

龙胆多糖最佳提取工艺研究

史伟国¹, 张玉¹, 吴宏斌¹, 宗希明¹, 彭玉生¹, 赵化启²

(1. 佳木斯大学 药学院, 黑龙江省生物药制剂重点实验室, 黑龙江 佳木斯 154007;

2. 佳木斯大学 信息电子技术学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:以龙胆为原料,采用正交设计的方法,以匀浆时间、匀浆次数、料液比为考察因素,对匀浆法提取龙胆中龙胆多糖工艺进行研究,确定其最佳工艺条件,为龙胆药用资源研究与开发提供可靠依据。结果表明:龙胆多糖提取最佳工艺参数为:匀浆时间 9 min、匀浆次数 3 次、料液比 1 : 30(g : mL),在最佳条件下,龙胆多糖得率为 12.59%。匀浆提取法操作简单、减少粉尘污染、提取率高、提取时间短,是一种高效提取龙胆多糖的方法。

关键词:龙胆;龙胆多糖;匀浆提取;正交实验

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)09-0181-03

龙胆为龙胆科植物龙胆(*Gentiana scabra* Bunge)、条叶龙胆(*Gentiana manshurica* Kitag.)、三花龙胆(*Gentiana*

triflora pall.)的干燥根和根茎,临床常用于健胃、保肝、利胆,其抗炎、抗菌效果也很显著。近年来用于抗肿瘤、健胃、治疗急慢性肝炎等疾病也取得良好的疗效^[1]。

龙胆中有多种有效成分,多糖为龙胆有效成分之一,具有多种生物活性^[2]。目前,国内外研究龙胆多糖提取报导较少,普遍采用热水提取法^[3]、微波提取法^[4]、超声波提取法等^[5],提取时都需将物料进行粉碎,提取时间较长,操作相对繁琐,影响其提取效率。匀浆提取法是将物料和提取剂置于匀浆提取装置中进行混合匀浆,运用机械剪切的作用,使物料粉碎和有效成分提取

第一作者简介:史伟国(1969-),男,博士,副教授,研究方向为植物药研究与开发。E-mail:swg19701210@163.com。

基金项目:黑龙江省卫生厅科研资助项目(2010-476);黑龙江省卫生厅科研资助项目(2010-535);林业公益性行业科研专项资助项目(201004040-02);黑龙江省中医药管理局科研资助项目(ZHY10-Z112);佳木斯大学大学生科技创新资助项目(Dz2011-017)。

收稿日期:2012-02-20

[4] 魏生龙.食用菌栽培技术[M].兰州:甘肃人民出版社,2006.

[5] 程光华,王登辉,魏生龙.张掖市无公害食用菌生产技术规程应用手册[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2004:61-69.

[6] 黄建春,黄丹枫.双孢蘑菇培养料集中发酵工艺技术研究及其应用[J].上海农业学报,2005(2):53-57.

[7] 魏生龙.日光温室冬季浅地沟栽培双孢蘑菇技术[J].农业科技通讯,2003(10):14-15.

[8] 陈天仁,魏生龙.双孢蘑菇采收与盐渍加工技术[J].西北园艺,2003(3):49-50.

Fully Underground Efficient Water-saving Ridge Cultivation Technology of Planting *Agaricus bisporus* on Non-cultivated Land

WANG Xiao-ming¹, YU Hai-ping², ZHANG Han-yi¹, XI Ya-li¹, LIANG Qian-qian¹, WEI Sheng-long¹

(1. Edible Fungus Research Institute, Hexi University, Zhangye, Gansu 734000; 2. Science and Technology Bureau of Tianzhu, Tianzhu, Gansu 733200)

Abstract: The technology is a new practical and localized one producing *Agaricus bisporus* all the year with the desolated land as a base, plant straws and dung as raw materials, high-efficiency water-saving and circulated use of resources as a goal. Cultivated land is not occupied with the technology. The highest temperature in the greenhouse ranges from 16 centigrade to 18 centigrade. The relative humidity in it was from 80% to 85%. The average production was 13 kg every square meter. The benefit from each greenhouse was 30 000 yuan and water benefit was 70 yuan per cubic meter.

