

孙 恬,刘凤松,冯 冲,等.不同干燥方法对巴戟天寡糖化学成分的影响[J].江苏农业科学,2020,48(6):180-183.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.06.036

# 不同干燥方法对巴戟天寡糖化学成分的影响

孙 恬<sup>1</sup>,刘凤松<sup>2</sup>,冯 冲<sup>3</sup>,杨 丽<sup>3</sup>,丁 平<sup>3</sup>

[1. 天方健(中国)药业有限公司,广东广州 510623; 2. 无限极(中国)有限公司,广东广州 510623;

3. 广州中医药大学中药学院,广东广州 510006]

**摘要:**考察不同干燥方法(烘干、微波、真空干燥、阴干、晒干)对巴戟天药材中寡糖类成分含量的影响。利用 HPLC-ELSD 法测定储存过程中  $D$ -果糖、 $D(+)$ -无水葡萄糖、蔗糖、1-蔗果三糖、耐斯糖、1<sup>F</sup>-果呋喃糖基耐斯糖的含量。色谱柱为 Waters XBridge™ Amide(4.6 mm×250 mm,3.5 μm),流动相为 0.2% 三乙胺乙腈-0.2% 三乙胺水溶液,梯度洗脱,体积流量 0.8 mL/min,柱温 35℃;ELSD 漂移管温度 75℃,氮气流量 2.5 L/min。结果表明,在不同温度(45、60、75、90℃)烘干过程中,随着温度的升高,耐斯糖和 1<sup>F</sup>-果呋喃糖基耐斯糖含量呈逐渐降低的趋势,其中以 60℃耐斯糖含量较高;其他干燥方法中,微波和真空干燥方法耐斯糖含量均降低,且成本较高,建议不采用;晒干和阴干虽成本低,但由于干燥过程的时间较长,耐斯糖在干燥过程中会降解,含量明显下降。因此,建议巴戟天药材采用低温鼓风烘干,最佳适宜温度为 60℃。

**关键词:**巴戟天;寡糖;干燥方法;化学成分;色谱分析

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)06-0180-04

巴戟天药材来源于茜草科植物巴戟天(*Morinda officinalis* How)的干燥根,具有补肾阳、祛风湿、强筋骨的功效<sup>[1]</sup>。巴戟天为广东省道地药材,也是我国著名的“四大南药”之一,作为滋补肾阳的重要中药材,在我国具有悠久的历史。现代的研究表明,巴戟天中主要含有寡糖、蒽醌、环烯醚萜等成分<sup>[2]</sup>,其中主要有效成分为寡糖类化合物,占生药材的 30% 以上<sup>[3]</sup>,具有多方面的药理作用,包括抗抑郁、改善生殖功能、神经保护等<sup>[4-7]</sup>。巴戟天为多年生植物,采收后产地加工主要为晒干或阴干,这些方法虽然成本低,但都存在干燥周期较长、易受天气条件影响、干燥后药材质量不均匀等问题。巴戟天中的寡糖为菊淀粉型(inulin),其结构为若干个果糖单元以  $\beta$ -(2→1)-键连接,末端连接蔗糖残基<sup>[8]</sup>。前期研究表明,巴戟天寡糖在提取加热过程中存在化学不稳定性<sup>[9]</sup>,在干燥过程中寡糖是否发生变化,尚未见报道。因此,本研究对不同干燥方

法(烘干、微波、真空干燥、阴干、晒干)对巴戟天寡糖化学成分的影响进行研究,为巴戟天初加工标准的制定和规范化研究提供科学依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

HITACHI Primaide 高效液相色谱仪[日立(中国)有限公司生产],UM5800 蒸发光散射检测器(上海通微分析技术有限公司生产),SHIMADZU UX420H 电子天平(精度=0.01 g,日本 SHIMADZU 公司生产),Sartorius 电子分析天平(精度=0.1 mg,瑞士 Sartorius 公司生产),DFT-200 高速万能粉碎机(25 000 r/min,温岭市林大机械有限公司生产),CQ-200 超声波清洗器(功率 200 W,频率 40 kHz,上海音波声电科技公司生产),LD4-2A 低速离心机(转速 3 000 r/min,北京医用离心机厂生产)。

### 1.2 试剂

乙腈(色谱纯,美国 ACS 化学试剂公司生产),三乙胺(色谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司生产),乙醇为分析纯,水为去离子水。

