

不同物料粒度浸提工艺参数对黄芪多糖水提效果的影响

杨德勇^{1,2} 韩鲁佳^{1,2}

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 现代精细农业系统集成研究教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要 以浸提液中的总糖含量为指标, 试验研究浸提工艺参数对黄芪多糖水提效果的影响。试验结果表明, 黄芪颗粒粒度、浸提温度对黄芪多糖浸提效果影响显著, 60~70 ℃ 浸提温度下的黄芪总糖含量最高, 物料粒径 < 0.3 mm (60 目) 时浸提液中的黄芪总糖含量 > 35 mg/mL; 浸提 60 min 后浸提液中黄芪总糖含量达到平衡状态; 液固比对黄芪多糖浸提效果的影响不显著。

关键词 黄芪多糖; 提取工艺; 苯酚-硫酸比色法

中图分类号 R 284.2

文章编号 1007-4333(2006)05-0060-05

文献标识码 A

Study on effects of extracting astragalus polysaccharide (APS) at different processing parameters

Yang Deyong^{1,2}, Han Lujia^{1,2}

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. Key Laboratory of Modern Precision Agriculture System Integration, Ministry of Education, Beijing 100083, China)

Abstract Temperature, time, ratio of solvent to solid material and particle size of radix astragalus are the main influencing factors in extracting astragalus polysaccharide (APS) by water. The concentration of total sugar (TS) is measured in this research as the unique index by phenol-sulfuric acid colorimetric method. The results show that the concentration of TS is effected significantly by temperature and particle size, will be highest when the temperature is at 60~70 ℃ and decrease at higher or lower temperature. The concentration of TS increases with decreasing particle size of material and will be more than 35 mg/mL when particle size is small than 0.3 mm. The equilibrium concentration will be reached in 60 min, longer extraction time is useless in extraction APS. The proper ratio of solvent to solid material is 10 mL/g, high ratio will cause operational difficulty in removing water at subsequent processing.

Key words astragalin polysaccharide (APS); extracting technology; phenol-sulfuric acid colorimetric method

药用黄芪为豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根, 主产于我国东北、华北、西北等地区^[1]。黄芪的化学成分主要有皂苷、黄酮、氨基酸、多糖及微量元素, 其中黄芪多糖 (astragalus polysaccharide, APS) 是黄芪中含量最多, 免疫活性较强的一类物质。近年来的研究表明, 黄芪多糖具有免疫调节、抗病毒、抗感染、抗氧化损伤、抗肝炎、抗肿瘤、抗辐射损伤等多种药理作用, 其药用价值很高^[2-4]。

黄芪多糖的提取方法主要有水煮醇沉法、碱浸提法、微波提取法、超声提取法、超滤法、酶法提取

等, 其中水煮醇沉法应用最广。与碱提法相比, 水提法粗提物得率为碱提法的 50%~90%, 但提取物中多糖含量较其高 26%~34%; 利用超细粉碎黄芪粉沸水提取黄芪多糖, 物料粒度为 80 和 800 目时黄芪多糖的溶出量分别为 1.59% 和 6.28%, 后者的溶出速率约为前者的 3.9 倍^[5]。水提法中浸提温度对浸提效果的影响最大, 但不同研究者的研究结果存在较大差异: 文献[6]的研究结果表明, 当浸提温度为 62~68 ℃ 时可获得较高的黄芪多糖得率; 文献[7]的研究结果为, 浸提时间 60 min、浸提温度 100 ℃、

收稿日期: 2006-04-04

基金项目: 国家“十五”科技攻关计划课题(2001B501A30); 北京市科技计划项目课题(Y704003040511)

