

内部沸腾法提取金银花多糖

Study on extraction of honeysuckle polysaccharide by internal boiling method

李建凤^{1,2} 李 陈¹ 廖立敏^{1,2}

LI Jian-feng^{1,2} LI Chen¹ LIAO Li-min^{1,2}

(1. 内江师范学院化学化工学院, 四川 内江 641100;

2. “果类废弃物资源化”四川省高等学校重点实验室, 四川 内江 641100)

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Neijiang Normal University, Neijiang, Sichuan 641100, China; 2. Key Laboratory of Fruit Waste Treatment and Resource Recycling of Sichuan Provincial College, Neijiang, Sichuan 641100, China)

摘要:采用内部沸腾法对金银花多糖进行了提取,重点探讨了乙醇体积分数、提取温度、提取时间和水料比对金银花多糖提取率的影响。结果表明,在乙醇体积分数为 20%、提取温度为 95℃、提取时间为 5 min、提取水料比为 30:1 (mL/g) 时,多糖的提取率可达到 12.89%。

关键词:金银花;多糖;内部沸腾法;提取

Abstract: The internal boiling method was adopted to extract polysaccharides from honeysuckle. The effects of ethanol concentration, extraction temperature and time, and water-solid ratio on the extraction rate of polysaccharides were discussed. The results showed that the extraction rate of polysaccharide reached 12.89%, when the ethanol concentration (v/v) was 20%, with water-solid ratio was 30:1 (mL/g), at 95℃ for 5 min.

Keywords: honeysuckle; polysaccharides; internal boiling method; extraction

金银花,别名忍冬(*Lonicera japonica*),因其初开花时为白色,之后转变成黄色,被命名为金银花。药用金银花是忍冬科忍冬属植物^[1],对于各类热性疾病都极为有效,是清热解毒的良药。金银花主要化学成分包括挥发油、多糖、黄酮、醇类、萜类等^[2]。药理研究证实,金银花多糖具有抗氧化活性^[3]、增强免疫^[4]及抑菌^[5]等功效。目前天然植物多糖的提取通常采用水回流提取法^[6]、超声波辅助法^[7-9]、酶法^[10-11]和内部沸腾法^[12]等方式。但水回流提取法耗时、耗能、提取率低^[6];超声波辅助法与水回流提取法相比,虽然提取时间有所减少、提取率有所提高,但提取过程中产生刺耳

的声音对试验操作者产生影响^[7];酶法与水回流提取法相比提取率有所提高,但酶的催化效率对提取温度、pH 值等环境因素敏感,试验过程中要严格控制条件,且某些酶制剂难以获取、成本较高^[10-11]。而内部沸腾法通常用乙醇溶剂浸湿原料,再快速倒入一定量特定温度的水或其他溶剂,使植物组织内部乙醇沸腾,强化传质而加强提取效果^[12],且具有耗时短、提取率高、杂质少、无需特殊仪器设备、对环境影响小等优点,目前也未见将其应用于金银花多糖提取的相关报道。因此,本试验拟采用内部沸腾法对金银花多糖进行提取,以期得到优良的提取工艺,为金银花多糖的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金银花:湖南省博世康中药股份有限公司;
浓硫酸、乙醇、葡萄糖、苯酚:分析纯。

1.2 仪器与设备

低速大容量离心机:TDL-5-A 型,上海安亭科学仪器厂;
紫外可见分光光度计:T6 新世纪型,北京普析通用仪器有限责任公司;

电子天平:JA2003A 型,上海精天电子仪器有限公司;

集热式恒温磁力搅拌器:DF-101S 型,上海耀特仪器设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 多糖的提取 称取 1 g 金银花粉末,用 5 mL 一定体积分数的乙醇溶液均匀润湿 30 min,使乙醇溶液充分渗透物料;迅速加入一定量的某温度的热水,提取一定时间后,4 000 r/min 离心 10 min 得上清液。

