

巴戟天药渣中多糖的提取工艺研究

曾小倩, 张二妹, 潘葵友, 杨晓红, 陈华晓, 邵美云, 张华林

(湛江师范学院化学科学与技术学院, 广东湛江 524048)

摘要: 巴戟天废弃药渣含有丰富的多糖, 故此研究巴戟天药渣中多糖热水提取的最佳工艺条件, 为巴戟天废弃药渣的综合利用提供依据。以多糖得率为指标, 通过单因素实验研究 4 个因素: 提取温度、提取时间、料液比、提取次数对巴戟天药渣中多糖提取效率的影响。在单因素实验的基础上, 通过正交试验对巴戟天热水提取工艺条件进行优化。结果表明, 提取温度及提取次数是影响巴戟天多糖提取效率的关键因素, 料液比及提取时间是次要因素。最佳工艺条件为: 巴戟天药渣在 100 °C 水浴中用 7 倍量的蒸馏水提取 2 次, 每次 1 h, 在此条件下, 巴戟天多糖的得率为 15.67%。该工艺条件可重复, 多糖得率较高。

关键词: 巴戟天; 药渣; 多糖; 提取

文章编号: 1673-9078(2013)5-1096-1099

Extraction of Polysaccharides from *Morinda officinalis* How Residue

ZENG Xiao-qian, ZHANG Er-mei, PAN Kui-you, YANG Xiao-hong, CHEN Hua-xiao, SHAO Mei-yun, ZHANG Hua-lin

(Chemistry Science and Technology School, Zhanjiang Normal University, Zhanjiang 524048, China)

Abstract: In order to utilize the discarded residue, the extraction conditions for polysaccharides in the discarded residue of *Morinda officinalis* How were investigated. With the yield of polysaccharides as index, the effects of several factors such as temperature, time, ratio of solid to liquid and times on the extraction of polysaccharides from *M. officinalis* residue were investigated using single factor analysis. On the base of the single factor analysis, the optimal the extraction conditions were obtained by orthogonal analysis. The results showed that temperature and times were the major factors which affecting the extraction of polysaccharides, time and ratio of solid to liquid were the secondary ones. The best conditions for extraction were: distilled water extraction time 1 h, temperature 100 °C, ratio of solid to liquid 1:7 (m/V), and extracting times 2. Under these conditions, the yield of *M. officinalis* polysaccharides was 15.67%. The process was reproducible with high yield of polysaccharides.

Key words: *Morinda officinalis* how; residues; polysaccharides; extraction

巴戟天系茜草科巴戟属多年生攀援木质藤本植物巴戟天 *Morinda officinalis* How 的干燥根, 为著名的“四大南药”之一, 具有补肾阳、强筋骨、祛风湿之功效^[1]。此外巴戟天可以用来熬汤、炖肉, 作为药膳进补, 是药食同源的高级滋补品。巴戟天多糖是巴戟天重要的活性物质, 具有促进成骨细胞增殖, 缓解骨质疏松, 增强免疫, 抗疲劳等药理作用^[2-7]。然而目前巴戟天多糖的研究、开发、利用还没有获得足够重视。一些传统的巴戟天制剂, 例如巴戟补酒, 药材采用米酒室温静态浸泡, 过滤后药渣被废弃(卫生部颁标准

收稿日期: 2013-03-02

基金项目: 湛江市财政资金科技专项竞争性分配项目(湛科[2010]174号); 湛江师范学院博士专项项目(ZL1008); 广东省大学生创新创业训练计划项目(1057912006)

作者简介: 曾小倩(1988-), 女, 在读本科生

通讯作者: 张华林(1979-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 天然产物的有效成分

WS3-B-3149-98), 在此工艺条件下作为大分子水溶性成份的巴戟天多糖基本不能够被浸提出来, 巴戟天多糖没有得到合理的利用, 造成巨大的资源浪费。本文以巴戟补酒制剂废弃的巴戟天药渣为原料, 采用单因素实验及正交试验, 优化巴戟天多糖的热水提取工艺, 为巴戟天多糖的开发和利用提供理论及实验依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

