

DOI:10.11937/bfyy.201522042

# 三种工艺提取肉苁蓉浸膏中四种主要有效成分含量的差异

刘 杰<sup>1</sup>, 卢 鹏飞<sup>1</sup>, 盛 晋 华<sup>1</sup>, 张 雄 杰<sup>2</sup>

(1. 内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古 呼和浩特 010019; 2. 内蒙古天际绿洲特色生物资源研发中心, 内蒙古 呼和浩特 010018)

**摘 要:**以肉苁蓉为试材,采用提取浸膏的3种工艺(工艺1(常规煎药)、工艺2(传统泡酒)、工艺3(高醇提取与水提相结合))方法,研究3种工艺方法对肉苁蓉浸膏中总糖、总黄酮、松果菊苷和毛蕊花糖苷含量的影响。结果表明:总糖和总黄酮含量为工艺2>工艺1>工艺3;松果菊苷含量为工艺1>工艺2>工艺3;毛蕊花糖苷含量为工艺2>工艺3>工艺1。工艺2所得浸膏中总糖和总黄酮及毛蕊花糖苷的含量最高;工艺1所得浸膏中松果菊苷的含量最高。

**关键词:**肉苁蓉;浸膏;总糖;总黄酮;松果菊苷;毛蕊花糖苷

**中图分类号:**R 282.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)22-0160-04

肉苁蓉(*Cistanche deserticola* Y. C Ma)属列当科肉苁蓉属多年生草本植物,主要分布于内蒙古、新疆和宁

**第一作者简介:**刘杰(1991-),男,硕士研究生,研究方向为药用保健功能作物栽培生理。E-mail:903352548@qq.com.

**责任作者:**盛晋华(1968-),女,博士,教授,研究方向为药用保健功能作物栽培生理。E-mail:sjinhua@163.com.

**基金项目:**国家科技支撑计划资助项目(2011BAI07B06);内蒙古科技厅科技创新引导奖励资金资助项目(20101901);内蒙古自治区科技厅应用技术推广资助项目(20120414);2014年内蒙古自治区专利转化基金资助项目。

**收稿日期:**2015-08-19

夏等地<sup>[1-2]</sup>,有“沙漠人参”之美誉<sup>[3]</sup>,具有益精血、补肾助阳、润肠通便等功能。前人报道肉苁蓉含有多糖、黄酮、苯乙醇苷等多种成分<sup>[4]</sup>,糖类、黄酮类和苯乙醇苷类在增强机体免疫功能、抗肿瘤方面的作用愈来愈受到人们的重视。目前对民间肉苁蓉提取工艺的研究还很少,课题组主要通过对肉苁蓉浸膏中总糖、总黄酮、松果菊苷和毛蕊花糖苷的含量进行测定,将民间常规煎药法和传统泡酒法进行对比,选择最佳提取工艺,旨在为大众更加合理利用肉苁蓉提供参考。

## 参考文献

- [1] LEMLI S, TOPPET J, CUVEELE, et al. Naphthalene glycosides in *Cassia senna* and *Cassia angustifolia* [J]. J Pharmacology, 1988, 36(11): 3-6.
- [2] 曹蔚. 番泻叶的化学成分及体内代谢研究进展[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(10): 642-643.
- [3] 金亚城, 胡关海, 朱正中. 番泻叶对急性胃、十二指肠出血的临床观察和实验研究[J]. 中西医结合杂志, 1986, 6(8): 455.

- [4] 王民, 阎世明, 王静远, 等. 番泻叶浸剂灌肠在腹部手术后应用的临床与实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(9): 540-542.
- [5] 顾波, 金琦. 番泻叶的药理作用及临床应用[J]. 中医中药, 1993(7): 45-46.
- [6] 陈礼明, 田莉. 番泻叶及其制剂的临床应用及安全性评价[J]. 中国药房, 2001, 12(5): 302-305.

## Study on Introduction of *Cassia angustifolia* Vahi

MENG Aidong, YAN Zhigang, LYU Huizhen, HUANG Hao

(Guangxi Botanical Garden of Pharmaceutical Plants, Nanning, Guangxi 530023)

**Abstract:** Taking *Cassia angustifolia* Vahi which introduced from Japan as materials, phenological observations, biological characteristics, field management and pest and disease control were conducted, the effect of different cultivation on the growth of *Cassia angustifolia* Vahi was studied. The results showed that *Cassia angustifolia* Vahi had high survival rate, all characters were normal performance, it was suitable for growing in Guangxi.

