

- [5] 张玉萱, 徐玲玲, 年 华. HPLC法测定毓麟原方中甘草酸和淫羊藿苷的含量[J]. 药学与临床研究, 2009, 17(2): 157-159.
- [6] 杜丽娜, 王 超, 王 芳, 等. 三七总皂苷与淫羊藿总黄酮联合对自然衰老大鼠睾丸生殖功能衰退的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(9): 31-34.
- [7] 徐彩生, 罗丽莉, 曾如辉, 等. 淫羊藿总黄酮对多囊卵巢综合征大鼠性激素水平的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2013, 38(2): 147-150.
- [8] 张 磊, 王 岚, 吴 瑕, 等. 淫羊藿总黄酮对不同性别大鼠性器官及相关激素的影响[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(1): 31-33.
- [9] 王 静, 张贵林, 任光友. 朝藿定 C 与淫羊藿苷对去卵巢小鼠子宫的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 28(3): 193-195.
- [10] 王大伟, 邓秀兰, 牛建昭, 等. 淫羊藿及淫羊藿苷在小鼠体内雌激素样作用的实验研究[J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(3): 164-166.
- [11] 张玉萱, 徐玲玲. 毓麟原方对肾阳虚型排卵障碍大鼠卵巢功能的影响研究[J]. 中国药师, 2017, 20(4): 621-623.
- [12] 张玉萱, 徐玲玲, 朱全刚. 毓麟原方及其拆方对大鼠卵巢颗粒细胞增殖与分泌的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(3): 855-857.
- [13] 张玉萱, 徐玲玲. 毓麟原方对自体移植复制子宫内膜异位症大鼠血浆神经内啡肽的影响[J]. 中国药师, 2013, 16(4): 501-503.
- [14] 李新液, 张玉萱, 徐玲玲, 等. 毓麟原方对自体移植复制子宫内膜异位症大鼠血清孕酮和雌二醇的影响[J]. 药学与临床研究, 2009, 17(2): 109-111.
- [15] 徐 赫, 李荣华, 夏岩石, 等. 黄酮类化合物提取、分离纯化方法研究现状及展望[J]. 应用化工, 2021, 50(6): 1677-1682.
- [16] 杨 茹, 刘聪燕, 许 婷, 等. 5种大孔吸附树脂对淫羊藿总黄酮的吸附特性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 113-120.
- [17] 李冬梅, 尹晓飞, 蔡大伟. AB-8大孔吸附树脂分离纯化淫羊藿中总黄酮的研究[J]. 中国药师, 2006, 9(12): 1109-1111.
- [18] 李 杰, 臧 晋, 罗建成, 等. AB-8大孔树脂对甘草黄酮动态吸附条件的研究[J]. 食品工业, 2013, 34(5): 136-138.
- [19] 兰 海, 刘欣妍, 余 玲, 等. 大孔树脂纯化淫羊藿中朝藿定与淫羊藿苷工艺研究[J]. 中草药, 2020, 51(17): 4473-4481.
- [20] 张 燕. 大孔吸附树脂分离纯化淫羊藿 EF5 黄酮[J]. 北方药学, 2015, 12(11): 11-13.

## 金蝉花多糖树脂法脱色、脱蛋白工艺优化及其抗氧化活性研究

杜 敏<sup>1</sup>, 曾子叶<sup>1</sup>, 颜书柳<sup>2</sup>, 林 烁<sup>1</sup>, 曾淑芳<sup>1</sup>, 苏颖文<sup>1</sup>, 张华林<sup>1\*</sup>

(1. 岭南师范学院化学化工学院, 广东 湛江 524048; 2. 湛江中医学校, 广东 湛江 524094)

**摘要:** 目的 优化金蝉花多糖树脂法脱色、脱蛋白工艺, 并考察其抗氧化活性。方法 以脱色率、脱蛋白率、多糖保留率为评价指标, 静态单因素试验优化脱色时间、脱色温度、pH 值、树脂用量, 筛选树脂类型, 动态单因素试验优化上样体积流量、上样体积、金蝉花用量。再考察多糖对 DPPH·、OH· 的清除能力, O<sub>2</sub><sup>-</sup>· 的抑制能力、Fe<sup>2+</sup> 的螯合能力。结果 D301 树脂效果最好, 最佳静态工艺为脱色时间 3 h, 脱色温度 30 ℃, pH 值 5, 树脂用量 3 g, 脱色率、脱蛋白率、多糖保留率分别为 81.74%、69.05%、82.06%; 最佳动态工艺为上样体积流量 3 BV/h, 上样体积 2 BV, 金蝉花用量 2.0 g。DPPH· 清除率、OH· 清除率、O<sub>2</sub><sup>-</sup>· 抑制率、Fe<sup>2+</sup> 螯合率分别为 87.42%、88.93%、68.62%、95.72%。结论 D301 树脂具有良好的脱色、脱蛋白能力, 而且不影响金蝉花多糖抗氧化活性。

