

毛竹叶多糖超声提取工艺研究

姜少娟^{1,2}

(1. 攀枝花学院 生物与化学工程学院, 四川 攀枝花 617000; 2. 攀枝花学院 生物与化学工程研究所, 四川 攀枝花 617000)

摘 要:采用超声波提取法从毛竹叶中提取多糖,以提取温度、提取时间、料液比、提取次数为考察因素,通过单因素试验和正交优化,研究了毛竹叶多糖的最佳提取工艺条件,并与常规热回流提取法进行了比较。结果表明:毛竹叶多糖的超声提取最佳工艺条件为提取温度 70℃,提取 20 min、料液比 1:10、提取 3 次;超声提取法优于常规热回流法。

关键词:毛竹叶;超声提取;多糖;提取工艺;正交实验

中图分类号:S 795.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)13-0166-03

毛竹属禾本科(Gramineae)刚竹属(*Phyllostachys*)多年生常绿植物,是我国南方最主要的经济竹种之一^[1]。毛竹竹叶常作为毛竹加工利用后的废弃物予以丢弃,导致竹叶资源长期未得到有效利用。现代研究可知,竹叶内含有活性多糖、黄酮、色素、氨基酸等多种化学成分^[2-3]。其中,竹叶多糖是一种具有多种生理功能和开发价值的植物活性多糖,临床试验和动物试验均证明竹叶多糖有抗癌、提高免疫、降血脂和降血清胆固醇以及抗氧化作用,对人体有独特的保健功效^[4-5]。所以对竹叶的开发再利用很有必要。目前,国内外的研究大多集中在竹叶黄酮^[6-8]等方面,对多糖提取的研究较少,并且大多采用常规的提取方法^[9]。因此,现利用超声波能产生强烈振动、高加速度及其强烈的空化效应、搅拌作用等特点^[10],采用正交实验法对竹叶多糖的最佳提取工艺条件进行了研究,以期为深度开发竹叶资源提供试验数据和理论依据,从而更好的开发利用竹叶这一丰富资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

毛竹叶粗粉:将采到的毛竹竹叶(采于攀枝花学院竹鸟林内)混合后洗净,沥干,放入恒温干燥箱于 60℃下烘干,粉碎后过 60 目筛得竹叶粗粉,密封备用。试验试剂:葡萄糖、98%浓硫酸、6%苯酚溶液、无水乙醇,所用试剂均为分析纯;试验仪器:SB120D 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);722 型可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司);FA2104S 电子分析天平(上海恒丰科学仪器有限公司)等。

1.2 试验方法

1.2.1 标准曲线的制定 分别吸取葡萄糖标准液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置于 10 mL 具塞试管中,分别加 6%苯酚溶液 1.0 mL,混匀后迅速滴加浓硫酸 5.0 mL,摇匀后放置 5 min,然后在沸水浴中恒温水浴加热 10 min,冷却至室温,定容至 10 mL,以不加样为空白,于 490 nm 处测定吸光值。以葡萄糖质量浓度(X)为横坐标,吸光值(Y)为纵坐标绘制标准曲线,求得回归方程 $Y = 0.0513X + 0.0596$,相关系数 $R = 0.9989$ 。

1.2.2 超声波提取工艺流程 称取一定量的毛竹叶粗粉,按一定的料液比加蒸馏水,于超声波清洗机(100 W, 45 kHz)中进行超声提取,提取一段时间后进行过滤,将获得的滤液(连续提取 3 次后合并滤液)加入适量的无水乙醇进行沉淀,在 3 000 r/min 条件下离心 10 min,去上清液,底部沉淀即为粗多糖,加水溶解并定容至 100 mL 容量瓶中。然后再从容量瓶中吸取 1.0 mL 多糖溶液,按照 1.2.1 的方法测出吸光值,根据标准曲线计算多糖溶液的质量浓度。粗多糖得率(%) = 多糖的质量浓度 × 多糖溶液体积 / 样品重量 × 100%。