1.3.2 粗多糖的测定 采用苯酚—硫酸法。根据文献^[13]配制葡萄糖标准溶液、5% 苯酚溶液并制作标准曲线。得到

基金项目:四川省教育厅青年基金(编号:14ZB0259)

作者简介:李建凤,女,内江师范学院实验师,硕士。

通信作者:廖立敏(1981—),男,内江师范学院副教授。

E-mail:liaolimin523@126.com

收稿日期:2016-05-31

标准曲线方程为： $y = 8.801\ 1x + 0.233\ 2$ ， $r^2 = 0.999\ 1$ ，见图 1。将提取液定容到一定体积，再取 1.00 mL 同法显色并测定其吸光值，以回归方程换算出多糖含量并计算提取率。

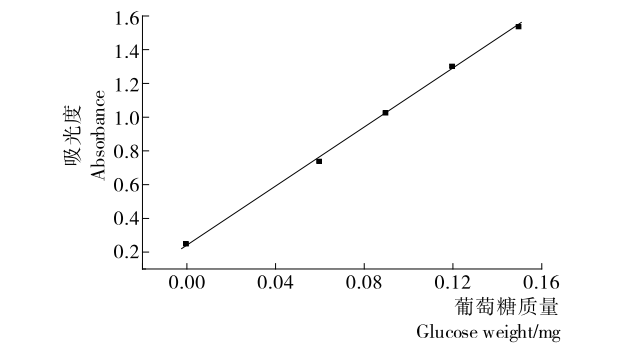


图 1 葡萄糖标准曲线

Figure 1 The standard curve of glucose

1.3.3 试验设计 在其它条件固定的情况下，分别考察乙醇体积分数、提取温度、提取时间及水料比对金银花多糖提取率的影响。

(1) 乙醇体积分数:固定提取温度为 90 ℃，提取时间为 4 min，水料比为 30：1(mL/g)，考察乙醇体积分数(10%，20%，30%，40%)对金银花多糖提取率的影响。

(2) 提取温度:固定乙醇体积分数为 25%，提取时间为 4 min，水料比为 30：1(mL/g)，考察提取温度(70，80，90，100 ℃)对金银花多糖提取率的影响。

(3) 提取时间:固定乙醇体积分数为 25%，提取温度为 90 ℃，水料比为 30：1(mL/g)，考察提取时间(2,3,4,5 min)对金银花多糖提取率的影响。

(4) 水料比:固定乙醇体积分数为 25%，提取温度为 90 ℃，提取时间为 4 min，考察水料比[10：1,20：1,30：1,40：1(mL/g)]对金银花多糖提取率的影响。

在单因素试验初步确定的最佳结果附近进一步细化选点,采用正交试验进一步优化提取工艺。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 乙醇体积分数的影响 由图 2 可知，随着乙醇体积分数的升高，提取率先升高后降低，体积分数为 20%时，提取效果最佳。乙醇体积分数低，内部不能形成有效的沸腾，不利于多糖提取；由于多糖易溶于水、难溶于乙醇，因此乙醇的体积分数过高，也不利于多糖的溶出。故初步确定最佳乙醇体积分数为 20%左右。

2.1.2 提取温度的影响 由图 3 可知，随着提取温度的升高，提取率一直呈上升趋势。在水温低于 90 ℃时，提取率比较低且随温度的升高而快速上升，之后其随着温度的升高而上升缓慢，当水温达到 100 ℃时提取率达到最高。温度高于乙醇溶液共沸点，渗入原料之中的乙醇会立即沸腾，其提取主要是对流扩散发生作用。温度过低，不会沸腾或沸腾不剧烈，在短时间内无法提取完全。但高温可能会对多糖类物质产生破坏作用，另外温度过高不利于操作且浪费能源。因此初步确定最佳提取温度处于 90 ℃附近。

