

# 水仙鳞茎中粗多糖的提取工艺优化

牛 炜<sup>1,2</sup>, 潘东明<sup>1,2</sup>, 贾媛颖<sup>1</sup>

(1. 福建农林大学 园艺学院, 福建 福州 350002; 2. 园艺产品贮运保鲜研究所, 福建 福州 350002)

**摘 要:**为初步确定水仙鳞茎中的粗多糖含量, 采用热水浸提法提取水仙鳞茎中的粗多糖。同时以粗多糖得率为评价指标, 以提取温度(℃)、液固比(mL/g)、乙醇体积比(无水乙醇 mL/提取液 mL)、提取时间(h)为因素优化热水浸提工艺。结果表明:最佳提取工艺为提取时间 5.5 h, 提取温度 100℃, 液固比 10 mL/g, 乙醇加量比 5(醇沉时加入无水乙醇量 mL/样品溶液量 mL)。其中提取温度是影响水仙鳞茎粗多糖得率的最主要因素。最优条件下提取粗多糖得率 6.51445%, 水仙鳞茎粗多糖含量为 3.8130%。

**关键词:**水仙鳞茎粗多糖; 热水浸提; 正交实验

**中图分类号:**S 682.2<sup>+</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)10-0064-03

国内外对水仙的研究在遗传学、育种学、组织培养、病虫害防治、提取物开发利用等方面取得了许多富有成效的结果<sup>[1]</sup>。吕柳新等<sup>[2]</sup>通过细胞学观察, 发现了水仙减数分裂的特点, 奠定了水仙品种资源育种研究的基础; 吴菁华等<sup>[3]</sup>进一步应用 RAPD 和 AFLP 技术, 发现中国水仙包含有染色体基数、体细胞染色体数不同的二倍体、三倍体以及杂种起源的同源异源三倍体, 但以同源三倍体为最多。其中, 陈振光<sup>[4]</sup>是水仙组织快繁技术的领军人物, 陈晓静<sup>[5]</sup>是水仙育种方面的权威专家。在生理方面, 对水仙的研究相对较少, Ehret C 等<sup>[6]</sup>从水仙

花瓣中提取了几十种香气成分。水仙鳞茎内含有具药理活性的多种凝集素, 被用作治疗阿兹海默氏症病(Alzheimer's)和艾滋病(AIDS), Hanks G R<sup>[7]</sup>对凝集素进行了研究。水仙鳞茎中还含有生物活性物质—多糖, 目前还没有人对水仙多糖进行研究。现以水仙鳞茎中粗多糖的提取工艺为研究对象, 旨在探索出热水浸提法提取水仙粗多糖的最佳工艺, 为深入研究开发水仙多糖做基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试水仙鳞茎鲜样于 2011 年 6 月 3 日采自漳州市, 共 1 050 g。供试精密仪器有 TU-1810 紫外可见光光度计, 北京普析通用仪器有限公司生产; Allegra™ 64RCentrifuge 台式高速冷冻离心机, 美国 Beckman Coulter 公司生产; DK-24 型电热恒温水浴锅, 上海精宏实验设备有限公司生产; FDU-1200 型冷冻干燥机, 日本 EYELA 公司生产; 高速万能粉碎机, 天津市泰斯特仪器

**第一作者简介:**牛炜(1986-), 女, 河南濮阳人, 在读硕士, 现主要从事花卉采后研究工作。E-mail: niuweil205@gmail.com。

**责任作者:**潘东明(1956-), 男, 福建泉州人, 教授, 博士生导师, 现主要从事园艺植物生理生化研究工作。E-mail: pdm666@126.com。

**基金项目:**国家科技支撑计划资助项目(2007BAD07B06)。

**收稿日期:**2012-02-17

## Effect of GA<sub>3</sub> Treatment and Cold Storage on Growth Development of Lily of Over Ground Part

WANG Jian-yu

(College of Resources and Enviroment, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

**Abstract:** By soaking *Lilium siberia* bulbs with GA<sub>3</sub> solutions of different concentration, and after 60 days of cold storage, effects of external gibberellins on phenophase, process of growth development and quality of cut flower of *Lilium siberia* were studied. The results showed that the concentration of GA<sub>3</sub> in the shoot tip of *Lilium siberia* bulbs was higher in the optimal range, the quality traits were better, and the concentration of 200 mg/L was the best. In practice, spraying GA<sub>3</sub> solutions in squaring stage to enhance quality of cut flower.

