

文章编号:1674-2869(2014)07-0001-05

超声波辅助提取川楝子多糖的工艺

马彦军

浙江大学创新技术研究院有限公司,浙江 杭州 310000

摘 要:为了研究川楝子多糖超声波辅助提取工艺,确定最佳的温度、料液比和超声功率的工艺参数,设计了 4 因素 3 水平正交实验,以水为提取溶剂,考察提取温度、料液比、超声功率对提取率的影响.结果表明:超声波辅助提取法提取川楝子多糖的最佳提取工艺为提取温度 30 ℃,料液比 1:15,超声功率 200 W,提取时间 30 min.影响因素极差的大小顺序依次为料液比>超声功率>提取温度.在最佳工艺条件下多糖得率最高,为 12.442 5%.因此采用超声波辅助提取法提取川楝子中多糖,提取工艺简单、提取时间短而且收率高,明显优于传统的水提工艺.

关键词:川楝子;多糖;超声波辅助提取;正交实验

中图分类号:TQ028.4;R284.2

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2014.07.001

0 引 言

川楝子为楝科楝属川楝的果实,别名金铃子,广泛分布于四川、湖北、贵州、河南等地.川楝子具有很大的药用价值,具有舒肝、行气止痛、驱虫等作用.用于胸胁、脘腹胀痛、疝痛、虫积腹痛.主要治疗胃病、胁痛、淋证、急性乳腺炎、带状疱疹、皮肤病和前列腺炎等.另外,川楝子与其它药物配伍可以治疗肠粘连,达到行气开郁、散结止痛之效.这些药理活性是否与其多糖成分有关还有待研究^[1].

糖苷键结合多个单糖分子的天然大分子多糖,广泛存在于动植物和微生物组织中,不但有合成高分子所没有的特殊生物活性、生命有机体的非常重要组成部分,而且还有众多生物学功能.多糖在中药材中分布非常普遍.近来研究发现,中药多糖不仅具有降血糖作用,还可以延缓糖尿病并发症的进展;中药多糖在心、脑血管病中的广泛应用,与其抗凝血、降血脂、抗动脉粥样硬化的作用密切相关;中药多糖在保肝、保护神经元、增强性功能方面也具有一定作用.因此,开发多糖资源、寻求优异的提取工艺是一项十分有意义的工作^[2].

虽然大部分植物多糖有多种活性,但是大多数的提取方法和提取工艺并未稳定、不成熟.提取效率、生产成本等综合分析,不同提取工艺的开发、比较、分析仍然是研究工作的焦点之一^[3].植

物多糖提取工艺的研究采用了诸多不同的工艺方法,其中包括酸碱提取、酶解、超声波强化、超滤法、微波法^[3].

超声提取其实是个物理破碎过程,在超声波频率大于 20 kHz 时,产生特殊的机械振动和空化作用,以及强大的能量,加速媒质进入振动状态,接着使其结构发生变化,有效成分进入溶剂中.空化泡瞬间涨大花前并且破裂,形成一种高温高压环境,在强大的冲击波和微声波作用下使细胞壁结构被破坏^[3].

微射线辐射溶剂可以透过细胞壁到达细胞内部,频率介于 300 MHz 和 300 GHz 之间的电磁波称之为微波,微波和超声波辅助提取能提高有效成分的提取得率,缩短提取时间,但有时会造成提取物的组分更加复杂,分离困难^[3].

先前有很多学者从不同植物中进行多糖的提取,每种植物的多糖的含量也是区别很大的,而且在同样的条件下不同植物的多糖提取率也不相同,甚至有些相差很大.下面列举一些中药植物提取多糖的研究成果的例子.

叶下珠系大戟科叶下珠属植物,又名珍珠草、关门草等,叶下珠主要含有黄酮类、木脂素类、生物碱类、多糖、有机酸等多种成分.周宇等^[4]对其多糖的含量以及提取工艺进行了研究,最终优选工艺条件是在 80 ℃ 温度条件下,按料液比为 1:15,共提取 3 次,按提取时间 90 min,在这种条件下多糖得率是 6.1%^[9].

收稿日期:2014-04-01

作者简介:马彦军(1978-),男,浙江杭州人,工程师.研究方向:肿瘤.

