

# 不同产地山药中总多糖及尿囊素的含量分析

闫沛沛 杨文华 曹俊岭 李朝峰 戚姝娅 赵华叶 樊冬鹤 张玉君 张梦捷

**【摘要】 目的** 对比河南产地和河北产地山药的品质,寻找优良品种。**方法** 总多糖含量采用苯酚硫酸法测定;尿囊素含量采用高效液相色谱法测定,色谱条件:色谱柱:资生堂 SPOLAR C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相:乙腈-水 (2:98),流速:0.5 mL/min,柱温 25℃,检测波长:224 nm。**结果** 总多糖含量 (%) 河南产地山药中为 (14.65±1.43)%,河北产地山药中为 (7.78±2.83)%,二者有显著性差异 ( $P<0.01$ );在尿囊素含量上二者没有显著性差异 ( $P>0.05$ )。**结论** 河南产地的山药中含有较高的总多糖,可能药用价值更高,品质更优,是值得关注的优良品种。

**【关键词】** 总多糖; 尿囊素; 河南产地山药; 河北产地山药

**【中图分类号】** R284 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.03.010

**Content analysis of polysaccharide and allantoin of *Dioscorea opposita* Thunb. from different habitats** YAN Pei-pei, YANG Wen-hua, CAO Jun-ling, et al. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: CAO Jun-ling, E-mail: caojunling72@163.com

**【Abstract】 Objective** To compare the quality of the *Dioscorea opposita* Thunb. from Henan and Hebei by determining the content of polysaccharide and allantoin. **Methods** Phenol-sulfuric acid method was used to determine the content of polysaccharide. Allantoin content was determined by high performance liquid chromatography. SPOLAR C<sub>18</sub> (250mm×4.6mm, 5μm) was used. Mobile phase was acetonitrile-water (2:98). The flow rate was 0.5 mL/min. The column temperature was set at 25℃. The detection wavelength was set at 224 nm. **Results** The polysaccharide content (%) in the *Dioscorea opposita* Thunb. from Henan was (14.65±1.43), while the Hebei was (7.78±2.83). There was significant statistical difference between the two varieties ( $P<0.01$ ). There was no significant difference of the allantoin content between the varieties ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The *Dioscorea opposita* Thunb. from Henan contains higher polysaccharide, which might have higher medicinal value and better quality, deserves paying close attention as a good variety.

**【Key words】** Polysaccharide; Allantoin; *Dioscorea opposita* Thunb. from Henan; *Dioscorea opposita* Thunb. from Hebei

山药为薯蓣科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的根茎,《神农本草经》中将其列为上品,具

有益气养阴、养脾肺肾、固精止带等功效。《神农本草经辑注》<sup>[1]</sup>记载:“补虚羸,除寒热邪气,补中,益

基金项目:中央本级重大增减支项目(2060302);国家自然科学基金(81130070);江苏高校协同创新项目

作者单位:100029 北京中医药大学中药学院[闫沛沛(硕士研究生)、杨文华(硕士研究生)、李朝峰(硕士研究生)、戚姝娅(硕士研究生)、赵华叶(硕士研究生)、樊冬鹤(硕士研究生)、张玉君(硕士研究生)、张梦捷(硕士研究生)];北京中医药大学东直门医院药学部(曹俊岭);中国中医科学院中药资源中心(曹俊岭)

作者简介:闫沛沛(1989-),女,2013级在读硕士研究生。研究方向:中药材山药等级规格标准的研究。E-mail:yanpeifighting@163.com

通讯作者:曹俊岭(1972-),博士,主任药师。研究方向:临床安全合理用药。E-mail:caojunling72@163.com

气力,长肌肉。久服耳目聪明,轻身、不饥,延年。”《本草经集注》<sup>[2]</sup>记载:“补虚劳羸瘦,充五脏,除烦热,强阴。”现代研究表明山药含有丰富的总多糖、淀粉、氨基酸、尿囊素等化学成分,具有抗肿瘤、降血脂、降血糖、提高免疫力等药理作用。

目前,山药的两大主要产区为河南、河北,在进行市场调研时,发现河南产地的山药外观笔挺均匀类圆柱形,直径 2~3 cm,断面紧致、颗粒感不明显;而河北产地的山药外观扁圆柱形,有的一端分叉成手掌状,直径 5~7 cm,须根蓬乱,断面疏松、颗粒感明显。本研究以河南、河北两个产地的山药为研究对象,对二者总多糖和尿囊素的含量进行差异性分析,为山药的研究提供参考依据。

