

均匀设计优化超声波法提取黄芪多糖的研究

金汝城 周木涛 张东博 (兰州理工大学, 甘肃兰州 730050)

摘要 [目的] 探索一种快速、简便、提取率高的黄芪多糖提取方法。[方法] 以黄芪根粉为材料, 用超声波法提取其中的黄芪多糖, 考察提取时间、超声功率和提取温度对提取液中黄芪多糖含量的影响, 并采用均匀设计对提取条件进行优化。[结果] 提取时间、超声功率和提取温度对提取液中黄芪多糖含量的影响由大到小依次为超声功率 > 提取温度 > 提取时间。根据多糖含量与超声功率、提取温度和提取时间的回归关系, 预测黄芪多糖的最佳提取条件为: 提取时间 100 min、超声功率 250 W、提取温度 80 ℃。当超声功率为 250 W、提取温度为 80 ℃、提取时间分别为 70、80、90 min 时, 黄芪多糖含量分别为 8.38%、8.41% 和 8.38%。[结论] 黄芪多糖的最佳提取工艺为: 提取时间 90 min、功率 250 W、温度 80 ℃。

关键词 均匀设计; 黄芪多糖; 超声波法

中图分类号 S567.7⁺9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)12-05498-02

Study on Extraction of *Astragalus membranaceus* Polysaccharides by Optimized Ultrasonic Method with Uniform Design

JIN Ru cheng et al (Lanzhou University of Technology, Lanzhou, Gansu 730050)

Abstract [Objective] The aim was to explore a rapid, simple and high yielding rate extraction method of *Astragalus membranaceus* polysaccharides. [Method] With root powder of *A. membranaceus* as the material, the *A. membranaceus* polysaccharides was extracted by ultrasonic method. The effects of extraction time, ultrasonic power and extraction temperature on *A. membranaceus* polysaccharides content in extracts were investigated and the extraction condition was optimized with uniform design. [Result] The effects of extraction time, ultrasonic power and extraction temperature on *A. membranaceus* polysaccharides content in extracts from big to small in order was ultrasonic power > extraction temperature > extraction time. According to the regression relationship of polysaccharides and ultrasonic power, extraction temperature and extraction time, the predicted optimal condition for extracting *A. membranaceus* polysaccharides was that extraction time of 100 min, ultrasonic power of 250 W and extraction temperature of 80 ℃. When the ultrasonic power was 250 W, extraction temperature was 80 ℃ and extraction time were 70, 80, 90 min resp., the *A. membranaceus* polysaccharides contents in extracts were 8.38%, 8.41% and 8.38% resp. [Conclusion] The optimal extraction process of *A. membranaceus* polysaccharides was that extraction time of 90 min, ultrasonic power of 250 W and extraction temperature of 80 ℃.

Key words Uniform design; *Astragalus membranaceus* polysaccharides; Ultrasonic method

黄芪多糖(*Astragalus polysaccharids*, APS) 是黄芪中最重要的天然有效成分, 具有提高机体免疫功能和巨噬细胞活性、双向调节血糖等作用。APS 与人参多糖配合可显著提高抗癌活性, 降低化疗副作用。然而在黄芪多糖提取过程中, 对多糖提取的影响因素较多, 对于水平数较多的试验如果采用正交试验, 工作量大, 试验次数多; 笔者通过灵活运用均匀设计的方法, 采用超声波法对黄芪多糖的提取工艺进行优选, 使试验次数大大减少, 优选出的最优工艺条件, 结果理想、可靠, 探索了一种快速、简便、提取率高的黄芪多糖的提取方法。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 试剂。黄芪(甘肃本地产), 95% 乙醇、葡萄糖、5% 苯酚、氢氧化钠、浓盐酸等均为国产分析纯。

1.1.2 仪器。KQ250DE 数控超声波, UV-9200 紫外分光光度计(北京瑞利分析仪器公司), 旋转蒸发仪器, 离心机, 酸碱计。

1.2 方法

1.2.1 提取工艺。称取一定质量的黄芪根粉, 加入 15 倍体积的水, 超声提取, 将提取液浓缩。加 3 倍体积 95% 乙醇沉淀、过滤, 加水溶解过滤浓缩至小体积加乙醇至浓度 80% 静置倾出上清沉淀部分加高浓度乙醇搅拌过滤无水乙醇多次洗涤, 真空干燥测多糖含糖。

