

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2018.05.031

# 大孔树脂纯化天麻多糖的工艺研究

陈琛<sup>1</sup>, 李鑫鑫<sup>1</sup>, 魏唯<sup>1</sup>, 刘祥<sup>1</sup>, 田慧玲<sup>2</sup>, 冯振斌<sup>2</sup>, 胡红忠<sup>3</sup>, 郑红星<sup>1</sup>

(1.陕西理工大学生物科学与工程学院/陕西省天麻山茱萸工程技术研究中心/陕西理工大学中德天然产物研究所, 汉中 723000;

2.陕西汉王药业有限公司, 汉中 723000; 3.陕西百圣生物工程有限公司, 略阳 724300)

**摘要:**本研究以炮制的干天麻为原料,水提醇沉法提取多糖,大孔吸附树脂纯化,比较了八种大孔树脂(AB-8、D101、LX-17、D301、NKA-9、S-8、LSD-001、ADS-7)对天麻多糖静态吸附-解析效果,筛选出最佳纯化树脂,再研究最佳树脂纯化天麻多糖工艺参数。结果为:八种大孔吸附树脂中D101对天麻多糖的纯化效果最好。样品液浓度、温度、上样速度,洗脱用乙醇浓度、洗脱流速及洗脱体积等因素均对D101树脂吸附分离天麻多糖有影响。所得的最佳纯化工艺为:20℃是较适宜的吸附温度,上样速度1 BV/h,上样浓度4 mg/mL,进行吸附;吸附饱和平衡后,用解析液浓度60%乙醇,解析速率2 BV/h,解析液体积3 BV进行动态洗脱。通过该工艺天麻多糖的纯度提高到了65.7%,表明了大孔树脂D101对天麻多糖具有较好的纯化效果。

**关键词:**多糖;大孔吸附树脂;吸附;纯化;天麻

**中图分类号:**R282      **文献标识码:**A      **文章编号:**0490-6756(2018)05-1109-07

## Macroporous adsorption resin for the purification of polysaccharides from *Gastrodia elata* Bl

CHEN Chen<sup>1</sup>, LI Xin-Xin<sup>1</sup>, WEI Wei<sup>1</sup>, LIU Xiang<sup>1</sup>, TIAN Hui-Ling<sup>2</sup>,  
FENG Zhen-Bin<sup>2</sup>, HU Hong-Zhong<sup>3</sup>, ZHENG Hong-Xing<sup>1</sup>

(1. Chinese-German Joint Institute for Natural Product Research/Shaanxi Engineering Research Center of Tall Gastrodia Tuber and Medical Dogwood/College of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China;

2. Shaanxi Hanwang Chinese Medicine Co., Ltd, Hanzhong 723000, China;

3. Shaanxi Baisheng Biological Engineering Co., Ltd, Lueyang 724300, China)

**Abstract:** The *Gastrodia elata* polysaccharides were purified using a macroporous adsorption resins method. By comparing the *Gastrodia elata* polysaccharides separation effect of eight different types (AB-8, D101, LX-17, D301, NKA-9, S-8, LSD-001 and ADS-7) of macroporous resin, D101 was selected as the ideal adsorbent as it had a strong adsorption ability and a high desorption rate. The optimal purification technology was as follows: loading rate 1 BV/h, loading concentration 4 mg/mL, 60% ethanol as suitable elution solvent from the resin, the elution solvent volume 3 BV and the elution flow rate 2 BV/h. The purity of *Gastrodia elata* polysaccharide was increased from 15.6% to 65.7%, which indicated that macroporous resin D101 had better purification effect on *Gastrodia elata* polysaccharide.

**Keywords:** Polysaccharide; Macroporous resin; Adsorption; Purification; *Gastrodia elata*

收稿日期: 2017-10-06

基金项目: 国家高端外国专家项目(GDW20146100228, GDT20176100048); 国家重点引智项目(W20166100045); 陕西省科技统筹创新工程计划项目(2015KTTSSF01-03, 2015HBGC-18); 陕西省重点研发计划项目(2017NY-180); 陕西省协同创新计划项目(2016XT-13); 陕西省教育厅科学研究计划(17JK0135)陕南秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心项目(QBXT-Z(P)-15-21)

作者简介: 陈琛(1978—),男,博士,副教授,主要从事天然产物研究与开发. E-mail: cchen2008@yahoo.com

通讯作者: 郑红星, E-mail: zhenghongxing100@126.com

# 1 引言

天麻(*Gastrodia elata* Bl.)为兰科天麻属与密环菌特殊共生的多年生草本植物,属国家三级保护物种,是一种名贵的中药材,药用部位为其块茎<sup>[1]</sup>,味甘、性平,具有息风止痉,平抑肝阳,祛风通络,用于治疗头痛眩晕、肢体麻木、小儿惊风、癫痫、抽搐、破伤风等病症<sup>[3]</sup>,同时具有镇静、催眠、镇痛、增强免疫等作用<sup>[2-6]</sup>.天麻既可以作为药用原料,也可以作为食品原料,是天麻酒、天麻面、天麻粉、天麻片、天麻丝、天麻糖、天麻茶等食品的加工原料.天麻块茎中主要含有天麻素、天麻昔元、天麻多糖等多种成分,其中天麻多糖含量高达 25%<sup>[7]</sup>.