1 仪器与材料

岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪(检测器:SPDM20A);KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,300 W,40 kHz);CPA2250 型分析天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司);T6 新世纪紫外可见分光光度仪(北京普析通用仪器有限责任公司);SC-3610 型低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)。

D-无水葡萄糖对照品(纯度 100.0%,批号:110833-200904)和尿囊素对照品(批号:111501-200202)均购自中国食品药品检定研究院,供含量测定用;乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司);水为娃哈哈纯净水;苯酚、硫酸、乙醇均为分析纯。

苯酚的纯化方法:称取苯酚 100 g,加铝片 0.1 g 和碳酸氢钠 0.05 g,常压蒸馏,弃初馏分,收集 182℃馏分。精密称取该馏分 2.5 g 至 50 mL 棕色容量瓶中,加纯水溶解并定容至刻度,得 5% 苯酚,用锡箔纸密封避光,放入冰箱中备用。

表 1 山药样品目录

样品编号	产地	品种
1	河南焦作温县	怀山药
2	河南焦作武陟	怀山药
3	河南焦作滑县	怀山药
4	河南焦作温县	怀山药
5	河南焦作滑县	怀山药
6	河北安国清苑县	怀山药
7	河北安国蠡县	怀山药
8	河北安国蠡县	怀山药
9	河北安国高阳县	怀山药
10	河北安国蠡县	怀山药

铁棍山药主要采自道地产区河南焦作,普通山药为河南、河北种植的正常品种山药,采药时间为 2014 年 11 月~12 月,经中国中医科学院中药研究所冯学锋研究员鉴定为薯蓣科植物薯蓣的块茎。见表 1。

2 方法

2.1 山药总多糖含量的测定方法

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取 105℃干燥至恒重的无水葡萄糖对照品约 5 mg,置 50 mL 容量瓶中,加水溶解,定容至刻度,摇匀,作为对照品溶液备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取山药粉末约 1.5 g 置 100 mL 三角锥形瓶中,加入 50 mL 纯水,于 80℃水浴中回流提取 2 小时,放至室温补重,于 3000 rpm 下离心 15 分钟,精密量取 1 mL 置 100 mL 容量瓶中,定容,备用。

2.1.3 标准曲线 分别精密量取对照品溶液各 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置 10 mL 具塞试管中,各加水至 1.0 mL,精密加入新配置的 5% 苯酚溶液 1.0 mL 和浓硫酸 5.0 mL,摇匀,放置 10 分钟后 30℃水浴 20 分钟,取出,摇匀。室温下按照紫外分光光度法,在 490 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为横坐标(X),浓度为纵坐标(Y),绘制标准曲线,回归方程为:Y=0.0869X+0.0003,r=0.9994,线性范围为 0.00~0.11 mg/mL。

2.1.4 方法学考察 (1)精密度试验:取 3 号样品约 1.5 g,精密称定,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,“2.1.3”项下方法连续测定 6 次,计算总多糖质量分数,RSD 为 1.21%,表明该仪器精密度良好。(2)重复性试验:精密称取同一样品 6 份,每份约 1.5 g,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,“2.1.3”项下方法测定并计算总多糖质量分数,RSD 为 0.37%,表明重复性良好。(3)稳定性试验:精密称取同一供试品溶液,分别于 5、10、20、30、40、50、60、80 分钟测定吸光度,计算总多糖质量分数,RSD 为 0.41%,表明供试品溶液在 80 分钟内稳定。(4)加样回收率试验:采用加样回收法。精密称取 3 号样品(已知含量为 13.47%)6 份,每份约 0.75 g,分别精密加入无水葡萄糖对照品适量,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,“2.1.3”项下方法测定,计算含量和回收率,结果如表 2。

表 2 回收率实验

称样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	平均回收 率(%)	RSD (%)
0.7505	99.11	75.60	170.96	96.37	1.49
0.7506	99.11	75.60	170.96		
0.7507	99.12	75.60	172.70		
0.7504	99.10	75.60	171.82		
0.7507	99.12	75.60	173.99		
0.7505	99.11	75.60	171.39		

2.2 尿囊素含量的测定方法

2.2.1 色谱条件 色谱柱:资生堂 SPOLAR C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相:乙腈-水 (2:98); 流速:0.5 mL/min, 柱温:25℃, 检测波长:224 nm, 进样量:10 μL。见图 1。

