

水溶性龙胆多糖的提取工艺研究

王晨瑜, 刘鑫, 张晶, 王战勇

(辽宁石油化工大学 化学化工与环境学部 环境与生物工程学院, 辽宁 抚顺 113001)

摘要:以龙胆为试材,采用水提醇沉法,在单因素试验基础上,进行 $L_9(3^3)$ 正交实验优化设计,研究了水溶性龙胆多糖的最佳提取工艺条件,以期考查提取温度、提取时间、提取次数、液料比等因素对多糖提取率的影响。结果表明:提取温度 100°C ,料液比 $1:25$,提取时间 3.0 h ,提取次数 2 次,此时水溶性龙胆多糖的提取率最高,可达 $(14.0\pm 0.37)\%$ 。

关键词:多糖;优化;龙胆多糖;水溶性

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)10-0155-03

龙胆(*Gentiana scabra* Bunge)属龙胆科植物条叶龙胆、龙胆、三花龙胆或坚龙胆的干燥根和根茎。龙胆具有清热燥湿、泻肝胆火功效,可用于治疗湿热黄疸等症。龙胆还具有健胃、保肝、利胆等药理作用,在抗肿瘤、降血压、皮肤病治疗、各种慢性炎症治疗方面均取得了良好疗效^[1-2]。龙胆多糖为龙胆的有效成分之一,而多糖具有降血糖^[3]、降血脂、抗氧化^[4]、抗衰老^[5]、免疫调节^[6]、抗肿瘤、抗病毒、抗炎等功效,早已得到广泛的证明。

近年来,心脑血管疾病、肿瘤等各种疾病的发病率

明显上升,人口老龄化趋势越来越明显,开发具有增效减毒及抗癌双重作用的天然药物已成为研究热点^[7]。各种多糖类保健品应运而生,一些多糖类产品已进入商品化阶段或批量投放市场。龙胆多糖是一种具有抗肿瘤和增效减毒双重作用的天然药物^[1,8],对癌症治疗具有重要意义。该研究探讨了水溶性龙胆多糖的最佳提取工艺,以期龙胆进一步开发及应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试龙胆(*Gentiana scabra* Bunge)采自抚顺清原。苯酚购于北京鼎国生物技术有限责任公司;其余所有试剂均为国产分析纯。LD5-2A 低速离心机(北京医用离心机厂);ALC-1100.2 电子天平(德国赛多利斯股份公司);VIS-7220 可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司);DHG-9146A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);HH-4 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司)

第一作者简介:王晨瑜(1986-),女,山东滨州人,在读硕士,研究方向为生物化工。E-mail:dennistt@126.com.

责任作者:王战勇(1978-),男,辽宁抚顺人,博士,副教授,研究方向为生物活性物质开发。E-mail:wangzy125@gmail.com.

基金项目:抚顺市科学技术研究资助项目(FSKJHT201135)。

收稿日期:2013-01-25

Study on Extraction Process Optimum of Polysaccharides from *Houttuynia cordata* Thunb Using Ultra High Pressure Method

XIE Yin-jun¹, WU Xiang-mei¹, ZHANG Pei-qi²

(1. Department of Garden and Food Processing, Shangqiu Polytechnic, Shangqiu, Henan 476000; 2. School of Food and Biological Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou, Henan 450002)

Abstract: Using ultra high pressure method (UHP), based on the single factor test, the $L_9(3^4)$ orthogonal design was used to optimum extraction process of polysaccharides from *Houttuynia cordata* Thunb. The effect of solid to liquid ratio, ultra high pressure, extraction time on yields of polysaccharides from *Houttuynia cordata* Thunb was studied. The results showed that under the conditions of solid to liquid ratio $1:20\text{ g/mL}$, pressure 320 MPa and extract time 4.5 min , the yield of polysaccharides was 5.850% . This method was a better method for extracting polysaccharides from *Houttuynia cordata* Thunb.

Key words: ultra high pressure; *Houttuynia cordata* Thunb; polysaccharide; extraction

司);ALC-210.4 电子分析天平(德国赛多利斯股份公司);A11 basic 分析研磨机(德国 IKA 公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 样品制备 称取 1 000 g 干燥的龙胆,粉碎后用 80%乙醇(v/v)80℃回流脱脂 6 h,去除有色物质、单糖、低聚糖和小分子物质,4 000 r/min 离心 20 min,回收沉淀,60℃真空干燥后待用。

1.2.2 多糖提取工艺 准确称取龙胆预处理样品 10 g,将样品与水按设定好的提取温度、提取时间、料液比以及提取次数进行浸提后,4 000 r/min 离心 20 min,收集浸提液。加 3 倍体积无水乙醇醇沉过夜后,4 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀,沉淀使用无水乙醇洗涤 3 次,无水乙醚洗 1 次,充分干燥后即得龙胆粗多糖。

