

# 苦豆子多糖的超声波提取优化及理化性质研究

曹楠楠<sup>1</sup>, 陈向荣<sup>2</sup>, 吴艳<sup>1</sup>

(1.上海交通大学农业与生物学院, 陆伯勋食品安全研究中心, 上海 200240)

(2.山东省烟台市烟台山医院, 山东烟台 264001)

**摘要:** 利用响应面法优化超声波提取苦豆子多糖最佳工艺条件。在单因素实验的基础上, 以超声提取时间、超声功率、提取温度、水料比为自变量, 以苦豆子多糖得率为响应值, 做四因素三水平响应面回归分析。通过分析各因素的显著性和交互作用, 优化得到苦豆子多糖的超声波提取最佳工艺条件为: 超声时间 30 min, 超声功率 280 W, 提取温度 50 ℃, 水料比 50:1, 此条件下多糖得率为 8.51%, 与理论预测值无显著性差异。因此, 采用响应面法分析优化苦豆子多糖的超声波提取工艺稳定可行。超声波提取苦豆子多糖与传统热水提取苦豆子多糖工艺相比, 提取时间明显缩短, 提取温度降低, 多糖得率提高。采用红外吸收光谱、紫外吸收光谱以及气相色谱对多糖结构进行初步分析, 确定苦豆子多糖的理化性质。

**关键词:** 响应面分析; 苦豆子; 多糖; 超声波提取; 理化性质

文章编号: 1673-9078(2014)2-209-215

## Optimization of Ultrasonic Extraction and Physicochemical Characteristics of Polysaccharides from *Sophora alopecuroides* Seeds

CAO Nan-nan<sup>1</sup>, CHEN Xiang-rong<sup>2</sup>, WU Yan<sup>1</sup>

(1. Bor S. Luh Food Safety Research Center, School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China) (2. Yantai Mountain Hospital, Yantai 264001, China)

**Abstract:** Response surface methodology (RSM) was used to optimize the ultrasonic extraction process of polysaccharides from *Sophora alopecuroides* seeds. RSM was employed to evaluate the interactive effects and significance of four crucial variables including ultrasonic extraction time, ultrasonic power, extraction temperature and ratio of water to seed, mathematical model for the yield of polysaccharides from *Sophora alopecuroides* seeds as functions was established. The optimum conditions were: ultrasonic extraction time 30 min, ultrasonic power 280 W, extraction temperature 50 ℃, water to seed ratio 50:1. Under the optimized conditions, the yield was up to 8.51%, which was in close agreement with value predicted by the model. Compared with traditional hot water extraction, the ultrasonic extraction shortened extraction time, lowered extraction temperature and increased extraction yield. The structural properties of polysaccharides were preliminarily analyzed by IR spectroscopy, UV spectra and gas chromatograph (GC), and the physicochemical properties of polysaccharides were determined.

**Key words:** response surface methodology; *Sophora alopecuroides* seeds; polysaccharides; ultrasonic extraction; physicochemical properties

苦豆子 (*Sophora alopecuroides* L.) 别名布亚 (维吾尔译名)、苦豆草、苦甘草等, 是豆科 (*Leguminosae*) 槐属多年生草本植物, 主要分布于我国甘肃、内蒙古、宁夏、青海、新疆等西北省荒漠、半荒漠区内较潮湿地段。苦豆子不仅是可利用的牧草和优良的固沙植物, 还是重要的药用植物, 其用途广泛, 资源丰富, 开发

收稿日期: 2013-09-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31271822)

作者简介: 曹楠楠 (1989-), 女, 硕士研究生, 主要从事天然产物功能因子的研究

通讯作者: 吴艳 (1977-), 女, 博士, 副研究员, 主要从事天然产物功能因子的研究

利用价值极高<sup>[1]</sup>。经《本草纲目》记载及大量文献表明, 苦豆子具有抗菌、消炎、平喘止咳、抗癌、增强免疫力等生物活性功能<sup>[2]</sup>。其主要化学成分除生物碱外, 还具有黄酮类、蛋白质、有机酸、多糖等生物活性物质<sup>[3]</sup>。目前, 国内外对苦豆子都有研究, 但主要集中在生物碱方面, 对苦豆子多糖成分的研究相对不足<sup>[4-5]</sup>。苦豆子多糖的主要成分是半乳甘露聚糖, 半乳甘露聚糖具有抗癌活性, 也可作为抗原进行疾病诊断, 并具有减肥等药理功效<sup>[6-9]</sup>, 因此对苦豆子多糖的研究具有重要的现实意义, 本实验主要研究苦豆子多糖的提取工艺。

