• 药剂与工艺 •

传统工艺与膜分离技术联合对马齿苋多糖的提取分离与抗氧化活性研究

汪 荔^{1,2,3}, 王 征^{1,2,3}, 张 娇¹, 唐志书^{1,2,3*}, 孙晓春^{1,2,3}, 宋忠兴^{1,2,3}, 黄文静^{1,2,3}, 刘 力^{1,2,3}

1. 陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西 咸阳 712083

2. 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712083

3. 陕西省风湿与肿瘤类中药制剂工程技术研究中心, 陕西 咸阳 712083

摘要: 目的 将传统工艺与膜分离技术联用对马齿苋多糖进行分离纯化, 并考察其体外抗氧化活性。方法 采用 $L_9(4^3)$ 正交试验对马齿苋多糖的提取工艺进行优化; 对马齿苋粗多糖脱蛋白和脱色素工艺进行优化; 采用不同孔径的膜联用对马齿苋多糖进行精制研究; 采用 Fenton 反应、邻苯三酚自氧化反应研究马齿苋多糖清除羟基自由基、超氧离子自由基活性。结果 马齿苋多糖最佳提取条件为 100 °C, 每次 3 h, 4 次。Sevage 法、三氯乙酸法和盐酸法脱蛋白多糖的回收率分别为 17.05%、9.66%、16.61%。活性炭法、过氧化氢法、丙酮-无水乙醇法和氯仿-正丁醇法除色素多糖的回收率分别为 17.04%、17.09%、27.06%、17.58%。膜分离研究表明纯化后的马齿苋多糖主要存在于 0.8 μm 的渗透液中。马齿苋多糖对羟基自由基、超氧离子自由基的清除率分别为 58.89%、38.89%。结论 合适的微滤超滤膜联用可以达到纯化马齿苋多糖的目的。抗氧化活性研究显示马齿苋多糖能清除羟基自由基、超氧离子自由基且呈剂量依赖关系。

关键词: 马齿苋; 多糖; 提取分离; 膜分离技术; 抗氧化; 正交试验; 自由基; 量效关系

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)10-1676-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.10.009

Extraction and isolation of polysaccharide from *Portulaca oleracea* by traditional process combined with membrane separation technology and evaluation of its anti-oxidant activity

WANG Li^{1,2,3}, WANG Zheng^{1,2,3}, ZHANG Jiao¹, TANG Zhi-shu^{1,2,3}, SUN Xiao-chun^{1,2,3}, SONG Zhong-xing^{1,2,3}, HUANG Wen-jing^{1,2,3}, LIU Li^{1,2,3}

1. Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China

2. Shaanxi Province Key Laboratory of New Drugs and Chinese Medicine Foundation Research, Xianyang 712083, China

3. Shaanxi Rheumatism and Tumor Center of TCM Engineering Technology Research, Xianyang 712083, China

Abstract: Objective To extract and purify the polysaccharide from *Portulaca oleracea* and evaluate its anti-oxidant activity.

Methods Orthogonal experiment design $L_9(4^3)$ was employed to optimize the traditional extraction process. The processes of deproteinization and depigmentation were also investigated. Specifications of membrane with different apertures was used to purify the crude polysaccharide. The anti-oxidant activity of the polysaccharide was also evaluated by Fenton reaction and autoxidation of pyrogallol. **Results** The polysaccharide was extracted at 100 °C for 3 h with four times repeated to give the highest extraction rate. The recycling rates of Sevage method, thichloroacetic acid and hydrochloric acid method to remove protein were 17.05%, 9.66%, and 16.61%, respectively. The recycling rates of active carbon, H_2O_2 , acetone-anhydrous ethanol, and chloroformn butanol to remove

收稿日期: 2015-12-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81373978); 国家“十二五”重大新药创制科技重大专项 (2011ZX09401-308-037); 陕西省科技资源教育厅产业化培育项目 (2011JG19)