**关键词:** 金蝉花; 多糖; 树脂; 脱色工艺; 脱蛋白工艺; 抗氧化活性; 单因素试验

**中图分类号:** R284.2

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2024)12-4116-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.035

金蝉花 *Cordyceps cicadae* 又名蝉花、蝉蛹草、蝉茸等, 是我国古老而名贵的药食两用真菌, 与同为虫草家族的冬虫夏草、北虫草并称为三大药用虫草, 含有腺苷、核苷、

过氧化麦角固醇、虫草素、虫草酸、麦角甾醇、多糖等与冬虫夏草类似的成分<sup>[1]</sup>, 具有护肝、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老、降血糖等作用<sup>[2-7]</sup>, 有望作为冬虫夏草平价替代品。

收稿日期: 2024-01-25

基金项目: 广东省科技计划项目 (2016A03007037)

作者简介: 杜 敏 (1998—), 女, 研究方向为天然产物开发。Tel: (0759) 3182455, E-mail: 1767599088@qq.com

\* 通信作者: 张华林 (1979—), 男, 博士, 教授, 研究方向为天然产物开发。Tel: (0759) 3182455, E-mail: zhanghualin303@163.com

金蝉花多糖是重要活性物质,但粗品往往杂有蛋白、核酸、酚类等有色物质,对其分离、精制带来许多困扰。传统的多糖脱色、脱蛋白方法主要有活性炭法、酶解法、Sevag法、三氯乙酸法等,但Sevag法和三氯乙酸法所用试剂毒性较大<sup>[8]</sup>,酶法成本较高且易被破坏<sup>[9]</sup>,活性炭存在脱色时间长、多糖损失严重的问题<sup>[10]</sup>。近年来研究表明,大孔树脂具有良好的脱色、脱蛋白效果<sup>[11-14]</sup>,而且价格低廉,操作简单,处理量大,节省时间,在多糖分离纯化中逐渐被应用。

目前,关于金蝉花多糖树脂法脱色、脱蛋白工艺的报道较少。因此,本实验采用静态、动态单因素试验优化金蝉花多糖树脂法脱色、脱蛋白工艺,并考察其抗氧化活性,以期对相关健康产品开发提供依据。

## 1 材料

牛血清白蛋白(美国Genview公司,批号88030102100);无水葡萄糖对照品(北京华工科创生物技术有限公司,批号110833-201707);考马斯亮蓝(国药集团化学试剂有限公司,批号20200125);1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH)、邻二氮菲试剂、磷酸盐缓冲溶液、维生素C、EDTA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、Tris-HCl缓冲液、邻苯三酚、硫酸亚铁、氯化亚铁、菲罗嗪[阿拉丁试剂(上海)有限公司]。D301大孔树脂(廊坊瑞犀助剂有限公司)。浓硫酸、苯酚、95%乙醇、无水乙醇(广州化学试剂厂)。

GoldS53紫外可见分光光度计(上海精科实业有限公司);GWA-UP2-F超纯水器(北京普析通用仪器有限责任公司);AY120电子天平(日本岛津公司);智能水浴锅(常州国华电器有限公司);RE-5299旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);SHZ-DⅢ循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);调速多用振荡器(江苏金坛市恒丰仪器制造有限公司)。

金蝉花于2020年9月3日购自浙江泛亚生物医药股份有限公司,经岭南师范学院张华林教授鉴定为麦角菌科虫草属真菌寄生在幼蝉虫体内形成的干燥复合体。

## 2 方法

2.1 粗多糖制备 将金蝉花子实体剪碎,加入适量95%乙醇,80℃水浴回流提取1h,抽滤,药渣烘干。取适量药渣,按料液比1:55加入蒸馏水,80℃水浴回流提取2次,每次2h,抽滤,滤液浓缩,加入5倍量95%乙醇,静置12h,收集沉淀物,即得。

2.2 多糖保留率测定 采用苯酚-硫酸法。

2.2.1 检测波长选择 取葡萄糖对照品、多糖溶液各1mL,置于20mL具塞试管中,加入1mL5%苯酚试剂,混匀,沿壁加入5mL浓硫酸,混匀,静置10min后沸水中加热20min,冷却至室温,在180~600nm波长处测定。结果,2种溶液在486nm波长处均有最大吸收,而且未显色时后者的背景颜色无明显吸收峰干扰,故确定检测波长为486nm<sup>[15]</sup>。

