

# 罗汉果多糖提取工艺研究进展

孙丹玲, 邓月义\*

桂林医学院, 广西 桂林

Email: 1391973714@qq.com, \*302895063@qq.com

收稿日期: 2021年2月18日; 录用日期: 2021年3月12日; 发布日期: 2021年3月19日

## 摘要

多糖大分子成分在生物体内十分重要,也是生命活动不可或缺的成分。罗汉果中的多糖成分是其重要的活性物质,具有抗癌、抗细胞氧化、调低血糖等活性。因此,本文探究了罗汉果在多糖的提取纯化的研究,并展望了罗汉果多糖的未来发展趋势。

## 关键词

罗汉果, 多糖, 提取工艺

# Advances in Studies on the Extraction Technology and Pharmacological Action of Polysaccharide from Fructus Momordicae

Danling Sun, Yueyi Deng\*

Medical College of Guilin, Guilin Guangxi

Email: 1391973714@qq.com, \*302895063@qq.com

Received: Feb. 18<sup>th</sup>, 2021; accepted: Mar. 12<sup>th</sup>, 2021; published: Mar. 19<sup>th</sup>, 2021

## Abstract

Polysaccharide is an important macromolecule and an essential component in all living organisms. As one of the important active components of Fructus Momordicae, polysaccharides of Fructus Momordicae have biological activities, such as anti-oxidation, anti-tumor and hypoglycemia. Therefore, this paper explored the study of the extraction and purification of Fructus Armandii in poly-

\*通讯作者。

saccharides, and looked into the future development trend of polysaccharides in *Fructus Armandii*.

## Keywords

*Siraitia grosvenorii*, Polysaccharides, Extraction

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

罗汉果属葫芦科, 为多年生藤本植物的果实, 是广西桂林当地著名的土特产。具有止咳祛痰[1]、降血糖[2]、抑菌[3] [4]、保肝[5]、抗肿瘤[6] [7]等多种功能活性, 且罗汉果叶可用于治疗皮炎、慢性心绞痛、慢性支气管炎[8]、咳嗽、咽喉痛和便秘[2], 是首批被国家卫生部公布的药食两用物品[9]。其在治疗咽喉炎、百日咳、急慢性气管炎、胃肠疾病方面疗效显著, 被收载于 2000、2005、2010、2015 年中华人民共和国药典, 作为常用中药使用[10]。在国内很多的中成药如喉宝片、金嗓子等都以罗汉果为原料, 就目前的研究所知, 国内研究者已对罗汉果中的糖类用各种手段的分离方法进行了提取分离, 提取物被用作无糖型甜味剂和保健剂, 出口至国外, 不仅在我国, 而且在美国、日本等国家也是广为使用, 开发利用罗汉果中有效成分有很好的经济价值和药用价值。

罗汉果果实营养价值较高, 富含多糖[11]、黄酮[12] [13]、蛋白质基质、维生素及部分微量元素等多种成分。多糖是罗汉果的天然有效活性成分之一, 其果实中含量较高, 达 5~10 mg/个[14] [15]。目前已有大量关于罗汉果中化学成分的研究, 如多糖提取[16]、黄酮提取[15], 并取得了一定的成效, 但缺乏对某单一活性成分研究的系统归纳与总结。文章拟对罗汉果多糖的提取纯化方面进行系统整理与概括, 并对罗汉果多糖的未来发展趋势进行展望, 以期进一步推动罗汉果产业的发展。

