

微波辅助法提取玄参多糖的工艺研究

范佳¹, 姚波¹, 杨荣平², 张景勍³, 杨琪¹, 傅亚^{1*}¹重庆科技学院, 重庆 401331; ²重庆市中药研究院, 重庆 400065; ³重庆医科大学医学院, 重庆 401331

摘要: 本文采用苯酚-硫酸法测定玄参多糖含量为指标, 考察微波辅助法提取玄参多糖的工艺条件。分别通过单因素试验和正交试验考察影响微波提取的因素, 得到微波辅助提取玄参多糖的最优工艺参数为: 微波温度 50 °C, 微波时间 6 min, 微波功率 500 W, 提取液 pH 值 8, 料液比 1:30。在此最佳工艺条件下玄参多糖的含量为 22.44%。

关键词: 玄参; 多糖; 微波; 苯酚-硫酸法

中图分类号: R932

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.S.038

Microwave-assisted Extraction of *Radix scrophulariae* PolysaccharideFAN Jia¹, YAO Bo¹, YANG Rong-ping², ZHANG Jing-qing³, YANG Qi¹, FU Ya^{1*}¹Chongqing University of Science and Technology, Chongqing 401331, China; ²Chongqing Academy of ChineseMateria Medica, Chongqing 400065, China; ³College of Medicine, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 401331, China

Abstract: The microwave-assisted extraction the polysaccharide of *Radix scrophulariae*, and using phenol-sulfuric acid method to determine the polysaccharide. Investigate the influencing factors of microwave-assisted extraction by single factor test and orthogonal test, and finding out the best extraction condition, microwave temperature 50 °C, time 6min, microwave power 500 W, pH value 8, solid-liquid ratio 1:30 (g/mL). the yielding content of *Radix scrophulariae* polysaccharide was 22.44% at the optimum parameter conditions.

Key words: *Radix scrophulariae*; polysaccharide; microwave; phenol-sulfuric acid

玄参 (*Scrophularia ningpoensis* Hemsl.) 又名元参, 属玄参科草本植物, 主要分布于我国浙、蜀、鄂等地。玄参根块为中国传统中药, 具有清热凉血、滋阴降火、解毒散结的功效。玄参主要化学成分含有糖类、环烯醚萜甙、三萜皂甙、苯丙素、有机芳酸类化合物^[1,2]。玄参多糖具有抗疲劳的活性作用^[3], 部分纯化的玄参多糖对羟基自由基、超氧阴离子自由基以及亚硝酸盐有不同程度的清除能力, 对油脂具有抗氧化作用^[4]。本文以苯酚-硫酸比色法测定多糖含量^[5,6]为指标, 利用微波辅助提取法对玄参中多糖的提取工艺进行研究^[7-10]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玄参(重庆南川玄参 GAP 基地); 葡萄糖(AR, 重庆渝北化工厂); 浓硫酸、苯酚、乙醇、正丁醇、氯

仿、丙酮、盐酸、氢氧化钙(AR, 重庆川东化工集团有限公司)。

1.2 仪器

X101 型微波催化合成/萃取仪(北京详鹤科技有限公司); UV-1100 型紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司); DZF-6020 真空干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司); RE-2000A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 80-2 型医用低速离心机(江苏正基仪器有限公司); SHZ-95B 循环水真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司); FA2104B 电子天平(上海越平科学仪器有限)。

1.3 实验方法

1.3.1 原料预处理

玄参根块 50 °C 干燥后, 粉碎, 过 70 目筛, 备用。

1.3.2 玄参多糖微波提取工艺

玄参粉末 → 加入溶剂(一定料液比, 调 pH) → 微波提取 → 提取液过滤 → 浓缩(至原体积 1/3) → 加入 Sevag 试剂脱蛋白 → 加入无水乙醇沉淀 → 4 °C 静置 → 乙醇丙酮多次洗涤 → 干燥 → 玄参粗多糖。

1.3.3 标准曲线的绘制

葡萄糖标准溶液的配制:精密称取经 105 °C 干燥至恒重的葡萄糖标准品 40 mg。置于 100 mL 容量瓶中。加蒸馏水溶解并稀释至刻度,取 10 mL 用蒸馏水定容至 100 mL,配成 0.04 mg/mL 的标准溶液。

