

响应面法优选黄蜀葵花多糖的提取工艺[△]

杨 静^{1*}, 李 爽², 钱 芳¹, 刘志辉¹(1.南京中医药大学附属医院, 南京 210029; 2.南京中医药大学, 南京 210029)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)39-3688-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.39.13

摘要 目的:优选黄蜀葵花多糖的提取工艺。方法:以料液比、提取温度、提取时间为考察因素,以多糖提取率为评价指标,在单因素试验基础上,采用响应面法优选黄蜀葵花多糖的提取工艺。结果:最佳提取工艺为在70℃下提取2次,每次3h,提取到液料比为12.5:1(ml/g),可得到多糖的提取率为8.90%。结论:所选工艺合理、可行,可用于提取黄蜀葵花中的多糖。

关键词 黄蜀葵花;多糖;响应面法;提取工艺

Optimization of Extraction Technology of Polysaccharide from the Flower of *Abelmoschus manihot* by Response Surface Method

YANG Jing¹, LI Shuang², QIAN Fang¹, LIU Zhi-hui¹(1.The Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China; 2.Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of polysaccharide from the flower of *Abelmoschus manihot*. METHODS: The extraction technology of polysaccharide from the flower of *A. manihot* was optimized by response surface method with ratio of solvent and material, extraction temperature and extraction time as factors using the extraction rate of polysaccharide as index. RESULTS: The optimal extraction technology was as follows: extracting for 2 times, 3 h each time, at 70 °C, the ratio of solvent and material 12.5:1(ml/g). The extraction rate of polysaccharide could be up to 8.90%. CONCLUSIONS: The technology is reasonable and feasible, and it can be used for the extraction of polysaccharide from the flower of *A. manihot*.

KEY WORDS The flower of *Abelmoschus manihot*; Polysaccharide; Response surface methodology; Extraction technology

黄蜀葵花为锦葵科秋葵属植物黄蜀葵 *Abelmoschus manihot*(L.)Medic.的干燥花,归心、肾、膀胱经,最早记载于《嘉佑本草》^[1],其功效^[2]为利尿通淋、活血、止血、消肿解毒。研究表明,黄蜀葵花含有丰富的黄酮类化合物和多糖类物质^[3-5]。目前,对黄蜀葵花黄酮类化合物的研究较多,而对黄蜀葵花多糖的研究较少,笔者拟以响应面法优化黄蜀葵花多糖提取工艺,为进一步开发利用黄蜀葵植物,以及寻找多糖的构效关系和潜在药用价值的提供参考。

1 材料

1.1 仪器

BP-211D型电子分析天平(德国赛多利斯公司);KQ-1000E型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Cary 50型紫外检测仪(美国瓦里安公司)。

1.2 试剂

葡萄糖对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110833-200302);葡萄糖、无水乙醇、浓硫酸、苯酚(分析纯,南京宁试化学试剂有限公司)。

1.3 中药饮片

黄蜀葵花饮片(江苏省医药公司,批号:101020)。

2 方法与结果

2.1 黄蜀葵花多糖的提取

取黄蜀葵花饮片适量,加6倍量的95%乙醇,回流提取3次,每次1h,滤过,药渣挥干溶剂后按表1安排进行提取,提取液滤过,滤液真空浓缩,加3倍量的95%乙醇,置冰箱中醇析24h,得到絮状沉淀,滤过,依次用无水乙醇、丙酮、无水乙醚洗涤,收集沉淀。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A, h	B, ml/g	C, °C
-1	2	10.0	60
0	3	12.5	70
1	4	15.0	80

2.2 多糖含量和提取率的测定

2.2.1 葡萄糖对照品贮备液的制备 精密称取干燥至恒质量的葡萄糖对照品100.95 mg,置50 ml量瓶中,以蒸馏水溶解并定容,摇匀,即得。

2.2.2 葡萄糖对照品标准曲线的制备 分别精密吸取0、1、2、3、4、5、6 ml葡萄糖对照品贮备液,置50 ml量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,分别得到质量浓度为0、40.38、80.76、121.14、161.52、201.9、242.28 μg/ml的葡萄糖对照品溶液。精密吸取此系列浓度的对照品溶液各0.2 ml,置试管中,分别精密吸取6%苯酚0.4 ml,震荡,混匀,再迅速加入2 ml浓硫酸,混匀,室温放置20 min,以蒸馏水为空白对照,于490 nm波长处测定吸光度。以吸光度(y)为纵坐标,葡萄糖对照品进样量(x)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=0.0048x$