## 2. 罗汉果多糖的提取

### 2.1. 提取

罗汉果多糖的制作通常先将罗汉果干燥、粉碎, 然后采用不同的提取方法分离出果实内的多糖成分, 上清液过滤浓缩干燥后得到罗汉果粗多糖。

#### 2.1.1. 水提醇沉法

张立娟[17]以干燥的罗汉果粉末为原材料, 通过正交实验和单因素, 确定了罗汉果多糖的水提法的最优提取工艺为: 提取温度 70℃, 提取时间 3 h, 料液比 1:35 (g/mL)。此工艺标准下多糖的提取率为 14.55% ± 0.10%。通过热水浸提, 离心取上清液, 乙醇沉淀, 除色素, 真空冷冻干燥得到水溶性罗汉果粗多糖经 Sephadex G-200 和超滤分离纯化得到罗汉果纯多糖, 命名为 SGP。张玲等[18]用中药粉碎机将罗汉果粉碎, 40 目筛网过滤, 称取干燥罗汉果粉 300 g, 用蒸馏水煮沸 1.5 h, 过滤, 重复提取三次。滤液 3000 r/min, 收集上清液加热蒸发浓缩至 1 g/ml。与此同时, 可在处理过的上清液中加入乙醇, 使最终溶液浓度达到 80%。在冰箱中 4℃ 过夜, 高速离心, 时间为 15 min, 转速为 3000 r/min, 所得沉淀经过冷冻干燥流程后即得罗汉果多糖粗品, 表面形状为黄褐色粉末, 易溶于水。

### 2.1.2. 蒸馏醇提法

黄艳等[19]在实验方法中, 将罗汉果捣碎, 用蒸馏水回流提取 5 次, 每次 1.5 h; 将提取液混合离心, 得上清液经 D101 型树脂除去苷类、黄酮类等物质; 将浓缩液离心, 收集上清液, 用 95%乙醇进行沉淀, 并静置一日夜, 离心, 先后用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤, 冷冻干燥, 得到多糖粗品。

从上可得, 有提取温度、时间、溶液成分比、回流次数、提取液浓度等因素影响了罗汉果多糖的提取率。与其他提取方法相比, 醇沉淀法安全环保、简单易操作, 被广泛使用, 但存在提取时间长, 杂质高, 产品纯度不高, 提取率低等问题。

### 2.1.3. 超声波法

李俊等[16]取干燥、粉碎的罗汉果 100 g, 根据所需标准条件加入 50℃一定量水, 超声提取 3 次, 每次 5 min 左右, 合并 3 次所得提取液, 减压浓缩; 再向所得液中加入 95%乙醇使罗汉果多糖成分沉淀于底, 高速离心 15 min, 得到沉淀。把沉淀溶解于水, 过滤; 在滤液中加 95%乙醇使多糖沉淀, 高速离心 15 min, 弃上清液取所得物, 再使用丙酮洗涤 5 次, 并在冷冻箱中-50℃下冻干, 得其粗多糖。陈阳等[20]使用响应面法优化了罗汉果多糖的超声提取工艺; 并选择羟基自由基(-OH)法、二苯代苦味酰基自由基(DPPH-)法和  $Fe^{3+}$ 还原力法研究了多糖的抗氧化能力。结果表明: 当液料比为 30: 1, 超声时的温度为 70℃, 功率为 300 W、时间为 30 min 时, 罗汉果多糖提取率能达到 6.39%, 相比于热水浸提法的提取率提高了 15%。

综上所述超声波辅助提取法提取罗汉果多糖的工艺参数不同, 其提取率可能与罗汉果的果实起源、产地、成长期、成熟度、果实部位等因素有关。超声波辅助提取法与原始的回流法相比, 缩短了提取时间。超声波输出量与多糖提取率呈正相关, 但于此同时超声波输出量也与提取温度呈正比, 多糖的扩散受到影响, 提取率降低。在采用超声波辅助提取方法时, 需要控制系统温度, 找到适合的功率与时间以提高多糖的提取率。超声波辅助提取法具有效率高、提取时间短、适用范围广、适用于工业生产等优点, 但超声波处理过程中噪音大, 液体温度容易增高, 需要进行冷却降温操作等。

### 2.1.4. 纤维素酶法

李洪燕等[21]在寻找最佳工艺条件的一系列过程后, 确定了纤维素酶法为最适方法, 指标为多糖提取率, 首先发现并考察各方面因素对罗汉果多糖提取率的影响, 以单因素试验分别对酶的活力, 酶解温度、时间、以及 pH 进行考察, 在此步骤后, 通过四因素三水平正交试验确定各因素的最佳条件以及各因素对纤维素酶解法提取多糖的影响首位度。各因素的影响由大到小依次为: 酶解温度 > 酶活力 > 酶解时间 > 酶解 pH, 并紧接着确定了此方法提取罗汉果中多糖的最佳工艺标准及条件为: 酶解温度 50℃, 酶活力 500 U/g, pH 为 6.0, 酶解时间 55 min。在此条件下进行 5 次平行空白对照试验, 可得多糖提取率为 6.82%, 相对标准偏差为 2.2%。与传统热水浸提法相比, 本法的效率更高, 与最初的传统方法提取率相差 10%~22%。

