

# 玉竹多糖超声提取工艺优化及其保湿性研究

彭永健, 张安强, 马新, 孙培龙\*

(浙江工业大学生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310014)

**摘要:** 以玉竹为原料, 利用响应面分析法考察液料比、超声功率和提取时间对玉竹多糖提取率的影响, 确定超声波提取玉竹多糖的最佳工艺条件, 并测定其保湿性。结果表明: 超声波提取玉竹多糖的最佳提取工艺条件为液料比 50:1、超声功率 426W、提取时间 35min, 最优条件下玉竹多糖提取率 29.09%; 玉竹多糖具有很好的保湿性, 其保湿最佳质量分数为 5%。

**关键词:** 玉竹多糖; 超声波提取; 响应面; 保湿性

## Optimization of Ultrasonic Extraction Process for Polysaccharides from *Rhizoma Polygonati odorati* and Determination of Moisture Retention Capacity

PENG Yong-jian, ZHANG An-qiang, MA Xin, SUN Pei-long\*

(College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

**Abstract:** Response surface methodology was employed to optimize three process conditions (material-to-solvent ratio, ultrasonic power and extraction time) that influence the ultrasonic extraction of polysaccharides from *Rhizoma Polygonati odorati*. The optimal extraction conditions were determined as material-to-liquid ratio of 1:50, ultrasonic power of 426 W, and extraction time of 35 min. Under the optimal extraction process, the extraction rate of polysaccharides from *Rhizoma Polygonati odorati* reached 29.09%. Meanwhile, the obtained extract revealed excellent moisture retention capacity and its optimal concentration for moisture retention was 5%.

**Key words:** polysaccharides from *Rhizoma Polygonati odorati*; ultrasonic extraction; response surface methodology; moisture retention capacity

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)14-0096-04

玉竹是百合科黄精属植物玉竹(*Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce)的根状茎, 为多年生草本药食同源植物, 具有滋阴防燥、除烦祛暑等功效, 多糖为其主要活性成分之一。研究表明多糖具有增加免疫能力、延缓衰老以及抗氧化等功能<sup>[1-2]</sup>。因此, 对于玉竹多糖提取工艺的研究具有重要的意义。

目前国内外对于玉竹多糖的提取多采用热水浸提法, 但该方法提取温度高, 得率低, 操作费时。超声波、微波等新的提取技术操作简单、提取效率高, 可大大缩短提取时间, 增大提取率。此外, 由于多糖分子中含有大量的极性基团, 可与水分子形成氢键, 并相互交联形成网状结构, 因而具有良好的保湿性能, 有些多糖已应用于保健品、食品、化妆品等行业<sup>[3]</sup>。本实验利用响应面法对超声波提取玉竹多糖工艺进行优化, 并对其保湿性进行初步研究, 旨在为玉竹多糖的

工业化提取及其多层次开发利用提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

玉竹购于杭州市华东大药房, 经浙江工业大学张安强老师鉴定为百合科黄精属玉竹(*Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce)的根状茎; 苯酚 杭州双林化工试剂公司; 丙二醇 金陵试剂公司; 浓硫酸 衢州巨化试剂公司; 蒸馏水、95% 乙醇等均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

FS-1200 型超声波细胞破碎器 上海生析仪器公司; V-1800PC 型可见分光光度计 上海美谱达仪器公司; SHB-III-A 型循环水真空泵 杭州大卫科教仪器公司; QT-2 旋涡振荡混合器 上海琪特仪器公司; DJ-04 型中药粉碎机 上海淀久仪器公司; CR21G II 型高速冷冻离

收稿日期: 2011-06-01

基金项目: 浙江省重大科技专项和优先主题项目(2009C13029)

作者简介: 彭永健(1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向为生物活性物质的分离提取。E-mail: yjpm0705@163.com

\*通信作者: 孙培龙(1964—), 男, 教授, 博士, 研究方向为生物活性物质的分离提取。E-mail: sun\_pl@zjut.edu.cn

心机 日本日立仪器公司; ALPHA2-4LD plus 型真空冷冻干燥机 德国 Christ 公司; HWS-150 型恒温恒湿培养箱 上海森信试验仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 玉竹多糖的提取