多糖是由 10 个以上的单糖通过糖苷键连接而成的一种天然大分子化合物,其种类繁多,广泛存在于动物、植物、微生物中,目前对植物多糖和微生物多糖研究较多.大量研究表明多糖具有多种药理活性,如增强机体免疫力、抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、降血糖、抗辐射和抗衰老等作用<sup>[8,9]</sup>,且具有毒副作用小、安全性高等优点,因此,多糖类物质的研究与开发一直是近年来的研究热点<sup>[10]</sup>.

但是,天麻提取加工过程中人们最为关注的是天麻中药理活性成分——天麻素,而忽略了天麻多糖的开发利用.目前天麻多糖的研究集中在以下三个方面:①天麻粗多糖提取工艺优化.如张梦娟等<sup>[11]</sup>进行了天麻多糖水提取优化了提取温度、时间,料液比等参数.李志英等<sup>[12]</sup>研究了微波提取天麻多糖的温度、功率等参数.朱晓霞等<sup>[13]</sup>优化了超声和微波提取天麻多糖的参数.杨天友等和张梦娟

等考察了超声辅助提取天麻多糖的各种参数<sup>[14]</sup>.②天麻多糖药理作用及功能研究.明建等<sup>[15]</sup>研究了天麻多糖对小鼠学习记忆改善作用.周本宏等<sup>[16]</sup>研究了天麻多糖对皮质酮诱导的 PC12 细胞损伤起保护作用;王强等<sup>[17]</sup>研究了天麻多糖对荷瘤小鼠肿瘤生长的抑制作用.李峰等<sup>[18]</sup>研究了天麻多糖对肝损伤保护作用.李晓冰等<sup>[19]</sup>研究了天麻多糖的免疫增强功能.③天麻多糖的纯化、结构表征<sup>[6,20]</sup>.大孔吸附树脂具有处理能力大、选择性好、稳定性高、使用周期长、成本低等诸多优点,被广泛应用于天然产物的分离纯化中<sup>[21]</sup>,文献检索未见有关大孔吸附树脂纯化天麻多糖树脂的筛选及纯化条件和工艺研究.

基于以上背景及本课题组的研究基础,本文针对天麻多糖的大孔吸附树脂纯化展开研究,探讨并优化得出大孔树脂分离纯化天麻多糖的最佳工艺.研究结果可为天麻多糖的有效开发利用,天麻提取加工废液资源的综合利用,天麻加工过程的总体经济价值的提高,获得高附加值制品,发挥其最大经济效益提供了科学依据.

## 2 材料与方法

### 2.1 材料与仪器

2.1.1 材料 天麻,来源于陕西省汉中市略阳县  
2.1.2 试剂 AB-8、NKA-9、ADS-7、LX-17、LSD-001、D101、S-8、D301 其具体性能参数见表 1,无水乙醇、苯酚、氯仿、浓硫酸(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司),葡萄糖标准品(分析纯,国药集团化学试剂有限公司).

表 1 大孔树脂性能参数

Tab. 1 Macroporous resin performance parameters

树脂型号	外观特征	极性	比表面积(m <sup>2</sup> /g)	含水量(%)	粒径范围(mm)
AB-8	乳白色半透明球颗粒	弱极性	≥480	50~66	0.3~1.25
D101	白色半透明球颗粒	非极性	≥550	50~66	0.3~1.25
S-8	浅黄色半透明球颗粒	极性	≥500	45~50	0.3~1.25
NKA-9	微黄色半透明球颗粒	极性	≥450	45~50	0.3~1.25
LX-17	白色半透明球颗粒	非极性	≥480	60~70	0.3~1.25
ADS-7	乳白色半透明球颗粒	极性	≥450	70~75	0.3~1.25
D301	浅黄色半透明球颗粒	弱极性	≥550	48~58	0.3~1.25
LSD-001	浅褐色半透明球颗粒	非极性	≥450	60~80	0.3~1.25

2.1.3 仪器 RV10 型旋转蒸发仪(德国 IKA)、4802S 紫外分光光度计(龙尼柯上海仪器有限公司)、Allegra 64R 型离心机(美国贝克曼库尔特公司)、Alpha1-2 型冷冻干燥机(德国 Christ)、层析柱(Φ1.5 cm×20.0 cm, 上海锦华层析设备厂).

