

## 地参多糖的提取工艺研究

陈贵元<sup>1,2</sup>, 张翠香<sup>2</sup>, 罗永会<sup>2</sup>, 熊伟<sup>2</sup>, 左绍远<sup>2</sup>, 谭德勇<sup>1\*</sup>

(1. 云南大学生命科学学院 生物化学与分子生物学实验室,昆明 650001;  
2. 大理学院基础医学院 生物化学与分子生物学教研室,云南大理 671000)

[摘要] 目的:开发利用地参中的多糖的价值。方法:采用无水乙醇回流脱脂,热水浸提法提取地参水溶性多糖。对提取时间、提取温度、料水比以及提取次数分别进行了单因素试验和 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验。结果:确定地参多糖最佳提取工艺条件为提取温度 80 ℃,提取料水比 1:15,提取时间 3 h,提取 1 次。结论:该方法操作简便、提取迅速、并能获得含量较高的多糖成分,在该工艺条件下地参多糖得率为 16.8%。

[关键词] 地参多糖; 正交试验; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)21-0038-03

## Extraction of Polysaccharides from *Lycopus lucidus*

CHEN Gui-yuan<sup>1,2</sup>, ZHANG Cui-xiang<sup>2</sup>, LUO Yong-hui<sup>2</sup>, XIONG Wei<sup>2</sup>, ZUO Shao-yuan<sup>2</sup>, TAN De-yong<sup>1\*</sup>

(1. Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Yunnan University, Kunming 650001, China;  
2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Dali University, Dali 671000, China)

[Abstract] Objective: In order to develop and use the polysaccharide in *Lycopus lucidus*. Method: In this paper, the hot extraction method was chosen to extract the water-soluble polysaccharides from *L. lucidus*. Orthogonal

[收稿日期] 20101123(014)

[基金项目] 大理学院科学研究基金(2007X26)

[第一作者] 陈贵元,实验师,在读博士,从事生物化学与分子生物学研究

[通讯作者] \*谭德勇,教授,博士生导师,从事多糖的研究, Tel:13187851555, E-mail:dytan@ynu.edu.cn

曲线图及对曲线进行直线回归,见表 2。

表 2 不同批次 O/W 型紫草软膏的 Higuchi 方程及透皮速率(n=3)

| 批号 | Higuchi 方程             | J/ $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ | r      |
|----|------------------------|---|--------|
| 1  | $Q = 14.467t + 8.1333$ | 14.467  | 0.9973 |
| 2  | $Q = 15.192t + 9.1088$ | 15.192  | 0.9912 |
| 3  | $Q = 14.733t + 9.4$    | 14.733  | 0.9951 |

结果表明,按照 2.2.1.3 方法制备的 O/W 型紫草软膏,体外渗透性实验重现性较好,各批次 O/W 型紫草软膏的体外透皮速率无显著差异,平均 J 值为  $14.797 \mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。O/W 型紫草软膏的体外渗透性呈线性关系,24 h 时单位面积的左旋紫草素的平均累计透过量可以达到 83%,因此在处方中不需要添加促渗剂来促进左旋紫草素的透皮吸收。

### 3 讨论

紫草中有效成分大多为脂溶性成分,制备成 O/W 型软膏有利于有效成分的释放和透皮吸收,本实验制备的紫草 O/W 型软膏稠度适中、均匀、细腻,并且无须添加促渗剂即可达到很好的透皮吸收效果,为进一步开发紫草透皮吸收制剂奠定了一定的基础。

### [参考文献]

- [1] 杜丰,李荣生,王乃婕,等. 双氢青蒿素软膏处方筛选及体外渗透性研究[J]. 中国中医药信息杂志,2008,15(9): 49.
- [2] 蔡玫,张元. HPLC 测定紫草软胶囊中左旋紫草素的含量[J]. 中国热带医学,2008,8(8): 1443.

[责任编辑 全燕]

test and single factor test were respectively performed on the solid-liquid ratio, temperature, time of the extraction, and times of the extraction. **Result:** The best technological conditions were as follows: the temperature of extraction was 80 °C, the ratio of water to sample was 15:1, and the time of extraction was 3 hours, extracting 1 time. **Conclusion:** The method is easy to operate, rapid to extract, and able to obtain the high content of polysaccharide. And under the extraction conditions, the yield of polysaccharides was up to 16.8%.

