

微波辅助提取叶下珠中多糖工艺研究

唐楷, 颜杰, 李富兰

(四川理工学院材料与化学工程学院, 四川自贡 643000)

摘要: 本研究利用微波辅助法提取叶下珠多糖, 采用苯酚-硫酸法测定叶下珠多糖含量, 通过正交实验考察了提取时间、提取功率和固液比 ($m_{\text{叶下珠}}/V_{\text{水}}$) 对叶下珠多糖提取率的影响。结果表明, 微波提取时间对叶下珠多糖的得率影响最为显著, 提取时的功率影响次之, 固液比的影响最小, 在微波提取时间为 40min、固液比 1:20 和提取功率 400 W 时, 叶下珠多糖得率最高为 7.9%。

关键词: 叶下珠; 多糖; 微波; 分光光度法

文章编号: 1673-9078(2013)6-1359-1361

Microwave-assisted Extraction of Polysaccharide from *Phyllanthus urinaria*

TANG Kai, YAN Jie, LI Fu-lan

(Institute of Material and Chemical Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract: In this paper, micro-assisted extraction of polysaccharide from *Phyllanthus urinaria* was studied. The content of polysaccharide was determined by the method of phenol-sulfuric acid. Three main factors including extraction time, extraction power and ratio of solid to liquid were studied by orthogonal experiments. Results showed that extraction time was the most significant influential factor, followed by extraction power, and ratio of solid to liquid showed the minimum influence. The optimum extraction conditions were: extraction time 40 min, ratio of solid to liquid 1:20 and extraction power 400 W, under which the extraction yield of polysaccharide reached 7.9 wt%.

Key words: phyllanthus urinaria; polysaccharide; microwave; spectrophotometry

叶下珠为大戟科叶下珠属植物, 叶下珠属植物全世界有 600 多种, 中国叶下珠属植物有 33 种 4 个变种。主要分布于长江以南诸省。叶下珠中多糖含量丰富, 研究表明多糖具有促进机体免疫力、抗菌、抗病毒、抗寄生虫、抗肿瘤、抗衰老、抗炎、降低血脂以及改善动物生产性能等一系列作用^[1-3], 引起国内专家对该属植物的关注和研究兴趣。叶下珠多糖的传统提取方法是热水浸提^[4-5], 此方法虽简单易操作, 但是提取效率低, 提取时间长。现在较先进的提取方有超声波提取^[6]和微波提取^[7]。本文选择微波强化固液浸取工艺, 利用微波辅助提取叶下珠中的多糖, 此工艺具有设备简单、提取率高、节省溶剂、节省时间、节能、不产生噪音和污染等众多优点, 经济和社会效益显著。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用叶下珠全草是由四川省自贡市叶下珠某种植基地提供, 在 60 °C 烘干粉碎后备用。

1.2 仪器与试剂

循环水真空泵, 常压微波萃取反应工作站, 电热

炉, 紫外分光光度计, 常规玻璃仪器等。

葡萄糖, 苯酚, 浓硫酸, 无水乙醇, 蒸馏水, 所有试剂均为分析纯。

1.3 实验步骤

将叶下珠在分析天平上精确称取 10.00 g, 放入烧杯中, 量取一定量去离子水加入烧杯浸泡叶下珠并记下时间。经过 16 h 浸泡后, 放入微波萃取反应工作站, 在一定功率下提取一定的时间, 然后减压过滤, 除去其中的固体杂质。再将滤液在电热炉上加热浓缩, 使其体积小于 100 mL, 自然冷却。待滤液冷却到室温后, 将其转移到 100 mL 的容量瓶中定容备用, 待测出其多糖含量后, 再将其在电热炉上浓缩到 20 mL 左右, 冷却后转移到锥形瓶。用量杯量取 80 mL 的无水乙醇密封进行醇沉。12 h 后, 在减压过滤器上过滤, 自然风干, 即得多糖粗品。

1.4 叶下珠中多糖含量检测方法

1.4.1 标准曲线的制作

本实验用苯酚-硫酸法测定多糖的含量^[8]。

1.4.2 多糖含量的测定方法

将提取定容至 100 mL 的提取液, 移取 2.5 mL, 定容至 25 mL, 再量取 1 mL 至比色管, 另取 1 mL 的

蒸馏水作为空白, 分别加入 1.0 mL 5% 苯酚溶液, 混匀, 迅速加入 5.0 mL 浓硫酸, 振摇 5 min 后放置 35 min, 在波长 490 nm 处测定吸光度。

$$\text{多糖提取率} = \frac{(A - 0.0075) / 0.563 \times 10^3}{10^4} \times 100\%$$

注: A 是测定的多糖吸光度。

1.5 单因素实验

依据不同的固液比、微波提取时间和微波功率提取叶下珠多糖, 计算多糖提取率。实验具体操作参见 1.3。

1.6 正交实验设计

以多糖含量为考察指标, 用正交实验法优选叶下珠多糖最佳提取工艺。实验选取固液比 (m (叶下珠粉) / V (水))、微波提取时间、微波提取功率为影响因素, 设置 3 个水平, 实验因素安排见表 4。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的确定

