

# 葛根玉芪胶囊配方药材组分的提取工艺研究

周天浩<sup>1,2</sup>, 徐京<sup>2</sup>, 牟艳英<sup>1,2</sup>, 解素花<sup>2</sup>, 李晋生<sup>1,2,\*</sup>

(1.北京中研同仁堂医药研发有限公司, 北京 100079;

2.北京同仁堂科技发展股份有限公司, 北京 100079)

**摘要:**研究筛选葛根玉芪胶囊的优选提取工艺。采用正交实验设计法,以葛根素、粗多糖含量为考察指标,对影响制备葛根玉芪胶囊中提取工艺的各因素进行研究。葛根玉芪胶囊的优选提取工艺为:对葛根、桑白皮、胡芦巴、丹参,加10倍量60%乙醇,回流提取3次,每次提取2h;对枸杞子、黄芪、玉竹,加10倍量水溶剂,回流提取3次,每次提取1.5h。按优选工艺进行放大实验验证,验证实验结果是葛根素含量均值为13.89mg/g,粗多糖含量均值为4.23mg/g,验证实验基本稳定,具有一定参考价值。

**关键词:**葛根玉芪胶囊,葛根素,粗多糖,正交实验设计

## Research of extraction procedure for Pueraria-Yuqi capsule ingredients

ZHOU Tian-hao<sup>1,2</sup>, XU Jing<sup>2</sup>, MOU Yan-ying<sup>1,2</sup>, XIE Su-hua<sup>2</sup>, LI Jin-sheng<sup>1,2,\*</sup>

(1.Beijing Zhongyan Tongrentang Chinese Medicine R&D Co., Ltd., Beijing 100079, China;

2.Beijing Tong Ren Tang Technologies Co., Ltd., Beijing 100079, China)

**Abstract:**To explore and optimize the extraction procedure for Pueraria-Yuqi capsule ingredients. Orthogonal experimental design method was used, and factors of the extraction procedure for Pueraria-Yuqi capsule ingredients were optimized to achieve the highest yield of puerarin and crude polysaccharide. The optimized procedure was: Pueraria, Morus alba, fenugreek and salvia were reflux-extracted with tenfold volume of 60% ethanol for 3 times, 2h, respectively. Wolfberry, Astragalus and Polygonatum were reflux-extracted with tenfold volume of water for 3 times, 1.5h each. The optimized procedure was then verified again after amplification, the average puerarin and crude polysaccharide yield was 13.89mg/g and 4.23mg/g respectively during verification, these results were stable and had reference value.

**Key words:** Pueraria-Yuqi capsule; puerarin; crude polysaccharide; orthogonal experimental design

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2013)24-0261-04

葛根玉芪胶囊为保健食品,具有辅助降血糖功能。该产品选用葛根、黄芪、玉竹、桑白皮、胡芦巴、枸杞子、丹参七味药材合理配伍组方。糖尿病属于中医消渴的范畴,现代中医学将糖尿病称为消渴病,所以中医常用补气、补血、清热来调节脏腑功能,从而达到治疗目的<sup>[1]</sup>。葛根<sup>[2]</sup>功能主治解肌退热,生津,透疹,升阳止泻,用于外感发热、头痛项强,口渴,消渴等症;桑白皮具有泻肺平喘,利水消肿,用于肺热咳喘,面目浮肿,小便不利等症;胡芦巴用于补肾阳,祛寒湿,肾虚腰酸等症;丹参用于祛瘀止痛,活血通经,清心除烦。枸杞子为传统中医常用的补益药;黄芪<sup>[3]</sup>具补气固表,托毒排脓,利尿生肌功能<sup>[4]</sup>。玉竹在《神农

本草经》中被列为上品,是中医学治疗“消渴”的常用药物,是我国常用中药材。

根据配方药材饮片有效成分的性质及药理作用,采用醇提和水提分别提取。配方中葛根<sup>[5-7]</sup>、桑白皮<sup>[6-7]</sup>、胡芦巴<sup>[8]</sup>、丹参<sup>[9-11]</sup>四味药材均以脂溶性成分为主,采用乙醇提取可取得较好效果。其中葛根是配方中的君药,故以葛根素<sup>[3-5]</sup>作为醇提正交实验考察指标。配方中枸杞子、黄芪、玉竹所含成分都以多糖类为主,采用水提取可取得较好效果,水提部分以粗多糖作为水提正交实验考察指标<sup>[12-14]</sup>。这些成分可作为药用和保健食品生产的功能性组分,以葛根素和粗多糖为考察指标,通过正交实验设计,对工艺条件进行优选,为工业生产提供工艺参数和理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