1.2.3 单因素试验 提取次数对水溶性龙胆多糖提取率的影响:称取 10 g 预处理龙胆粉末,料液比 1:20,提取温度 100℃,提取时间 2 h,提取次数 1、2、3、4、5 次,考察浸提次数对水溶性龙胆多糖提取率的影响。提取温度对水溶性龙胆多糖提取率的影响:分别称取 10 g 预处理龙胆粉末,料液比 1:20,提取时间 2 h,浸提 2 次,提取温度 60、70、80、90、95、100℃,考察不同提取温度对水溶性龙胆多糖提取率的影响。提取时间对水溶性龙胆多糖提取率的影响:分别称取 10 g 预处理龙胆粉末,料液比 1:20,提取温度 95℃,浸提 2 次,提取时间 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 h,考察不同提取时间对水溶性龙胆多糖提取率的影响。料液比对水溶性龙胆多糖提取率的影响:分别称取 10 g 预处理龙胆粉末,提取温度 95℃,提取时间 2.5 h,浸提 2 次,料液比 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30,考察不同料液比对水溶性龙胆多糖提取率的影响。

1.2.4 正交优化实验 根据单因素试验结果,在确定提取次数的前提下,取提取温度、提取时间、料液比 3 个因素的前 3 个水平,进行 3 因素 3 水平正交实验设计。

表 1 正交实验因素与水平

Table 1 The factors and levels of orthogonal test

水平	因素		
	A	B	C
	提取温度/℃	提取时间/h	料液比
1	90	2.0	1:20
2	95	2.5	1:25
3	100	3.0	1:30

1.3 项目测定

样品可溶性总糖含量采用苯酚-硫酸法测定^[9]。

2 结果与分析

2.1 提取次数对水溶性龙胆多糖提取率的影响

由图 1 可知,提取次数为 2 次已能够把绝大部分的多糖提取出来。此后继续增加提取次数,提取率增度较

小。提取次数的增加还会导致生产周期的延长和生产操作费成本的增加,而且提取次数过多也有可能降低多糖本身的活性。综合考虑确定提取次数为 2 次。

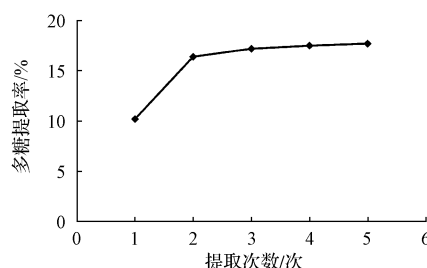


图 1 提取次数对水溶性龙胆多糖提取率的影响

Fig. 1 Effect of different extraction times on the yield of polysaccharides from *Gentiana scabra* Bunge

2.2 提取温度对水溶性龙胆多糖提取率的影响

由图 2 可知,多糖提取率在 60~95℃范围内呈直线上升,当提取温度高于 95℃,水溶性龙胆多糖的提取率降低。因此确定提取温度以 95℃为宜。

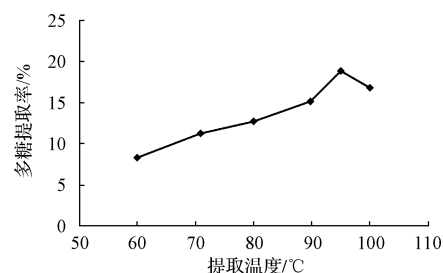


图 2 提取温度对水溶性龙胆多糖提取率的影响

Fig. 2 Effect of different extraction temperature on the yield of polysaccharides from *Gentiana scabra* Bunge

2.3 提取时间对水溶性龙胆多糖提取率的影响

由图 3 可看出,龙胆多糖提取率在提取时间为 1.0~2.5 h 内时增幅较大,提取时间大于 2.5 h 时增幅缓慢,一般来说,在扩散达平衡以前,多糖的提取率与提取时间成正比,达到扩散平衡后,提取时间对提取结果不再有影响。而提取时间过长还会增加能耗,延长生产周期,甚至还会引起多糖水解,使水溶性龙胆多糖产率

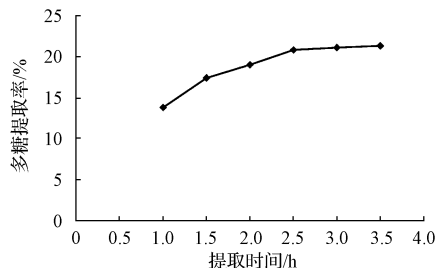


图 3 提取时间对水溶性龙胆多糖提取率的影响

Fig. 3 Effect of different extraction time on the yield of polysaccharides from *Gentiana scabra* Bunge

