

微波提取肉苁蓉中总黄酮和多糖的含量测定

孙 萍¹, 兰 卫², 李 艳¹, 闫豫君¹, 成玉怀^{2*}

(1. 石河子大学师范学院, 新疆 石河子 832002; 2. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002)

肉苁蓉 *Cistanche salsa* (C. A. Mey.) Benth. et Hook. f. 别名大芸, 多年生寄生草本, 分布于戈壁沙漠地区, 多寄生于红柳、白刺的根上, 是一味名贵的补药。药用带鳞片的肉质茎, 性味甘辛, 温, 具有强肝肾、益精血、滑肠通便之功效^[1]。为提高药材利用率, 节约药材资源, 本实验对微波提取的肉苁蓉中总黄酮和多糖进行了测定。此法反应速度加快, 收率提高, 结果令人满意。

1 仪器与材料

UV-2401型分光光度计(日本岛津), MCL-3型连续微波反应器(四川大学无线电系)。芦丁对照品购自中国药品生物制品检定所。(+)葡萄糖(105℃干燥至恒重), 苯酚、硫酸均为分析纯。

肉苁蓉采自新疆准噶尔盆地边缘石河子垦区, 经石河子大学药学院生药教研室成玉怀副教授鉴定为 *C. salsa* (C. A. Mey.) Benth. et Hook. f.。春季采挖, 置沙土中半埋半露, 晒干, 破碎后备用。

2 方法与结果

2.1 总黄酮测定^[2]

2.1.1 供试品溶液制备: 肉苁蓉细粉(65目)于60℃干燥4 h, 精密称取1 g于烧瓶中, 加入85%乙醇60 mL, 将此烧瓶放入MCL-3型连续微波反应器中, 调整功率, 反应20 min, 将提取液转移到100 mL容量瓶中, 用85%乙醇定容, 作为供试品溶液。

2.1.2 标准曲线制备: 精密称取120℃干燥至恒重的芦丁对照品10 mg, 加85%乙醇溶解, 定容至50 mL容量瓶中, 摇匀, 制成0.2 mg/mL的对照品溶液。分别取对照品溶液0.0, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL于10 mL容量瓶中, 加5%亚硝酸钠0.4 mL, 放置6 min后, 加10%硝酸铝0.4 mL, 放置6 min, 再加4%氢氧化钠4 mL, 加水至刻度, 摇匀, 放置15 min, 以浓度(C)对吸光度(A)进行线性回归, 计算得方程 $C = 79.22A - 0.466$, $r = 0.9978$, 线性范围为4~80 μ g。

2.1.3 稳定性试验: 取同一供试液在6, 12, 24, 36,

48 h测定吸光度。结果 $RSD = 2.31\%$ ($n = 5$), 表明吸光度值在48 h内基本保持不变。

2.1.4 回收率试验: 取已知总黄酮含量的供试品溶液1.0 mL于10 mL容量瓶中, 再加入0.2 mg/mL的芦丁对照品溶液0.5 mL, 依法测定, 结果平均回收率为103.14%, $RSD = 0.95\%$ ($n = 6$)。

2.1.5 样品含量测定: 精密吸取供试品溶液2.0 mL, 置10 mL容量瓶中, 按2.1.2项下方法显色测定。通过标准曲线, 计算出样品中总黄酮含量。结果见表1。

2.2 多糖测定^[3]

2.2.1 供试品溶液制备: 分别精确称取肉苁蓉粉末0.20 g, 用80%乙醇浸泡过夜, 再于MCL-3型连续微波反应器中用80%乙醇回流20 min, 调整功率。残渣挥去溶剂后, 再放入MCL-3型连续微波反应器中, 继续以水回流提取20 min, 调整功率。反复洗后置250 mL容量瓶中, 定容, 摇匀后即得。

2.2.2 标准曲线绘制: 精确量取100.8 μ g/mL葡萄糖对照品溶液0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 mL置干燥试管中, 分别加水至1.0 mL, 再分别加入3%苯酚溶液1.6 mL, 摇匀, 然后加浓 H_2SO_4 7.0 mL, 室温放置25 min, 同时做一空白, 以吸光度(A)对浓度(C)进行线性回归, 回归方程: $A = 0.05654C + 5.47 \times 10^{-4}$, $r = 0.9998$, 线性范围: 10.08~70.56 μ g。

2.2.3 稳定性试验: 取同一供试品溶液在6, 12, 24, 36, 48 h测定吸光度。结果 $RSD = 2.67\%$ ($n = 5$), 表明吸光度值在48 h内基本保持不变。

2.2.4 回收率试验: 精确称取肉苁蓉粉末0.15 g, 精密加入葡萄糖7 mg, 按样品制备和葡萄糖测定方法操作, 测得葡萄糖平均回收率为96.88%, $RSD = 0.96\%$ ($n = 6$)。

2.2.5 样品含量测定: 精确吸取样品液1 mL, 按2.2.2项下方法测其吸光度值, 按下式计算多糖含量, 多糖含量 = $CDf/W \times 100$ (C为样品溶液的葡萄糖的质量, D为样品溶液的稀释倍数, f为换算因

(下转附15页)