巴戟天药渣收集于广东省肇庆市德庆县药酒厂废弃药渣。无水葡萄糖购自广州新成化工厂, 浓硫酸、苯酚、磷酸购自广州化学试剂厂, 试剂均为分析纯。Gold S53 紫外可见分光光度计, 上海棱光; BS124S 型电子天平, 北京赛多利斯; HH-ZK₄ 型四孔智能水浴锅, 巩义市予华仪器有限责任公司; RE-5299 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 多糖得率测定和计算

多糖得率=多糖量/药渣量×100%，其中多糖量以硫酸-苯酚法测定^[8]。

1.2.1.1 溶液配制

对照品溶液：精密称取 105 °C 干燥至恒重的葡萄糖 20 mg，加蒸馏水制成浓度为 0.2 mg/mL 的溶液，即得对照品溶液储备液。逐步稀释，配制系列浓度对照品溶液。

供试品溶液：称取巴戟天多糖提取液适量于 100 mL 容量瓶中，加蒸馏水定容至刻度，摇匀，即得供试品溶液。

苯酚试剂：称取苯酚 6 g，加蒸馏水制成 6% 的溶液，即得苯酚试剂。

1.2.1.2 检测波长的选择

取对照品溶液与供试品溶液各 1 mL 分别置 20 mL 具塞试管内，加入苯酚试剂 1 mL，混匀，迅速加入浓硫酸 5 mL，混匀后静置 15 min，置沸水浴加热 15 min，放冷至室温。置于紫外可见分光光度计在 200~600 nm 处扫描，观察最大吸收峰。

1.2.1.3 标准曲线的制作

取系列浓度对照品溶液 (0.01、0.02、0.04、0.10、0.20 mg/mL) 各 1 mL，按“检测波长的选择”项下操作显色，在“检测波长的选择”确定的检测波长下测定吸收度值。以浓度 (mg/mL) 为横坐标，吸收度值为纵坐标，制作标准曲线。

1.2.1.4 回收率试验

取已知含量供试品溶液 6 份，分别精密加入一定量葡萄糖对照品溶液，按“检测波长的选择”项下操作显色，测定吸收度值，计算加样回收率 (%)。

1.2.2 巴戟天多糖的提取工艺优化

取巴戟天药渣 50 g，加入蒸馏水适量进行热水提取。以多糖得率为指标，采用单因素实验及正交试验，对提取温度、提取时间、提取次数、料液比等关键工艺参数进行考察，确定最佳的提取工艺。

2 结果与讨论

2.1 多糖得率测定和计算

2.1.1 检测波长的确定

用紫外可见分光光度计在 200~600 nm 处扫描，结果见图 1。对照品溶液及供试品溶液在 490 nm 处有最大吸收，而且在该波长处，供试品溶液的背景颜色没有明显吸收峰出现，对测定没有干扰，故此选择 490 nm 为检测波长。

2.1.2 标准曲线

多糖浓度 (mg/mL) 为横坐标，吸收度值为纵坐

标所得到的回归方程为 $Y=6.159X+0.0726$ ， R^2 为 0.9996，线性范围为 0.01~0.20 mg/mL。

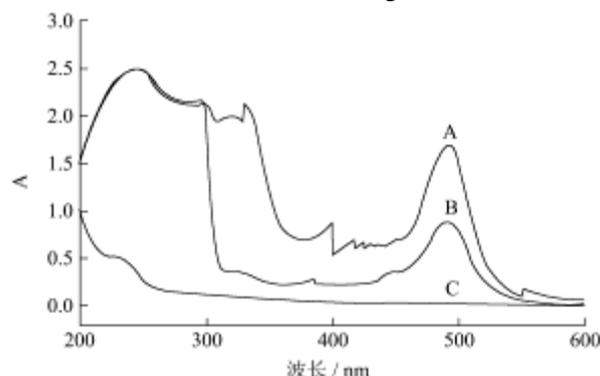


图 1 巴戟天多糖溶液全波长扫描曲线

Fig.1 The scanning curve of polysaccharides solution from *Morinda officinalis* How by whole wave band

