

青蒿渣中总多糖提取工艺 及其抗氧化活性

覃华兴

广西仙草堂制药有限责任公司 广西 柳州 545400

【摘要】目的:观察青蒿渣中总多糖的抗氧化活性和提取工艺。**方法:**对青蒿渣总多糖进行响应面法优选超声提取工艺,因变量为总多糖得率,自变量为提取时间、提取温度、液料比,经油脂抗氧化实验、清除羟基自由基实验、1,1-二苯基-2-苦基肼自由基实验,对比抗坏血酸的抗氧化能力,分析青蒿渣总多糖的抗氧化能力。**结果:**青蒿渣中的总多糖的标准曲线方程为 $A = 0.0551C - 0.250$ ($R^2 = 0.9993$),线性范围为 2.6~14.9mg/L,其中纵坐标为吸光度(A),横坐标为质量浓度(C)。青蒿渣总多糖提取工艺最佳条件为 70℃ 提取温度、0.5h 提取时间,液料比为 30:1,青蒿渣总多糖的提取率为 1.762%;青蒿渣总多糖的质量浓度与抗氧化能力成正比,对羟基自由基的半抑制浓度为 (165.31 ± 0.32) mg/L,而抗坏血酸的半抑制浓度为 (225.42 ± 0.17) mg/L,青蒿渣总多糖对羟基自由基的清除能力更强。**结论:**青蒿渣总多糖具有一定的抗氧化功能,可综合利用青蒿资源,优选提取工艺可靠稳定。

【关键词】过氧化值;抗氧化功能;超声提取法;总多糖;青蒿渣

【中图分类号】R683

【文献标识码】B

【文章编号】1674-9321(2021)11-0053-02

传统医学认为,青蒿具有退黄截疟,解暑热、除骨蒸的功效,主要治疗湿热黄疸、阴虚发热、温邪阴伤等证候^[1]。青蒿近年来的需求量急剧升高,青蒿素后的残渣一般用于农业肥料,未得到进一步的开发利用,浪费了青蒿渣中的活性成分。青蒿素主要进行较小极性的有机溶剂予以工业提取,残渣中保留了糖类极性较大成分。有研究指出,青蒿渣中的糖类成分具有一定的抗氧化功能^[2]。本研究观察青蒿渣中总多糖的抗氧化活性和提取工艺,为综合开发利用青蒿资源、提供深加工提供参考依据,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 药物与仪器 日本岛津公司生产的 AUY220 型分析天平,日本岛津公司生产的 AUW220D 型分析天平,岛津 UV1740 紫外-可见分光光度计;1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(批号:D0909,生产企业:上海梯希爱化成工业发展有限公司),抗坏血酸对照品(批号:100425-201504;生产企业:中国食品药品检定研究院),D-葡萄糖对照品(批号:110833-201707;生产单位:中国食品药品检定研究院),青蒿渣(广西仙草堂制药有限责任公司提供,经中国中医科学院中药研究所研究员鉴定为菊科植物黄花蒿的地上干燥部分,青蒿素提取后的残渣药物,60℃ 烘干箱内予以 24h 烘干,3 号过筛,干燥器内备用)。

1.2 方法

1.2.1 制备和检测青蒿渣总多糖:

1.2.1.1 定性和制备青蒿渣总多糖实验 称取 1.0g 青蒿渣,水适量加入,治愈超声波清洗器内(输出功率为 100%,40kHz 超声频率),抽滤,50mL 水定容,获得青蒿渣总多糖样品溶液,经氨性硝酸银试剂(阳性为生成黑色沉淀)、 α -萘酚-浓硫酸试剂(阳性为生成紫红色环),斐林试剂(阳性为产生砖红色沉淀)制备含糖类溶液成分。

1.2.1.2 绘制标准曲线 精确称取 10.0mg 葡萄糖对照品(105℃ 干燥至恒重),置于量瓶 100mL 内,加水溶解稀释至刻度,混匀,获得葡萄糖对照品;吸取 1.2mL、1.0mL、0.8mL、0.6mL、0.4mL、0.2mL 对照品溶液,置于试管内,加水定容至 2mL,每个试管内加入 1.0mL 5% 苯酚,摇匀,加入 5.0mL 浓硫酸,迅速混匀,15min 沸水浴,冷水内冷却至室温,吸光度 A 在 490nm 处检测。空白对照为 2.0mL 水;纵坐标为 A,横坐标为质量浓度,绘制标准曲线。

1.2.1.3 检测总多糖含量 吸取 2.0mL 青蒿渣总多糖样品溶液,根据上述方法检测和显色,评估总多糖得率。

1.2.2 优化青蒿渣总多糖提取工艺 按照中心组合实验原理,在预实验的基础上,自变量为提取时间、提取温度、液料比,自变量进行 1/0/1 予以编码,响应值为青蒿渣总多糖得率,予以三水平三因素设计组合实验优化响应面。