### 2.2 方法

2.2.1 天麻粗多糖的提取 天麻粗多糖的提取采用水提醇沉法,参考本实验室之前的研究<sup>[22]</sup>.  
2.2.2 多糖含量测定 采用苯酚-硫酸法测定多糖含量<sup>[23]</sup>.

**2.2.3 大孔树脂预处理** 用适量蒸馏水将大孔吸附树脂漂洗, 再用 95% 乙醇浸泡 24 h, 然后用蒸馏水将树脂冲洗至无醇味, 用 2 倍于树脂体积的 5% 盐酸浸泡 2 h, 用蒸馏水冲洗至中性; 再用 2 倍树脂体积的 5% 氢氧化钠浸泡 2 h 后用水洗至中性<sup>[24]</sup>, 备用。

**2.2.4 不同极性大孔树脂静态吸附率及解吸率试验** 称取预处理后的 8 种型号大孔树脂(AB-8、D101、LX-17、D301、NKA-9、S-8、LSD-001、ADS-7)各 1 g(每种树脂做三个平行)于具塞锥形瓶中, 加入 20 mL 质量浓度为 4 mg/mL 的天麻多糖溶液。于 20 ℃下恒温振荡吸附 24 h, 测定滤液中多糖含量。按照公式(1)和(2)计算吸附量和吸附率。

充分吸附后的树脂用滤纸吸干表面滤液, 置于干燥的锥形瓶中, 加入 20 mL 50% 乙醇进行解吸。于 20 ℃下恒温振荡器中解吸 24 h, 测定滤液中多糖含量。按照公式(3)和(4)计算解析量和解析率。

(a) 计算树脂的吸附率及吸附量, 吸附率及吸附量分别按下式计算。

$$Q = (C_0 - C_e) \times V_1 / W \quad (1)$$

$$E = (C_0 - C_e) / C_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中,  $Q$  为吸附量(mg/g),  $C_0$  为吸附前母液多糖质量浓度(g/L),  $C_e$  为吸附后多糖的质量浓度(g/L),  $V_1$  为提取液体积(mL),  $W$  为树脂干量(g),  $E$  为吸附率(%)。

(b) 计算树脂的解析率及解析量, 解析率及解析量分别按下式计算。

$$D = C' \times V_2 / W \quad (3)$$

$$E = C' \times V_2 / (C_0 - C_e) \times V_1 \times 100\% \quad (4)$$

式中,  $D$  为解析量(mg/g),  $C'$  为洗脱液中样品质量浓度,  $V_2$  为洗脱液体积(mL),  $W$  为干树脂质量(g),  $C_0$  为吸附前母液多糖质量浓度(g/L),  $C_e$  为吸附后多糖的质量浓度(g/L),  $V_1$  为提取液体积(mL),  $E$  为解析率。

**2.2.5 大孔树脂静态吸附动力学曲线** 预处理好的 8 种型号大孔树脂(AB-8、D101、LX-17、D301、NKA-9、S-8、LSD-001、ADS-7), 各精确称取 1 g(每种树脂做三个平行)于具塞锥形瓶中, 加入 20 mL 质量浓度为 4 mg/mL 的天麻多糖溶液。于 20 ℃下恒温振荡吸附 12 h, 每 2 h 吸取一定量的上清液测定多糖质量浓度, 绘制静态吸附动力学曲线。充分吸附后的树脂用滤纸吸干表面滤液, 置于干燥的锥形瓶中, 加入 20 mL 60% 乙醇进行解吸, 每 2 h 取滤液, 测定滤液多糖含量。根据吸附率、解

吸率及吸附动力学曲线选出其中最适合纯化天麻多糖的大孔树脂型号进行后续实验。

### 2.2.6 大孔树脂 D101 动态吸附条件研究

#### (1) 操作温度对吸附效果的影响

将预处理好的 D101 树脂, 装入 Φ1.5 cm × 20.0 cm 的层析柱中,  $L/D = 13$ 。用水洗涤平衡后上柱, 上柱条件: 配制样品浓度 4.0 mg/mL, 上样液体积 105 mL, 操作温度分别在 10 ℃、20 ℃、30 ℃, 动态吸附后测定流出液的体积和总多糖质量浓度, 计算吸附率。

#### (2) 上样速度对吸附效果的影响

配制样品浓度为 4 mg/mL 的天麻多糖溶液, 上样液体积 105 mL, 环境温度 20 ℃, 分别用 1、2、3 和 4 BV/h 的速度上样(1 BV=35 mL)。动态吸附后测定流出液的体积和总多糖质量浓度, 计算吸附率。

#### (3) 上样浓度对吸附效果的影响

上样液体积 105 mL, 上样速度 1 BV/h, 环境温度 20 ℃, 分别用 1、2、3、4、5 和 6 mg/mL 的样品浓度进行上样, 动态吸附后测定流出液的体积和总多糖质量浓度, 计算吸附率。

