

正交设计优选黄芪多糖的微波辅助与传统提取工艺研究^{*}

★ 张萍 梁新丽^{**} 廖正根 赵国巍 赖珺 戴春兰 (江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室 南昌 330004)

摘要:目的:以水为提取溶剂,比较微波辅助与传统提取对黄芪多糖的影响研究。方法:采用正交实验设计,蒽酮-硫酸比色法测定其含量,优选微波辅助与传统提取黄芪的工艺,比较两种提取工艺对黄芪多糖的影响。结果:优化传统提取条件为料液比12:1,提取时间60 min,提取2次,黄芪多糖提取率为89.34%;微波辅助提取条件为料液比12:1,提取时间15 min,微波功率800 W,黄芪多糖提取率为93.02%。结论:微波辅助提取时间短、有效成分提取率高,可用于黄芪多糖的提取工艺。

关键词:正交设计;黄芪;多糖;微波提取;传统提取

中图分类号:R 284.2 **文献标识码:**A

Study on Microwave-assisted Extraction and Conventional Extraction Astragalus-polysaccharose by Orthogonal Design

ZHANG Ping, LIANG Xing-li, LIAO Zheng-gen, ZHAO Guo-wei, LAI Jun, DAI Chun-lan

Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004

Abstract: Objective: Comparative study on extracting astragalus-polysaccharose from conventional extraction and microwave-assisted by water. Methods: Orthogonal test was used, Polysaccharide content was determined with anthrone-sulphuric acid colorimetry. Results: The optimum conventional extraction procedure was as follow: 12 times of water decocting 60 min, 2 times, the polysaccharide extraction rate was 89.34%; The optimum microwave-assisted extraction procedure was: 12 times of water abstraction 15 min, microwave irradiation (800W) 2 times, the extraction rate was 93.02%. Conclusion: The microwave technique could be a better method for polysaccharides extraction in the Radix astragali.

Key words: Orthogonal design; Radix astragali; Polysaccharides; Microwave-assisted extraction; Conventional extraction

黄芪是豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. Var. *mong-holicus* (Bge) Hsiao. 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根。黄芪味甘性温,归肺、脾经。具补气固

表、利尿托毒、排脓、敛疮生肌等功效,药用历史悠久,应用广泛^[1]。

关于植物活性多糖的提取已有较多研究报道,传统的浸提方法主要有冷水浸提^[2]、热水浸提^[3]、

冰片相比,其晶体特征发生了显著变化,呈现出一种新的物相,确证包合物已经形成。

参考文献

- [1] 马琳,周庆华. 冰片损失量的测定[J]. 中医药学报,1994(3):38-39.
- [2] 袁敏,赵仁永,王平,等. 白石降压胶囊中冰片 β -环糊精包合工艺的研究及其包合物鉴定[J]. 齐鲁药事,2007,(14):126.
- [3] 王晓平,廖工铁,侯世祥. 蟾酥冰片 β -环糊精包合物的制备与鉴

定[J]. 华西药理学杂志,1992,7(3):138-142.

- [4] 王翊臻,荆树汉. 冰片 β -环糊精包合物制备工艺研究[J]. 广西医学,2004,26(6):820-821.
- [5] 宋洪涛,郭涛,赵明宏,等. 冰片 β -环糊精包合物的理化性质考察[J]. 沈阳药科大学学报,2002,19(4):255-257.
- [6] 姚波,廖工铁,洪净,等. 冰片 β -环糊精包合物包合方法的研究[J]. 中成药研究,1989,(11):1-2.

(收稿日期:2008-12-12)

^{*} 基金项目:国家十一五科技支撑计划资助项目(2006BAI09B07-05);江西省卫生厅中医药科研基金资助项目(2007A018);江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ08327)

^{**} 通讯作者:梁新丽,从事中药新剂型与新技术研究,Tel:(0791) 7119011;E-mail:paln7@163.com

酶法浸提^[4]。这些方法的普遍存在耗时长、产率低,所以寻找新的提取技术以克服上述缺点,是目前黄芪多糖提取的主要研究方向。微波加热是靠微波电子管发出的电磁波,感应生电,又转化成分子的动能而发热,具有快速、高效、安全的特点;其次微波的频率很高,能透入物体的深部,应用微波加热提取手段,能较大幅度提高多糖提取率^[5]。本文采用正交设计优化微波辅助提取黄芪中的多糖成分,并与传统的回流提取比较,为微波提取黄芪多糖的可行性提供依据。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 HWC-3LA 型微波提取设备(广州兴兴微波能设备有限公司);KDM 调温电热套(郾城华鲁电热仪器有限公司);UV-2100PC 型紫外分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司);HH-S 恒温水浴锅(江苏省金坛市医疗仪器厂);BT-224S 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)等。

