

3 种中药多糖的提取工艺

张伟杰*, 王鹏, 林茜, 李言, 张庆宏, 李岳秦
(兰州理工大学生命科学与工程学院, 兰州 730050)

[摘要] 目的:探讨了热水浸提 3 种中药多糖提取工艺参数的差异,通过正交试验确定了其最佳提取条件并寻求 1 种混合提取的工艺条件。方法:采用热水浸提法正交试验并同时对其他 2 种多糖的提取方法进行综合比较。结果:川芎多糖提取最优条件为提取温度 90 ℃,料液比 1:20,提取时间 1 h;赤芍多糖提取最优条件为提取温度 80 ℃,料液比 1:20,提取时间 4 h;黄柏多糖提取最优条件为提取温度 90 ℃,料液比 1:10,提取时间 4 h。同时和其他 2 种方法比较,热水浸提法较合适。结论:热水浸提法比较符合 3 种多糖的混合提取的要求。

[关键词] 川芎;赤芍;黄柏;多糖;提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0019-05

Extraction Process of Three Kinds of Chinese Herbs Polysaccharides

ZHANG Wei-jie*, WANG Peng, LIN Qian, LI Yan, ZHANG Qing-hong, LI Yue-qin
(College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] **Objective:** To study the difference of the process parameters with the three kinds of Chinese herbs polysaccharides by hot water extraction, and to investigate the possibility of combination extraction by orthogonal experiments. **Method:** Optimize extraction process of three kinds of polysaccharide respectively by orthogonal test, compare yield and water-solubility of polysaccharide extracted with optimal hot water extraction, alkali extraction and sonic extraction. **Result:** Optimal extraction processes of Rhizoma Chuanxiong polysaccharide was: the temperature of extraction was at 90 ℃, the ratio of sample to solution was 1:20, and extraction time was 1 h. Optimal extraction processes of Radix Paeoniae Rubra polysaccharide was the temperature of extraction at 80 ℃, the ratio of sample to solution 1:20, and extraction time 4 h. Optimal extraction processes of Cortex Phellodendri Chinensis polysaccharide was extraction temperature 90 ℃, the ratio of sample to solution 1:10, and extraction time 4 h. At the same time compared with polysaccharides extracted by the other two methods, polysaccharide extracted by hot water extraction has higher yield and solubility. **Conclusion:** The hot water extraction is more suitable for combination extraction.

[Key words] Rhizoma Chuanxiong; Radix Paeoniae Rubra; Cortex Phellodendri Chinensis; polysaccharide; extraction technology

研究表明,植物多糖具有明显的调节免疫、抗病毒、抗肿瘤作用^[1],且一些植物多糖同时也有抗氧化、降血糖血脂、抗炎等广泛的生物活性。中药川

芎、赤芍和黄柏均为我国传统医学中重要的常用中药材,在中医疗效里均有活血化瘀、阵痛、补血补气之功效,药理学研究表明这 3 味药还同时具有抗癌、增强免疫及抗动脉硬化等良好的生物活性^[2-4]。目前对于 3 种中药的小分子成分研究较多,对多糖的提取及活性的研究甚少。这 3 种中药经常在处方中组合应用,其药效成分包括小分子和多糖可能存在协同作用。目前中药多糖很少有复方应用,除因复方药效学研究较为困难外,不能找到一种简便方法

[收稿日期] 20101112(005)

[基金项目] 兰州理工大学博士基金项目(0908ZXC128);浙江省重大科技攻关项目(2010C13009)

[通讯作者] * 张伟杰,副教授,博士,从事药理学研究, Tel: 0931-2976707, E-mail: brossica@163.com

在多糖混合物中对某种中药来源的多糖进行精确定量也是一个重要的限制条件。因此本研究对 3 种中药多糖传统热水浸提工艺进行优化研究,探索最佳的提取工艺条件,在此基础上,研究同种多糖提取工艺即热水浸提法对于不同多糖提取中是否会存在差异性,包括提取工艺参数和提取率以及多糖含量等指标;并对不同提取方法的多糖得率和溶解性进行比较,分析 3 种多糖组合提取的可行性,为复方多糖的研究和应用奠定基础。

1 材料

中药材川芎、赤芍和黄柏均购于兰州黄河药材市场(经兰州理工大学生命科学与工程学院,杨林副教授鉴定,符合《中国药典》2010 年版规定),提取前 3 种中药干燥后粉碎成干粉。