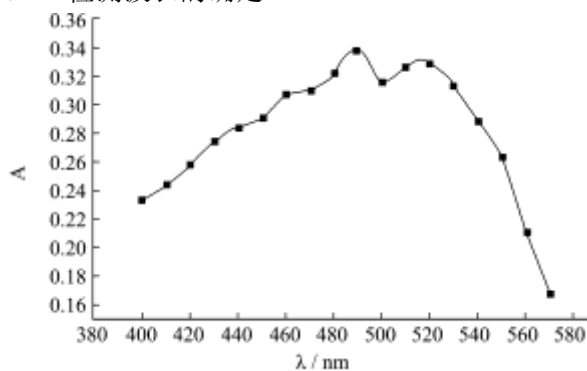


图1 波长扫描曲线

Fig.1 Scanning curve of the sample

从图 1 中可发现吸光度有 2 个波峰, 分别在 490 nm 和 520 nm 处, 在 490 nm 处的吸光度大于 520 nm 的吸光度, 因此试验选择 490 nm 处测定吸光度。

2.2 标准曲线的制作

实验测得标准溶液吸光度分别是 0.116、0.225、0.338、0.459、0.578 以吸光度 A 为纵坐标, 浓度 C 为横坐标进行线性回归, 得回归方程: $R=0.9997$ $A=0.5630C+0.0075$ 。标准曲线图见图 2。

2.3 单因素实验结果分析

2.3.1 固液比对多糖提取率的影响

表 1 固液比对多糖提取率影响表

Table 1 Effect of solid-liquid ratio on polysaccharide extraction

	yield				
固液比	1:10	1:15	1:20	1:25	1:30
提取率/%	5.23	5.77	6.56	7.21	7.12

设定提取时间 30 min, 微波功率 500 W, 固液比

分别为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 进行单因素实验, 计算叶下珠多糖提取率。结果如表 1 所示。

可见, 随着提取溶剂 (水) 用量增加, 有利于叶下珠充分溶胀舒展, 同时也利于多糖充分溶解于水中, 因此提取率逐渐增加。当固液比达到 1:20 时, 提取率达到最高为 7.21。此时, 若再增加水的用量, 由于后期溶液浓缩时间加长, 反而可能促使多糖分解, 导致提取率有所下降。

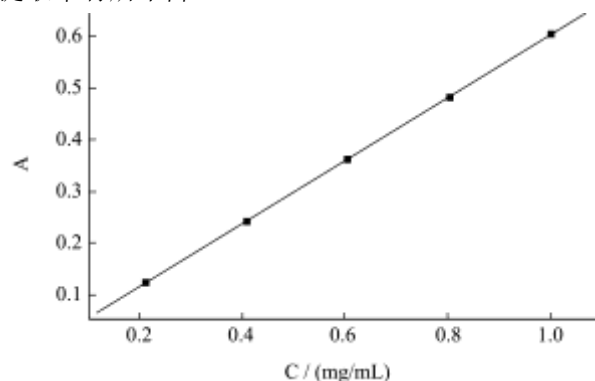


图 2 标准曲线图

Fig.2 Calibration curve of the polysaccharide

2.3.2 提取时间对多糖提取率的影响

设定固液比 1:20, 提取功率 500 W, 提取时间分别为 20 min、40 min、60 min、80 min、100 min 进行单因素实验, 计算叶下珠多糖提取率。结果如表 2 所示。

表 2 提取时间对多糖提取率影响表

Table 2 Effect of extraction time on polysaccharide extraction yield

提取时间/min	20	40	60	80	100
提取率/%	6.22	7.48	7.40	7.35	7.14

由表 2 可见, 提取时间过短, 叶下珠细胞吸水不充分, 在微波辅助提取时细胞里的多糖不能完全游离出来; 但提取时间超过 60 min 时, 由于溶液中微生物会大量繁殖, 微生物的生长会消耗植物中的多糖, 从而使得产率下降。