**Key words:** GA<sub>3</sub>; *Lilium siberia*; growing development

有限公司生产。药品为 500 mL,分析纯。

## 1.2 试验方法

室内试验于 2011 年在福建农林大学园艺系生理实验室进行。试验先进行单因素条件优化,在此基础上再采用正交实验设计。

**1.2.1 材料预处理** 新鲜鳞茎洗净剥成片状,95%乙醇和等体积的石油醚脱脂处理 2 h,上清液回收乙醇,残渣放冻干机干燥用于提取多糖。冻干前后称重,计算得出样品失水率约为 65.23%<sup>[8]</sup>。

**1.2.2 提取工艺流程** 干燥鳞茎→粉碎→称取鳞茎粉 1 g→热水浸提→离心(15 000 r/min,20 min)→留上清,残渣相同条件下重复提取 1 次→合并上清液→无水乙醇沉淀 15 min→离心(10 000 r/min,5 min)→倒掉上清,沉淀定容至 100 mL→摇匀,得到待测粗多糖溶液<sup>[9-10]</sup>。

**1.2.3 提取工艺优化** 对影响粗多糖得率的提取温度(℃)、液固比(mL/g)、乙醇体积比(无水乙醇 mL/提取液 mL)、提取时间(h)等 4 个因素进行单因素试验,再以多糖得率为指标进行正交实验选取最佳实验条件组合。提取温度设 40、60、80、100℃,在液固比 15 mL/g,提取时间 4 h、乙醇体积比 4 条件下提取,并测定多糖含量。液固比设 5、10、15、20 mL/g,在所确定的最佳提取温度、提取时间 4 h、乙醇体积比 4 下提取,并测定多糖含量。乙醇加量比设 3、4、5、6,在所确定的最佳提取温度、最佳液固比、提取时间 4 h 下提取,并测定多糖含量。提取时间设 3、4、5、6 h,在所确定的最佳提取温度、最佳液固比、最佳乙醇体积比下提取,并测定多糖含量<sup>[11]</sup>。

## 1.3 酚酸法测粗多糖含量

**1.3.1 标准曲线的绘制** 精确称取葡萄糖 0.500 g,定容至 50 mL,吸取 1 mL 定容至 25 mL 制成母液,分别吸取母液 0.08、0.10、0.12、0.14、0.16、0.18、0.20 mL 溶液于试管中,加蒸馏水至 0.2 mL,再分别加 1 mL 苯酚、5 mL 浓硫酸,震荡摇匀后,沸水浴 15 min,冷却后在 490 nm 下测定吸光值<sup>[12]</sup>。3 次重复,以葡萄糖液浓度( $\mu\text{g/mL}$ )为横坐标,吸光值为纵坐标制作标准曲线,得到回归方程  $y=0.0196x-0.005$ , $r=0.9973$ 。

**1.3.2 样品粗多糖得率的测定** 按 1.2.2 操作得到粗多糖溶液,吸取 0.2 mL 于试管,加入 1 mL 苯酚、5 mL 浓硫酸,摇匀后静置,待冷却后在 490 nm 测定其吸光值,根据回归方程计算多糖得率<sup>[12]</sup>。多糖得率(%) =  $(C \times V \times 50 / 10^6) \times 100$ 。C 为供试液在回归方程中的葡萄糖含量,V 为所加入的液固比。