### 2.2.7 大孔树脂 D101 动态解析条件研究

#### (1) 洗脱液浓度对解析效果的影响

按前述静态实验结果及优化的吸附条件, 将上样液上柱, 在吸附完全的树脂上用洗脱体积 120 mL, 洗脱速率 1 BV/h, 用浓度为 0% (水), 20%、40%、60%、80%、90% 乙醇进行洗脱, 收集洗脱液, 测定洗脱液的体积和总多糖质量浓度, 计算吸附率, 考察洗脱液乙醇浓度对洗脱效果的影响。

#### (2) 洗脱速度对解析效果的影响

按前述静态实验结果及优化的吸附条件, 将上样液上柱, 在吸附完全的树脂上用洗脱体积 120 mL, 洗脱速率 1 BV/h, 洗脱条件: 60% 乙醇洗脱, 洗脱流速分别用 1、2、3 和 4 BV/h, 收集洗脱液, 测定洗脱液的体积和总多糖质量浓度, 考察洗脱速度对树脂解析天麻多糖的影响。

#### (3) 洗脱体积对解析效果的影响

按前述静态实验结果及优化的吸附条件, 将上样液上柱, 在吸附完全的树脂上用 60% 乙醇洗脱, 洗脱速率 1 BV/h, 洗脱体积分别用 1 BV、2 BV、3 BV、4 BV, 收集洗脱液, 测定总多糖质量浓度, 考察洗脱体积对树脂解析天麻多糖的影响。

### 2.2.8 数据统计分析

数据采用 GraphPad Prism 5 软件进行分析作图, SPSS 18.0 软件进行

方差分析,结果以平均数±标准偏差表示,试验数据均为 3 次平行试验的平均值,其中  $P < 0.05$  表示存在显著性差异。

### 3 结果与分析

#### 3.1 树脂的吸附和解析特性

由表 2 可知,NKA-9 对天麻多糖溶液有较高

的吸附率,但其解析率太低为 70.2%,这样会造成样品中多糖严重地损失。S-8 解析率最高,但是其吸附率太低为 70%,这样会使树脂的用量过大,从而增加成本。而 D101 的吸附率和解析率相比较其它树脂都比较高,分别为吸附率 82.04%,解析率 80.42%,因此,根据此静态实验综合指标显示,D101 大孔树脂为纯化天麻多糖的最佳树脂。

表 2 8 种大孔树脂对天麻多糖的静态吸附及解析结果

Tab. 2 Results of static adsorption-desorption of eight macroporous resins for total polysaccharides from *Gastrodia elata*

树脂型号	吸附量(mg/g)	吸附率(%)	解析量(mg/g)	解析率(%)
AB-8	1.142±0.005 <sup>a</sup>	71.51±1.044 <sup>a</sup>	0.795±0.057 <sup>a</sup>	69.64±1.352 <sup>b</sup>
NKA-9	1.378±0.007 <sup>b</sup>	86.02±6.08 <sup>c</sup>	0.966±0.032 <sup>b</sup>	70.22±1.113 <sup>b</sup>
ADS-7	1.204±0.008 <sup>c</sup>	75.24±0.680 <sup>ab</sup>	0.847±0.050 <sup>a</sup>	70.40±1.530 <sup>b</sup>
LX-17	1.270±0.360 <sup>d</sup>	79.21±1.311 <sup>b</sup>	0.710±0.026 <sup>c</sup>	55.91±0.720 <sup>a</sup>
LSD-001	1.126±0.004 <sup>a</sup>	70.50±0.500 <sup>a</sup>	0.627±0.157 <sup>d</sup>	55.74±1.571 <sup>a</sup>
D101	1.312±0.009 <sup>e</sup>	82.04±1.732 <sup>bc</sup>	1.055±0.029 <sup>e</sup>	80.42±0.916 <sup>c</sup>
S-8	1.074±0.004 <sup>f</sup>	70.01±2.000 <sup>a</sup>	0.998±0.010 <sup>dbe</sup>	92.81±0.629 <sup>d</sup>
D301	1.212±0.004 <sup>c</sup>	78.20±0.989 <sup>b</sup>	0.972±0.006 <sup>dbe</sup>	80.23±5.741 <sup>c</sup>

注:同列上标不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

#### 3.2 静态吸附-解析动力学曲线

3.2.1 静态吸附动力学曲线 从 8 种大孔树脂的静态吸附性能可知(图 1),8 种树脂对多糖的静态吸附量都呈相似的上升趋势,并且均在 10 h 趋于饱和状态,直至 12 h 吸附量不再增加已达到平衡状态。明显可以看出,S-8 的吸附能力最弱,吸附率为 70.00%,NKA-9 最大为 86.00%,其他大孔树脂均有较好的吸附性能,吸附量依次为 D101 为 82.00%,LX-17 为 79.25%,D301 为 78.25%,ADS-7 为 75.25%,AB-8 为 71.50%,LSD-001 为 70.50%( $P < 0.05$ ,说明八种树脂之间吸附效果有显著性差异)。最终吸附量大小排序为:NKA-9>D101>LX-17>D301>ADS-7>AB-8>LSD-001>S-8。

