

正交设计法优化野菊花多糖的提取工艺

黄家利¹, 张红梅², 徐秀泉^{3*}

(1. 中国药科大学, 南京 210009; 2. 江苏中兴药业有限公司, 江苏 镇江 212009;
3. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013)

[摘要] 目的: 优化野菊花多糖的提取工艺。方法: 采用单因素试验和 $L_9(3^4)$ 正交试验法考察了提取时间、提取温度和料液比对野菊花多糖得率的影响。结果: 影响野菊花多糖得率的主次因素为提取温度、提取时间及料液比。最佳提取工艺条件为提取温度 90 , 料液比 1 20, 提取时间为 4 h。结论: 在此最佳工艺条件下野菊花多糖得率为 3.32%。

[关键词] 野菊花; 多糖; 提取; 正交设计

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0030-03

Optimization for Extraction Technology of Polysaccharides from *Chrysanthemum indicum* by Orthogonal Experimental Design

HUANG Jia-li¹, ZHANG Hong-mei², XU Xiu-quan^{3*}

(1. China Pharmacy University, Nanjing 210009, China; 2. Jiangsu Zhongxing Pharmaceutical Ltd. Co., Zhenjiang 212009, China; 3. School of Pharmacy Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of the polysaccharides from *Chrysanthemum indicum*. **Method:** Based on the single factors test, factors such as material to solvent ratio, extraction temperature and extraction time were optimized by orthogonal test $L_9(3^4)$. **Result:** The optimal technology conditions were as follows: extraction temperature was set at 90 and extraction time was 4 h with ratio of 1 20. **Conclusion:** Under these conditions the polysaccharides yield of *C. indicum* was up to 3.32%.

[Key words] *Chrysanthemum indicum*, polysaccharides; extraction; orthogonal experimental design

野菊花为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 北野菊 *C. boreale* Mak. 或岩香菊 *C. lavandulaefolium*(Fisch.) Mak. 的头状花序^[1], 性凉, 味苦、辛, 归肺肝经, 具有疏风清热、消肿解毒的功效^[2], 主要含有挥发油^[3]、黄酮^[4] 等有效成分, 其中野菊花黄酮成分是珍菊降压片中的主要成分。近年研究发现, 野菊花多糖具有清除活性氧自由基的活性^[5], 但对野菊花多糖的提取工艺国内外报道较少。本研究采用水提醇沉取方法, 选取提取温度、提

取时间及料液比 3 个因素, 在单因素试验的基础上, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化野菊花多糖的提取工艺, 以期深入开发利用野菊花资源提供试验基础。

1 材料

野菊花购自河南宛西制药有限公司(批号 080501), 经鉴定为野菊 *C. indicum* 的干燥花蕾。乙醇, 石油醚, 葡萄糖, 苯酚, 浓硫酸及其他试剂均为分析纯; 双蒸水为本实验室自制。

UV-2102 PCS 型紫外分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司), FD-1A-50 冷冻干燥机(北京博医康), R-200 旋转蒸发仪(Buchi 公司), METTLERAE 240 分析天平(上海托利多-梅特勒仪器有限公司), TDL-5-A 台式离心机(上海仪表集团)。

2 方法

2.1 野菊花的预处理 将野菊花粉碎过 40 目筛,

[收稿日期] 20100805(002)

[第一作者] 黄家利, 讲师, 从事天然药物研究与开发。

[通讯作者] * 徐秀泉, 讲师, 从事天然产物开发与应用研究,

E-mail: xxq781026@sohu.com

称取 500 g 粉末, 分别用石油醚、无水乙醇回流脱脂 3 次, 常温鼓风干燥, 待用。

2.2 野菊花多糖的提取 精密称取经预处理后的野菊花干燥粉末 20 g, 分别置于 500 mL 圆底烧瓶中按设计的料液比加入蒸馏水, 于恒温水浴中浸提, 离心取上清液, 提取液经旋转蒸发仪浓缩至原液的 1/5, 缓缓加入 95% 乙醇, 使乙醇体积分数达 80%, 于冰箱中 4 ℃ 静置 12 h, 以 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 沉淀依次用无水乙醇, 丙酮, 乙醚淋洗, 得疏松粉末后加适量蒸馏水复溶, 冷冻干燥, 即得野菊花粗多糖。