1.2.3 单因素试验 提取温度对竹叶多糖得率的影响:准确称取竹叶粗粉 1.0 g,按料液比 1:8 加入提取溶剂,分别在 40、50、60、70℃条件下超声提取 10 min,提取 1 次,过滤,滤液加 5 倍量体积无水乙醇进行沉淀,3 000 r/min 条件下离心,取沉淀溶解并定容到 100 mL,采用 1.2.1 的方法测定多糖质量浓度,计算多糖得率,以确定最佳提取温度。料液比对竹叶多糖得率的影响:准确称取竹叶粗粉 1.0 g,在上述已确定的最佳提取温度下,按料液比为 1:5、1:8、1:10、1:12、1:15 超声提取 10 min,提取 1 次,过滤,滤液加 5 倍量体积无水乙醇沉淀,3 000 r/min 条件下离心,取沉淀溶解并定容到 100 mL,采用 1.2.1 的方法测定多糖质量浓度,计算多糖得率,以确定最佳料液比。提取时间对竹叶多糖得率的影响:准确称取竹叶粗粉 1.0 g,按上述确定的最佳提取温度和料液比,分别

作者简介:姜少娟(1979-),女,陕西西安人,硕士,讲师,现主要从事天然产物化学方面的研究工作。E-mail:remonica@163.com.

收稿日期:2012-01-16

超声提取 10、20、30、40 min, 提取 1 次后过滤, 滤液加 5 倍量体积无水乙醇沉淀, 3 000 r/min 条件下离心, 取沉淀溶解并定容到 100 mL, 采用 1.2.1 的方法测定多糖质量浓度, 计算多糖得率, 以筛选最佳提取时间。提取次数对竹叶多糖得率的影响: 准确称取竹叶粗粉 1.0 g, 取已确定的提取温度、提取时间、料液比, 分别浸提 1、2、3、4 次, 过滤, 滤液加 5 倍量体积无水乙醇沉淀, 3 000 r/min 条件下离心, 取沉淀溶解并定容到 100 mL, 采用 1.2.1 的方法测定多糖质量浓度, 计算多糖得率, 以筛选最佳提取次数。

1.2.4 正交实验 为进一步探讨竹叶多糖的提取工艺条件, 选择提取温度、提取时间、料液比、提取次数为考察因素, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计, 确定最佳提取工艺参数。正交因素水平见表 1。

表 1 超声波法正交实验因素水平 $L_9(3^4)$ 设计

水平	因素			
	提取温度(A)/℃	提取时间(B)/min	料液比(C)	提取次数(D)/次
1	50	15	1:10	1
2	60	20	1:12	2
3	70	25	1:15	3

1.2.5 超声波提取与常规热回流提取的对比试验 超声波提取: 称取一定量的竹叶粗粉, 采用正交实验得到的最佳工艺条件进行超声辅助提取, 计算多糖的得率, 计算方法同 1.2.2; 常规热回流提取: 称取与超声辅助提取相同质量的竹叶粗粉, 以料液比 1:12, 在 70℃ 下回流提取 2 h, 均提取 3 次, 根据 1.2.1 方法测出吸光值, 根据标准曲线计算多糖溶液的质量浓度, 计算多糖的得率, 计算方法同 1.2.2。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 提取温度对竹叶多糖得率的影响 由图 1 可知, 随着提取温度的升高, 多糖得率随之增加, 当温度达 60℃ 时, 多糖得率达到最大值; 继续升温, 得率反而下降。可见在过高的温度下, 可能导致多糖结构的破坏, 使其得率降低, 所以, 60℃ 为适宜的提取温度。

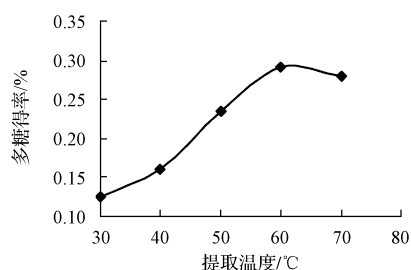


图 1 提取温度对竹叶多糖得率的影响

2.1.2 料液比对竹叶多糖得率的影响 由图 2 可知, 随着料液比的增大, 多糖得率不断增加。当料液比达 1:12 时, 多糖得率达最大值; 在高于 1:12 时, 多糖的得率增加不明显, 表明多糖已基本提取完全; 继续增加料液比,

