

# 响应面法优化麸炒北苍术多糖的提取工艺

李 涵, 于妮娜, 孙淑雯, 孟庆欣, 孙青松

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132000)

**摘要:**以麸炒北苍术为试验材料, 采用改良苯酚-硫酸法, 测定麸炒北苍术多糖得率。利用单因素分析, 对不同的液料比、提取温度、提取时间及提取次数进行考察, 检测多糖得率的变化情况, 筛选出最佳水平。采用响应面法对提取工艺进行优化, 得出最佳提取条件。结果表明: 在液料比为 25:1, 提取温度为 89 °C 条件下, 提取时间为 68 min, 麸炒北苍术多糖得率可达 3.65%, 为进一步开发利用麸炒北苍术提供一定的理论基础。

**关键词:** 响应面法; 麸炒北苍术; 多糖; 提取工艺

中图分类号: S567.239

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)03-0156-05

## Optimization of Extraction Process of Polysaccharide from *Rhizoma atractylodis* Fried with Bran by Response Surface Methodology

LI Han, YU Nina, SUN Shuwen, MENG Qingxin, SUN Qingsong

(Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin 132000, China)

**Abstract:** Using rhizome of processed *Rhizoma atractylodis* as experimental material, the yield of polysaccharide from rhizome of processed *Rhizoma atractylodis* was determined by modified phenol-sulfuric acid method. Single factor analysis was used to investigate the different liquid-solid ratio, extraction temperature, extraction time and extraction times. The change of polysaccharide yield was detected and the best level was selected. Response surface methodology was used to optimize the extraction process, and the optimal extraction process was obtained. The results showed that the yield of polysaccharide from rhizome of processed *Rhizoma atractylodis* could reach 3.65% when the ratio of liquid-solid was 25:1, the extraction temperature was 89°C, the extraction time was 68min. The research provides a theoretical basis for further development and utilization of rhizome of processed *Rhizoma atractylodis*.

**Key words:** Response surface methodology; *Rhizoma atractylodis* fried with bran; Polysaccharide; Extraction

苍术为菊科植物北苍术(*Atractylodes chinensis*)和茅苍术(*A. lancea*)的干燥根茎。性辛、苦、温, 归脾、胃、肝经, 具有燥湿健脾、祛风散寒、明目等功效<sup>[1]</sup>。北苍术药材中的化学成分主要是挥发油,  $\beta$ -桉叶醇和苍术素是主要的两大类活性成分<sup>[2]</sup>。北苍术中还有多种糖类, 如阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、棉子糖等。

北苍术对消化系统、降血糖、抗炎、利尿、保肝、抗肿瘤及增强免疫等具有一定功效。目前, 临床配方主要采用北苍术, 多为炮制品, 其现代

炮制方法主要有炒焦、麸炒和米泔水制, 其中以麸炒为主。现代药理研究表明, 北苍术中的水溶性多糖具有一定的降血糖功效, 其水提液对肝脏蛋白质合成和胆汁分泌具有促进作用<sup>[3]</sup>。塔西斯等研究发现, 麸炒苍术水提液多糖的保肝作用强于生品苍术<sup>[4]</sup>。目前, 对于炮制前后北苍术多糖多以药理活性为研究热点, 对炮制前后多糖的提取工艺研究较少。本研究对麸炒苍术多糖的提取工艺进行优化, 为麸炒北苍术多糖的深入研究提供一定的理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

麸炒北苍术饮片(安国市永旺药业有限公司); 葡萄糖(国药集团化学试剂有限公司); 紫外分光光度计(上海奥谱勒仪器有限公司, 752型);

收稿日期: 2019-10-10

基金项目: 吉林省科技发展计划资助项目(20180520040JH); 国家级大学生科技创新创业训练计划项目(201811439002); 吉林农业科技学院校级青年基金重点项目(20190587)

作者简介: 李 涵(1997-), 女, 在读本科, 研究方向为中药学。

分析电子天平(上海衡诺电子衡器有限公司);密封手提式粉碎机(西安宝正实业有限公司);旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司);真空泵(上海豫康科教仪器设备有限公司);无水乙醇、石油醚、5%苯酚溶液、浓硫酸等均为分析纯。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 麸炒北苍术多糖的提取