对照品: $D$ -果糖( $D$ -fructose,批号:J31M8R36916)、 $D(+)$ -无水葡萄糖[ $D(+)$ -glucose,批号:S08G6J1]、蔗糖(sucrose,批号:S02S6G1)、1-蔗果三糖(1-kestose,批号:

收稿日期:2019-02-14

基金项目:广东省高校与企业合作项目(编号:HPG/2017/11/2180)。

作者简介:孙 恬(1983—),女,广东湛江人,硕士,中级工程师,主要从事中药材及食品质量安全管理、中草药种植加工技术研究。

E-mail:123810194@qq.com。

通信作者:丁 平,研究员,主要从事中药质量评价与资源开发工作。

E-mail:dingpinggz@126.com。

C09D8Q50061)、耐斯糖(nystose,批号:Z17A9H59088)、 $1^F$ -果呋喃糖基耐斯糖( $1^F$ -fructofuranosylnystose,批号:S09A8D41431)均购自上海源叶生物科技有限公司,纯度均大于98%。

样品:巴戟天药材来源于广东省德庆县高良镇,种植4年,经广州中医药大学丁平研究员鉴定为巴戟天(*Morinda officinalis* How)的干燥根,凭证标本存放于广州中医药大学中药资源教研室。将巴戟天生品分别用45、60、75、90℃烘干(鼓风干燥)以及微波干燥、真空干燥、阴干、晒干的方法进行干燥,打粉(65目),供含量测定。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件及系统适用性考察

色谱柱为Waters XBridge™ Amide(4.6 mm × 250 mm, 3.5 μm),流动相为0.2%三乙胺乙腈(A)-0.2%三乙胺水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min, 75%~70% A; 10~20 min, 70% A; 20~45 min, 70%~60% A; 45~60 min, 60% A; 60~63 min, 60%~75% A; 63~75 min, 75% A);体积流量0.8 mL/min;进样量:20 μL;柱温:35℃;蒸发光散射检测器(ELSD)漂移管温度:75℃;氮气流量:2.5 L/min。在此条件下,主峰保留时间适中,各色谱峰理论塔板数均不小于9 000,  $D$ -果糖、 $D(+)$ -无水葡萄糖、蔗糖、1-蔗果三糖、耐斯糖、 $1^F$ -果呋喃糖基耐斯糖与相邻色谱峰的分离度均大于1.5,符合《中国药典》的要求。空白溶液、混合对照品、巴戟天寡糖供试品溶液HPLC-ELSD图见图1。

### 2.2 对照品溶液的制备

精确称取对照品  $D$ -果糖、 $D(+)$ -无水葡萄糖、蔗糖、1-蔗果三糖、耐斯糖、 $1^F$ -果呋喃糖基耐斯糖适量,置于10 mL量瓶中,加入体积分数为60%的乙腈溶解并定容至刻度,摇匀,制成每1 mL含  $D$ -果糖 1.378 mg、 $D(+)$ -无水葡萄糖 0.828 mg、蔗糖 1.210 mg、1-蔗果三糖 0.832 mg、耐斯糖 1.280 mg、 $1^F$ -果呋喃糖基耐斯糖 1.658 mg 的混合对照品储备液。

### 2.3 供试品溶液的制备

称取巴戟天粉末(过6号筛)0.5 g,置于具塞锥形瓶中,加入体积分数为50%的乙醇50 mL,称质量,静置30 min,流水超声处理20 min,擦干,称质量,用50%乙醇补足损失质量,摇匀,于2 000 r/min离心10 min,上清液以0.22 μm微孔滤膜过滤,取