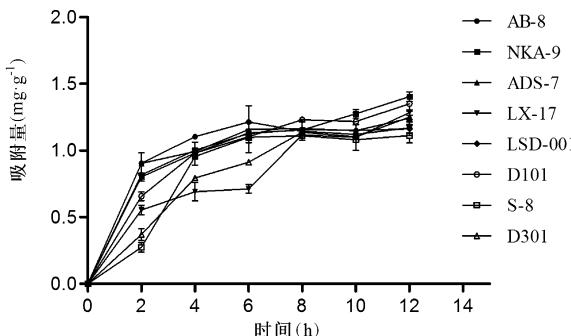


图 1 静态吸附动力学曲线

Fig. 1 Static adsorption kinetics curve

3.2.2 静态解析动力学曲线 由图 2 可看出,8 种大孔吸附树脂静态解吸均为快速平衡型,洗脱开始 2 h 内解析量较大,随着洗脱时间的延长,2 h 以后洗脱下来多糖质量浓度变化幅度不是很大,说明大孔树脂解吸达到平衡,所以解吸平衡时间选择 2 h。S-8 解析率最高,为 92.88%,D101 解析率为 80.4%,这 2 种树脂解析效果明显高于其它 6 种,其它 6 种解析量依次为:D301 为 80.24%,NKA-9 为 70.21%,ADS-7 为 70.39%,AB-8 为 69.60%,LX-17 为 55.91%,LSD-001 为 55.73%(其中  $P < 0.05$ ,说明有显著性差异)。最终确定的静态解析量大小顺序为:S-8>D101>D301>NKA-9>ADS-7>AB-8> LX-17>LSD-001。

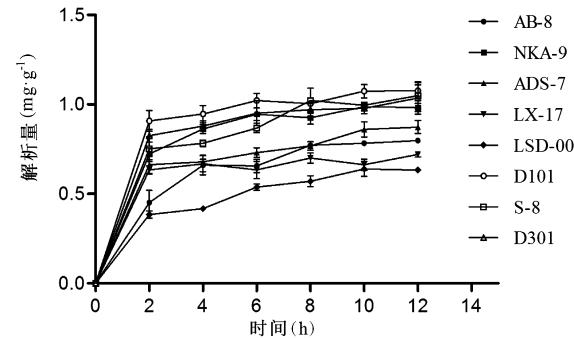


图 2 静态解析动力学曲线

Fig. 2 Static desorption kinetic curve

### 3.3 D101 型大孔树脂吸附分离天麻多糖条件优化

3.3.1 环境温度对吸附效果的影响 选出最佳型号的大孔树脂 D101 后, 考虑到受实际操作过程中的环境温度影响, 大孔吸附树脂最佳静态吸附温度为 20 °C(图 3).

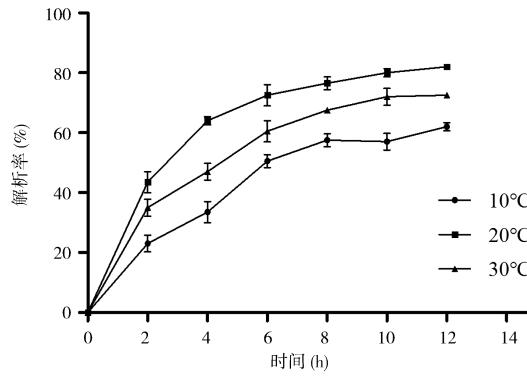


图 3 温度对 D101 树脂吸附效果的影响

Fig 3 Effect of temperature on the adsorption of D101 resin

3.3.2 上样速度对吸附效果的影响 分别用 1、2、3、4 BV/h 的速率上样. 测定其多糖含量, 计算出吸附率依次为 75.9%, 63.7%, 47.8%, 44.8%. 当用 1、2、3、4 BV/h 的速率上样时, 随着上样流速逐渐增大, 大孔树脂的吸附率逐渐减少, 当上样速率从 1 BV/h 增加至 3 BV/h 时, 吸附速率随着上样速率的加快明显的下降, 当上样速率从 3 BV/h 增加到 4 BV/h 时, 其吸附率在统计学上没有差异性. 综合考虑耗时和吸附效率, D101 大孔吸附树脂纯化天麻多糖的上样速率选择 1 BV/h.