注：对照品溶液 (A)，供试品溶液 (B)，未显色供试品溶液 (C)。

2.1.3 回收率实验

加样回收率实验共测定六份样品，结果见表 1。平均回收率为 101.34%，RSD 值为 2.64%，表明该方法回收率良好，采用硫酸-苯酚法测定提取物中多糖的含量切实可行。

表 1 多糖含量测定加样回收率实验结果

Table 1 Results of recoveries for determination of polysaccharides

序号	样品中 含量/mg	加入 量/mg	测定 量/mg	回收 率/%	Average	Std.	RSD/%
1	1.24	1.05	2.32	102.42	101.35	2.68	2.65
2	1.24	1.05	2.28	99.19			
3	1.24	1.05	2.30	100.81			
4	1.24	1.05	2.26	97.58			
5	1.24	1.05	2.33	103.23			
6	1.24	1.05	2.35	104.84			

2.2 单因素考察

2.2.1 温度对多糖得率的影响

固定提取时间、提取次数、料液比，以提取温度对巴戟天多糖得率做单因素实验。称取干燥药渣 50 g 共 5 份，加入 300 mL 蒸馏水，分别在 60、70、80、90、100 °C 的水浴温度下提取 2 h。过滤，用减压旋转蒸发仪 50 °C 浓缩，定容至 50 mL，取样适当稀释后测定、计算多糖得率，结果见图 2。

考虑到高温提取可能会对多糖有破坏，使多糖氧化或者可能导致多糖活性降低，故采用水浴加热提取。水浴提取温度不同，直接影响多糖的提取得率。从提取效果图看出，随着提取温度的升高，多糖得率升高，当水浴温度达到 100 °C 时，多糖得率达到最大，为

15.77%。提取温度是影响多糖得率的重要因素，故选择提取温度 60、80、100 °C 为实验水平做正交试验。

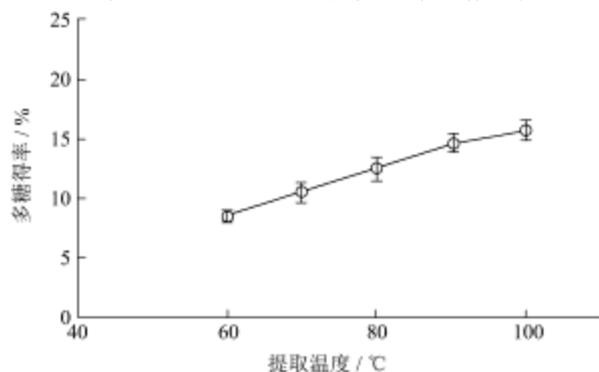


图 2 温度对多糖提取的影响

Fig.2 Effect of temperature on the extraction of polysaccharides

2.2.2 提取时间对多糖得率的影响

固定提取温度、提取次数、料液比，以提取时间对巴戟天多糖得率做单因素实验。称取干燥药渣 50 g 共 5 份，加入 300 mL 蒸馏水，在 100 °C 的水浴温度下，分别提取 0.5、1、2、3、4 h。过滤，用减压旋转蒸发仪 50 °C 浓缩，定容至 50 mL，取样适当稀释后测定、计算多糖得率，结果见图 3。

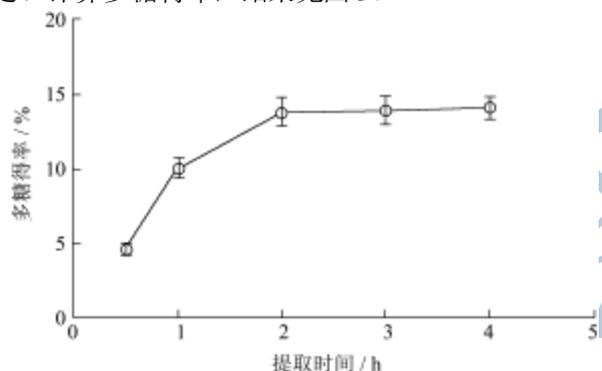


图 3 时间对多糖提取的影响

Fig.3 Effect of time on the extraction of polysaccharides

提取时间从 0.5 h 增加至 2 h 时，多糖得率增加明显，由 4.56% 提高到 13.88%。继续延长提取时间至 4 h，多糖得率没有明显的增加，表明提取 2 h 和提取 4 h 没有明显差别。故此，选择提取时间 0.5、1、2 h 为实验水平做正交试验。