ES-2002H 型电子天平(长沙湘平科技发展有限公司),KQ-5200 型超声波发生装置(昆山超声仪器),ZF-7 型三用紫外分析仪(上海金达生化仪器有限公司)。

葡萄糖、苯酚、硫酸、乙醇、石油醚、三氯甲烷等均为分析纯试剂。

2 方法与结果

2.1 热水浸提法 准确称取预处理后的川芎 50 g 于圆底烧瓶中,加入石油醚(沸程 60 ~ 90 °C)250 mL 回流 2 h,脱脂后,抽滤、风干;加入 95% 乙醇 250 mL 回流 2 h,除单糖、低聚糖,抽滤。滤渣再加入一定量的蒸馏水浸泡过夜;然后回流一定时间,趁热抽滤,连续提取 2 次,旋转蒸发浓缩至小体积待用。采用相同工艺提取赤芍和黄柏。

2.2 3 种中药多糖的精制 3 种中药多糖溶液加入 Sevag 试剂(三氯甲烷-正丁醇 5:1)除蛋白,在 4 °C,3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上清液。反复处理,直至无蛋白层出现,完全脱去蛋白为止^[5]。向上清多糖溶液中加入 3 倍体积 95% 乙醇醇沉过夜,离心取沉淀依次用无水乙醇、丙酮和无水乙醚反复洗涤,经真空干燥后得到精制的 3 种中药多糖。

2.3 标准曲线绘制及其多糖含量测定 采用硫酸-苯酚法^[6]进行测定,精密称取无水葡萄糖标准品 0.05 g 于 100 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,然后精密量取 5 mL,置 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(质量浓度 0.05 g·L⁻¹)。精密量取对照品溶液 0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL,分别置于 25 mL 具塞刻度试管中,各加

水至 2.0 mL,在加入 6% 苯酚溶液 1 mL,浓硫酸 5 mL,摇匀,放冷至室温后,置 60 °C 水浴中保温 20 min 取出,立即冷却至室温。在 490 nm 波长处测定吸光度,以吸光度值为纵坐标,葡萄糖含量为横坐标,得标准曲线方程 $Y = 18.36X - 0.0198$ ($r = 0.9991$),根据标准曲线算出多糖含量。

$$\text{多糖质量分数} = C \times D \times F / W \times 100\%$$

式中, W 为多糖质量, C 为多糖稀释液中葡萄糖质量浓度, D 为稀释因素, F 为换算因子。

$$\text{多糖提取率} = (\text{多糖质量} / \text{药材原料质量}) \times 100\%$$

2.4 热水浸提提取工艺正交试验设计 对提取温度(A)、料液比(B)和提取时间(C)3 个因素进行 $L_3(3^4)$ 正交试验(表 1),确定最佳的提取工艺,并对最佳工艺进行重复性实验考察。同时将其与碱提取工艺和超声辅助提取工艺进行比较。

表 1 川芎、赤芍和黄柏热水浸提提取工艺正交试验因素水平

水平	A 提取温度/°C	B 料液比	C 提取时间/h
1	70	1:05	1
2	80	1:10	2
3	90	1:20	4

2.4.1 川芎多糖热水浸提工艺条件优化 正交试验结果见表 2。根据表 3 的方差分析来看, A, B, C 影响大小顺序为 $A > B > C$,提取温度影响最大、最显著,其次为料液比,提取时间影响最小。最佳提取工艺为 $A_3B_3C_1$,即提取温度为 90 °C,料液比为 1:20,提取时间为 1 h,但此条件在正交表中并没有出现。

表 2 川芎多糖提取正交试验

No.	A	B	C	提取率/%
1	1	1	1	2.12
2	1	2	2	2.84
3	1	3	3	3.24
4	2	1	2	3.06
5	2	2	3	3.30
6	2	3	1	5.02
7	3	1	3	3.74
8	3	2	1	4.74
9	3	3	2	5.44
K_1	8.22	8.92	11.88	
K_2	11.38	10.9	11.36	
K_3	13.92	13.7	10.28	
R	1.9	1.6	0.54	

