

黄芩多糖的提取工艺研究

曹金凤 罗文冠 颜登望 刘世巍 丁建海

宁夏师范学院 化学化工学院 宁夏固原 756000

摘要: 采用超声波辅助提取黄芩多糖,以单因素试验考查液料比、超声时间、提取温度和超声功率对黄芩多糖提取率的影响,设计4因素3水平的正交试验,优化黄芩多糖的提取工艺。结果表明,黄芩多糖的最佳提取工艺为:超声功率140 W,液料比30:1 mL/g,超声时间30 min,提取温度40 ℃,在此条件下黄芩多糖提取率为34.88%。

关键词: 黄芩; 多糖; 正交试验

黄芩为唇形科植物黄芩的干燥根,最早被记录在《神农本草经》,是传统中药,黄芩药性苦寒,有清热解暑、泻火解毒、止血、安胎等功效,常应用于治疗高血压、肺炎、肺热、咳嗽、上呼吸道感染、湿热、黄疸、温热病等症状^[1]。黄芩多糖是黄芩重要的药理活性成分,有提高免疫力^[2]、抗氧化^[3]、抗病毒^[4]、促进生长^[5]等功效,有较高药用潜力与市场需求,但是多糖黏度大,溶液中的传质效果低^[6-7],导致黄芩多糖提取困难,为充分提取利用该药物资源,设计并优化超声辅助提取黄芩多糖的工艺,为黄芩的综合利用提供技术参考。

一、材料与方 法

1. 材料与仪器

黄芩根:产自宁夏德隆市;葡萄糖、浓硫酸:国药集团化学试剂有限公司;苯酚、无水乙醇:上海麦克林生化科技有限公司,以上试剂均为分析纯。

FW-400A 倾斜式高速万能粉碎机:昆山市超声仪器有限公司;GZX-9076MBE 数显鼓风干燥箱:

北京医疗仪器修理厂;LXJ-64-01 离心机:北京医疗仪器修理厂;TU-1810 紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司;KQ5200DB 数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;FA2204B 分析天平:上海精科天美科学仪器有限公司;HH-12 数显电热恒温水浴锅:常州诺基仪器有限公司。

2. 方法

(1) 黄芩多糖提取 将黄芩根切片后自然晾干,后用万能粉碎机粉碎^[8],用分析天平称取3.0 g黄芩粉末,置于锥形瓶中按照一定的液料比、超声时间、提取温度、超声功

率提取黄芩多糖,离心后取上清液,重复三次,合并得到的上清液,用电热套将其浓缩后加入4倍体积的无水乙醇,减压抽滤得到黄芩的粗多糖沉淀。将得到的粗多糖用纯净水溶解后定容至100 mL容量瓶中^[9],移取0.25 mL定容后的黄芩粗多糖溶液,加纯净水稀释后定容至100 mL容量瓶中得到黄芩多糖样品溶液。

(2) 标准曲线绘制 称取50 mg无水葡萄糖,加纯净水溶解,定容至50 mL容量瓶中,得到1 mg/mL的葡萄糖标准溶液。分别取配置的葡萄糖标准溶液0.1 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.8 mL、1.6 mL、3.2 mL定容至50 mL容量瓶中,得到不同浓度梯度的葡萄糖标准溶液。再分别取2 mL上述溶液于具塞试管,依次加入5%苯酚1.5 mL和浓硫酸6.5 mL,水浴加热15 min后静置30分钟后,测量其在490 nm处的吸光度,参考何强^[10]等方法绘制葡萄糖标准曲线,得到标准曲线方程为:

$$y=13.046x+0.5091, \quad (1)$$

式中:相关系数 $R^2=0.9991$,说明糖浓度与反应后吸光度具有良好的线性相关,可用于多糖含量测定。

(3) 多糖提取率的计算 参考邓加聪^[11]等的方法,吸取0.1 mL待测溶液按照1.2.2的方法操作,于490 nm处测量其吸光度,利用葡萄糖标准曲线求出黄芩多糖的提取率。

(4) 单因素试验设计 同样称取3.0 g黄芩粗多糖,在其他提取条件固定的前提下,分别在超声功率(100、120、140、160、180 W)、液料比(10:1、20:1、30:1、40:1、50:1 mL/g)、超声时间(10、20、30、40、50 min)、提取温度(20、30、40、50、60 ℃)下提取3次,所有试验平行3次,确定相应的黄芩多糖提取率,分别分析液料比、超

声时间、提取温度和超声功率对黄芩多糖提取率的影响。

(5) 正交试验优化提取工艺 以单因素试验的结果为基础,设计四因素三水平的正交试验组,确定黄芩多糖的最佳提取工艺。正交试验设计表见表1。

表1 正交试验因素水平表

编号号	超声功率 (W)	液料比 (mL/g)	超声时间 (min)	提取温度 (°C)
1	120	20:1	20	30
2	140	30:1	30	40
3	160	40:1	40	50