## 2 结果与分析

### 2.1 水仙鳞茎粗多糖单因素试验

**2.1.1 提取温度对多糖得率的影响** 由图 1 可知,提取温度对粗多糖得率的影响在起初温度相对较低时影响较小,当温度达到 80℃后得率随着提取温度的升高出现

明显增大,在 100℃达到最大,因此后续提取温度取 100℃<sup>[6-7]</sup>。

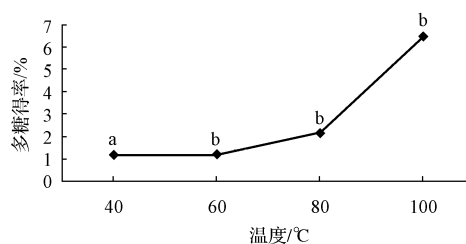


图1 提取温度(℃)对粗多糖得率的影响

**2.1.2 液固比对粗多糖得率的影响** 由图 2 可知,得率随着液固比的升高明显增大,当液固比升高到 15 mL/g 后,得率开始随液固比升高而略有下降。因此后续试验采用液固比 15 mL/g。

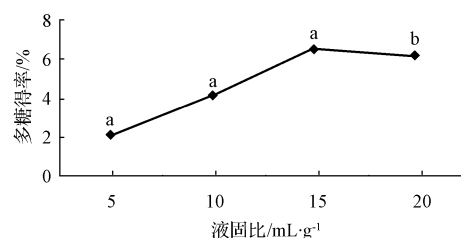


图2 液固比对粗多糖得率的影响

**2.1.3 乙醇加量比对粗多糖得率的影响** 由图 3 可知,乙醇体积比对粗多糖得率的影响较平缓,多糖得率随着乙醇体积比的升高而逐渐增大,但增大到一定值后就保持不变,因此后续试验选用乙醇体积比 5。

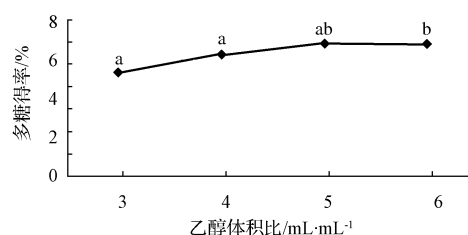


图3 乙醇加量比对粗多糖得率的影响

**2.1.4 提取时间对粗多糖得率的影响** 由图 4 可知,提取时间对粗多糖得率的影响在 4~5 h 之间有明显增长,并在 5 h 达到最大,之后得率不再随提取时间的延长而

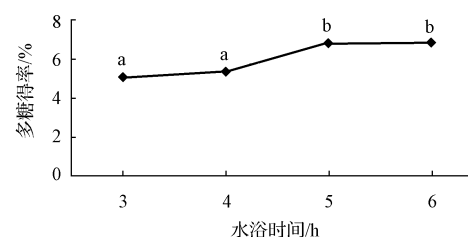


图4 提取时间对粗多糖得率的影响

增大,因此后试验选用 5 h 作为提取时间。

## 2.2 水仙鳞茎粗多糖提取正交实验

根据单因素试验结果,选取提取时间 A、提取温度 B、液固比 C、乙醇体积比 D 为考察因素,进行  $L_9(3^4)$  正交实验,因素水平见表 1,正交实验结果见表 2。

由表 1、2 可知,4 个因素对粗多糖得率影响的主次顺序为:提取温度>液固比>提取时间>乙醇加量比。最优提取条件为:提取时间 5.5 h,提取温度 100℃,液固比 10,乙醇加量比 5。在最优条件下提取水仙鳞茎粗多糖的得率为 6.51445%,此条件下测得的水仙鳞茎粗多糖含量为 3.8130%。

表 1 多糖提取的因素水平

水平	因素			
	A 提取时间 /h	B 提取温度 /℃	C 液固比 /mL · g <sup>-1</sup>	D 乙醇体积比 /mL · mL <sup>-1</sup>
1	4.5	80	10	4
2	5.0	90	15	5
3	5.5	100	20	6