2.2.2 测定方法 分别取10、20、30、40、50、60μg/mL

葡萄糖对照品溶液适量,显色后测定吸光度。以葡萄糖质量浓度为横坐标(*X*),吸光度为纵坐标(*A*)进行回归,公式为多糖保留率=(处理后金蝉花多糖含量/处理前金蝉花多糖含量)×100%<sup>[15]</sup>。

2.3 脱色率测定

2.3.1 检测波长选择 取脱色前后多糖溶液各0.1mL,置于10mL量瓶中,蒸馏水定容至刻度,在180~600nm波长处测定吸光度*A*。结果,多糖溶液在190nm波长处有最大吸收,而且吸光度有明显变化,故确定检测波长为190nm<sup>[16]</sup>。

2.3.2 测定方法 公式为脱色率=[(*A*<sub>脱色前</sub>-*A*<sub>脱色后</sub>)/*A*<sub>脱色前</sub>]×100%<sup>[16]</sup>。

2.4 脱蛋白率测定 采用考马斯亮蓝法。

2.4.1 检测波长选择 取牛血清白蛋白对照品溶液、多糖溶液各1mL,加入5mL0.2mg/mL考马斯亮蓝溶液混匀,静置30min后在180~800nm波长处测定吸光度。结果,2种溶液在592nm波长处均有最大吸收,故确定检测波长为592nm<sup>[17]</sup>。

2.4.2 测定方法 分别取10、20、30、40、50、60、70μg/mL牛血清白蛋白对照品溶液适量,显色后测定吸光度。以牛血清白蛋白质量浓度为横坐标(*X*),吸光度为纵坐标(*A*)进行回归,公式为脱蛋白率=[(处理前蛋白含量-处理后蛋白含量)/处理前蛋白含量]×100%<sup>[17]</sup>。

2.5 单因素试验

2.5.1 静态 以脱色率、脱蛋白率、多糖保留率为评价指标,优化脱色时间、脱色温度、pH值、树脂用量,筛选树脂,并计算综合评分,公式为综合评分=平均脱色率×100×30%+平均脱蛋白率×100×30%+平均多糖保留率×100×40%。

2.5.2 动态 以脱色率、脱蛋白率、多糖保留率为评价指标,优化上样体积流量、上样体积、金蝉花用量,按“2.5.1”项下方法计算综合评分。

2.6 抗氧化活性研究

2.6.1 DPPH·清除能力 取11根试管,1号试管为空白对照试管,加入无水乙醇、DPPH溶液(0.1mmol/L)各2mL,采用紫外分光光度计于517nm波长处测吸光度*A*<sub>0</sub>;2~6号试管加入0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mg/mL多糖溶液及DPPH溶液各2mL,反应0.5h后同法测定吸光度*A*<sub>1</sub>;7~11号试管用无水乙醇代替DPPH溶液,同法测定吸光度*A*<sub>1</sub>,以维生素C为阳性对照,计算DPPH自由基清除率,公式为清除率={ [1-(*A*<sub>1</sub>-*A*<sub>1</sub>)] / *A*<sub>0</sub> } ×100%<sup>[18]</sup>。

2.6.2 OH·清除能力 采用邻二氮菲比色法,多糖溶液质量浓度分别为0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mg/mL,以维生素C为阳性对照<sup>[19]</sup>。损伤管:取0.5mL邻二氮菲无水乙醇溶液(0.75mmol/L),加入1mL磷酸盐缓冲液(0.15mmol/L,pH=7.4)和0.5mL超纯水,混匀后加入0.5mLFeSO<sub>4</sub>溶液(0.75mmol/L)、0.5mL0.01%双氧水,37℃水浴反应1h,在536nm波长处测定吸光度*A*<sub>损</sub>;未损伤

管：以 0.5 mL 超纯水代替 0.01% 双氧水，同法测定吸光度  $A_{未损}$ ；样品管：以 0.5 mL 多糖溶液代替超纯水，同法测定吸光度  $A_{样}$ ；空白对照：将 1 mL 磷酸盐缓冲液与 2 mL 超纯水混合，同法测定吸光度  $A_{空}$ ；样品对照：将 1 mL 磷酸盐缓冲液与 0.5 mL 多糖溶液混合，再加 1.5 mL 超纯水，同法测定吸光度  $A_{参}$ ，计算 OH· 自由基清除率，公式为清除率 =  $\{ [(A_{样} - A_{参}) - (A_{损} - A_{空})] / (A_{未损} - A_{损}) \} \times 100\%$ 。

