

中所得重楼皂苷 I、II 总和的质量分数分别为 0.356%、1.287%、1.412%。可知,3 种提取方法中,加热回流法提取所得重楼皂苷 I、II 的质量分数最高,超声法次之,浸渍法最低,故宜选用加热回流法对重楼饮片进行提取。

2.3 乙醇回流提取工艺条件优选:参考有关重楼有效成分的提取工艺的文献资料结合预试验结果,影响乙醇加热回流法提取重楼有效成分的主要因素有提取时间(A)、提取次数(B)、乙醇体积分数(C),因素水平见表 1。以重楼皂苷 I、重楼皂苷 II 总量为指标,称取重楼饮片 50 g,共 9 份,分别加入 12 倍量乙醇,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A/h	B/次	C/%
1	1	1	30
2	1.5	2	50
3	2	3	70

方差分析结果表明,A、B 因素影响无显著性差异,C 因素有显著性差异,结合直观分析以 $A_3B_3C_3$ 为佳,即:70%乙醇提取 3 次,每次 2 h。

2.4 验证试验:称取重楼饮片 50 g,按优选出来的最佳提取工艺 $A_3B_3C_3$ 进行验证,结果重楼皂苷 I、II 总量为 1.192%,RSD 为 2.24% ($n=3$),表明该提取工艺稳定可行,重现性好。

3 讨论

重楼主要有效成分为甾体皂苷,水溶性较差。关

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Table 2 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A	B	C	空白	重楼皂苷 I、II 总量/%
1	1	1	1	1	0.204
2	1	2	2	2	0.583
3	1	3	3	3	1.097
4	2	1	2	3	0.489
5	2	2	3	1	0.902
6	2	3	1	2	0.605
7	3	1	3	2	0.906
8	3	2	1	3	0.608
9	3	3	2	1	0.824
K_1	1.884	1.599	1.417	1.930	
K_2	1.996	2.093	1.896	2.094	
K_3	2.338	2.526	2.905	2.194	
R	0.454	0.927	1.488	0.264	

表 3 方差分析

Table 3 Variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P
A	0.037 29	2	0.018 65	3.148 68	0.241 04
B	0.143 43	2	0.071 71	12.110 23	0.076 28
C	0.384 63	2	0.192 31	32.475 85	0.029 87
误差	0.011 84	2	0.005 92		

$F_{0.05}(2,2)=19.0$ $F_{0.01}(2,2)=99.0$

于提取工艺研究方面的文献报道很少,本实验采用正交试验,对影响重楼皂苷醇提工艺的各种因素进行考察,优选出最佳提取工艺条件,对实际生产有一定的指导意义。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
[2] Bian H R, Li X N, Wang H M, et al. The research and development of *Rhizoma Parisidis* [J]. *J Chin Med Mater (中药材)*, 2002, 25 (3): 218-219.

枸杞多糖的组成及结构分析

朱彩平¹, 张 民², 张声华¹

(1. 华中农业大学食品科技学院,湖北 武汉 430070; 2. 天津科技大学食品科学与生物工程学院,天津 300222)

枸杞多糖 (*Lycium barbarum polysaccharides*, LBP) 是枸杞中的主要功能活性成分。许多研究者都从枸杞中采用不同的方法得到了多糖^[1~3]。本实验采用 Sephadex G-75 对枸杞多糖粗品进行了纯化,并直接以水提取,简化了提取工艺,减少了有机溶剂的使用,得到色泽白且溶解性好的多糖,并对其组成

及结构特点进行了研究。

1 材料、仪器与方法

Philips HR 1375/A 型打浆机;BSZ-100 自动分步收集器(上海沪西仪器厂),HL-2 电脑恒流泵(上海沪西仪器厂);岛津 UV-265FW 紫外可见分光光度计;LD4-2A 型低速离心机(北京医用离心

收稿日期:2005-10-17
基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(95J25)
作者简介:朱彩平(1979—),女,博士。

机厂制造);Alphal-2 真空冷冻干燥机;ZFQ-85A 旋转蒸发器(上海医械专机厂);Shimadzu G-9A 气相色谱仪;PE Paragon 1000FT 红外光谱仪;Hitachi X-650 扫描电镜;Giko IB-3 离子溅射仪(Sigma 公司)。

牛血清白蛋白为电泳纯,其他试剂均为分析纯;Sephadex G-75, Pharmacia 产品;鼠李糖(Rha)、岩藻糖(Fuc)、核糖(Rib)、阿拉伯糖(Ara)、木糖(Xyl)、甘露糖(Man)、葡萄糖(Glu)、半乳糖(Gal),上海试剂二厂;D-半乳糖醛酸(GalA), Aigma 产品。