1.2.2 多糖含量的测定。多糖在浓硫酸作用下可以被水解成单糖, 单糖在浓硫酸作用下脱水生成的糠醛或羟甲基糠醛

可与苯酚缩合成一种橙红色化合物, 在 10~100 μg 范围内, 化合物颜色与糖含量呈正比, 且在 490 nm 波长下有最大吸收峰, 故可用硫酸-苯酚(5%) 法^[1] 显色再采用分光光度法进行测定。

1.2.2.1 5% 苯酚溶液的配制。取苯酚适量, 蒸馏收集 180~182 ℃ 的馏分, 称取馏分 12.5 g, 置 250 ml 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 即得 5% 苯酚溶液, 将溶液避光, 冷藏。

1.2.2.2 葡萄糖标准溶液的配制。精密称取 105 ℃ 干燥至恒重的葡萄糖标准品 3.125 g, 将其定容于 250 ml 容量瓶中, 吸取 2 ml 溶液定容于 100 ml 容量瓶中, 摇匀, 即得 250 μg/ml 的标准溶液。

1.2.2.3 标准曲线的制作。精密量取葡萄糖标准溶液 0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 ml, 分别置于 50 ml 容量瓶中定容, 精密吸取上述供试液 1.0 ml 于试管中, 分别加入 5% 苯酚溶液 0.6 ml, 浓硫酸 3.0 ml, 充分摇匀, 置 60 ℃ 水浴中 20 min, 在 490 nm 波长处测吸光度, 以吸光度(Y) 为纵坐标, 葡萄糖浓度(X) 为横坐标进行线性回归, 求得回归方程: $y = 0.0142x - 0.0296$, 标准曲线如下(图 1):

1.2.3 均匀设计。材料一定时, 研究提取时间(A)、超声功率(B)、提取温度(C) 等因素对黄芪多糖提取率的影响。各因素及水平如表 1 所示。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

因素 Factors	水平 Level				
X ₁ min	20	40	60	80	100
X ₂ W	125	150	175	200	250
X ₃	40	50	60	70	80

作者简介 金汝城(1949-), 男, 甘肃兰州人, 教授, 从事药用植物和生物药的研究及教学工作。

收稿日期 2009-01-12

由于因素水平数较少, 试验次数较少, 不能有效的对试

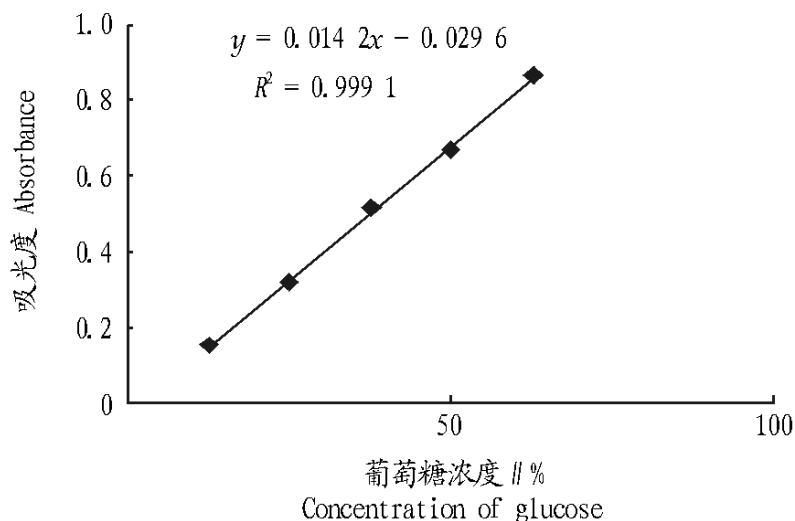


图1 标准曲线

Fig.1 Standard curve

验数据进行回归分析。可将试验次数定为因素水平数目的2倍,采用 $U_{10}^*(10^8)$ 设计;该试验采用 $U_{10}(10^3)$ 均匀设计,比拟水平法 $U_{10}^*(10^8)$ 设计均匀性更好,分别取黄芪粉20 g 提取黄芪多糖。试验设计及结果见表2^[2]。

表2 试验设计及结果

Table 2 Results and designs of test

x_1 (时间) min	x_2 (功率) W	x_3 (温度)	多糖含量 %
Time	Power	Temperature	Polysaccharide content
40	250	80	7.78
80	125	80	4.70
100	150	50	3.67
80	250	40	5.46
60	175	60	4.62
40	125	40	2.04
100	200	70	6.12
60	175	60	4.62
20	150	70	4.54
20	200	50	4.48

