

超声波辅助提取库拉索芦荟多糖工艺优化研究

王玲丽¹, 杨兆艳², 郭艳茹¹

(1. 运城学院 生命科学系, 山西 运城 044000; 2. 山西药科职业学院, 山西 太原 030031)

摘 要:以库拉索芦荟为试材,以芦荟多糖得率为指标,在料液比、超声温度、超声时间、乙醇浓度单因素试验的基础上,应用微波超声波提取法采用4因素3水平正交实验优化了库拉索多糖的最佳提取工艺。结果表明:在料液比1:40,超声温度70℃,超声时间50 min,乙醇浓度70%的条件下,库拉索芦荟多糖得率可达8.091%。该提取工艺条件简单、稳定、可行,值得广泛应用。

关键词:库拉索芦荟;芦荟多糖;超声波;提取

中图分类号:TS 255.36 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)19-0141-03

芦荟(*Aloe*)属百合科(Liliaceae)芦荟属(*Aloe*)多年生常绿肉质草本植物,分布极广^[1]。芦荟多糖是芦荟的主要活性成分,具有杀菌、消炎、抗辐射、抗肿瘤、抗衰老、抗内毒素、免疫调节等多种药理作用^[2-3]。库拉索芦荟多糖是带支链的甘露聚糖,以甘露糖为支链连接点,其中葡萄糖、甘露糖含量比为1:22^[4]。2008年6月库拉索芦荟凝胶被中华人民共和国卫生部批准为新资源食品及原料^[5]。该试验以库拉索芦荟干粉为原料,通过单因素试验及正交实验研究超声波辅助提取库拉索芦荟多糖的工艺,以期对芦荟的进一步开发利用提供一定的理论与科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试库拉索芦荟购于运城花卉市场,洗净切成块置于70℃的电热鼓风干燥箱中进行干燥,研磨成粉过60目筛后保存备用。

无水乙醇、浓盐酸、浓硫酸、氢氧化钠、苯酚、D-甘露糖等均为分析纯。

电热恒温水浴锅 HHS(天津市华北仪器有限公司);数控超声波清洗器 K-500DE(昆山市超声仪器有限公司);电热恒温鼓风干燥箱 101-3BS(金坛市荣华仪器有限公司);离心沉淀机 800(江苏金坛市自动化仪器厂);旋转蒸发仪 RE52AA(上海亚荣生化仪器厂);紫外可见分光光度计 UV-2100(尤尼柯(上海)仪器有限公司);药材粉碎机 LD-700A(上海顶帅电器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 芦荟多糖的提取

精密称取芦荟粉末1 g于锥

形瓶中,在设定条件下进行浸提、过滤,收集滤液,旋转蒸发仪减压浓缩。加入3倍体积乙醇沉淀24 h,使其完全沉淀。3 000 r/min离心10 min,倒掉滤液,无水乙醇洗涤沉淀,即为芦荟粗多糖。最后,用100 mL容量瓶定容,即为样品溶液。

1.2.2 标准曲线的制作方法 称取苯酚固体3 g,蒸馏水溶解,定容至100 mL,避光保存。精确称取干燥至恒重的D-甘露糖标准品100 mg置于100 mL的容量瓶中,然后加蒸馏水定容。从中精确吸取5 mL置于100 mL容量瓶中,加蒸馏水定容。分别精确吸取0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8 mL置于试管中,各加蒸馏水至2 mL,后加5%苯酚1 mL摇匀,再迅速加入5 mL浓硫酸室温静置5 min,在沸水浴中放置15 min,冷却至室温。以2.0 mL蒸馏水为空白对照,分光光度计法于490 nm波长处测定吸光度。

1.2.3 单因素试验 超声温度对多糖得率的影响:分别精确称取干燥的芦荟粉末各1 g置于5个锥形瓶中,超声温度分别为50、60、70、80、90℃;超声时间对多糖得率的影响:分别精确称取干燥的芦荟粉末各1 g置于5个锥形瓶中,超声时间分别设定为20、30、40、50、60 min;料液比对多糖得率的影响:分别精确称取干燥的芦荟粉末各1 g置于5个锥形瓶中,按照料液比分别为1:10、1:20、1:30、1:40、1:50对芦荟多糖进行浸提;乙醇浓度对多糖得率的影响:分别精确称取干燥的芦荟粉末各1 g置于5个锥形瓶中,在设定条件下进行浸提、过滤,收集滤液,旋转蒸发仪减压浓缩,分别加入三倍量浓度为50%、60%、70%、80%、90%乙醇沉淀24 h。

1.2.4 超声波提取正交实验设计 在单因素试验的基础上确定因素水平并进行正交实验,确定超声波辅助提取法的最佳条件。因素与水平见表1。

第一作者简介:王玲丽(1980-),女,山西长治人,硕士,讲师,研究方向为药用植物学。E-mail:wanglingli_521@163.com.