Key words: desolated land; *Agaricus bisporus*; localize; cultivation technology

同时进行,以强化提取活性成分的一种有效提取方法。该方法具有省时、操作简单、提取率高、减轻粉尘污染等优点。应用该方法对黄酮类、氨基酸、萜类物质进行提取的研究都有报道^[6-8],但将此方法应用到龙胆多糖提取方面的研究尚未见文献报道。现对匀浆法提取龙胆中龙胆多糖的工艺进行研究,为工业化提取龙胆多糖奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

龙胆(*Gentiana scabra* Bunge)购于佳木斯市金天大药房,经佳木斯大学药学院刘娟教授鉴定。葡萄糖对照品(中国药品生物制品检定所)、苯酚(国药集团化学试剂有限公司)、无水乙醇(中国杭州化学试剂有限公司)、浓硫酸(衢州巨化试剂有限公司)等分析纯、蒸馏水。RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣仪器厂)、LD5A 离心机(北京医用离心机厂)、TP3102 电子天平(余姚纪铭称重校验设备有限公司)、紫外可见分光光度计(山东高密彩虹分析仪器有限公司)、匀浆提取装置、SK-5210LHC 型超声波清洗机(上海科导超声仪器有限公司)、微波炉(海尔集团有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 龙胆多糖提取工艺流程 原料→清洗烘干→称重→加水→匀浆提取→过滤→离心(上清液)→真空浓缩→85%乙醇醇沉→离心(沉淀物)→干燥→龙胆粗多糖。

1.2.2 多糖含量测定及计算方法 采用苯酚-硫酸法,以葡萄糖作为标准品,采用紫外可见分光光度法在 490 nm 波长下测吸光度 A 值,以吸光度(A)为纵坐标,葡萄糖浓度(C)为横坐标测得葡萄糖溶液标准曲线方程为: $A=0.6605C+0.0131$,其相关系数 $R^2=0.9995$ 。龙胆多糖得率% = 提取液中多糖质量/药材干重 $\times 100\%$ 。

1.2.3 匀浆提取法单因素试验 试验分别选用了匀浆时间、液料比及匀浆次数作为主要考察因素,以龙胆多糖得率为考察指标,对单因素试验进行考察,得出龙胆多糖提取最优工艺条件。

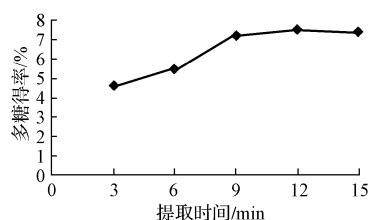


图1 匀浆时间对龙胆多糖得率的影响

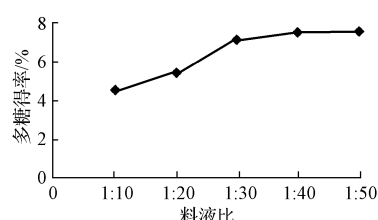


图2 不同料液比对龙胆多糖得率的影响

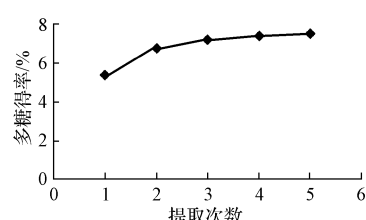


图3 不同匀浆提取次数对龙胆多糖得率影响

2.2 正交实验

由表 2 可知,匀浆提取法正交实验中各因素对龙胆多糖得率影响的主次顺序为 $A>B>C$, A 因素(提取时

1.2.4 匀浆时间对龙胆多糖得率的影响 取干燥龙胆药材 10.0 g,加入 100 mL 蒸馏水,分别提取 3、6、9、12、15 min,提取 2 次,考察不同匀浆提取时间对龙胆多糖得率的影响。

1.2.5 料液比对龙胆多糖得率的影响 取干燥龙胆药材 10.0 g,加入 10、20、30、40、50 倍量的蒸馏水,提取 2 次,每次 9 min,考察不同的料液比对龙胆多糖得率的影响。

1.2.6 匀浆提取次数对龙胆多糖得率的影响 取干燥龙胆药材 10.0 g,加入 10 倍量的蒸馏水,分别匀浆提取 1、2、3、4 次,每次 9 min,考察提取次数对龙胆多糖得率的影响。

1.2.7 正交实验设计 以龙胆多糖得率为指标,根据单因素考察结果,选择匀浆时间(A)、料液比(B)、提取次数(C)为影响因素,因素水平见表 1,采用 $L_9(3^3)$ 正交实验表进行。

表 1 匀浆法提取条件因素水平

水平	A 提取时间/min	B 料液比(V:W)	C 提取次数/次
1	6	1:20	1
2	9	1:30	2
3	12	1:40	3

2 结果与分析

2.1 单因素试验

由图 1 可知,随着匀浆时间的延长,多糖得率也相应增加,在匀浆时间升至 9 min 时达最高,如果提取时间过长,其它成分的溶出量也会相应增加,影响下一步多糖分离效果。因此,最佳匀浆提取时间为 9 min。

由图 2 可知,随着料液比增加,龙胆多糖得率也相应增加,如果料液比过大,导致耗能提高、成本增加,达不到良好的提取效率。因此,最佳匀浆提取料液比为 1:30。

由图 3 可知,匀浆提取次数不断增加,多糖得率也相应增加,匀浆提取次数越多,多糖溶出量越多,得率就越高,但提取次数不断增加,增加生产劳动成本。因此,最优匀浆提取次数为 3 次。