1.2.3 纯化青蒿渣总多糖 浓缩青蒿渣总多糖提取液至一定体积,加入无水乙醇 4 倍量,24h 冰箱内抽滤,获得总多糖沉淀,溶解于水,配置为 200mL 总多糖溶液,应用已湿法装柱的 AB-8 型大孔树脂柱过滤,流速为 1mL/min,10% 乙醇洗脱,流速为 2mL/min,至洗脱液无法检测出糖类成分;浓缩洗脱液,在干燥箱内干燥至恒重,检测青蒿渣总多糖的质量分数。

1.2.4 检测青蒿渣总多糖的抗氧化功能:

1.2.4.1 DPPH 自由基清除功能 称取 7.9mg DPPH,在量瓶 100mL 内应用无水乙醇定容,避光置存,获得 DPPH 溶液 0.079g/L,分别称取 2.0mL 样品溶液,质量浓度分别为 76.95mg/L、38.48mg/L、19.24mg/L、9.62mg/L、4.81mg/L、2.41mg/L;加入 2.0mL DPPH 溶液,充分混匀,避光室温下静置 0.5h;对照组为水替代 DPPH 溶液,空白组为水替代样品溶液,吸光度 A 在 515nm 处检测,计算公式为清除率 = $1 - (A1 - A2) / A0 \times 100\%$,其中对照组为 A2、样品溶液吸光度为 A1、空白组吸光度为 A0。阳性组为抗坏血酸(65.04mg/L、32.52mg/L、16.26mg/L、8.13mg/L、4.06mg/L、2.03mg/L)。

1.2.4.2 羟基自由基清除能力 将质量浓度不同的样品溶液、0.3% 双氧水溶液、7.5mol/L 水杨酸乙醇溶液、7.5mol/L FeSO₄ 溶液各 1.0mL 加入 10mL 量瓶内,水浴 37℃ 反应 0.5h,取出后水定容至刻度,吸光度在 518nm 处检测,计算羟基自由基的清除率,阳性对照为抗坏血酸。

1.2.4.3 抗油脂过氧化活性能力 Schaal 烘箱储藏法,在每份温热猪油内(15g)加入总多糖提取物(质量比分别为 0.05%、0.03%、0.01%),混匀,空白对照为猪油,烘箱温度设置为 60℃,定时混匀,检测猪油的过氧化值。

2 结果

2.1 青蒿渣总多糖提取物的线性方程分析 标准曲线方程为 $A = 0.0551C - 0.250$ ($R^2 = 0.9993$),线性范围为 2.6~14.9mg/L,其中纵坐标为吸光度(A),横坐标为质量浓度(C)。

2.2 青蒿渣总多糖提取工艺响应面实验分析 青蒿渣总多糖提取工艺最佳条件为 70℃ 提取温度、0.5h 提取时间,液料比为 30:1,青蒿渣总多糖的提取率为 1.762%,见表 1。

表 1 青蒿渣总多糖提取工艺响应面实验分析

编号	液料比 (mL/g)	超声时间 (min)	超声温度 (°C)	总多糖得 率(%)
1	40 : 1	30	60	1.698
2	30 : 1	40	70	1.603
3	40 : 1	20	50	1.567
4	20 : 1	40	50	1.572
5	20 : 1	40	60	1.364
6	40 : 1	20	60	1.569
7	30 : 1	30	70	1.657
8	30 : 1	30	70	1.762
9	20 : 1	30	60	1.689
10	40 : 1	20	60	1.465
11	40 : 1	30	50	1.604
12	20 : 1	40	50	1.569

2.3 青蒿渣总多糖对 DPPH 自由基的清除能力分析
抗坏血酸的半抑制浓度为(6.40±0.11)mg/L、青蒿渣总多糖的半抑制浓度为(30.70±0.24)mg/L。

2.4 青蒿渣总多糖对羟基自由基的清除能力分析
青蒿渣总多糖的质量浓度与抗氧化能力成正比,对羟基自由基的半抑制浓度为(165.31±0.32)mg/L,而抗坏血酸的半抑制浓度为(225.42±0.17)mg/L,青蒿渣总多糖对羟基自由基的清除能力更强。

(上接第 52 页)