取麸炒北苍术粉末5 g,加20倍量水,80℃水浴提取3次,每次1 h,合并抽滤后所得滤液浓缩至浸膏,再加入4倍量的95%乙醇,析出大量乳白色沉淀,沉淀用纯水清洗,干燥获得麸炒北苍术粗多糖,备用。

### 1.2.2 麸炒北苍术多糖含量的测定

#### 1.2.2.1 标准曲线的绘制

精确称取葡萄糖标准品0.100 g,置于10 mL容量瓶中,蒸馏水定容至刻度,分别量取0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 mL葡萄糖溶液,置于10 mL容量瓶中,定容至刻度。再分别取2 mL,依次加入2 mL 5%苯酚溶液、5 mL浓硫酸,100℃水中持续加热0.25 h,20℃水中冷却0.5 h,紫外分光光度计于490 nm处测定其吸光度(A),并绘制标准曲线<sup>[5]</sup>。

#### 1.2.2.2 供试品溶液的制备

精确称取样品0.05 g置于100 mL容量瓶中,蒸馏水定容,准确量取2 mL,按“1.2.2.1”操作测定A值,计算多糖得率。

麸炒北苍术多糖得率=

$$\frac{\text{多糖提取物中经测定得到多糖的质量}}{\text{原药渣经多糖测定所含的多糖质量}} \times 100\%$$

### 1.2.3 单因素条件的筛选

#### 1.2.3.1 液料比对多糖得率的影响

各取5 g药材粉末,分别加入液料比为10:1、15:1、20:1、25:1的蒸馏水混合均匀,加热至80℃,回流提取60 min,重复3次。计算麸炒北苍术多糖的得率。

#### 1.2.3.2 温度对多糖得率的影响

各取5 g药材粉末,分别加入液料比为20:1的蒸馏水混合均匀,加热至70、80、90、100℃,回流提取60 min,重复3次。计算麸炒北苍术多糖的得率。

#### 1.2.3.3 提取时间对多糖得率的影响

各取5 g药材粉末,分别加入液料比为20:1的蒸馏水混合均匀,加热至80℃,回流提取40、50、60、70 min,重复3次。计算麸炒北苍术多糖的得率。

#### 1.2.3.4 提取次数对多糖得率的影响

各取5 g药材粉末,分别加入液料比为20:1的蒸馏水混合均匀,加热至80℃,回流提取60 min,重复3次,计算麸炒北苍术多糖的得率。

### 1.2.4 响应面优化试验设计

以麸炒北苍术多糖得率作为统计值,结合单因素试验结果<sup>[6]</sup>,为减少工序和节省时间,故选提取次数为3次,分别以提取时间(A)、液料比(B)、提取温度(C)三因素设计响应面试验,并选择每个因素的三水平。将设计好的水平编码及响应面试验所得统计值,输入到Design-expert V 8.0.6.1统计软件中进行分析,具体水平编码见表1。

表1 响应面设计优化试验因素与水平

水平	A. 提取时间(min)	B. 液料比(mL/g)	C. 提取温度(℃)
-1	50	15:1	80
0	60	20:1	90
1	70	25:1	100

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线绘制

标准曲线的回归方程为: $y=7.6014x-0.0033$ , $R^2=0.9985$ ( $n=5$ ), $y$ 为吸光度值, $x$ 为样品浓度。

### 2.2 最佳单因素条件

#### 2.2.1 液料比单因素试验

如图1所示,在提取温度、时间、次数一定的条件下,随着液料比的增大,多糖得率呈现出先升高后平稳的趋势,这是因为随着提取溶剂的增多,增大溶剂与麸炒北苍术的接触面积,使多糖能更快溶出<sup>[7]</sup>,当液料比为20:1时,麸炒北苍术多糖的得率最佳,为3.83%。液料比为25:1后,得率缓慢下降,表明大部分多糖已提取完全。