葛根、桑白皮、胡芦巴、丹参、枸杞子、黄芪、玉竹 安国市罗深行中药材有限责任公司;甲醇 色

收稿日期:2013-05-31 \* 通讯联系人

作者简介:周天浩(1982-),男,大学本科,研究方向:保健食品。

基金项目:国家高技术研究发展计划(863计划)(SQ2009AA02XK1487510)。

谱纯;纯净水 用微孔滤膜滤过 $0.45\mu\text{m}$ ;乙醇、冰醋酸、浓硫酸、萘酚 分析纯。

Agilent 1100 series型高效液相色谱仪 安捷伦科技(中国)有限公司;UV757CRT型紫外可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;DZF06050型真空干燥箱 上海一恒科技有限公司;AB135-S型电光分析天平 梅特勒-托利多仪器有限公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 配方药材提取工艺流程

1.2.1.1 葛根素提取工艺流程 葛根、桑白皮、胡芦巴、丹参→乙醇溶剂提取( $80^{\circ}\text{C}$ )→过滤(120目)→真空浓缩( $70^{\circ}\text{C}$ )→真空干燥( $70^{\circ}\text{C}$ )→醇提干膏。

1.2.1.2 粗多糖提取工艺流程 枸杞子、黄芪、玉竹→纯净水提取( $80^{\circ}\text{C}$ )→过滤(120目)→真空浓缩( $70^{\circ}\text{C}$ )→真空干燥( $70^{\circ}\text{C}$ )→水提干膏。

### 1.2.2 提取工艺参数的确定

1.2.2.1 醇提工艺参数的确定 醇提工艺采取正交实验设计,提取方法及因素水平的确定,将葛根、桑白皮、胡芦巴、丹参按照配方比例称取配方药材共120g,置圆底烧瓶中回流提取。根据文献[3-11]和预实验,确定提取因素(A)溶剂倍数、(B)乙醇浓度、(C)提取时间、(D)提取次数为考察因素,选用 $L_9(3^4)$ 正交表,设计四因素三水平正交实验。以每克配方药材中葛根素含量作考察指标,并对每项实验均做2个平行,取平均值进行分析。因素水平表如表1所示:

表1 醇提工艺因素水平表  
Table 1 The factors and levels table of alcohol extraction process

水平	因素			
	A 溶剂倍数	B 乙醇浓度 (%)	C 提取时间 (h)	D 提取次数
1	6	40	1	1
2	8	60	1.5	2
3	10	80	2	3

1.2.2.2 水提工艺参数的确定 水提工艺采取正交实验设计,提取方法及因素水平的确定,按照配方比例称取枸杞子、黄芪、玉竹共95g,置圆底烧瓶中回流提取。根据文献[12-14]和预实验,提取因素选择(A)溶剂倍数,(B)提取次数,(C)提取时间,通过选用 $L_9(3^4)$ 正交表,设计三因素三水平正交实验,考察提取溶剂倍数,提取时间及提取次数的参数,以每克配方药材中粗多糖含量作为考察指标,并对每项正交实验均做2个平行,取平均值进行分析。因素水平表

表2 水提因素水平表

Table 2 The factors and levels table of water extraction process

水平	因素		
	溶剂倍数	提取次数	提取时间 (h)
1	8	1	1
2	10	2	1.5
3	12	3	2

如表2所示:

### 1.2.3 葛根素测定方法

1.2.3.1 葛根素<sup>[15]</sup>测定色谱条件 色谱柱为waters symmetry  $C_{18}$ 柱( $5\mu\text{m}$ , $4.6\text{mm}\times 150\text{mm}$ );以甲醇-水(25:75)为流动相,柱温 $30^{\circ}\text{C}$ ;检测波长为250nm。理论板数按葛根素峰计算应不低于4000。

1.2.3.2 标准曲线的制备 精密称取葛根素1.50mg于10mL容量瓶中,加甲醇溶解,稀释至刻度配制储备液。分别精密称取储备液0.1、0.2、0.4、0.8、1.6mL于10mL容量瓶中,加甲醇至刻度摇匀,取 $10\mu\text{L}$ 进样,测定峰面积,进行线性回归方程计算。

1.2.3.3 供样品溶液的制备及测定 取本品粉末(过50目筛)约0.1g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入30%乙醇50mL,称定重量,加热回流30min,冷却至室温,再称定重量,用30%乙醇补足缺失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,按上述色谱条件测定。