6% 苯酚溶液的配制:精密称取重蒸馏苯酚 25.0 g,加适量蒸馏水溶解,转至 500 mL 定量瓶中定容至刻度,摇匀置于棕色瓶备用。

标准曲线的绘制:移取 0.04 mg/mL 葡萄糖标准溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL 置于具塞试管中。然后各以蒸馏水补充至 2.0 mL。加入 1.0 mL 6% 苯酚及 5.0 mL 浓硫酸,静置 10 min,摇匀。室温放置 20 min 后用紫外可见分光光度计分别测定不同浓度的葡萄糖溶液在 490 nm 处的吸光度(A)值。以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得出多糖在 1.00 ~ 14.00 μg/mL 浓度范围内线性关系良好,线性回归方程为 $y = 0.0199x + 0.0063$, $R^2 = 0.9959$ 。

1.3.4 多糖含量测定方法

称取提取的玄参粗多糖 10 mg,加水稀释至 100 mL,取 2 mL 按 1.3.3 方法加入 6% 苯酚 1.0 mL 及浓硫酸 5.0 mL,静置 10 min,摇匀。室温放置 20 min 后于 490 nm 测定多糖吸光度(A)值,以标准曲线即可计算样品中多糖含量。

2 结果与讨论

2.1 微波功率对玄参多糖提取的影响

设定微波提取玄参多糖的基础实验条件:微波功率为 700 W,辐射时间为 6 min,微波提取温度为 50 °C,料液比(g/mL)为 1:20,pH 值为 8。

称取玄参粉末 3 g,在基础实验条件下,分别选择微波功率 300、400、500、600、700 W 进行单因素试验。结果见图 1。

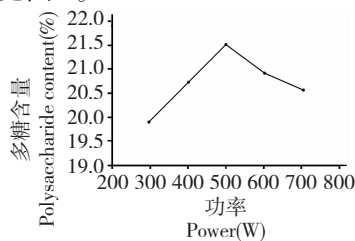


图 1 微波功率对多糖提取的影响

Fig. 1 Effect of microwave power on polysaccharide extraction results

实验结果显示:在其他实验条件不变的情况下,随着微波功率的增大,玄参多糖的含量升高,在 500 W 的时候达到最高,继续增大微波提取功率多糖含量反而降低。这是由于随着微波提取功率增大,物料吸收的微波能增多,更易破坏细胞壁,易于多糖的溶出。但微波功率过大,物料吸收的微波能过多,可能会造成多糖降解,因而测得多糖含量降低。

2.2 料液比对玄参多糖提取的影响

称取玄参粉末 3 g,在基础实验条件下,分别选择料液比(g/mL)1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 进行单因素试验。结果见图 2。

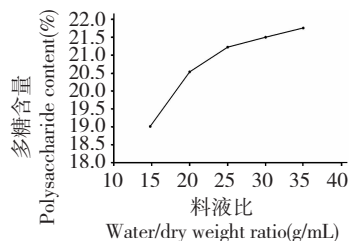


图 2 料液比对多糖提取的影响

Fig. 2 Effect of water/dry weight ratio on polysaccharide extraction results

实验结果表明:在其他实验条件不变的情况下,随着料液比的增加,测得多糖含量升高,但在料液比 1:25 后随料液比升高多糖含量增大不明显。这是因为刚开始料液比小时,随着料液比增大,两相浓度差增大,传质速度加快的较为明显,即多糖含量增加幅度大^[8]。继续增大料液比,但传质动力增加不大,所以多糖含量增加不明显。