续滤液,即得供试品溶液。

### 2.4 方法学考察

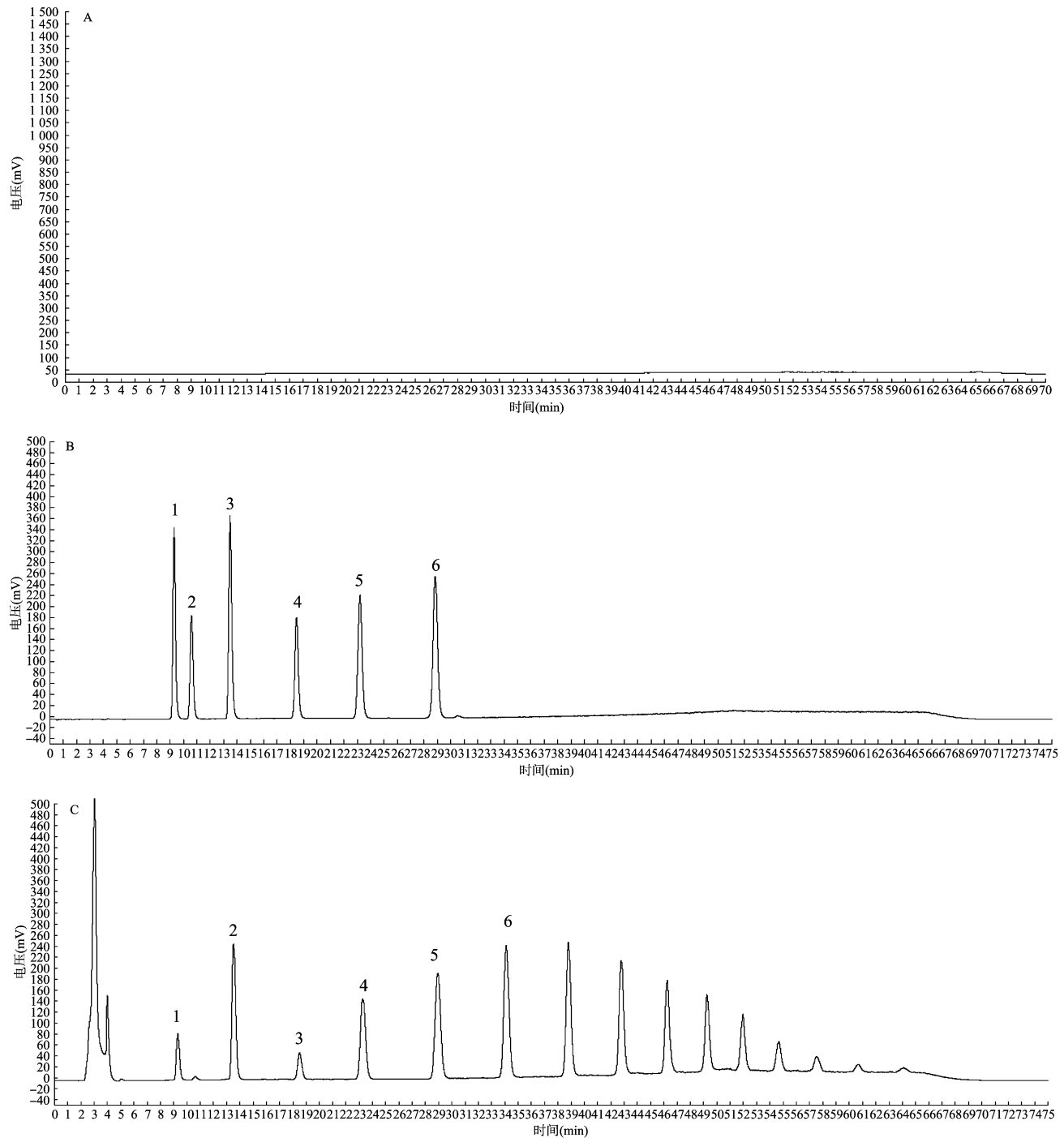
2.4.1 线性关系考察 分别精确吸取混合对照品贮备液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,置于1 mL量瓶中,加入体积分数为50%的乙醇溶液定容至刻度,摇匀,0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得不同浓度的混合对照品溶液。分别按“2.1”项色谱条件进样,每个样品平行测定3次,取峰面积平均值,以各混合对照品进样质量(μg)的对数值  $x$  为横坐标,以峰面积积分值的对数值  $y$  为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程、线性范围及相关系数见表1,结果表明,耐斯糖等6种寡糖在相应的线性范围内均呈良好的线性关系。

2.4.2 精密度试验 日内精密度:取巴戟天,按照“2.3”节方法制备供试品溶液,于同一日内连续进样6次,计算  $D$ -果糖、 $D(+)$ -无水葡萄糖、蔗糖、1-蔗果三糖、耐斯糖、 $1^F$ -果呋喃糖基耐斯糖的峰面积,上述6种成分峰面积的相对标准偏差  $RSD$  范围在1.91%~4.73%。日间精密度:精确吸取同一供试品溶液,分别于3日内每日连续进样3次,计算  $D$ -果糖、 $D(+)$ -无水葡萄糖、蔗糖、1-蔗果三糖、耐斯糖、 $1^F$ -果呋喃糖基耐斯糖的峰面积,上述6种成分峰面积的  $RSD$  范围在2.29%~3.90%。结果表明,仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取巴戟天,按照“2.3”节方法制备供试品溶液,在供试品溶液制备后0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、24.0、48.0、72.0 h 分别进样20 μL,计算  $D$ -果糖、 $D(+)$ -无水葡萄糖、蔗糖、1-蔗果三糖、耐斯糖、 $1^F$ -果呋喃糖基耐斯糖的峰面积,上述6种成分峰面积的  $RSD$  范围在1.77%~3.51%。结果表明,供试品溶液中的  $D$ -果糖等6种成分在72 h内稳定。