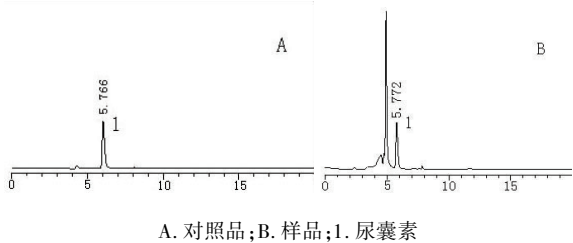


图 1 对照品和供试品中尿囊素的 HPLC

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取尿囊素对照品适量至 25 mL 容量瓶中,加入 20% 乙醇溶解,定容至刻度,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取样品粉末约 0.5 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 20% 乙醇 25 mL,称重,超声 45 分钟,放置至室温,称重,用 20% 乙醇补足减失的重量,摇匀,过滤,弃初滤液,取续滤液,过微孔滤膜(0.22 μm)即得。

2.2.4 标准曲线 精密称取尿囊素对照品约 13.65 mg,置 25 mL 容量瓶中,用 20% 乙醇定容至刻度,摇匀。依次进行等度稀释,得 0.0023、0.0046、0.0092、0.019、0.037、0.073、0.15、0.21、0.26 mg/mL 的对照品溶液,进样 10 μL,测定峰面积,以质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)制作标准曲线,回归方程为  $Y=5.81 \times 10^6 X - 2.42 \times 10^3$ ,  $r=0.9999$ ,线性范围为 0.00057~0.26 mg/mL。

2.2.5 方法学考察 (1)精密度试验:取 4 号样品粉末约 0.5g,精密称定,按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,连续进样 6 次,计算尿囊素质量分数, RSD 为 0.17%,表明该仪器精密度良好。(2)重复性试验:精密称取同一样品 6 份,每份约 0.50 g,按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,测定并计算尿囊

素质量分数, RSD 为 1.06%,表明重复性良好。(3)稳定性试验:精密称取同一供试品溶液,分别于 0、1、2、3、4、8、10、12 小时进样,测定并计算尿囊素质量分数, RSD 为 1.14%,表明该样品在 12 小时内稳定。(4)加样回收试验:精密称取 4 号样品(尿囊素含量为 1.04%)粉末 6 份,每份约 0.25 g,加入尿囊素对照品适量,测定含量并计算回收率,结果见表 3。

表 3 尿囊素回收率实验

称样量 (g)	样品中量 (mg)	标品加入量 (mg)	测得量 (mg)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.2504	2.23	2.97	5.29	101.17%	2.41
0.2495	2.22	2.97	5.32		
0.2504	2.23	2.97	5.28		
0.2509	2.23	2.97	5.17		
0.2506	2.23	2.97	5.15		
0.2507	2.23	2.97	5.18		
0.2507	2.23	2.97	5.18		

3 结果

3.1 总多糖含量测定结果

精密称取各个样品粉末约 1.5 g,分别按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,“2.1.3”项下方法测定总多糖含量;按照水分测定法<sup>[3]</sup>(第二法)测定山药样品的水分含量;计算山药样品的干燥品总多糖含量,采用 SPSS 17.0 对测定数据进行统计分析,结果见表 4 和表 5。从表 4 可以看出,河南产地山药中的总多糖含量明显比河北产地的总多糖含量高,二者有显著差异( $P<0.01$ )。

表 4 总多糖含量测定结果

样品编号	测得量(%)	水分含量(%)	干燥品含量(%)
1	13.12	7.46	14.18
2	13.85	8.60	15.15
3	12.33	8.48	13.47
4	15.53	8.13	16.90
5	12.48	7.83	13.54
6	6.34	7.34	6.84
7	8.36	9.05	9.19
8	10.92	7.80	11.84
9	6.07	8.10	6.61
10	4.03	8.33	4.40

表 5 总多糖结果统计分析

品种	总多糖含量(%)
怀山药(河南产)	14.65±1.43 <sup>a</sup>
怀山药(河北产)	7.78±2.83

注: <sup>a</sup> $P<0.01$ 。

3.2 样品尿囊素含量测定结果

精密称取各个山药样品约 0.5 g,按照“2.2.3”

项下制备供试品溶液,“2.2.4”项下测定并计算尿囊素含量;对所得数据进行统计学分析,结果见表6和表7。

表6 尿囊素含量测定结果

样品编号	测得量(%)	水分含量(%)	干燥品含量(%)
1	0.97	7.46	1.05
2	0.87	8.60	0.95
3	0.84	8.48	0.92
4	0.96	8.13	1.04
5	0.83	7.83	0.90
6	0.96	7.34	1.04
7	0.95	9.05	1.04
8	0.73	7.80	0.79
9	0.80	8.10	0.87
10	0.75	8.33	0.82

