

# 微波提取生地多糖的工艺研究

任光明, 徐芬, 李志英

(忻州师范学院化学系, 山西 忻州 034000)

**摘要:** 本文研究了微波提取生地多糖的工艺,通过正交试验确定了微波提取的最佳工艺参数为: 料液比 1:40, 提取温度 70 ℃, 微波功率 500 W, 提取时间 60 s。用苯酚-硫酸光度法测定其含量, 结果令人满意。

**关键词:** 微波技术; 生地多糖; 光度法

中图分类号:R284.2; 文献标识码: B; 文章编号: 1673-9078(2007)03-0050-03

## Microwave-assisted Extraction of the polysaccharide

### from *Rehmannia Root*

REN Guang-ming, XU Fen, LI Zhi-ying

(Department of Chemistry, Xinzhou Teachers University, Xinzhou 034000, China)

**Abstract:** The microwave-assisted extraction was used to extract the *Rehmannia Root* polysaccharides. The extraction conditions were optimized by orthogonal test and the optimal solid-liquid ratio, extraction temperature, microwave power and extraction time were 1:40, 70 ℃, 500 W and 60 s, respectively. Under the optimal conditions, high content of the extracted polysaccharides, determined by Phenol-sulfuric acid spectrophotometry method, was achieved.

**Key words:** microwave; *Rehmannia Root* Polysaccharide; extraction

多糖具有抗肿瘤, 消炎, 抗病毒, 降血压, 降血脂, 抗衰老, 抗凝血, 免疫调节等方面的生物活性, 由于多糖多种多样的生物活性功能以及在功能食品和临床上广泛使用, 从中药中获得的水溶性多糖最为重要<sup>[1]</sup>。并使多糖生物资源的开发利用和研究日益活跃, 成为天然药物, 生物化学, 生命科学的研究热点。

生地属玄参科(*Scrophulariaceae*)地黄(*Rehmannia*)的干燥块根, 具有清热凉血, 滋阴生津, 热病舌绛烦渴, 阴虚内热, 骨蒸潮热, 内热消渴, 吐血衄血, 消除发斑发疹之功能, 药用价值高, 价格低廉<sup>[2]</sup>。关于地黄多糖的提取, 分离与功能已有一些相关报道, 一般采用传统提取工艺, 这种方法存在费时长, 耗能高, 易造成有机溶剂残留, 影响产品应用及溶剂回收等缺点; 将微波用于中药有效成分的提取, 可以提高提取率, 并缩短提取时间。为此, 本实验研究了微波在生地多糖提取中应用的可行性, 并对实验条件进行优化。

本实验采用微波技术提取多糖, 经活性炭脱色, 醇析, 苯酚—硫酸法测定其含量, 并用葡萄糖作为标准。实验结果表明, 该方法简单快速, 灵敏度高, 重现性好。

收稿日期: 2006-11-17

作者简介: 任光明, 副教授, 从事光度分析研究

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

**材料与试剂:** 生地(本草堂大药房提供)、无水葡萄糖、无水乙醇、95%乙醇、浓硫酸、苯酚、正丁醇、氯仿、乙醚、活性炭(粉状)。

**仪器:** 微波萃取合成仪、722型可见分光光度计、高速中药粉碎机、AL104电子分析天平、DZ-1A型真空干燥箱、800低速离心机、RE-52旋转式蒸发器。

### 1.2 测定方法

#### 1.2.1 测定原理

多糖类物质在强酸和加热条件下能迅速水解成单糖, 单糖在强酸条件下与苯酚反应生成橙色衍生物, 该橙色衍生物在波长 490nm 处有最大吸收, 可用光度法进行定量分析。

#### 1.2.2 溶液的配制

准确称取在 105 ℃干燥至恒重的葡萄糖标准品 0.1 g, 置于 100 mL 容量瓶中, 加蒸馏水溶解并稀释至刻度, 另取 10 ml 该溶液于 100 ml 容量瓶中, 稀释至刻度, 配成标准溶液, 待用。

#### 1.2.3 标准曲线的制备

准确移取标准溶液 0.00 ml、0.20 ml、0.40 ml、0.60

ml、0.80 mL、1.00 ml、1.20 ml、1.40 ml 浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的葡萄糖溶液，分置于比色管中，各加蒸馏水补足至每管 2.00 mL，再各加入 6% 的苯酚溶液 1.00 ml，摇匀，依次加入 98% 的浓硫酸 5.00 ml 静止 15 min 后，置于 30  $^{\circ}\text{C}$  的条件下 30 min<sup>[5]</sup>，于波长 490 nm 处测定吸光度，结果如图 1。将待测管中葡萄糖浓度与吸光度作回归处理，得回归方程： $A=0.0113C+0.02$ ， $r=0.999$ ，式中 A 为吸光度，C 为葡萄糖浓度。