作者简介: 杨德勇, 博士研究生, 副教授; 韩鲁佳, 教授, 博士生导师, 通讯作者, 主要从事生物物质资源开发与利用研究, E-mail:

hanlj@cau.edu.cn

液固比(ratio of solvent to solid material) 6 mL/g, 提取2次时黄芪多糖的浸提效果较好。沸水浸提法工艺简单,但较高的水煮温度对提取物的选择性不好,易将黄芪中的黄酮、皂甙等同时提取出来,从而影响黄芪多糖的后续分离和最终产品的质量,且能耗大经济性差^[5]。此外,物料粒度越小,加工难度越大,经济性越差。研究者所用的物料粒度不同,得出的结论或相似或不同,针对此问题,笔者采用水浸提法提取黄芪多糖,以黄芪多糖浸提液中的黄芪总糖含量为指标,研究不同物料粒度条件下,浸提时间、浸提温度、液固比等工艺参数对黄芪多糖浸提效果的影响。

1 材料与方法

1.1 试验原料、试剂及仪器

原料:黄芪原药材,山西产蒙古黄芪,北京同仁堂饮片厂提供。

主要试剂:葡萄糖标准品, Sigma 公司;重蒸酚、乙醇、硫酸等均为国产分析纯。试验中提取用水为蒸馏水,测试分析用水为重蒸馏水。

仪器和设备: TU-1800SPC 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司; AB204-B 型电子分析天平,瑞士梅特勒公司; TGL-16G 离心机,上海安亭科学仪器厂; DZKW-D 型水浴锅,余姚市东方电工仪器厂; FW135 型中草药万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司; MVS-1 型旋涡混合器,北京金北德工贸有限公司; 回流浸提装置; 分级筛。

1.2 黄芪颗粒粒径的确定

将黄芪根用 FW135 型中草药万能粉碎机粉碎 1 min, 过不同孔径(表 1)的分级筛, 取通过上筛而留

表 1 黄芪颗粒的粒度及其质量百分数

Table 1 Distribution of particle size and mass of comminuted radix astragalus

粒度/ 目	分级筛孔 径/mm	几何平均 径/mm	质量/ g	质量百分 数/%
< 10	> 2.00	> 2.00	149.45	5.17
10 ~ 20	0.90 ~ 2.00	1.342	239.86	8.30
20 ~ 40	0.45 ~ 0.90	0.636	440.06	15.23
40 ~ 60	0.30 ~ 0.45	0.367	513.49	17.77
60 ~ 80	0.20 ~ 0.30	0.245	589.72	20.41
80 ~ 100	0.15 ~ 0.20	0.173	152.15	5.27
> 100	< 0.15	< 0.15	804.73	27.85

注: 以分级筛筛孔目数表示,“< 10 目”表示未过 10 目筛;“20 ~ 40 目”表示通过 20 目筛而未过 40 目筛;“> 100 目”表示通过 100 目筛。该粒度范围黄芪颗粒质量/黄芪样品总质量, %。

在相邻下筛的物料。由表 1 可见: 20 ~ 40、40 ~ 60、60 ~ 80 和 > 100 目这 4 个粒度范围的物料的质量百分数较高, 均 > 15%, 其他粒度范围物料的质量百分数均 < 10%, 因此本研究选择 20 ~ 40、60 ~ 80 和 > 100 目这 3 个粒度范围的物料为研究对象, 分别代表大、中、小粒度物料。

物料经粉碎后, 不同粒度物料的成分、含量不尽相同, 对所得浸提液中的黄芪多糖含量可能会有一定影响。为消除不同粒度物料成分、含量对浸提效果的影响, 研究中主要考虑同一粒度物料不同工艺条件下的浸提效果, 以确定浸提黄芪多糖效果较好的物料粒度范围。

1.3 黄芪原料含水率的测定

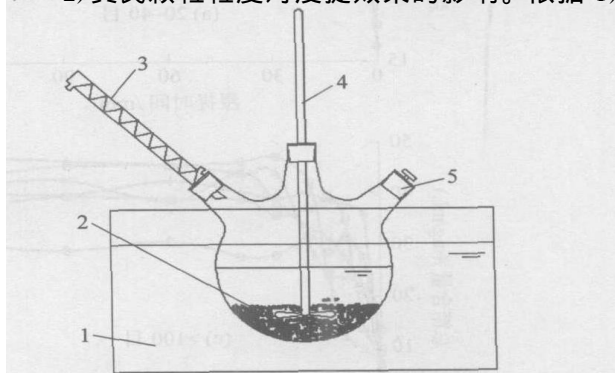
采用 105 常压烘干法测定黄芪原料的含水率, 测定 3 次取算术平均值。经测定黄芪原料的含水率为 4.25%。