1.2 试剂 D-无水葡萄糖(中国药品生物制品检定所,批号 110833-200302);黄芪(购于江西汇仁药业有限公司);其它试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 正交实验设计 以黄芪多糖的提取率为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验表进行正交实验,以水为提取溶剂,比较传统与微波辅助提取法对黄芪多糖的影响。因素水平见表 1 及表 2。

(有效成分的提取率% = 提取液中有效成分的质量/药材中有效成分的总质量 $\times 100\%$)。

表 1 传统提取黄芪因素水平表

编号	A 提取时间 /min	B 溶剂用量 /倍	C 提取次数
1	30	10	1
2	60	12	2
3	90	14	3

表 2 微波辅助提取黄芪因素水平表

编号	A 微波辐射时间 /min	B 溶剂用量 /倍	C 功率/W
1	10	10	400
2	15	12	600
3	20	14	800

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取经 105℃干燥至恒重的葡萄糖对照品适量,加水溶解制成含葡萄糖 98.8 g·mL⁻¹的对照品溶液,摇匀,备用。

2.2.2 0.1% 蒽酮-硫酸溶液 精密称取蒽酮 0.1 g,加 80% 的硫酸溶液 100 mL 使溶解,摇匀,即得。

2.2.3 标准曲线的制备 精密吸取 0.4 ~ 2.0 mL 对照品溶液共 9 份,分别置 10 mL 具塞试管中,各加

水至 2.0 mL,摇匀,在冰水浴中缓缓滴加 0.1% 蒽酮-硫酸溶液 8 mL,摇匀,放冷后置水浴中保温 10 min,取出,立即置冰水浴中冷却 10 min,取出,以相应的试剂为空白,照紫外-可见分光光度法在 625 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,得回归方程 $A = 28.297 C - 0.049 8 (r = 0.999 6)$ 。

2.2.4 样品的提取 取黄芪饮片适量,提前均用规定量的水浸泡 1 h。按 $L_9(3^4)$ 组合试验条件分别进行提取,取各提取液 10 mL,加入乙醇 150 mL,摇匀,4℃放置 12 h,取出,离心,倾去上清液,沉淀加水溶解并转移至 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀即得。精密量取样品溶液 2 mL,置 10 mL 具塞试管中,照标准曲线制备项下的方法,自“精密加入硫酸蒽酮溶液 8 mL”起,依法测定吸光度,从标准曲线上读出样品溶液中含葡萄糖的量,计算,即得。

2.2.5 黄芪药材中多糖的含量测定^[6] 取 60℃干燥至恒重的本品细粉约 0.25 g,精密称定,置圆底烧瓶中,加 80% 乙醇 150 mL,水浴回流提取 1 h,趁热滤过,残渣用 80% 热乙醇洗涤 3 次,每次 10 mL,将残渣及滤纸置烧瓶中,加水 150 mL,置沸水浴中加热回流提取 1 h,趁热滤过,残渣及烧瓶用热水洗涤 4 次,每次 10 mL,合并滤液与洗液,放冷,转移至 250 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,精密量取 1 mL,置 10 mL 具塞干燥试管中,照标准曲线的制备项下的方法,自“加水至 2.0 mL”起,依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中含多糖的量,计算,即得(多糖含量为 38.39 mg·g⁻¹)。

2.3 正交实验结果

2.3.1 传统提取黄芪多糖正交实验结果及方差分析 见表 3 及表 4。

表 3 传统提取黄芪多糖正交实验结果

编号	A	B	C	D	提取率(%)
1	1	1	1	1	40.69
2	1	2	2	2	66.77
3	1	3	3	3	71.53
4	2	1	2	3	80.35
5	2	2	3	1	92.29
6	2	3	1	2	47.78
7	3	1	3	2	72.22
8	3	2	1	3	50.97
9	3	3	2	1	92.73
K1	59.663	64.420	46.480	75.237	
K2	73.473	70.010	79.950	62.257	
K3	71.973	70.680	78.680	67.617	
R	13.810	6.260	33.470	12.98	

表4 方差分析结果

因素	偏差平方和	自由度	F 比	P 值
A	344.502	2	1.350	>0.05
B	70.885	2	0.278	>0.05
C	2158.694	2	8.456	>0.05
误差	255.27	2		

由表3直观分析显示因素作用主次为 $C > A > B$,表4方差分析结果表明这些因素对多糖含量均无显著影响。表3k值可知 $A_2 > A_3 > A_1$,故A因素应选 A_2 。由 $B_3 > B_2 > B_1$,因 B_2 与 B_3 值非常接近,且12倍量提取溶媒较14倍量相比经济成本低,可得B因素应选 B_2 。表3k值可知 $C_2 > C_3 > C_1$,C因素应选 C_2 。综上所述,最佳传统提取工艺为 $A_2B_2C_2$,即以12倍量的水浸泡1h,提取60min,残渣重复提取1次。