2.6.3 O<sub>2</sub><sup>-</sup>· 抑制能力 取 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液 4.5 mL，25 ℃ 水浴预热 25 min，加入 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL 多糖溶液各 1 mL 及 0.5 mmol/L 邻苯三酚溶液 0.4 mL，混匀后 25 ℃ 水浴 4 min，加入 8 mol/L HCl 溶液 2 滴终止反应，在 320 nm 波长处测定吸光度；以相同体积的超纯水为空白对照，维生素 C 为阳性对照，同法测定吸光度，计算 O<sub>2</sub><sup>-</sup>· 清除率，公式为清除率 =  $[(A_0 - A_i) / A_0] \times 100\%$ ，其中  $A_0$ 、 $A_i$  分别为未加入、加入多糖溶液的吸光度<sup>[20]</sup>。

2.6.4 Fe<sup>2+</sup> 螯合能力 取 2、4、6、8、10 mg/mL 多糖溶液各 1 mL，加入 3.7 mL 55% 乙醇、0.1 mL 氯化亚铁溶液

(2 mmol/L)、0.2 mL 菲啰啉溶液 (5 mmol/L)，混匀，静置反应 20 min，在 562 nm 波长处测定吸光度，以 55% 乙醇为空白对照，EDTA 为阳性对照，计算 Fe<sup>2+</sup> 螯合率，公式为螯合率 =  $[(A_i - A_j) / A_i] \times 100\%$ ，其中  $A_i$ 、 $A_j$  分别为空白组、样品组吸光度<sup>[21]</sup>。

### 3 结果

3.1 多糖保留率 回归方程为  $A = 0.004 9X + 0.028 3$  ( $R^2 = 0.999 1$ )，表明葡萄糖在 10~60 μg/mL 范围内线性关系良好。精密度试验 RSD 为 0.24%，表明仪器精密度良好。重复性试验 RSD 为 1.81%，表明该方法重复性良好。稳定性试验 RSD 为 1.15%，表明溶液在显色 30 min 内稳定性良好。平均加样回收率为 100.29%，RSD 为 1.61%。

3.2 脱蛋白率 回归方程为  $A = 0.008 3X - 0.017 8$  ( $R^2 = 0.999 5$ )，表明牛血清白蛋白在 10~70 μg/mL 范围内线性关系良好。

### 3.3 静态单因素试验

3.3.1 树脂类型 由表 1 可知，D301 树脂脱色、脱蛋白效果较好，而且具有较高的多糖保留率，故选择其进行后续研究。

表 1 树脂类型对脱色率、脱蛋白率、多糖保留率的影响

树脂型号	类型	脱色率/%	脱蛋白率/%	多糖保留率/%
D301	阴离子交换树脂	52.4	80.69	86.96
D202	阴离子交换树脂	49.2	27.72	60.56
D201	阴离子交换树脂	5.70	34.90	35.33
D3520	非极性大孔吸附树脂	48.0	61.58	47.04
D101	非极性大孔吸附树脂	40.9	66.68	60.39
HPD100	非极性大孔吸附树脂	33.4	35.39	44.92

3.3.2 脱色时间 由图 1 可知，脱色率、脱蛋白率在前 3 h 呈升高趋势，多糖保留率基本平稳，3 h 后三者均呈急剧降低趋势，综合考虑确定为 3 h。

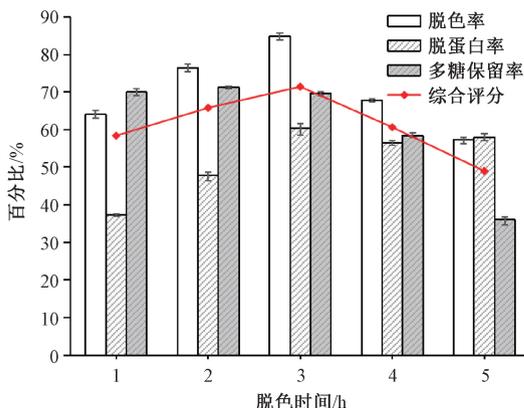


图 1 脱色时间对脱色率、脱蛋白率、多糖保留率的影响

3.3.3 脱色温度 由图 2 可知，随着温度升高，脱色率、脱蛋白率、多糖保留率均呈先升后降的趋势，其中脱色率和多糖保留率在 30 ℃ 时最高，脱蛋白率在 35 ℃ 时最高，综合考虑确定为 30 ℃。

3.3.4 pH 值 由图 3 可知，随着 pH 值升高，脱色率、多糖脱色率均呈先升后降的趋势，为 5 时最高，但对脱蛋白

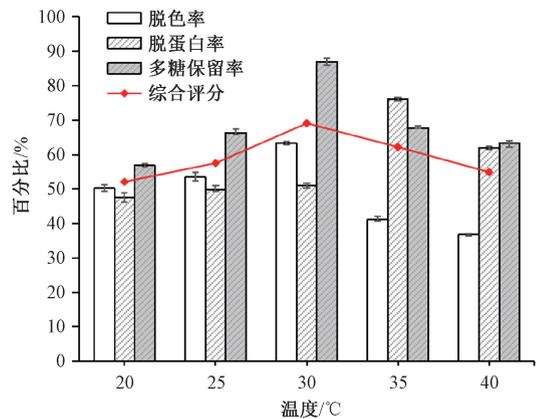


图 2 脱色温度对脱色率、脱蛋白率、多糖保留率的影响

率影响较小，综合考虑确定为 5。

3.3.5 树脂用量 由图 4 可知，随着树脂用量增加，脱色率、脱蛋白率升高，在 3 g 后趋于稳定；多糖保留率呈先升后降的趋势，树脂用量为 3 g 时大于 55%，综合考虑确定为 3 g。