传统加热或煮沸法提取可溶性多糖的过程中, 易

因电离、水解和氧化而造成多糖活性物质的损失。近年来,超声波提取、微波提取以及超临界萃取等新型提取技术被较多的应用于活性物质的提取,而超声波提取技术因其在植物多糖提取中的众多优点更是被广泛采用,如经济简便高效、能显著降低提取温度、节约溶剂、缩短提取时间、便于产品纯化、对产品结构及理化性质影响较少,通过避免降解反应而更适于热不稳定物质的提取<sup>[10-12]</sup>。目前采用超声波提取苦豆子多糖的研究尚鲜见报道,本实验采用超声波技术提取苦豆子多糖,通过响应面法优化确定最佳提取工艺参数,采用红外吸收光谱、紫外吸收光谱以及气相色谱对多糖结构进行分析,确定苦豆子多糖理化性质,在保证苦豆子多糖原有的结构和功能活性的前提下,旨在为苦豆子多糖的深入开发应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

野生苦豆子种子,采自内蒙古巴彦淖尔市杭锦后旗,经粉碎后使用。石油醚(AR)、95%乙醇、浓硫酸(AR)、苯酚(AR)、葡萄糖(AR)、三氟乙酸(AR)。

### 1.2 仪器与设备

THC型数控超声波提取机:济宁天华超声电子仪器有限公司;TGL-16M高速台式冷冻离心机:上海卢湘仪离心机仪器有限公司;UV-1800紫外可见分光光度计:日本SHIMADZU公司;旋转蒸发器:上海申生科技有限公司;HWS24型电热恒温水浴锅:上海恒科学仪器有限公司;SHB-III循环水式多用真空泵:上海诚育仪器设备有限公司;冷冻干燥机:北京博医康实验仪器有限公司;MDF-U52V超低温冰箱:日本SANYO公司;Milli-Q MILIPORE超纯水系统(美国);PL203电子天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;Waters 2410紫外检测器:Waters公司;EQUINOX 55傅立叶变换红外-拉曼光谱仪:德国BRUKER公司;气相色谱仪GC-14A型:日本Shimadzu公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 苦豆子多糖的超声波提取工艺

干燥苦豆子→粉碎→石油醚浸泡→95%乙醇浸泡→超声波提取→离心→旋转蒸发浓缩→乙醇沉淀→水复溶→冷冻干燥→苦豆子粗多糖

苦豆子预处理粉的制备:向粉碎的苦豆子粉中加入3倍体积的石油醚,不断搅拌,浸泡2d,每天更换2次石油醚,干燥得脱脂后的苦豆子粉。接着,再向

上述苦豆子粉中加入3倍体积的95%乙醇,浸泡2天,每天更换2次95%乙醇,除去小分子、低聚糖、挥发油等物质。抽滤,得乙醇浸提后的干燥预处理苦豆子粉。

称取40g苦豆子预处理粉,以水作为溶剂,按照不同的超声提取时间、不同提取功率、不同提取温度以及不同水料比进行超声波提取,将提取液离心,其残渣按照同样的超声提取条件重复提取1次,合并提取液,将提取液进行旋转蒸发浓缩,向浓缩后的多糖溶液中加入4倍体积的95%乙醇,静置过夜,沉淀析出多糖,将得到的多糖加水复溶,离心,对上清液进行冷冻干燥,即得苦豆子粗多糖。

#### 1.3.2 苦豆子多糖得率的计算

采用改良的硫酸-苯酚比色法测定多糖的含量<sup>[13]</sup>。以葡萄糖制作标准曲线,回归方程为葡萄糖质量浓度 $C(\mu\text{g/mL})=176.01A_{490}-1.6875$ ,相关系数为 $R^2=0.9928$ ,测得提取液中多糖含量后,按下式计算样品中多糖得率(以预处理粉计)。

$$\text{多糖得率}/\% = \frac{C \times V \times 10^{-6}}{m} \times 100$$

注:C为提取液中多糖的质量浓度( $\mu\text{g/mL}$ );V为提取液的体积mL;m为称取的预处理粉的质量/g。 $A_{490}$ 为测定的多糖吸光度值。

### 1.4 单因素实验

用水作溶剂进行提取,分别以超声提取时间、超声功率、提取温度、水料比为因素,以苦豆子多糖得率为指标进行单因素实验。

### 1.5 响应面法试验设计

在单因素实验的基础上,以超声提取时间、超声功率、提取温度、水料比为自变量,以多糖得率为响应值,采用SAS系统V8.0程序进行响应面分析<sup>[14]</sup>,对超声波提取工艺参数进行优化。

### 1.6 苦豆子多糖红外光谱分析

将2.0mg多糖干燥样品,与KBr研磨后压片,在4000~500 $\text{cm}^{-1}$ 区域内进行红外光谱扫描。

### 1.7 苦豆子多糖紫外光谱分析

配制多糖溶液0.5mg/mL,于紫外可见分光光度计中进行波长190~400nm范围内紫外光谱扫描。

### 1.8 苦豆子多糖单糖组成分析

将多糖水解为单糖。取多糖样品5mg于具塞管

中,加入 2 mol/L 的 TFA 溶液 2 mL 于 121 °C 水解 1.5 h, 除去过量的 TFA 后, 旋转蒸发浓缩。精密称取鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖标准品适量。采用糖脎乙酸酯衍生法, 加 10 mg 盐酸羟胺、适量肌醇(内标)和 0.5 mL 吡啶, 90 °C 加热 30 min 后, 取出冷却至室温, 加入 0.5 mL 醋酸酐, 90 °C 下继续反应 30 min 进行乙酰化。反应产物直接进样作气相色谱(GC)分析, 根据出峰时间判断单糖种类, 根据峰面积比值确定各单糖间比例关系。