表3 川芎多糖提取正交试验方差分析

误差来源	SS	f	MS	F	P
A	5.45	2	2.73	45.5	<0.05
B	3.85	2	1.93	32.2	<0.05
C	0.41	2	0.21	3.5	
误差	0.11	2	0.06		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99$ (表5,7同)。

2.4.2 赤芍多糖热水浸提工艺条件优化 同样对提取工艺中的提取温度、料液比和提取时间进行正交试验,其试验结果说明(表4,5)各个因素的影响大小顺序为 $A > B > C$,即提取温度影响最大,从极差分析中可以看出最优提取温度 $80\text{ }^\circ\text{C}$;其次为料液比 $1:20$,提取时间影响不大,最优提取时间 4 h 。最佳提取条件为提取温度 $80\text{ }^\circ\text{C}$,料液比 $1:20$,提取时间 4 h 。

表4 赤芍多糖提取正交试验

No.	A	B	C	提取率/%
1	1	1	1	1.75
2	1	2	2	1.62
3	1	3	3	2.13
4	2	1	2	2.52
5	2	2	3	6.12
6	2	3	1	5.43
7	3	1	3	3.72
8	3	2	1	4.37
9	3	3	2	5.24
K_1	5.5	7.99	11.55	
K_2	14.07	12.11	9.38	
K_3	13.33	12.8	11.97	
R	2.86	1.61	0.86	

表5 赤芍多糖提取正交试验方差分析

误差来源	SS	f	MS	F	P
A	15.03	2	7.52	11.75	
B	4.51	2	2.26	3.53	
C	2.8	2	1.4	2.19	
误差	1.28	2	0.64		

2.4.3 黄柏多糖热水浸提工艺条件优化 对黄柏多糖热水浸提法中的提取时间、料液比和提取时间进行正交实验,其正交结果说明(表6,7)对于黄柏多糖提取来说,其提取温度影响最显著,其次为料液比,而提取时间影响不大。各因素的影响大小顺序

为 $A > B > C$,其最佳提取组合为 $A_3B_2C_3$,温度 $90\text{ }^\circ\text{C}$,料液比 $1:10$,提取时间 4 h ,此最佳条件也没有包括在正交试验中。

表6 黄柏多糖提取正交试验

No.	A	B	C	提取率/%
1	1	1	1	1.84
2	1	2	2	2.03
3	1	3	3	2.1
4	2	1	2	1.74
5	2	2	3	2.67
6	2	3	1	2.35
7	3	1	3	2.68
8	3	2	1	3.24
9	3	3	2	2.98
K_1	5.97	6.26	7.43	
K_2	6.76	7.94	6.75	
K_3	8.9	7.43	7.45	
R	0.98	0.56	0.23	

表7 黄柏多糖正交试验方差分析

误差来源	SS	f	MS	F	P
A	1.54	2	0.77	38.5	<0.05
B	0.5	2	0.25	12.5	
C	0.11	2	0.06	3	
误差	0.04	2	0.02		

2.4.4 最佳工艺的验证试验及其精密度试验 采用最佳提取工艺参数进行提取验证,并进行重复试验确定工艺的稳定性。结果证明,通过正交试验得到的最佳提取工艺中,川芎多糖提取率为 5.60% ;赤芍多糖提取率为 6.12% ;黄柏多糖提取率为 3.78% ,通过重复性试验表明其3种多糖的最佳提取工艺的重复性和精密性均良好。

2.4.5 热水浸提工艺不同多糖提取的比较 通过3种中药多糖的最优工艺提取多糖并进行相关指标测定,结果见表8。

表8 不同多糖的热水浸提工艺比较

药材种类	提取率/%	多糖含量/%	水溶性
川芎	5.6	36	易溶
赤芍	6.12	41.15	易溶
黄柏	3.78	16.93	可溶

表8结果表明,不仅3种多糖通过热水浸提法所得到的提取因素存在差异,同时得到的多糖相关

指标也是存在差异的。

2.4.6 最佳工艺与碱法提取工艺和超声辅助提取工艺的比较 采用碱法提取^[13]和超声辅助提取法^[14-15]进行 3 种多糖的提取,并进行硫酸-苯酚法测定其多糖的含量,以及其水溶性比较,结果见表 9~11。