间)对多糖得率的影响具有极其显著差异,龙胆多糖提取最佳试验工艺为 $A_2B_2C_3$,即提取时间 9 min,料液比 1:30,提取 3 次。

表 2 正交实验设计与结果

实验号	A	B	C	多糖得率/%
1	1	1	1	7.16
2	1	2	2	9.94
3	1	3	3	10.36
4	2	1	2	9.81
5	2	2	3	12.59
6	2	3	1	11.93
7	3	1	3	8.76
8	3	2	1	9.70
9	3	3	2	9.34
K ₁	27.466	25.735	28.794	
K ₂	34.346	32.239	29.137	
K ₃	27.837	31.675	31.718	
R	6.880	6.503	2.926	

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	9.9828	2	4.991	26.443	<0.01
B	8.655	2	4.328	22.927	<0.05
C	1.704	2	0.852	4.513	>0.05
误差	0.188	2			

2.3 龙胆多糖提取工艺验证

为证实匀浆提取龙胆多糖最优工艺条件的可行性,根据 A₂B₂C₃ 条件对同一批药材进行 3 次试验,龙胆多糖得率分别为 12.65%、12.62%、12.57%,多糖的平均得率为 12.61%,说明该工艺稳定、可行。

3 结论

该试验采用的提取材料为干燥的龙胆根茎,匀浆提取法提取龙胆多糖最佳工艺参数为:匀浆时 9 min、匀浆 3 次、料液比 1:30(g:mL),多糖得率为 12.59%。

匀浆提取法操作步骤简单,省去了对物料进行粉碎步骤,降低了大量粉尘对环境的污染、具有提取时间短、提取率高、节能、不加温等优点,适用于工业大规模生产,对其它植物有效成分提取具有有效的参考价值。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 133.

[2] 丁一芳, 李连闯, 赵玺. 多糖的研究进展[J]. 黑龙江医药, 2006, 19(2): 123-126.

[3] 史琪云, 郭玉蓉, 陈德蓉. 食用菌多糖提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(2): 98-100.

[4] 孙国锋, 刘恒宇. 微波法提取龙胆多糖的工艺研究[J]. 中药材, 2007, 30(12): 1065-1068.

[5] 江蔚新, 朱正兰. 超声波提取龙胆多糖的研究[J]. 中草药, 2006, 36(6): 862-864.

[6] Holford K C, Edwards K A, Bendena W G, et al. Purification and characterization of amandibular organ protein from the *American lobster*, *Homarus americanus* a putative farnesyl transferase [J]. Insect BioM, 2004, 34: 785-798.

[7] 杨磊, 黄金明, 刘婷婷, 等. 响应面法优选红皮云杉针叶中莽草酸的匀浆提取工艺[J]. 森林工程, 2006, 26(6): 9-11.

[8] 祖元刚, 史伟国, 赵春健, 等. 喜树果中喜树碱和 10-羟基喜树碱的匀浆提取工艺[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(6): 1088-1090.

(该文的作者还有宫孟娣、李建军, 工作单位同第一作者。)

Study on the Technology of Homogenate Extraction of Gentiana Polysaccharide in *Gentiana scabra*

SHI Wei-guo¹, ZHANG Yu¹, LIU Juan¹, ZONG Xi-ming¹, WANG Li-hong¹, DU Juan¹, ZHAO Hua-q²

(1. College of Pharmacy of Jiamusi University, Key Laboratories of Heilongjiang Biological Medicine Preparations, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. College of Information and Electronic Technology, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: The method of homogenate extraction technology of *Gentiana scabra* Bunge polysaccharides in *Gentiana scabra* Bunge was researched. To determine the best technical conditions and provides the evidence and reference for *Gentiana scabra* Bunge polysaccharides extraction from the medicinal material or preparation. The most important influence of homogenate extraction time, extraction times, the ratio of sample to solution were set as index for orthogonal test, so as to acquire the proper extraction technical conditions of *Gentiana scabra* Bunge polysaccharides. The results showed the optimum condition of extraction of parameters were homogenate extracting duration for 9 min with extracted 3 times at a ratio of solid-liquid of 1:30 (g:mL). By using the optimized parameters, the extraction yield of *Gentiana scabra* Bunge polysaccharides was 12.59%. It may shorten the extraction time and high yield, which was an efficient method for extracting polysaccharides. It could be used for large scale industrialized production and provides the evidence and reference for *Gentiana scabra* Bunge polysaccharides extraction from the medicinal material or preparation.

Key words: *Gentiana scabra* Bunge; *Gentiana scabra* Bunge polysaccharide; homogenate extraction; orthogonal experiment