[**Key words**] *Lycopus lucidus* polysaccharide; orthogonal test; extracting technology

多糖广泛存在于动物、植物和微生物细胞中,研究表明多糖具有抗肿瘤作用、降血糖作用、增强人体免疫力以及抗病毒等多种生物活性<sup>[1-5]</sup>。

地参(*Lycopus lucidus* Turcz.)又名虫草参,银条菜,为唇形科属多年生草本植物,菜药兼用,在我国主要产于云南、广西。地参含有多种药用成分,具有活血、利尿、通经、滋阴、润燥、调血脂、通窍、利关节、养气血等功能。目前,对太子参、西洋参等植物多糖的提取工艺的研究已有报道<sup>[6-7]</sup>,但对云南特产地参多糖的提取方法及其生物活性方面的研究尚未见报道。本实验采用正交实验方法对地参多糖提取的几个关键因素进行了考察,建立了一套实验室提取地参多糖的方法,为地参多糖的进一步研究提供参考。

## 1 材料

地参购于大理市剑川县农贸市场;葡萄糖对照品(国药集团化学试剂有限公司进口分装,批号20071025);其他化学试剂均为国产分析纯。

B600型低速自动平衡离心机(上海医用分析仪器厂),SH-2型磁力搅拌器(北京洪博达科技有限公司),BT-224S型电子分析天平(德国赛多利斯仪器有限公司),FD-1型冷冻干燥机(北京博医康技术有限公司),UV 2550型紫外分光光度计(日本岛津苏州仪器有限公司),恒温水浴锅(上海博迅达实业有限公司医药设备厂)。

## 2 方法及结果

**2.1 地参多糖提取工艺流程** 地参干料→粉碎→脱脂(5倍体积无水乙醇70 °C回流2次,每次2.5 h)→加水浸提→离心→浓缩→乙醇沉淀→离心→沉淀60 °C恒温干燥→地参多糖精制粗品。

**2.2 多糖含量测定** 标准曲线的绘制:精确称取已经干燥至恒重的葡萄糖对照品24 mg,用500 mL蒸馏水定容至刻度,分别吸取0,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2,1.4,1.6,1.8 mL,各以蒸馏水补至2.0 mL,然后加入5%苯酚水溶液0.5 mL,再沿着试管壁缓慢滴入浓硫酸至总体积达10 mL,用快速旋涡混匀器

混合均匀后,室温放置30 min,在波长490 nm处测定吸光度。以质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程: $Y = 0.0062X + 0.0239$  ( $R^2 = 0.9979$ )。

样品测定:吸取样品液1.0 mL按上述步骤操作,测定吸光度,以标准曲线计算多糖含量<sup>[8]</sup>。

## 2.3 多糖提取单因素试验

**2.3.1 浸提时间对多糖得率的影响** 提取时间采用1,2,3,4,5 h,5个水平,结果提取物中多糖质量分数分别为5.81%,9.73%,12.44%,12.53%,12.61%。提取时间<3 h时,随着提取时间的延长,多糖得率增加,3 h后多糖得率增加缓慢,从节约成本方面考虑提取时间以3 h为宜。

**2.3.2 浸提温度对粗多糖得率的影响** 提取温度采用50,60,70,80,90 °C 5个水平,水料比采用分别为5:1,10:1,15:1,20:1,30:1,5个水平,结果提取物中多糖质量分数分别为5.42%,9.37%,11.88%,12.98%,13.2%。随着提取温度的升高,多糖得率增加,但当温度升高到70 °C后,多糖得率增加缓慢。

**2.3.3 不同水料比对粗多糖得率的影响** 水料比采用分别为5:1,10:1,15:1,20:1,30:1,5个水平,结果提取物中多糖质量分数分别为4.89%,9.87%,12.24%,12.3%,12.58%。当料水比达到1:15时多糖得率显著增加,当料水比超过该比值时,料水比对多糖得率无显著影响。

