides were 3.760, 3.232, 4.585 mg·g⁻¹ by hot reflux extraction, ultrasonic and flash extraction method, respectively. **Conclusion:** Extraction efficiency of flash extraction method is significantly higher than the other two kinds of methods, which is suitable for extracting total polysaccharide from *S. nigrum*, it is feasible and rapid with good application prospects.

[Key words] *Solanum nigrum*; total polysaccharides; flash extraction method; extract yield

龙葵的生物活性成分包括多糖类、生物碱、皂苷类等, 其中多糖类成分能增加机体免疫功能及抗肿瘤等药理作用, 并可作为免疫调节剂和抗放射损伤剂应用于临床^[1]。龙葵总多糖^[2]还具有降低血管透性及透明质酸酶的生物活性, 促使抗体的形成, 降低血液的凝固性, 对心脏的兴奋有抑制作用等免疫功能, 应用前景广阔。目前龙葵总多糖的提取常采用热水提取法、碱提取法等, 存在能耗高、耗时长、得率低等缺点。

闪式提取法^[3]是利用高速机械剪切力和搅拌

力, 迅速破坏植物细胞组织, 使组织细胞内部的有效成分与溶剂充分接触而快速溶解转移, 在很短时间内达到内外溶解平衡, 从而实现有效成分的高效提取, 具有提取快速、不需要加热、有效成分损失小等优点。应用该方法提取黄酮类、皂苷类等物质已有文献报道^[4-5], 但闪式提取用于龙葵总多糖的研究尚未见报道。本实验以龙葵为研究对象, 通过正交试验优选龙葵总多糖的闪式提取工艺条件, 并与加热回流提取法进行比较, 为建立该成分的快速、高效工艺路线提供参考。

[收稿日期] 20140531(007)

[基金项目] 浙江省教育厅科研项目(Y201431468); 嘉兴市科技局科技项目(2009AY2067)

[通讯作者] * 黄越燕, 硕士, 副教授, 从事中药制剂及药效学研究, Tel: 0573-83643848, E-mail: hyylinda@163.com

1 材料

JHBE-50T 型闪式提取器(河南金鼎科技发展有限公司),JMF-320G 型多级闪蒸器(河南金鼎科技发展有限公司),CP124C 型电子分析天平(美国奥豪斯公司),UV2201 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司),TDL-5A 型大容量离心机(上海安亭科学仪器厂)。龙葵饮片购自浙江嘉信医药有限公司,经嘉兴学院医学院生药教研室黄嫫教授鉴定为茄科茄属植物龙葵 *Solanum nigrum* 的干燥全草,葡萄糖对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110833-201303),水为蒸馏水,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 龙葵总多糖的含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的无水葡萄糖对照品适量,置于 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,得 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 贮备液。

2.1.2 供试品溶液的制备 称取一定量已干燥过 40 目筛的龙葵粉末,加入 5 倍量石油醚(30 ~ 60 °C)加热回流脱脂 2 次^[6],每次 2 h,去液留渣,药渣挥干备用。精密称取脱脂后的龙葵粉末 50 g,以水为溶剂,置于提取容器中进行闪式提取,提取液于 $4\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,过滤,取上清液减压浓缩,加 5 倍量无水乙醇冷藏静置过夜。冷藏液减压抽滤,沉淀挥干乙醇,用水溶解并定容于 100 mL,得龙葵总多糖提取液。

2.1.3 标准曲线的绘制 精密量取葡萄糖对照品

贮备液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加水至 2.0 mL,各精密加入 6% 苯酚溶液 1.0 mL,摇匀,加入浓硫酸 5.0 mL,摇匀,置于沸水浴加热 15 min,冷却至室温,溶液呈橙红色。以水作空白对照,利用紫外分光光度计于 490 nm 处测定吸光度(A),以 A 为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标,得回归方程 $A = 0.0151C - 0.0052$ ($R^2 = 0.9869$),表明葡萄糖质量浓度在 $5.005 \sim 50.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与吸光度呈良好的线性关系。

2.1.4 样品测定 精密量取龙葵总多糖提取液 0.5 mL,加水稀释并定容至 25 mL,精密吸取 1.0 mL 置于 10 mL 量瓶中,加水 1.0 mL,自 2.1.3 项下“精密加入 6% 苯酚溶液”起操作,于 490 nm 处测定 A,计算龙葵总多糖提取量。

2.2 浸膏得率的测定 精密量取提取液 20 mL,置于已干燥至恒重的锥形瓶中,水浴蒸干,于 105 °C 干燥过夜,取出后置于干燥器内冷却 30 min,迅速称定质量,计算浸膏得率。

2.3 正交试验^[4-5] 在单因素试验基础上,选取提取电压、料液比、提取时间、提取次数为考察因素,每个因素设 3 个水平,准确称取 9 份已脱脂的龙葵粉末,每份 50 g,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选龙葵总多糖的闪式提取工艺,以浸膏得率和总多糖提取量的综合评分为指标,权重系数分别为 0.4, 0.6。试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。