**Keywords:** *Cassia angustifolia* Vahi; introduction; phenological; pest control

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

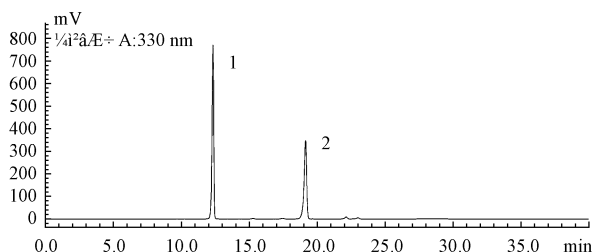
供试材料肉苁蓉产自内蒙古阿拉善盟,经内蒙古农业大学盛晋华教授鉴定。

50%盐酸溶液;200 g/L NaOH 溶液;酚酞指示剂;2.5 g/L 标准葡萄糖溶液;10 g/L 次甲基蓝指示剂;斐林试剂(A、B);60%乙醇;85%乙醇;蒸馏水;I-KI 溶液;芦丁;亚硝酸钠;硝酸铝;甲醇;乙酸;乙腈;超纯水;松果菊苷对照品(色谱纯,成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-13080801);毛蕊花糖苷对照品(色谱纯,成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-13051002);ME5 型电子分析天平;烘箱;试管;烧杯;容量瓶;电炉;滴定管;量筒;UV1700PC 紫外可见分光光度计;超纯水仪;数控超声波清洗器;高效液相色谱仪(岛津 LC-2010CHT)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 工艺方法 工艺 1(常规煎药法):准确称取一定质量的肉苁蓉饮片测其干重后水煎 2 h,后取滤液并过滤使之不得有杂质,然后将滤液负压干燥后制成提取浸膏并测其质量。工艺 2(传统泡酒法):准确称取一定质量的肉苁蓉饮片测其干重后用 60%乙醇热回流浸提 6 h,后取滤液并过滤使之不得有杂质,然后将滤液负压干燥后制成提取浸膏并测其质量。工艺 3(高醇提取与水提相结合):A 段工艺,准确称取一定质量的肉苁蓉饮片测其干重后用 85%乙醇热回流浸提 6 h,后取滤液并过滤使之不得有杂质,然后将滤液负压干燥后制成提取浸膏并测其质量。B 段工艺,将 A 段工艺提取过的饮片水煎 2 h,后取滤液并过滤使之不得有杂质,然后将滤液负压干燥后制成合并提取浸膏并测其质量。

1.2.2 色谱条件 色谱柱,Ascentis C18(4.6×250 mm, 5 μm);流动相,乙腈-0.5%乙酸水溶液梯度洗脱;检测波长,330 nm;流速,1 mL/min;柱温,35℃;进样量,30 μL。对照品和样品色谱分离见图 1~2。



注:1. 松果菊苷;2. 毛蕊花糖苷。下同。

Note: 1. Echinacoside; 2. Acteoside. The same below.

图 1 对照品高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC reference chart

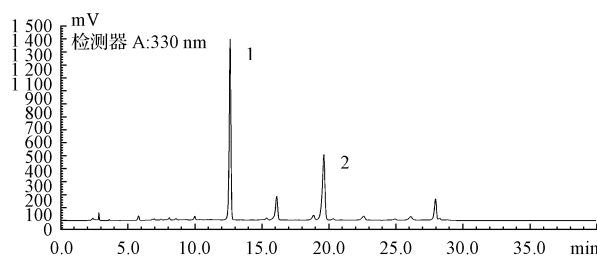


图 2 样品高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC sample chart

1.2.3 对照品溶液的制备 精密称取松果菊苷和毛蕊花糖苷标准品,用甲醇配制成一定浓度的松果菊苷和毛蕊花糖苷对照品溶液。

1.2.4 供试品溶液的制备 分别称取 3 种工艺所得的浸膏 2.000 0 g 置于螺口丝口瓶中,加 30 mL 50%甲醇,混匀后旋紧丝口瓶,超声 40 min 后萃取剂用 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤即得样品溶液。