2 结果与分析

对试验数据进行回归分析,求得黄芪多糖提取率与提取时间、功率和温度的回归方程为: $Y = -3.85 + 0.0047X_1 + 0.0643X_2 + 0.0624X_3$,回归模型 $P = 0.0001$,高度显著,说明回归高度有效。由以上回归方程可知,3个因素对试验结果

(上接第5456页)

3 讨论

甜樱桃的花芽分化分批进行,各时期相对集中,该试验所观察到的花芽分化程序与姚宜轩等、睢薇等、吴海研究的基本相符^[5-7],但各阶段出现时间的早晚与持续的长短有差异。分化期集中在7~9月,形态分化初在5月下旬,此时果实采收完毕,新梢缓慢生长到逐步停止,在不影响树冠结构的情况下,提早开角、多次摘心、增施铵态氮肥、PK肥,合理使用生长抑制物质,能有效提高叶芽向花芽转变的效率,有效促进花芽分化进程。在试验中发现少数雌蕊扭曲(图1-8中的j)、双雌子房(图1-9中的k),这些畸形花和本地甜樱桃

均有正向影响。对偏回归系数进行标准化,得标准偏回归系数分别为: $P_1 = 0.093$, $P_2 = 0.899$, $P_3 = 0.620$,可见影响超声提取黄芪多糖的因素依次为功率>温度>提取时间。根据回归方程预测黄芪多糖最佳提取条件为提取时间100 min,功率250 W,提取温度80℃,此时多糖含量为8.44%。固定功率250 W、温度80℃不变,当提取时间分别为70、80、90 min时,多糖得率分别为7.90%、8.23%和8.41%。为此,确定黄芪多糖的最佳提取条件为:功率250 W,温度80℃,提取时间90 min。

取黄芪粉60 g 平均分为3份,在优选的最佳工艺条件下提取黄芪多糖,测得多糖含量分别为8.38%、8.41%、8.37%,平均为8.38%,与预测值相近。

3 结论与讨论

如何灵活合理安排试验,通过尽量少的试验,达到较好的试验效果,是科学研究中不断探索的问题。用正交试验研究黄芪多糖提取效果的报道很多,但试验结论不尽一致。均匀设计法通过提高试验点均匀分散程度,使试验点具有更好的代表性,可通过较少的试验获得较多的信息,使试验结果更准确。

超声波热学机理、超声波机械机制和空化作用是超声技术协助提取植物有效成分的理论依据。超声波提取活性物质具有效率高、时间短、杂质少等优点,该试验采用均匀设计对超声波提取黄芪多糖的温度、时间和功率3个重要参数进行优化,得到了试验因素最优理论值,通过试验验证,证明最优条件下黄芪多糖提取率与理论预测值较接近,说明通过均匀设计得到的试验结果较可靠。

参考文献

- [1] 罗立新,姚汝华.灵芝多糖生产工艺的研究[J].食品工业科技,1996(6):60-62.
- [2] 刘文卿.实验设计[M].北京:清华大学出版社,2005:120-122.
- [3] 李云雁,胡传荣.试验设计与数据处理[M].北京:化学工业出版社,2005:79-121.
- [4] 王昭晶,罗耀辉.均匀设计法优化水提取麦冬多糖工艺的研究[J].湖北民族学院学报:自然科学版,2008,26(1):100-103.
- [5] 王元.均匀设计——一种试验设计方法[J].科技导刊,1994(5):20-22.
- [6] 谢果.超声波法均匀设计提取葛根总黄酮的研究[J].广州化工,2006,34(2):40-53.

座果率的关系,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 王玉华,曲桂敏,范崇辉,等.欧洲甜樱桃[Cerasus avium(L.) Merck]花芽分化的研究[J].山东农业大学学报,2001,32(3):373-376.
- [2] 蔡宇良,李珊,陈怡平,等.不同甜樱桃品种果实主要内含物测试与分析[J].西北植物学报,2005,25(2):304-310.
- [3] 韩礼星,黄贞光,赵改荣,等.我国甜樱桃产业发展现状和展望[J].中国果树,2008(1):58-60.
- [4] 宫美英,张凤敏,孙庆田,等.甜樱桃花芽形态分化期的观察[J].北方果树,2007(4):9-11.
- [5] 姚宜轩,许芳,张长胜.甜樱桃花芽分化的解剖学观察[J].莱阳农学院学报,1993,10(2):127-130.
- [6] 睢薇,丁晓东,李光玉,等.草原樱桃花芽分化研究[J].中国科学技术协会第二届青年学术年会园艺学论文集,1995:155-160.
- [7] 吴海.中国樱桃花芽分化规律的研究[J].林业科技开发,2007(5):27-29.