2.3.2 参照黄芪多糖传统提取条件 微波辅助提取黄芪多糖统一为提取2次。实验结果及方差分析见表5及表6。

表5 微波辅助提取黄芪多糖正交实验结果

编号	A	B	C	D	提取率(%)
1	1	1	1	1	33.73
2	1	2	2	2	61.88
3	1	3	3	3	59.28
4	2	1	2	3	66.03
5	2	2	3	1	94.22
6	2	3	1	2	50.03
7	3	1	3	2	85.73
8	3	2	1	3	44.51
9	3	3	2	1	71.22
K1	51.630	61.830	42.757	66.390	
K2	70.093	66.870	66.377	65.880	
K3	67.153	60.177	79.743	56.607	
R	18.463	6.693	36.986	9.783	

表6 方差分析结果

因素	偏差平方和	自由度	F 比	P 值
A	590.512	2	3.245	>0.05
B	72.936	2	0.401	>0.05
C	2104.586	2	11.566	>0.05
误差	181.97	2		

由表5直观分析显示因素作用主次为 $C > A > B$,表4方差分析结果表明这些因素对多糖含量均无显著影响。表5k值可知 $A_2 > A_3 > A_1$,故A因素应选 A_2 。由 $B_2 > B_1 > B_3$,可得B因素应选 B_2 。表5k值可知 $C_3 > C_2 > C_1$,C因素应选 C_3 。综上所述,最佳传统提取工艺为 $A_2B_2C_3$,即以12倍量的水浸泡1h,微波辅助提取15min,800W,残渣重复提取1次。

2.4 验证对比实验

黄芪饮片适量加12倍量的水浸泡1h,微波辅

助提取15min,800W,残渣重复提取1次,合并2次提液,滤过,得提取液,计算提取率。另取黄芪饮片适量加12倍量的水浸泡1h,提取60min,残渣重复提取1次,合并2次提液,滤过,得提取液,计算提取率。两种提取方法结果见表7。可知微波法对多糖的提取率较传统提取法为高,微波提取法提取黄芪多糖具有高效率、低成本的特点。

表7 微波辅助与传统法提取黄芪多糖的比较(n=3)

不同提取方法	多糖提取率(%)	总耗时/min	耗电量/kw·h	经济成本/RMB
微波法	93.02 ± 1.50	30	0.20	3.46
传统法	89.34 ± 2.36	120	0.56	13.15

注:经济指标均按1kg药材量计算,工人工资按50元/天计,电费按0.65元/kw·h计,水费按2元/吨计。

3 讨论

通过正交设计优化出微波辅助与传统提取黄芪多糖的工艺条件,并经验证得出微波法平均提取率为93.02%,高于传统法,为89.34%,可知较传统的直接加热提取法微波辅助提取具有提取时间短和提高率高等特点,从而降低提取成本,导致两种提取方法的不同可能是由于微波具有如下特殊功能:

(1)微波的热效应能使细胞壁破裂和使细胞膜中的酶失去活性,细胞中多糖很容易突破细胞壁和细胞膜障碍而被提取出来。

(2)在微波2450MHz变频电场作用下,极性分子取向随电场方向改变而变化^[7],从而导致分子旋转、振动或摆动,加剧物料分子运动及相互间的碰撞率,使分子在极短的时间内达到活化状态,加热较传统方式均匀,高效,从而加速被萃取成分向萃取溶剂界面扩散。

参考文献

- [1]《中华本草》编委会,《中华本草》[M].上海:上海科学技术出版社,1999:341-356.
- [2]张慧玲,李布青,舒庆龄,等.茶叶多糖提取方法的研究[J].食品与发酵工业,2001,27(7):45-48.
- [3]史琪云,郭玉蓉,陈德蓉.食用菌多糖提取工艺研究[J].食品工业科技,2004,25(2):98-100.
- [4]叶怀义,于浩.巴西菇多糖提取方法研究[J].江苏食品与发酵,2004(1):11-13.
- [5]杨文杰,黄惠华.螺旋藻多糖的水提与微波辅助提取的比较[J].食品工业科技,2003(8):40-42.
- [6]中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:化学工业出版社,2005:215.
- [7]Pare J R J, Belanger J M R, Stafford S S. Microwave-Assisted Process (MAPTM); a new tool for the analytical laboratory[J]. Trends in Analytical Chemistry, 1994, 13 (4): 176-184.

(收稿日期:2008-12-10)