气相色谱条件: 采用 OV1701 石英毛细管色谱柱 (Φ 0.32 mm×30 m), 载气为 N<sub>2</sub>, 流速 1.5 mL/min, FID 氢火焰检测器, 气化室温度 260 °C, 检测器温度 250 °C, 采用程序升温, 起始温度 150 °C, 停留 1 min 然后以 10 °C/min 升温至 190 °C, 停留 1 min 再以 3 °C/min 升温至 240 °C, 停留 20 min。

### 1.9 数据分析

做 3 次平行实验测定多糖提取液吸光度值并按照 1.3.2 中公式对多糖得率计算, 采用 Excel 和 SAS 系统 V8.0 程序对数据进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 苦豆子多糖超声波提取单因素实验

#### 2.1.1 超声时间对苦豆子多糖得率的影响

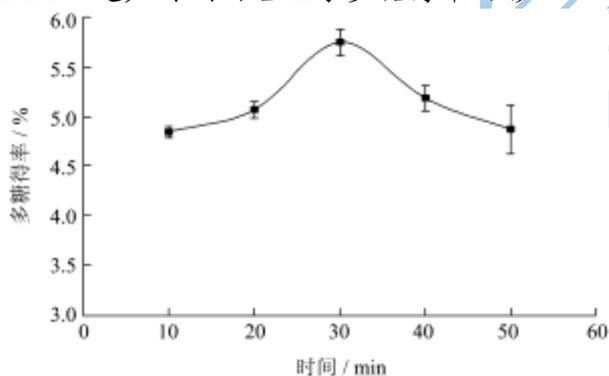


图 1 超声时间对苦豆子多糖得率的影响

Fig.1 Effect of extraction time on the extraction yield of polysaccharides

将预处理苦豆子粉加水(水料比 50:1), 在提取温度 50 °C, 超声功率 280 W 的固定条件下, 分别提取 10 min、20 min、30 min、40 min、50 min, 实验结果见图 1。如图 1 所示, 苦豆子多糖得率随着提取时间的延长而提高, 当超声时间增加至 30 min 时, 之后随着时间增加多糖得率开始下降。结果说明, 在较短时间内超声可使细胞破碎, 位于细胞壁和细胞内的多糖得以释放。当提取时间过长时, 一方面可能是由于超

声波的空化效应作用力有所减少, 使得苦豆子颗粒表面对多糖吸附力增加, 影响多糖成分的析出, 从而使多糖得率下降; 另一方面, 超声时间的延长可能使多糖结构破坏成为单糖, 由此造成多糖含量的减少。因此本实验中选择 30 min 为最佳超声时间。

#### 2.1.2 超声功率对苦豆子多糖得率的影响

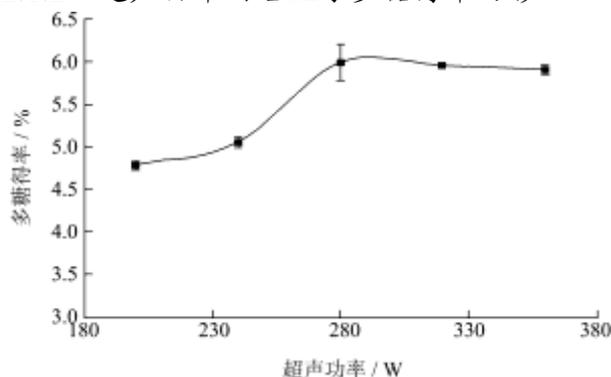


图 2 超声功率对苦豆子多糖得率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic power on the extraction yield of polysaccharides

预处理苦豆子粉加水(水料比 50:1), 并将提取温度设置为 50 °C, 然后分别在超声功率为 200 W、240 W、280 W、320 W、360 W 的条件下提取 30 min。结果如图 2 所示, 当超声波功率小于 280 W 时, 多糖得率随着超声功率的增加而明显提高; 当超声波功率超过 280 W 时, 多糖得率随着功率的增加而略有下降。分析原因可能是随着超声功率的增加, 超声的空化作用、机械剪切的搅拌作用随之加强, 细胞充分破裂多糖加速溶出; 当超声波功率过大时, 可能会引起局部溶液瞬时升温过热, 从而造成多糖分子链裂解多糖得率有所降低<sup>[1]</sup>。由此确定多糖超声波提取功率 280 W 最好。