二、结果分析

1. 单因素试验结果

(1) 超声功率对黄芩多糖提取率影响 提升黄芩多糖提取过程中的超声功率,会提升黄芩多糖的提取率,当超声功率提升到 140 W 后再增加超声功率,黄芩多糖的提取率开始降低,这可能是因为超声帮助了黄芩多糖的溶出与溶解,但是当超声功率过高时,超声的能量会破坏或降解多糖,从而降低黄芩多糖的提取率^[12],且更加耗费资源,因此确定最佳提取功率为 140 W。

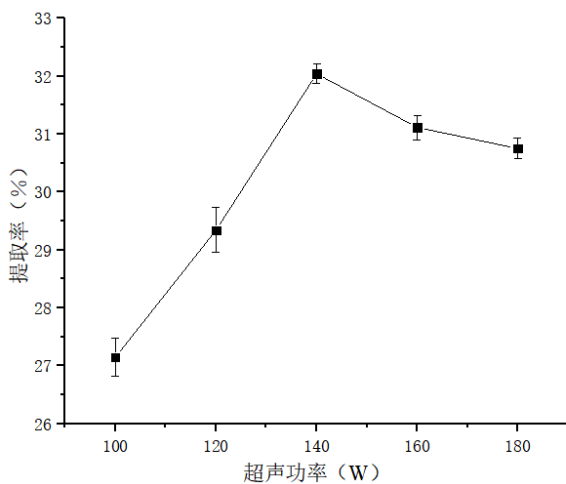


图1 超声功率对多糖提取率的影响

(2) 液料比对黄芩多糖提取率的影响 当液料比增大时,黄芩多糖的提取率也会增加,在液料比在 30:1 mL/g 时达到最大。之后再增加液料比时,黄芩多糖的提取率开始减小,可能是因为随着液料比增加,水中能溶解更多的多糖,所以多糖的提取率也同时增加;但是当液料比更大时,也同时溶解了更多其他杂质,影响了黄芩多糖的提取,导致黄芩多糖提取率反而降低^[13]。因此液料比选择 30:1 mL/g 更好。

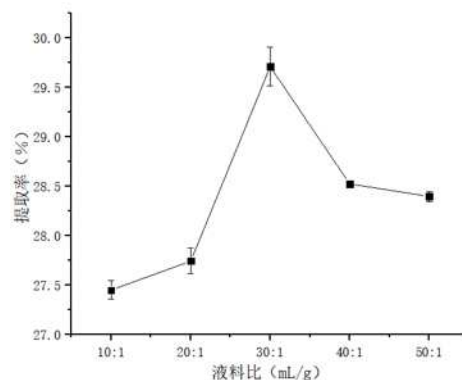


图2 液料比对多糖提取率的影响

(3) 超声时间对黄芩多糖提取率影响 增加试验中对黄芩的超声时间,可以提升黄芩多糖的提取率,但是仅在 10 min -30 min 区间内呈现上升趋势,再增加超声时间,黄芩多糖的提取率则会减低,这可能是因为超声能破坏黄芩根的细胞结构,组织中的多糖释放更加完全,随着时间加长,超声对黄芩的影响变大,溶出更多多糖,所以提取率上升^[14];但是长时间的超声会慢慢破坏或降解多糖,会降低黄芩多糖的提取率,从经济的角度考虑,超声时间不宜过长。因此黄芩多糖的超声时间为 30 min 最佳。

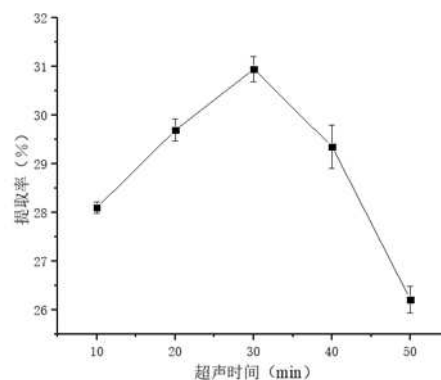


图3 超声时间对多糖提取率的影响

(4) 提取温度对黄芩多糖提取率影响 随着提取温度的升高,黄芩多糖的提取率会相应升高,当提取温度高于 40 °C 时,再增加提取温度,黄芩多糖提取率反而开始降低,这可能是因为升温加速了黄芩多糖的溶解,且增加了水对黄芩多糖的溶解度;但是温度过高会破坏多糖的结构,导致黄芩多糖的提取率降低^[15],另外高温提取更加耗费能源,所以确定提取温度选 40 °C 为最佳。