表 2 多糖提取的正交实验结果

编号	因素				得率 /%
	A 提取时间 /h	B 提取温度 /℃	C 液固比 /mL · g <sup>-1</sup>	D 乙醇体积比 /mL · mL <sup>-1</sup>	
1	1	1	1	1	2.572589
2	1	2	2	2	4.988227
3	1	3	3	3	6.424392
4	2	1	2	3	3.069406
5	2	2	3	1	5.215983
6	2	3	1	2	5.088534
7	3	1	3	2	3.620506
8	3	2	1	3	4.106702
9	3	3	2	1	6.514079
K <sub>1</sub>	5.7450	4.0410	7.4340	6.0075	
K <sub>2</sub>	6.1470	6.3360	6.1290	6.4530	
K <sub>3</sub>	6.4755	7.9905	4.8045	5.9070	
R	0.0812	0.4388	0.2922	0.0607	

## 3 结论

水仙鳞茎中的粗多糖含量为 3.8130%,采用热水浸提法,操作简单,能有效提取水仙鳞茎中的多糖。提取条件对水仙鳞茎粗多糖的影响主次顺序为:提取温度>液固比>提取时间>乙醇加量比。提取的最优条件为:提取时间 5.5 h,提取温度 100℃,液固比 10,乙醇加量比 5。在最优条件下提取水仙鳞茎粗多糖的得率为 6.51445%。

## 参考文献

- [1] 陈段芬,高健,彭镇华.水仙属植物研究进展[J].林业科学,2008,44(3):141-146.
- [2] 吕柳新,陈晓静,余小玲,等.水仙品种资源的育种基础研究I多花水仙若干品种类型的细胞学研究[J].福建农学院学报,1989,18(1):31-36.
- [3] 吴菁华,吕柳新,张志忠.用 RAPD 标记研究多花水仙若干品种类型的亲缘关系[J].中国农学通报,2005,21(8):299-301.
- [4] 陈振光.中国水仙组织培养快速繁殖研究初报[J].福建农学院学报,1982(1):9-13.
- [5] 陈晓静.福建 3 个产地水仙的核型分析[J].植物资源与环境学报,2004,13(4):28-31.
- [6] Ehret C, Maupetit P, Petrzilka M. New organoleptically important components from *Narcissus absolute* (*Narcissus poeticus* L.) // Bhattacharyya S C, Sen N, Sethi K L. Proceedings of the 11th international congress of essential oils, fragrances and flavours [M]. London, UK: Aspect Publishing, 1990: 49-55.
- [7] Hanks G R. *Narcissus* and daffodil; the genus *Narcissus* [M]. London: CRC Press, 2002.
- [8] 李小平.红枣多糖提取工艺研究及其生物功能初探[D].西安:陕西师范大学,2004:4-5.
- [9] 刘慧燕,赵谋明.江蓠低分子量多糖的提取以及抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2005,26(3):67-69.
- [10] 刘静平,朱先红,贾景明.正交实验优选铁皮石斛类原球茎多糖的提取纯化工艺[J].中国药房,2011,22(15):1378-1380.
- [11] 王晓梅,张忠山,郑卫红,等.生姜多糖的提取纯化工艺及鉴定[J].中国调味品,2011,36(5):44-51.
- [12] 郝晓敏,谷长生,宋文东,等.酸法江蓠菜岩藻多糖提取工艺及其性质研究[J].安徽农业科学,2007,35(30):9704-9705,9735.

## Optimization of the Extraction of Crude Polysaccharides from Bulb of *Narcissus*

NIU Wei<sup>1,2</sup>, PAN Dong-ming<sup>1,2</sup>, JIA Yuan-ying<sup>1</sup>

(1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002; 2. Fuzhou Horticultural Products Ship and Preservation Institute, Fuzhou, Fujian 350002)

**Abstract:** To measure the amount of the crude polysaccharides from the bulb of *Narcissus* (CPNs), water extraction technology were used to get CPNs. Optimizing the extraction method with the extraction ratio as index, and used the liquid-solid ratio, extraction temperature, ethanol-sample ratio and extraction time as factors were studied. The results showed that the best extraction method was extracting 5.5 h, at 100℃, using 10 as liquid-solid ratio and setting the ethanol-sample ratio 5, and the extraction ratio of CNPs was 6.51445%, the amount of CPNs was 3.8130%.

**Key words:** crude polysaccharides from the bulb of *Narcissus* (CPNs); water extraction; orthogonal test