#### 2.1.3 提取温度对苦豆子多糖得率的影响

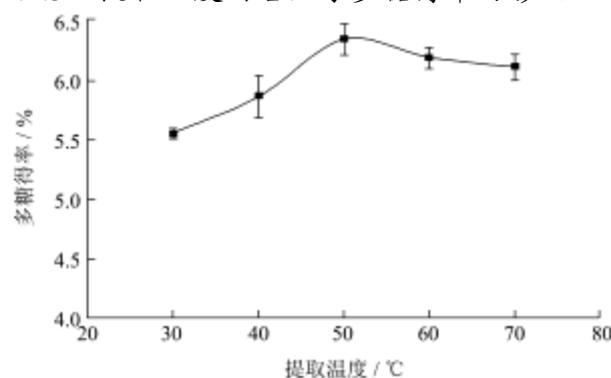


图 3 提取温度对苦豆子多糖得率的影响

Fig.3 Effect of temperature on the extraction yield of polysaccharides

固定超声功率 280 W, 超声时间 30 min, 水料比 50:1, 在提取温度 30 °C、40 °C、50 °C、60 °C、70 °C

时各提取 1 次, 结果如图 3 所示。由图 3 可知, 当提取温度为 50 °C 时, 多糖得率最高。当温度小于 50 °C 时, 可能由于温度不够, 多糖未能充分溶解于水溶剂中, 所以随着温度的升高, 多糖分子的扩散传质运动加剧, 多糖逐渐溶出含量增加; 当温度大于 50 °C 时, 随着温度的升高多糖得率有所下降, 鉴于温度过高对苦豆子多糖活性及结构的影响以及出于对仪器最佳性能的考虑, 选取最佳提取温度 50 °C。

### 2.1.4 水料比对苦豆子多糖得率的影响

分别以 20:1、30:1、40:1、50:1、60:1 的比例向预处理苦豆子粉中加入水溶剂, 在超声功率 280 W, 超声时间 30 min, 提取温度 50 °C 的固定条件下进行提取, 结果如图 4 所示。随着溶剂体积的不断增大, 多糖得率明显提高, 当溶剂体积大于 50:1 时, 得率出现不明显的下降。分析其原因可能如下, 随着溶剂比例的增加, 溶液中多糖浓度降低, 苦豆子多糖扩散的压力差增大, 有利于多糖扩散; 由于多糖扩散量一定, 故继续增加容积比例, 也不会促进多糖的扩散, 又考虑到后续旋转蒸发浓缩及醇沉的实际可操作性及成本增加问题, 确定最佳水料比 50:1。

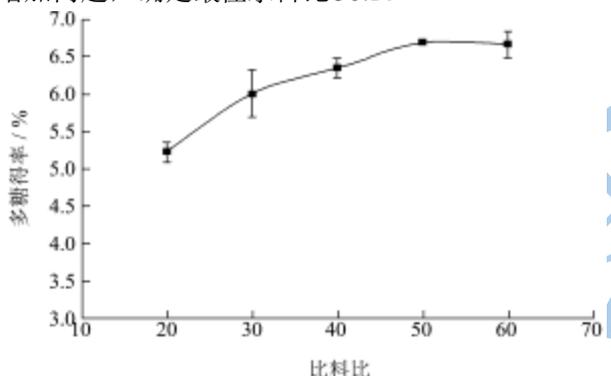


图 4 水料比对苦豆子多糖得率的影响

Fig.4 Effect of water to seed ratio on the extraction yield of polysaccharides

## 2.2 苦豆子多糖超声波提取的响应面分析

### 2.2.1 响应面分析试验结果

表 1 苦豆子多糖超声波提取工艺优化响应面分析试验因素水平表

Table 1 Independent variables and their coded values tested in response surface analysis

水平	因素			
	X <sub>1</sub> (超声时间/min)	X <sub>2</sub> (超声功率/W)	X <sub>3</sub> (温度/°C)	X <sub>4</sub> (水料比/mL/g)
-1	20	240	40	40
0	30	280	50	50
1	40	320	60	60

根据单因素实验结果及实验成本、物料原有结构和生物活性等条件, 确定响应面因素及水平编码如表 1。

表 2 苦豆子多糖超声波提取工艺优化响应面分析试验设计及结果

Table 2 Experimental design and corresponding results for response surface analysis