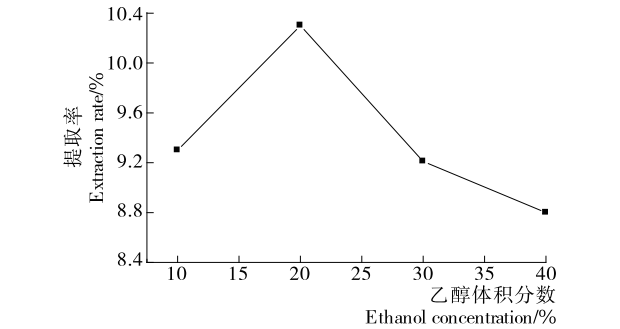


图 2 乙醇体积分数对提取率的影响

Figure 2 The effect of ethanol concentration on the extraction rate

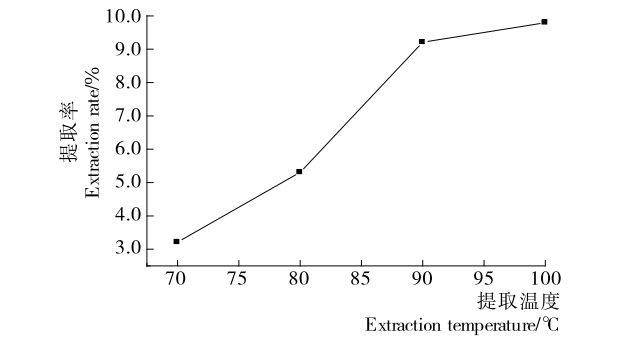


图 3 提取温度对提取率的影响

Figure 3 The effect of temperature on the extraction rate

2.1.3 提取时间的影响 由图 4 可知，提取率随着提取时间的增加而升高。多糖由植物细胞内扩散到细胞外需要一定的时间，时间过短多糖扩散未达到平衡，提取不完全，提取率低。当达到 5 min 时，多糖扩散接近平衡，提取率趋于稳定，因而最佳提取时间在 5 min 左右。

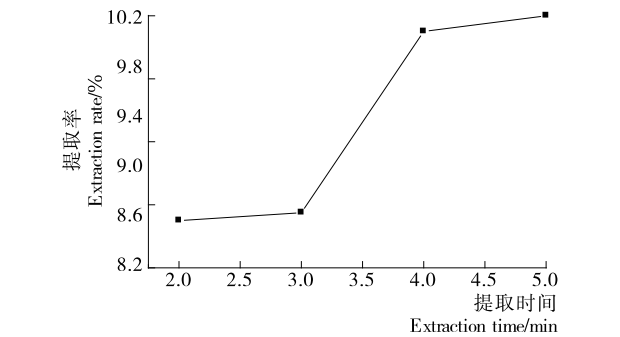


图 4 提取时间对提取率的影响

Figure 4 The effect of time on the extraction rate

2.1.4 水料比的影响 由图 5 可知，提取率随着用水量与原料比(水料比)的增大而升高。多糖由植物细胞内扩散到细胞外，当多糖在细胞内外的浓度相等时达到平衡。水料比越大，达到平衡时多糖在细胞内外的浓度越小，残留在细胞内部的多糖越少，因而提取率越大。水料比为 30：1(mL/g)时，提取率接近最大值；继续增大水料比，提取率变化较小，过大的水料比反而会浪费资源和增加后续处理的麻烦。因此最佳水料比为 30：1(mL/g)左右。

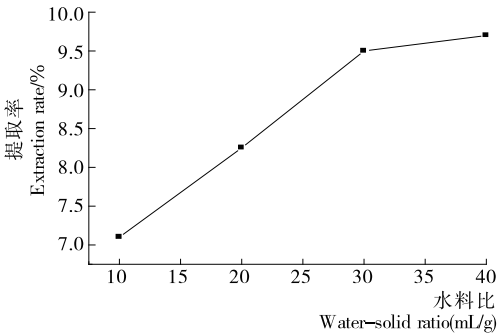


图 5 水料比对提取率的影响

Figure 5 The effect of water-soild ratio on the extraction rate

2.2 正交试验

以乙醇体积分数、提取温度、提取时间和水料比为考察因素,因素水平见表 1,正交试验及结果(每个试验号重复 4 次取平均值)见表 2。

由表 2 中的极差分析结果可知,在各影响因素的取值范围内各因素对金银花多糖提取率的影响大小依次为B>C>

表 1 试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of experiments

水平	A 乙醇体积分数/%	B 提取温度/℃	C 提取时间/min	D 水料比 (mL/g)
1	15	85	4.0	20
2	20	90	4.5	25
3	25	95	5.0	30
4	30	100	5.5	35