下降,综合考虑确定提取时间为 2.5 h。

2.4 料液比对水溶性龙胆多糖提取率的影响

由图 4 可看出,水溶性龙胆多糖的提取率随料液比的增大呈现先上升后平缓的趋势,料液比为 1:25 时,多糖的提取率达到峰值,当料液比超过 1:25 时,水溶性龙胆多糖的提取率无明显增加,因此,料液比以 1:25 为最佳比例。但应该指出的是,对于中等或大规模多糖提取工艺,配料比的确定将更为复杂,需要进一步研究。

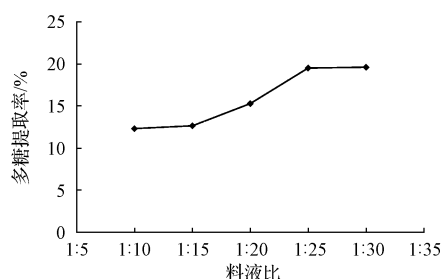


图 4 料液比对水溶性龙胆多糖提取率的影响

Fig. 4 Effect of different ratio of water to raw material on the yield of polysaccharides from *Gentiana scabra* Bunge

2.5 正交实验结果

根据单因素试验结果,在提取次数为 2 次时,进行正交设计。 K_n 表示以 n 水平试验的结果的均值。 R 表示因素极差,即 K_1' 、 K_2' 、 K_3' 中最大值与最小值之差。由表 2 可以看出,根据极差值大小,对多糖影响因素的主次顺序为 A(温度) > C(料液比) > B(提取时间)。多糖提取率最高时的最优培养条件为 $A_3B_3C_2$,即提取温度 100℃,提取时间为 3.0 h,料液比为 1:25。

3 结论

通过单因素试验和正交实验设计,确定了提取水溶性龙胆多糖的最适工艺条件为提取温度 100℃,料液比 1:25,提取时间 3.0 h,提取次数 2 次。此条件下,水溶性龙胆多糖的提取率可达 $(14.0 \pm 0.37)\%$ 。

表 2 正交实验直观分析结果

Table 2 The results of direct analysis on orthogonal test

试验号	因素			提取率 /%
	A	B	C	
1	1	1	1	9.6±0.12
2	1	2	2	9.7±0.24
3	1	3	3	9.2±0.25
4	2	1	2	10.0±0.31
5	2	2	3	8.4±0.25
6	2	3	1	10.7±0.34
7	3	1	3	11.5±0.28
8	3	2	1	13.2±0.31
9	3	3	2	14.0±0.37
K_1'	9.50	10.37	11.17	
K_2'	9.70	10.43	11.23	
K_3'	12.90	11.30	9.70	
R	3.2	0.93	1.53	

参考文献

- [1] 史伟国,张玉,吴宏斌,等.龙胆多糖最佳提取工艺研究[J].中草药,2012(9):181-183.
- [2] 刘涛,才谦,付玉芹,等.中药龙胆的研究进展[J].辽宁中医杂志,2004,31(1):85-86.
- [3] 吴寿金,李德玉.降血糖植物多糖的研究概况[J].中草药,1992,23(10):549-554.
- [4] Sun J, Yin G Y, Chen L Y. Extraction of pumpkin polysaccharide by complex enzyme method and its antioxidant research[J]. Agricultural Science and Technology, 2010, 11(5):34-37.
- [5] 苗明三,顾丽亚,方晓燕,等.芦笋多糖对衰老模型小鼠的影响[J].中国中药杂志,2004,29(7):673-675.
- [6] 吴茹笛.多糖的作用及其研究进展[J].沈阳师范大学学报(自然科学版),2008,26(2):221-223.
- [7] 赵永娟.半夏多糖抗肿瘤作用研究[J].中国药理学通报,2006,30(3):368-371.
- [8] Li R, Chen W C, Wang W P, et al. Optimization of extraction technology of *Astragalus* polysaccharides by response surface methodology and its effect on CD40[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 78(4):784-788.
- [9] 张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].杭州:浙江大学出版社,2003:11-12.

Study on Extraction of Water-solubility Polysaccharide from *Gentiana scabra* Bunge

WANG Chen-yu, LIU Xin, ZHANG Jing, WANG Zhan-yong

(School of Environmental and Biological Engineering, College of Chemical Engineering and Environmental Engineering, Liaoning Shihua University, Fushun, Liaoning 113001)

Abstract: Taking *Gentiana scabra* Bunge as material, the method of water extraction and alcohol sink were used to extract water-solubility polysaccharides from the *Gentiana scabra* Bunge. The influence of extraction temperature, extraction time, extraction number and ratio of water to raw material on the yield of *Gentiana scabra* Bunge polysaccharides (GSP) were investigated by $L_9(3^3)$ orthogonal test. The results showed that the extraction temperature was 100℃, ratio of water to raw material was 1:25, extraction time was 3.0 h, and extraction times was two. Under the optimize conditions, the experimental yield of GSP could reach $(14.0 \pm 0.37)\%$.

Key words: polysaccharides; optimization; *Gentiana scabra* Bunge; water-solubility