试验编号	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	得率 Y/%
1	-1	-1	0	0	5.60±0.06 <sup>a</sup>
2	-1	1	0	0	6.39±0.07
3	1	-1	0	0	6.78±0.07
4	1	1	0	0	7.90±0.23
5	0	0	-1	-1	6.27±0.06
6	0	0	-1	1	6.65±0.04
7	0	0	1	-1	6.87±0.08
8	0	0	1	1	7.27±0.09
9	-1	0	0	-1	5.60±0.05
10	-1	0	0	1	6.74±0.03
11	1	0	0	-1	7.15±0.08
12	1	0	0	1	7.35±0.17
13	0	-1	-1	0	5.95±0.13
14	0	-1	1	0	6.50±0.09
15	0	1	-1	0	6.69±0.17
16	0	1	1	0	7.49±0.08
17	-1	0	-1	0	5.70±0.03
18	-1	0	1	0	6.30±0.05
19	1	0	-1	0	7.18±0.13
20	1	0	1	0	7.78±0.03
21	0	-1	0	-1	6.00±0.10
22	0	-1	0	1	6.36±0.14
23	0	1	0	-1	6.90±0.17
24	0	1	0	1	7.49±0.24
25	0	0	0	0	8.28±0.24
26	0	0	0	0	8.32±0.16
27	0	0	0	0	8.42±0.14

注: <sup>a</sup> 平均值±标准偏差 (n=3, n 为平行测定实验次数)。

根据 Box-Behnken 试验设计原理, 具体实验设计方案及结果见表 2, 共 27 个试验点分为两类, 试验 1~24 是析因点, 为自变量取值在各因素所构成的三维顶点; 试验 24~27 是零点, 为区域的中心点, 中心试验重复 3 次, 用以估计试验误差。以苦豆子多糖得率为响应值, 通过对数据的二次多项回归拟合, 获得率与提取条件之间的二次回归方程如下:

$$Y=8.35+0.65X_1+0.47X_2+0.31X_3+0.26X_4-0.82X_1^2+0.08X_2X_1-0.87X_2^2+0.06X_3X_2-0.80X_3^2-0.24X_4X_1+0.06X_4X_2+0$$

$$.01X_4X_3-0.80X_4^2$$

表 3 响应面回归模型的方差分析

Table 3 Analysis of variance for the fitted regression model

方差来源	自由度	平均平方和	F	P	显著性
回归模型	14	0.9912	96.20	<0.0001	**
$X_1$	5	1.7849	139.28	<0.0001	**
$X_2$	5	1.3606	106.17	<0.0001	**
$X_3$	5	0.9199	71.78	<0.0001	**
$X_4$	5	0.8838	68.96	<0.0001	**
一次项	4	0.5589	189.85	<0.0001	**
二次项	4	0.4164	141.43	<0.0001	**
交互项	6	0.0159	3.60	0.0280	*
失拟项	10	0.0144	2.94	0.2805	
误差	2	0.0049			
总误差项	12	0.0128			

注：\*在 0.05 水平显著；\*\*在 0.01 水平极显著。

由表 3 可知，回归模型的  $P < 0.0001$ ，说明该模型极显著，其响应值与各试验因素之间存在显著的线性相关性。方程的多重相关系数  $R^2 = 0.9912$ ，说明建立的模型能够解释 99.12% 响应值的变化，能很好地表述苦豆子多糖的提取过程中其得率随提取条件的变化规律。因此，该模型可很好的适用于分析苦豆子多糖的超声波提取工艺。

对于  $P = 0.01$ ,  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$  的 P 值均小于 0.0001，说明它们对苦豆子多糖得率都有极显著的影响，根据它们的 F 值可以判断，对多糖得率的影响顺序从大到小依次为： $X_1 > X_2 > X_3 > X_4$ 。回归方程一次项的 F 值 = 189.85  $> F_{0.01}(4,2) = 99.25$ ，表明在  $P = 0.01$  的水平上，一次项具有极显著性，二次项的 F 值 = 141.43  $> F_{0.01}(4,2) = 99.25$ ，表明在  $P = 0.01$  水平上，二次项也具有极显著性，回归方程的交互项的 F 值 = 3.60 较小，不具有显著性。这充分说明响应值的变化相当复杂，各具体试验因子对响应值多糖得率的影响不是简单的线性关系，而是二次关系；失拟项 F 值 = 2.94 较小，表明用该方程拟合 4 个参数与多糖得率之间的关系是可行的，实验误差小，故可用该回归方程代替实验真实点对实验结果进行分析。

### 2.2.2 苦豆子多糖得率的响应面分析

通过响应面分析图可以找到最佳参数以及各参数之间的相互作用，其等值线图 and 响应面图见图 5~7。根据二次模型所做的响应曲面及其相应的等高线图可评价试验因素对苦豆子多糖得率的交互作用，以及确定各因素的最佳水平范围。等高线的形状可反映出交互效应的强弱，椭圆形表示两因素交互作用显著，而圆形则相反。

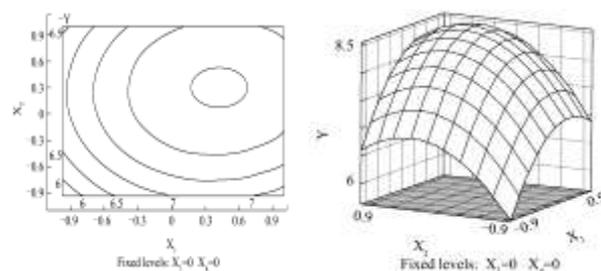


图 5 超声时间和超声功率对多糖得率影响的响应面及等高线图

Fig.5 Contour plots and response surfaces of the extraction time and ultrasonic power to the extraction yield of polysaccharides