[△] 江苏高校优势学科建设工程一期项目

* 主管药师。研究方向:中药制剂工艺及质量标准。电话:025-86619821。E-mail:jingyang2001@foxmail.com

($r=0.9952$)。结果表明,葡萄糖对照品进样量在8.07~48.46 μg 范围内与吸光度呈良好线性关系。

2.2.3 多糖提取率的测定 精密称取“2.1”项下收集的沉淀物适量,按“2.2.2”项下方法测定多糖含量,照下式计算多糖提取率:多糖提取率=(沉淀物质量 \times 多糖含量/原料质量) $\times 100\%$ 。

2.3 单因素试验

2.3.1 提取时间对多糖提取率的影响 称取黄蜀葵花饮片适量,共5份,分别按料液比为15:1(ml/g)加入适量水,提取温度设定为70 $^{\circ}\text{C}$,每份饮片均提取2次,提取时间分别为1、1.2、2、3、3.4、4、5 h,并按“2.2”项下方法测定多糖含量和多糖提取率。结果,随着提取时间的延长,多糖提取率不断增高,提取2 h的多糖提取率明显高于提取1 h,3 h时达到峰值,以后趋于平缓。因此,提取时间设计在2~4 h之间较适宜。不同提取时间对多糖提取率的影响见图1。

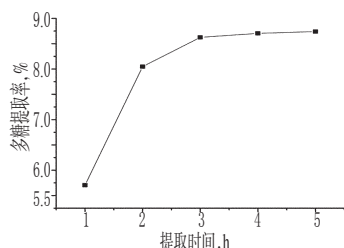


图1 不同提取时间对多糖提取率的影响

Fig 1 Effect of different extraction time on the extraction rate of polysaccharide

2.3.2 料液比对多糖提取率的影响 称取黄蜀葵花饮片适量,共4份,分别按料液比为5:1、10:1、15:1、20:1(ml/g)加入适量水,固定提取温度为70 $^{\circ}\text{C}$,提取时间为3 h,提取2次,并按“2.2”项下方法测定多糖含量和多糖提取率。结果,当料液比为10:1(ml/g)时,多糖提取率明显高于料液比5:1(ml/g),而在15:1(ml/g)时多糖提取率达到最大值;料液比的增加可明显提高多糖提取率。因此,料液比设计在10:1~15:1(ml/g)之间较适宜。不同料液比对多糖提取率的影响见图2。

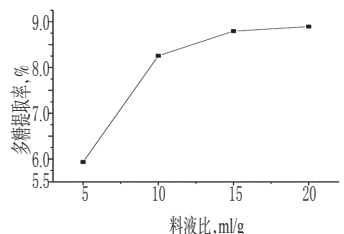


图2 不同料液比对多糖提取率的影响

Fig 2 Effect of different ratio of material to liquid on the extraction rate of polysaccharide

2.3.3 提取温度对多糖提取率的影响 称取黄蜀葵花饮片适量,共6份,分别在50、60、70、80、90、100 $^{\circ}\text{C}$ 下提取,固定料液比为15:1(ml/g),提取时间为3 h,提取2次,并按“2.2”项下方法测定多糖含量和多糖提取率。结果,随着温度升高,多糖提取率增加显著;但80 $^{\circ}\text{C}$ 后,随着温度的提高,多糖提取率略呈下降趋势。究其原因,可能与黄蜀葵花多糖本身的稳定性有关,高温可能导致黄蜀葵花多糖降解^[6]。因此,提取温度设计在60~80 $^{\circ}\text{C}$ 之间较适宜。不同提取温度对多糖提取率的影响见图3。