作者简介: 汪 荔 (1991—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药新技术与新剂型的研究。Tel: 18629272428 E-mail: 18629272428@163.com

*通信作者 唐志书 (1972—), 教授, 研究方向为中药高新制备技术应用研究和中药资源开发与综合利用研究。

Tel: (029)38180560 E-mail: tzs6565@163.com

pigment were 17.04%, 17.09%, 27.06%, and 17.58%, respectively. Much of the polysaccharide were detected in the liquid penetrated from the membrane with apertures of 0.8 μm . The clearance rate of polysaccharide scavenge hydroxyl radical and superoxide radical were 58.89%, and 38.89%. **Conclusion** The preferred aperture of microfiltration and ultrafiltration membrane can purified *P. oleracea*. Polysaccharide antioxidant experiment indicates that the polysaccharide could effectively scavenge hydroxyl radical and superoxide radical with dose dependent relationship.

Key words: *Portulaca oleracea* L.; polysaccharide; extraction and purification; membrane separation technology; anti-oxidant activity; orthogonal test; free radical; dose-effect relationship

马齿苋 *Portulacae Herba* 为马齿苋科 (*Portulacaceae*) 马齿苋属 *Portulaca* L. 1 年生肉质草本植物马齿苋 *Portulaca oleracea* L. 的全草, 味酸、性寒, 归大肠、肝经, 具有清热解毒、凉血止痢之功效^[1]。马齿苋始载于《本草经集注》, 又名马齿菜、蚂蚱菜、长寿菜、五行草、瓜子菜、麻绳菜等, 是我国卫生部划定的 78 种药食同源植物之一^[2-3]。马齿苋中富含去甲肾上腺素、 α -不饱和脂肪酸、 β -胡萝卜素、黄酮类、香豆素、单萜糖苷类、生物碱及多糖等化学成分^[4-5]。研究表明, 多糖是马齿苋的主要活性成分, 具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒、清除自由基、调血脂、降血糖及增强免疫力等多种药理活性^[6-8]。

膜分离技术 (membrane separation technology, MST) 是一项新型的高效分离技术, 目前已被广泛的应用于医药、食品、化工及环保等各个领域。MST 以选择性透过膜为分离递质, 当两侧存在一定电位差、浓度差或者压力差时, 原料一侧的组分就会选择性地透过膜^[9-11], 从而实现大、小分子的分离, 达到有效成分净化浓缩的目的^[10-12]。其在分离物质过程中不涉及变相, 无二次污染, 具有生物膜浓缩富集的功能, 且操作简便、结构紧凑、易自动化等优点^[13]。

多糖是一类具有优良活性的生物大分子物质, 其药效活性与其分子结构和相对分子质量密切相关。MST 主要利用相对分子质量的差异达到分离的目的, 对多糖的分离纯化有非常重要应用价值。文献报道显示, 目前已经应用 MST 对红松松塔多糖^[14]、马尾藻多糖^[15]、香菇多糖^[16]、白术多糖^[17]、沙枣多糖^[18]及满山香子多糖^[19]等几十种多糖类成分进行了分离纯化, 且显示出良好的效果。本实验将传统马齿苋多糖的分离纯化工艺与现代膜分离技术联合, 以过膜前后多糖回收率为评价指标, 综合评价不同型号的微滤超滤膜对多糖水溶液的适用性, 大致确定马齿苋多糖相对分子质量范围, 并对纯化精制的多糖进行抗氧化活性研究。

1 仪器与材料

UV-2600/2700 紫外可见分光光度计, 日本岛津; VaCo5 型低温冷冻干燥仪, Zirbus Technology; TGL-20B 离心机, 上海安亭科学仪器; LNG-CM-101 实验室膜分离设备, 上海朗级膜分离设备工程有限公司; LNG-HFM-101 实验室膜分离设备, 上海朗级膜分离设备工程有限公司。