收稿日期:2013-05-22

表 1 正交实验因素水平

水平	因素			
	超声温度/℃	超声时间/min	料液比	乙醇浓度/%
1	60	40	1:20	70
2	70	50	1:30	80
3	80	60	1:40	90

1.3 项目测定

采用苯酚-硫酸比色法^[6],分别取 1 mL 的样品溶液置于 20 mL 具塞管中,补水至 2.0 mL,加 3% 苯酚 1.0 mL,冷水中加入浓硫酸 5.0 mL,在冷水中放置 5 min,摇匀,置沸水浴中 15 min,再置冷水中 5 min,在 490 nm 处测吸光值。将提取液所测得的吸光度代入标准曲线方程可以计算出多糖浓度 $C(\text{mg/mL})$,则得多糖得率 $(\%) = (C \times 100)/m$ 。其中, m 为样品干质量(g)。

2 结果与分析

2.1 标准曲线制作结果

从图 1 可以看出,以 D-葡萄糖标准品浓度为横坐标,以吸光度为纵坐标得到 D-甘露糖标准曲线为: $y = 44.897x + 0.0025$ ($R^2 = 0.9992$)。

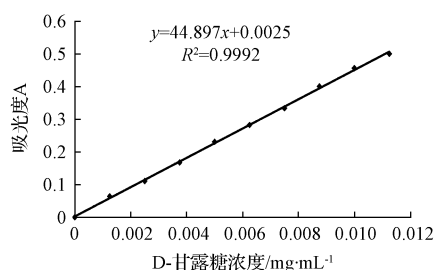


图 1 D-甘露糖标准曲线

2.2 单因素试验结果

2.2.1 超声温度对芦荟多糖得率的影响 由图 2 可知,随着超声温度的增加,芦荟多糖的得率先迅速增大后变小。当温度为 70℃ 时,得率最高,为 5.112%。

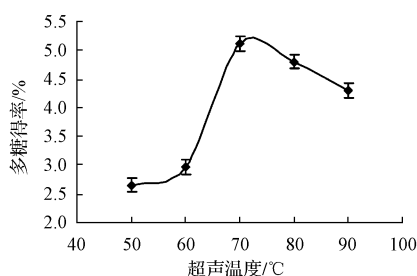


图 2 超声温度对多糖得率的影响

2.2.2 超声时间对芦荟多糖得率的影响 由图 3 可知,随着超声时间的增大,芦荟多糖的得率先变大后变小。当超声时间为 50 min 时,芦荟多糖得率最高,为 4.521%。从提取效果上看,时间过长会破坏其中的有机成分,影响提取效果。

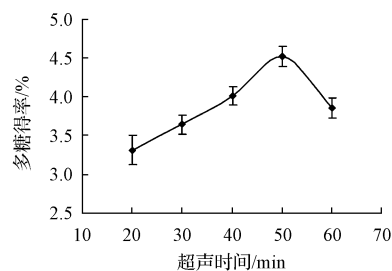


图 3 超声时间对多糖得率的影响

2.2.3 料液比对芦荟多糖得率的影响 由图 4 可知,随着料液比的增大,芦荟多糖的得率先增大后保持平缓。根据固液萃取基本理论,增大溶剂的用量有利于溶质的溶出,当料液比为 1:30 时芦荟多糖得率随着料液比继续增大得率变化不明显。

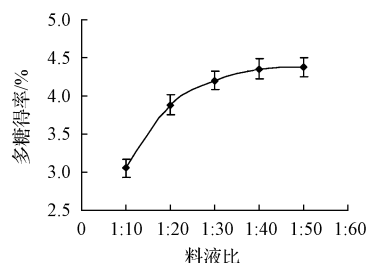


图 4 料液比对多糖得率的影响

2.2.4 乙醇浓度对芦荟多糖得率的影响 由图 5 可知,随着乙醇浓度的增大,芦荟多糖的得率先变大后变小。当乙醇浓度为 70% 时,芦荟多糖中的得率最高,为 4.881%。

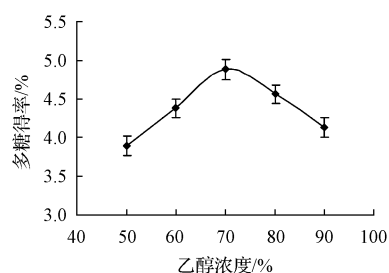


图 5 乙醇浓度对多糖得率的影响

2.3 正交实验结果

由表 2 可知,影响芦荟多糖得率的各因素 $C > A > D > B$,即料液比影响最大,超声温度次之,乙醇浓度和超声时间影响较小。从各因素水平 (k 值分析),对于芦荟多糖得率的影响来看,A 因素 $k_2 > k_3 > k_1$,B 因素为 $k_2 > k_1 > k_3$,C 因素为 $k_3 > k_2 > k_1$,D 因素为 $k_2 > k_3 > k_1$,根据以上直观分析结果,其正交实验提取条件为 $A_2B_2C_3D_2$,从芦荟多糖得率的指标看,提取条件为 $A_2B_2C_3D_1$ 。在外界因素一定的条件下,对 $A_2B_2C_3D_2$ 与 $A_2B_2C_3D_1$ 进行 3 次重复验证试验,得出在该试验条件下的多糖得率为 8.091%,而在正交最优方案条件下的芦荟多糖得率为