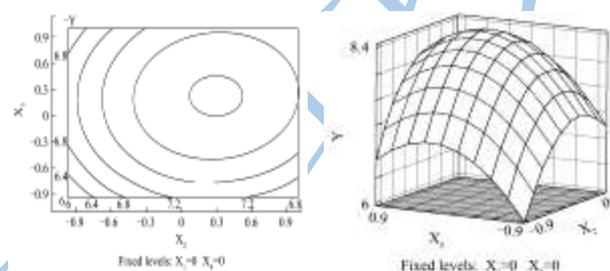


图 6 超声功率和提取温度对多糖得率影响的响应面及等高线图

Fig.6 Contour plots and response surfaces of the ultrasonic power and temperature to the extraction yield of polysaccharides

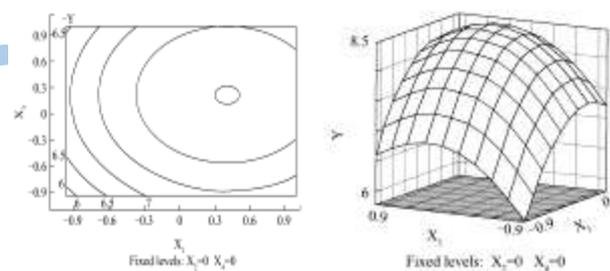


图 7 超声时间和提取温度对多糖得率影响的响应面及等高线图

Fig.7 Contour plots and response surfaces of the extraction time and temperature to the extraction yield of polysaccharides

如上述图组 5-7 所示，可找出最佳参数。比较上述图组可知，超声时间 ( $X_1$ ) 和超声功率 ( $X_2$ ) 对苦豆子多糖得率的影响显著，表现为曲线较陡；提取温度 ( $X_3$ ) 和超声功率 ( $X_4$ ) 对多糖得率的影响较弱。

### 2.2.3 最佳工艺条件的确定及验证实验

通过上述多元回归方程优化得出 Box-Behnken 试验的编码值分别为  $X_1 = 0.395$ ,  $X_2 = 0.300$ ,  $X_3 = 0.209$ ,  $X_4 = 0.114$  对应的苦豆子多糖理论最佳提取条件为超声时间 33.95 min、超声功率 292.02 W、提取温度 52.09 °C，水料比 51.14:1，在此条件下，苦豆子多糖

超声波提取得率最高可达 8.60%。考虑到实际可操作性, 将优化参数修正为: 超声时间 30 min、超声功率 280 W、提取温度 50 °C、水料比 50:1。

在上述优化提取条件下, 即超声时间 30 min、超声功率 280 W、提取温度 50 °C、水料比 50:1, 做 3 次多糖提取的平行实验, 所得结果显示多糖得率平均值为 8.51%, 与回归方程所得多糖得率预测值 8.60% 相接近, 说明回归方程能较真实地反映各因素对苦豆子多糖得率的影响, 充分表明采用响应面分析方法优化得到的提取工艺参数准确可靠。

### 2.3 超声波提取法与传统热水提取法比较

由文献<sup>[4]</sup>得知, 传统热水提取最佳条件为提取温度 75 °C、提取时间 3 h、水料比 25:1 (mL/g), 在此条件下称取 40 g 预处理苦豆子粉进行 3 次多糖提取的平行实验, 获得多糖平均得率为 5.96%。超声波提取与传统热水提取比较如表 4 所示。

表 4 超声波提取和传统热水提取苦豆子多糖的结果比较

Table 4 Yields of polysaccharides by ultrasonic extraction and traditional hot water extraction

提取法	提取温度/°C	提取时间/min	料水比/(g/mL)	多糖得率/%
超声波提取	50	30	1:50	8.51±0.15 <sup>a</sup>
传统热水提取	75	180	1:25	5.96±0.10

注: <sup>a</sup> 平均值±标准偏差 (n=3, n 为平行测定实验次数)。

由表 4 可以看出, 超声波提取与传统热水提取相比, 多糖得率升高, 提取时间明显缩短, 提取温度较低, 有利于节约成本, 提高经济效益。

### 2.4 苦豆子多糖的红外光谱吸收

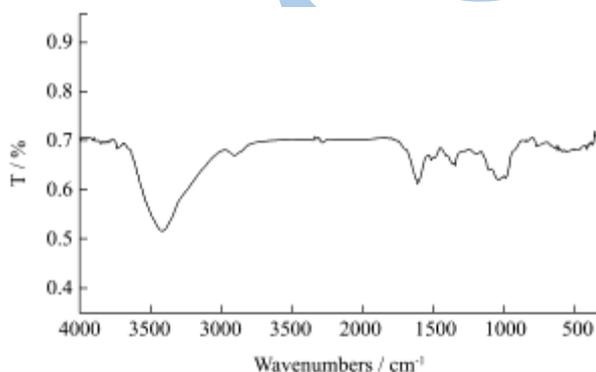


图 8 苦豆子多糖红外吸收光谱图

Fig.8 Fourier transform infrared spectra of polysaccharides

如图 8 所示, 经红外光谱分析, 苦豆子多糖 3600 cm<sup>-1</sup>~3200 cm<sup>-1</sup>、3000 cm<sup>-1</sup>~2800 cm<sup>-1</sup>、1400 cm<sup>-1</sup>~1000

