

太行山黄芪中黄芪多糖的提取工艺

李淑梅 杨帆^a 汤波 韩明广

(河南科技学院化工学院 河南省新乡市华兰大道 453003)

^a(新乡医学院微生物学教研室 河南省新乡市 453003)

摘 要 采用碱性水提醇沉法进行黄芪多糖的提取, 用蒽酮-浓硫酸比色法测定多糖的含量。通过改变黄芪的粒度, 水浴比, 水浴温度, 提取次数, 乙醇浓度及 pH 值等条件的研究, 筛选出最佳提取工艺条件: 于 1:12 的水浴比在 70℃ 水浴提取 3 次, 乙醇浓度为 90%, pH=10 的条件下黄芪多糖的提取率最高, 为 19.2%。

关键词 黄芪多糖, 提取工艺, 分光光度法。

中图分类号: O657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2008)03-0335-03

1 前言

黄芪(*Radix Astragalus membranaceus*) 是豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根。黄芪属半干旱植物, 主要分布于我国西北、华北和东北等地区。黄芪的主要化学成分为单糖、多糖、皂甙、黄酮、多种氨基酸及微量元素^[1-3]。其中研究表明多糖具有促进免疫功能、提高巨噬细胞活性、抑制 EAS、双向调节血糖等作用, 不同产地的黄芪中多糖的含量不同^[4]。关于黄芪多糖的提取方法报道很多, 如水提醇沉法、微波提取法、CaO、Na₂CO₃ 水提醇沉法等, 但各种方法均有其优缺点, 而且得糖率不高^[5], 本研究通过对碱性水提醇沉法进行了改进, 优选出提高黄芪多糖提取率的最佳方法。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

722 型光栅分光光度仪(山东高密分析仪器厂); BDS-60 电热恒温水浴锅(北京市医疗设备厂); TD4-II 台式离心机(湖南仪器仪表总厂离心机厂); DS1 植物粉碎机(上海标本模型厂制造); 电子控温电热套; 真空干燥器; 电子天平; 真空抽滤机等。

黄芪(采自太行山, 经鉴定为膜荚黄芪)、苯酚、浓硫酸、无水乙醇、蒽酮、葡聚糖等试剂为国产分析纯。

2.2 实验方法

2.2.1 绘制校准曲线

准确吸取葡聚糖标准溶液 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 分别加入 6 只试管, 各管均加双蒸水

河南科技学院重点科研项目资助基金; 鸡传染性支气管炎病毒检酸疫苗的研究

联系人, 电话: (0373) 2282652; E-mail: lsm033@163.com

作者简介: 李淑梅(1975—), 女, 山西省河曲县人, 讲师, 硕士, 从事生物化学教学研究工作。

收稿日期: 2007-12-04; 接受日期: 2007-12-18



至 2.0 mL, 再加 1.0 mL 萘酮浓硫酸溶液, 然后加浓硫酸 5.0 mL, 混匀, 45 min 后在 722 型光栅分光光度计上于 620 nm 处测定吸光度, 绘制校准曲线并计算标准回归方程。回归方程为: $A = 0.0191C + 0.0038$, 相关系数 $r = 0.9994$ 。

2.2.2 黄芪多糖提取

称取一定量的黄芪粉碎或切段, 加水煎煮, 真空过滤后合并滤液, 调节溶液 pH 值, 浓缩, 加无水乙醇至不同浓度及不同的醇沉次数, 于 4℃ 环境下静止 24 h, 弃上清液, 真空干燥, 测定其含糖量。

2.2.3 黄芪多糖含量的测定

精密称取上所得黄芪多糖粗品 30 mg, 加双蒸水溶解并定容至 100 mL, 精密吸取 2.0 mL, 按校准曲线的步骤操作。用回归方程计算多糖含量。

3 结果与讨论

3.1 不同提取工艺的结果

在对黄芪多糖提取工艺研究中, 分别对黄芪多糖的粒度、水浴比、温度、乙醇浓度、pH 值等影响黄芪多糖提取量的因素进行了研究, 筛选出最佳提取条件, 结果见图 1、图 2、图 3、图 4。