3.3.6 验证试验 最优工艺为 D301 树脂，脱色时间 3 h，脱色温度 30 ℃，pH 值 5，树脂用量 3 g。按上述优化工艺进行 5 批验证试验，测得脱色率、脱蛋白率、多糖保留率分别为 71.04%、58.82%、76.13%，RSD 分别为 0.37%、

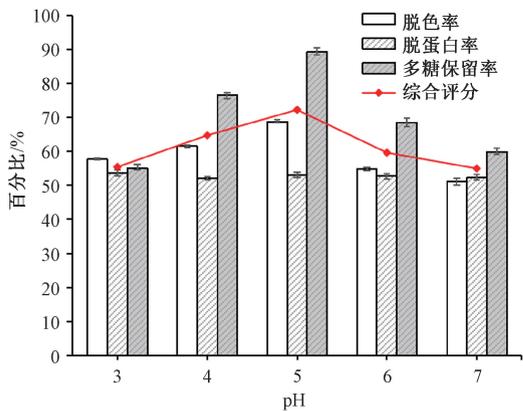


图3 pH值对脱色率、脱蛋白率、多糖保留率的影响

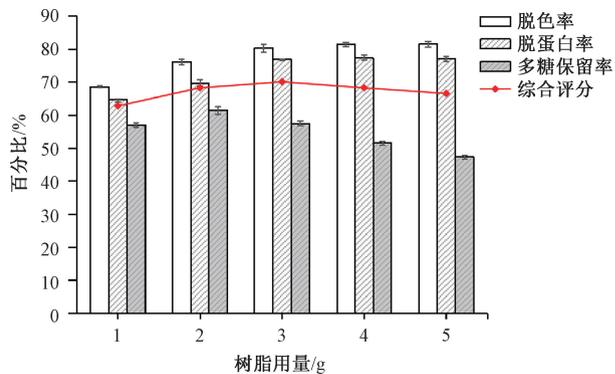


图4 树脂用量对脱色率、脱蛋白率、多糖保留率的影响

0.84%、1.28%，与多元非线性回归拟合的预测值 74.28%、60.33%、77.23% 接近，表明该工艺重复性良好。

### 3.4 动态单因素试验

3.4.1 上样体积流量 由图5可知，随着体积流量增加，多糖保留率呈升高趋势，而脱色率、脱蛋白率在3 BV/h前趋于稳定，然后呈降低趋势，表明体积流量过快时树脂脱色、脱蛋白效果变差，综合考虑确定为3 BV/h。

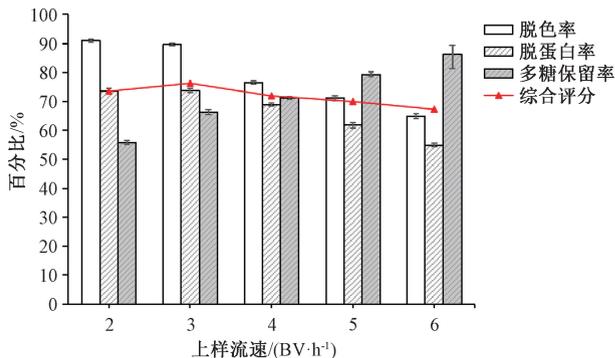


图5 上样体积流量对脱色率、脱蛋白率、多糖保留率的影响

3.4.2 上样体积 由图6可知，随着上样体积增加，脱色率、脱蛋白率缓慢降低，超过2 BV时更明显，而多糖保留率则一直呈升高趋势，表明树脂脱色、脱蛋白能力基本接近饱和，综合考虑确定为2 BV。