1.4 黄芪多糖的提取试验设计

采用回流提取实验装置(图 1)浸提黄芪多糖, 回流浸提 1 次。液固比的选择, 一方面应使物料充分浸没, 使黄芪多糖尽可能多溶出, 另一方面应不增加后续浓缩等过程的操作难度, 不宜太小或太大。本试验中最小液固比为 10 mL/g。每次提取所用物料量 30 g, 置于三口圆底烧瓶中, 浸提溶剂预加热至浸提温度后倒入烧瓶中, 搅拌 10 s 后开始计时取样。

1) 浸提时间对浸提效果的影响。浸提温度 40、50、60、70、80 和 90, 液固比为 10 mL/g, 用 3 种不同粒度物料提取黄芪多糖; 分别于 0、5、10、20、30、40、60、90 和 120 min 时取样, 考察浸提时间对黄芪多糖浸提效果的影响, 以确定较优的浸提时间。

2) 黄芪颗粒粒度对浸提效果的影响。依据 1)



1. 恒温水浴槽; 2. 三口圆底烧瓶; 3. 冷凝管;
4. 电动搅拌器; 5. 磨口玻璃塞

图 1 回流提取实验装置

Fig. 1 Reflux extraction device

确定的较优的浸提时间,液固比 10 mL/g,考察 3 种粒度物料对黄芪多糖浸提效果的影响,以确定既易于粉碎加工,又能达到较好浸提效果的物料粒度。

3) 浸提温度对浸提效果的影响。依据 1) 确定的较优的浸提时间,液固比 10 mL/g,浸提温度为 40、50、60、70、80 和 90 时浸提黄芪多糖,考察浸提温度对浸提效果的影响,以确定合理的浸提温度范围。

4) 液固比对浸提效果的影响。依据 1) 所确定的较优的浸提时间和 3) 所确定的较优的浸提温度,考察液固比分别为 10、15 和 20 mL/g 时的浸提效果,以选择合适的液固比范围。

1.5 黄芪总糖含量的测定

由文献[8]可知,黄芪多糖水提液中多糖含量约为总糖含量的 70%~75%,通过测试水提液中总糖含量的方式检测水提液中的黄芪多糖含量。总糖含量的测试采用苯酚-硫酸比色法。

1) 标准曲线的绘制。

标准溶液配制。精确称取 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,摇匀。

苯酚溶液的配制。精确称取重蒸酚 5 g,置于 100 mL 容量瓶中,摇匀后置于棕色试剂瓶并放入冰箱备用。

标准曲线的绘制。吸取配制好的葡萄糖标准液

0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mL 分别定容于 10 mL 容量瓶中,摇匀。精密吸取上述各种溶液 2 mL,分别加入 5% 苯酚溶液 1 mL,摇匀,迅速加入 5 mL 浓硫酸,振摇 5 min,置沸水浴上加热 15 min,然后置冷水浴中冷却 30 min,随行空白,在 490 nm 波长处测定吸光度。以标准溶液浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制标准曲线(图 2)。