2.3 提取液 pH 值对玄参多糖提取的影响

称取玄参粉末 3 g,在基础实验条件下,分别选择 pH 值 4、6、8、10、12 进行单因素试验。结果见图 3。

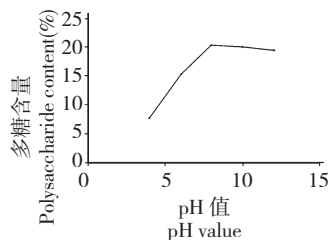


图 3 提取液 pH 值对多糖提取的影响

Fig. 3 Effect of pH value on polysaccharide extraction results

实验结果可知:在其他实验条件不变的情况下,随着 pH 值的增大,测得多糖含量逐渐升高,当 pH

值为 8 时达到最高,继续增大 pH 值多糖含量反而降低,但碱性条件下多糖含量高于酸性条件下。这是由于玄参多糖中有一部分为酸性多糖,当提取液呈现碱性时更易溶出,并且蛋白质等物质会与多糖以非共价键的形态结合,在碱性条件下,蛋白质等物质易溶解,多糖得到释放。但是,在 pH 大于 8 的条件下随 pH 值增加会导致多糖降解,造成多糖含量降低。

2.4 微波时间对玄参多糖提取的影响

称取玄参粉末 3 g,在基础实验条件下,分别选择微波提取时间 4、5、6、7、8 min 进行单因素试验。结果见图 4。

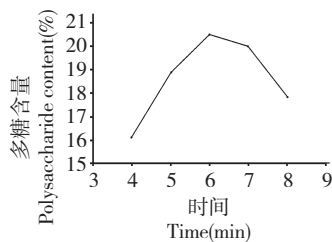


图 4 微波时间对多糖提取的影响

Fig. 4 Effect of microwave time on polysaccharide extraction results

实验结果得出:在其他实验条件不变的情况下,随着微波提取时间延长,测得多糖含量逐渐升高,在 6min 时达到最高,继续延长提取时间多糖含量反而降低。这是由于延长微波提取时间,对细胞壁的破

坏作用变大,易于多糖的溶出。然而,微波提取时间过于延长可能会引起多糖降解,因而多糖含量降低。

2.5 提取次数对玄参多糖提取的影响

称取玄参粉末 3g,在基础实验条件下,研究提取次数对玄参多糖提取的影响。结果见图 5。

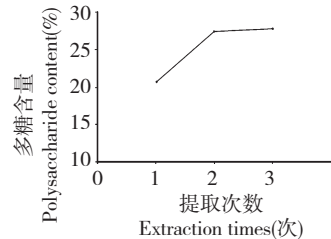


图 5 提取次数对多糖提取的影响

Fig. 5 Effect of extraction times on polysaccharide extraction results

提取次数为一次时测得多糖含量为 20.64%,提取次数为两次时测得多糖含量明显提高到 27.46%,提取次数为三次时测得多糖含量升高幅度不大为 27.79%。所以从实际生产成本上考虑,微波提取两次玄参多糖为最佳选择。

2.6 玄参多糖提取优化实验研究

在上述单因素实验基础上,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验进一步分析微波功率、提取液 pH 值、微波时间、料液比对玄参多糖提取的影响,优化玄参多糖的微波提取工艺。表 1 为优化实验因素及因素所取水平,表 2 为正交方案设计及结果。

表 1 因素及因素所取水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiments

| 因素 Factor | A (微波功率/W) Microwave power | B(提取液 pH 值) pH value | C (微波时间/h) Microwave time | D(料液比) Solid/Liquid ratio |
|--------------|-------------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 水平 Level | 400 | 8 | 5 | 1:20 |
| | 500 | 10 | 6 | 1:25 |
| | 600 | 12 | 7 | 1:30 |

表 2 正交方案设计及结果

Table 2 Design and result of orthogonal experiments

| No. | A | B | C | D | 多糖含量 (%) Polysaccharide content |
|-----|-----|----|---|------|------------------------------------|
| 1 | 400 | 8 | 5 | 1:20 | 18.99 |
| 2 | 400 | 10 | 6 | 1:25 | 21.12 |
| 3 | 400 | 12 | 7 | 1:30 | 19.16 |
| 4 | 500 | 8 | 6 | 1:30 | 22.44 |

| | | | | | |
|----------------|--------|--------|--------|--------|-------|
| 5 | 500 | 10 | 7 | 1:20 | 19.97 |
| 6 | 500 | 12 | 5 | 1:25 | 19.71 |
| 7 | 600 | 8 | 7 | 1:25 | 19.36 |
| 8 | 600 | 10 | 5 | 1:30 | 19.15 |
| 9 | 600 | 12 | 6 | 1:20 | 19.59 |
| K ₁ | 19.757 | 20.263 | 19.283 | 19.517 | |
| K ₂ | 20.707 | 20.080 | 21.050 | 20.063 | |
| K ₃ | 19.367 | 19.487 | 19.497 | 20.250 | |
| R | 1.340 | 0.776 | 1.767 | 0.733 | |

