

# 中药饮片丝瓜络碱性多糖提取工艺的优化

吴恒梅<sup>1</sup>, 李春丰<sup>1</sup>, 姜成<sup>1</sup>, 李秀霞<sup>1</sup>, 张卫东<sup>1</sup>, 王景佳<sup>2</sup>

(1. 佳木斯大学 生命科学学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 2. 佳木斯大学 第二附属医院, 黑龙江 佳木斯 154002)

**摘 要:**以中药饮片丝瓜络为试材, 采用单因素试验和正交实验, 研究了丝瓜络碱性多糖的最佳提取工艺。结果表明: 影响多糖提取率因素的主次关系为提取时间>提取温度>料液比; 最佳的提取工艺为料液比 1:30 g/mL、提取时间为 2 h、提取温度为 70℃, 在此条件下中药饮片丝瓜络碱性多糖提取率为 4.80%。

**关键词:**丝瓜络; 多糖; 工艺优化; 中药饮片

**中图分类号:**S 642.4 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)07-0124-03

丝瓜络别名丝瓜筋、丝瓜布, 是葫芦科植物丝瓜老熟后去皮和种子的丝瓜果实维管束。丝瓜原产于东印度, 主要分布于热带、亚热带的亚洲各地。丝瓜分为无棱丝瓜和有棱丝瓜 2 个栽培种, 且 2 个栽培种的丝瓜络均可入药, 是出口的传统中药之一<sup>[1]</sup>。《本草纲目》记载“丝瓜老者, 筋络贯串, 房隔联属, 故能通入脉络脏腑, 而祛风毒, 消肿化痰, 祛痛杀虫及治诸血病也”。近年来的研究主要集中在采用正交实验法优化丝瓜络水提多糖工艺<sup>[2-3]</sup>、提高丝瓜络多糖含量<sup>[4-5]</sup>等方面。耿耘等<sup>[6]</sup>在冠脉通中进行过丝瓜络的提取工艺研究。但有关中药饮片对丝瓜络碱性多糖提取工艺的优化研究尚鲜见报道。该试验以中药饮片为试材, 采用单因素试验和正交实验研究了中药饮片中丝瓜络碱性多糖提取工艺, 以期丝瓜络多糖功能活性物质提取及新药开发等提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试中药饮片丝瓜络由安国市金草中药饮片有限公司生产, 购于佳木斯金天慈济大药房。

供试试剂为浓硫酸、无水乙醇、丙酮、葡萄糖, 均为分析纯。

供试仪器为 HH-8 型数显恒温水浴锅(国华电器

有限公司)、WFZ800-D3B 紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司)、AUY220 电子天平(日本岛津 SHIMADZU)、J251 超速离心机(美国 Beckman 公司)等。

### 1.2 试验方法

1.2.1 多糖提取工艺 水提后丝瓜络残渣(干燥)→碱液浸提→过滤→浓缩→调整 pH 至中性→醇析→离心→沉淀物→洗涤→60℃烘干→粗多糖。

1.2.2 葡萄糖标准曲线的绘制 精确称取 105℃干燥恒重的标准葡萄糖 100 mg, 至于 100 mL 容量瓶中, 定容到刻度, 得葡萄糖标准液。取该标准液 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 mL, 分别于 6 个 50 mL 的容量瓶中, 加蒸馏水定容。各吸取上述溶液 2.00 mL 置于 6 个试管中, 再加 6% 苯酚溶液 1.00 mL, 摇匀后迅速加入 5.00 mL 浓硫酸, 混匀, 放置 5 min, 置 40℃水浴中加热 15 min, 取出后冷却至室温; 以蒸馏水的反应液作空白, 于 490 nm 波长下测定吸光度值, 带入回归方程, 计算多糖的含量。

1.2.3 苯酚-硫酸法测定多糖的含量 准确吸取待测液 2.00 mL, 置于试管中, 加入 6% 苯酚溶液 1.00 mL, 摇匀后迅速沿管壁加入 5.00 mL 浓硫酸, 混匀, 放置 5 min, 置 40℃水浴中加热 15 min, 取出后冷却至室温; 以蒸馏水的反应液作空白, 于 490 nm 波长下测定吸光度。

1.2.4 多糖提取率的计算方法 多糖的提取率(%) = 提取粗多糖干重(g)/原料重(g) × 100%。

1.2.5 单因素试验 提取时间对丝瓜络多糖提取率的影响: 称取 5 份水提多糖干燥后的丝瓜络残渣 5.00 g, 加入 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液 150 mL, 提取温度 70℃, 分别浸提 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h。提取温度对丝瓜络多糖提取的影响: 称取 5 份水提多糖干燥后的丝瓜络残