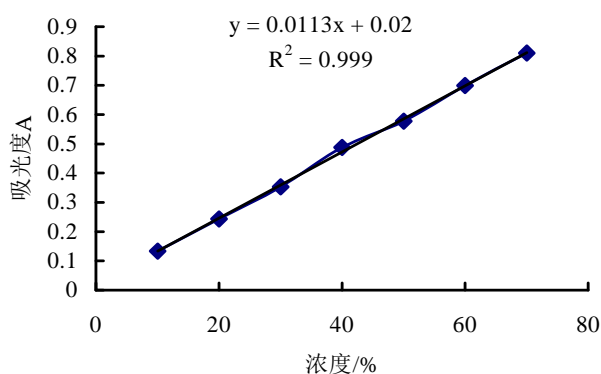


图1 葡萄糖溶液标准曲线

#### 1.2.4 样品的测定

将采购的生地置于 DZ-1A 型真空干燥箱，在 60  $^{\circ}\text{C}$  下烘烤 24 h，用高速中药粉碎机粉碎，并用 60 目筛子过筛。准确称取该生地粉末 5 g，加入 150 ml 的蒸馏水，在微波功率 500 W、提取温度 70  $^{\circ}\text{C}$  和提取时间 2 min 进行提取，过滤，滤渣用热蒸馏水洗涤，合并滤液，离心分离（800 r/min，20 min），上清液浓缩至一定体积，加入乙醇使其含醇量达 90% 以上，低温静置过夜；将醇沉液离心分离（800 r/min，20 min），沉淀用水溶解重复醇沉 1 次。沉淀依次用无水乙醇，丙酮，乙醚洗涤两次，真空干燥至恒重，即得生地粗多糖，计算粗多糖（干重）得率。参照 1.2.3 和 1.2.6 测定并计算多糖提取率。

#### 1.2.5 换算因子的测定

准确称取干燥至恒重的精制多糖 25 mg，置于 250 mL 容量瓶定容，摇匀作多糖贮备液；准确吸取此液 1.0 mL，加水 1.0 mL，按标准曲线制作项下的方法测定吸光度，另取蒸馏水 2 ml 按同法操作，作为空白对照，求出多糖稀释液中葡萄糖的浓度（ $C_0$ ）。按照下式计算其换算因子： $f=m/C_0D_0$

式中： $m$  为多糖的质量（ $\mu\text{g}$ ）， $C_0$  为多糖中葡萄糖的浓度， $D_0$  为多糖的稀释因数。实验测得的换算因子  $f=1.305$

#### 1.2.6 生地多糖提取率计算

$$\text{多糖提取率}(\%) = C \cdot D \cdot f / W \times 100$$

式中： $C$  为供试液中葡萄糖浓度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）， $D$  为多糖的稀释因素； $f$  为换算因子； $W$  为供试生地多糖的质量（ $\mu\text{g}$ ）。

$$\text{粗多糖(干重)提取率} = M/W$$

式中： $M$  为粗多糖干重质量（mg）， $W$  为供试多糖的质量（mg）

## 2 结果与讨论

### 2.1 微波提取功率对生地多糖提取率的影响

用 50 mL 锥形瓶称取相同质量的地生粉末 5 份，各加蒸馏水 8 mL，搅拌使其全部溶解，调整微波时间为 120 s，提取温度为 70  $^{\circ}\text{C}$ ，分别在微波功率为 300 W，400 W，500 W，600 W，700 W 时提取，过滤，醇沉，低温静止过夜，沉淀加一定量的蒸馏水溶解，于 100 mL 容量瓶加蒸馏水定容；移取该试液 5 mL 于 50 mL 容量瓶中定容，待测；分别移取待测液 1 mL 于 5 支比色管中，另取一支作空白对照，按 1.2.3 和 1.2.6 测定吸光度并计算多糖提取率，表 1 知 500 W 为最佳提取功率。

表1 微波提取功率对生地多糖提取率的影响

功率/W	300	400	500	600	700
提取率/%	23.2	23.1	33.95	32.4	31.6

### 2.2 提取温度对生地多糖提取率的影响

用 50 mL 锥形瓶称取相同质量的地生粉末 5 份，各加蒸馏水 8 mL，搅拌使其全部溶解，调整微波时间为 120 s，微波功率为 500 W，分别在 40  $^{\circ}\text{C}$ ，50  $^{\circ}\text{C}$ ，60  $^{\circ}\text{C}$ ，70  $^{\circ}\text{C}$ ，80  $^{\circ}\text{C}$  下提取，过滤，醇沉，低温静止过夜，沉淀加一定量的蒸馏水溶解，于 100 mL 容量瓶加蒸馏水定容；移取该试液 5 mL 于 50 mL 容量瓶中定容，待测；分别移取待测液 1 mL 于 5 支比色管中，另取一支作空白对照，按 1.2.3 和 1.2.6 测定吸光度并计算多糖提取率。表 2 知 70  $^{\circ}\text{C}$  为最佳提取温度。

