

制何首乌多糖的超声提取工艺

陈占科¹, 王淑美², 陈静², 梁生旺^{2*}

(1. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000; 2. 广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 优选超声提取制何首乌中多糖的最佳工艺。方法: 采用正交设计的方法, 考察提取时间、提取温度、料液比、提取次数对制何首乌多糖得率的影响, 优选出最佳的超声提取工艺, 并与热水浸提法进行比较。结果: 超声提取的最佳条件为用 25 倍的水, 70 ℃ 超声提取, 提取时间 50 min, 提取 2 次, 多糖的得率 20.04%, 与热水浸提法相比提取时间明显减少。结论: 该方法快速、高效、可行。

[关键词] 制何首乌; 多糖; 超声提取; 热水浸提

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0044-03

Ultrasonic Extraction Process of Polysaccharides from *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*

CHEN Zhan-ke¹, WANG Shu-mei², CHEN Jing², LIANG Sheng-wang^{2*}

(1. First Affiliated Hospital of He'nan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;
2. Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the optimal ultrasonic extraction technology of polysaccharides from *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*. **Method:** Extraction time, extraction times, the ratio of sample to solution, and extraction temperature were set as index for orthogonal test, and Compared with hot water extraction method. **Result:** The optimal ultrasonic extraction Process of polysaccharides from *Polygoni Multiflori Radix Praeparata* was extracted 2 times for 50 min each time at 70 ℃ with the ratio of dry material to water was 1:25, the yield of polysaccharides is 20.04%. Compared with water extraction, the extraction time reduced obviously. **Conclusion:** The optimum ultrasonic extraction process for polysaccharides is rapid, efficient and feasible.

[Key words] *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*; polysaccharides; ultrasonic extraction; hot water extraction

[收稿日期] 20101128(002)

[第一作者] 陈占科, 硕士研究生, 从事中药质量控制研究, E-mail: chen-zhanke@126.com

[通讯作者] * 梁生旺, 教授, 硕士生导师, 从事中药质量控制及新药研发研究, Tel: 020-39352172, E-mail: swliang371@163.com

测器, 以乙腈-水为流动相检测, 经过反复调整, 最终确定以乙腈-水 (30.5:69.5) 为流动相, 此方法条件稳定, 分离效果较好, 且对色谱柱损耗较小。

[参考文献]

- [1] 王筱亮, 张玉杰, 陈明霞, 等. 多指标正交试验优选酸枣仁最佳提取工艺 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (10): 753.
- [2] 朱玲, 苑乃香, 刘伟, 等. 正交试验优选酸枣仁中酸枣仁

皂苷 A 提取工艺 [J]. 郑州大学学报, 2003, 38 (1): 111.

- [3] 王旭峰, 何记国, 陈明, 等. 酸枣仁皂苷的提取及改善睡眠功效的研究 [J]. 食品科学, 2006, 27(4): 226.
- [4] 范晨怡, 章晓焯, 魏惠华, 等. 五味子醇甲的提取纯化工艺研究 [J]. 中国药房, 2007, 18(12): 896.
- [5] 袁胜英. 正交试验法研究五味子提取工艺 [J]. 天津中医学院学报, 2001, 20(1): 45.

[责任编辑 全燕]

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根。具有解毒、消痈、润肠通便之功效。经炮制后为制何首乌,具有补肝肾、益精血、乌须发等功效^[1]。近年来对制何首乌多糖的生物活性评价研究表明,制何首乌多糖具有免疫调节、抗氧化、抗衰老及抗老年痴呆症等活性作用^[2-4],并且多糖类成分在制何首乌中含量较高,所以对制何首乌多糖的研究具有重要意义。

在制何首乌多糖的研究中,多糖的提取是一个关键步骤,超声波提取是利用超声波具有的机械效应、空化效应及热效应,通过增大介质分子的运动速度,增大介质的穿透力以提取天然产物有效成分的方法^[5]。本研究探讨超声提取对制何首乌多糖得率的影响,并对制何首乌多糖的超声提取工艺进行优化。

1 仪器与试剂

UV-2450 型紫外分析仪(日本岛津),BSZZ4S 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),BG-12 型超声清洗仪(广州邦杰电子产品有限公司)。

葡萄糖对照品(曼斯特生物科技有限公司),苯酚、硫酸等均为分析纯,水为蒸馏水。

制何首乌饮片(广东德庆,批号 100610)购自广州致信药业,经广东药学院中药鉴定教研室李淑渊教授鉴定为蓼科植物何首乌 *P. multiflorum*。

2 方法与结果

2.1 前处理 将制何首乌粉碎后,称取一定质量药材粉末,加 6 倍量 95% 乙醇回流提取 4 h 脱脂,药渣挥干乙醇后备用。

2.2 多糖含量测定 采用苯酚-硫酸法,490 nm 下测定,以葡萄糖质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,测得标准曲线方程为 $Y = 8.6112X - 0.0136$ ($r = 0.9996$)。