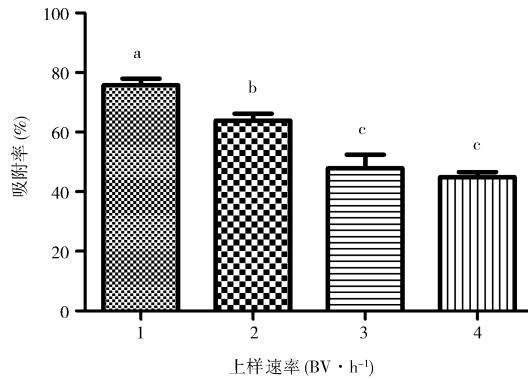


图 4 上样速率对吸附效果的影响

Fig 4 Effect of loading rate on adsorption effect  
注: 小写字母不同表示有显著性差异( $P < 0.05$ ), 下同.

3.3.3 上样浓度对吸附效果的影响 用上步所选上样速率为 1 BV/h, 上样量为 105 mL, 分别用 1、2、3、4、5 和 6 mg/mL 的样品浓度进行实验. 结果

计算出吸附率分别为 50.1%, 54.3%, 59.6%, 63.7%, 64.1%, 65.0%, 当上样液浓度为 4 mg/mL 时, 吸附基本饱和, 上样浓度再增大, 多糖的吸附率则增加缓慢(图 5), 分析其原因样品中的多糖质量浓度越高, 单位表面积内与大孔树脂接触量亦越大, 吸附量也就越大, 当多糖质量浓度继续增加, 吸附速率变慢, 大孔树脂表面吸附趋于饱和, 未被吸附的多糖就穿流出来<sup>[34]</sup>. 因此选用质量浓度为 4 mg/mL.

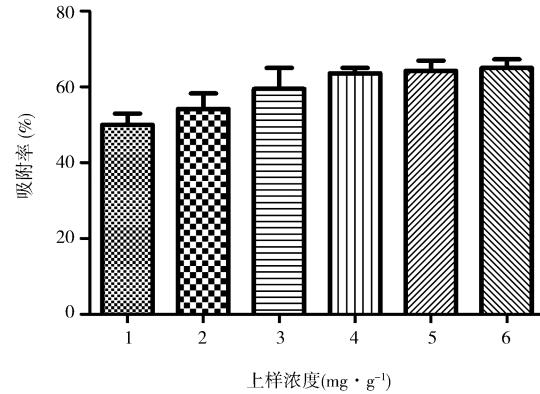


图 5 上样浓度对吸附效果的影响

Fig 5 Effects of sample concentration on adsorption

### 3.4 大孔树脂 D101 动态解析条件研究

3.4.1 洗脱液浓度对解析效果的影响 如图 6 所述, 分别用水, 20%、40%、60%、80% 和 90% 乙醇进行洗脱, 测定洗脱液中多糖含量, 计算出其解析率分别为 35%, 59.4%, 66%, 78.1%, 70.9%, 68.4%. 结果显示随着乙醇浓度增加, 解析率不断增多, 当乙醇浓度达到到 60% 时, 解析率达到最大值, 随乙醇浓度继续增加, 解析率反而减少. 可能是由于 60% 乙醇更有利于天麻多糖的溶解, 另一方面乙醇浓度的增加反而削弱了天麻多糖和大孔树脂之间的作用力, 因此选用浓度为 60% 的乙醇作为解析液.

3.4.2 洗脱速度对解析效果的影响 在洗脱速率分别为 1、2、3 和 4 BV/h 时, 解析率依次为 89.1%, 80.9%, 71.4%, 70.9%. 结果说明随着解析液流速的增加, 天麻多糖的解析率呈下降的趋势. 可能是因为流速的加快导致解析液与大孔树脂不能充分接触, 不能使吸附在大孔树脂上的天麻多糖成分被解析出来. 在 1 和 2 BV/h 的流速下, 解析率在统计学上没有差异(图 7), 而且考虑到流速过低会增加纯化周期和成本, 因此选择解吸速率为 2 BV/h.