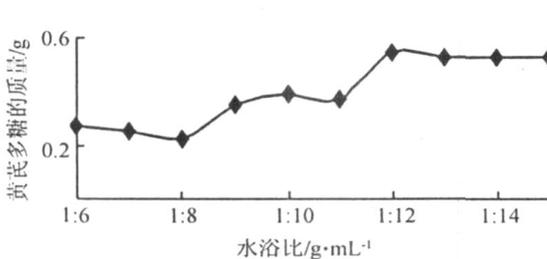


图 1 水浴比对黄芪多糖提取量的影响

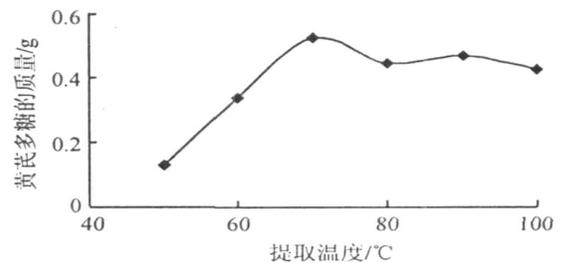


图 2 提取温度对黄芪多糖提取量的影响

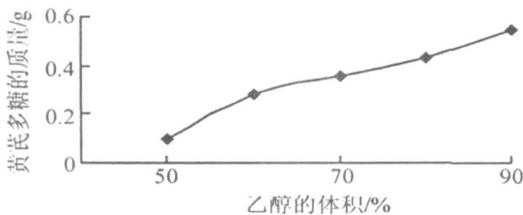


图 3 乙醇浓度对黄芪多糖提取量的影响

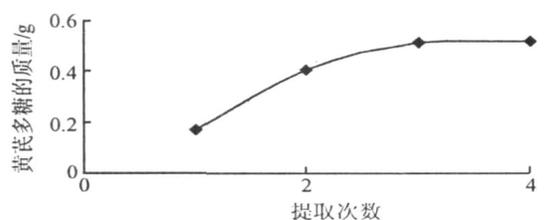


图 4 提取次数对黄芪多糖提取量的影响

在研究中, 对黄芪进行切段和粉碎分别进行了多糖的提取, 结果发现在切段的条件下黄芪多糖的提取率高于粉碎时的提取率, 这可能是由于在粉碎的过程中损失一部分多糖。

从图 1 可知, 在提取过程中, 随着水浴比的增加, 黄芪多糖的含量增加, 当浴比达到 1:12 时黄芪多糖的提取量最多, 当浴比继续加大时, 黄芪多糖提取率逐渐趋于下降。主要是由于水的量太少, 不利于多糖的析出, 水的量太大, 将稀释多糖, 影响提取率。

从图 2 可知, 在温度为 70℃ 时, 多糖的提取率最高且产品为淡白色; 当温度在 80—100℃ 之间时, 产品的颜色为深红色, 提取率有所下降。其原因可能是因为黄酮及其类似物也被提取出来并混合在多糖中, 黄酮及其类似物在多糖的干燥过程中不断变色至深红色。

图 3 表明, 随着乙醇用量的增加, 多糖的提取量逐渐增加。当达到 90% 时得率趋于定值。本研究选择了一次醇沉法, 尽管二次醇沉法比一次醇沉法所得黄芪多糖的纯度有所提高, 但其提取率反

而下降。因为乙醇易挥发,所以在沉淀过程中要使温度尽可能的低,并且应使沉淀过程处于封闭状态,反之沉淀出来的多糖又溶解到溶液中,从而降低了黄芪多糖提取率。

图4表明,提取三次的提取量达到较好的效果,四次提取率与三次提取相比变化不明显,而且三次提取也符合传统的中药煎煮方法。

在对提取过程中pH值的研究中发现,在pH=10的情况下,黄芪多糖的提取率达到了最大。在中性条件下纯度最高为75.4%,提取率为5.4%;pH=10的条件下黄芪多糖的纯度为40.2%,提取率为19.2%。在 Na_2CO_3 碱性水提取条件下(pH=10),得到的黄芪多糖的量远远高于传统的水提取方法,碱性水提取方法之所以有这么高的得率,其主要原因是黄芪多糖作为黄芪纤维质的组成部分,其提取率取决于黄芪纤维质的溶胀作用和溶解性,而纤维在碱性条件下的溶胀作用和溶解性均显著增加,而且在碱性条件下纤维之间的酯键容易断裂而发生剥皮反应,使更多的多糖得以游离,有利于提高多糖的产率。在碱性条件下是否对多糖的结构有影响还有待于进一步的研究。

3.2 不同多糖测定方法比较^[6]

在本研究中,选用了苯酚-浓硫酸法和蒽酮-浓硫酸两种方法测定了多糖的含量,操作过程中发现苯酚-浓硫酸法的显色稳定性不如蒽酮-浓硫酸比色法,并且显色必须加热,操作不便;另外加热过程可能使多糖物质在硫酸的作用下过度反应,从而出现较大的检测误差;而且蒽酮-浓硫酸比色法制作的校准曲线的线性关系比较好。因此,蒽酮-浓硫酸比色法为检测黄芪多糖的一种理想方法。

4 结论

本研究筛选出了最佳提取工艺,即在1:12水浴比、70℃温度、90%乙醇醇沉一次、pH=10的条件下提取三次,黄芪多糖的最高提取率为19.2%。本工艺有较大应用前景和发展潜力适合普遍的中小型企业的规模生产。

参考文献

- [1] 贺珍俊,那日苏. 黄芪多糖提取工艺研究综述[J]. 内蒙古石油化工, 2003, 23(1): 5—6
- [2] 孙文基,张登科,党治稳. 天然药物成分提取与制备[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 33
- [3] 李红民,黄仁泉. 提高黄芪多糖提取收率的工艺研究[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2000, 30(6): 509—510
- [4] 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
- [5] 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
- [6] 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]. 中国药理学杂志, 1996, 31(9): 550—553

Extracting Technology of Astragalan Polysaccharide (ASP) from Taihang Mountain

LI Shu-Mei YANG Fan^a TANG Bo HAN Ming-Guang

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003, P. R. China)

^a(Department of Microbiology, Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453003, P. R. China)

Abstract The astragalan polysaccharide (ASP) was extracted with alkaline water, and determined by colorimetry with anthrone-vitriol. The optimal experimental conditions were investigated as: The ratio of water is 1/12, temperature is 70℃, ethanol chroma is 90%, pH is 10, the extracting ration of ASP is 19.2%.

Key words Astragalan Polysaccharide, Extracting Technology, Spectrophotometry.