cm<sup>-1</sup> 范围内都具有糖类的特征吸收峰; 3600 cm<sup>-1</sup>~3000 cm<sup>-1</sup> 出现的宽吸收峰是分子内或分子间 O-H 伸缩振动的结果; 2940 cm<sup>-1</sup> 和 2800 cm<sup>-1</sup> 的吸收峰由 C-H 伸缩振动和弯曲振动引起; 1644 cm<sup>-1</sup> 波数处还出现一较强的吸收峰, 说明其中有酰胺取代基; 1412 cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰为 C-H 变角吸收峰; 1200 cm<sup>-1</sup>~1000 cm<sup>-1</sup> 吸收峰为多糖特征吸收峰, 主要两种 C-O 伸缩振动引起; 863 cm<sup>-1</sup> 处的吸收说明多糖中含有 α-糖苷键结构。

### 2.5 苦豆子多糖的紫外光谱吸收

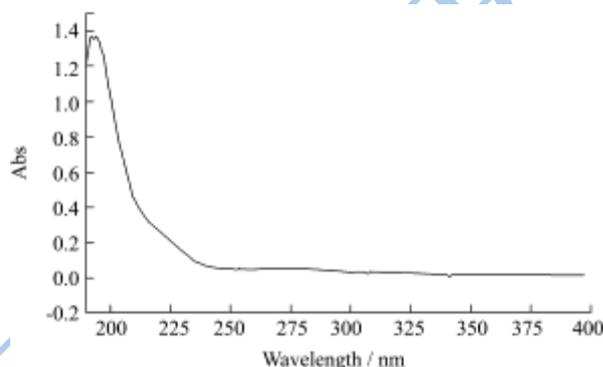


图 9 苦豆子多糖紫外吸收光谱图

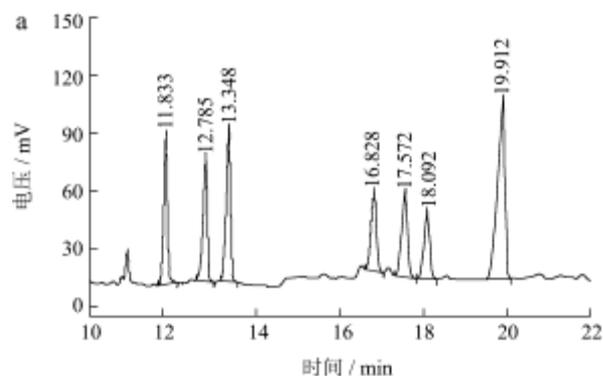
Fig.9 UV spectra of polysaccharides

由图 9 苦豆子多糖的紫外吸收光谱可看出, 在 192 nm 处有一个较强的吸收峰这是多糖的特征吸收峰, 在波长 280 nm 处有微弱的吸收, 说明苦豆子多糖中含有少量蛋白质, 而在波长 260 nm 处没有吸收峰, 表明苦豆子多糖中不含有核酸。

### 2.6 苦豆子多糖的单糖组成

根据各标准单糖与待测样品的保留时间确定其单糖的种类, 根据各峰面积计算其摩尔比。标准品和多糖样品的气相色谱图如图 10 所示。

由图 10 可得, 苦豆子多糖中主要单糖组成为鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖, 摩尔比为鼠李糖:阿拉伯糖:木糖:甘露糖:葡萄糖:半乳糖 = 0.45:1.24:1.00:10.21:0.10:7.85。



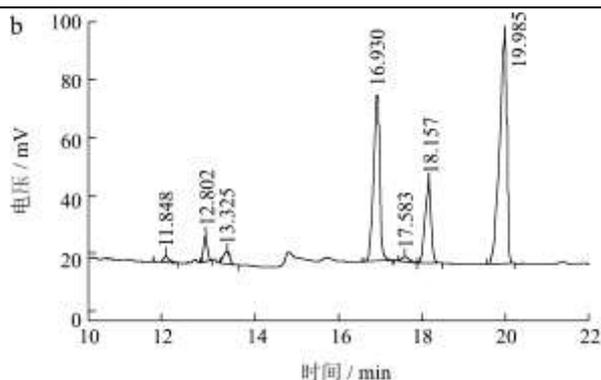


图10 标准单糖 (a) 和多糖 (b) 的糖腈乙酸酯衍生气相色谱

Fig.10 Gas chromatography of aldonitrile acetate derivatization from standard monosaccharides and polysaccharides