2.2.3 提取次数对多糖得率的影响

固定提取温度、提取时间、料液比，以提取次数对巴戟天多糖得率做单因素实验。称取干燥药渣 50 g 共 4 份，加入 300 mL 蒸馏水，在 100 °C 的水浴温度下，分别提取 1、2、3、4 次，每次 2 h。过滤，用减压旋转蒸发仪 50 °C 浓缩，定容至 50 mL，取样适当稀释后测定、计算多糖得率，结果见图 4。

提取 1、2、3 次，多糖得率显著增加，从 4.54% 增加到 13.24%，提取 4 次，多糖的得率为 13.56%，

与提取 3 次比较变化不大，表明提取 3 次已经能将多糖提取出来。故此，选择提取次数为 1、2、3 作为实验水平做正交试验。

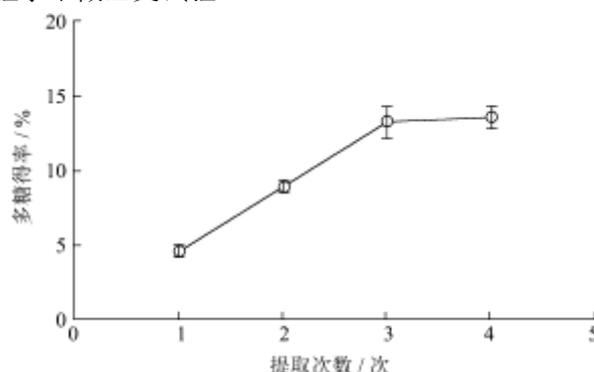


图 4 提取次数对多糖提取的影响

Fig.4 Effect of frequency on the extraction of polysaccharides

2.2.4 料液比对多糖得率的影响

固定提取温度、提取时间、提取次数，以料液比对巴戟天多糖得率做单因素实验。称取干燥药渣 50 g 共 5 份，在 100 °C 的水浴温度下，分别按料液比 1:5、1:6、1:7、1:8、1:9 (m/v) 加入蒸馏水进行提取，提取时间为 2 h，提取 1 次。过滤，用减压旋转蒸发仪 50 °C 浓缩，定容至 50 mL，取样适当稀释后测定、计算多糖得率，结果见图 5。

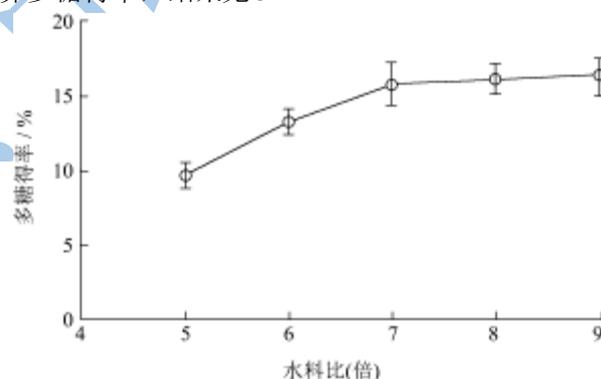


图 5 料液比对多糖得率的影响

Fig.5 Effect of l ratio of solid to liquid on the extraction of polysaccharides

用 5 至 7 倍量溶剂时，多糖的得率从 9.63% 增加到 15.78%，增加到 9 倍量溶剂时多糖的得率为 16.23%，几乎没有增加。故此，选择料液比为 1:5、1:6、1:7 作为实验水平做正交试验。

2.3 正交试验

2.3.1 正交试验结果

根据单因素实验结果，设定正交试验的因素水平表（表 2），进行正交试验，结果见表 3~4。结果表明，影响多糖提取效果的各个因素的主次顺序依次为：A>D>C>B，即提取温度>提取次数>料液比>提取时间。以 B 因素为误差进行方差分析，因素 A、D 对多