马齿苋干品, 购自陕西省药材市场, 经陕西中医药大学药教研室主任王继涛副教授鉴定为马齿苋科马齿苋属植物马齿苋 *Portulaca oleracea* L. 的全草; 无水 *D*-葡萄糖对照品 (批号 110833-201205, 质量分数 95%~99%) 由中国食品药品检定研究院提供。石油醚、95%乙醇、醋酸乙酯、硫酸亚铁购自成都市科龙化工试剂厂; 30%过氧化氢、盐酸、三氯乙酸、水杨酸购自天津市天力化学试剂有限公司; 浓氨水、浓硫酸、丙酮购自西安三浦化学试剂有限公司; 邻苯三酚, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 苯酚, 天津市凯信化学工业有限公司; 活性炭, 重庆茂业化学试剂有限公司; 水为蒸馏水; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 多糖的测定

精确称取干燥的无水 *D*-葡萄糖对照品 20 mg, 蒸馏水定容至 100 mL, 质量浓度为 0.2 mg/mL, 稀释成 0.025、0.050、0.750、0.100、0.150 mg/mL 的对照品溶液, 分别精密吸取各质量浓度稀释液 0.6 mL, 加入新制 5% 苯酚溶液 1.2 mL 和浓硫酸 4 mL, 混匀后置于沸水浴中保温 30 min, 取出冷却至室温。在 490 nm 处测定吸光度 (*A*) 值, 以蒸馏水作为空白对照。以多糖质量浓度为横坐标 (*X*), *A* 值为纵坐标 (*Y*) 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y=5.9589X+0.0735$, $R^2=0.9957$, 线性范围为 0.025~0.150 mg/mL。

2.2 多糖的提取

2.2.1 工艺流程 将马齿苋干品用粉碎机粉碎, 用 10 倍体积石油醚回流脱脂 2 次, 每次 2 h, 烘干。

称取 10 g 脱脂马齿苋置于圆底烧瓶中,以蒸馏水作为溶剂,按一定浸提温度、浸提时间和浸提次数进行浸提,冷却滤过,合并滤液,离心弃沉淀得上清液,上清液经浓缩后,加入 4 倍量 80% 乙醇进行沉淀,静置过夜。离心所得沉淀依次用无水乙醇、丙酮洗涤。加适量蒸馏水溶解沉淀,Sevage 试剂(氯仿-正丁醇 4:1)除蛋白 3 次,再加入 4 倍量 80% 乙醇沉淀,将沉淀冷冻干燥得马齿苋粗多糖,将粗多糖用膜分离技术进行纯化精制。

2.2.2 多糖提取率的计算 准确称取 10 g 马齿苋干品粉末,在一定的提取条件下水提醇沉出的粗多糖冷冻干燥,精确称取样品粗多糖 0.010 g,定容至 100 mL,摇匀,即得样品供试液;精确吸取供试液 1 mL,490 nm 处测定 A 值,根据回归方程计算样品中多糖的量。多糖提取率为多糖质量占马齿苋原料质量的百分比。

2.3 单因素试验

参照“2.2.1”项工艺流程,每次称取 10 g 马齿苋预处理粉末,考察浸提温度、浸提时间和浸提次数对马齿苋多糖提取率的影响。

2.3.1 浸提温度对多糖提取率的影响 在浸提时间 2 h,提取 2 次的条件下,考察不同浸提温度 60、70、80、90、100 °C 对马齿苋多糖提取率的影响,结果分别为 2.63%、6.63%、6.66%、7.91%、7.67%。可以看出随着温度的升高,多糖提取率也随之提高,但当温度为 100 °C 时,多糖提取率下降。

2.3.2 浸提时间对多糖提取率的影响 在浸提温度 100 °C,提取 2 次的条件下,考察不同浸提时间 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 对马齿苋多糖提取率的影响,结果分别为 3.77%、6.93%、7.67%、9.23%、9.53%。可以看出,随着浸提时间的延长,多糖提取率不断升高,但当浸提时间大于 3.0 h,多糖提取率增加幅度降低。