2.4.4 重复性试验 精确称取同一批巴戟天6份,每份2.0 g,按照“2.3”节供试品溶液制备方法,平行制备6份供试品,进样,计算  $D$ -果糖、 $D(+)$ -无水葡萄糖、蔗糖、1-蔗果三糖、耐斯糖、 $1^F$ -果呋喃糖基耐斯糖的峰面积,并计算各成分的含量。上述6种成分含量  $RSD$  范围在2.20%~2.68%。结果表明,该方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 精确称取已知含量的巴戟天9份,每份1.0 g,分别加入每1 mL含  $D$ -果糖 4.080 mg、 $D(+)$ -无水葡萄糖 1.880 mg、蔗糖 3.980 mg、1-蔗果三糖 2.520 mg、耐斯糖 6.220 mg、



1—*D*-果糖；2—*D*(+)-无水葡萄糖；3—蔗糖；4—1-蔗果三糖；5—耐斯糖；6—1<sup>F</sup>-果呋喃糖基耐斯糖

图1 空白溶剂(A)、混合对照品(B)、巴戟天供试品(C) HPLC 色谱

表 1 耐斯糖等 6 种寡糖类成分的回归方程及线性范围

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围 ( $\mu\text{g}$ )
<i>D</i> -果糖	$y = 1.832x + 4.675$	0.999 0	2.756 ~ 27.56
<i>D</i> (+)-无水葡萄糖	$y = 1.602x + 5.074$	0.999 6	1.656 ~ 16.56
蔗糖	$y = 1.531x + 5.169$	0.999 1	2.420 ~ 24.20
1-蔗果三糖	$y = 1.593x + 5.104$	0.999 7	1.664 ~ 16.64
耐斯糖	$y = 1.588x + 4.991$	0.999 4	2.560 ~ 25.60
1 <sup>F</sup> -果呋喃糖基耐斯糖	$y = 1.584x + 4.901$	0.999 5	3.316 ~ 33.16

1<sup>F</sup> - 果呋喃糖基耐斯糖 7.650 mg 的混合对照品溶液 1、2、3 mL(各 3 份),按照“2.3”节方法平行制备供试品溶液,测得 D - 果糖、D(+) - 无水葡萄糖、蔗糖、1 - 蔗果三糖、耐斯糖、1<sup>F</sup> - 果呋喃糖基耐斯糖的平均回收率( $n = 9$ )分别为 97.28%、97.90%、101.00%、101.69%、99.79%、101.29%,RSD 分别为 2.25%、2.08%、2.01%、1.92%、2.36%、1.78%,表明该方法的准确度较好。

2.5 不同干燥方法巴戟天寡糖含量测定

按“2.3”节方法制备供试品溶液,按“2.1”节色

谱条件进样测定,计算巴戟天不同等级各样品中 D - 果糖、D(+) - 无水葡萄糖、蔗糖、1 - 蔗果三糖、耐斯糖、1<sup>F</sup> - 果呋喃糖基耐斯糖的含量(按干燥品计算),结果见表 2。

从表 2 中可以看到,每一种干燥方法对巴戟天中的寡糖含量均有影响,综合考虑操作简易度、所耗时长与成本以及最终的寡糖含量,可得出 60℃烘干条件较适合在企业生产中推广,微波干燥次之,然后为晒干干燥、真空干燥、阴干干燥等。