2.3 野菊花多糖提取工艺优化 选取提取温度、提取时间及料液比 3 个因素, 在单因素试验的基础上, 采用 L₉(3⁴) 正交试验优化野菊花多糖的提取工艺。

2.4 野菊花多糖的含量测定 采用改良的苯酚-硫酸法^[6]。精密称取野菊花粗多糖适量, 用蒸馏水定容至 25 mL, 采用改良苯酚-硫酸法在 490 nm 处测定吸光度, 计算多糖含量。

3 结果与分析

3.1 提取温度对野菊花多糖得率的影响 以料液比 1 15, 时间为 3 h, 考察不同提取温度对野菊花多糖得率的影响, 结果见图 1。从图 1 可以看出随温度升高, 多糖得率逐渐提高, 在 90 ℃ 之前增加较明显, 90 ℃ 时多糖得率最高达到 3.02%。当温度继续升高, 多糖得率有所下降, 可能是温度过高, 多糖会发生降解的缘故^[7]。

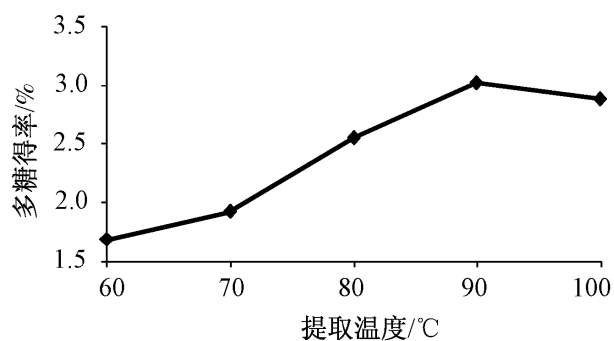


图 1 提取温度对野菊花多糖得率的影响

3.2 提取时间对野菊花多糖得率的影响 以料液比 1 15, 温度为 90 ℃, 考察不同的提取时间对野菊花多糖得率的影响, 结果见图 2。从图 2 可以看出, 随着提取时间的延长, 多糖提取率逐渐增加, 提取率在 3 h 前增加较为明显, 在 3 h 后多糖提取率出现下降, 说明野菊花中多糖已基本提取完毕, 随着时间的延长, 多糖也会发生降解。

3.3 料液比对野菊花多糖得率的影响 以温度为 90 ℃, 提取时间为 3 h, 考察不同的料液比对野菊花

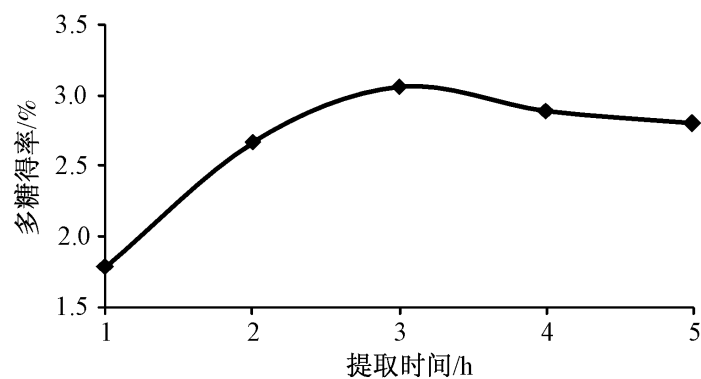


图 2 提取时间对野菊花多糖得率的影响

多糖得率的影响, 结果见图 3。从图 3 可以看出, 随着料液比的增加, 多糖提取率随之增加, 但在 1 10 ~ 1 20 多糖得率增加没有显著性的差异。

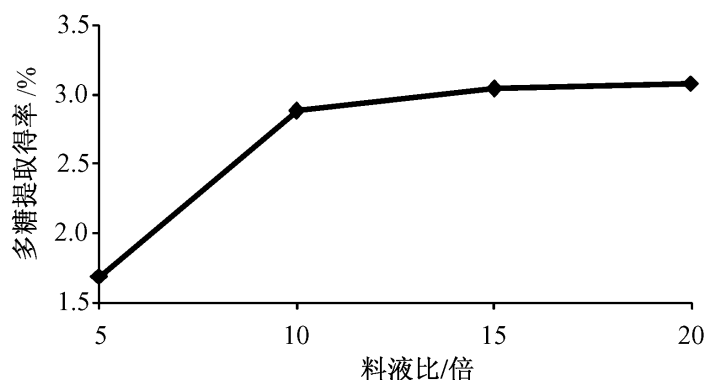


图 3 料液比对野菊花多糖得率的影响

3.4 正交设计试验 根据单因素试验基础上按 4 因素 3 水平表进行 L₉(3⁴) 正交试验, 各因素水平见表 1, 正交试验结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