### 3 结论

响应曲面分析法可应用于超声波提取苦豆子多糖工艺的研究。在单因素试验的基础上,采用 Box-Behnken 试验设计法对超声波提取苦豆子多糖进行工艺优化,探讨了各因素间的交互作用,并对实验结果进行数学模拟和预测,获得经济、高效、准确的优化条件。优化后得到最佳超声时间为 30 min、超声功率为 280 W、提取温度为 50 °C、水料比为 50:1,在该条件下多糖提取率达到 8.51%,与传统热水提取相比多糖得率较高,成本节约,经济效益增加。研究结果为苦豆子多糖进一步纯化分析打下了基础,可为其它植物多糖的提取研究提供一定参考,具有一定的理论价值和实际应用前景。对苦豆子多糖的结构做了分析研究,红外光谱分析结果表明具有多糖特征吸收,并且含有  $\alpha$ -糖苷键结构;紫外光谱检测结果表明苦豆子多糖中含有微量蛋白质,不含有核酸;气相色谱结果表明苦豆子多糖的主要单糖组成为鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖,各单糖摩尔比为鼠李糖:阿拉伯糖:木糖:甘露糖:葡萄糖:半乳糖=0.45:1.24:1.00:10.21:0.10:7.85。

### 参考文献

- [1] 杨巧丽,顾政一,黄华.中药苦豆子的研究进展[J].西北药学杂志,2011,26(3):232-23  
YANG Qiao-li, GU Zheng-yi, HUANG Hua. A Review on The Progress of *Sophora alopecuroides* L.[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2011, 26(3): 232-236
- [2] 江苏新医学院.中药大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,1997  
Jiangsu New Medical College. Dictionary Traditional Drugs [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1997
- [3] ZHAO Long-fei, DENG Zhen-shan, YANG Wen-quan, et al. Diverse rhizobia associated with *Sophora alopecuroides* grown in different regions of Loess Plateau in China [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2010, 33(8): 468-477
- [4] 艾连中.响应面分析法优化苦豆子多糖提取工艺[J].食品科学,2010,31(12):141-143  
AI Lian-zhong. Optimization of Extraction Process of Polysaccharides from *Sophora alopecuroides* L. seeds by Response Surface Analysis. Food Science, 2010, 31(12): 141-143
- [5] GAO Hong-ying, LI Guo-yu, WANG Jin-hui. Studies on the dynamic accumulations of *Sophora alopecuroides* L. Alkaloids in different harvest times and the appropriate harvest time [J]. Journal of Chromatography B, 2011, 897 (15-16): 1121-1125
- [6] 杨永利,郭守军,罗军德,等.苦豆子胶多糖组分气相色谱与薄层色谱分析[J].食品研究与开发,2006,27(11): 159-162  
YANG Yong-li, GUO Shou-jun, LUO Jun-de, et al. Analysis of Polysaccharide Composition of *Sophora alopecuroides* seed by GC and TLC [J]. Food Research and Development, 2006, 27(11): 159-162
- [7] Manu M Joseph, S R Aravind, Suraj K George, et al. A galactomannan polysaccharide from *Punica granatum* imparts *in vitro* and *in vivo* anticancer activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.carbpol.2013.07.023>
- [8] Yuta Kono, Kenji Tsushima, Koichi Yamaguchi, et al. The utility of galactomannan antigen in the bronchial washing and serum for diagnosing pulmonary aspergillosis [J]. Respir. Med., 2013, 107(7): 1094-1100
- [9] Flávia C A, Buriti Karina M O dos Santos, Venícios G Sombra, et al. Characterisation of partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds as a potential dietary fibre [J]. Food Hydrocolloids, 2013, DOI: [10.1016/j.foodhyd.2013.07.015](http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.foodhyd.2013.07.015)
- [10] CHEN Wei, WANG Wei-ping, ZHANG Hua-shan, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from *Boletus edulis* mycelia using response surface methodology [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(1): 614-619
- [11] 刘强,吴艳,吴金鸿,等.超声波辅助提取胖大海多糖工艺优化[J].食品科学,2012,33(20):99-103  
LIU Qiang, WU Yan, WU Jin-hong, et al. Optimization of

- Ultrasonic-Assisted Extraction of Polysaccharides from Boat-Fruited Sterculia Seeds [J]. Food Science, 2012, 33(20): 99-103
- [12] Vilku K, Mawson R, Simons L, et al. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2008, 9(2): 161-169
- [13] 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].中国医学杂志,1996,31(9):550-553  
DONG Qun, ZHENG Li-yi, FANG Ji-nian. Modified phenol-sulfuric acid method for determination of the content of oligo-and polysaccharides [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 1996, 31(9): 550-553
- [14] WU Yan, Steve W Cui, TANG Jian, et al. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds by response surface methodology [J]. Food chemistry, 2007, 105(4): 1599-1605