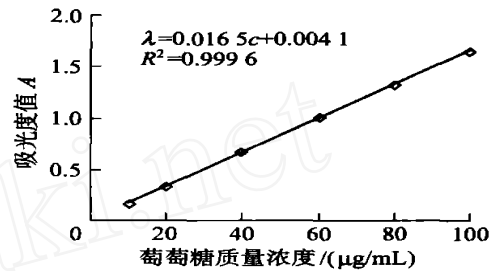


图 2 葡萄糖标准曲线

Fig. 2 The standard curve of glucose

2) 总糖含量的测定。

精密吸取样品溶液 20 μL,定容于 10 mL 容量瓶,摇匀。精密吸取样品液 2 mL,按标准曲线项操作。用标准曲线计算黄芪多糖提取液中的总糖含量。

2 结果与分析

2.1 浸提时间对黄芪总糖含量的影响

浸提时间对黄芪总糖含量的影响见图 3。在 40~

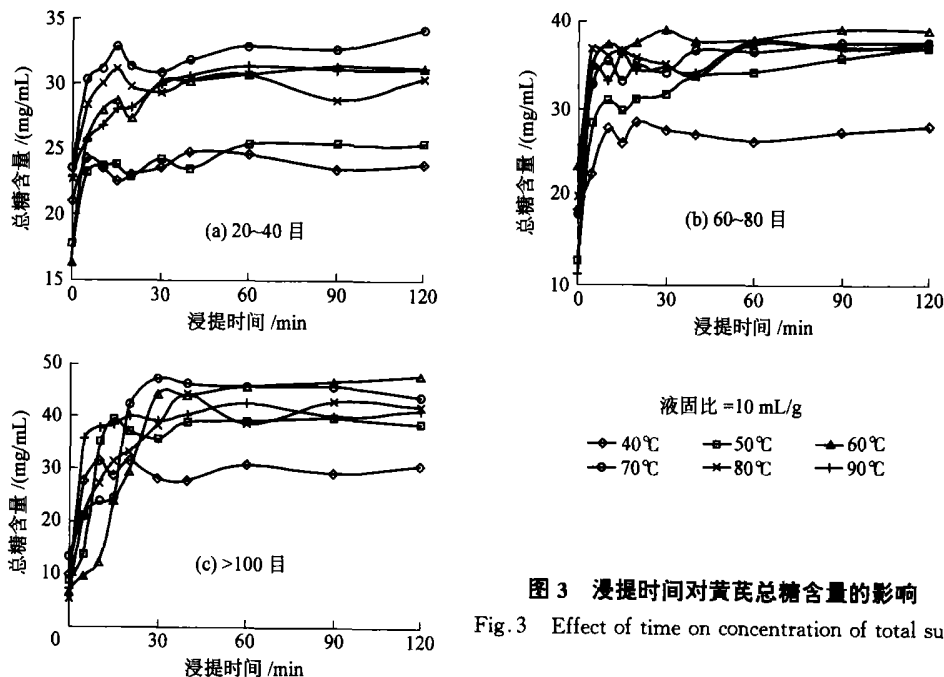


图 3 浸提时间对黄芪总糖含量的影响

Fig. 3 Effect of time on concentration of total sugar

90 浸提温度范围内,一般经过 15~60 min 浸提后,浸提液中的总糖含量基本趋于稳定,随着浸提时间的延长,总糖含量变化不大,即可认为浸提液中的黄芪多糖含量达到平衡。浸提时间为 30 min 测得的总糖含量均超过 60 min 时总糖含量的 90%;而通过最小二乘法所得的浸提 30 和 60 min 时的总糖含量拟合结果来看,除浸提温度 60~70 °C、物料粒度 >100 目时的总糖含量相差稍大外,其他粒度、浸提温度下的总糖含量相差均 <5%,在 15~30 min 内总糖质量浓度即可达到平衡。

由此可见,物料中的黄芪多糖可快速溶出,短时间浸提即可达到长时浸提的效果,长时间浸提无助于提高黄芪多糖含量。

2.2 黄芪粒度对黄芪总糖含量的影响

物料粒度对黄芪总糖含量的影响见图 4。试验条件下物料粒度越小,浸提液中的总糖含量越高;同一粒度物料在不同浸提温度时的总糖含量有一定差异,随着浸提温度的升高,浸提液中的总糖含量随之升高,在 60~70 °C 时达到峰值,之后随浸提温度的升高而有所下降,浸提温度较低时,相邻浸提温度下的总糖含量差异要大于浸提温度较高时相邻浸提温度下的总糖含量差异。不同粒度物料在同一浸提温度下的总糖含量差异明显,浸提温度为 60 °C 时,3 种粒度物料的浸提液中的总糖含量分别为 31.4、39.0 和 46.1 mg/mL;方差分析结果表明,物料粒度对浸提效果影响显著。

