

复方多花黄精中多糖和荷叶碱水提工艺的研究

刘跃钧^{1*}, 温慧萍², 蒋燕锋¹, 戴德雄³, 谢建秋¹, 彭小博¹, 朱虹¹, 葛永金¹

¹丽水市林业科学研究院; ²丽水学院; ³浙江维康药业股份有限公司, 丽水 323000

摘要: 为了研究探讨复方多花黄精中多糖和荷叶碱的提取方法和工艺, 试验采用 3 因素 3 水平正交设计方案考察了水提对多糖和荷叶碱含量的影响, 结果表明: 复方多花黄精中, 多糖含量水提最佳工艺为: 干药材粉碎 50 目→浸泡 30 min→加热回流水提 2 h, 在此工艺条件下, 250 g 干药材粉, 可得干浸膏 54.81 g, 多糖得率为 64.36%, 为总体平均得率的 1.15 倍; 荷叶碱含量水提最佳工艺为: 100 目药材粉→浸泡 30 min→加热回流水提 3 h, 在此工艺条件下, 250 g 药材粉, 可得干浸膏 48.85 g, 荷叶碱干重得率 0.1697 mg/g, 为总体平均得率的 1.67 倍。影响多糖得率的试验因素主次序为: 煎煮时间 > 药材粉碎 > 浸泡时间。影响荷叶碱得率的试验因素主次序为: 药材粉碎 > 煎煮时间 > 浸泡时间。

关键词: 多花黄精复方; 多糖; 荷叶碱; 水提; 工艺; 研究

中图分类号: R932

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.040

Extraction Technology for Rhizoma Polygonati Polysaccharide and Nuciferine from Compound Polygonatum Cyrtonema

LIU Yue-jun^{1*}, WEN Hui-ping², JIANG Yan-feng¹, DAI De-xiong³,

XIE Jiang-qiu¹, PENG Xiao-bo¹, ZHU Hong¹, GE Yong-jin¹

¹Lishui Academy of Forestry; ²Lishui University; ³Zhejiang

Weikang Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Lishui 323000, China

Abstract: In order to study the extraction technology and method for rhizoma polygonati polysaccharide and nuciferine from Compound Polygonatum Cyrtonema, orthogonal experiments were conducted on 3 factors and 3 levels with water extraction for the effects of the rhizoma polygonati polysaccharide and nuciferine content. The result demonstrated that the best extraction method for rhizoma polygonati polysaccharide was dried herbs pieces over 50, soak 30 min, water heating reflux 2 h. Under the condition of the process, available dry extract could be 54.81g and the yield of rhizoma polygonati polysaccharide could be 64.36%, 1.15 times than the average value when 250 g dried herbs were extracted. The best extraction method for nuciferine was dried herbs pieces over 100, soak 30 min, water heating reflux 3 h. Under the condition of the process, available dry extract could be 48.85 g and the yield of nuciferine could be 0.1697 mg/g, 1.67 times than the average value when 250 g dried herbs were extracted. Primary and secondary order of the main factors influencing the yield of rhizoma polygonati polysaccharide was: decoction time > herbs pieces > soaking time, while herbs pieces > decoction > soaking time for nuciferine.

Key words: Compound Polygonatum Cyrtonema; Rhizoma Polygonati Polysaccharide; nuciferine; water extraction; ethanol extraction; technology

多花黄精 (*Polygonatum Cyrtonema*) 为百合科多年生草本植物, 是中药材黄精原植物之一, 具有补

气、滋阴、健脾、润肺、益肾等功效作用^[1], 现代药理研究表明, 其主要成份为黄精多糖, 具有抗菌、降压、降血糖及防止动脉粥样硬化的作用^[2]。荷叶睡莲科植物莲 (*Nelumbo nucifera*) 的干燥叶, 荷叶碱是荷叶药理活性的主要成分, 具有减肥降脂、抗动脉粥样硬化、抑菌、抗病毒、抗氧化、抗衰老等功能^[1,3]。国内多花黄精的研究论文主要集中在生长特性、栽培技术、组培苗繁育、化学成分等方面, 关于复方多花

收稿日期: 2017-01-05 接受日期: 2017-03-02

基金项目: 中央财政林业科技推广示范资金项目 (2013TS08 号); 浙江省公益类技术研究项目 (2012C2296); 浙江省林业科研成果推广项目 (2013B37); 丽水市中药材科技创新团队项目 (2012CXTD11); 丽水市农业新品种选育专项 (2014XPZ01); 丽水市高层次人才培养专项 (2015RC02)