上述的几种中药植物在医药上有着极为重要的作用,研究其多糖提取的方法也是极为重要的.通过借鉴这些研究成果,本实验考察了川楝子多糖的提取工艺.即采用超声波辅助法从川楝子中提取多糖,通过单因素实验和正交实验法优选川楝子多糖的最佳工艺参数,以其找出合理可行的提取工艺条件,为充分开发川楝子多糖资源提供基础数据.

1 实验部分

1.1 仪器

KQ-500DE 型数控超声波提取器,昆山市超声仪器有限公司生产;RE-52A 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂生产;SHB-Ⅲ型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司生产;FA2004 型分析天平,上海恒平科学仪器有限公司生产.

1.2 材料和试剂

川楝子,产于河北省;无水乙醇,天津市红岩化学试剂厂生产;石油醚,天津市北方天医化学试剂厂生产.

1.3 实验材料的预处理

将川楝子用粉碎机粉碎,过孔径 0.90 mm 筛,然后用电子分析天平准确称 20 g,备用.超声波辅助提取之前,需要对原料进行脱脂脱色处理,即用无水乙醇和石油醚按体积比为 2 : 1 的比例浸泡川楝子粉末,每隔 1 h 换一次浸泡液,每次浸泡 2 h,共浸泡两次.然后将原料抽干,进行超声波辅助提取.

1.4 超声波辅助提取的单因素实验

根据文献^[1-12],影响川楝子超声提取的主要因素有提取温度、提取时间、超声功率、料液比、超声发生器的工作间歇时间比等.本实验主要考察提取温度(A)、料液比(B)、提取时间(C)、超声功率等因素.在各单因素实验中,超声波提取的其它条件为:水为提取溶剂,无水乙醇用于沉淀多糖,石油醚和无水乙醇用于脱脂脱色.

1.4.1 料液比对多糖得率的影响 20 g 川楝子粉末脱脂脱色后,在超声温度 55 ℃、超声功率 300 W、超声时间 1 h 的条件下,在料液比分别为 1 : 5、1 : 10、1 : 15 下提取川楝子中多糖,经抽滤,滤液经旋转蒸发浓缩至一定体积,然后用 3 倍无水乙醇醇沉两次,每次醇沉 1 h,多糖沉淀抽滤后,用少量蒸馏水溶解,加入 3 倍量无水乙醇再次进行第二次醇沉,再进行抽滤,然后将抽滤后的多糖粗品烘干,称量多糖粗品,计算得率.

1.4.2 提取温度对多糖得率的影响 称取 20 g 预处理好的川楝子,在料液比为 1 : 10、超声功率为

300 W、提取时间为 60 min 条件下,分别在 25、45、65 ℃ 的温度下提取川楝子多糖,经抽滤,滤液进行旋转蒸发浓缩到一定体积,然后用 3 倍无水乙醇醇沉两次,每次醇沉 1 h,第 1 次多糖沉淀抽滤后,用少量蒸馏水溶解,加入 3 倍量无水乙醇进行第 2 次醇沉,再进行抽滤,然后将抽滤后的多糖粗品烘干,称量烘多糖粗品,计算得率.

1.4.3 提取时间对多糖得率的影响 称取 20 g 预处理好的川楝子,在料液比为 1 : 5、提取功率为 300 W、提取温度为 25 ℃ 条件下,分别在 30、60、90 min 提取川楝子多糖,抽滤,然后把滤液旋转蒸发浓缩,用 3 倍无水乙醇醇沉 2 次,每次醇沉 1 h,第 1 次多糖沉淀抽滤后,用少量蒸馏水溶解后,在加入 3 倍量无水乙醇进行第 2 次醇沉,再进行抽滤,然后将抽滤后的多糖粗品烘干,称量多糖粗品,计算得率.

1.5 超声波辅助提取的正交实验

在单因素实验的基础上选择适当的因素和水平进行正交实验,通过极差分析,以确定最佳的提取条件.

2 结果与分析

2.1 超声波辅助提取的单因素实验

2.1.1 料液比对多糖得率的影响 在提取温度为 55 ℃,提取时间为 60 min,提取功率为 300 W 的相同条件下,料液比分别为 1 : 5、1 : 10 和 1 : 15 时多糖的得率见下表 1.