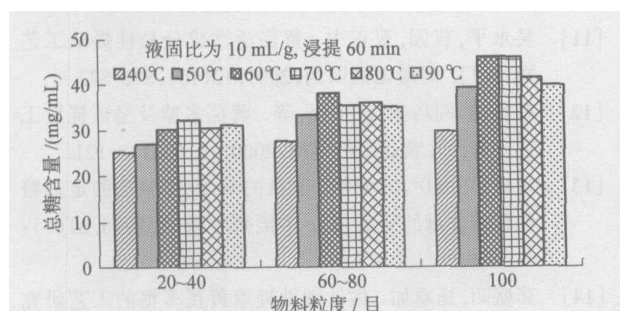


图 4 物料粒度对黄芪总糖含量的影响

Fig. 4 Effect of particle size on the concentration of total sugar

黄芪在粉碎过程中,所得的不同粒度物料形状差异明显。粒度越小,形状越接近于球状;粒度越大,外形越不规则,呈片状或丝状,且以丝状物料居多,片状物料的厚度或丝状物料的直径远小于其长度或宽度,与粒度较小物料的粒径相近,黄芪多糖向外溶出时分别沿厚度方向或径向扩散,不会影响其

扩散速度。因此中等粒度的物料(过 60 目筛)既便于粉碎加工,又能获得较好的浸提效果。

2.3 浸提温度对黄芪总糖含量的影响

浸提液中总糖含量随浸提温度的升高而升高,60~70 °C 时达到峰值,之后随着浸提温度的进一步升高,总糖含量有所下降或基本维持不变(图 5),说明黄芪多糖在不同浸提温度下的溶出效果存在较明显差异。不同粒度物料均表现出相同的浸提规律。

不同浸提温度下,同一粒度黄芪多糖浸提液中的初始总糖含量有较大差异,但随浸提温度的升高总糖含量的变化无明显规律。粒度分别为 20~40、60~80 和 >100 目的物料,其浸提液中初始总糖含量范围分别为 16.3~23.5、12.8~23.4 和 5.4~13.3 mg/mL;随着物料粒度的减小,其初始总糖含量逐渐减小。物料粒度越小,浸提液中总糖含量的初始值与最大值之间的差异越大。不同浸提温度下,黄芪多糖的初始浸提速率也不尽相同,在某些较高浸提温度下,其浸提速率反而比较低浸提温度下的小。

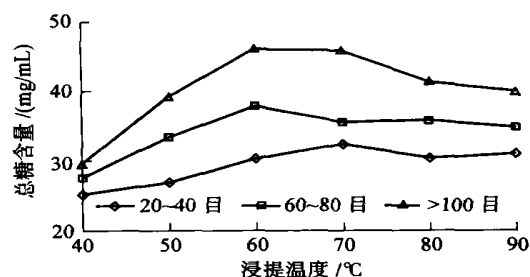


图 5 浸提温度对黄芪总糖含量的影响

Fig. 5 Effect of temperature on concentration of total sugar

方差分析结果表明,浸提温度对浸提液中的总糖含量影响显著,但如果仅仅对 60~90 °C 温度范围的试验结果进行分析,则会得出浸提温度对浸提液中的总糖含量影响不显著的结论。由此可知,较高的浸提温度无助于黄芪多糖的溶出,反而有一定的抑制作用;另外,较高的浸提温度对黄芪多糖的生物活性有不利影响,可能还会浸提出其他成分,增加后续分离操作的难度,且能耗增大。因此选择 60~70 °C 为浸提温度比较适宜。

2.4 液固比对黄芪总糖含量的影响

浸提温度为 70 °C、浸提时间 60 min、不同液固比浸提液中的黄芪总糖含量见表 2。可见,随着液固比的增大,浸提液中总糖含量相应减小,不同粒度物料浸提液中总糖含量变化趋势相同,下降幅度差异不大。

表2 不同液固比浸提液中总糖含量的变化

Table 2 Variable concentration of total sugar in the extracted liquid at different ratio of solvent to solid material