3.4.3 金蝉花用量 由图7可知，金蝉花用量为0.5~

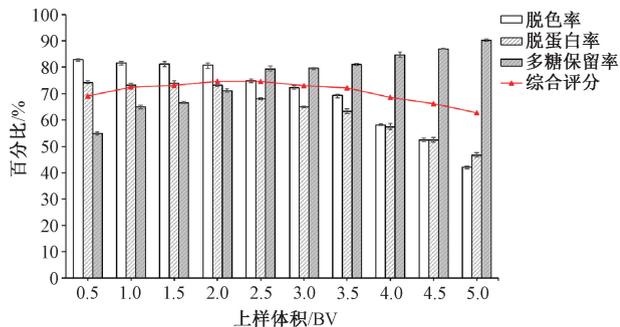


图6 上样体积对脱色率、脱蛋白率、多糖保留率的影响

2.0 g时，脱色率、脱蛋白率、多糖保留率在呈现轻微变化后趋于稳定；超过2.0 g时，脱色率、脱蛋白率急剧降低，而多糖保留率急剧升高，表明树脂吸附能力开始饱和，综合考虑确定为2.0 g。

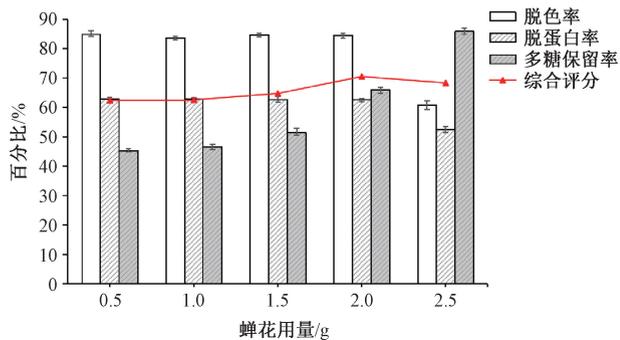


图7 金蝉花用量对脱色率、脱蛋白率、多糖保留率的影响

3.4.4 验证试验 最优工艺为上样体积流量3 BV/h，上样体积2 BV，金蝉花用量2.0 g。按上述优化工艺进行5批验证试验，测得脱色率、脱蛋白率、多糖保留率分别为81.74%、69.05%、82.06%，RSD分别为1.33%、0.64%、0.77%，与多元非线性回归拟合的预测值84.71%、70.21%、84.05%接近，表明该工艺重复性良好。

### 3.5 抗氧化活性

3.5.1 DPPH·清除能力 由图8可知，多糖质量浓度在0.2~1.0 mg/mL范围内，DPPH·清除率先升高后趋于稳定，最大值为87.42%。

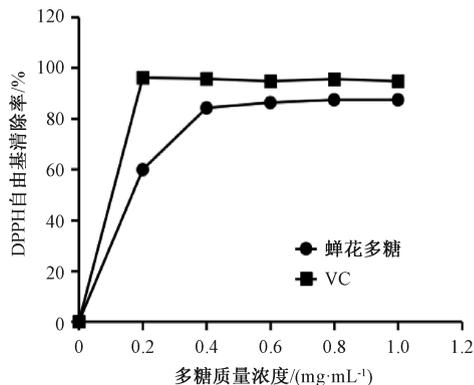


图8 金蝉花多糖对DPPH·的清除能力

3.5.2 OH·清除能力 由图9可知，多糖质量浓度在0.2~

1.0 mg/mL 范围内,  $\text{OH}\cdot$  清除率逐渐升高, 最大值为 88.93%。

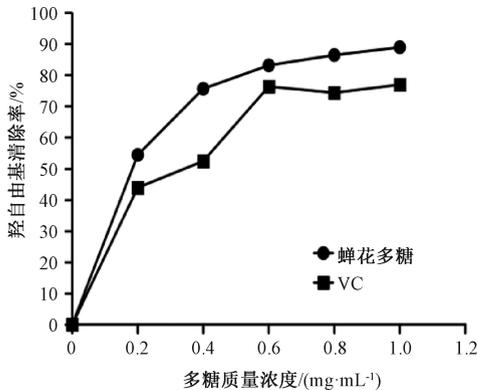


图9 金蝉花多糖对  $\text{OH}\cdot$  的清除能力

3.5.3  $\text{O}_2\cdot^-$  抑制能力 由图10可知, 多糖质量浓度在 0.2~1.0 mg/mL 范围内,  $\text{O}_2\cdot^-$  抑制率先升高后逐渐降低, 最大值为 68.62%。

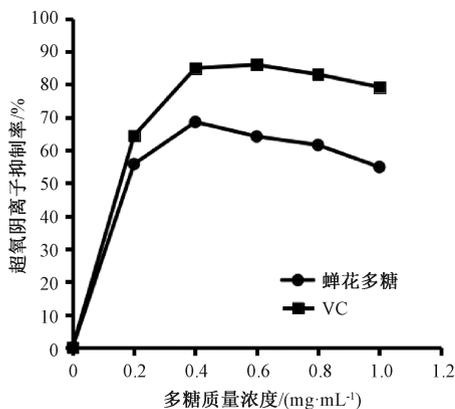


图10 金蝉花多糖对  $\text{O}_2\cdot^-$  的抑制能力

3.5.4  $\text{Fe}^{2+}$  螯合能力 由图11可知, 多糖质量浓度在 2.0~10.0 mg/mL 范围内,  $\text{Fe}^{2+}$  螯合率先升高后趋于稳定, 最大值为 95.72%。