表 2 不同干燥方法下去心巴戟天寡糖的含量

干燥方法	D - 果糖含量 (mg/g)	D(+) - 无水葡萄糖 含量(mg/g)	蔗糖含量 (mg/g)	1 - 蔗果三糖 含量(mg/g)	耐斯糖 含量(mg/g)	1 <sup>F</sup> - 果呋喃糖基耐斯糖 含量(mg/g)
45℃烘干	4.55 ± 0.08	0.49 ± 0.02	22.22 ± 0.54	15.21 ± 0.62	44.93 ± 1.44	60.38 ± 2.03
60℃烘干	2.67 ± 0.05	0.41 ± 0.02	14.61 ± 0.19	16.68 ± 0.24	47.74 ± 2.24	64.25 ± 1.84
75℃烘干	1.39 ± 0.17	0.42 ± 0.01	10.43 ± 0.31	17.72 ± 0.66	43.62 ± 0.26	58.23 ± 0.77
90℃烘干	2.72 ± 0.17	0.48 ± 0.02	10.71 ± 0.14	17.33 ± 0.29	42.90 ± 0.51	57.50 ± 0.31
微波干燥	9.23 ± 0.05	0.76 ± 0.02	13.67 ± 0.14	18.45 ± 0.06	43.88 ± 0.31	57.11 ± 0.56
真空干燥	15.29 ± 0.26	0.94 ± 0.01	21.01 ± 0.30	13.18 ± 0.15	39.96 ± 0.26	55.00 ± 0.11
晒干干燥	2.27 ± 0.08	0.54 ± 0.02	15.59 ± 0.25	15.51 ± 0.19	42.85 ± 0.57	58.72 ± 1.15
阴干干燥	5.57 ± 0.11	0.67 ± 0.01	21.68 ± 0.73	12.47 ± 0.34	40.46 ± 0.22	55.98 ± 0.63

注:数据为平均值 ± 标准差, $n = 3$ 。

3 讨论

巴戟天中的寡糖类成分没有紫外吸收,不适宜用传统的紫外检测器进行定性定量分析,而蒸发光散射检测器(ELSD)可以弥补这方面的不足。本试验考察了 Waters XBridge™ Amide、Thermo APS - 2 HYPERSIL、Ecosil 120 - 5 Amino 等色谱柱的分离效果,其中 Waters XBridge™ Amide 色谱柱对 D - 果糖等 6 种待测成分的分离效果最好,各成分保留时间适中,基线平,噪音低,故选择该色谱柱进行含量测定。另外考察了乙腈 - 水和含不同浓度三乙胺的乙腈 - 水溶液作为流动相的分离效果,结果表明,在乙腈和水中加入等量的三乙胺(0.2%)时,各成分的分离效果最好,且有利于有机相和水相的均匀混合及系统 pH 值的稳定。

在不同温度(45、60、75、90℃)烘干过程中,随着温度的升高,耐斯糖和 1<sup>F</sup> - 果呋喃糖基耐斯糖呈逐渐降低的趋势,其中以 60℃烘干过程中耐斯糖含量最高。其他干燥方法中,微波和真空干燥方法耐斯糖含量均降低,且成本较高,建议不采用;晒干和阴干虽成本低,但由于干燥的过程时间较长,耐斯糖在干燥过程中会降解<sup>[9]</sup>,含量明显下降,不宜采用。因此,建议巴戟天药材采用低温 60℃鼓风

烘干。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:81 - 82.

[2] 王美玲,张清清,付爽,等. UPLC - Q - TOF MS ~ E 技术结合 UNIFI 数据库筛查方法快速分析巴戟天化学成分[J]. 质谱学报,2017,38(1):75 - 82.

[3] 吴向维. 基于巴戟天寡糖的喘可治注射剂质量评价研究[D]. 广州:广州中医药大学,2014.

[4] 崔承彬,杨明,姚志伟,等. 中药巴戟天中抗抑郁活性成分的研究[J]. 中国中药杂志,1995,20(1):36 - 39,62 - 63.

[5] Chen D L, Li N, Lin L, et al. Confocal mirco - Raman spectroscopic analysis of the antioxidant protection mechanism of the oligosaccharides extracted from *Morinda officinalis* on human sperm DNA[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2014, 153(1):119 - 124.

[6] 丁平,梁英娇,刘瑾,等. 巴戟天寡糖对小鼠精子生成作用的研究[J]. 中国药理学杂志,2008,43(19):1467 - 1470.

[7] Chen D L, Zhang P, Lin L, et al. Protective effects of Bajijiasu in a rat model of A  $\beta_{25-35}$  - induced neurotoxicity[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2014, 154(1):206 - 217.

[8] Yang Z, Yi Y, Gao C, et al. Isolation of inulin - type oligosaccharides from Chinese traditional medicine: morinda officinalis how and their characterization using ESI - MS/MS[J]. Journal of Separation Science, 2010, 33(1):120 - 125.

[9] 吴向维,李洪,邵艳华,等. 巴戟天寡糖在提取过程中化学稳定性的研究[J]. 中国药理学杂志,2014,49(2):102 - 105.