1.2.5 线性关系考察 精密称取松果菊苷和毛蕊花糖苷标准品,分别用甲醇配制成不同浓度的对照品溶液,以浓度(mg/mL)为横坐标(X)、峰面积值为纵坐标(Y),得回归方程,松果菊苷: $Y=9E+06X-154\ 244$ ,  $R^2=0.998\ 7$ ,显示在 0.001 56~1.950 00 mg/mL 呈良好线性关系;毛蕊花糖苷: $Y=6E+06X-113\ 255$ ,  $R^2=0.998\ 9$ ,显示在 0.001 84~2.300 00 mg/mL 呈良好线性关系。

1.2.6 精密度试验 同一样品溶液,按梯度洗脱程序,连续进样 6 次,测得松果菊苷峰面积 RSD 为 0.57%,毛蕊花糖苷 RSD 为 0.30%,表明该仪器具有良好的精密度。

1.2.7 重复性试验 取同一样品溶液 6 份,按梯度洗脱程序,测得松果菊苷峰面积 RSD 为 0.76%,毛蕊花糖苷 RSD 为 0.75%。

1.2.8 稳定性试验 同一样品溶液,按梯度洗脱程序,分别在 0、2、4、8、12、24 h 测定,测得松果菊苷峰面积 RSD 为 0.77%,毛蕊花糖苷 RSD 为 0.63%,说明样品在放置 24 h 内稳定。

1.2.9 回收率试验 利用松果菊苷和毛蕊花糖苷标准液配制 2 个标准浓度的样品,用 HPLC 进行检测,测得平均回收率分别为 99.2%、99.7%,结果表明该方法的回收率较好。

### 1.3 项目测定

1.3.1 总糖含量的测定 参照杜金华等<sup>[5]</sup>方法测定浸膏中总糖的含量,准确吸取一定量样品( $V_1$ )于 100 mL 容量瓶中,加 50%盐酸溶液,加水至 20 mL,于 68℃ 水浴锅中水解 15 min,取出后冷却,加 2 滴酚酞,用 200 g/L NaOH 溶液滴定至浅红色,调温至 20℃,加水定容至刻

度( $V_2$ ),用试样代替葡萄糖标准溶液,用斐林试剂标定,记录耗用试样体积( $V_3$ ),计算公式:总糖(g/L)= $((F-CV)V_2 \times 1\ 000)/(V_1V_3)$ ,其中  $F(g)$  为斐林试剂 A 液、B 液各 5 mL 相当于葡萄糖的克数; $C(g/L)$  为葡萄糖标准溶液准确浓度; $V(mL)$  为耗用葡萄糖标准溶液的体积。

1.3.2 总黄酮含量的测定 参照孙萍等<sup>[6]</sup>的方法制作标准曲线,在 510 nm 处均有最大吸收。以吸光度为横坐标,芦丁含量为纵坐标,绘制标准曲线,用计算机作线性回归,得芦丁含量  $Y$  和吸光度  $X$  的关系为: $Y=0.930\ 0X+0.004\ 6$ , $R^2=0.999\ 8$ 。总黄酮含量的测定<sup>[6]</sup>,分别取一定质量的浸膏(不同工艺提取下)溶解于 100 mL 容量瓶中,加水至刻度即为样液,取 1 mL 样液,然后按上述方法测样液的吸光度,通过标准曲线计算出浸膏中总黄酮的含量。

1.3.3 松果菊苷和毛蕊花糖苷含量的测定 分别取不同工艺所得浸膏,按上述制成供试品溶液,取 30  $\mu$ L 样液,然后按上述色谱条件测样液的峰面积,通过标准曲线计算出浸膏中松果菊苷和毛蕊花糖苷含量。

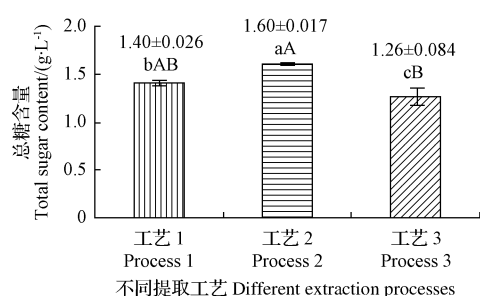
#### 1.4 数据分析

使用 Excel 2003 和 SAS 9.0 软件进行数据处理分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同提取工艺对肉苁蓉浸膏中总糖含量的影响

由图 3 可知,工艺 2 所得浸膏中总糖含量最高为 1.60 g/L,与工艺 1 和工艺 3 有显著性差异,与工艺 3 有极显著性差异,即传统泡酒法所得浸膏中总糖含量最高。



注:a,b,c 表示在  $P<0.05$  的水平上差异显著;A,B,C 表示在  $P<0.01$  的水平上差异极显著,下同。

Note:a,b,c,  $P<0.05$  level difference is significant; A,B,C,  $P<0.01$  level difference is very significant, the same below.