表2 提取温度对生地多糖提取率的影响

温度/ $^{\circ}\text{C}$	40	50	60	70	80
提取率/%	20.12	21.25	23.51	26.24	25.31

### 2.3 料液比对生地多糖提取率的影响

用 50 mL 锥形瓶称取相同质量的地生粉末 5 份，分别加入 20，30，40，50，60 倍量的蒸馏水，搅拌使其溶解，在微波功率为 500 W，提取温度 70  $^{\circ}\text{C}$ ，提取时间 120 s，过滤，醇沉，低温静止过夜，沉淀加入一定量的蒸馏水溶解，于 100 mL 容量瓶加蒸馏水定容；移取该试液 5 mL 于 50 mL 容量瓶中定容，待测；分别移取待测液 1 mL 于 5 支比色管中，另取一支作空

白对照,按 1.2.3 和 1.2.6 测定吸光度并计算多糖提取率,表 3 知 40:1 为最佳料液比。

表 3 料液比对生地多糖提取率的影响

料液比	20	30	40	50	60	70
提取率/%	12.93	36.49	41.23	39.52	36.3	35.2

#### 2.4 微波提取时间对生地多糖提取率的影响

用 50 mL 锥形瓶称取相同质量的生地粉末 5 份,各加蒸馏水 8 mL,搅拌使其溶解,调整微波功率为 500 W,提取温度为 70 °C,分别提取 30 s, 60 s, 90 s, 120 s, 150 s, 过滤,醇沉,低温静止过夜,沉淀加入一定量的蒸馏水溶解,于 100 mL 容量瓶中加蒸馏水定容;另移取该试液 5 mL 于 50 mL 容量瓶中定容,待测;分别移取该待测液 1 mL 于 5 支具塞试管中,另取一支作空白对照,按 1.2.3 和 1.2.6 测定吸光度并计算多糖提取率,表 4 知 60 s 为最佳提取时间。

表 4 微波提取时间对生地多糖提取率的影响

提取时间	30	60	90	120	150
提取率%	18.71	37.53	35.82	35.78	35.02

#### 2.5 正交试验

在单因素考察的基础上,用正交试验法对提取因素如温度,功率,时间,料液比进行优化,如表 5 选用正交表  $L_9(3^4)$  对生地多糖提取工艺进行研究。微波提取条件的正交实验结果及极差分析见表 6。

由表 6 的极差分析可知,影响生地多糖提取率各因素的主次关系为:微波功率 > 料液比 > 提取温度 > 提取时间,综合考虑可选择微波提取生地多糖的最佳工艺条件为:  $A_2B_3C_3D_3$ ,即:料液比 1:40,提取温度 70 °C,微波功率 500 W,微波时间 60 s。

### 3 结论

3.1 用微波加热提取生地多糖结果表明,在提取率及技术经济等方面,微波提取法比其它方法要优越得多。

3.2 微波对生地多糖的提取具有很好的辅助作用,在很多方面优于传统的直接加热提取法。可能是由于微波具有如下功能:(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)在微波变频电场作用下,极性分子取向随电场方向改变而变化,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。

3.3 用苯酚-硫酸法测定多糖含量简易方便,显色稳定,线性关系好。不过实验中对生地多糖的分离、纯化技术仅适用于实验室中的制备,对商业生产有着指导作用,但对于工业化生产还缺乏可靠的论证。

表 5 正交设计因子和水平表

水平	A.料液比	B.温度/°C	C.微波功率/W	D.微波时间/s
1	1:30	60	300	60
2	1:40	70	400	90
3	1:50	80	500	120

表 6 正交实验数据及极差分析表

试验号	A	B	C	D	提取率/%
1	1:30	60	300	60	18.48
2	1:30	70	400	90	24.16
3	1:30	80	500	120	34.51
4	1:40	60	400	120	34.95
5	1:40	70	500	60	38.30
6	1:40	80	300	90	35.22
7	1:50	60	500	90	38.27
8	1:50	70	300	120	19.17
9	1:50	80	400	60	32.57
$K_1$	77.15	92	72.87	88.35	
$K_2$	107.47	80.63	91.68	97.95	
$K_3$	90.31	102.3	110.38	88.63	
$K_{1(平均)}$	25.72	30.67	24.29	29.45	
$K_{2(平均)}$	35.82	26.88	30.56	32.65	
$K_{3(平均)}$	30.10	34.10	36.79	29.54	
R	10.10	7.22	12.50	3.2	

### 参考文献

- [1] 龚盛昭,杨卓如.微波辅助提取黄芪多糖的工艺研究[J].华南理工大学学报(自然科学版),2004,8(4):93-96.
- [2] 付志红,谢明勇,聂少平.微波技术用于车前子多糖的提取[J].食品科学,2005,26(3):151-154.
- [3] 张彦民,李宝才,朱利平,等.多糖化学及其生物活性研究进展[J].昆明理工大学学报,2003,28(3):140~145,149.
- [4] 李红民,黄仁泉.提高黄芪多糖收率的工艺研究[J].西北大学学报(自然科学版),2000,30(6):509-510.
- [5] 陈芳艳,梁永彬,王林川,等.黄芪多糖提取方法的研究[J].广东畜牧兽医科技,2004,29(5):37-38