表 1 料液比对多糖得率的影响
Table 1 Effect of solid-liquid ratio on the yield of polysaccharides

序号	料液比	多糖得率
1	1 : 5	7.99 %
2	1 : 10	8.64 %
3	1 : 15	15.26 %

由表 1,多糖收率随着料液比的增加而升高,当料液比为 1 : 15,多糖得率相对较高.根据文献^[1]采用水提取法从川楝子中提取多糖的料液比选择 1 : 15,并且溶剂量太小,多糖就不能完全溶出;溶剂量太大,超声波辐射会被溶剂大量吸收,不能完全作用于物料,影响多糖得率.综合考虑,溶剂比例不易过多,本实验选择 1 : 15 进行正交实验.

2.1.2 提取温度对多糖得率的影响 在料液比为 1 : 10、提取时间为 1 h、提取功率为 300 W 的相同条件下,提取温度为 25、45 ℃ 和 65 ℃,多

糖的得率见表 2.

表 2 提取温度对多糖得率的影响

Table 2 Effect of temperature on the extraction yield of polysaccharides

序号	提取温度/℃	多糖得率/%
1	25	10.75
2	45	9.07
3	65	5.57

由表 2,多糖得率随着温度的升高而降低,当温度在 25 ℃时多糖得率相对较高. 根据文献^[12]可能是因为温度升高,加快川楝子多糖降解,导致多糖得率降低;如果温度太低,提取又不完全. 故选择 25 ℃进行正交实验.

2.1.3 提取时间对多糖得率的影响 在提取温度为 25 ℃、提取功率为 300 W、料液比为 1∶5 的相同条件下,提取时间分别为 30、60 min 和 90 min 时多糖的得率见下表 3.

由表 3 知,时间对提取率影响较小,随着提取时间的增加提取率变化不大,30 min 时多糖得率相对较高. 超声时间短,溶出物较少,多糖含量较低;超声时间长,能耗多,同时提取物中的茶多糖会发生部分降解,使多糖得率降低. 所以正交实验未考虑时间的影响,提取时间均为 30 min.

表 3 提取时间对多糖得率的影响

Table 3 Extraction time on the yield of polysaccharides

序号	提取时间/ min	多糖得率/%
1	30	8.15
2	60	8.11
3	90	7.47

结合单因素实验,按料液比、提取温度和超声波频率为影响因素,设计正交实验分析其对川楝子多糖提取率的影响,设计 $L_9(3^4)$ 正交实验,多糖得率为指标选择最佳的提取工艺. 为了提高统计分析的可靠性,每组实验重复 3 次,测定结果以平均值统计分析. 因素水平表见表 4.

表 4 因素水平表

Table 4 The form of factors level

水 平	因 素		
	A 温度/℃	B 料液比/(g/mL)	C 超声功率/W
1	20	1∶13	200
2	25	1∶15	300
3	30	1∶17	400

2.2 超声波辅助提取的正交实验

利用超声波提取法从川楝子中提取多糖的正交实验结果见表 5、6.

表 5 正交实验设计表

Table 5 Orthogonal experimental design table

实验号	A	B	C
1	20	1∶13	200
2	20	1∶15	300
3	20	1∶17	400
4	25	1∶13	300
5	25	1∶15	400
6	25	1∶17	200
7	30	1∶13	400
8	30	1∶15	200
9	30	1∶17	300

表 6 正交实验及结果

Table 6 Orthogonal experimental and Result

实验号	A	B	C	多糖得率
1	20	1∶13	200	9.122 5%
2	20	1∶15	300	9.284 0%
3	20	1∶17	400	12.119 0%
4	25	1∶13	300	10.533 5%
5	25	1∶15	400	10.686 0%
6	25	1∶17	200	11.587 5%
7	30	1∶13	400	8.917 5%
8	30	1∶15	200	12.442 5%
9	30	1∶17	300	10.553 5%
K_1	30.525 5%	28.573 5%	33.152 5%	
K_2	32.807 0%	32.412 5%	30.371 0%	
K_3	31.913 5%	34.260 0%	31.722 5%	
X_1	10.175 2%	9.524 5%	11.050 8%	
X_2	10.935 7%	10.804 2%	10.123 7%	
X_3	10.637 8%	11.420 0%	10.574 2%	
R	0.297 9%	1.895 5%	0.927 1%	