糖得率有显著性影响,因素 B、C 没有显著性。故此,四个因素中,提取温度及提取次数是关键因素,料液比及提取时间是次要因素。根据直观分析结果,最佳的热热水提取工艺为: A₃B₂C₃D₂, 即药渣在 100 °C 水浴下用 7 倍量的蒸馏水提取 2 次, 每次 1 h。

表 2 正交实验因素水平表

Table 2 Factors and levels of orthogonal test

水平	A (温度 /°C)	B (时间 /h)	C (料液比/倍)	D (次数/次)
1	60	0.5	5	1
2	80	1	6	2
3	100	2	7	3

表 3 热水提取工艺正交实验结果

Table 3 Results of orthogonal test

水平	A	B	C	D	多糖得率%
1	1	1	1	1	6.62
2	1	2	2	2	8.95
3	1	3	3	3	8.73
4	2	1	2	3	11.87
5	2	2	3	1	10.89
6	2	3	1	2	11.24
7	3	1	3	2	14.81
8	3	2	1	3	13.84
9	3	3	2	1	12.89
K ₁	8.1	11.1	10.567	10.133	
K ₂	11.333	11.227	11.237	11.667	
K ₃	13.847	10.953	11.477	11.48	
R	5.747	0.274	0.91	1.534	

表 4 正交实验方差分析

Table 4 The table of variance analysis of orthogonal experiment

因素	偏差平方和	自由度	F 比值	显著性 P
温度	49.795	2	444.598	<0.05
时间(误差)	0.112	2	1.000	>0.05
料液比	1.335	2	11.920	>0.05
次数	4.199	2	37.491	<0.05
误差	0.11	2		

2.3.2 验证实验

表 5 重复实验结果

Table 5 Results of reduplicate tests

实验次数	多糖得率%	Average	Std	RSD/%
1	16.34			
2	15.56	15.67	0.70	3.94
3	15.12			

三次重复实验, 多糖得率的平均值为 15.67%,

RSD 为 3.94%, 表明该工艺可重复, 多糖得率较高。

3 结论

确定最佳的巴戟天多糖提取工艺为: 药渣用 7 倍量的蒸馏水在 100 °C 水浴下提取 2 次, 每次 1 h。巴戟天含有丰富的多糖, 文献报导不同产地的巴戟天药材多糖含量有所不同, 其中以粤西道地产区的为最高, 以药材量计算, 可以高达 22.87%^[7,9]。本实验表明经过白酒浸泡后的巴戟天药渣经过热水提取, 还含有高达 15% 以上的多糖, 提示可以从药厂废弃药渣中提取巴戟天多糖, 变废为宝, 综合利用好巴戟天药材的有效成份, 产生新的经济效益, 同时降低药厂废渣处理的成本, 也符合国家节能减排的政策。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2010
- [2] Zhu MengYong, Wang CaiJiao, Wang Xi, et al. Extraction of polysaccharides from *Morinda officinalis* by response surface methodology and effect of the polysaccharides on bone-related genes [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(1): 23-28
- [3] Wang ZongBao, Lu QingYou, Lu HaiYan, et al. Protective effect of *Morinda officinalis* polysaccharides on bone degeneration in the aged rats [J]. International Journal of the Physical Sciences, 2011, 6(1): 112-115
- [4] Zhu MengYong, Wang CaiJiaob, Zhang HuSheng, et al. Protective effect of polysaccharides from morinda officinalis on bone loss in ovariectomized rats [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2008, 43(3): 276-278
- [5] 李楠,王和鸣,郭素华,等.巴戟天多糖含药血清对体外培养成骨细胞凋亡的保护作用观察[J].中国骨伤,2008,21(1): 39-41
- [6] 黄涛,李楠,王和鸣.巴戟天多糖对体外培养兔软骨细胞增殖的影响[J].北京体育大学学报,2007,30(9):1216-1218
- [7] Hua-lin Zhang, Jun Li, George Li, et al. Structural characterization and anti-fatigue activity of polysaccharides from the roots of *Morinda officinalis* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2009, 44(3): 257-261
- [8] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28: 350-356
- [9] 陈红红,黄丽玫.德庆等地巴戟天中蒽醌及多糖的含量测定 [J].广东药学院学报,2002,18(2):103-105