2.3.3 浸提次数对多糖提取率的影响 在浸提温度 100 °C,浸提时间 2.0 h 条件下,按照浸提次数为 1、2、3、4、5 次对马齿苋多糖提取率的影响,结果分别为 4.43%、7.67%、10.15%、11.17%、10.42%。可以看出随着浸提次数的增加,多糖提取率不断升高,当浸提次数大于 4 次时,提取率升高幅度接近平稳。

2.4 正交试验

在单因素试验的基础上,以多糖提取率为考察指标,进行 3 因素 3 水平 $L_9(3^3)$ 正交试验,考察浸

提温度(A)、浸提时间(B)和浸提次数(C)对多糖提取率的影响,试验设计与结果见表 1,方差分析见表 2。由表 1 可知,3 个因素对马齿苋多糖提取率的影响依次为浸提次数>浸提温度>浸提时间。最优工艺为 $A_3B_2C_3$,即浸提温度 100 °C,浸提时间 3.0 h,浸提次数 4 次。

表 1 多糖提取正交试验因素水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal of polysaccharides extraction

序号	A/°C	B/h	C/次	D(误差)	提取率/%
1	80(1)	2.0(1)	2(1)	(1)	7.47
2	80(1)	3.0(2)	3(2)	(2)	9.69
3	80(1)	4.0(3)	4(3)	(3)	12.41
4	90(2)	2.0(1)	3(2)	(3)	8.78
5	90(2)	3.0(2)	4(3)	(1)	12.24
6	90(2)	4.0(3)	2(1)	(2)	8.32
7	100(3)	2.0(1)	4(3)	(2)	13.75
8	100(3)	3.0(2)	2(1)	(3)	13.02
9	100(3)	4.0(3)	3(2)	(1)	11.88
K_1	29.57	30.00	28.81	31.59	
K_2	29.34	34.95	30.35	31.76	
K_3	38.65	32.61	38.40	34.21	
R	9.31	4.95	9.59	2.62	

表 2 方差分析

Table 2 Analyses of variance

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	显著性
A	18.797	2	13.117	无
B	4.088	2	2.853	无
C	17.682	2	12.339	无
D(误差)	1.433	2		

$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

2.5 脱蛋白实验

Sevage 法:取 3 g 多糖粗粉溶解成 25 mL 多糖水溶液,按多糖水溶液-氯仿-正丁醇 25:24:1 的比例充分混合后萃取 3 次,得上清液醇沉,离心得多糖沉淀,冷冻干燥得纯化后的多糖。

盐酸法:取 3 g 多糖粗粉溶解成 25 mL 多糖水溶液,并用 2 mol/L 盐酸调节 pH 值 3,放置过夜离心取上清液醇沉,冷冻干燥得多糖。

三氯乙酸法:取 3 g 多糖粗粉溶解成 25 mL 多糖水溶液,滴加 10% 三氯乙酸调节 pH 值 3,放置过夜离心取上清液醇沉,冷冻干燥得多糖。

用硫酸-苯酚法测多糖的量。各方法结果见表 3。可以看出 3 种方法中三氯乙酸法除蛋白含糖量最高但回收率较低，接着是盐酸法和 Seavage 法。

2.6 脱色素实验

活性炭法：取 3 g 多糖粗粉溶解成 25 mL 多糖水溶液，取 0.75 g 活性炭 40 °C 保温 50 min 离心取上清液同法醇沉，冷冻干燥得多糖。结果见表 4。多糖颜色较深，此方法除色素效果较差。

过氧化氢法：取 3 g 多糖粗粉溶解成 25 mL 多糖水溶液，浓氨水，10% NaOH 调节 pH 值 8.0 后滴加 10% H₂O₂ 溶液至 pH 值 7.0，55 °C 保温 2 h。醇沉，冷冻干燥得多糖。结果见表 4。此方法除色素较为明显，冷冻干燥得白色多糖粉末。