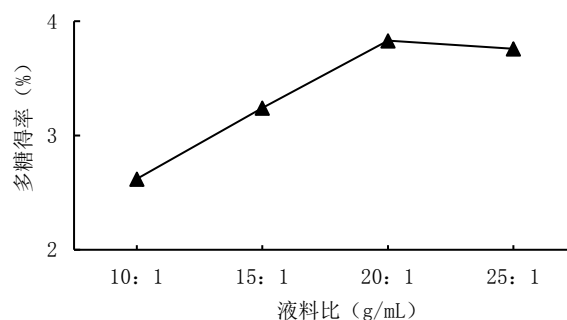


图1 液料比对多糖得率的影响

#### 2.2.2 提取温度单因素试验

如图2所示,在液料比、提取时间、次数一定的条件下,随着提取温度的逐渐升高,多糖得率呈先上升后下降的趋势,当提取温度为90℃时,

北苍术多糖得率最佳,为4.3%。当温度大于90℃后,多糖得率呈下降趋势。原因是温度升高可能会导致多糖分解<sup>[8]</sup>,使多糖得率降低。

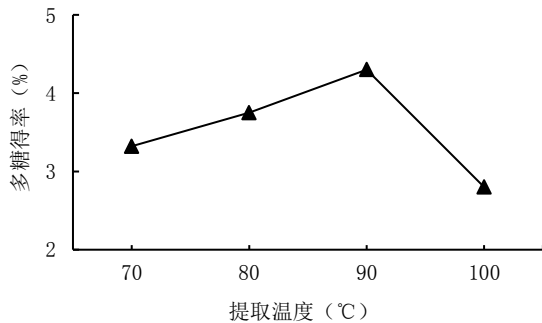


图2 提取温度对多糖得率的影响

### 2.2.3 提取时间单因素试验

如图3所示,在液料比、提取温度、次数一定的条件下,随着提取时间的延长,多糖的得率增加,当提取时间为60 min时,多糖得率最高,为3.84%。当提取时间大于60 min后,多糖得率呈下降趋势,原因是时间延长,部分多糖可能发生分解,使多糖得率下降。

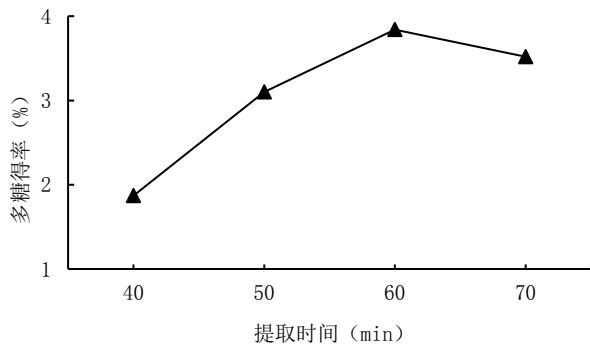


图3 提取时间对多糖得率的影响

### 2.2.4 提取次数单因素试验

如图4所示,在液料比、提取温度、时间一定的条件下,随提取次数的增加,多糖的得率呈先上升后平缓趋势,当提取次数为3次时,多糖得率最佳,为3.73%。当提取次数为4次时,多糖得率

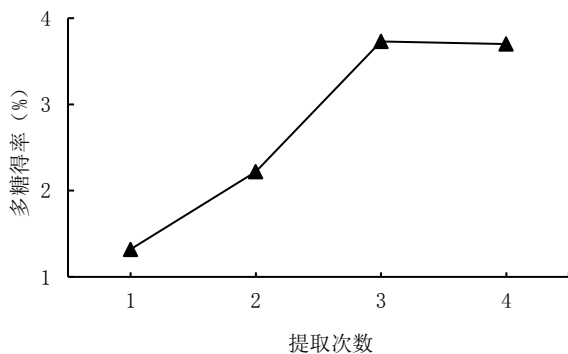


图4 提取次数对多糖得率的影响

变化不大,表明多糖已提取完全。

## 3 响应面试验优化麸炒北苍术多糖的提取工艺

### 3.1 提取条件的优化分析

根据 Box-Behnken 原理设计试验<sup>[9-10]</sup>,结合单因素各试验优化结果确定因素的水平范围,将麸炒北苍术多糖得率作为响应值,进行三因素三水平的响应面分析,见表2。