* 通信作者 Tel: 86-578-2185128; E-mail: lslyj66@163.com

黄精提取工艺及养生保健产品的研制公开报道很少^[4-7]。为了研发多花黄精养生保健产品,项目组根据郭慧玲^[8]等关于荷叶水提取物的降血脂作用及黎海彬^[9]等关于决明子山楂提取物不同配比降血脂作用等方面的研究成果,结合中药临组方经验,提出了以降血脂、降血糖、降血压为主要功能的复方多花黄精配方。该配方由多花黄精、荷叶、枸杞子、山楂、决明子5种“药食同源”中药组成。为了考察复方多花黄精中多糖和荷叶碱的提取方法和工艺,试验采用3因素3水平正交设计方案,分析和比较水提对复方多花黄精中多糖、荷叶碱含量的影响,以便为后期进一步优化提取方法和工艺提供技术支撑。

1 材料与方

1.1 试验材料

多花黄精根茎采购于浙江省丽水市某县,为丽水市林业科学研究院筛选出的优良种源干燥根茎;荷叶、枸杞子、山楂、决明子4味药材采购自丽水市中医院。

主要试验仪器试剂:Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);UV2550 型紫外分光光度仪(日本岛津公司),水浴锅(上海梅香仪器公司),电子天平(XS105DU,瑞士梅特勒公司),旋转蒸发器;无水葡萄糖、荷叶碱对照品,购自中国食品药品检定

研究院,硫酸、苯酚、乙醇等为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

1.2 水提试验

主要研究药材粉碎粒径(A)、煎煮时间(B)、浸泡时间(C)对干浸膏得率和工效成分的影响。药材粉碎粒径设50目(A₁)、100目(A₂)、不粉碎(A₃)3个试验水平。煎煮时间设3h(B₁)、2h(B₂)、1h(B₃)3个试验水平。浸泡时间设15min(C₁)、30min(C₂)、不浸泡(C₃)三个试验水平。加水量这药材重量的10倍。每味药材单独烘干后粉碎、过筛。采用回流提取工艺,气压大小一致。

1.3 检测方法与统计分析

湿浸膏和干浸膏各称重1次,记录重量值,小数点保留两位。含量测定按《中国药典》(2015版)规定执行。多糖含量采用紫外分光光度法测定,苯酚-硫酸法显色,以无水葡萄糖为对照品;荷叶碱含量采用高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-水-三乙胺-冰醋酸(27:70.6:1.6:0.78)为流动相,检测波长为270nm,以荷叶碱为对照品。各试验组多糖和荷叶碱含量分别测定2次,取均值分析正交试验结果,多糖重量值小数点保留两位,荷叶碱重量值小数点保留四位。利用DPS数据统计软件LSD比较法进行正交方差分析和多重比较^[10],优选出最佳组合(处理)。

表1 复方多花黄精水提正交试验结果(g,%,mg/g)

Table 1 Orthogonal experiment results of Compound Solomon's seal water extraction (g,%,mg/g)

组合 Combination	药材粉碎 Pulverize	煎煮时间 Decoction time	浸泡时间 Immersion time	干药材重 Dry weight	湿膏重 Weight of wet paste	干浸膏重 Weight of dry paste	多糖含量 Content of polysaccharide	荷叶碱含量 Content of nuciferine
A ₁ B ₁ C ₁	50目	3h	15min	250	87.1	31.15	65.30	0.0690
A ₁ B ₂ C ₂	50目	2h	30min	250	124.7	54.81	64.36	0.0896
A ₁ B ₃ C ₃	50目	1h	不浸泡	250	83.0	21.53	50.77	0.0785
A ₂ B ₁ C ₂	100目	3h	30min	250	106.0	48.85	57.90	0.1697
A ₂ B ₂ C ₃	100目	2h	不浸泡	250	113.5	33.23	43.94	0.0790
A ₂ B ₃ C ₁	100目	1h	15min	250	91.8	40.86	52.57	0.1087
A ₃ B ₁ C ₃	不粉碎	3h	不浸泡	250	93.0	10.91	57.75	0.0944
A ₃ B ₂ C ₁	不粉碎	2h	15min	250	87.9	14.17	58.93	0.0872
A ₃ B ₃ C ₂	不粉碎	1h	30min	250	91.6	24.28	45.10	0.0885