表 1 野菊花多糖提取正交设计

水平	A	B	C
	提取时间/h	提取温度/℃	料液比
1	2	70	1 10
2	3	80	1 15
3	4	90	1 20

表 2 野菊花多糖提取正交试验结果

No.	因素				多糖得率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	1.87
2	1	2	2	2	2.45
3	1	3	3	3	3.06
4	2	1	2	3	2.16
5	2	2	3	1	2.67
6	2	3	1	2	2.98
7	3	1	3	2	2.34
8	3	2	1	3	2.78
9	3	3	2	1	3.20
K ₁	2.460	2.123	2.543	2.580	
K ₂	2.603	2.633	2.603	2.590	
K ₃	2.773	3.080	2.690	2.667	
R	0.313	0.957	0.147	0.087	

表 3 野菊花多糖提取率方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.148	2	11.38	<0.1
B	1.375	2	105.76	<0.01
C	0.033	2	2.54	
D(误差)	0.013	2		

注: $F_{0.1(2,2)} = 9.00$, $F_{0.05(2,2)} = 19.00$, $F_{0.01(2,2)} = 99.00$ 。

对多糖提取结果的数据进行直观分析(表 2), 可以看出, 影响因素顺序为 $B > A > C$, 即提取温度对多糖得率影响最大。由表 3 可见因素 B(提取温度)各水平之间有显著差异 ($P < 0.01$), 因素 A(提取时间)各水平间有区别 ($P < 0.10$), 因素 C(料液比)各水平间无显著性差异。根据分析结果最佳提取工艺为 $A_3B_3C_3$, 即提取时间为 4 h, 提取温度为 90℃, 料液比为 1:20。

3.5 验证试验 正交试验结果表明, 提取温度对野菊花多糖得率具有显著性影响, 提取时间对野菊花多糖得率具有一定的影响, 料液比对野菊花多糖得率没有显著性影响, 为验证试验结果的准确性, 设计以下验证试验(表 4), 每一试验方案重复 3 次, 计算多糖平均得率。

表 4 野菊花多糖提取验证试验结果

提取时间/h	提取温度/℃	料液比	多糖得率/%
4	90	1:20	3.32
5	90	1:20	3.18
4	100	1:20	3.12

由试验结果可知, 固定提取温度 90℃, 再延长提取时间, 或是固定提取时间 4 h, 再提高提取温度, 多糖得率都有所降低, 这与单因素试验结果相符: 提取时间过长, 提取温度过高可能引起多糖的降解, 多糖得率下降。根据验证试验结果, 野菊花多糖的最佳提取工艺为 $A_3B_3C_3$, 即提取时间为 4 h, 提取温度为 90℃, 料液比为 1:20。在此条件下野菊花多糖得率为 3.32%。

4 结论与讨论

通过单因素试验确定影响野菊花多糖得率的 3 个主要因素为提取温度 > 提取时间 > 料液比, 其中提取温度对多糖得率具有显著的影响。运用正交设计试验方法得到的多糖最佳提取条件为提取温度 90℃, 提取时间 4 h, 料液比 1:20, 在该条件下, 野菊花多糖的得率为 3.32%, 高于正交设计表中的各提取条件结果, 说明各因素之间有相互作用。野菊花是珍菊降压片中的主要组方药材之一, 黄酮类化合物是降压的主要成分, 在提取过程中, 采用水提醇沉方法除掉水提液中的多糖成分, 造成了资源的浪费, 现有试验结果表明野菊花多糖具有抗氧化能力, 本实验优化了多糖的提取工艺, 为野菊花的深入开发提供了坚实的实验基础。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 2144.
- [2] 吴钉红. 野菊花化学成分及药理研究进展[J]. 中药材, 2004, 27(2): 142.
- [3] 李桂荣. 野菊花多糖的提取及其对活性氧自由基的清除作用[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(3): 269.
- [4] Zhu Shunying. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum* [J]. J Ethnopharmacol, 2005, 96: 151.
- [5] Hisashi Matsuda. Structural requirements of flavonoids and related compounds for aldose reductase inhibitory activity[J]. Chem Pharm Bull, 2002, 50(6): 788.
- [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]. 中国药学杂志, 1996, 31(9): 550.
- [7] Deliang Qiao. Extraction optimized by using response surface methodology, purification and preliminary characterization of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii* [J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 76: 422.

[责任编辑 全燕]