2 方法和结果

2.1 枸杞多糖的提取纯化及理化特性:干燥的枸杞粉碎后以 80%乙醇于 80℃水浴提取 30 min,重复 3 次,合并滤渣,沸水提取 4 次,合并提取液,浓缩至小体积,无水乙醇沉淀,抽滤收集沉淀,加丙酮-石油醚于 50~60℃回流脱色,干燥得粗多糖。粗多糖经 Sevage 法去蛋白,透析,干燥得脱蛋白多糖。该脱蛋白多糖用蒸馏水经 Sephadex G-75 凝胶色谱柱(450 mm×25 mm)洗脱,合并主峰收集液,冷冻干燥得枸杞纯品 LBP。

由图 1 可看出,经过 Sephadex G-75 的多糖流出曲线只有一个主峰,该组分在 280 nm 处有明显的吸收峰,具有糖蛋白的特征,两峰首尾分别重叠,且峰形对称,说明其为成分均一的多糖蛋白复合体。其冻干品为白色絮状固体,溶于冷水、二甲基亚砜、稀碱,不溶于高浓度的乙醇、乙醚、丙酮、氯仿、正丁醇、醋酸乙酯;与 FeCl₃ 反应呈阳性,说明其不含多酚类物质;与 I₂-KI 反应为阴性,说明其不含淀粉及纤维素;硫酸-呋唑反应呈阳性,说明其含有糖醛酸;斐林试剂反应呈阴性,说明其不含还原糖;双缩脲反应呈阴性,考马斯亮蓝反应呈阳性,均说明枸杞多糖的纯化产品含有蛋白质。

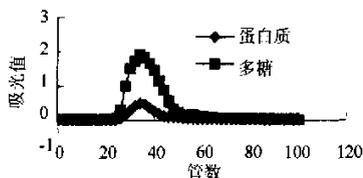


图 1 枸杞多糖在 Sephadex G-75 色谱柱上的洗脱曲线
Fig. 1 Elution curve of LBP on Sephadex G-75 column

2.2 枸杞多糖的纯度检验

2.2.1 琼脂糖凝胶电泳:0.8%琼脂糖凝胶,大小为 3.0 cm×8.0 cm,厚 5 mm,电泳缓冲液为 pH 8.0 的 TBE 液(0.089 mol/L Tris-硼酸,0.002 mol/L EDTA),电泳加样量为 10 μL,电压 120 V,电泳 50

min。将凝胶板置于 1%十六烷基三甲基溴化铵溶液中固定 1 h,然后以 0.1%甲苯胺蓝染色 2 h 以上,染色完毕放入乙酸-乙醇-水(0.1:5.0:5.0)脱色液中漂洗至斑点清晰。枸杞多糖经琼脂糖凝胶电泳展开后,呈均一蓝色斑点,表明枸杞多糖为单一组分。

2.2.2 纸色谱:新华中速滤纸(30 cm×3.5 cm),点样,饱和 2 h,室温展开 6 h,展开剂为正丁醇-浓氨水(40:50:5),0.5%甲苯胺蓝乙醇液染色,95%乙醇漂洗至背景褪色。枸杞多糖经纸色谱展开后,呈单一海蓝色斑点,表明枸杞多糖为单一组分。

2.3 枸杞多糖的组成成分分析:苯酚-硫酸法^[4],测定中性多糖,考马斯亮蓝法^[5]蛋白质,硫酸-呋唑法^[6]测定糖醛酸。LBP 中含有中性糖、半乳糖醛酸、蛋白质,其中中性糖质量分数为 45.09%,半乳糖醛酸质量分数为 46.76%,蛋白质质量分数为 6.98%。

2.4 多糖的气相色谱:先将 LBP 采用三氟醋酸进行水解得单糖,再将单糖衍生成糖腈乙酯后进行气相色谱测定^[5]。色谱条件:毛细管柱 OV-1701 (30 cm×0.32 mm×0.5 μm);氢火焰离子化检测器;C-R6A 积分仪;柱温以 10℃/min 由 190℃升至 230℃,保持 5 min,检测器和进样品温度均为 250℃,氢气流量为 230.0 mL/min,空气流量为 300.0 mL/min,氮气流量为 0.0 mL/min。

枸杞多糖水解物的糖腈乙酯衍生物的总离子流色谱图见图 2。可见枸杞多糖的中性糖由鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖 6 种单糖组成,物质的量比为 0.72:5.82:0.52:0.26:1:4.48。

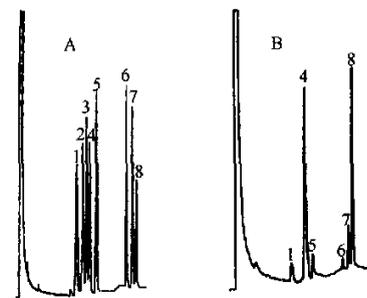


图 2 标准单糖(A)和枸杞多糖水解物(B)的气相色谱分析
1-Rha 2-Fuc 3-Rib 4-Ara 5-Xyl 6-Man 7-Glu 8-Gal

Fig. 2 Gas Chromatography of standard monosaccharides (A) and LBP hydrolysate (B)