**2.3.4 提取次数对粗多糖得率的影响** 提取次数采用1,2,3次3个水平分别进行单因素试验。结果提取物中多糖质量分数分别为11.83%,12.42%,12.32%。随着次数增加多糖得率小幅度上升并趋于稳定,从能源和成本方面考虑,选择提取1次较为经济。

**2.4 地参多糖提取工艺优化** 在单因素试验基础上,选择提取时间、料水比、提取温度、提取次数4个因素,以多糖含量为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计,进行3因素4水平试验,研究多糖提取的最佳工艺

参数。

**2.5 正交试验优化** 在单因素试验的基础上, 选定 4 因素 3 水平作正交试验, 因素水平、结果见表 2。

表 2 地参多糖提取正交实验及结果

| No.   | A<br>提取时间<br>/h | B<br>提取温度<br>/℃ | C<br>料水比 | D<br>提取次数 | 多糖得率<br>/% |
|-------|-----------------|-----------------|----------|-----------|------------|
| 1     | 1               | 70              | 1:15     | 1         | 8.4        |
| 2     | 2               | 70              | 1:20     | 2         | 9.3        |
| 3     | 3               | 70              | 1:25     | 3         | 8.7        |
| 4     | 1               | 80              | 1:20     | 3         | 9.2        |
| 5     | 2               | 80              | 1:25     | 1         | 11.8       |
| 6     | 3               | 80              | 1:15     | 2         | 13.6       |
| 7     | 1               | 90              | 1:25     | 2         | 9.4        |
| 8     | 2               | 90              | 1:15     | 3         | 12.1       |
| 9     | 3               | 90              | 1:20     | 1         | 12.4       |
| $K_1$ | 9.0             | 8.8             | 11.4     | 10.7      |            |
| $K_2$ | 11.0            | 11.5            | 10.3     | 10.4      |            |
| $K_3$ | 11.6            | 11.3            | 10.0     | 10.0      |            |
| $R$   | 2.6             | 2.7             | 1.4      | 0.7       |            |

通过极差分析  $R$  可以得出, 4 个因素极差  $R$  值大小顺序为  $B > A > C > D$ , 对地参多糖提取得率的影响因素依次为提取温度 > 提取时间 > 料水比 > 提取次数。较好的提取条件为  $A_3B_2C_1D_1$ , 即提取条件为提取时间 3 h, 提取温度 80 ℃, 料水比 1:15, 提取 1 次。在该优化条件下多糖得率提高到 16.8%, 表明该工艺条件可行。

### 3 结论

本文研究报道了地参多糖的实验室提取工艺, 最佳提取条件为提取温度 80 ℃, 料水比 1:15, 提取时间 3 h, 提取 1 次, 可为地参多糖的中试生产及工业开发提供实验参考。

### [参考文献]

[1] 季宇彬. 中药多糖的化学与药理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005:23.

[2] 左绍远. 植物多糖类生物活性研究进展[J]. 大理学院学报: 自然科学版, 2005, 3(4):78.

[3] 宁安红, 曹静, 魏彬, 等. 灵芝多糖对小鼠肿瘤的抑制机制作用及免疫指标的观察[J]. 肿瘤研究与临床, 2004, 16:147.

[4] 李丽, 王乃平. 植物多糖的药理作用研究纂要[J]. 中医学刊, 2004, 10:158.

[5] 赵俊, 吴宏, 王亚平. 人参多糖的化学与药理学研究进展[J]. 国外医学: 中医中药分册, 2004, 26(2):79.

[6] 张陆军, 丁怡, 陈芸芸, 等. 太子参多糖制备工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(12):1201.

[7] 马秀俐, 郝春燕, 朱伟, 等. 西洋参多糖 5-2 的分离、性质和活性研究[J]. 中国药学杂志, 1998, 33(8):494.

[8] 宁丽, 郭立忠, 王志华, 等. 白灵菇子实体氨基酸及多糖含量的测定[J]. 青岛农业大学学报: 自然科学版, 2007, 36(9):25.

[9] 王文平, 郭祀远, 李琳, 等. 考马斯亮蓝法测定野木瓜多糖中蛋白质的含量[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(1):115.

[10] 范伟平. 白花蛇舌草多糖的提取与纯化[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2001, 6:22.

[责任编辑 仝燕]