2.4 响应面法优选黄蜀葵花多糖的提取工艺

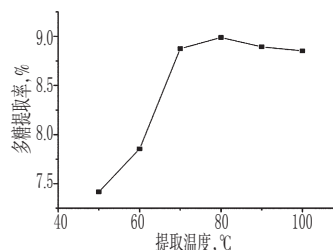


图3 不同提取温度对多糖提取率的影响

Fig 3 Effects of different extraction temperature on the extraction rate of polysaccharide

2.4.1 试验设计^[7-11] 根据单因素试验结果和响应面法试验设计原理,选取提取时间(A)、料液比(B)、提取温度(C)为考察因素。因素与水平见表1。

2.4.2 正交试验结果与分析 称取黄蜀葵花饮片适量,共6份,按表1安排进行试验,并照“2.2”项下方法测定多糖提取率,以此为评价指标对结果进行分析。响应面法试验结果见表2;响应面拟合回归方程的方差分析结果见表3。

表2 响应面法试验结果

Tab 2 Results of response surface test

试验号	A, h	B, ml/g	C, $^{\circ}\text{C}$	多糖提取率, %
1	0	-1	1	7.11
2	1	1	0	8.53
3	0	1	1	8.62
4	1	0	-1	6.27
5	0	0	0	9.01
6	0	0	0	8.91
7	0	0	0	8.98
8	-1	-1	0	7.76
9	-1	1	0	7.87
10	-1	0	1	8.27
11	0	0	0	8.95
12	0	-1	-1	6.67
13	1	-1	0	8.34
14	-1	0	-1	6.28
15	0	1	-1	7.23
16	0	0	0	8.99
17	1	0	1	8.78

表3 响应面拟合回归方程的方差分析结果

Tab 3 Variance analysis results of response surface regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
Model	15.31	12	1.28	834.28	<0.000 1
A	0.063	1	0.063	41.20	0.003 0
B	1.07	1	1.07	697.00	<0.000 1
C	0.84	1	0.84	548.69	<0.000 1
AB	1.80×10^{-3}	1	1.80×10^{-3}	1.18	0.339 2
AC	0.067	1	0.067	43.87	0.002 7
BC	0.22	1	0.22	145.93	0.000 3
A ²	0.76	1	0.76	497.45	<0.000 1
B ²	0.73	1	0.73	477.76	<0.000 1
C ²	5.5	1	5.5	3 598.77	<0.000 1
残差	1.35	7	0.19		
失拟误差	1.35	3	0.45	293.68	<0.000 1
纯误差	6.12×10^{-3}	4	1.53×10^{-3}		
总差	15.32	16			

由表3可知,黄蜀葵花提取模型的 $F=834.28, P<0.000 1$,表

明用该模型来分析各因素对提取工艺的影响是合理的。在本试验选择区域范围内,提取时间、料液比、提取温度均对多糖提取率有极显著性影响($P<0.01$);料液比和提取温度的交互作用、提取时间和提取温度的交互作用均对多糖提取率有极显著性影响($P<0.01$)。三维效应图见图4。