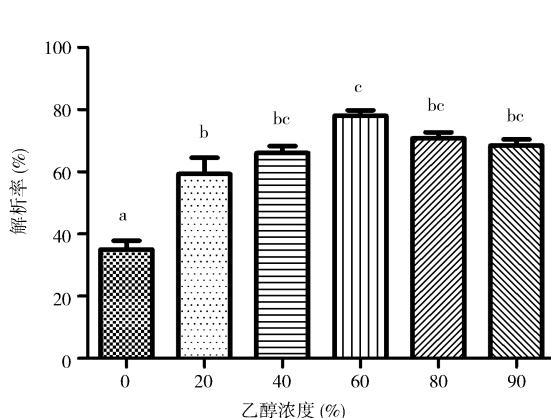


图 6 洗脱液浓度对解析效果影响

Fig. 6 Effect of eluent concentration on analytical effect

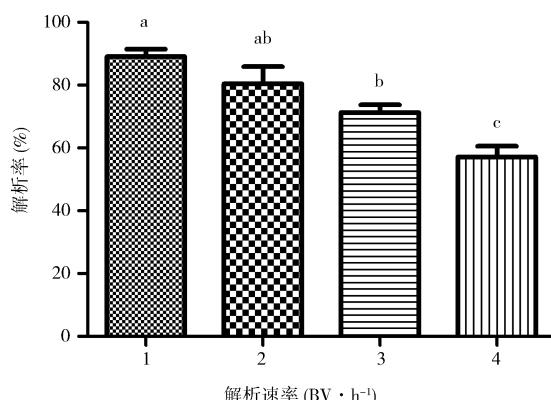


图 7 洗脱速率对解析效果影响

Fig. 7 Effect of elution rate on analytical effect

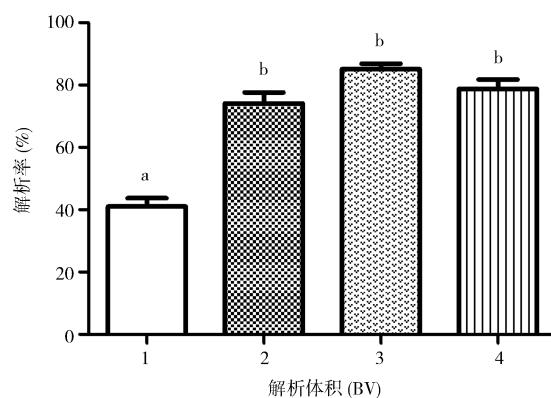


图 8 洗脱液体积对解析效果影响

Fig. 8 The effect of eluent volume on the analytical effect

**3.4.3 洗脱体积对解析效果的影响** 分别用 1 BV, 2 BV, 3 BV, 4 BV 的洗脱体积进行洗脱, 测定洗脱液中多糖含量, 探究洗脱体积对解析率的影响, 选出最佳洗脱体积。计算得出解析率分别为 42.2%, 74.4%, 85.4%, 80.3%。结果表明解析液体积为 3 BV 时, 就可将大部分吸附在大孔树脂上的天麻多糖解析下来, 因此选择解析液体积为 3 BV。

## 4 讨论及结论

大孔吸附树脂法是多糖类化合物常用的纯化方法, 具有纯化效果好, 工艺简单, 成本低等特点, 有效成分损失少, 杂质去除率高, 将已报道的大孔吸附树脂 D101 进行多糖纯化的参数和纯化效果进行了比较, 见表 3。

表 3 D101 型号大孔树脂纯化各种多糖的比较分析

Tab. 3 Performance analysis of D101 macroporous resin for purification of different polysaccharides

纯化样品名称	纯化工艺参数				实验效果		参考文献
	上样浓度	上样速率	洗脱液种类	洗脱速率	吸附率(%)	解析率(%)	
紫苏多糖	4mg/mL	2BV/h	70%乙醇	3BV/h	92.1	85.8	[25]
金针菇菌渣多糖	4mg/mL	2BV/h	30%乙醇	3BV/h	72	91.4	[26]
萝藦总多糖	3mg/mL	3BV/h	70%乙醇	3BV/h	72.6	86.3	[27]
天麻多糖	4mg/mL	1BV/h	60%乙醇	2BV/h	82.04	80.42	本研究

本试验选择 AB-8、D101、LX-17、D301、NKA-9、S-8、LSD-001、ADS-7 这 8 种大孔树脂对天麻多糖的吸附与解析进行研究, 结果显示, 静态吸附率依次为 NKA-9>D101>LX-17>D301>ADS-7>AB-8>LSD-001>S-8。静态解析率依次为 S-8>D101>D301>NKA-9>ADS-7>AB-8>LX-17>LSD-001。筛选出最佳树脂 D101 后, 进一步探究 D101 型号大孔树脂动态吸附解析参数, 确定的纯化工艺为上样速率为 1 BV/h, 样品浓度为 4 mg/mL 进行上样, 洗脱液 60% 乙醇、洗脱速率 2 BV/

h, 洗脱体积 3 BV, 通过该工艺纯化后, 天麻多糖的纯度从 15.6% 提高了 65.7%。综上所述, 本实验所建立的大孔吸附树脂纯化工艺合理可行, 为天麻多糖的高效提纯奠定了基础, 也为天麻多糖的综合开发利用提供重要理论依据。

## 参考文献:

- [1] Chen P J, Sheen L Y. *Gastrodiae Rhizoma (tiān má)*: a review of biological activity and antidepressant mechanisms [J]. *J Tradit Complement Med*,