表 3 多糖脱蛋白实验结果

方法	多糖粗粉/ mg	质量浓度/ (mg·L ⁻¹)	含糖量/ %	回收率/ %
Seavage 法	511.6	68.2	45.5	17.05
盐酸法	498.5	82.0	45.7	16.61
三氯乙酸法	289.8	74.3	49.5	9.66

表 4 多糖脱色素实验结果

方法	多糖粗粉/ mg	质量浓度/ (mg·L ⁻¹)	含糖量/ %	回收率/ %
活性炭法	511.4	76.1	50.7	17.04
过氧化氢法	512.8	130.6	87.1	17.09
丙酮-无水乙醇法	812.0	71.1	47.4	27.06
氯仿-正丁醇法	527.4	100.1	73.3	17.58

丙酮-无水乙醇法：取 3 g 多糖粗粉依次用丙酮和无水乙醇洗涤 3 次即得松散的多糖。结果见表 4。此方法简单，多糖损耗小，但除色素效果一般。

氯仿-正丁醇法：取 3 g 多糖粗粉溶解成 25 mL 多糖水溶液，按多糖水溶液-氯仿-正丁醇 25 : 24 : 1，充分混合后萃取 3 次，合并上清液醇沉，冷冻干燥得多糖。结果见表 4。此法除色素效果不明显，粉末呈灰白色，多糖有一定量损失。

由实验结果可以看出用丙酮-无水乙醇法除色素多糖损耗最少，其余 3 种方法损耗量相差不大，从含糖量来看，过氧化氢法处理组的多糖含糖量较高，接着是氯仿-正丁醇法，用活性炭和丙酮-无水乙醇处理组的含糖量相差不大。从颜色观察，过氧

化氢组多糖呈白色除色素效果最好。所以在 4 种方法中应选用过氧化氢法除色素。

3 马齿苋多糖膜分离研究

MST 的关键在于膜型号的选择。分离膜按材质可分无机膜、有机膜。按孔径大小可分为微滤 (≥ 0.01 μm)、超滤 (10~100 nm)、纳滤 (1~10 nm)、反渗透 (≤1 nm)。微滤、超滤同是利用筛分原理以压力差为推动力的膜分离过程。微滤可以有效去除中药提取液中颗粒杂质、絮状沉淀提高药液澄清度。超滤主要用于大分子溶液的净化、浓缩、分级等。实验分别将孔径为 0.8、0.2、0.05 μm 的陶瓷微滤膜同截留相对分子质量 5×10⁴ 中空纤维超滤膜联用，计算马齿苋多糖回收率。

将马齿苋粗多糖配成质量浓度为 0.02 g/mL 多糖水溶液 2 L，压力为 80 kPa 依次过 0.8、0.2、0.05 μm 陶瓷膜、5×10⁴ 中空纤维膜得截留液和渗透液。分别取过膜所得药液 0.5 mL 定容至 10 mL 量瓶中，用紫外分光光度计测定各组药液 A 值。

与过膜前相比，膜分离后溶液中多糖的回收率升高，溶液由黄褐色浑浊变为淡黄色澄清，且随着滤膜孔径的变小，水溶液颜色变淡。马齿苋多糖主要集中在 0.8 μm 渗透液中，随着膜孔径的逐渐减小，多糖质量浓度也随之降低，由此可以得出，马齿苋中的多糖相对分子质量相对来说比较大，分子直径多大于 0.2 μm。结果见表 5。

表 5 各组分药液中多糖的回收率

Table 5 Recovery rate of polysaccharides in each component of medicine

样品	A 值	质量浓度/ (mg·L ⁻¹)	所得药液 量/mL	所得药液中含 糖量/(mg·L ⁻¹)	回收率/ %
0.8 μm 截留液	0.789	120.0	300	2.4	23.07
0.8 μm 渗透液	0.432	60.1	1 600	1.2	61.63
0.2 μm 截留液	0.449	63.0	400	1.3	16.15
0.2 μm 渗透液	0.211	23.0	1 200	0.5	17.69
0.05 μm 截留液	0.189	19.4	360	0.4	4.45
0.05 μm 渗透液	0.154	13.5	850	0.3	7.34
50 000 截留液	0.120	7.8	200	0.2	0.99
50 000 渗透液	0.110	6.1	640	0.1	2.50