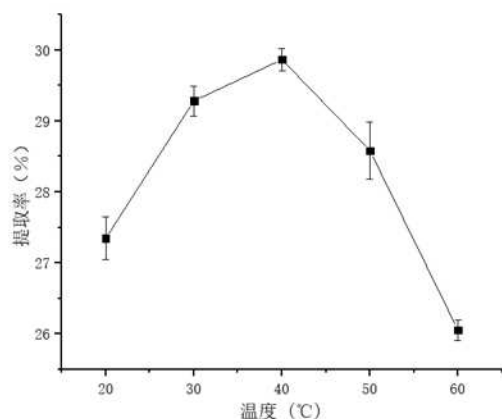


图4 提取温度对多糖提取率的影响

2. 正交试验结果与分析

正交试验结果 正交试验结果见表2

表2 正交试验设计与结果表

试验号	超声功率 (W)	液料比 (mL/g)	超声时间 (min)	提取温度 (min)	提取率 (%)
1	1	1	1	1	32.83
2	1	2	2	2	34.65
3	1	3	3	3	32.55
4	2	1	2	3	33.82
5	2	2	3	1	33.08
6	2	3	1	2	33.25
7	3	1	3	2	32.11
8	3	2	1	3	33.04
9	3	3	2	1	32.56
·K1	33.35	32.92	33.04	32.82	
·K2	33.39	33.59	33.68	33.34	
·K3	32.57	32.78	32.58	33.14	
R	0.819	0.806	1.101	0.561	

由表1可知以黄芩多糖提取率为响应值, 4个影响因素对黄芩多糖提取率的影响效果由大到小依次为超声时间>超声功率>液料比>提取温度。由表可知, 使黄芩多糖提取率最大的提取条件为A2 B2 C2 D2即超声功率140 W, 液料比30:1 mL/g, 超声时间30 min, 提取温度40℃, 但该试验组不在正交试验组中, 在该条件下做验证试验并平行三次, 得到的黄芩多糖提取率为34.88%。

三、结果与讨论

通过单因素试验确定了超声功率, 液料比, 超声时间和超声温度对黄芩多糖提取率的影响; 通过正交试验设计确定黄芩多糖提取的最佳提取条件为超声功率140 W, 液料比30:1 mL/g, 超声时间30 min, 提取温度40℃, 在该条件下

黄芩多糖提取率为34.88%。本试验对黄芩根粉采用超声辅助法提取多糖, 通过提取工艺优化可使黄芩多糖提取率达到34.88%, 此提取工艺下黄芩多糖的提取率高, 为黄芩多糖的工业化生产利用提供参考依据。

参考文献

- [1] 肖灵芝. 中药黄芩的药理和应用 [J]. 中医临床研究, 2014, 6 (03): 133-134.
- [2] 梁英, 金迪, 李丹丹等. 黄芩多糖的免疫调节活性 [J]. 中国食品学报, 2017, 17 (02): 23-27.
- [3] 刘梦杰, 王飞, 张燕等. 黄芩多糖的体内抗氧化活性 [J]. 中国食品学报, 2016, 16 (07): 52-58.
- [4] 何雯娟, 李润元, 梁英等. 黄芩多糖对肉仔鸡血液生化指标及免疫指标的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014, (07): 71-74.
- [5] 李倩, 王双星, 苟潇. 黄芩多糖的功能性研究及其在动物生产中的应用进展 [J]. 饲料研究, 2023, 46 (14): 180-184.
- [6] 郭卫芸, 盛淑玲, 司静乐. 麦胚营养酥性饼干的研制 [J]. 农产品加工 (学刊), 2012, (06): 77-80.
- [7] 宫春波, 于翠芳, 张永翠. 功能性甜味剂-木糖醇的性质及其应用研究 [J]. 中国食品添加剂, 2003, (05): 83-86.
- [8] 李德龙, 伊丽则热·艾拜杜拉, 陈冰婷, 等. 响应面优化药桑椹多糖超声提取工艺及其抗氧化活性研究 [J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(07): 14-22.
- [9] 秦如冰, 叶丽, 尹嘉梁, 等. 响应面法优化暗褐脉柄牛肝菌粗多糖提取工艺 [J]. 食品工业, 2022, 43(06): 199-203.
- [10] 何强, 张峻松. 黄芩多糖提取方法的研究 [J]. 安徽农学通报 (下半月刊), 2011, 17 (20): 24-25+84.
- [11] 邓加聪, 曾锈华, 陈婕, 等. 牛肝菌多糖的提取及抗氧化性研究 [J]. 中国酿造, 2019, 38(10): 158-161.
- [12] 郭东东, 雷佳钰, 彭志杰, 等. 鳞杯伞子实体多糖提取工艺优化及其结构与理化性质 [J]. 食用菌学报, 2021, 28(04): 39-47.
- [13] 唐静, 周艳红, 崔建强, 等. 响应面法优化黑果枸杞多糖的超声辅助提取工艺 [J]. 化学与生物工程, 2021, 38(09): 37-41.
- [14] 李海平, 陈瑞战, 金辰光等. 黄芩多糖的超声提取工艺优化及抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35 (16): 237-242.
- [15] 魏倩倩, 夏梦瑶, 邓爱华等. 正交试验优化桃胶中多糖提取工艺 [J]. 农产品加工, 2022, (23): 24-26.