**第一作者简介:**吴恒梅(1972-), 女, 硕士, 副教授, 现主要从事生物化学与分子生物学等研究工作。E-mail: hengmeiwu@163.com。

**基金项目:**黑龙江省卫生厅科研资助项目(2011-457、2011-455); 佳木斯大学科学技术研究资助项目(12521525); 黑龙江省教育厅科研成果推广计划资助项目(1253CGZH08)。

**收稿日期:**2013-11-13

渣 5.00 g, 加入 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液 150 mL, 分别置于 50、60、70、80、90℃ 水浴中, 浸提 1.5 h。料液比对丝瓜络多糖提取的影响: 称取 5 份水提多糖干燥后的丝瓜络残渣 5.00 g, 分别加入 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液 50、100、150、200、250 mL, 置于 70℃ 水浴中, 浸提 1.5 h。各单因素试验据 1.2.4 计算多糖提取率, 3 次重复。

1.2.6 正交实验 在单因素试验基础上, 以丝瓜络碱溶性多糖含量为筛选指标, 以提取时间、提取温度、料液比为考察因素, 设计  $L_9(3^3)$  正交实验, 各因素与水平见表 1。

表 1 正交实验因素与水平

水平	因素		
	A 提取时间/h	B 提取温度/℃	C 料液比/g·mL <sup>-1</sup>
1	1.5	60	1:20
2	2.0	70	1:30
3	2.5	80	1:40

## 2 结果与分析

### 2.1 葡萄糖标准曲线的绘制

从图 1 可以看出, 以葡萄糖溶液浓度为横坐标, 以其相应的吸光度值为纵坐标, 绘制葡萄糖标准曲线。标准曲线  $y=10.884x+0.1142$ ,  $R^2=0.9985$ , 其中  $y$  为葡萄糖浓度(mg/mL),  $x$  为对照浓度的吸光值。

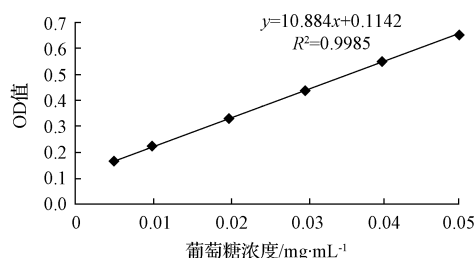


图 1 葡萄糖标准曲线

### 2.2 单因素试验结果

2.2.1 提取时间对丝瓜络碱溶性多糖含量的影响 由图 2 可知, 提取时间在 1.0~2.0 h 范围内, 随提取时间的增加, 丝瓜络多糖含量增加较快, 但 1.5 h 后增长速率有所下降, 随着提取时间的延长, 在 2.0~3.0 h 内, 增长速率趋于平缓下降, 提取时间为 2.0 h 时, 丝瓜络碱溶性多糖的提取率最高, 为 3.20%。

2.2.2 提取温度对丝瓜络碱溶性多糖含量的影响 由图 3 可知, 提取温度低时, 粗多糖的提取率不高, 随着提取温度升高, 粗多糖的提取率增加较快, 当提取温度为 70℃ 时, 粗多糖的提取率最高; 大于 70℃ 时, 粗多糖提取率缓慢下降, 提取温度太高也易产生糊化, 并且会增加

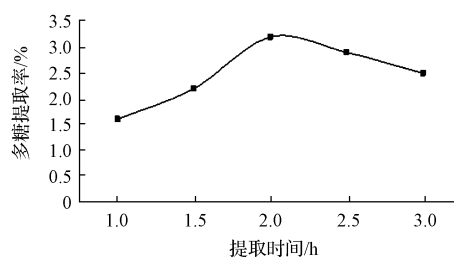


图 2 提取时间对丝瓜络碱溶性多糖含量的影响

成本。故提取温度在 70℃ 时, 丝瓜络碱溶性多糖的提取率最高, 为 2.40%。

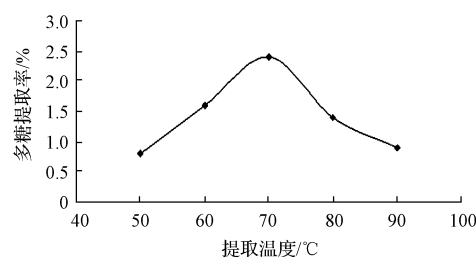


图 3 提取温度对丝瓜络碱溶性多糖含量的影响

2.2.3 料液比对丝瓜络碱溶性多糖含量的影响 由图 4 可知, 提取时间、提取温度相同的情况下, 料液比从 1:10~1:40 g/mL 之间, 丝瓜络多糖的提取率随料液比的增加而增加, 当料液比大于 1:40 g/mL 后, 丝瓜络粗多糖提取率减小。料液比为 1:30 g/mL 时, 丝瓜络碱溶性多糖的提取率为 2.50%, 提取率较高, 考虑到溶剂体积的增大会延长浓缩时间, 增加生产成本, 而且丝瓜络碱提碱溶性多糖的得率随着加水量的增加没有明显的变化, 说明当料液比达到一定值时碱溶性多糖被充分浸出。

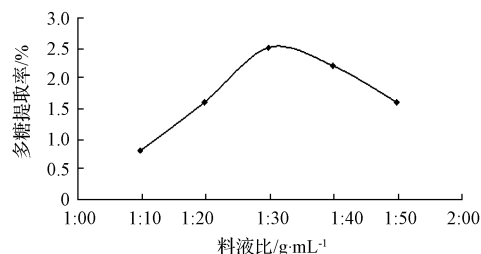


图 4 料液比对丝瓜络碱溶性多糖含量的影响

### 2.3 正交实验结果

由表 2 可知, 提取时间是影响多糖提取率的最主要因素, 在设定的 3 个提取时间中, 多糖提取率分别为 1.20%、3.23% 和 1.80%。各水平之间存在极显著差异, 以水平 2 即提取时间 2.0 h 为最好, 与单因素试验结果