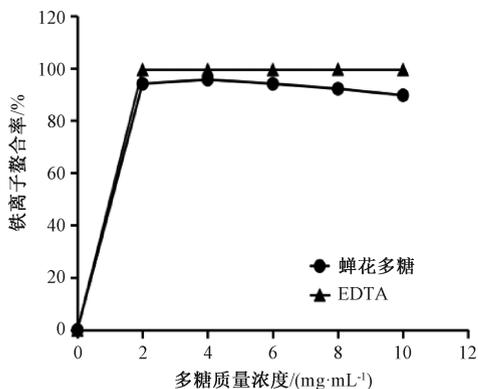


图11 金蝉花多糖对  $\text{Fe}^{2+}$  的螯合能力

#### 4 讨论与结论

用于脱色的树脂主要有大孔吸附树脂和大孔型离子交换树脂, 后者既具备前者吸附酚类、醌类等小分子色素的特点, 又可吸附带电荷的色素, 脱色效果一般优于前者。

此外, 树脂脱色效果还取决于提取液中色素、多糖结构及多糖与色素的络合等理化性质, 以及脱色时间、温度、pH 值等工艺参数。本实验在固定的工艺条件下对离子交换树脂、大孔吸附树脂进行比较, 综合脱色率、脱蛋白率、多糖保留率 3 个评价指标, 发现 D301 树脂效果最好。静态、动态工艺研究表明, 处理等量药材时后者各项指标明显高于前者, 而且洗脱处理时间明显缩短 (3 h、40 min)。通过测定金蝉花多糖对  $\text{DPPH}\cdot$ 、 $\text{OH}\cdot$  的清除能力,  $\text{O}_2\cdot^-$  的抑制能力、 $\text{Fe}^{2+}$  的螯合能力, 发现经脱色、脱蛋白后该成分仍具有较强的抗氧化活性, 与水提醇沉粗品<sup>[3]</sup>、纯化品片段<sup>[4]</sup>类似, 提示 D301 树脂能有效保持其活性。

综上所述, D301 树脂具有良好的脱色、脱蛋白功能, 简化了工艺步骤, 而且可重复使用, 大大降低了金蝉花多糖纯化的成本。

#### 参考文献:

- [1] 梁世伟, 王洪凯. 蝉花研究进展[J]. 浙江农业学报, 2023, 35(8): 2013-2022.
- [2] Xu J, Tan Z C, Shen Z Y, et al. Cordyceps cicadae polysaccharides inhibit human cervical cancer hela cells proliferation via apoptosis and cell cycle arrest[J]. Food Chem Toxicol, 2021, 148: 111971.
- [3] Sharma S K, Gautam N, Atri N S. Retraction note: Optimized extraction, composition, antioxidant and antimicrobial activities of exo and intracellular polysaccharides from submerged culture of Cordyceps cicadae[J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1): 276.
- [4] Zhu Y L, Yu X F, Ge Q, et al. Antioxidant and anti-aging activities of polysaccharides from Cordyceps cicadae[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 157: 394-400.
- [5] Yang C H, Su C H, Liu S C, et al. Isolation, anti-inflammatory activity and physico-chemical properties of bioactive polysaccharides from fruiting bodies of cultivated Cordyceps cicadae (Ascomycetes) [J]. Int J Med Mushrooms, 2019, 21(10): 995-1006.
- [6] Yang J L, Dong H B, Wang Y, et al. Cordyceps cicadae polysaccharides ameliorated renal interstitial fibrosis in diabetic nephropathy rats by repressing inflammation and modulating gut microbiota dysbiosis [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 163: 442-456.
- [7] 温萍, 陈盛铎, 郑兵, 等. 金蝉花多糖对 D-GlaN 致小鼠急性肝损伤的保护作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 108-113.
- [8] 王乐, 靳学远, 霍智文. 桑枝多糖酶法脱蛋白工艺优化及理化特性研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(7): 136-143.
- [9] 王莹, 邢晓玲, 李屿君, 等. 香菇多糖脱蛋白工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(14): 98-103.
- [10] 谭青云, 袁永俊, 王丹, 等. 铁皮石斛多糖几种脱色方法的对比[J]. 食品工业, 2019, 40(11): 43-47.