表 1 龙葵总多糖闪式提取工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of flash extraction process for total polysaccharides from *Solanum nigrum*

No.	A 提取电压 /V	B 料液比 /倍	C 提取时间 /min	D 提取数 /次	浸膏得率 /g	总多糖提取量 /mg·g ⁻¹	综合评分
1	80	1:10	1	1	4.306	2.655	67.17
2	80	1:20	2	2	5.789	4.257	100.00
3	80	1:30	3	3	5.465	3.561	87.95
4	100	1:10	2	3	4.768	2.983	74.99
5	100	1:20	3	1	4.441	2.927	71.94
6	100	1:30	1	2	5.634	4.114	96.91
7	120	1:10	3	2	5.224	3.361	83.47
8	120	1:20	1	3	5.513	3.418	86.27
9	120	1:30	2	1	5.352	3.346	84.14

注:综合评分 = (浸膏得率/浸膏得率最大值) × 100 × 0.4 + (总多糖提取量/总多糖提取量最大值) × 100 × 0.6。

由表 2 可知,各因素对龙葵总多糖闪式提取工艺的影响顺序为 $D > B > C > A$ 。以极差最小的 A 因素为误差项进行方差分析,结果显示因素 D 对提取

工艺的影响具有显著性差异,因素 B, C 则无显著性影响,确定龙葵总多糖的最佳闪式提取工艺 $A_1B_3C_2D_2$,即提取电压 80 V,料液比 1:30,提取数 2

表 2 综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score

方差来源	SS	MS	F	P
A(误差)	25.51	12.75	1.00	
B	339.87	169.94	13.32	>0.05
C	41.63	20.81	1.63	>0.05
D	545.48	272.74	21.38	<0.05

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.0$ 。

次,每次提取时间 2 min。

2.4 验证试验 为保证提取工艺的重复性和可行性,称取龙葵粉末 3 份,每份 50 g,按优选的工艺条件进行 3 次平行操作,结果浸膏得率分别为 6.660, 6.332, 5.948 g,总多糖提取量依次为 4.534, 4.745, 4.475 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,表明该提取工艺稳定可行。

2.5 提取方法比较 采取同批龙葵药材样品 50 g,选择相同的提取溶剂(水)、料液比(1:30)和提取数(2次),考察回流法(温度 80 $^{\circ}\text{C}$,时间 30 min)、超声法(功率 300 W,时间 30 min,温度 50 $^{\circ}\text{C}$)对龙葵总多糖提取效率的影响,结果浸膏得率分别为 5.560, 3.541 g;总多糖提取量分别为 3.760, 3.232 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。表明闪式提取法得到的浸膏得率和总多糖提取量均高于其他 2 种方法,提取过程无受热过程且时间极短。

3 讨论

闪式提取法吸收了粉碎、搅拌、振动、浸渍、萃取等技术的优点,提取时间较传统工艺大大缩短,最大程度地避免了对不耐热有效成分的破坏,具有快速、高效、节能等特点^[7]。本文采用闪式提取法提取龙葵中总多糖,通过正交试验考察了提取电压、料液

比、提取时间、提取次数对总多糖提取工艺的影响,得到最佳闪式提取工艺条件。同时与文献报道的热回流法及超声法进行比较,发现闪式提取时浸膏得率和总多糖提取量均较高,且提高了工作效率。

为提高提取效果,提取前药材应进行适当破碎,但样品的直径不能超过刀腔,以免无效粉碎或卡在刀头。电机连续运行时间一般 ≤ 2 min,提取电压过高时提取液飞溅,会造成药物含量的损失。提取容器大小和刀具臂长使得单次提取的样本量不能过少,适宜的工艺参数是提高闪式提取效率的关键,可为扩大闪式提取技术在中药产业的实用效益提供参考。

[参考文献]

- [1] 苏依拉其木格,苏秀兰.龙葵多糖提取工艺优化研究[J].内蒙古医学院学报,2011,33(2):134-137.
- [2] 刘艺.龙葵碱溶性多糖的成分测定[J].湖南轻工业高等专科学校学报,2003,15(4):20-21.
- [3] 李精云,刘延泽.组织破碎提取法在中药研究中的应用进展[J].中草药,2011,42(10):2145-2149.
- [4] 陈克家,杜玉梅,李焱,等.竹叶多糖的闪式提取工艺条件的优化[J].贵州农业科学,2013,41(2):163-165.
- [5] 刘玉峰,王程程,刘宇,等.正交试验法优化赤芍总苷闪式提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(2):12-15.
- [6] 赵永慧.HPLC测定益母草软胶囊中盐酸水苏碱的含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(5):142-144.
- [7] 刘延泽.植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践[J].中国天然药物,2007,5(6):401-407.

[责任编辑 刘德文]