4 马齿苋多糖抗氧化活性研究

4.1 清除羟基自由基活性

采用水杨酸法，利用 H₂O₂ 和 FeSO₄ 混合发生 Fenton 反应，生成具有高反应活性的·OH，加入水

杨酸捕捉·OH 并产生有色物质, 该物质在 510 nm 下有最大吸收, 加入抗氧化试剂会与水杨酸竞争减少有色物质的生成, 在 510 nm 处 A 值降低。

在试管中依次加入 6 mmol/L FeSO₄ 溶液 2 mL、不同质量浓度多糖溶液 2 mL, 6 mmol/L H₂O₂ 溶液 2 mL, 摇匀, 静置 10 min, 再加入 6 mmol/L 水杨酸溶液 2 mL, 摇匀, 水浴 37 °C 保温 30 min 后于 510 nm 处测得不同多糖浓度下的 A_i; 用水代替水杨酸时测得本底 A_j, 用水代替抗氧化剂时测得空白对照 A₀, 测得 A₀ = 2.053^[20]。清除率 (S) 按公式计算。

$$S = 1 - (A_i - A_j) / A_0$$

取 2、4、8、12、16、20 mg/mL 6 个质量浓度梯度, 采用水杨酸法测定马齿苋多糖对羟基自由基的清除活性。结果 A_i - A_j 分别为 1.392、1.323、1.256、1.066、0.844、0.911, 清除率分别为 32.20%、35.56%、38.82%、48.08%、58.89%、51.73%。可知马齿苋多糖对·OH 有清除作用, 且清除能力随着多糖质量浓度的增加而增加。说明羟基自由基的清除率与马齿苋多糖质量浓度呈一定的量效关系。当马齿苋质量浓度为 16 mg/mL 时清除率达到 58.89%。

4.2 清除超氧离子自由基活性

邻苯三酚自氧化反应产生超氧阴离子自由基且其自身氧化产物在 322nm 处有紫外吸收。在 pH < 9.0 时, 邻苯三酚自氧化速率与生成的超氧阴离子自由基浓度呈正相关, 故可通过紫外分光光度仪来定量测定抗氧化剂在此体系中对超氧阴离子自由基的清除作用, 间接评价多糖抗氧化能力^[21]。

实验在参考黄敏等^[22]的方法上进行改良。在试管中各加入 2.0 mL pH 8.34 Tris-HCl 缓冲溶液, 分别加入 1.0 mL 不同浓度多糖溶液, 置于 25 °C 水浴保温 20 min, 加入 6 mL 蒸馏水稀释。然后加入 1.0 mL 0.2 mmol/L 邻苯三酚溶液, 震荡均匀倒入比色皿中, 在 322 nm 处每隔 30 s 记录 1 次 A 值, 记录 5 min。根据邻苯三酚自氧化速率计算抑制率。测得 A₁/t = 0.090。

$$\text{抑制率} = (A_1/t - A_2/t) / (A_1/t)$$

A₁/t 为邻苯三酚自氧化反应速率, A₂/t 为加入样品溶液后邻苯三酚自氧化反应速率

取 2、4、8、12、16 mg/mL 5 个质量浓度梯度, 测定马齿苋多糖对超氧离子自由基的清除活性。结果 A₂/t 分别为 0.083、0.084、0.076、0.068、0.055, 清除率分别为 7.78%、6.67%、15.56%、24.44%、38.89%。可知, 马齿苋多糖具有清除超氧离子自由