## 3. 罗汉果多糖的纯化

陈海燕[22]致力于研究罗汉果多糖提取方法。采用正交试验研究了用热水法、微波法和超声波法提取罗汉果多糖的工艺。各工艺的最佳条件为: ① 在热水法中, 多糖的提取温度为 100℃, 需要的提取时间为 1.5 h, 料液比为 1:2, 经过 7 次的提取, 最后测得多糖得率为 0.60%; ② 在微波法中, 微波加热提取需要 15 min, 料液比为 1:6, 经过 7 次的提取, 最后测得多糖率为 1.24%; ③ 在超声波法中: 超声波提取 60 min, 料液比 1:6, 经过 7 次的提取, 最后测得多糖率 0.741%。罗汉果粗多糖经 Sevag 法脱蛋白, DEAE——纤维素、Sephadex G-200 凝胶柱层析得到两个罗汉果多糖(*Siraitia grosvenorii* polysaccharide,

SGPS): SGPS1、SGPS2; 用 HPLC 法得其相对分子量以及纯度, 分别为 470000、790000; 用 TLC 测定了它们的单糖组成; 用 UV, IR 和 NMR 初步鉴定了 SGPS1 和 SGPS2 结构, SGPS1 中的单糖残基以吡喃环和呋喃环的形式存在, SGPS2 中的单糖残基以  $\alpha$ -吡喃环的形式存在。同时运用  $^{13}\text{C}$  NMR 证实了这两种多糖的单糖残基环状构型及糖苷键构型。

李珊等[23]以罗汉果种子为原料, 采用水溶剂提取法提取多糖, 并采用响应面法优化工艺。最佳工艺提取条件为提取温度  $86^{\circ}\text{C}$ , 液比 47:1 (mL/g), 提取次数 2 次, 提取时间 82 min。在此标准下, 实测的罗汉果多糖的平均提取率为 7.03%。以纯水和 0.9%氯化钠溶液为清洗剂, 用 DEAE-52 纤维素柱层析纯化获得多糖 P-1 和多糖 P-2。在实验中, 将多糖类提取液的批次浓缩为 100 ml, 过滤后转移到 1.0 L 锥形瓶中, 加入体积的 4 倍的 95%乙醇, 在低温冰箱中( $2^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$ )使乙醇沉淀。经过 72 h 后, 倾出上清液后离心 3000 r/min, 10 min, 将样品置于回流提取管中纯化, 再移至抽滤瓶抽滤, 洗涤沉淀, 收集黑褐色的固体, 在  $70^{\circ}\text{C}$ 干燥。取 0.20 g 粗多糖, 用少量纯水溶解后转移到 DEAE52 纤维素柱( $2.5 \times 30\text{ cm}$ ), 用纯水、0.9%溶液氯化钠进行淋洗, 淋洗速度 1.0 mL/min, 每试管 15 mL。利用吸光度追踪淋浴过程, 直到淋浴液中的多糖浓度为零为止停止淋浴。

