

正交试验优选枸杞多糖的超声波降解工艺

李越鲲, 刘兰英, 周旋, 安巍, 曹有龙*

(宁夏农林科学院国家枸杞工程技术研究中心, 银川 750002)

[摘要] 目的: 优选枸杞多糖的超声波降解工艺。方法: 以相对分子质量 < 3 万的小分子多糖 (LBP-s) 得率为指标, 在单因素试验基础上, 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验考察超声频率、超声时间、反应温度对超声波降解工艺的影响。结果: 最佳超声波降解工艺为超声频率 40 kHz, 反应温度 40 °C, 超声时间 1.5 h, LBP-s 得率达 80.04%。结论: 该降解工艺稳定可行, 应用前景良好。

[关键词] 枸杞多糖; 降解; 超声频率; 超声时间; 反应温度

[中图分类号] R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0028-03

[doi] 10.11653/syfy2013170028

Optimization of Ultrasonic Degradation Technology for Polysaccharides from Lycii Fructus by Orthogonal Test

LI Yue-kun, LIU Lan-ying, ZHOU Xuan, AN Wei, CAO You-long*

(National Wolfberry Engineering Technology Research Centre,

Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan 750002, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize ultrasonic degradation technology of polysaccharides from Lycii Fructus. **Method:** With small molecule polysaccharides from Lycii Fructus (LBP-s, the relative molecular mass < 30 000), based on single factor tests, orthogonal test was adopted to investigate effects of ultrasonic frequency, ultrasonic time and reaction temperature on ultrasonic degradation technology of LBP. **Result:** Optimum ultrasonic degradation technology conditions of LBP were as follows: ultrasonic frequency 40 kHz, ultrasonic time 1.5 h, reaction temperature 40 °C, yield of LBP-s was up to 80.04%. **Conclusion:** Optimized degradation process of LBP was stable and feasible with good application prospect.

[Key words] polysaccharides from Lycii Fructus; degradation; ultrasonic frequency; ultrasonic time; reaction temperature

枸杞多糖 (LBP) 为枸杞的主要功效成分, 具有良好的抗氧化活性^[1], 同时具备抗衰老^[2]、增强免疫力^[3-4]、抗疲劳^[5]及抗肿瘤等药理作用^[6-8], 开发价值很高。LBP 组成较为复杂, 相对分子质量范围较大, 且分布不均, 但并不是所有的 LBP 均能够被

人体吸收, 真正能被人体吸收的只是特定相对分子质量段的 LBP^[9-12]。前期研究表明, 相对分子质量 < 3 万的 LBP 体外抗氧化活性显著高于粗多糖, 能被人体有效吸收与利用; 相对分子质量 > 3 万的 LBP 活性很低, 约占 LBP 总量的 40.5%。本实验拟采用超声波降解法降低枸杞多糖的相对分子质量, 为 LBP 的合理开发与高效利用寻找新方法。

1 材料

MSM-2008 型超滤纳滤反渗透分离装置 (上海摩速科学器材有限公司), DZF-6050 型真空干燥箱 (上海琅玕实验设备有限公司), JPC0628 型全数字超声波发生器 (武汉嘉鹏电子有限公司), TDL-5-A

[收稿日期] 20121224(004)

[基金项目] 宁陕合作项目; 宁夏自然科学基金项目 (NZ1607)

[第一作者] 李越鲲, 硕士, 助理研究员, 从事植物资源研究, Tel: 0951-6886783, E-mail: linda28772877 @ 163.com

[通讯作者] * 曹有龙, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事生物科学研究, Tel: 0951-6886785, E-mail: youlongch @ 163.com

型台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

枸杞子(采自宁夏银川芦花台园林场,经宁夏农林科学院国家枸杞工程技术研究中心安巍副研究员鉴定为 *Lycium bararum* L. 的果实,晒干,备用),水为去离子水,所用试剂均为分析纯。