一致。该试验丝瓜络多糖的提取所需要的时间可能与其独特的结构有关。

提取温度的单因素试验 3 个水平多糖提取率分别为 1.77%、2.73% 和 1.73%。正交实验所设浸提温度的 3 个水平的多糖含量有显著差异,以水平 2 为最好,与单因素试验结果符合。温度很低时,粗多糖的提取率很小,虽然随着温度的升高,含糖量有所增加,但过高的提取温度有可能破坏多糖的生物活性,温度高于 100℃ 对设备要求更高,能量消耗更大,导致生产成本加大,因此,温度取 70℃ 为好。

表 2 丝瓜络碱溶性多糖正交实验结果

水平	A 提取时间 /h	B 提取温度 /℃	C 料液比 /g · mL <sup>-1</sup>	提取率 /%
1	1	1	1	1.20
2	1	2	3	1.00
3	1	3	2	1.40
4	2	1	3	2.80
5	2	2	2	4.80
6	2	3	1	2.10
7	3	1	2	1.30
8	3	2	1	2.40
9	3	3	3	1.70
K <sub>1</sub>	3.60	5.30	5.70	
K <sub>2</sub>	9.70	8.20	7.50	
K <sub>3</sub>	5.40	5.20	5.50	
k <sub>1</sub>	1.20	1.77	1.90	
k <sub>2</sub>	3.23	2.73	2.50	
k <sub>3</sub>	1.80	1.73	1.83	
R	2.03	1.00	0.67	
主次顺序	A	> B	> C	

料液比 3 个水平之间差异不显著,以水平 2 即 1 : 30 g/mL 为好。料液比过高会增加后续操作的负担,延长过滤、浓缩的时间,增加成本,料液比太低材料不能完全被浸泡,导致多糖提取不充分,影响多糖的得率。该试验将丝瓜络粉碎后以 1 : 30 g/mL 的料液比达到了最好的提取效果。

由表 2 极差分析可知,各因素影响多糖提取率的排列次序为因素 A > 因素 B > 因素 C,即提取时间 > 提取温度 > 料液比,最佳的提取工艺参数为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>。

### 3 结论

该试验结果表明,提取时间是丝瓜络碱溶性多糖最主要的影响因素,其次是提取温度,最后是料液比。正交实验法得到的最佳提取工艺参数为料液比 1 : 30 g/mL、提取温度 70℃、提取时间 2 h,多糖提取率为 4.80%,该结果为进一步从中药饮片提取丝瓜络多糖提供了科学依据。

(该文作者还有缪天琳、王长平,单位同第一作者。)

### 参考文献

- [1] 黎炎,王益奎,李文嘉,等. 丝瓜络多糖提取工艺的研究[J]. 热带作物学报,2010,31(1):131-135.
- [2] 陈红燕,盛建国,杜健,等. 正交设计法优化丝瓜水多糖的提取工艺[J]. 安徽化工,2008,4(6):17-19.
- [3] 于洁,晁淑军,李琴,等. 正交试验法优选丝瓜络多糖的提取工艺[J]. 新乡医学院学报,2009,26(5):459-461.
- [4] 林颖,徐必达,周诚,等. 广东丝瓜络多糖含量测定[J]. 江西中医学院学报,2006,18(2):37-38.
- [5] 于洁,程迪,董丽. 苯酚-硫酸法测定河南丝瓜络多糖的含量[J]. 新乡医学院学报,2008,25(1):36-38.
- [6] 耿耘,冯华,蒋合众,等. 冠脉通中丝瓜络的提取工艺研究[J]. 上海中医药杂志,2007,41(2):70-71.

## Extraction Process Optimization of Loofah Alkali Soluble Polysaccharide in the Chinese Medicine Decoction Pieces

WU Heng-mei<sup>1</sup>, LI Chun-feng<sup>1</sup>, JIANG Cheng<sup>1</sup>, LI Xiu-xia<sup>1</sup>, ZHANG Wei-dong<sup>1</sup>, WANG Jing-jia<sup>2</sup>, MIAO Tian-lin<sup>1</sup>, WANG Chang-ping<sup>1</sup>  
(1. College of Life Sciences, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. The Second Affiliated Hospital, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154002)

**Abstract:** Taking Chinese medicine decoction pieces loofah as material, using extraction time, extraction temperature, ratio of solid to liquid as factors, the effect of extraction of loofah alkali soluble polysaccharides were studied by single factor test and orthogonal experiment. The results showed that extraction time was 2 h, extraction temperature was 70℃ and the ratio of solid to liquid was 1 : 30 g/mL, alkali soluble polysaccharides yield was 4.80%.

**Key words:** loofah; alkali soluble polysaccharides; technology optimization; Chinese medicine yin pian