表 9 川芎多糖不同提取工艺比较

提取工艺	提取率/%	多糖含量/%	水溶性 ¹⁾
热水浸	5.6	36	易溶
碱法	4.3	30.19	易溶
超声辅助	1.65	21.53	可溶

注: ¹⁾ 易溶 $s > 10$ g, 可溶 $s > 1$ g, 微溶 $s > 0.1$ g, 难溶 $s < 0.01$ g。(表 10, 11 同)。

表 10 赤芍多糖不同提取工艺比较

提取工艺	提取率/%	多糖含量/%	水溶性 ¹⁾
热水浸	6.12	41.15	易溶
碱法	5.67	34.61	可溶
超声辅助	2.02	18.2	可溶

表 11 黄柏多糖不同提取工艺比较

提取工艺	提取率/%	多糖含量/%	水溶性 ¹⁾
热水浸	3.78	16.93	可溶
碱法	4.94	14.18	易溶
超声辅助	3.34	13.73	可溶

结果表明,川芎和赤芍多糖不同提取工艺中,热水浸提法具有比较好的效果,各个指标均优于其他 2 种方法。而黄柏多糖提取中,碱法提取效果略好,可能原因在于在黄柏多糖中适合碱提的多糖占优势,且碱法提取的黄柏多糖相对分子质量较小,水溶性较高。从 3 种多糖的 3 种工艺来分析,热水浸提法对于 3 种多糖的混合提取的可能性最大。

3 讨论

关于多糖含量方面的差异主要存在两方面的原因:3 种中药的多糖含量本身有差异,川芎药材中多糖含量为 23.56%;赤芍药材中多糖含量 41.74%;黄柏药材中多糖含量仅为 6.94%,差异比较明显^[7-8]。植物多糖的结构复杂,种类繁多,不同的多糖提取工艺对多糖提取率和多糖含量也会有不同,如赵宇等^[9]根据多糖的结构不同,考虑在水提取液中加入碱来提取含有糖醛酸的多糖,从而提高多糖得率。而多糖的溶解度的主要受到多糖分子间氢键的相互作用以及分子质量大小的影响^[9-10],同时不同

类别的多糖其溶解性也是不同的,如酸性多糖不溶于热水^[12]。对于这 3 种多糖来说热水浸提得到的多糖分子质量大小和交联程度存在一定差异,同时多糖性质和多糖中存在的杂质都影响 3 种多糖的溶解性。本次研究通过 3 种中药多糖的热水浸提提取工艺进行正交设计对提取温度、料液比和提取时间进行优化,结果表明:3 种多糖提取工艺中,其提取温度均具有显著的影响,其次为料液比和提取时间;川芎多糖最佳提取条件为提取温度 90 ℃,料液比 1:20,提取时间 1 h;赤芍多糖最优工艺为提取温度 80 ℃,料液比 1:20,提取时间 4 h;黄柏多糖的最佳提取工艺为提取温度 90 ℃,料液比 1:10,提取时间 4 h,且最佳工艺具有良好的精密度和稳定性。同时根据其提取工艺不同指标并综合提取率等提取结果分析,最适合的混合提取工艺为提取温度 90 ℃、料液比 1:20、提取时间 4 h。

碱法提取中药多糖中碱溶液有助于解除植物细胞壁聚合物分子间的物理和化学的相互作用,从而提高多糖产率^[16-17]。超声波提取则利用超声波具有空化效应和其他效应,这些效应增加了介质的相互反应,有利于使植物中的有效成分的转移,促进提取的进行,缩短提取时间,提高药物有效成分的提取率^[18]。与碱法提取工艺和超声辅助提取工艺相比,热水浸提法得率较高,获得的多糖水溶性较好。由于这 3 种中药多糖含量各异,结构和药理学效应也有差异,要找到 1 种适合 3 种多糖复合应用的最优工艺,还需要在投料比,混合提取工艺优化以及协同应用的最佳配方等方面进行深入研究。

[参考文献]

- [1] 朱欣婷. 植物多糖的生物活性研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (28): 12076.
- [2] 杨丽红, 谢秀琼, 万丽, 等. 川芎化学成分研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18 (7): 1576.
- [3] 宋建德, 袁丽萍, 梁勇. 药用植物多糖的免疫作用研究进展[J]. 中兽医医药杂志, 2004, 12 (4): 22.
- [4] 陈蕾, 邸大琳. 黄柏体外抑菌作用研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17 (5): 75.
- [5] 郭辉, 李善玲, 张红旭, 等. 红毛五加粗多糖脱蛋白工艺比较[J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18 (6): 53.
- [6] 宁正祥. 食品成分分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 9.