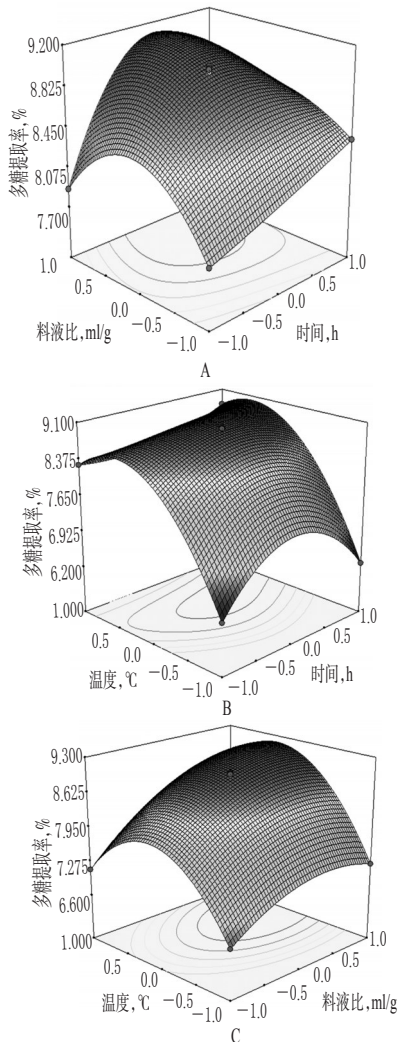


图4 三维效应图

A.提取时间与料液比对多糖提取率的影响;B.提取时间与提取温度对多糖提取率的影响;C.提取温度与料液比对多糖提取率的影响

Fig 4 Three-dimensional response surface

A.effects of extraction time and ratio of solvent and material on the extraction rate of polysaccharide; B.effects of extraction time and extraction temperature on on the extraction rate of polysaccharide; C. effects of extraction temperature and ratio of solvent and materalon on the extraction rate of polysaccharide

所得数据用 Design-Expert 7.05 软件进行分析,各因素经回归拟合后,得回归方程为 $Y=8.97+0.13A+0.52B+0.46C+0.021AB+0.13AC+0.24BC-0.43A^2-0.42B^2-1.14C^2-0.44A^2B+0.67A^2C+0.19AB^2$ ($r=0.9998$)。

根据所得到的模型,对响应面结果利用软件进行优化分析,可预测在稳定状态下的最大值是 $Y=8.97\%$;以多糖提取率为评价指标,得到相应的提取工艺优化条件为 $A=3\text{ h}$, $B=12.5:1(\text{ml/g})$, $C=70\text{ }^\circ\text{C}$ 。

2.5 工艺验证试验

称取黄蜀葵花饮片适量,共3份,分别按上述优选工艺进行提取,并照“2.2”项下方法测定多糖提取率。结果,多糖提取率分别为8.69%、9.11%、8.91%,平均值为8.90%, $RSD=2.42\%$ ($n=3$),与正交试验最高值相当,表明所选工艺合理、可行。

3 讨论

以多糖提取率为评价指标,利用响应面法考察提取过程中料液比、提取温度、提取时间对指标的影响。结果表明,提取温度、提取次数和料液比均能影响黄蜀葵花多糖的提取率。黄蜀葵花多糖提取工艺为:提取时间3 h,料液比为12.5:1 (ml/g),提取温度70 $^\circ\text{C}$,得到黄蜀葵花多糖的实际提取率为8.90% ($n=3$)。

本试验结果表明,黄蜀葵花多糖的提取值与理论预测值基本吻合。因此,利用响应面法得到的黄蜀葵花多糖提取工艺参数真实、可靠,具有实用价值。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草:第5分册[M].上海:上海科学技术出版社,1999:330-333.
- [2] 刘锋,周广宇.黄蜀葵花对慢性肾小球肾炎患者尿生化指标的影响[J].南京中医药大学学报,2011,27(3):293.
- [3] 刘爽,江蔚新,吴斌.黄蜀葵化学成分及药理活性研究进展[J].中国现代中药,2010,12(8):5.
- [4] 高素莲,张秀真,陈均.黄蜀葵多糖的分析[J].分析测试学报,2002,21(6):72.
- [5] 王雪梅,施文婷,吴迷迷,等.黄蜀葵胶中的糖分析[J].食品科学,2011,32(6):256.
- [6] 陈钢,陈红兰,苏伟.响应面分析法优化黄精多糖提取工艺参数[J].食品科学,2007,28(7):198.
- [7] 田宝成,贾昌平,杨军涛.Box-Behnken 效应面法优化红旱莲总黄酮提取工艺的研究[J].中成药,2010,32(3):389.
- [8] 单晓菊,邸明磊,张岩.响应面法优选苦豆子多糖活性炭脱色工艺[J].中国药房,2011,22(47):4443.
- [9] 卢时勇,钱俊青,邹小明.响应面法优化超声提取白术有效成分的研究[J].中国中药杂志,2006,31(7):5491.
- [10] 韩枫,李稳宏,李冬.响应面法优化超声波提取薯蓣皂素工艺研究[J].食品科学,2007,28(3):96.
- [11] 杨涛,盛欢欢,李岩.星点设计-效应面法优化穿心莲提取工艺[J].中国药学杂志,2011,46(3):208.

(收稿日期:2013-06-13 修回日期:2013-07-04)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊,欢迎投稿、订阅