表 6 结果表明,极差 R 的大小顺序为 $B>C>A$,即影响川楝子多糖提取率主次关系依次是料液比>超声功率>提取温度. 川楝子多糖的最佳提取工艺条件为 $A_3B_2C_1$,即温度为 30 ℃,料液比为 1∶15,超声功率为 200 W. 其中,8 号实验,即温度为 30 ℃,料液比为 1∶15,超声功率为 200 W,提取时间为 30 min,川楝子多糖提取得率

最高,为 12.442 5%。
在温度为 30 ℃,料液比为 1 : 15,超声功率为 200 W,提取时间为 30 min 的优化条件下,采用超声波辅助提取法提取川楝子多糖,从而得到优化条件下的提取率,结果见表 7。

根据表 7,在最佳工艺条件下超声波辅助提取川楝子多糖的提取率达 13.878%。与传统水提川楝子多糖文献^[1]相比,超声波辅助提取法其多糖得率高,而且提取时间短、节约原料。

表 7 最佳工艺条件下多糖提取率
Table 7 Polysaccharides extraction rate under optimum conditions

序号	提取率/%
1	14.069
2	13.829
3	13.736
平均值	13.878

3 讨 论

- a. 根据文献粒度对多糖提取影响不大,所以实验过程中没有考察粒度对提取率的影响. 为减小实验误差,实验前将川楝子粉碎后过孔径 0.85 mm 筛,以保证粒度基本一致。
- b. 超声波提取实验中,仪器内水面高度要超过川楝子所在的液面,以保证物料超声充分;由于超声仪器内水面的散热,使实际水温与显示温度有差异,因此在锥形瓶内放入温度计,时刻观察温度的变化,进而调节超声仪器内水温的变化,提取温度以温度计的温度为准;另外,超声温度升至设定温度时,开始计量提取时间。
- c. 在多糖提取过程中,由于提取液的多次转移使器壁上有残留液以及醇沉后多糖沉淀附着在器壁等诸多因素,均会导致多糖产品收集不完全,从而产生误差,使实验结果偏低。
- d. 在进行旋转蒸发时,应将提取液尽量浓缩至小体积,这样醇沉时可以节省无水乙醇的用量;在浓缩结束后,瓶壁上会附有少量的提取液,实验中用少许水润洗瓶壁,以达到尽量降低实验误差的目的。
- e. 因为 KQ-500DE 型数控超声仪器的功率上线是 500 W,使用范围比较小,所以单因素实验过程中没有考察超声功率对提取率的影响。
- f. 根据单因素实验结果,提取时间对于川楝子多糖得率的影响很小,所以正交实验时未将提取时间作为研究对象. 从节省时间和能源的角度考虑,正交实验中提取时间均选定 30 min。

4 结 语

采用超声波辅助提取法从川楝子中提取多糖,水为溶剂,提取 30 min,通过 $L_9(3^4)$ 正交实验,提取率为评价指标进行优化. 结果表明,最优提取温度 30 ℃、超声功率 200 W、料液比 1 : 15,在该组合条件下最高提取率为 13.878%,各因素对多糖提取率影响的先后顺序为:料液比、提取功率、提取温度和提取时间. 超声波辅助提取法与传统水提取法比较的结果是多糖提取率高、时间短、能耗少等优点,采用超声波辅助提取多糖是一种切实可行的好方法。

致 谢

感谢浙江大学创新技术研究院有限公司领导和同事对本实验帮助。

参考文献:

[1] 贺亮,宋先亮,殷宁,等. 川楝子总黄酮和多糖提取及其抗氧化活性研究[J]. 林产化学与工业,2007,27(5):78-82.
HE Liang, SONG Xian-liang, YIN Ning, et al. Si-chuan fruit flavonoids and polysaccharide extraction and their antioxidant activity[J]. Forest Chemistry and Industry, 2007, 27(5):78-82. (in Chinese)

[2] 潘九英,陈慧瑾,许颖. 中药多糖药理作用研究的新进展[J]. 中华实用中西医杂志,2007,20(19):56-58.
PAN Jiu-ying, CHEN Hui-jin, XU Ying. Traditional Chinese medicine polysaccharide research progress of pharmacological effects[J]. The Practical Journal of Chinese and Western Medicine, 2007, 20(19):56-58. (in Chinese)