图 3 不同提取工艺下浸膏中总糖的含量

Fig. 3 Extract percentage of total sugar content under different extraction processes

### 2.2 不同提取工艺对肉苁蓉浸膏中总黄酮含量的影响

由图 4 可知,工艺 2 所得浸膏中总黄酮含量最高为 105 mg/g,与工艺 1 和工艺 3 之间有极显著性差异,即传

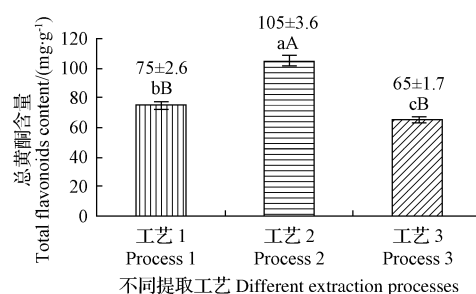


图 4 不同提取工艺下浸膏中总黄酮的含量

Fig. 4 Extract the content of total flavonoids in different extraction processes

统泡酒法所得浸膏中总黄酮含量最高。

### 2.3 不同提取工艺对肉苁蓉浸膏中松果菊苷和毛蕊花糖苷含量的影响

由图 5 可知,工艺 1 所得浸膏中松果菊苷含量最高为 14.09 mg/g,与工艺 2 和工艺 3 之间有极显著性差异,即常规煎药法所得浸膏中松果菊苷含量最高。

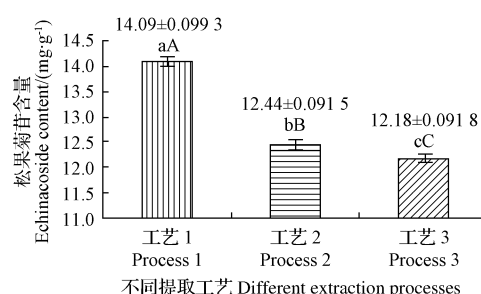


图 5 不同提取工艺下浸膏中松果菊苷的含量

Fig. 5 Extract the content of echinacoside in different extraction processes

由图 6 可知,工艺 2 测得毛蕊花糖苷含量最高为 16.76 mg/g,与工艺 1 和工艺 3 之间有极显著性差异,即传统泡酒法所得浸膏中毛蕊花糖苷含量最高。

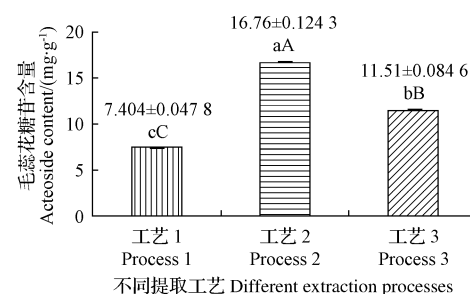


图 6 不同提取工艺下浸膏中毛蕊花糖苷的含量

Fig. 6 Extract the content of acteoside in different extraction processes

### 3 结论与讨论

该试验肉苁蓉浸膏中总糖和总黄酮含量大小为:工艺 2>工艺 1>工艺 3,即工艺 2 所得浸膏中总糖和总黄酮的含量最高。肉苁蓉浸膏中松果菊苷含量大小为:工艺 1>工艺 2>工艺 3,即工艺 1 所得浸膏中松果菊苷的含量最高;毛蕊花糖苷含量:工艺 2>工艺 3>工艺 1,即工艺 2 所得浸膏中毛蕊花糖苷的含量最高。

单糖和小分子低聚糖因羟基多,具有极性大、易溶于水、难溶于低极性有机溶剂的特性,因此,常用水或在中性条件下用 50%乙醇或 80%乙醇水溶液,在 70~80℃下回流提取<sup>[7]</sup>,白英<sup>[8]</sup>研究表明,80%乙醇所提取的肉苁蓉低聚糖的含量比水提法要高。薛丹等<sup>[9]</sup>研究表明,多糖易溶于水,不溶于有机溶剂,而小分子溶于一定浓度有机溶剂。该试验工艺 2 所得浸膏中总糖的含量最高,与前人研究结果相符。但 3 种工艺所得浸膏中单糖、低聚糖、多糖的含量还未知,因此还需做进一步的探讨。