经粉碎后的干燥玉竹样品, 用 85% 乙醇溶液 90℃ 条件下浸提 2h, 除去单糖、寡糖及脂肪。称取一定量的经过预处理的干燥样品置于烧杯中, 按照一定的料液比、功率和时间放入超声波细胞破碎器中提取一定时间。提取液经高速离心、过滤、真空浓缩后, 用 85% 乙醇沉淀, 沉淀物经冷冻干燥后称量。冻干物配制成本溶液测定其多糖含量。

#### 1.3.2 多糖含量测定

分别采用苯酚-硫酸法和 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定提取物中总糖和还原糖含量, 以葡萄糖作为标准品, 以校正系数 0.9 校正糖的量<sup>[4]</sup>。得总糖含量对波长 490nm 处的吸光度线性回归方程为  $y = 0.0077x - 0.0064$ ,  $R^2 = 0.9988$ 。还原糖含量对 520nm 处吸光度线性回归方程为  $y = 0.0012x + 0.0158$ ,  $R^2 = 0.9969$ 。

取玉竹粗多糖样品加水溶解, 定容至 500mL, 取 1mL 稀释定容至 50mL, 分别按照标准曲线的制备方法测定粗多糖的总糖和还原糖含量。

#### 1.3.3 多糖含量及提取率计算

多糖含量/(g/g) = 总糖含量 - 还原糖含量

$$\text{多糖提取率}/\% = \frac{\text{多糖干品质量}}{\text{原料干品质量}} \times 100$$

#### 1.3.4 玉竹多糖保湿率测定<sup>[5-8]</sup>

称取经过干燥后的玉竹多糖样品, 分别配制成质量分数为 1%~6% 的溶液, 利用纯水及工业传统保润剂丙二醇 5% 的水溶液作对照, 将溶液分别放置于称量皿中, 不加盖放于温度 22℃、相对湿度 40% 的恒温恒湿箱中, 平行实验 3 组, 每隔一段时间将样品取出称量。计算其保湿率:

$$\text{保湿率}/\% = \frac{m}{m_0} \times 100$$

式中:  $m_0$  为放置前水分质量;  $m$  为放置后水分质量。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素分析

通过试验确定影响玉竹多糖提取率的主要因素为料液比、功率和时间<sup>[9-10]</sup>。

#### 2.1.1 液料比对提取率的影响

精确称取 5g 经过预处理的玉竹样品, 分别以不同的液料比加入一定的蒸馏水, 在功率为 360W、提取时间 25min 的条件下超声提取, 提取液经离心、过滤、浓缩、醇沉、溶解等步骤后测定提取率, 结果见图 1。由图 1 可知, 随着液料比的增大玉竹多糖的提取率不断增加, 当液料比为 40:1 时达到最大, 之后随着液料比的继续增大提取率略微下降, 这是因为液料比太大时单位体积受到的超声作用变小, 从而影响提取率。

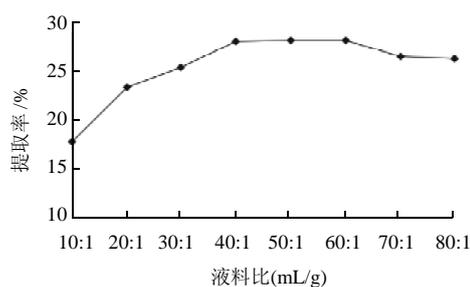


图 1 液料比对玉竹多糖提取率的影响

Fig.1 Effect of material-to-liquid ratio on extraction rate of polysaccharides

#### 2.1.2 功率对提取率的影响

精确称取 5g 经过预处理的玉竹样品, 加入 100mL 蒸馏水, 分别在不同的功率条件下超声提取 25min, 结果见图 2。由图 2 可知, 随着功率的增加玉竹多糖提取率有增大的趋势, 当功率为 480W 时提取率达到最大, 功率再增大时提取率有下降的趋势, 这可能是因为功率过大时多糖的结构受到破坏从而影响到提取率。