基的作用, 在多糖质量浓度为 2~16 mg/mL, 随着多糖质量浓度的升高清除率增强, 在此范围中多糖质量浓度与清除率呈良好的量效关系。

5 讨论

马齿苋是药食同源植物, 具有清热解毒、凉血止血等功效。本实验将传统提取分离工艺与膜分离技术相结合, 对马齿苋中主要活性成分马齿苋多糖进行了分离纯化, 并系统考察了马齿苋多糖脱蛋白和脱色素的工艺, 最后对马齿苋多糖体外抗氧化活性进行了研究。结果表明马齿苋多糖水提工艺最佳条件为 100 °C, 3 h, 4 次。在 3 种脱蛋白方法中盐酸法和 Seavage 法粗多糖得率高但存在反应较剧烈、操作较繁琐等缺点。三氯乙酸法脱蛋白操作简单、结果稳定能保证马齿苋多糖的活性, 有利于多糖后续活性研究。在 4 种脱色素方法比较中, 过氧化氢法得到白色多糖粉末且含糖量最高。

传统的水提醇沉制备工艺能耗高、乙醇消耗量大、生产周期长, 提取液中鞣质、淀粉、树脂和蛋白质不易除尽^[23]。一定孔径的微滤超滤膜可以代替水提醇沉工艺去除这些杂质, 提高药液澄清度及有效成分的量, 有效除去多糖水溶液中蛋白及色素, 且可根据多糖相对分子质量的大小进行逐级分离。范远景等^[24]将枸杞多糖浸提液经微滤处理, 和离心处理相比可去掉浸提液中 37.95% 的蛋白, 且避免了多糖这种热敏性物质在操作中的损失。冯雪^[14]将微滤超滤膜联用制得红松松塔多糖产物, 超滤后多糖量由超滤前的 7.20% 提高到 44.70%。孙瑜等^[25]采用 MST 纯化大黄多糖, 多糖浓度提高 2.73 倍。马利华等^[26]采用 MST 纯化牛蒡多糖, 得到产物质量分数达 73.27%。选用截留相对分子质量 2 × 10⁵ 的超滤膜处理当归多糖, 与单纯醇提工艺比较, 总提取物由 14.8 g 下降到 7.81 g, 多糖纯度由 30.47% 提高到 65.42%^[27]。

综上所述, 相比于传统工艺, MST 在多糖的分离纯化中具有独特的优势。与用化学法纯化马齿苋多糖相比, MST 是典型的物理分离过程, 不添加化学试剂及其他物质, 保证多糖不受污染, 无化学试剂残留, 仪器设备简单可室温操作^[28], 在运作过程中无变相、无化学反应可在最大程度上保留多糖活性。根据实验要求可按不同相对分子质量范围对马齿苋多糖进行精制, 提高马齿苋多糖纯度, 为后期研究不同相对分子质量范围多糖性质提供基础。但膜分离过程中多糖损失大、膜组件和膜清洗繁琐等

问题需要进一步优化。马齿苋粗多糖具有清除羟基自由基、超氧离子自由基的作用,且清除率与马齿苋多糖质量浓度呈一定的量效关系,相比较马齿苋多糖对羟基自由基有更好的清除作用。植物多糖作为天然抗氧化剂,由于安全、无毒等优点引起人们的关注^[29],在多糖提取、纯化过程中,寻找一种高效且能最大程度保护多糖活性的方法还有待进一步研究。