会增加后续加工成本, 并且会增加杂质的溶出, 所以, 综合考虑, 料液比以 1:12 为宜。

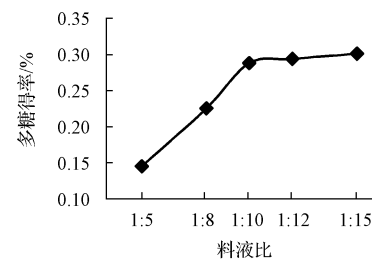


图 2 料液比对竹叶多糖得率的影响

2.1.3 提取时间对竹叶多糖得率的影响 由图 3 可知, 随着超声时间的延长, 多糖得率逐渐增加, 当提取 20 min 时, 多糖得率达最大值; 超过 20 min 后, 多糖得率开始下降。可能由于超声时间 20 min 内多糖持续溶出, 直到多糖基本全部提取出来; 超过 20 min 后, 杂质的溶出量相应增多, 同时太长时间提取也可能会使多糖分解, 导致得率降低。因此, 竹叶多糖的提取时间以 20 min 为佳。

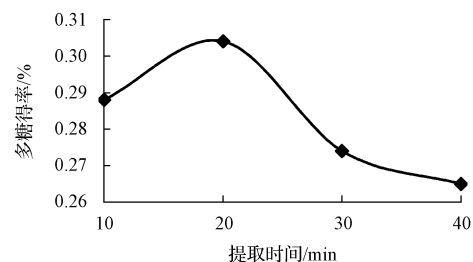


图 3 提取时间对竹叶多糖得率的影响

2.1.4 提取次数对竹叶多糖得率的影响 由图 4 可知, 随着提取次数的增加, 多糖得率逐渐增加, 提取 3 次后, 多糖得率达最大值; 3 次以后, 多糖得率增加的幅度很小, 因此可认为提取 3 次后, 多糖已基本溶出, 综合考虑后续加工成本, 提取次数以 3 次为宜。

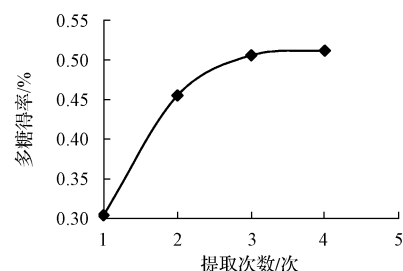


图 4 提取次数对竹叶多糖得率的影响

2.2 正交实验结果

由表 2 可知, 提取次数对多糖得率的影响最大, 温度次之, 料液比再次之, 提取时间的影响较小; 正交实验直观得到的最佳浸提参数为 $A_3B_2C_1D_3$, 即 70℃ 下浸提 20 min, 料液比 1:10, 浸提 3 次, 竹叶多糖得率最高, 为 0.726%。

表2 超声波提取法正交实验 $L_9(3^4)$ 结果

	A(温度)/℃	B(时间)/min	C(料液比)	D(提取次数)/次	多糖得率/%
1	50	15	1:10	1	0.284
2	50	20	1:12	2	0.441
3	50	25	1:15	3	0.544
4	60	15	1:12	3	0.625
5	60	20	1:15	1	0.453
6	60	25	1:10	2	0.409
7	70	15	1:15	2	0.613
8	70	20	1:10	3	0.726
9	70	25	1:12	1	0.497
k_1	0.423	0.507	0.473	0.411	
k_2	0.496	0.540	0.521	0.488	
k_3	0.612	0.483	0.537	0.632	
R	0.189	0.057	0.064	0.221	

2.3 优化工艺的验证

竹叶多糖超声提取的最佳提取工艺参数为 $A_3B_2C_1D_3$, 即 70℃ 下浸提 20 min, 料液比 1:10, 浸提 3 次。在此优化工艺条件下进行验证试验, 测得的竹叶多糖得率仍最高, 为 0.729%。