2 结果与分析

2.1 不同水提方法复方干浸膏重的比较

9个试验组合水提浸膏平均干重31.09g,与药材重相比,干浸膏得率12.44%。A、B、C三个试验

因素对干浸膏重未造成了显著性差异,这可能仅利用一组数据进行分析造成的结果。影响干浸膏重的试验因素主次序为:A>C>B。A因素各水平中A₂与A₃有显著差异。A因素干浸膏重从高到低的顺序为:A₂>A₁>A₃。正交设计设置适当重复有利于

对试验效应做出更正确的评价^[11], 但本试验考察的主要指标是多糖和荷叶碱, 因此利用单组数据分析对试验结果影响不大。从表 2 可知, 最优组合为不在试验组合中的 A₂B₂C₂, 同样的原因未对最优组合

A₂B₂C₂ 进行验证。在 9 个试验组合中, 以 A₁B₂C₂ 组合的干浸膏得率最高, 达 21.92%, 为总体平均得率的 1.76 倍, 并与其它 8 个组合均存在显著差异 (见表 2)。

表 2 复方多花黄精水提正交试验结果 (g)

Table 2 Orthogonal experiment results of Compound Solomon's seal water extraction (g)

组合 Combination	药材粉碎 Pulverize	煎煮时间 Decoction time	浸泡时间 Immersion time	干浸膏重 Weight of dry paste
A ₁ B ₁ C ₁	50 目	3 h	15 min	31.15 ab
A ₁ B ₂ C ₂	50 目	2 h	30 min	54.81 a
A ₁ B ₃ C ₃	50 目	1 h	不浸泡	21.53 ab
A ₂ B ₁ C ₂	100 目	3 h	30 min	48.85 ab
A ₂ B ₂ C ₃	100 目	2 h	不浸泡	33.23ab
A ₂ B ₃ C ₁	100 目	1 h	15 min	40.86 ab
A ₃ B ₁ C ₃	不粉碎	3 h	不浸泡	10.91 b
A ₃ B ₂ C ₁	不粉碎	2 h	15 min	14.17 ab
A ₃ B ₃ C ₂	不粉碎	1 h	30 min	24.28 ab
k1	35.83	30.30	28.73	
k2	40.98	34.07	42.65	
k3	16.45	28.89	21.89	

2.2 不同水提方法复方中多糖含量的比较

9 个试验组合水提多糖平均干重 17.39g, 平均干浸膏重 31.09g, 多糖平均得率 55.93%。多糖含量是评价复方多花黄精水提方法的重要指标。影响多糖干重的试验因素主次序为: C > A > B。试验因素 A、B、C 对多糖干重均具有极显著性差异 (P=0.0001), 经 LSD 多重比较方法分析, A₁、A₂、A₃ 两两之间, B₁、B₂、B₃ 两两之间, C₁、C₂、C₃ 两两之间, 均

具极显著差异。从表 3 三因素各水平最高均值和多重比较结果可知, 试验最优组合为 A₁B₂C₂, 9 个试验组合中, 除了 A₁B₃C₃ 与 A₃B₃C₂ 之间不存在极显著差异外, 其它组合两两之间都具有极显著差异。水提多糖最佳工艺: 干药材→粉碎 50 目→浸泡 30 min→加热回流水提 2 h。在此工艺条件下, 250 g 干药材粉, 可得干浸膏 54.81 g, 多糖干重得率 64.36%, 为总体平均得率的 1.15 倍。

表 3 复方多花黄精水提正交试验结果 (g)

Table 3 Orthogonal experiment results of Compound Solomon's seal water extraction (g)

组合 Combination	药材粉碎 Pulverize	煎煮时间 Decoction time	浸泡时间 Immersion time	多糖干重均值 Average weight of dry polysaccharide
A ₁ B ₁ C ₁	50 目	3 h	15 min	20.34 dD
A ₁ B ₂ C ₂	50 目	2 h	30 min	35.28 aA
A ₁ B ₃ C ₃	50 目	1 h	不浸泡	10.93 fF
A ₂ B ₁ C ₂	100 目	3 h	30 min	28.28 bB
A ₂ B ₂ C ₃	100 目	2 h	不浸泡	14.60 eE
A ₂ B ₃ C ₁	100 目	1 h	15 min	21.48 cC
A ₃ B ₁ C ₃	不粉碎	3 h	不浸泡	6.30 hH
A ₃ B ₂ C ₁	不粉碎	2 h	15 min	8.35 gG
A ₃ B ₃ C ₂	不粉碎	1 h	30 min	10.95 fF
k1	22.18	18.13	16.73	
k2	21.46	19.41	24.84	
k3	8.54	14.46	10.61	