表 2 正交试验及极差分析结果

Table 2 Results of orthogonal experiments and range analysis

序号	A	B	C	D	提取率/%
1	2	1	1	1	8.16
2	4	1	2	2	6.23
3	1	1	3	3	9.88
4	3	1	4	4	7.35
5	1	2	1	2	7.62
6	3	2	2	1	8.68
7	2	2	3	4	8.64
8	4	2	4	3	9.18
9	3	3	1	3	8.32
10	1	3	2	4	9.28
11	4	3	3	1	10.05
12	2	3	4	2	12.54
13	4	4	1	4	9.16
14	2	4	2	3	10.16
15	3	4	3	2	10.33
16	1	4	4	1	9.54
k ₁	9.08	7.91	8.32	9.11	
k ₂	9.88	8.53	8.59	9.18	
k ₃	8.67	10.05	9.73	9.39	
k ₄	8.66	9.80	9.65	8.61	
R	1.22	2.14	1.41	0.78	

A>D。利用 SPSS 13.0 软件对表 2 中数据进行处理,以空白列为误差项得方差分析结果,见表 3。由表 3 可知,考察的各因素的 P 值均大于 0.05,说明在取值范围内差异不显著。而 F 值结果表明,方差分析结果与直观的极差分析结果一致。B 的 F 检验值最大(1.666),因而与其它因素相比对金银花多糖提取率影响相对较大,其次为 C、A;D 的 F 检验值最小(0.174),因而其在取值范围内对金银花多糖提取率影响相对最小。B 对应于提取温度,因而提取过程应该严格控制温度,保证植物组织内部的乙醇能够充分沸腾,加速多糖扩散溶出以提高提取率。

表 3 方差分析结果

Table 3 The Results of analysis of variance

变异来源	平方和	自由度	均方和	F 值	P 值
A	3.921	3	1.307	0.521	0.687
B	12.534	3	4.178	1.666	0.343
C	6.285	3	2.095	0.835	0.557
D	1.307	3	0.436	0.174	0.908
误差	7.525	3	2.508		
总和	31.572	15			

由表 2 得出最优提取条件为 A₂B₃C₃D₃,即乙醇体积分数为 20%,提取温度为 95 ℃,提取时间为 5 min,水料比为 30:1(mL/g)时金银花多糖的提取率最高、效果最佳。在最优试验条件下进行 3 次重复实验,得到的多糖提取率分别为 13.04%,12.70%,12.93%,平均值为 12.89%。最优提取工艺条件下,金银花多糖提取率高、试验重现性好,说明正交试验得出的最佳提取工艺是合理的。

3 结论

本试验通过单因素试验及正交试验得到了内部沸腾法提取金银花多糖的最佳工艺,即乙醇体积分数为 20%、提取温度为 95 ℃、水料比为 30:1(mL/g)、提取时间为 5 min 时,多糖的提取率可达到 12.89%,金银花多糖提取率高、试验重现性好。

内部沸腾法操作简便、无须特殊装置与试剂,易于实现规模化提取,本试验所得金银花多糖提取工艺对于开发利用金银花等植物多糖具有一定的参考价值。但提取所得金银花多糖含有较多杂质,今后需要进一步研究金银花多糖的组成、结构及生理功能,提高多糖的纯化工艺以期金银花多糖产品的研究和开发提供更多科学依据。

参考文献

[1] 毛淑敏, 许家珍, 周帅飞, 等. 苯酚-硫酸法联合 DNS 法测定金银花不同花期多糖的含量[J]. 中南药学, 2015, 13(1): 65-67.
[2] 王燕, 王智民, 林丽美. 金银花及其同属植物化学成分研究进展[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(8): 969-972.
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 344.
[4] 张永清, 王丽萍, 刘志敏. 金银花名称本草考证[J]. 山东中医药大学学报, 1998, 22(6): 456.
[5] 刘雄, 高建德. 金银花质量控制、化学成分及药理学研究进展[J]. 甘肃中医学院学报, 2006, 23(4): 46-48.