2.4 超声辅助提取与常规回流提取对比试验结果

由图 5 可知, 超声提取法提取竹叶多糖得率明显高于常规热回流法。因此, 在天然产物有效成分的提取方

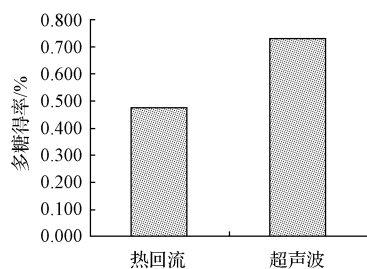


图5 超声波提取与传统的回流提取的效果比较

面, 超声提取法较常规热回流提取具有显著的优势。

3 结论

在单因素试验基础上, 用正交试验法对竹叶多糖提取工艺条件进行筛选, 得出其最佳浸提参数为 70℃ 下浸提 20 min, 料液比 1:10, 浸提 3 次。在此优化条件下测得的竹叶多糖得率为 0.726%。该试验结果表明, 不同因素对多糖提取效果的影响不同, 提取次数对多糖得率的影响最大, 温度次之, 料液比再次之, 提取时间的影响较小。

通过与常规回流对比试验得出, 超声波辅助提取优于常规回流提取, 该方法大大缩短了提取时间, 降低了生产成本, 提高了经济效益并且重现性好, 具有较高的工艺参考价值。

参考文献

- [1] 陈建华, 毛丹, 马宗艳, 等. 毛竹叶片的生理特性[J]. 中南林学院学报, 2006, 26(6): 76-80.
- [2] 陆志科, 廖威. 毛竹叶化学成分初步测定[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2003, 26(1): 46-48.
- [3] 晁红娟, 高荫榆, 丁红秀, 等. 酶法中试提取毛竹叶、柄中多糖和类黄酮的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 208-211.
- [4] 李飞跃, 喻国光, 陈金珠, 等. 竹叶主要化学成分分析及其生物活性研究现状[J]. 江西林业科技, 2006(4): 34-36.
- [5] 姚曦, 岳永德, 汤锋, 等. 竹叶多糖的研究进展[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(6): 93-74.
- [6] 曹光群, 姚志蕊, 杨成. 毛竹叶黄酮类化合物提取工艺研究[J]. 化学与化工(英文版), 2008(11): 34-37.
- [7] 王志坤, 林新春, 李妃, 等. 竹叶中总黄酮的提取工艺及应用[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(9): 1-4.
- [8] 张颖心, 何潮洪. 从毛竹叶中提取总黄酮的工艺研究[J]. 高校化学工程学报, 2006, 20(5): 691-695.
- [9] 庞靖靖, 雷相玲, 张国栋. 毛竹叶多糖的提取和分离[J]. 食品工业, 2011(4): 57-60.
- [10] 胡筱, 魏毅, 沙玫. 淫羊藿中总黄酮的超声提取工艺研究[J]. 海峡药学, 2004, 16(4): 88-89.

Research on Ultrasonic Wave Extraction of Polysaccharides from *Phyllostachys pubescens* Leaves

JIANG Shao-juan^{1,2}

(1. Department of Biology and Chemistry Engineering, Panzhihua University, Panzhihua, Sichuan 617000; 2. Institute of Biological and Chemical Engineering, Panzhihua University, Panzhihua, Sichuan 617000)

Abstract: The ultrasonic extraction of polysaccharides from *Phyllostachys pubescens* leaves was studied. The factors of extraction temperature, time, solid-liquid ratio, extraction times were researched. The extraction process of polysaccharides was optimized with single factor test and orthogonal experiments, and there was a comparison between the ultrasonic method and the refluxing method. The results showed that optimum extraction conditions were determined as follows: extraction temperature 70℃, extraction time 20 minutes, stock ratio 1:10 (material: volume), extraction 3 times. And the ultrasonic extraction method was superior to refluxing extraction.

Key words: *Phyllostachys pubescens* leaves; ultrasonic extraction; polysaccharides; extraction technology; orthogonal experiment