均不可擅动”。因此,今后川朴的产区将缩小到五峰、鹤峰、恩施一线。同时这一线的种质资源全国最优。恩施种植厚朴的历史具说已有 500年,以恩施市的双河乡较为集中,有上坝村、下坝村、中岭村等 9个村办林场,另外还有太白庙林药场、硝坡洞林药场、省中医药研究院长岭岗实验场等大型种植基地。可惜的是在 1988年的大规模砍伐中所剩无几,其中长岭岗基地已荡然无存。现有厚朴林,大多为 1990年以后营造。但据统计,恩施每年出产厚朴 20万公斤。鹤峰县基本没有大规模连片种植。农民一般是在自己的山地小规模种植,保护得力。全县每年产出量不会少于 5万公斤,其中树龄达到 12~ 15年的占 25% 以上。

川朴的另一个产区是宜昌市的五峰县,与鹤峰接壤,县内有原中国药材公司的一个川朴基地——香党坪林药场,品种以厚朴为主,间有凹叶厚朴。立地条件好,土层深厚;为棕壤和棕黑壤。树龄 3~ 20年不等,树龄梯级分布合理,现存最大树胸径 40 cm 以上,皮厚 0.8 cm (干货)。五峰县产区比较集中,大多在香党坪周边,年产厚朴 10万公斤,其中 15年以上树龄的 20% ~ 25%。

湖北浠水厚朴多是计划经济时期湖北省的鄂东基地,来源为凹叶厚朴,不属于“川朴”范围。四川都江堰等地也是 20世纪 70年代以后开始发展的人工林,其来源为凹叶厚朴,也 同样不属于“川朴”范围。

2.3 永道产区:以湖南永州地区道县为中心,产区包括永州(冷水滩)、零陵、道县、双牌、江华、江永、宁远等县、区。商品以“双牌”厚朴知名。品种是从广西引种的凹叶厚朴。是全国厚朴资源最丰富的产区。而且近几年以每年几千亩的速度造林。道县为国家计划经济时代六大厚朴基地之一,产品号称“道州——老山紫油厚朴”。保护工作很好,甚至在 1988年全国滥伐厚朴的狂潮中,也未出现盗伐现象。最高年份生产干

货 17万公斤(1983年)。存土面积占全国的 10%,整个产区每年提供商品量超过全国的 25%。据产区介绍,该省出产的厚朴,经湖南省有关部门检测,总酚含量比其他产区高出 1.7% ~ 4.89%。习用经验认为,湖南省厚朴品质普遍偏差,但永道地区厚朴树龄普遍较长,对品质起了一定弥补。

2.4 其他产区:厚朴的其他产区两广、江西等地受地理位置及气候、海拔等多方面影响,商品在市场上和销区普遍不被看好,认为品质最差,资源蕴藏量也较少。大规模商品货源基地不容易形成。

3 采收及加工

川朴产区一般采用水焅发汗法,其他地区几乎均采用直接发汗法。但受市场经济的影响,农民加工方法趋于简单化,水焅发汗法几乎不用;直接发汗法往往也是时间、温度达不到要求。是商品品质下降的另一个原因。值得一提的是,“厚朴环剥技术”曾在湖北浠水鄂东基地试验成功。但现在已废弃不用。

4 结语

根据以上情况,解决目前厚朴商品质量普遍下降的问题,可以从种质、生长年限和产地加工三方面着手。首先是优化种质,优育并推广优良品种;其次,加强资源保护,各产区在采收时应有计划地控制采收年限,避免树龄达不到年限的厚朴林的砍伐;第三,开展产地加工方法对品质影响的研究,因地制宜采用最适宜的加工方法,保证商品不会因加工不当而降低质量。

References

[1] Ch P (中国药典) [S]. 1995 ed. Vol I.
[2] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.
[3] Si J P. *Officinal Magnolia* (厚朴) [M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000.

(上接附 1页)

素, W 为样品的质量),结果见表 1

表 1 样品中总黄酮及多糖的含量 ($n=5$)

Table 1 Detemination of total flavone and polysaccharide in samples ($n=5$)

检测项目	含量 %	RSD %
总黄酮	2.542	2.637
多糖	11.546	0.719

3 讨论

微波技术应用于植物细胞破壁,大大地加快了反应速度,有效地提高了收率^[4]。本实验采用微波技术从肉苁蓉中提取总黄酮和多糖,并对其含量进行了测定,结果表明反应时间缩短,提取效率提高。可望在有

效成分提取方面发挥更大作用。

References

[1] Editorial Committee of Chinese Herbal Medicine of Xinjiang. *The Chinese's Herbal Medicine of Xinjiang* (新疆中草药) [M]. Urung Xinjiang Peoples's Publishing House, 1976.
[2] Ren A N, Ju J M. Detemination of total flavone in different parts of *Chrysanthemum indicum* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(8): 589.
[3] Zhou J, Li Y, Xue M, *et al.* The extraction and detemination of polysaccharide from *Calyt et Fructus physalis*. [J]. *J Math Med* (数理医药学杂志), 2000, 13 (3): 242.
[4] Zhang D J, Liu C B, Xiu Z L, *et al.* Microwave technique applied in extraction of active principle in cells of plant [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(9): S-v-vi.