7.553%。所以,最佳提取工艺为 $A_2B_2C_3D_1$,即料液比为 1:40,超声温度为 70℃,超声时间为 50 min,乙醇浓度为 70%。

表2 超声波法对芦荟多糖提取工艺
正交实验结果

试验 序号	因素 A 超声温度	B 超声时间	C 料液比	D 乙醇浓度	提取率 /%
1	1	1	1	1	2.972±0.133
2	1	2	2	2	5.374±0.124
3	1	3	3	3	6.321±0.130
4	2	1	2	3	6.973±0.131
5	2	2	3	1	8.091±0.138
6	2	3	1	2	5.776±0.142
7	3	1	3	2	7.342±0.127
8	3	2	1	3	4.634±0.129
9	3	3	2	1	4.384±0.123
k_1	4.899	5.762	4.461	5.147	
k_2	6.947	6.033	5.577	6.164	
k_3	5.453	5.494	7.251	5.976	
R	2.048	0.539	2.790	1.017	
因素主次 C>A>D>B					
最优方案 $A_2B_2C_3D_1$					

3 结论与讨论

超声波辅助提取库拉索芦荟多糖的单因素试验结果表明,超声温度、超声时间、料液比和乙醇浓度都会显著影响芦荟多糖的得率。随着超声温度增加,多糖得率先增加而后呈下降趋势,一方面破坏了其中的有机活性成分,杂质溶出量增加,给后续的操作带来不便,另一方面浪费时间和资源。所以适当的控制温度,既可以节约资源又可以提高得率。超声时间过长会使多糖提取量降低,其原因可能是时间过长产热多,使浸出液温度过高从而对多糖结构有一定的损害,致使多糖提取量减

少。增加料液比可以增加多糖的溶出,但料液比过大会使后续提取体积过大、试剂消耗过多、多糖浪费严重,反而降低提取率。

通过正交实验确定了超声波法的最佳工艺:料液比 1:40,超声温度 70℃,超声时间 50 min,乙醇浓度 70%,芦荟多糖得率最高,可达 8.091%。当超声振动时能产生并传递强大的能量,引起媒介以大的速度加速进入振动状态,使媒介结构发生变化,促进有效成分进入溶剂中,同时,超声波在液体中还会产生空化作用。空化泡在瞬间涨大并破裂,破裂时吸收的声场能量在极短时间和极小空间内释放出来,形成高温和高压的环境,同时伴随有强大的冲击波和超声波,从而破坏细胞壁结构,使其在瞬间破裂,植物细胞内有效成分得以释放,直接进入溶剂并充分混合,从而提高提取率^[7]。该提取工艺条件简单、稳定、可行,既可以节能环保,也可以造福人类。

参考文献

- [1] 齐永强,李俊强.芦荟栽培与加工利用[M].长春:吉林科技出版社,2000.
- [2] Femenia A, Sánchez E S, Simal S, et al. Compositional features of polysaccharides from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues[J]. Carbohydrate Polymers, 1999, 39(2): 109-117.
- [3] 何敬钊,何丽端,杨安平,等.中华芦荟多糖护肝作用实验研究[J].社区医学杂志,2007,5(11):49-50.
- [4] 邓明勇,伍参荣,扈凤平.芦荟多糖对衰老小鼠免疫器官的影响[J].湖南中医药大学学报,2008,28(2):25-27.
- [5] 左朝胜.我国芦荟食用有了市场准入证[N].科技日报,2008-06-18.
- [6] 屠鹏飞,徐国钧,徐璐珊,等.沙参类的研究Ⅲ:多糖类含量测定[J].中草药,1992,23(7):355-356.
- [7] 杨宇博,夏红梅,袁恒翼,等.植物多糖及其提取方法[J].中国甜菜糖业,2008,24(2):35-36.

Study on the Optimization of Extraction Technology of Polysaccharides from *Aloe vera* L. by Ultrasonic-assisted Method

WANG Ling-li¹, YANG Zhao-yan², GUO Yan-ru¹

(1. Department of Life Sciences, Yuncheng University, Yuncheng, Shanxi 044000; 2. Shanxi Pharmaceutical Vocational College, Taiyuan, Shanxi 030031)

Abstract: Taking *Aloe vera* L. as material, the polysaccharide in *Aloe vera* L. was extracted by ultrasonic-assisted method, and four factors including the material-liquid ratio, the ultrasonic temperature, the ultrasonic time and the ethanol concentration were analyzed in the index of polysaccharide yield. The process conditions were optimized through four factors and three levels orthogonal test. The results showed that the extraction yield could be up to 8.091% under the optimum polysaccharide extraction conditions which were as follows the ratio of solid to liquid 1:40, ultrasonic temperature 70℃, ultrasonic time 50 min, and ethanol concentration 70%. This process was simple, stable and feasible, so it was worth to be used widely.

Key words: *Aloe vera* L.; polysaccharide; ultrasonic; extraction