- [11] Wang R S, Zuo M, Ding S H, et al. Recovery of immune activity by administration of polysaccharides of *Toona sinensis* and its characterization of major component[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 35(23): 1-5.
- [12] Wang X L, Zhang Y F, Liu Z K, et al. Purification, characterization, and antioxidant activity of polysaccharides isolated from *Cortex Periplocae* [J]. *Molecules*, 2017, 22(11): 1866.
- [13] Yang R, Meng D M, Song Y, et al. Simultaneous decoloration and deproteinization of crude polysaccharide from pumpkin residues by cross-linked polystyrene macroporous resin [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(34): 8450-8456.
- [14] Shi Y, Liu T, Han Y, et al. An efficient method for decoloration of polysaccharides from the sprouts of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem by anion exchange macroporous resins[J]. *Food Chem*, 2017, 217: 461-468.
- [15] 敖珍, 覃发玠, 罗迎春, 等. 红托竹荪菌多糖中试提取工艺及抗氧化活性[J]. *中国调味品*, 2022, 47(10): 179-183.
- [16] 曾杰, 房海灵, 梁呈元, 等. 无花果粗多糖脱色工艺优化及其吸附性能研究[J]. *中成药*, 2022, 44(2): 537-542.
- [17] 胡会刚, 赵巧丽, 庞振才. 菠萝皮渣多糖脱蛋白脱色方法研究及其抗氧化活性[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(24): 12-20.
- [18] 马铭, 白瑞斌, 刘景龙, 等. 3种党参提取物抗氧化活性探究[J]. *中成药*, 2020, 42(9): 2514-2517.
- [19] 李国峰, 陈海芳, 郎一帆, 等. 诃子总黄酮提取工艺的优化及其体外生物活性研究[J]. *中成药*, 2021, 43(11): 2945-2951.
- [20] 李伟, 叶嘉宜, 陈运娇, 等. 桉叶多酚提取物体内外抗氧化活性评价[J]. *食品科学*, 2021, 42(5): 160-168.
- [21] 王余宸铭, 黄快乐, 黄留瑶, 等. 蝉花孢梗束多糖的抗氧化及对环磷酸胺致肝损伤小鼠的保护作用[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(24): 45-50.

## 掌叶大黄地上茎提取工艺优化及其抑菌作用研究

仲楠, 魏家艳, 张国玉, 熊继东, 强宇靖, 李芸\*

(甘肃中医药大学药产业创新研究院, 西北中藏药省部共建协同创新中心, 甘肃兰州730000)

**摘要:** 目的 优化掌叶大黄地上茎提取工艺, 并考察其抑菌活性。方法 在单因素试验基础上, 以乙醇体积分数、料液比、提取时间为影响因素, 总有机酸含量和出膏率的综合评分为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。采用打孔法评价提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、白色念珠菌、铜绿假单胞菌的抑制效果。结果 最佳条件为乙醇体积分数 80%, 提取时间 1 h, 料液比 1:12, 综合评分为 78.57 分。提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、白色念珠菌、铜绿假单胞菌的 MIC 值分别为 1 000、125、250、1 000、250 mg/mL。结论 该方法稳定可靠, 可用于提取掌叶大黄地上茎。该部位提取物对 5 种常见致病菌均有抑制活性, 其中对金黄色葡萄球菌的作用最强。

**关键词:** 掌叶大黄地上茎; 提取工艺; 抑菌作用; Box-Behnken 响应面法; 打孔法

**中图分类号:** R284.2

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2024)12-4121-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.036

礼县掌叶大黄种植面积达 3 万亩, 产量巨大。大黄传统药用部位为根及根茎, 为了促进地下药用部位的生长, 需每年专门组织大量人工去摘除幼嫩的茎 (占大黄总资源 1/2 以上), 并进行废弃或焚烧, 导致其未得到有效利用, 造成资源的极大浪费和环境的严重污染<sup>[1]</sup>。古籍记载及产

区调研发现, 大地上茎既可食用也可药用, 口感酸爽<sup>[2]</sup>。《四部医典》<sup>[3]</sup>和《妙音本草》记载, 四川、西藏、甘肃、青海人民食用大地上部分的基生叶柄和幼嫩茎叶可用于解渴、除翳、治培根病等<sup>[4-5]</sup>; 现代研究表明, 大黄非药用部位主要含有有机酸、蒽醌、黄酮等成分, 有着泻下、

收稿日期: 2023-08-29

基金项目: 甘肃省科技计划 (重点研发计划) 项目 (21YF5FA132)

作者简介: 仲楠 (1997—), 女, 硕士生, 从事中药炮制、制剂工艺研究。Tel: 17393107914, E-mail: zn766685158@163.com

\*通信作者: 李芸 (1973—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药化学成分分离分析、中药加工炮制工艺研究及中药大健康产品开发工作。Tel: 13893362959, E-mail: liyunherb@163.com

网络出版日期: 2023-12-27

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20231226.1710.012.html>