2 方法及结果

2.1 枸杞多糖的精制 枸杞子烘干,粉碎,石油醚回流脱脂2次,水提,水提液用 Sevag 法去蛋白,醇沉,真空干燥,得枸杞粗多糖。DEAE-52 纤维素经氢氧化钠-盐酸-氢氧化钠预处理,用去离子水洗涤至中性,装柱,加水平衡,流速控制在 $1.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,上样(多糖溶液),依次用水及 $0.1, 0.3, 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钠溶液进行梯度洗脱,收集洗脱液,醇沉,干燥,得枸杞多糖,采用苯酚-硫酸法测定多糖纯度 89.3%。

2.2 LBP-s 得率的计算 将反应液置于 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$,入口、出口压力分别为 $0.7, 0.3 \text{ MPa}$ 条件下,分别通过截留相对分子质量为 3 万的膜组件,超滤分离为透过液和截留液两部分,透过液醇沉,干燥,称定质量,计算 LBP-s 得率(X) = $m_{\text{LBP-s}}/2 \times 100\%$ 。

2.3 单因素试验考察

2.3.1 超声频率 将枸杞多糖配制成 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水溶液,精密量取 7 份,每份 200 mL,于 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,设定超声频率分别为 20,25,30,35,40,45,50 kHz,超声降解 1.5 h 得反应液,按 2.2.1 项下方法分离并计算 LBP-s 得率分别为 68.0%,73.6%,75.3%,81.7%,85.5%,77.4%,72.5%,故超声频率选定 35,40,45 kHz。

2.3.2 超声时间 将枸杞多糖配制成 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水溶液,精密量取 7 份,每份 200 mL,于 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$,40 kHz 下分别超声降解 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5 h,得反应液,结果 LBP-s 得率分别为 73.1%,75.4%,77.2%,77.0%,76.7%,76.3%,76.0%,故超声时间选定 1.0,1.5,2.0 h。

2.3.3 反应温度 将枸杞多糖配制成 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水溶液,精密量取 7 份,每份 200 mL,在 40 kHz 下,设定反应温度分别为 40,45,50,55,60,65,70 $^{\circ}\text{C}$,超声降解 1.5 h 得反应液,结果 LBP-s 得率分别为 79.0%,78.6%,78.2%,77.9%,77.6%,77.3%,77.1%,故反应温度选择 40,45,50 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.3 正交试验优选 在单因素试验基础上,选择超声频率、超声时间、反应温度为考察因素,以 LBP-s 得率为考察指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选 LBP 的超声波降解工艺条件,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 枸杞多糖超声波降解工艺优选正交试验因素水平

水平	A 超声频率/kHz	B 超声时间/h	C 反应温度/ $^{\circ}\text{C}$
1	35	1.0	40
2	40	1.5	45
3	45	2.0	50

表 2 枸杞多糖超声波降解工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D(空白)	LBP-s 得率/%
1	1	1	1	1	78.75
2	1	2	2	2	78.60
3	1	3	3	3	77.70
4	2	1	2	3	78.70
5	2	2	3	1	79.70
6	2	3	1	2	79.05
7	3	1	3	2	76.65
8	3	2	1	3	77.65
9	3	3	2	1	76.20
K_1	78.35	78.03	78.48	78.22	
K_2	79.15	78.65	77.83	78.10	
K_3	76.83	77.65	78.02	78.02	
R	2.32	0.87	0.68	0.20	

表 3 超声波降解工艺方差分析

方差来源	SS	MS	f	F	P
A	8.332 8	4.1664	2	136.83	>0.01
B	1.528 8	0.7644	2	25.10	>0.05
C	0.670 2	0.3351	2	11.00	<0.05
D(误差)	0.060 9	0.03045	2		

注: $F_{0.01}(2,2) = 99, F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

由极差分析可知,各因素对降解效率的影响大小依次为 $A > B > C$,方差分析表明 A 因素影响极显著,B 因素影响显著,C 因素影响不显著,确定枸杞多糖的最佳超声波降解工艺为 $A_2B_2C_1$,即超声频率 40 kHz,反应温度 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$,超声时间 1.5 h。

2.4 验证试验 称取枸杞多糖 10 g,按优选的超声波降解条件进行 3 次验证试验,结果 LBP-s 平均得率 80.04%,RSD 0.58%,说明优选的工艺稳定可行。

