

当归固体发酵后水提取工艺优选

王英姿^{1*}, 韩春超², 张超²

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 山东中医药大学药学院, 济南 250355)

[摘要] 目的: 优选固体发酵后当归的水提取工艺。方法: 以阿魏酸、干浸膏为指标, 用正交设计优选提取工艺。结果: 最佳提取工艺为浸泡 0.75 h, 煎煮 2 次, 1 h/次, 加水量为药材的 12 倍和 8 倍量。结论: 确定的提取工艺稳定可行, 可作为发酵后当归的提取方法。

[关键词] 当归; 固体发酵; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0007-03

Optimizing Water Extraction Conditions for Solid-fermented *Angelica sinensis*

WANG Ying-zi^{1*}, HAN Chun-chao², ZHANG Chao²

(1. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the water extraction conditions for solid-fermented *Angelica sinensis*. **Method:** Orthogonal design was used in optimizing the extraction conditions while ferulic acid and extract dry weight were adopted as markers. **Result:** Optimum extraction technology was as follows: the medicinal materials were soaked in water for 0.75 hour, and extracted 2 times with one hour for each time by 12-fold and 8-fold volume of water. **Conclusion:** Extraction technology established in this experiment is stable and feasible and can be used to extract solid-fermented *Angelica sinensis*.

[Key words] *Angelica sinensis*; solid fermentation; extraction technology

当归具有补血活血、调经止痛的功效, 主要用于血虚萎黄, 眩晕心悸, 月经不调, 经闭痛经等症。其所含的化学成分主要有阿魏酸、挥发油等。近年来发现, 当归还具有促进神经修复再生、增进免疫、抗肿瘤等多种新功效, 应用前景广阔。

固体发酵技术 (solid-state fermentation technology) 是生物技术的一种, 是指某些生长需水很少的微生物利用疏松而含有必需营养物的固体培养基进行的发酵。中药用固体发酵技术提取的主要理论依据有: 微生物及其代谢过程中产生丰富的酶类, 能降解大量中药植物纤维素, 降低淀粉等高分子

对中药成分的包裹作用, 利于有效成分溶出^[1-3]。用固体发酵技术提取中药可以使某些在体内不能直接被利用的药物有效活性组分, 在体外消解得以完成而被直接利用, 并能除去大分子杂质, 迅速发挥应有效能。本实验以阿魏酸、干浸膏得率为指标, 用正交设计优选固体发酵后当归的提取工艺, 探讨固体发酵技术对中药成分提取的影响。

1 仪器与试剂

HP1100 系列高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), YP601N 型电子天平 (上海精密科学仪器有限公司), LXJ-II 型离心沉淀机 (上海医疗器械三厂)。

阿魏酸对照品, 中国药品生物制品检定所 (批号 110773200611); 当归药材购自济南建联药店, 经山东中医药大学孙秀梅教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. 的干燥根经加工制成的饮片, 符合《中国药典》2010 年版 (一部) 该药材项

[收稿日期] 20101119(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30701110)

[通讯作者] * 王英姿, 副教授, 从事中药制剂新技术研究, Tel: 010-84738615, E-mail: wangyzi@sina.com

下的有关规定。鸡腿菇菌种 *Copypinds comatus*(MuII. FrO)Gray 购自山东省农科院。甲醇为色谱纯;水为自制超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 发酵后当归提取液的制备 称取未发酵当归粗粉(10~20目),用鸡腿菇作菌种进行接种培养,以固体发酵菌丝体质量为指标,考察药材量、生长温度、发酵时间及培养基添加的麸皮量 4 个因素,以 $L_9(3^4)$ 正交表进行设计试验,优选当归药材固体发酵条件。将发酵后药材用双提法在常压下加热回流提取 2 次,用 $L_9(3^4)$ 正交试验方案,选取浸泡时间、煎煮时间和加水量为考察因素,每个因素选 3 个水平,对发酵后当归的提取工艺进行筛选,见表 1。提取液用 4 层纱布分别滤过,离心($3\ 000\ r \cdot \min^{-1}$, 15 min),合并上清液,浓缩并定容至 100 mL,即得样品液(含生药质量浓度 $0.75\ g \cdot mL^{-1}$)。

表 1 水提工艺正交试验因素水平

水平	A 浸泡时间/h	B 煎煮时间/h	C 加水量/倍
1	0.25	0.5,0.5	6,4
2	0.50	1,1	9,6
3	0.75	1.5,1.5	12,8

2.2 阿魏酸含量测定^[4]

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 Kromasil C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为甲醇-1%冰乙酸(25:75),检测波长 320 nm,流速 $1.0\ mL \cdot \min^{-1}$,进样量 20 μL ;柱温 25 $^{\circ}C$ 。此条件下阿魏酸峰与相邻峰分离度 > 1.5,理论塔板数按阿魏酸峰计算应不低于 2 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品约 10 mg,加流动相溶解,转于 100 mL 量瓶中,加流动相至刻度,得 $0.10\ g \cdot L^{-1}$ 对照品溶液,摇匀即得。

2.2.3 阿魏酸供试液的制备^[5] 样品液 50 mL,于蒸发皿中蒸至近干,加硅藻土 10 g,搅匀,烘干,研细,以乙酸乙酯-甲酸(19:1)100 mL 索氏提取 2 h 后,回收溶剂,残渣以甲醇定容至 10 mL,摇匀,即得供试液。

2.2.4 含量测定 取 2.2.3 项下供试液,按照 2.2.1 项下色谱条件,进样测定。

2.3 干浸膏量的测定 按照《中国药典》2010 年版一部附录 X·A 浸出物测定法,精密吸取 2.1 项下样品液 10 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸

干,于 105 $^{\circ}C$ 烘 3 h,移至干燥器中,冷却 30 min,即刻精密称重,计算干浸膏量。

2.4 试验结果 见表 2。结果表明,煎煮时间和浸泡时间为主要因素,C 为次要因素,故最佳工艺为 $A_3B_2C_3$,即浸泡 0.75 h,煎煮 2 次,1 h/次,加水量约为药材的 12 倍和 8 倍。

表 2 正交设计 $L_9(3^4)$ 及试验

No	A	B	C	X	Y	综合得分
				阿魏酸质量分数/%	浸膏得率/%	
1	1	1	1	0.054 5	30.45	73.82
2	1	2	2	0.056 2	34.89	72.32
3	1	3	3	0.066 9	36.33	78.13
4	2	1	2	0.062 4	42.35	71.87
5	2	2	3	0.079 3	38.62	84.50
6	2	3	1	0.055 1	41.18	68.02
7	3	1	3	0.063 6	36.23	76.14
8	3	2	1	0.096 7	40.24	94.37
9	3	3	2	0.068 9	41.96	76.13
K_1	74.757	73.943	78.737			
K_2	74.797	83.73	73.44			
K_3	82.213	74.093	79.59			
极差	7.456	9.787	6.15			

注:以精制除杂率 = 100 - Y,数值最大者计分 40 分,阿魏酸质量分数最高者计 60 分,综合得分 = $60X/0.0967 + 40(100 - Y)/(100 - 30.45)$

2.5 验证试验 用优选的最佳提取工艺进行验证试验,结果阿魏酸质量分数为 0.081 2% ($n = 3$, RSD 1.88%),干浸膏得率为 43.5% ($n = 3$, RSD 1.55%),说明此提取工艺稳定可行。

3 讨论

当归为中药常用药材,大多运用于复方制剂,随着对中药质量和疗效的要求不断提高,对当归进行提取工艺研究有助于进一步提高含当归复方制剂的质量及其二次开发。本实验以阿魏酸、干浸膏为指标,采用正交设计对固体发酵后当归作水提取液工艺优选,结果最佳工艺条件为 $A_3B_2C_3$,即浸泡 0.75 h,煎煮 2 次,1 h/次,加水量约为药材的 12 倍和 8 倍量。通过验证实验表明,正交实验优选确定的最佳工艺水平是科学、可行的,有利于实际生产,降低能源、节约时间。同时表明将固体发酵技术引入中药提取工艺的研究,有一定的发展前景。

正交法配合药效指标综合筛选木香切制工艺

张旭, 侯影, 贾天柱*

(辽宁中医药大学 辽宁省中药炮制工程技术研究中心 国家中医药管理局
中药炮制工艺原理重点实验室, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的: 优选木香的最佳切制工艺。方法: 以木香炔内酯含量、去氢木香内酯含量、小鼠小肠炭末推进率为测定指标, 以浸润加水量、浸润时间、切片厚度为考察因素, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表, 综合加权评分法确定木香饮片最佳切制工艺。结果: 最佳切制工艺为: 净木香药材加入 0.3 倍量水, 浸润 10 h 后切成 1~2 mm 薄片。结论: 木香的最佳切制工艺合理可行, 可为规范木香饮片质量标准提供参考。

[关键词] 木香炔内酯; 去氢木香内酯; 小肠推进; 切制工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0009-04

Optimization of Cutting Technology Associated with Pharmacodynamic Index for Aucklandiae Radix by Orthogonal Design

ZHANG Xu, HOU Ying, JIA Tian-zhu*

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Chinese Materia Medica Processing Engineering Center of Liaoning Province, Key Lab of Chinese Materia Medica Processing Principle of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** to optimize the cutting technology of Aucklandiae Radix. **Method:** The cutting technology of Aucklandiae Radix was optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal design taking the content of costunolide and dehydrocostuslactone, the intestinal propulsion in mice as indexes with the amount of water, soaking time and thickness of pieces as factors. **Result:** The best cutting technology of Aucklandiae Radix was cutting 1-2 mm thin

[收稿日期] 20101208(007)

[基金项目] 国家发改委行业专项(200807039)

[第一作者] 张旭, 讲师, 在读博士, 从事中药炮制工艺与原理研究, Tel:0411-87586007, E-mail:mufeitiantian@163.com

[通讯作者] * 贾天柱, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制原理研究, Tel:0411-87586499, E-mail:jiatz@lnutcm.edu.cn

[参考文献]

- [1] Vane C H, Drage T C, Snape C E. Biodegradation of oak (*Quercus alba*) wood during growth of the shiitake mushroom (*Lentinula edodes*); a molecular approach[J]. J Agric Food Chem. 2003, 51(4):947.
- [2] Yang X, Chen H, Gao H, et al. Bioconversion of corn straw by coupling ensiling and solid-state fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2001, 78(3):277.
- [3] Sati S C, Bisht S. Utilization of various carbon sources for the growth of waterborne conidial fungi [J]. *Mycologia*, 2006, 98(5):678.
- [4] 袁丽霞, 王红. HPLC 法测定当归苦参丸中阿魏酸的含量[J]. *中国药事*, 2008, 22(1):61.
- [5] 王英姿, 张兆旺, 孙秀梅, 等. 均匀设计优选当归苦参丸方药的半仿生提取工艺条件[J]. *中草药*, 2005, 36(2):212.

[责任编辑 全燕]