2.3 不同水提方法复方中荷叶碱含量的比较

9个试验组合水提浸膏平均干重 31.09 g, 平均荷叶碱干重 3.1689 mg, 荷叶碱平均得率 0.1019 mg/g。影响荷叶碱干重得率的试验因素主次序为: A > C > B。试验因素 A、B、C 对荷叶碱干重均具有极显著性差异 ($P=0.0001$), 经 LSD 多重比较方法分析, A_1 、 A_2 、 A_3 之间, B_1 、 B_2 、 B_3 之间, C_1 、 C_2 、 C_3 之间, 均具极显著差异。从表 4 三因素各水平最高均值和

表 4 复方多花黄精水提正交试验结果 (mg/g)

Table 4 orthogonal experiment results of Compound Solomon's seal water extraction (mg/g)

组合 Combination	药材粉碎 Pulverize	煎煮时间 Decoction time	浸泡时间 Immersion time	荷叶碱干重均值 Content of nuciferine
$A_1B_1C_1$	50 目	3 h	15 min	2.1503 eE
$A_1B_2C_2$	50 目	2 h	30 min	4.9102 bB
$A_1B_3C_3$	50 目	1 h	不浸泡	1.6902 fF
$A_2B_1C_2$	100 目	3 h	30 min	8.2938 aA
$A_2B_2C_3$	100 目	2 h	不浸泡	2.6263 dD
$A_2B_3C_1$	100 目	1 h	15 min	4.4434 cC
$A_3B_1C_3$	不粉碎	3 h	不浸泡	1.0320 hH
$A_3B_2C_1$	不粉碎	2 h	15 min	1.2366 gG
$A_3B_3C_2$	不粉碎	1 h	30 min	2.1516 eE
k1	2.92	3.82	2.61	
k2	5.12	2.92	5.12	
k3	1.47	2.76	1.78	

3 结论

复方多花黄精中, 多糖含量水提最佳工艺为: 干药材粉碎 50 目→浸泡 30 min→加热回流水提 2 h, 在此工艺条件下, 250 g 干药材粉, 可得干浸膏 54.81 g, 多糖得率为 64.36%, 为总体平均得率的 1.15 倍; 荷叶碱含量水提最佳工艺为: 100 目药材粉→浸泡 30 min→加热回流水提 3 h, 在此工艺条件

多重比较结果可知, 试验最优组合为 $A_2B_1C_2$, 在 1% 的极显著水平上, 除了 $A_1B_1C_1$ 与 $A_3B_3C_2$ 之间外, 其它两组合均具极显著差异。水提荷叶碱最佳工艺: 100 目药材粉→浸泡 30 min→加热回流水提 3 h。在此工艺条件下, 250 g 药材粉, 可得干浸膏 48.85 g, 荷叶碱干重得率 0.1698 mg/g, 为总体平均得率的 1.67 倍。

下, 250 g 药材粉, 可得干浸膏 48.85 g, 荷叶碱干重得率 0.1697 mg/g, 为总体平均得率的 1.67 倍。影响多糖得率的试验因素主次序为: C(煎煮时间) > A(药材粉碎) > B(浸泡时间)。影响荷叶碱得率的试验因素主次序为: A(药材粉碎) > C(煎煮时间) > B(浸泡时间)。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 11.
- 2 Dong ZC(董治程), Xie ZM(谢昭明), Huang D(黄丹). 黄精资源、化学成分及药理作用研究概况. *Central South Pharm* (中南药学), 2012, 10; 451-452.
- 3 Yang F(杨菲), Xu X(徐新), Tang LQ(唐良秋). Evolution of research of Lotus alkaloid. *Modern Hospital* (现代医院), 2012, 12(6): 93-94.

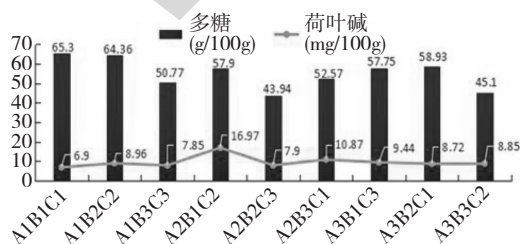


图 1 复方多花黄精中水提多糖和荷叶碱得率比较

Fig. 1 The yield comparison of polysaccharide and Lotus alkali from Compound Solomon's seal water extraction