3 讨论

与其他方法相比较,超声波降解可避免化学降解的污染和对活性部位的损伤、生物降解效率的不稳定和成本高等问题,具有省时、高效、节能、环保等优点。采用超声波降解枸杞多糖,得到的 LBP-s 水溶性增强,体外抗氧化活性明显高于粗多糖,超声波

盐酸川芎嗪氯化钠注射液处方和制备工艺改进

程亮*, 聂飞, 杨群慧, 胥勤, 熊晓明

(四川升和药业股份有限公司, 成都 611530)

[摘要] 目的: 在避免使用助溶剂的情况下解决盐酸川芎嗪氯化钠注射液长期放置后易析出细小白点、白块等可见异物问题。方法: 选择柠檬酸钠作为本品 pH 调节剂, 调节药液 pH 至 4.0, 使川芎嗪尽量以盐形式溶解于溶液中, 对按改进处方制备的 3 批中试产品进行影响因素试验、长期稳定性和加速稳定性试验。结果: 改进后处方为盐酸川芎嗪 0.8 g, 氯化钠 9.0 g, 加注射用水制成 1 L, 加适量 10% 枸橼酸和 10% 枸橼酸钠调节药液 pH。3 批中试产品在室温(25 ± 2) °C 留样 24 个月、加速试验(40 ± 2) °C 6 个月及影响因素试验条件下, 产品质量稳定, 未出现细小白点、白块。结论: 改进后处方与制备方法稳定可行。pH 调节剂的变更未使药物物质基础发生改变, 不影响药品的质量可控性、安全性和有效性, 且药物稳定性更好。

[关键词] 盐酸川芎嗪; 氯化钠; 注射液; 处方; 制备工艺; 可见异物

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0030-05

[doi] 10.11653/syfy2013170030

Improvement of Formulation and Preparation Technology of Ligustrazine Hydrochloride and Sodium Chloride Injection

CHENG Liang*, NIE Fei, YANG Qun-hui, XU Qin, XIONG Xiao-ming
(Shenghe Pharmaceutical Co. Ltd, Chengdu 611530, China)

[收稿日期] 20130307(018)

[通讯作者] *程亮, 学士, 从事制药工程研究, Tel:15308206769, E-mail:15308206769@189.cn

降解仅改变了多糖的相对分子质量大小, 较好地保留了其活性结构, 是一种较好的制备低分子枸杞多糖的方法。

[参考文献]

- [1] 李贵荣. LBP 的提取及其对活性氧自由基的清除作用[J]. 中国现代应用药学杂志, 2002, 19(2):94.
- [2] LI X M, MA Y L, LIU X J. Effect of the *Lycium barbarum* polysaccharides on age-related oxidative stress in aged mice [J]. J Ethnopharmacol, 2007, 111(3):504.
- [3] GAN L, ZHANG S H, LIU Q, et al. A polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* up regulates cytokine expression in human peripheral blood mononuclear cells[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2003, 471(3):217.
- [4] 汪积德, 李鸿梅. 枸杞多糖免疫调节作用的研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2002, 23(11):1204.
- [5] 罗琼, 阎俊, 张声华. 枸杞多糖的分离纯化及抗疲劳作用[J]. 卫生研究, 2000, 29(2):115.

- [6] GAN L, ZHANG S H, YANG X L, et al. Immunomodulation and antitumor activity by a polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* [J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4(4):563.
- [7] 黄云兰, 梁耿, 韦凯东. 枸杞多糖对大鼠糖尿病的作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22):275.
- [8] 张一芳, 冯怡, 徐德生, 等. 枸杞多糖抗溃疡活性部位筛选研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12):209.
- [9] 何进, 张声华. 枸杞多糖的分离纯化及组成研究[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(12):716.
- [10] 朱彩平, 张声华. 枸杞子水提取物中多糖含量的测定[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(2):111.
- [11] 袁振林. 枸杞多糖的提取及含量和分子量分布的测定[J]. 广东化工, 2003, 30(3):43.
- [12] 张民, 马茜, 王剑, 等. 枸杞多糖的纯化及相对分子质量研究[J]. 中国食品添加剂, 2012, 13(1):49.

[责任编辑 全燕]