表2 响应面试验设计及结果

序号	提取时间	液料比	提取温度	多糖得率
1	-1.000	0.000	-1.000	2.89
2	-1.000	1.000	0.000	3.54
3	0.000	0.000	0.000	3.75
4	0.000	0.000	0.000	3.84
5	0.000	-1.000	1.000	3.25
6	1.000	0.000	-1.000	3.2
7	0.000	0.000	0.000	3.83
8	1.000	1.000	0.000	3.64
9	-1.000	0.000	1.000	3.05
10	0.000	0.000	0.000	3.69
11	1.000	0.000	1.000	3.37
12	0.000	1.000	1.000	3.61
13	0.000	0.000	0.000	3.81
14	1.000	-1.000	0.000	3.4
15	0.000	1.000	-1.000	3.21
16	0.000	-1.000	-1.000	3.23
17	-1.000	-1.000	0.000	2.79

通过采用软件 Design-Expert V 8.0.6.1 对数据分析,3个因子经过拟合得到的回归方程为  $Y=3.78+0.17A+0.17B+0.094C-0.13AB+2.500E-003AC+0.095BC-0.32A^2-0.12B^2-0.34C^2$

式中Y为麸炒北苍术多糖得率(%),A为提取时间(min)、B为液料比(mL/g)、C为提取温度(℃)。

### 3.2 方差分析

对回归模型进行方差分析(表3),  $R^2=0.9597$ ,  $R^2_{Adj}=0.9080$ ,回归模型极显著( $P<0.01$ ),表明该模型与实际结果拟合良好,试验方法较可靠;失拟项不显著( $P>0.05$ ),说明所得方程与实际结果拟合较好,可用于麸炒北苍术多糖提取的分析与计算。由F值可知,单因素对多糖得率的影响顺序为:A>B>C,即提取时间>液料比>提取温度。

### 3.3 交互因素分析

两两因素交互作用对麸炒北苍术多糖提取率的影响如图5~图7所示。

由图5~图7可以看出,任何两个交互因素的

表3 回归方程方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	1.68	9	0.19	18.54	0.0004**
A. 提取时间	0.22	1	0.22	22.27	0.0022**
B. 液料比	0.22	1	0.22	21.94	0.0023**
C. 提取温度	0.07	1	0.07	6.98	0.0334*
AB	0.065	1	0.065	6.45	0.0387*
AC	2.500E-005	1	2.500E-005	2.481E-0.03	0.9617
BC	0.036	1	0.036	3.58	0.1003
A <sup>2</sup>	0.43	1	0.43	42.65	0.0003**
B <sup>2</sup>	0.063	1	0.063	6.22	0.0414*
C <sup>2</sup>	0.48	1	0.48	47.45	0.0002**
残差	0.071	7	0.010		
失拟项	0.055	3	0.018	4.57	0.0880
净误项	0.016	4	3.980E-0.03		
总离差	1.75	16			

注：“\*”表示差异显著(P<0.05);“\*\*”表示差异极显著(P<0.01)

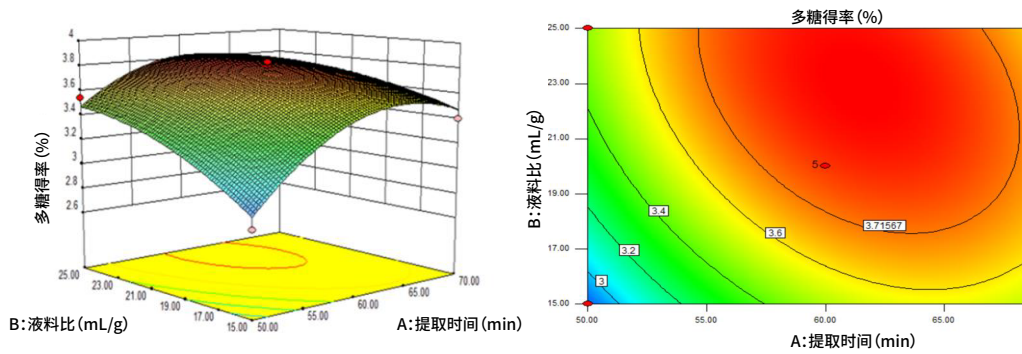


图5 液料比和提取时间对多糖得率影响的响应面(左)和等高线(右)