参考文献

[1] 钟赣生. 中药学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012.
 [2] 鲁德全. 中国马齿苋属的药用植物 [J]. 中草药, 1994, 25(6): 315-316.
 [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
 [4] Erkan N. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleacea* L. [J]. *Food Chem*, 2012, 133(3): 775-781.
 [5] 周春丽, 苏 虎, 王德解, 等. 马齿苋有效成分的提取及定量分析 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1933-1934.
 [6] 解思友, 逢美芳, 孙 艳, 等. 马齿苋的化学成分与药理作用最新研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(3): 212-215.
 [7] 冯津津. 马齿苋的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 云南中医中药杂志, 2013, 34(7): 66-68.
 [8] 郑智音, 贾晓斌, 舒 变, 等. 鲜马齿苋多糖、生物碱和多酚类组分的制备及其降血糖活性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(18): 2673-2677.
 [9] 王绍堃, 孙 晖, 王喜军. 膜分离技术及其在中药提取分离中的应用 [J]. 世界中西医结合杂志, 2011, 6(12): 1093-1096.
 [10] 宋忠兴, 唐志书, 刘红波, 等. 决明子水提液微滤过程中膜通量和膜污染阻力的影响因素研究 [J]. 中草药, 2015, 46(12): 1774-1778.
 [11] 李存玉, 马 贇, 陈 涛, 等. 一种适用于制药行业中快速评价超滤膜孔径的方法 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1603-1608.
 [12] 武 婧, 唐志书, 宋忠兴, 等. 山茱萸水提液超滤工艺优化研究 [J]. 中草药, 2015, 46(22): 3338-3343.
 [13] 伍利华, 黄 英, 刘 婷, 等. 陶瓷膜分离技术应用于

中药口服液的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(2): 184-187.
 [14] 冯 雪. 红松塔多糖膜分离制备工艺及其活性研究 [D]. 青岛: 青岛科技大学, 2013.
 [15] 叶 红, 周春宏, 曾晓雄, 等. 马尾藻多糖的膜分离纯化 [J]. 湖北农业科学, 2011, 50(2): 375-377.
 [16] 谢红旗, 周春山, 杜邵龙, 等. 酶法提取、超滤分离香菇多糖新工艺研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(4): 217-219.
 [17] 周家荣, 田允波, 候 轩. 超滤膜分离白术多糖及其抗氧化活性研究 [J]. 西南大学学报: 自然版, 2009, 31(4): 79-81.
 [18] 张喜峰, 鲁丽文, 张丽娟, 等. 无机陶瓷膜分离沙枣多糖的研究 [J]. 北京联合大学学报, 2014, 28(3): 33-37.
 [19] 王文正, 吕建国, 何葆华. 超滤在多糖中的应用研究 [J]. 化学与生物工程, 2011, 28(5): 81-83.
 [20] 朱晓宦, 吴向阳, 榴 青, 等. 马齿苋粗多糖的提取及清除羟自由基活性作用 [J]. 江苏大学学报: 医学版, 2007, 17(1): 57-60.
 [21] 韩少华, 朱婧博, 王妍妍. 邻苯三酚自氧化法测定抗氧化活性的方法研究 [J]. 中国酿造, 2009, 207(6): 155-156.
 [22] 黄 敏, 廖春燕. 鸡骨草总黄酮的超声波提取工艺及抗氧化活性研究 [J]. 湖北农业科学, 2015, 54(14): 3502-3505.
 [23] 郭立玮. 中药制药工业对膜科学技术的重大需求与关键问题 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 1849-1855.
 [24] 范远景, 余芳芳, 张 平, 等. 超滤法分离枸杞多糖的工艺研究 [J]. 安徽农业科学, 2011, 399(22): 13400-13403.
 [25] 孙 瑜, 周永传, 陈德熙. 超滤法纯化大黄多糖的研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(2): 165-168.
 [26] 马利华, 秦卫东, 陈学红, 等. 膜技术分离纯化牛蒡多糖的研究 [J]. 食品工业科技, 2009, 30(1): 231-233.
 [27] 樊 秦, 李应东, 赵文君, 等. 超滤膜纯化当归多糖的研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(8): 54-55.
 [28] 徐龙泉, 彭黔荣, 杨 敏. 膜分离技术在中药生产及研究中的进展 [J]. 中成药, 2013, 35(9): 1991-1992.
 [29] 李粉玲, 蔡汉权, 林泽平. 红豆多糖抗氧化性及还原能力的研究 [J]. 食品工业, 2014, 35(2): 190-194.