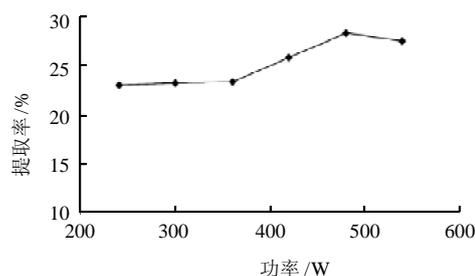


图 2 功率对玉竹多糖提取率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic power on extraction rate of polysaccharides

#### 2.1.3 时间对提取率的影响

精确称取 5g 经过预处理的玉竹样品, 加入 100mL 蒸馏水, 超声功率 360W 的条件下分别提取一定的时间, 结果见图 3。由图 3 可知, 前 30min 随着提取时间的增加提取率显著增大, 之后趋于平稳。

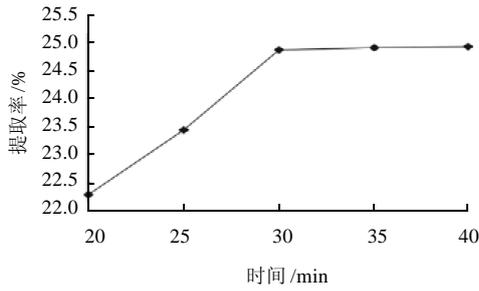


图3 时间对玉竹多糖提取率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on on extraction rate of polysaccharides

2.2 玉竹多糖超声提取工艺优化响应面设计及其结果  
 利用响应面中的 Box-Behnken 模型进行响应面设计, 利用统计软件 Design-Expert 程序进行试验设计与数据分析, 根据中心组合试验设计原理, 共有 17 个试验点, 12 个分析因子, 5 个零点<sup>[9-16]</sup>。响应面设计因素及水平如表 1 所示, 响应面分析试验设计及结果见表 2, 回归模型方差分析见表 3。

表 1 玉竹多糖超声提取工艺优化响应面设计因素及水平

Table 1 Coded levels for optimization parameters used in response surface analysis

因素	水平		
	-1	0	1
A 液料比(mL/g)	30:1	40:1	50:1
B 功率/W	420	480	540
C 时间/min	25	30	35

表 2 玉竹多糖超声提取工艺优化响应面设计及其结果

Table 2 Box-Behnken design and experimental results for response surface analysis

试验号	A	B	C	Y 多糖提取率/%
1	0	-1	-1	25.49
2	-1	0	1	26.95
3	0	0	0	25.84
4	1	0	1	25.41
5	-1	0	-1	26.16
6	-1	-1	0	25.86
7	1	0	-1	25.66
8	0	1	-1	26.34
9	0	1	1	25.54
10	1	1	0	27.22
11	-1	1	0	26.33
12	0	0	0	26.99
13	0	0	0	26.8
14	0	0	0	24.79
15	0	0	0	26.22
16	1	-1	0	29.44
17	0	-1	1	26.57

对数据进行回归拟合, 得玉竹多糖提取率 Y 对各因素回归方程为:

$$Y = 38.37 - 0.89A + 0.10B - 1.43C + 0.00651A^2 - 0.0000408B^2 + 0.01C^2 - 0.000725AB + 0.03AC - 0.000708BC$$

表 3 回归方程各项的方差分析表

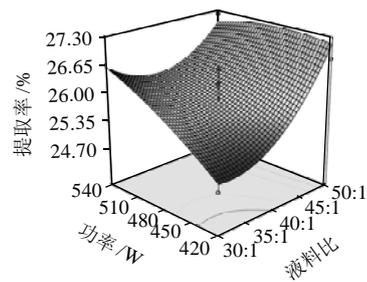
Table 3 Variance analysis for each term in the fitted regression equation

变异来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性
模型	15.34	9	1.7	6.94	0.0091	**
A	3.33	1	3.33	13.54	0.0079	**
B	1.18	1	1.18	4.79	0.0647	
C	0.8	1	0.8	3.26	0.1141	
AB	0.76	1	0.76	3.08	0.1227	
AC	6.71	1	6.71	27.3	0.0012	**
BC	0.18	1	0.18	0.74	0.4196	
A <sup>2</sup>	1.78	1	1.78	7.26	0.0309	*
B <sup>2</sup>	0.091	1	0.091	0.37	0.5627	
C <sup>2</sup>	0.47	1	0.47	1.9	0.2102	
残差	1.72	7	0.25			
失拟项	0.88	3	0.29	1.38	0.369	
纯误差	0.84	4	0.21			
总变异	17.06	16				