(下转第 228 页)

[26] 陈锋亮, 魏益民, 钟耕. 大豆油高温煎炸质变过程的研究[J]. 中国油脂, 2006, 31(8): 19-22.

[27] 李阳, 钟海燕, 李晓燕, 等. 煎炸用油品质变化及测定方法研究进展[J].食品与机械, 2008, 24(6): 148-151.

[28] 申云刚. 市场上油炸用油快速检测技术的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013: 18-21.

[29] 洗瑞仪, 黄富荣, 黎远鹏, 等. 可见和近红外透射光谱结合区间偏最小二乘法(iPLS)用于橄榄油中掺杂煎炸老油的定量分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(8): 2 462-2 467.

[30] 翁欣欣, 陆峰, 王传现, 等. 近红外光谱-BP神经网络-PLS法用于橄榄油掺杂分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(12): 3 283-3 287.

[31] 王传现, 褚庆华, 倪昕路, 等. 近红外光谱法用于橄榄油的快速无损鉴别[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 402-404.

[32] 庄小丽, 相玉红, 强洪, 等. 近红外光谱和化学计量学方法用于橄榄油品质分析与掺杂量检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(4): 933-936.

[33] 张海亮, 吴亚君, 鞠兴荣, 等. 1 种检测橄榄油掺假的新方法——PCR-CE-SSCP 法[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4):

305-308.

[34] 张菊华, 朱向荣, 尚雪波, 等. 近红外光谱结合偏最小二乘法用于油茶籽油中掺杂菜籽油和大豆油的定量分析[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 334-336.

[35] 温珍才, 孙通, 许朋, 等. 可见/近红外联合变量优选检测油茶籽油掺假[J]. 江苏大学学报, 2015, 36(6): 673-678.

[36] 许朋. 基于近红外光谱技术的山茶油掺假检测研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2015: 1-2.

[37] 孙通, 吴宜青, 李晓珍, 等. 基于近红外光谱和子窗口重排分析的山茶油掺假检测[J]. 光学学报, 2015, 35(6): 0630005-1-0630005-8.

[38] 涂斌, 宋志强, 郑晓, 等. 基于激光近红外的稻米油掺伪定性-定量分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(6): 1 539-1 545.

[39] 吴静珠, 刘翠玲, 李慧, 等. 基于近红外光谱的纯花生油掺伪快速鉴别方法研究[J]. 北京工商大学学报, 2011, 29(1): 75-78.

[40] 刘福莉, 陈华才, 姜礼义, 等. 近红外透射光谱聚类分析快速鉴别食用油各类[J]. 中国计量学院学报, 2008, 19(3): 278-282.

[41] 梁丹. 基于近红外光谱技术的食用油品质快速检测方法研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009: 47.

(上接第 97 页)

[4] CLAUDIO B, FABIO I, EMILIO L, et al. Review of design solutions for internal permanent-magnet machines cogging torque reduction[J]. IEEE Transactions on magnetics, 2012, 48(10): 2 685-2 693.

[5] WOO D K, KIM I W, LIM D K, et al. Cogging torque optimization of axial flux permanent magnet motor [J]. IEEE Transactions on Magnetics, 2013, 49(5): 2 189-2 192.

[6] 毛文贵, 傅彩明, 谭加才. 基于虚拟样机技术的立式电机结构设计分析[J]. 食品与机械, 2006, 22(4): 67-69.

[7] TAGUCHI G, CHOWDHURY S, WU Yin. Taguchi's quality engineering handbook[M]. New Jersey: John Wiley Publication,

2004: 125-169.