3 讨论

心力衰竭是一种复杂的临床综合征,合并心律失常导致心力衰竭患者死亡风险明显增加。目前针对心力衰竭合并心律失常主要采用药物综合治疗方法,但临床获效欠佳。近年来,随着心衰康复领域持续发展,临床指南都推荐采取运动康复治疗,并强调心脏康复在心力衰竭合并心律失常综合治疗中的应用意义^[2]。不少研究显示,运动康复训练能够促进慢性心衰、冠心病、心绞痛等患者心功能的改善以及生活质量的提高^[3]。本研究中,实验组干预后 NO 水平、SF-36 评分明显高于对照组,而 ET-1 水平、NYHA 分级较对照组明显降低。舌头运动对机体脏器功能具有调节作用,改善心脑血管循环,舌头操可促进唾液分泌,加速新陈代谢,促使免疫功能提升,从而改善患者心脑功能,提高患者运动耐力及生活质量。运动康复训练通过增强患者心肌收缩功能,增加心室壁厚度变化幅度,改善心肌缺血,从而改善心功能。研究表明心力衰竭患者多组织器官发生缺血、缺氧及儿茶酚胺过度分泌等病理改变,引发脂质过氧化,从而导致血管内皮功能发生损伤,而血管内皮功能损伤又会进一步加剧心力衰竭的病情进展^[4]。运动康复训练有助于改善心肌血液供应,抑制儿茶酚胺分泌,

(上接第 51 页)能够缓解内心不安、焦虑的情绪;术中尽可能提高患者舒适感,避免患者因环境、精神紧张等因素诱发术后相关并发症,从而避免延缓术后康复进程;术后留观患者,确保患者生命体征及各项指标正常后方可进行后续护理,清理血迹可减轻患者不适感,并根据手术情况制定康复锻炼计划,使患者能够正确、循序渐进地进行肢体锻炼。

综上所述,手术室护理能够有效促进患者肢体功能恢复,改善生活质量,在下肢骨折内固定手术中具有重要应用意义。

参考文献

[1] 周志刚,黄斐,杨金良,等.螺旋 CT 曲面重建技术在肋骨骨折内固定手术中的应用价值[J].河北医药,2019,41(22):

3 讨论

本研究观察青蒿渣总多糖的抗氧化活性和提取工艺,结果显示:青蒿渣总多糖提取工艺最佳条件为 70°C 提取温度、0.5h 提取时间,液料比为 30 : 1,青蒿渣总多糖的提取率为 1.762%;青蒿渣总多糖的质量浓度与抗氧化能力成正比,对羟基自由基的半抑制浓度为(165.31±0.32)mg/L,而抗坏血酸的半抑制浓度为(225.42±0.17)mg/L,青蒿渣总多糖对羟基自由基的清除能力更强,与郑宇翔等^[3]的研究结果大体一致,青蒿中的糖类成分含量较高,植物多糖具有抗氧化、增强免疫功能、抑制肿瘤等效果。本研究发现,青蒿渣总多糖的抗氧化活性呈现剂量依赖性,其对 DPPH 自由基的清除能力与抗坏血酸相比相对较弱,而对羟基自由基的清除能力较强,是天然的抗氧化剂。综上所述,青蒿渣总多糖具有一定的抗氧化功能,可综合利用青蒿资源,优选提取工艺可靠稳定。

参考文献

[1] 向丽,张卫,陈士林.中药青蒿本草考证及 DNA 鉴定[J].药学学报,2016,51(3):486-495.
[2] 丁嘉伟,苏新尧,马婷玉,等.11 类菌种固态发酵对青蒿叶渣功效成分的影响[J].山西农业大学学报(自然科学版),2020,40(6):114-120.
[3] 郑宇翔,肖凤霞,等.青蒿渣中总多糖提取工艺及其抗氧化活性[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(14):8-11.

降低氧化应激以及改善血管内皮功能。此外,康复运动训练可使骨骼肌血流量增加,从而提升患者运动耐力,改善其生活质量。

综上所述,心力衰竭合并心律失常患者应用舌头操配合运动康复训练,可有效改善患者血管内皮功能及心功能,并促进患者生活质量的提高,建议推广应用。

参考文献

[1] 梁莹,王雪娟,李凤球,等.舌头操在慢性心衰患者康复护理中的作用[J].医学临床研究,2017,34(1):203-205.
[2] 王玉华,佟士骅,居海宁,等.有氧康复运动对慢性心力衰竭患者心室重构及血管内皮功能的影响[J].现代生物医学进展,2018,18(11):2118-2121.
[3] 王颖,白引珠.分级运动康复干预对心力衰竭患者心功能及运动耐力的影响[J].检验医学与临床,2020,17(18):97-100.
[4] 柴国珍,易江平,李晓峰,等.舌头操配合运动康复训练对心力衰竭合并心律失常患者的影响[J].齐鲁护理杂志,2021,27(5):122-124.

3401-3404.

[2] 王晔,张洪涛.手术室护理干预措施对于骨科手术伤口感染的预防效果分析[J].山西医药杂志,2020,49(7):898-900.
[3] 赵慧霞.手术室护理结合疼痛干预对创伤骨折患者术后恢复及睡眠的影响[J].现代中西医结合杂志,2021,30(7):771-774.
[4] 赵加全,曾维君,简雯雯.手术室护理管理对骨科手术患者医院感染发生率的影响[J].吉林医学,2021,42(2):482-483.
[5] 黄申慧,李根娣.手术室细节护理对手术室护理安全性的影响[J].山西医药杂志,2021,50(8):1365-1367.