表7 尿囊素结果统计分析

品种	尿囊素(%)
怀山药(河南产)	0.97±0.07
怀山药(河北产)	0.91±0.12

注:  $P>0.05$

4 讨论

山药总多糖可以调节人体免疫系统,提高免疫力<sup>[4]</sup>;有显著的抗疲劳<sup>[5]</sup>和降低血糖等作用<sup>[6]</sup>;还有清除自由基、抗氧化作用,其抗氧化性随总多糖浓度的增加而增强,呈明显的剂量依赖性<sup>[7-9]</sup>;总多糖铁复合物可以较好地治疗缺铁性贫血<sup>[10]</sup>;从山药总多糖中分离得到的 RDPS-1 在一定浓度时对 Lewis 肺癌和 B16 黑色素瘤有显著的抑制效果<sup>[11]</sup>。何新蕾等<sup>[12]</sup>还发现铁棍山药总多糖对 CCl<sub>4</sub> 所诱导的小鼠肝损伤有一定的保护作用。尿囊素是山药的活性成分之一,具有抗刺激、麻醉镇痛、消炎抑菌等作用,常用于治疗手足皲裂、鱼鳞病、多种角化皮肤病等<sup>[13]</sup>。由此可以看出,总多糖可能是山药产生补益等作用的主要活性成分。

本研究参照文献<sup>[14]</sup>,对 HPLC 色谱条件进行了优化,比较了流动相比比例(10:90、5:95、2:98、1:99)、柱温(25℃、30℃、35℃)、流速(1.0、0.8、0.5、0.4、0.2 mL/min)等条件,按照色谱条件:流动相:乙腈-水(2:98),流速:0.5 mL/min,柱温:25℃,检测波长:224 nm,进样量:10 μL 测定时,基线稳定,出峰时间适当,分离效果好,确定此条件为 HPLC 测定条件。

对河南产地和河北产地的不同批次山药样品

中总多糖和尿囊素的含量进行统计学分析,发现河南产地山药中的总多糖含量(%)为(14.65±1.43),河北产地中为(7.78±2.83), $P<0.01$ ;河南产地和河北产地的山药中尿囊素含量没有显著性差异。由结果可知,河南产地的山药中含有较高的山药总多糖。多糖类成分具有抗肿瘤、抗氧化、降血糖、提高免疫力等作用,与山药的临床药理作用相符,提示河南产地的山药可能具有更高的药用价值;同时,多糖类成分可以作为评价山药品质的重要指标性成分之一。

怀山药的优良品种铁棍山药,是山药中的“珍品”,而本次研究所选取的山药即为铁棍山药,因此,实验具有一定的研究意义。

参 考 文 献

[1] 马继兴. 神农本草经辑注[M]. 北京:人民卫生出版社,1995: 67-68.

[2] 陶弘景. 本草经集注[M]. 北京:人民卫生出版社,1994: 203-204.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:103-105.

[4] 苗明三. 怀山药总多糖对小鼠免疫功能的增强作用[J]. 中药药理与临床,1997,13(3):25.

[5] 周庆峰,姜书纳,马亢,等. 铁棍山药总多糖抗疲劳及耐缺氧作用研究[J]. 时珍国医国药,2014,25(2):284-285.

[6] 郜红利,肖本见,梁文梅. 山药总多糖对糖尿病小鼠降血糖作用[J]. 中国公共卫生,2006,22(7):804-805.

[7] 王丽霞,刘安军,舒媛,等. 山药蛋白总多糖体外抗氧化作用的研究[J]. 现代生物医学进展,2008,8(2):242-245.

[8] 申森,陈志冉,樊欣. 山药总多糖的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(20):10581-10582,10584.

[9] 梁亦龙,阎光凡,舒坤贤,等. 山药水溶性总多糖的提取及抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发,2007,28(11):1-3.

[10] 王丽,杨伟鹏,刘绣华,等. 怀山药总多糖铁治疗缺铁性贫血小鼠的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):156-158.

[11] 赵国华,李志孝,陈宗道. 山药总多糖 RDPS-I 的结构分析及抗肿瘤活性[J]. 药学报,2003,38(1):37-41.

[12] 何新蕾,郭小慧,尹丽. 铁棍山药总多糖对四氯化碳诱导的急性小鼠肝损伤的保护作用[J]. 氨基酸和生物资源,2014,36(2):44-47.

[13] 姜芳婷,李明静,史会齐. 山药的研究[J]. 河南大学学报,2004,23(2):4.

[14] 王海波,蔡宝昌. 反相高效液相色谱法测定不同产地山药中尿囊素的含量[J]. 中药新药与临床药理,2004,15(3):190-192.

(收稿日期: 2015-12-19)  
(本文编辑: 董历华)