[8] 杨隽, 臧朝平, 刘永泉, 等. 基于 Taguchi 方法的转子系统动力学容差设计[J]. 航空动力学报, 2014, 29(7): 1 583-1 590.

[9] 王卫洪. 基于田口方法的冲压工艺参数稳健性设计[J]. 模具制造, 2015(12): 10-16.

[10] 张代胜, 张旭, 王浩, 等. 基于 Taguchi 方法的动力总成悬置系统稳健优化 [J]. 汽车工程, 2014, 36(4): 475-480.

[11] 伍建军, 万良琪, 吴事浪, 等. 基于田口方法的柔性铰链柔度稳健优化设计[J]. 工程设计学报, 2015, 22(3): 224-229.

[12] 冯兆冰, 吴孔圣, 丁云飞, 等. 几种简单的齿槽转矩测量方法[J]. 制造技术与机床, 2012(5): 102-103.

[13] 王秀和. 永磁电机[M]. 北京: 中国电力出版社, 2007: 80-81.

(上接第 157 页)

[17] 中国国家技术监督局. GB/T 17376—2008 动植物油脂脂肪酸甲酯制备[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.

[18] 中国国家技术监督局. GB/T 17377—2008 动植物油脂脂肪酸甲酯的气相色谱分析[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.

[19] 赖锡湖, 黄卓, 李坚, 等. 超临界 CO₂萃取茶叶籽油及其成分分析[J]. 食品与机械, 2011, 27(2): 38-40.

[20] 汤鹏, 段海霞, 夏金梅, 等.响应面法优化超临界 CO₂萃取鲍鱼内脏油脂及其脂肪酸种类测定[J]. 食品科学, 2015, 36(12): 153-159.

[21] 贺绍琴, 张君萍, 阿布力米提·伊力, 等. 莴苣籽油的超临界 CO₂

萃取工艺及其脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂, 2015, 40(1): 1-5.

[22] 王亚琦, 陈奕洪, 黄卫文, 等. 超临界 CO₂萃取崖柏精油的研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(3): 175-178.

[23] 刘光敏, 徐响, 高彦祥. 超临界 CO₂萃取草莓籽油工艺研究及其对脂肪酸组成的影响[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(3): 84-88.

[24] DA PORTO C, DECORTI D, TUBARO F. Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (Cannabis sativa L.) seed oil extracted by supercritical carbon dioxide [J]. Industrial Crops and Products, 2012, 36(1): 401-404.

[25] 程丹, 傅玉颖, 梅子, 等. 响应曲面法优化酵母微胶囊化核桃油工艺[J]. 中国食品学报, 2013, 13(11): 28-34.

(上接第 168 页)

[6] 何俊婷. 金银花多糖提取工艺优化[J]. 应用化工, 2014, 43(4): 692-695.

[7] 赵鹏, 李稳宏, 朱骤海, 等. 响应面法优化金银花多糖超声提取工艺研究[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 151-154.

[8] 廖立敏, 邹宁, 黄茜, 等. 响应面优化超声波提取血橙皮多糖工艺[J]. 食品工业科技, 2016, 37(11): 212-216, 221.

[9] 薛菁, 吴晓彤, 王颖超, 等. 超声波辅助提取口蘑菌丝体多糖工

艺优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(1): 172-174.

[10] 周小楠, 董群. 正交试验优化酶法提取金银花多糖工艺[J]. 食品科学, 2012, 33(22): 119-122.

[11] 赵玉红, 林洋, 张立钢, 等. 黑木耳多糖高剪切分散乳化法与酶法提取的比较研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(4): 181-186.

[12] 陈晓光, 韦藤幼, 彭梦微, 等. 内部沸腾法提取香菇多糖的工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(10): 31-34.

[13] 赵启铎, 舒乐新, 马琳, 等. 硫酸-苯酚法测定槐甘菌质多糖的含量[J]. 宜春学院学报, 2011, 33(8): 74-76.