### 1.2.4 粗多糖测定方法

1.2.4.1 标准曲线的制备 准确称取1.00g经过 $98\sim 100^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重的分析纯葡萄糖,加水溶解稀释至1000mL,用前稀释10倍。称取0.2g萘酚置于烧杯中,缓慢加入100mL浓硫酸,配制成0.2%萘酚硫酸溶液。标准曲线的绘制<sup>[15]</sup>:准确吸取葡萄糖标准溶液0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL分别置于10mL比色管中,准确补充水至1.0mL,加入萘酚试剂5.0mL充分混匀,在沸水浴中加热10min,取出在流水中冷却20min后,在620nm波长下测定吸光度值,进行线性回归方程计算。

1.2.4.2 供样品溶液的制备及测定 准确称取样品1.00~2.00g,置于100mL容量瓶中加水溶解,在沸水中加热30min后过滤,定容至100mL。取待测液5mL至离心管中,加入25mL无水乙醇搅拌均匀,加盖反复倾倒管子数次。在离心机中以4000r/min离心10min,并小心弃去上清液,加5mL热水溶解沉淀物,重复上述步骤加25mL无水乙醇再以4000r/min离心10min,小心弃去上清液。然后用热水分次溶解沉淀并稀释定容至100mL,过滤后即待测液,按标准曲线制备方法操作,测定吸光度,计算粗多糖含量。

1.2.4.3 提取物中粗多糖的含量 计算公式如下所示:

$$\text{粗多糖}(\%) = \frac{m_1 \times F \times n}{m \times 1000} \times 100$$

式中: $m_1$ —由标准曲线查得样品液含糖质量(mg); $m$ —样品质量(g); $n$ —稀释倍数; $F$ —换算因子。

## 2 结果与分析

### 2.1 醇提正交实验设计

2.1.1 葛根素含量的计算 采用标准曲线性回归方程计算提取物中葛根素的含量。线性回归方程: $y = 43779x - 50.504$ , $R = 0.9999$ ,结果表明在 $15\sim 240\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系。以线性回归方程计算提取物中葛根素的含量,再以每克配方药材中葛根素含量作为考察指标。

2.1.2 正交实验结果与分析 对实验结果选择进行极差分析,结果见表3、表4。在上述表中,四因素对葛根素提取的影响程度依次为: $B > A > C > D$ ,其优选组合

为 $A_3B_2C_3D_3$ 。方差分析显示,乙醇浓度和溶剂倍数对提取葛根素含量有显著的影响,提取时间和提取次数对提取葛根素含量的影响不明显。结合表3、表4的结果,最后醇提优选工艺为:加60%乙醇提取3次,每次用10倍量溶剂,提取2h。按照优选工艺进行2次平行提取实验,测得葛根素含量平均值为15.35,提取工艺基本稳定并且优于正交实验表中的最优结果。实验结果见表5。

表3 正交实验表及结果分析  
Table 3 Results of orthogonal test

实验号	A	B	C	D	葛根素含量(mg/g)
1	1	1	1	1	9.66
2	1	2	2	2	12.82
3	1	3	3	3	11.31
4	2	1	2	3	10.59
5	2	2	3	1	13.34
6	2	3	1	2	11.45
7	3	1	3	2	11.53
8	3	2	1	3	13.97
9	3	3	2	1	12.43
$k_1$	11.26	10.59	11.69	11.81	
$k_2$	11.79	13.38	11.95	11.93	
$k_3$	12.64	11.73	12.06	11.96	
R	1.38	2.79	0.36	0.15	

表4 方差分析  
Table 4 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	均方差	F值
A	2.93	2.00	1.47	78.33
B	11.77	2.00	5.88	314.53
C	0.21	2.00	0.10	5.60
D	0.04	2.00	0.02	1

注: $F_{0.05}(2,2)=19.0$ ;表8同。

表5 实验结果  
Table 5 Results of experiment

实验号	葛根素含量(mg/g)	平均值(mg/g)
1	15.52	15.35
2	15.17	

2.1.3 醇提工艺条件的验证 为验证醇提优选工艺的合理性和稳定性,放大200倍配方用量进行实验验证,并按照醇提优选工艺条件进行连续3个批次提取。虽然放大实验在制备过程中会受到一些因素影响,但放大实验数据基本达到醇提工艺的理想结果,且数据基本稳定。验证实验结果见表6。

表6 验证实验结果  
Table 6 Results of confirmatory experiment

批次	葛根素含量(mg/g)	平均值(mg/g)
1	13.84	13.89
2	13.96	
3	13.88	

## 2.2 水提正交实验设计

2.2.1 粗多糖含量的计算 采用标准曲线性回归方程计算提取物中粗多糖的含量。线性回归方程: $y=5.8057x-0.0006$ ,  $R^2=0.9986$ , 结果表明在 $20.32\sim 101.6\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关。以线性回归方程计算提取物中粗多糖的含量,再以每克配方药材中粗多糖含量作为考察指标。