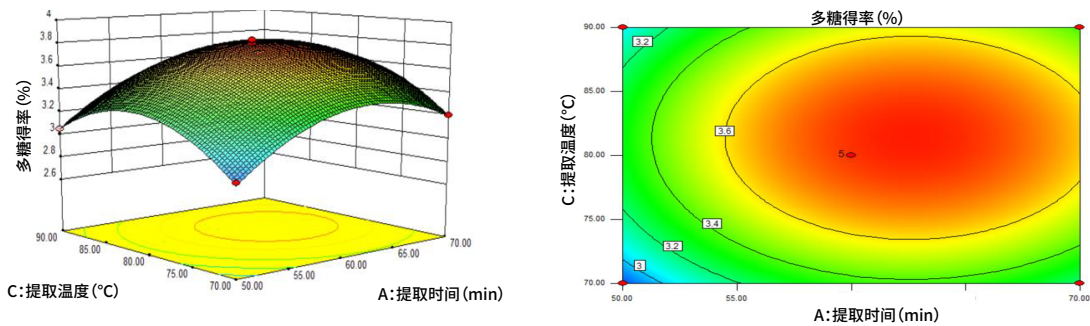


图6 提取时间和提取温度对多糖得率影响的响应面(左)和等高线(右)

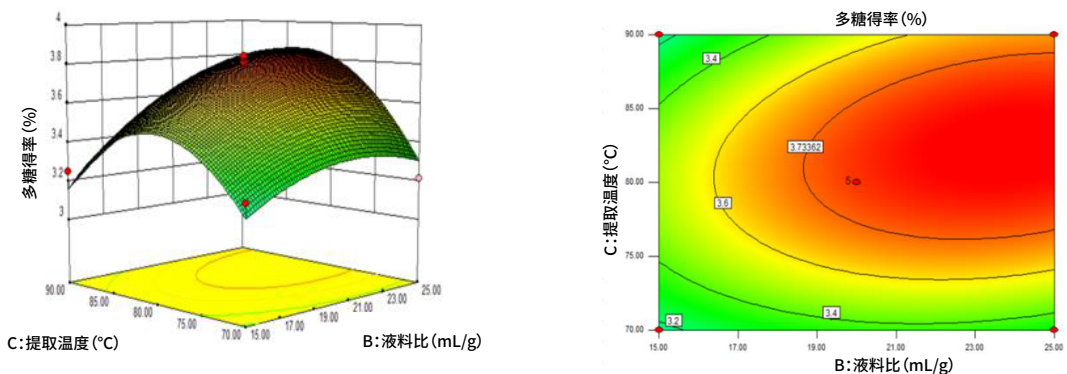


图7 液料比和提取温度对多糖得率影响的响应面(左)和等高线(右)

响应面都具有最高点,并且响应面的坡度表现为先逐渐上升后下降的趋势,每组等高线近似椭圆,可以得出每组中两个交互因素的相互作用对麸炒北苍术多糖得率的影响较大,表明选择提取时间、液料比和提取温度作为试验因素较为合理。

### 3.4 优化工艺验证

对回归方程求解,得到多糖得率达到最大值时的提取条件为:提取时间 67.62 min,液料比 25:1,提取温度 88.96 °C,多糖得率达到 3.57%,考虑试验条件限制及操作方便,将提取因素修正为:提取时间 68 min,液料比 25:1,提取温度为 89 °C,此条件下麸炒北苍术多糖得率为 3.65%。与响应面优化的最佳提取工艺条件下得出的得率理论值相差不超过 0.08%。结果表明利用响应面法优化麸炒北苍术多糖的提取工艺具有可行性。