- 2011, 1: 31.
- [2] Matias M, Silvestre S, Falcão A, et al. *Gastrodia elata* and epilepsy: Rationale and therapeutic potential[J]. *Phytomedicine*, 2016, 23: 1511.
- [3] Zhan H D, Zhou H Y, Sui Y P, et al. The rhizome of *Gastrodia elata* Blume-An ethnopharmacological review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 189: 361.
- [4] 段小花, 李资磊, 杨大松, 等. 昭通产天麻化学成分研究[J]. 中药材, 2013, 36: 1608.
- [5] Qiu H, Tang W, Tong X, et al. Structure elucidation and sulfated derivatives preparation of two alpha-D-glucans from *Gastrodia elata* Bl. and their anti-dengue virus bioactivities[J]. *Carbohydr Res*, 2007, 342: 2230.
- [6] Chen X, Cao D, Zhou L, et al. Structure of a polysaccharide from *Gastrodia elata* Bl., and oligosaccharides prepared there of with anti-pancreatic cancer cell growth activities [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 86: 1300.
- [7] 葛进, 张磊, 刘大会, 等. 产地、商品级别和干燥工艺对天麻品质影响研究[J]. 中药材, 2017, 40: 637.
- [8] 魏士杰, 陈文强. 云芝子实体多糖对人宫颈癌 HeLa 细胞生长和凋亡的影响研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2016, 53: 1162.
- [9] He X, Wang X, Fang J, et al. Polysaccharides in *Grifola frondosa* mushroom and their health promoting properties: A review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 101: 910.
- [10] 王丽波, 程龙, 徐雅琴, 等. 南瓜籽多糖热水提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 农业工程学报, 2016, 32: 284.
- [11] 张梦娟, 徐怀德, 牛素哲. 天麻多糖水提工艺优化研究[J]. 食品工业科技, 2006, 27: 119.
- [12] 李志英, 双少敏, 张海容, 等. 微波法提取天麻多糖的研究[J]. 山西大学学报: 自然科学版, 2008, 31: 573.
- [13] 朱晓霞, 罗学刚. 天麻多糖提取工艺优化[J]. 时珍国医国药, 2007, 18: 906.
- [14] 杨天友, 刘金涛, 李刚凤. 超声波辅助提取德江天麻多糖工艺优化[J]. 中国酿造, 2015, 34: 117.
- [15] 明建, 曾凯芳, 吴素蕊, 等. 天麻多糖 PGEB-3-H 对东莨菪碱所致小鼠学习记忆障碍的影响[J]. 食品科学, 2010, 31: 246.
- [16] 周本宏, 梁艺小, 沈恒, 等. 天麻多糖对皮质酮损伤 PC12 细胞保护机制研究[J]. 中药材, 2013, 36: 630.
- [17] 王强, 张沂, 李佳, 等. 天麻多糖通过影响小鼠免疫系统抑制肿瘤生长[J]. 免疫学杂志, 2014, 30: 566.
- [18] 李峰, 朱洁平, 王艳梅, 等. 天麻多糖对小鼠免疫性肝损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2015, 31: 111.
- [19] 李晓冰, 展俊平, 张月腾, 等. 天麻多糖对环磷酰胺所致免疫功能低下小鼠体液免疫功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36: 1027.
- [20] 刘明学, 李琼芳, 刘强, 等. 天麻多糖分离、结构分析与自由基清除作用研究[J]. 食品科学, 2009, 30: 29.
- [21] 张迪, 廖剑华, 王宏雨. 大孔树脂柱吸附纯化双孢蘑菇多糖的工艺[J]. 福建农业学报, 2017, 32: 175.
- [22] 陈琛, 李鑫鑫, 付昀东, 等. 汉中天麻多糖抗菌活性研究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46: 156.
- [23] 陈可, 曲绮雯, 陈霞连, 等. 藏红花花瓣粗多糖的体外抗氧化活性研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2016, 53: 448.
- [24] 王静, 雷宏杰, 岳珍珍, 等. 大孔树脂对红枣汁中棒曲霉素的吸附动力学[J]. 农业工程学报, 2015, 31: 285.
- [25] 朱建飞, 陈玉玲, 唐春红. 大孔吸附树脂纯化紫苏粕多糖水提液的研究[J]. 中国油脂, 2012, 37: 63.
- [26] 黄民凤. 金针菇菌渣多糖的提取纯化及功能评价[D]. 长沙:湖南农业大学, 2015.
- [27] 马寅达. 萝藦总多糖的提取纯化及药理作用的初步研究[J]. 辽宁医学院, 2012, 6: 21.

#### 引用本文格式:

中 文: 陈琛, 李鑫鑫, 魏唯, 等. 大孔树脂纯化天麻多糖的工艺研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2018, 55: 1109.

英 文: Chen C, Li X X, Wei W, et al. Macroporous adsorption resin for the purification of polysaccharides from *Gastrodia elata* Bl [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2018, 55: 1109.