[3] 许燕燕. 植物多糖的提取方法和工艺[J]. 福建水产, 2006,8(3):32-36.
XU Yan-yan. Method for extracting plant polysaccharides and process[J]. Fujian aquatic products, 2006,8(3):32-36. (in Chinese)

[4] 周宇,杨郭. 正交实验优选叶下珠中多糖的提取工艺[J]. 化工时刊,2009,23(8):32-33.
ZHOU Yu, YANG Guo. Orthogonal experiment optimizing the extraction process of polysaccharide in the bead[J]. Chemical Industry Issue, 2009, 23(8):32-33. (in Chinese)

[5] 苗明三,杨林莎. 百合多糖免疫兴奋作用[J]. 中药药理与临床,2003,19(1):15-16.
MIAO Ming-san, YANG Lin-sha. The role of immune lily polysaccharide excited[J]. Clinical Pharmacology of Traditional Chinese Medicine, 2003, 19(1):15-16. (in Chinese)

[6]

赵国华,李志孝,陈宗道.百合多糖的化学结构及抗肿瘤活性[J].食品与生物技术,2002,21(1):62-66.
ZHAO Guo-hua,LI Zhi-xiao,Chen Zong-dao. Chemical structure and antitumor activity of polysaccharides in Lilium[J]. The Food and Biotechnology, 2002, 21(1): 62-66. (in Chinese)

[7]

禹文峰,任凤莲,吴晓斌.百合多糖的超声波提取工艺研究[J].广州化学,2007,32(2):36-40.
YU Wei-feng,REN Feng-lian,WU Xiao-bin. Study on ultrasonic extraction of polysaccharides in Lilium [J]. Guang- zhou Chemistry,2007,32(2):36-40. (in Chinese)

[8]

孙建,周洪雷.中药川楝子临床应用研究[J].辽宁中医药大学学报,2008,10(1):27-28.
SUN Jian, ZHOU Hong-lei. Traditional Chinese medicine (TCM) sichuan fruit clinical application research [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese medicine,2008, 10(1):27-28. (in Chinese)

[9]

汪东风,谢晓凤,严峻,等.茶多糖等有效成分综合提取研究[J].中草药,1998,29(11):739-740.
WANG Dong-feng,XIE Xiao-feng,YAN Jun, et al. Tea polysaccharide from active ingredients such as comprehensive research[J]. Chinese Herbal Medicine, 1998, 29(11): 739-740. (in Chinese)

[10]

李小平.红枣多糖提取工艺研究及其生物功能初探[D].西安:陕西师范大学,2004:19-20.
LI Xiao-ping. Red jujube polysaccharide extraction technology was studied and its biological functions [D]. Xi'an: Shanxi Normal University Graduate Dissertation,2004:19-20. (in Chinese)

[11]

ZHOU Sheng-hong. Thirty cases of chronic cholecystitis treated by acupuncture and oral adiministration of Da Chai Hu Tang[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2008,28(3):173-174.

[12]

CHEN Xiao-qiang,ZHANG Ying. Ultrasonic-associated extraction of water soluble polysaccharides from defatted Korean pine kernel[J]. Journal of Forestry Research, 2007,18(2):133-135.

Technology of ultrasonic assisted extraction of toosendan polysaccharide

MA Yan-jun

Innovation and Technology Research Institute of Zhejiang University Co. Ltd. , Hangzhou 310000, China

Abstract: To optimize parameters such as temperature, solid-liquid ratio and ultrasonic power, the orthogonal experiment L₉ (4 factors and 3 levels) was designed to investigate the process of ultrasonic assisted extraction of Toosendan polysaccharide, using water as the extraction solvent to study the impact of temperature, solid-liquid ratio and ultrasonic power on the extraction yield. The results show that the best process is extraction temperature of 30 ℃, solid-liquid ratio of 1 : 15, ultrasonic power of 200 W and extraction time of 30 minutes; the influential factors are in the order of solid-liquid ratio > extraction temperature > ultrasonic power; the best polysaccharide yield is 12.442 5% under these optimum conditions. The ultrasonic assisted process of extracting Toosendan polysaccharide is simple, fast and high yielding, thus it is superior to the traditional water extraction process.

Keywords: toosendan;polysaccharides;ultrasonic assisted extraction;experiment

本文编辑:张 瑞