2.5 多糖的紫外光谱:枸杞多糖的水溶液在 190~400 nm 紫外扫描。结果枸杞多糖在 260 nm 处无特征吸收,说明多糖不含核酸,在 280 nm 处吸收不明

显,说明多糖中的蛋白质的量较低。

2.6 多糖的红外光谱:将干燥的 LBP 用 KBr 压片法做红外光谱分析^[7]。枸杞多糖的红外扫描图谱见图 3。3 400 cm^{-1} 处宽峰,是 O-H 的伸缩振动,2 930 cm^{-1} , C-H 的伸缩振动,是糖类的特征峰,1 150 cm^{-1} 是 C-O 伸缩振动,900 cm^{-1} 为 β -D-吡喃葡萄糖的特征吸收,960 cm^{-1} 为鼠李糖的特征吸收,870、800 cm^{-1} 处为甘露糖的特征吸收,825 cm^{-1} 为 α -D-吡喃甘露糖,812 cm^{-1} α -D-吡喃半乳糖的特征吸收,1 725 cm^{-1} 处的 C=O 伸缩振动表明含糖醛酸,1 400 cm^{-1} 处的 C-N 伸缩振动证明有蛋白质存在。

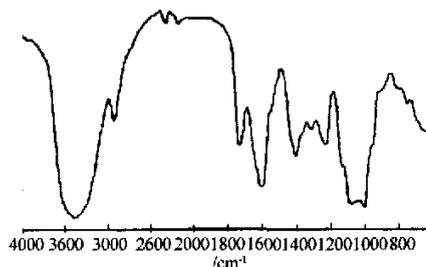


图 3 枸杞多糖的红外光谱

Fig. 3 IR Spectra of LBP

2.7 多糖的扫描电镜:取适量干燥的 LBP 样品置于离子溅射仪中镀一层导电金膜后,采用扫描电镜(SEM)进行观察,拍照。见图 4。可以看到枸杞多糖为一种片状结构。

3 讨论

采用 Sephadex G-75 对枸杞多糖粗品进行了纯化,并直接以水提取,减少了有机溶剂的使用,提取工艺简单易行,得到的多糖色泽白,长期室温密封保存不变色,且溶解性好。

本实验对枸杞多糖单糖组成的测定结果中单糖的种类与以往研究结果基本相同,但单糖间的比例



图 4 枸杞多糖的扫描电镜照片

Fig. 4 SEM Image of LBP

例却有较大差异,这可能与多糖提取工艺以及纯化方法的差异有关。

本实验对枸杞多糖的固体形貌进行了扫描电镜观察,直观地发现枸杞多糖为一种片状结构。

References:

- [1] He J, Zhang S H. Study on *Lycium barbarum* L. and *Lycium barbarum* polysaccharide. (1) [J]. *Food Sci* (食品科学), 1995, 16 (2): 14-21.
- [2] Wang J H, Wang J M, Li L, et al. The isolation purification and structure character of LBP2a [J]. *Food Sci* (食品科学), 2002, 23 (6): 44-48.
- [3] Chen X P. Structure analysis of neutral polysaccharide from *Lycium barbarum* L [J]. *J Zhejiang Agric Univ* (浙江农业大学学报), 1996, 22 (1): 37-40.
- [4] Zhang W J. *Biochemical Study Technology of Complex Polysaccharides* (复合多糖生化研究技术) [M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 1999.
- [5] Han Y S. *Food Chemistry Experimental Direction* (食品化学实验指导) [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1992.
- [6] Ning Z X. *Food Ingredients Analysis Handbook* (食品成分分析手册) [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1998.
- [7] Zhang Z X. *Organic Spectral Analysis* (有机光谱分析) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1995.
- [8] Liu R L, Yang C. Studies on molecular appearance of scleroglucan with electronic microscope [J]. *Acta Sci Nat Univ Nankai* (南开大学学报) 1995, 28 (1): 68-71.

白芷配方颗粒的喷雾干燥工艺研究

肖丹,边燕红

(成都中医药大学,四川 成都 610075)

中药配方颗粒剂是将传统的中药饮片经提取、浓缩、干燥、制粒而成的一种单剂量颗粒剂型,又称中药浸膏颗粒、中药免煎颗粒等。由于喷雾干燥较之

其他干燥方法具有干燥速度快、物料受热时间短、对热敏性成分破坏少,生产工序简单、操作简便,易于控制质量,适用于工业连续化大生产;所加辅料量少、从