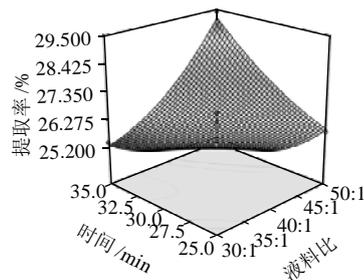
注: \*\*.差异极显著, P < 0.01; \*.差异显著, P < 0.05。

由表 3 中模型的 P 值可知, 方程一次项中 B、C 为不显著因素, A 为极显著因素; 方程二次项中 A<sup>2</sup> 显著, 其余不显著; AC 交互作用极显著, 其余交互作用不显著, 表明玉竹多糖对各影响因素不是简单的线性关系。因变量与自变量多元回归关系显著表明回归方程模型显著; 失拟项较小, 表明方程的拟合情况较好, 所以可以用该模型对试验结果及最优条件进行分析和预测。

利用 Design-Expert 软件得到的响应面曲线可以用来研究各个自变量的交互作用并确定各个变量对于最大响应值的最优水平。将回归模型中的任一因素固定在零水平, 就可以得到另外两个因素的交互影响结果, 回归方程的响应面图如图 4 所示。



a. 液料比和功率



b. 液料比和提取时间

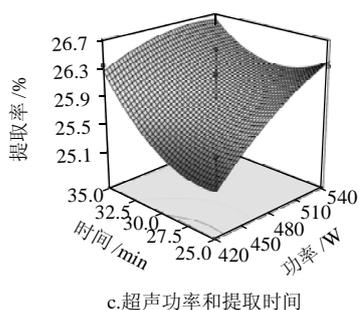


图4 各两因素交互作用对玉竹多糖提取率影响的响应面图

Fig.4 Response surface plots showing the pairwise interaction effects of three independent variables on on extraction rate of polysaccharides

图4a表明当提取时间25min时液料比和超声功率以及二者对于提取率的交互作用。当液料比从30:1~50:1的过程中,玉竹多糖的提取率显著增加,当提取时间从25min增加到35min的过程,玉竹多糖的提取率也是在不断增加。图4b表明当超声功率为480W时,随着提取时间和液料比的增加,玉竹多糖的提取率都是减小的。图4c表明玉竹多糖的提取率随着提取时间的增加和功率的增大都是增大的。通过软件对于数学模型的计算,得到回归方程的最大值点,即最优提取条件为液料比50:1、超声功率426W、提取时间35min,最优条件下玉竹多糖提取率的理论值为29.29%。

为检验该方法的可靠性,采用上述最优提取条件进行验证实验,做3组平行实验,得平均提取率为29.09%。实际值与理论预测值符合良好,说明该模型能较准确的模拟和预测玉竹多糖的提取。

### 2.3 保湿率测定

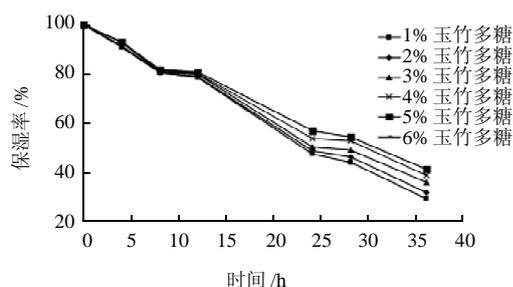


图5 不同浓度多糖的保湿率

Fig.5 Moisture retention capacity of polysaccharides from *Rhizoma Polygonati odorati* at various concentrations

不同质量分数玉竹多糖溶液的保湿率以及与去离子水、丙二醇对比测试结果见图5、6。由图5可知:随着质量分数的增加,玉竹多糖的保湿率在不断增加,但当溶液质量分数达到5%时,再增大多糖质量分数,保湿率几乎不变,说明玉竹多糖最佳保湿质量分数5%。由图6可知:相对于空白对照,5%玉竹多糖能够明显的减缓水分的散失速率,这可能是因为玉竹多糖中含有大量的羟基,能够和水分子形成更强的氢键,从而具有一定的持水性,起到保湿效果;与丙二醇相比,前