黄酮为平面性分子,堆砌紧密,分子间引力较大,难溶于水,故醇提法效果优于水提法,即传统泡酒法提取效果优于常规煎药法,而 60%浓度的乙醇较 85%浓度的乙醇水分含量较多,促进饮片在水中的膨胀,提高了饮片和溶剂的接触表面<sup>[10]</sup>,因此乙醇浓度低时提取的总黄酮含量高,这与夏热帕提·吐孙等<sup>[11]</sup>报道的结果一致。

该试验工艺 1、2、3 所得浸膏中提取的松果菊苷和毛蕊花糖苷的总量分别为浸膏质量的 2.1%、2.9%、2.4%,而药典中规定肉苁蓉饮片含松果菊苷和毛蕊花糖苷的总量不得少于 0.30%<sup>[12]</sup>,该试验 3 种提取工艺所得浸膏中松果菊苷和毛蕊花糖苷的总量均比药典规定

中高,以工艺 2 所得浸膏中含量最高,说明此工艺提取效果最好,所得浸膏比饮片具有更高的药用价值。综上所述,工艺 2 所得浸膏中 4 种有效成分总的含量最高,即传统泡酒法提取效果优于常规煎药法,而传统泡酒法提取方法简便,成本较低,可行性高,适合大众实践,该试验为大众更加合理利用肉苁蓉提供参考。

### 参考文献

- [1] 盛晋华,翟志席,杨太新,等. 肉苁蓉寄生生物学的研究[J]. 中国农业科技导报,2004,6(1):57-62.
- [2] 程齐来,陈君,杨美华,等. 肉苁蓉属植物研究概况[J]. 中药材,2004,27(10):789-791.
- [3] 王丽楠,陈君,杨美华,等. 不同初加工温度对肉苁蓉有效成分含量的影响[J]. 中国工艺与制剂,2007,18(21):1620-1623.
- [4] 金秀莲,张庆荣. 肉苁蓉化学成分研究进展[J]. 中国中药杂志,1994,19(11):695-697.
- [5] 杜金华,金玉红. 果酒生产技术[M]. 北京:化学工业出版社,2010:217-220.
- [6] 孙萍,李艳,杨秀菊. 肉苁蓉总黄酮的微波提取及含量测定[J]. 现代中药研究与实践,2003,17(2):28-29.
- [7] 赵玉英. 天然药物化学[M]. 第 1 版. 北京:北京大学医学出版社,2012:82.
- [8] 白英. 肉苁蓉低聚糖提取工艺的研究[J]. 食品工业科技,2006(10):118-119,122.
- [9] 薛丹,黄豆豆,黄光辉,等. 植物多糖提取分离纯化的研究进展[J]. 中药材,2014,37(1):157-161.
- [10] HU X L, YOU J Y, BAO C L, et al. Determination of total flavonoids in *Scutellaria barbata* D. Don by dynamic ultrasonic extraction coupled with on-line spectrophotometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 6(10):217-223.
- [11] 夏热帕提·吐孙,艾来提·苏里坦,买吾兰红,等. 肉苁蓉总黄酮含量的测定[J]. 生物技术,2008,18(4):52-54.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:中国医药科技出版社,2010:126.

## *Cistanche deserticola* Extract Researches on the Change of Four Main Effective Component Content Differences With Three Kinds of Extraction Processes

LIU Jie<sup>1</sup>, LU Pengfei<sup>1</sup>, SHENG Jinhua<sup>1</sup>, ZHANG Xiongjie<sup>2</sup>

(1. Agricultural College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019; 2. Inner Mongolia Horizon Oasis Research Center of Characteristic Biologic Resource, Hohhot, Inner Mongolia 010018)

**Abstract:** Taking *Cistanche deserticola* as test materials, using three kinds of technology of concrete (process 1 (conventional tisanes method), process 2 (traditional method of wine), process 3 (combination of high alcohol extraction and water extraction)) methods, the effect of methods on technology research of *Cistanche deserticola* the influence of total sugar, total flavonoids, echinacoside and acteoside content in the extract was studied. The results showed that total sugar and total flavonoids content: process 2>1>3; echinacoside content: process 1>2>3, acteoside content: process 2>3>1. The highest content of total sugar, total flavonoids acteoside were the extract made of process 2; The highest content of echinacoside was the extract made of process 1.

**Keywords:** *Cistanche deserticola*; extract; total sugar; total flavonoids; echinacoside; acteoside