参芪益气固本片干燥方法考察

李向军, 王世华, 安军永, 王超, 李云鹏, 秦拢, 王猛, 王永
(石家庄以岭药业股份有限公司, 石家庄 050035)

[摘要] 目的: 确定参芪益气固本片最佳的干燥方法。方法: 分别采用减压干燥、喷雾干燥、带式干燥进行优选, 以出粉量、水分、薄层色谱、芍药苷含量为指标考察。结果: 确定带式干燥方法, 真空度为 -0.1 MPa, 湿度 80°C , 加料速度 5 L, 腹带速度 10 Hz。结论: 优选的干燥方法合理, 有效成分不被破坏, 适合连续的大生产, 且可以降低生产成本, 提高本品的市场竞争力。

[关键词] 参芪益气固本片; 带式干燥; 减压干燥; 喷雾干燥; 薄层色谱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0023-03

Shenqi Yiqi Guben Tablet with Different Drying Methods

LI Xiang-jun, WANG Shi-hua, AN Jun-yong, WANG Chao, LI Yun-peng, QIN Long, WANG Meng, WANG Yong
(Shijiazhuang Yiling Pharmaceutical Co. Ltd., Shijiazhuang 050035, China)

[Abstract] **Objective:** To ascertain the best drying method for Shenqi Yiqi Guben tablet. **Method:** Optimized process respectively with vacuum drying, spray drying and belt drying, inspected the amount of powder, water content, thin layer chromatography, paeoniflorin as the index. **Result:** The belt drying was the best process. Vacuum of -0.1 MPa, drying temperature 80°C , feed rate 5 L, track speed 10 Hz. **Conclusion:** The optimal drying method is reasonable, the active ingredient is not destroyed, suitable for continuous large-scale production, and can reduce production costs and improve the market competitiveness of this product.

[收稿日期] 20110409(001)

[第一作者] 李向军, 高级工程师, 河北以岭医药研究院副院长, 从事中药和化药的新药注册工作及新药质量标准、成型工艺方面的研究, Tel: 0311-85901748, E-mail: 10321@126.com

- [7] 张珊珊, 贺福元, 胥新元. 补阳还五汤及单味药材多糖成分含量的比较研究[J]. 湖南中医学院学报, 2001, 21(1): 13.
- [8] 李卫斌, 阳文辉, 黄锁义. DNS法测定黄柏中总糖的含量[J]. 右江民族医学院学报, 2008, 30(1): 13.
- [9] 赵宇, 彭晓霞. 多糖类化合物提取工艺研究[J]. 医药卫生, 2006, 35(2): 223.
- [10] Zhang L, Zhang M, Chen J, et al. Solution properties of antitumor carboxy-methylated derivatives of bate-(1,3)-D-glucan from Ganoderma Lucidum [J]. Chinese J Polym Sci, 2001, 19(3): 283.
- [11] Zhang L M. Cellulosic associative thickeners [J]. Carbohydr Polym, 2001, 45(1): 1.
- [12] Hayashi Katsuhiko. Preparation method of acidic polysaccharide [P]. JP: 2001-288202, 2001-10-16.
- [13] 唐崎, 王维香, 王晓君. 碱法提取川芎多糖的研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(9): 2096.
- [14] 向鸣, 王维香, 王晓君. 超声波提取川芎多糖的工艺优选 [J]. 中成药, 2008, 30(11): 1621.
- [15] 禹文峰, 任凤莲, 吴晓斌. 百合多糖的超声波提取工艺研究 [J]. 广州化学, 2007, 32(2): 23.
- [16] Shin K S, Kiyohara H, Matsumoto T, et al. Rhamnogalacturonon II dimers cross-linked by borate diesters from the leaves of Panax ginseng C. A. Meyer are responsible for expression of their IL-6 production enhancing activities [J]. Carbohydr Res, 1998, 307: 97.
- [17] Kouhata Takao. Polysaccharide obtation from unicellular alga and its manufacturing method [P]. JP: 20-027092, 2004-01-02
- [18] 冯青然, 陈燕军. 中药提取工艺研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 21(9): 62265.

[责任编辑 全燕]