12h玉竹多糖保湿率与丙二醇相当,之后多糖保湿率略高于丙二醇,说明相对于工业传统保润剂丙二醇,玉竹多糖作为天然植物提取物,保润效果更加明显,应用空间更加宽广。

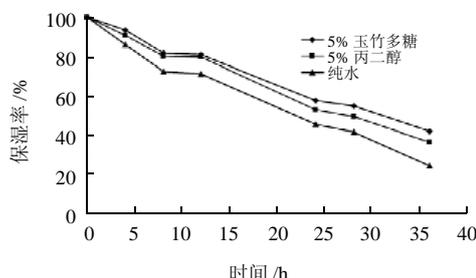


图6 保湿率随时间的变化曲线

Fig.6 Time-course curve of moisture retention capacity

### 3 结论

利用响应面方法对超声波提取玉竹多糖的工艺进行优化,通过Design Expert软件程序对实验数据进行分析,确定优化后的最佳提取条件为液料比50:1、超声功率426W、提取时间35min,该条件下玉竹多糖提取率达29.09%,与传统提取方法相比,该方法提取时间短,提取率高。保湿性研究表明,玉竹多糖具有较好的保湿性,能够很好地减缓水分的散失速率,其保湿的最适质量分数为5%,本实验结果为玉竹多糖在食品、化妆品等行业的应用提供了理论依据。

### 参考文献:

- [1] 谢建军,胡蔓菁,孙桂菊,等.玉竹多糖提取工艺的优化[J].江苏中医药,2009,41(10):59-60.
- [2] 林厚文,韩公羽,廖时萱.中药玉竹有效成分研究[J].药学学报,1994,29(3):215-222.
- [3] 刘洋,刘珊,赵明月,等.仙人掌多糖的提取方法及其在卷烟中的应用:中国,101704900[P].2010-05-12.
- [4] 张维杰.糖复合物生化研究技术[M].杭州:浙江大学出版社,1994.
- [5] 任清,王玢,李奇,等.平菇多糖的提取及其抗氧化保湿功效研究[J].香精香料化妆品,2008,4(3):23-26.
- [6] 严恒,郭国宁,程艳,等.魔芋葡甘聚糖及其衍生物保湿性能研究[J].食品科学,2011,32(3):46-50.
- [7] 许雷,李湛,周火兰,等.酶解褐藻胶寡糖的吸湿及保湿性能研究[J].日用化学工业,2011,41(1):42-45.
- [8] 孙丽萍,张红城,张智武,等.蜂王浆萃取物保湿性能评价[J].食品科学,2009,30(3):33-35.
- [9] 李盈盈,陈建华,孙吉佑,等.响应面分析法优选黄花菜多糖提取工艺[J].中国酿造,2010(7):72-75.
- [10] ZHU T, HEO H J, ROW K H. Optimization of crude polysaccharides extraction from *Hizikia fusiformis* using response surface methodology [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(19): 106-110.
- [11] 张琳,樊金玲,朱文学,等.响应面法优化超声波辅助提取甘草多糖工艺[J].食品科学,2010,31(16):67-71.
- [12] 贺寅,王强,钟葵.响应面优化酶法提取龙眼多糖工艺[J].食品科学,2011,32(2):79-83.
- [13] 徐建国,田呈瑞,胡青平,等.响应面法优化槐花水溶性多糖的超声波辅助提取工艺[J].食品科学,2011,32(4):112-116.
- [14] ZHU Mengyong, WANG Caijiao, WANG Xi, et al. Extraction of polysaccharides from *Morinda officinalis* by response surface methodology and effect of the polysaccharides on bone-related genes[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(1): 23-28.
- [15] YE Chunlin, JIANG Chengjun. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from *Plantago asiatica* L by response surface methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84(1): 495-502.
- [16] YAN Yunliang, YU Chenhuan, CHEN Jing, et al. Ultrasonic-assisted extraction optimized by response surface methodology, chemical composition and antioxidant activity of polysaccharides from *Tremella mesenterica*[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(1): 217-224.