正交试验结果表明:影响玄参多糖提取因素的主次顺序为微波时间 > 微波功率 > 提取液 pH 值 > 料液比。最佳水平为 A₂B₁C₂D₃。即最优提取工艺参数为微波时间 6 min, 微波功率为 500 W, 提取液 pH 值为 8, 料液比为 1:30 g/mL。在此最佳工艺条

件下玄参多糖的含量为 22.44%。缩短提取时间, 提高提取效率。

2.7 微波辅助提取法与直接加热水提法的比较

以微波辅助提取最佳条件与直接加热水提法进行比较, 结果如表 3。

表 3 微波辅助提取法与直接加热水提法结果对比

Table 3 Comparison of microwave-assisted extraction and direct hot water extraction

| 提取方式 Extraction method | 提取时间 Time (min) | 提取温度 Temperature (°C) | 提取液 pH 值 pH value | 料液比 Solid/liquid ratio | 多糖含量 Polysaccharide content (%) |
|---|-----------------------|-----------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------------------|
| 微波辅助提取法 Microwave assisted extraction method | 6 | 50 | 8 | 1:30 | 22.44 |
| 直接加热水提法 Direct heating water | 60 | 50 | 8 | 1:30 | 14.78 |

由上述结果可见, 微波辅助提取法与直接水提法相比, 具有缩短提取时间, 提高多糖提取效率的明显优势。

3 结论

由单因素与正交实验可知, 设置微波提取温度为 50 °C 的条件下, 微波辅助提取玄参多糖的最佳工艺参数: 微波时间 6 min, 微波功率 500 W, 提取液 pH 值 8, 料液比 1:30 g/mL。微波辅助提取法与直接加热水提法相比具有省时、提取效率高的优势。

参考文献

- Jiang SG(姜守刚), Jiang JQ(蒋建勤), Zu YG(祖元刚). Chemical components from the root of *Scrophularia ningensis*. *Bull Botan Res* (植物研究), 2008, 28:254-256.
- Li Y(李媛), Song BA(宋宝安), Yang S(杨松), et al. Chemical constituents of *Scrophularia ningensis* Hemsl. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2012, 24:47-51.
- Wang H(王琚), Chen P(陈平), Zhang LP(张丽萍), et al. Study on the antifatigue function of polysaccharide from *Scrophularia ningensis* Hemsl. *J Wuhan Botan Res* (武汉植物学研究), 2009, 27:118-120.

- Chen LH(陈莉华), Liao W(廖微), Xiao B(肖斌), et al. Investigation for scavenging radicals capability and antioxidant activity of polysaccharide from *Radix scrophulariae*. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2013, 34(7):86-89.
- Wei SY(魏邵云), Qi HL(齐慧玲), Wang JL(王继伦), et al. 苯酚-硫酸法测定白及多糖. *Tianjin Chem Ind* (天津化工), 2000, 3:35-36.
- Liu D(刘丹). An analysis of amylose determining method. *Sichuan Univ Arts Sci J, Nat Sci Ed* (四川文理学院学报, 自科版), 2008, 18(2):49-51.
- Chen YG(陈业高), Hai LN(海丽娜), Bi XJ(毕先钧). Application of microwave radiation in the extraction of natural active principles. *J Microwaves* (微波学报), 2003, 9(2):85-89.
- Gong SZ(龚盛昭), Yang ZR(杨卓如). Investigation into the microwave-assisted extraction technology for *Astragalus polysaccharide*. *J South China Univ Technol, Nat Sci Ed* (华南理工大学学报, 自科版), 2004, 32(8):93-96.
- Xu YY(许燕燕). Extraction methods and techniques of polysaccharides. *J Fujian Fisheries* (福建水产), 2006, 3:32-36.
- Zhu XX(朱晓霞), Luo XG(罗学刚). Progress in extraction and purification of polysaccharides. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2007, 128:186-188.