#### 4. 展望

近年来, 多糖已经成为天然药物研究的热点之一, 但是因为多糖复杂的结构, 导致多糖的研究进展缓慢。罗汉果作为中国广西省特有的多年生草本植物的果实, 中国卫生部将罗汉果列为药食两用的名贵中药材, 中医认为罗汉果味甘、性凉、具有镇咳、平喘、化痰、生津止渴、凉血润肺、降低血压等功效, 临床上可以用于治疗百日咳、哮喘、肺结核等肺部感染和支气管感染, 同时对高血压也有很好的治疗效果。罗汉果多糖提取分离方面的研究较多, 但对于其结构的研究还处在初级阶段, 因为多糖的结构比较复杂, 所以一级结构至今没有得到详细的阐述。后续对罗汉果多糖的研究可以从以下方面进行: 加强对罗汉果多糖进一步的分离提纯的深入研究, 探究罗汉果多糖的成分与其生物活性的构效关系。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 197.
- [2] Li, C., Lin, L.M., Sui, F., et al. (2014) Chemistry and Pharmacology of *Siraitia grosvenorii*: A Review. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **12**, 89-102. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(14\)60015-7](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(14)60015-7)
- [3] 郑楚, 唐金良, 杨冬业, 等. 罗汉果总黄酮对实验性糖尿病大鼠的治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 194-197.
- [4] 梁硕, 杨志萍, 费振鸿, 等. 罗汉果抑菌性能的研究[J]. 食品工业, 2016, 37(7): 207-209.
- [5] Ye, M. and Zhou, Y. (2008) Preliminary Research on Antibacterial Activity of the Ethanol Extracts from *Momordica grosvenori* Leaf and Stem. *Journal of Mountain Agriculture & Biology*, **27**, 42-46.
- [6] 符毓夏, 王磊, 李典鹏. 罗汉果醇抗肿瘤活性及其作用机制研究[J]. 广西植物, 2016, 36(11): 1369-1375.
- [7] Takasaki, M., Konoshima, T., Murata, Y., et al. (2003) Anticarcinogenic Activity of Natural Sweeteners, Cucurbitane Glycosides, from *Momordica grosvenori*. *Cancer Letters*, **198**, 37-42. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(03\)00285-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(03)00285-4)
- [8] 陈全斌, 义祥辉, 何星存. 罗汉果叶饮料的可行性研究[J]. 饮料工业, 2005, 8(4): 27-30.
- [9] 罗祖良, 张凯伦, 马小军, 等. 三萜皂苷的合成生物学研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(10): 1806-1814.
- [10] 张宏, 王玉良. 最新中成药手册[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1998: 236.
- [11] 陈全斌, 义祥辉, 余丽娟, 等. 不同生长周期的罗汉果鲜果中甜甙 V 和总黄酮含量变化规律研究[J]. 广西植物, 2005, 25(3): 274-277.
- [12] 余丽娟, 陈全斌, 义祥辉, 等. 高效液相色谱法制备罗汉果甜甙 V 标准品[J]. 色谱, 2003, 21(4): 397-399.
- [13] 陈全斌, 陈海燕, 李俊, 等. HPLC 法测定罗汉果多糖的相对分子量[J]. 中草药, 2003, 34(12): 1075-1076.

- 
- [14] 陈全斌, 杨瑞云, 义祥辉, 等. RP-HPLC 法测定罗汉果鲜果及甜甙中总黄酮含量[J]. 食品科学, 2003, 24(5): 133-139.
- [15] 陈全斌, 杨建香, 程忠泉, 等. RP-HPLC 法测定罗汉果叶中总黄酮含量[J]. 广西科学, 2005, 12(1): 43-45.
- [16] 李俊, 黄锡山, 张艳军, 等. 超声波法提取罗汉果多糖的工艺研究[J]. 中药材, 2007, 30(4): 475-477.
- [17] 张立娟. 罗汉果多糖的提取、结构分析及抗氧化活性研究[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津科技大学, 2019.
- [18] 张玲, 黄友防, 陆春妮, 等. 罗汉果多糖分离提取及免疫药理作用的初步研究[C]//纪念中国畜牧兽医学会中兽医学分会成立 30 周年、中国畜牧兽医学会中兽医学分会 2009 年学术年会暨华东区第十九次中兽医科研协作与学术研讨会论文集. 121-125.
- [19] 黄艳, 李俊, 何星存, 等. 罗汉果多糖的结构研究[J]. 食品工业科技, 2008, 8(29): 169-172.
- [20] 陈阳, 杨小生, 杨娟, 等. 响应面法优化罗汉果多糖的提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2016, 41(8): 180-184.
- [21] 李洪燕, 罗浩, 刘结容, 等. 酶解法提取罗汉果多糖的工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(2): 689-694.
- [22] 陈海燕. 罗汉果多糖成分及其药理活性的研究(I) [D]: [硕士学位论文]. 桂林: 广西师范大学, 2002.
- [23] 李珊, 梁俭, 刘晓凤, 等. 罗汉果籽多糖的提取纯化及其抗氧化活性测试[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(2): 78-83.