液固比/ (mL/g)	物料粒度/目			总糖含量相对下降幅度/%		
	20~40	60~80	>100	20~40目	60~80目	>100目
10	32.6183	37.4970	45.7490	0	0	0
15	20.3745	22.4515	28.3945	37.54	40.12	37.93
20	14.2495	16.5085	23.0276	56.31	55.97	49.67

注:浸提温度 70 ℃, 浸提 60 min

当浸提温度、物料粒度不变时,为比较不同液固比浸提液中总糖含量的变化,将不同液固比浸提液中的总糖含量折算为同一液固比(10 mL/g)下的含量。同一粒度物料浸提液中的总糖含量经折算后存在一定差异,但相差不大,方差分析结果也表明液固比对浸提效果影响不显著。由此可知,液固比的增大并不能有效提高浸提液中的多糖含量,反而会增大后续操作如浓缩等工作的难度。液固比太小,物料不易被浸没,黄芪多糖不能快速、完全溶出,从而影响浸提效果。因此液固比为 10 mL/g 是比较理想的选择。

3 结 论

1)物料粒度越小,黄芪多糖的浸提效果越好;但不同粒度物料的形状、成分、含量不尽相同,而且物料粒度越小,加工难度越大,因此选用过 60 目筛的中等粒度物料,既便于粉碎加工,又能获得较好的浸提效果。

2)黄芪多糖可快速溶出,在 15~60 min 内基本达到平衡,长时间浸提无助于提高黄芪多糖的含量。将浸提时间控制在 60 min 内既经济又高效。

3)浸提温度对黄芪多糖的浸提效果影响显著。60~70 ℃ 时的浸提效果最好,低于或高于此温度范围,黄芪多糖含量均有所下降;高温无助于黄芪多糖的溶出,反而有一定的抑制作用。

4)液固比 > 10 mL/g 时,其对浸提效果影响不显著;液固比为 10 mL/g 时,既能使黄芪多糖充分溶出,又能减轻后续加工的难度。

参 考 文 献

[1] 中华本草编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999

- [2] 陈阿琴,杨志刚,俞颂东,等. 黄芪多糖药理作用研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(9): 33-36
- [3] Shao B M, Xu W, Dai H. A study on the immune receptors for polysaccharides from the roots of *Astragalus membranaceus*, a Chinese medicinal herb [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 20(4): 1103-1111
- [4] 王莹. 中药黄芪免疫活性多糖的化学研究[D]. 北京:中国人民解放军军事医学科学院, 2000
- [5] 韩凤兰,陆峰,陈宇红. 黄芪多糖的提取研究[J]. 宁夏农林科技, 2004(5): 22-23
- [6] 孙瑞敏,刘冬平,陈俊,等. 黄芪多糖的提取[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2005, 38(1): 33-36
- [7] 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
- [8] 阎巧娟. 蒙古黄芪中多糖、皂甙及活性蛋白的提取分离[D]. 北京:中国农业大学, 2005
- [9] 贾淑琴. 黄芪的化学成分、药理和临床研究[J]. 天津药学, 1994, 6(4): 24-27
- [10] 李树珍,白红霞,白卫国. 黄芪不同提取工艺多糖含量的比较[J]. 中草药, 1995, 26(8): 408-410
- [11] 吴永平,曹园,曹正中. 黄芪活性成分最佳提取工艺探讨[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(10): 876-877
- [12] 韩鲁佳,阎巧娟,江正强,等. 黄芪多糖及皂甙提取工艺研究[J]. 农业工程学报, 2000, 16(5): 118-121
- [13] 董群,郑丽伊,方积年. 改良的苯酚-硫酸法测定多糖和寡糖含量的研究[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(9): 550-553
- [14] 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, 32(8): 93-96
- [15] 李树珍,赵红霞,白卫国. 黄芪不同提取工艺多糖含量的比较[J]. 中草药, 1995, 26(8): 408-410
- [16] 陈学伟,马书林. 酶法提取黄芪多糖的研究[J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(1): 56-58