2.2.2 正交实验结果及分析 对实验结果选择进行直观分析和方差分析,结果见表7、表8。在上述表中,三因素对药材中粗多糖提取的影响程度依次为: $B>C>A$ ,其优选组合为 $A_2B_3C_2$ 。方差分析显示,提取次数和提取时间对提取粗多糖含量有显著的影响,溶剂倍数对提取粗多糖含量的影响不明显。结合极差和方差分析的结果,故确定枸杞子、黄芪、玉竹的优选提取工艺参数为:每次加水10倍量,提取3次,提取时间为每次1.5h。按照优选工艺进行2次平行提取实验,测得粗多糖含量平均值为4.45,提取工艺基本稳定并且优于正交实验表中的最优结果,实验结果见表9。

表7 正交实验表及结果分析  
Table 7 Results of orthogonal test

实验号	A	B	C	D	粗多糖含量(mg/g)
1	1	1	1	1	1.65
2	1	2	2	2	3.66
3	1	3	3	3	3.69
4	2	1	2	3	2.74
5	2	2	3	1	3.83
6	2	3	1	2	3.70
7	3	1	3	2	2.18
8	3	2	1	3	2.84
9	3	3	2	1	4.16
$k_1$	3.00	2.19	2.73	3.21	
$k_2$	3.42	3.44	3.52	3.18	
$k_3$	3.06	3.85	3.23	3.09	
R	0.42	1.66	0.79	0.12	

表8 方差分析

来源	偏差平方和	自由度	均方差	F值
A	0.31	2.00	0.16	13.61
B	4.51	2.00	2.26	195.42
C	0.96	2.00	0.48	41.57
误差(D)	0.34	2.00	0.08	1

表9 实验结果

实验号	粗多糖含量(mg/g)	平均值(mg/g)
1	4.33	4.45
2	4.56	

2.2.3 水提工艺条件的验证 为验证水提优选工艺的合理性和稳定性,放大200倍配方用量进行实验验证,并按照水提优选工艺条件进行连续3个批次提取。虽然放大实验在制备过程中会受到一些因素影

响,但放大实验数据基本达到水提工艺的理想结果,且数据基本稳定。验证实验结果见表10。

表10 验证实验结果

Table 10 Results of confirmatory experiment

批次	粗多糖含量(mg/g)	平均值(mg/g)
1	4.36	
2	4.14	4.23
3	4.20	

### 3 结论

根据配方中药材的主要成分和选择溶剂的极性大小,将以脂溶性成分为主的四味药材葛根、桑白皮、葫芦巴和丹参,用乙醇溶液提取<sup>[3-11]</sup>。将以多糖类为主的枸杞子、黄芪、玉竹,用纯净水提取<sup>[12-14]</sup>。分别对醇提部分和水提部分的提取液浓缩、干燥,得到干膏。

根据配方药材饮片有效成分的性质及药理作用,故采用醇提和水提分别提取,以葛根素和粗多糖为考察指标,通过正交设计法对葛根玉芪胶囊的配方药材提取工艺进行优选,优选提取工艺为:葛根、桑白皮、葫芦巴、丹参进行醇提,加10倍量60%乙醇,回流提取3次,每次2h;枸杞子、黄芪、玉竹进行水提,加10倍量水溶剂,回流提取3次,提取时间为每次1.5h。按优选工艺对醇提部分和水提部分进行放大实验验证,葛根素和粗多糖的含量测定结果基本平行,稳定性较为理想,可以作为工业化生产的参考依据。

#### 参考文献

[1] 王天富. 中药治疗糖尿病初探[J]. 中华养生保健,2004(4):9.

- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:中国医药科技出版社,2010:312,280,225,70,232,283.
- [3] Xu X G, Lu F Y, Sui X M, *et al.* Optimization of the extracting technology for Pueraria lobata by orthogonal test[J]. Lishizhen Med Med Res, 2000, 11(9):780-781.
- [4] 张彤,徐莲英,陶建生,等. 多指标综合评价法优选葛根提取工艺[J]. 中草药,2004,35(1):38-40.
- [5] 王琴芳. 葛芍通脉颗粒乙醇提取工艺的研究[J]. 中国药业,2005,14(2):48-49.
- [6] 徐应淑,张景群. 桑白皮中总黄酮的最佳提取工艺[J]. 贵州农业科学,2011,39(8):185-186.
- [7] 张蕾,王术光,李洪娟. 正交设计法优选桑白皮总黄酮的提取工艺[J]. 滨州医学院学报,2009,32(4):290-292.
- [8] 石会丽,赵增强,李富贤,等. 正交实验优选葫芦巴总黄酮提取工艺[J]. 西北药学杂志,2008,23(5):292-293.
- [9] 武尉杰,盛蓉,谭睿. 正交实验法优选丹参药材中丹参酮II A提取工艺的研究[J]. 川北医学院学报,2013,28(1):10-12.
- [10] 曾令菊,余桂清,罗云,等. 正交设计优选丹参提取工艺[J]. 湖北中医药大学学报,2012,14(1):45.
- [11] 李绍林,张建军. 丹参提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):45-47.
- [12] 乌兰托雅. 枸杞山楂共水提取工艺研究[J]. 内蒙古医学杂志,2004,36(12):1040-1041.
- [13] 李万玉,李安荣,徐晓玉,等. 黄芪多糖的提取方法[J]. 中国药业,2009,18(11):87-88.
- [14] 王强,李盛钰,王晶,等. 玉竹多糖的提取工艺研究[J]. 长春师范学院学报:自然科学版,2010,29(6):54-56.
- [15] 王光亚. 保健食品功效成分检测方法[M]. 北京:中国轻工业出版社,2002:15-17.

(上接第260页)

灭效果与巴氏杀菌60min及沸水浴30min效果相当,均可以有效杀灭大肠菌群和沙门氏菌,且使样品在8d的保存时间内细菌总数保持在 $10^2$ 数量级以内。因此2450MHz,670W,95℃,6min微波杀菌处理可作为卤鹅产品短时间(8d)储藏的一种杀菌处理方式。

### 3 结论

综合比较3种杀菌处理方式对卤鹅汁液流失率、色值、肌肉嫩度、杀菌效果等的影响,2450MHz,670W,95℃,6min微波杀菌处理既可以在短时间内控制卤鹅产品的微生物数量,又能最大限度地保持卤鹅原有的色泽、肌肉嫩度和汁液含量,可以作为卤鹅短期储存(8d)的一项有效杀菌技术。

#### 参考文献

- [1] 布丽君,熊涛,林俊,等. 卤鹅生产销售过程中主要污染微生物及其生长规律研究[J]. 农产品加工·学刊,2013(1):15-17.
- [2] 冯璐,芮汉明. 不同杀菌方式对盐焗鸡翅根品质的影响[J]. 食品与发酵工业,2006,31(11):111-115.
- [3] 康怀彬,刘少阳,宗留香,等. 不同杀菌方式对烧鸡品质的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(32):14295-14296.
- [4] 曾丹,洪雁,王京,等. 两种杀菌方式对糖水菠萝罐头品质影响的比较[C]. 中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分

- 会学术年会暨全国食品科学与工程博士生学术论坛、管产学研助推食品安全重庆高峰论坛,2011:358-261.
- [5] 韩凯,王宇,臧明伍. 杀菌方式对酱牛肉风味的影响[J]. 肉类研究,2010(11):51-53.
- [6] 孔书敬,段善,海赵凯,等. 杀菌方式对软包装酱牛肉品质的影响[J]. 肉类工业,2001(12):25-27.
- [7] 邱澄宇,刘海新. 牡蛎肉巴氏杀菌的研究[C]. 厦门市科协2005年学术年会暨福建省科协第五届学术年会卫星会议论文集,2005:245-247.
- [8] 尼海峰,熊发祥,邓冕,等. 不同杀菌方式对低盐榨菜品质的影响[J]. 食品与发酵科技,2011,47(2):69-71,78.
- [9] 马丽珍,孙卫青,戴瑞彤. 低温杀菌后的五香羊肉在贮存过程中的微生物变化[J]. 中国农业科学,2004,37(12):1995-1999.
- [10] 芮开长,蔡东. 高新技术在肉品加工中的应用综述[J]. 安徽农业,2004(9):45-46.
- [11] 樊建,赵天瑞,章宇悦,等. 白灵菇液氮速冻工艺研究[J]. 食品工业科技,2008(5):238-240.
- [12] 王欣欣,宋丽荣,王乐,等. 不同冻结条件下罗非鱼片的质构分析[J]. 食品与机械,2012,28(1):205-207,231.
- [13] 解华东,布丽君,葛良鹏,等. 超高压处理对卤制鹅胗灭菌保鲜与品质的影响[J]. 农业工程学报,2011,27(2):247-252.