制何首乌多糖得率 = 提取液中多糖的质量 / 饮片干重 × 100%。

2.3 超声提取单因素试验 试验选用了超声时间、提取温度、液料比及提取次数对多糖得率起主要影响的 4 个因素,以制何首乌多糖的得率为考察指标,进行了单因素考察。

2.3.1 超声时间对制何首乌多糖得率的影响 固定料液比 1:20,提取温度 60 ℃,提取次数 2 次,考察不同的超声时间对多糖提取率的影响,结果见图 1。

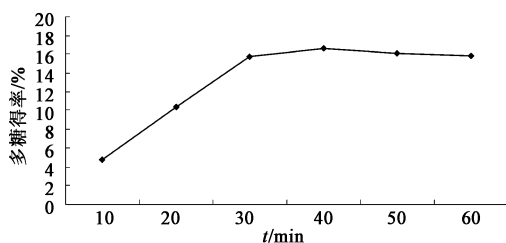


图 1 提取时间对多糖得率的影响

随着超声时间的延长,多糖得率先是快速上升,到了 40 min 左右到达最高。

2.3.2 提取温度对制何首乌多糖得率的影响 固定料液比 1:20,提取时间 40 min,提取次数 2 次,考察不同的提取温度对多糖得率的影响,结果见图 2。随着提取温度提高,制何首乌多糖的得率逐渐增加。选择提取温度为 70 ℃ 左右。

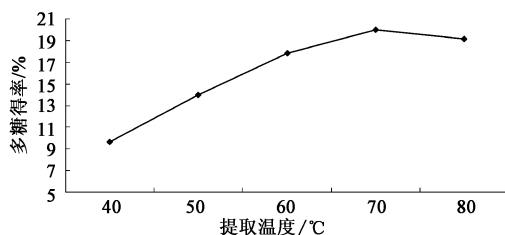


图 2 提取温度对多糖得率的影响

2.3.3 料液比对制何首乌多糖得率的影响 固定提取时间为 40 min,提取温度 70 ℃,提取次数 2 次,考察不同的料液比对多糖得率的影响,结果随着料液比的增大,多糖得率在逐步增大,当料液比达到 1:20 以上时,多糖得率基本保持不变。

2.3.4 提取次数对制何首乌多糖得率的影响 固定料液比为 1:20,提取时间 40 min,提取温度 70 ℃,考察不同的提取次数对多糖提取率的影响,结果提取 2 次达到较好的效果,3 次提取与 2 次提取的多糖得率相比变化不明显,因此确定提取 2 次为最优提取次数。

2.4 正交试验 在单因素考察的基础上,选取超声时间(A)、提取温度(B)、料液比(C)及提取次数(D)4 个因素,水平见表 1,以多糖得率为指标,根据表 1 做 $L_9(3^4)$ 正交实验表,结果见表 2,方差分析见表 3。

由直观分析结果可以看出 4 个因素对多糖得率的影响程度不同,依次为 $D > B > C > A$,故以 A 做误差项进行方差分析。在表 3 方差分析中可以知道,B 因素和 D 因素对多糖得率都有显著性影响,C

表 1 制何首乌多糖超声提取工艺因素水平

水平	A 超声时间/min	B 提取温度/℃	C 料液比	D 提取次数
1	30	60	1:15	1
2	40	70	1:20	2
3	50	80	1:25	3

表 2 制何首乌多糖超声提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	多糖得率/%
1	1	1	1	1	11.23
2	1	2	2	2	19.87
3	1	3	3	3	19.92
4	2	1	2	3	17.92
5	2	2	3	1	13.01
6	2	3	1	2	19.26
7	3	1	3	2	18.94
8	3	2	1	3	19.52
9	3	3	2	1	12.57
K_1	17.007	16.030	16.670	12.270	
K_2	16.730	17.467	16.787	19.357	
K_3	17.010	17.250	17.290	19.120	
R	0.280	1.437	0.620	7.087	

表 3 超声提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
B	3.599	2	1.799 5	23.219	<0.05
C	0.651	2	0.325 5	4.200	>0.05
D	97.199	2	48.599 5	627.090	<0.05
A(误差)	0.155	2	0.077 5		

因素无显著性影响,最佳条件为 $A_3B_2C_3D_2$,即提取时间 50 min,提取温度 70 ℃,料液比 1:25,提取次数 2 次。

2.5 提取工艺验证验证 按照超声提取制何首乌

多糖的最佳工艺对同一批供试品进行实验($n=3$),多糖得率分别 19.96%,20.13%,20.03%,多糖的平均得率 20.04%,RSD 4.26%,说明该方法稳定、可行。

2.6 热水浸提法^[6] 通过正交试验,热水浸提法的最佳工艺条件提取时间 90 min,提取温度 90 ℃,料液比 1:20,提取次数 3 次。在该条件下对同一批供试品进行试验($n=3$),多糖得率分别为 18.69%,18.75%,18.84%,平均得率为 18.76%,RSD 4.02%。

3 讨论

超声波是一种弹性波,能够破坏细胞壁和细胞膜的结构,促进胞内多糖的释放,优选出的超声提取方法与传统的热水浸提法相比,不但提取时间明显减少,而且制何首乌多糖的得率也有一定程度的提高,说明该方法快速、高效、稳定,应用于工业生产,可以大大的降低能耗,本实验对多糖类物质提取方法的研究提供了参考。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:165.
- [2] 杨晓燕.制何首乌多糖对痴呆模型小鼠学习记忆能力及脑内酶活性的影响[J].药学进展,2005,29(12):557.
- [3] 苗明三,方晓艳.制何首乌多糖对衰老模型小鼠抗氧化作用的研究[J].中药药理与临床,2002,18(5):23.
- [4] 张志远,苗明三,顾丽亚.制何首乌多糖对小鼠免疫能力的影响[J].中医研究,2008,21(6):18.
- [5] 赵鹏,李稳宏,朱骤海,等.响应面法优化金银花多糖超声提取工艺研究[J].食品科学,2009,30(20):151.
- [6] 孟繁磊,陈瑞战,张敏,等.刺五加多糖的提取工艺及抗氧化活性研究[J].食品科学,2010,31(10):168.

[责任编辑 仝燕]