## 4 结论

本研究在单因素试验的基础上,通过 Box-Behnken 响应面法对麸炒北苍术多糖的提取条件进行了优化,发现 3 个因素对多糖得率的影响大小依次为:提取次数>提取时间>液料比;建立多糖得率的回归模型,该模型优化的多糖提取条件为:提取时间 68 min,液料比 25:1,提取温度 89 °C,多糖得率达到 3.65%,与理论值相近,表明

该模型合理可靠,拟合程度良好,具有可行性。

### 参考文献:

- [1] 杜庆山. 中药苍术炮制方法及理论研究进展[J]. 中国药物警戒, 2012, 9(7): 58-59.
- [2] 肖春萍, 夏炎, 张强. 吉林省不同产地北苍术的质量评价研究[J]. 长春中医药大学学报, 2018, 34(5): 62-63.
- [3] 孟利娜, 许静, 南楠, 等. 正交试验优化超声法提取北苍术多糖的工艺研究[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(5): 457-460.
- [4] 塔西斯, 张洁, 杭永付, 等. 北苍术炮制前后水提液和多糖部位保肝作用比较研究[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(3): 45-47.
- [5] 于森, 王冰, 付叶珊, 等. 响应面法优化刺五加根废弃物多糖提取工艺的研究[J]. 中草药, 2019, 50(7): 1610-1613.
- [6] 王广慧, 李士慧, 梁婷, 等. 响应面优化超声波辅助复合酶法提取杏鲍菇黄酮[J]. 东北农业科学, 2018, 43(1): 46-48.
- [7] 王玉梅. 红缘拟层孔菌多糖提取工艺的响应面优化[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47(1): 116-122.
- [8] 刘涛, 王清, 夏新奎, 等. 响应面法优化地骨皮多糖提取工艺[J]. 西华大学学报(自然科学版), 2019, 38(2): 53-54.
- [9] 焦迎春, 余梅, 张燕, 等. 超声波辅助提取柴达木大肥菇多糖工艺优化及其抗缺氧活性研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(1): 114-115.
- [10] 王晓辉, 王贵鹏, 张庆芳, 等. 抗灰霉病解淀粉芽孢杆菌的发酵条件优化[J]. 吉林农业科学, 2015, 40(2): 72-75.

(责任编辑:王昱)

(上接第 116 页)

- [8] 邓进超, 关一鸣, 吴连举, 等. 人参锈腐病菌拮抗菌的筛选、鉴定及发酵条件优化[J]. 东北农业科学, 2017, 42(3): 31-38.
- [9] 宋聪, 宋水山, 关军锋. 梨采后黑斑病拮抗菌 J18 的鉴定及防治效果的初步研究[J]. 现代食品科技, 2011, 27(1): 6-10.
- [10] 侯晓杰, 梁魁景, 丛日征, 等. 贮藏期苹果轮纹病拮抗菌的筛选研究[J]. 北方园艺, 2015(23): 115-119.
- [11] 李继兵. 五株芽孢杆菌新种的分离纯化及其鉴定研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.
- [12] 邓年方. 大肉姜乙醇提取物的抑菌作用研究[J]. 北方园艺, 2013(5): 98-99.
- [13] 窦瑞木. 植物内生菌及其防病作用研究进展[J]. 河南农业科学, 2008, 19(6): 56-62.
- [14] 李长松. 拮抗细菌生物防治植物土传病害的研究进展[J].

生物防治通报, 1992, 8(4): 168-172.

- [15] 卢占慧. 人参内生菌群落多样性及拮抗菌株的抑菌作用研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- [16] 任慧爽, 徐伟芳, 王爱印, 等. 桑树内生细菌多样性及内生拮抗活性菌群的研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2017, 39(1): 36-45.
- [17] 周旋旋. 枫杨内生菌抑菌与促生作用初探[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2008.
- [18] 龙良鲲, 肖崇刚, 窦彦霞. 防治番茄青枯病内生细菌的分离与筛选[J]. 中国蔬菜, 2003(2): 21-23.
- [19] 王万能, 肖崇刚. 烟草内生菌 118 防治黑胫病的机理研究[J]. 西南农业大学学报, 2003, 25(1): 28-31.

(责任编辑:刘洪霞)