2.3.3 提取功率对多糖提取率的影响

设定固液比 1:20, 提取时间 60 min, 提取功率分别为 200 W、400 W、600 W、800 W、1000 W 进行单因素实验, 计算叶下珠多糖提取率。结果如表 3 所示。

表 3 提取功率对多糖提取率影响表

Table 3 Effect of extraction power on polysaccharide

	extraction yield				
提取功率/w	200	400	600	800	1000
提取率/%	7.14	7.63	7.62	7.50	7.25

可见当微波功率过小时, 叶下珠细胞膜无法有效破裂, 使细胞中的多糖组分难于溶解于水中。但是功

率过大, 可使局部加热强度过大, 导致出现微焦化现象, 影响多糖收率; 同时由于微波功率的加大, 可使一些原本溶解度较小物质也开始溶解, 使得溶液中的杂质增多, 也降低了多糖提取率。

2.4 正交实验结果

依据单因素实验结果, 正交实验因素水平设计如表 4 所示。

表 4 因素水平表

水平	因素		
	A (固液比)	B (提取时间/min)	C (微波功率/W)
1	1:15	20	200
2	1:20	40	400
3	1:25	60	600

正交实验结果如表 5 所示。

表 5 正交实验结果表

序号	A	B	C	吸光度 A	提取率 X/%
1	1	1	1	0.360	6.26
2	1	2	2	0.426	7.43
3	1	3	3	0.401	6.98
4	2	1	2	0.398	6.93
5	2	2	3	0.443	7.74
6	2	3	1	0.412	7.18
7	3	1	3	0.405	7.06
8	3	2	1	0.409	7.13
9	3	3	2	0.434	7.58
K _{1/3}	6.89	6.75	6.86		
K _{2/3}	7.28	7.43	7.31		
K _{3/3}	7.26	7.24	7.26		
R	0.39	0.68	0.45		
较优水平	A ₂	B ₂	C ₂		

从以上数据可知, 对实验影响大小分别为: 固液比 < 提取功率 < 提取时间。究其原因, 叶下珠在 60 ℃ 条件下烘干粉碎后, 吸水率大致在 1:10 左右。而本实验所设置 3 个水平条件均大于 1:10, 可以保证叶下珠粉末充分溶胀, 因此对实验影响最小。微波功率大小可以影响植物细胞膜的破裂程度, 但一味加大功率, 可使叶下珠中所含部分低溶解度物质也溶解于水中,

从而使提取率下降。提取时间对叶下珠多糖提取实验影响最大, 主要因为提取时间选择过短, 叶下珠无法充分溶胀舒展, 不利于多糖游离提取; 但时间过长, 溶液体系中大量生长的微生物群会消耗多糖, 因此提取时间选择影响较大。此外, 从正交实验可知较优实验条件为 A₂B₂C₂。

3 结论

3.1 采用微波辅助提取叶下珠中的多糖, 选择正交实验优化研究了提取工艺。实验最佳工艺为: 固液比 1:20, 提取微波功率 400 W, 提取时间 40 min。在该工艺条件提取多糖实验, 测得在该水平下吸光度为 0.452, 提取率为 7.90%。

3.2 后期应加大微波辅助提取叶下珠多糖的放大及工业化实验, 特别加大工业化微波提取设备的研制力度。

3.3 中国南方地区为叶下珠的主产区, 后期可加大对叶下珠多糖及抗癌、抗乙肝等有效成分提取研究, 并重点开展联产提取有效物工艺实验, 以提升叶下珠产业的综合竞争力。

参考文献

- [1] 王涛, 赵谋明. 多糖的研究进展[J]. 现代食品科技, 2007, 23(1):103-106
- [2] 范适, 李兰岚, 饶力群, 等. 抗乙肝植物药叶下珠化学成分和药理作用研究进展[J]. 南华大学学报, 2006, 20(2):83
- [3] 孙传铎, 陈晓慧. 叶下珠属植物的化学成分与药理研究进展[J]. 临床医药实践, 2012, 21(6):452-456
- [4] 张岚, 任丽娟, 周童亮. 叶下珠水溶性成分提取工艺的研究[J]. 中成药, 2004, 26(3):243
- [5] 杨再雍, 刘琨, 杨超, 等. 正交试验法优选叶下珠多酚的提取工艺[J]. 广西轻工业, 2006, 97(6):41-42
- [6] 刘榕城, 胡炜, 邓光辉, 等. 超声波法碱水提取叶下珠黄酮的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(7):1599-1560
- [7] 龚盛昭, 杨卓如, 曾海宇. 微波辅助法萃取当归多糖的条件优化[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(7):125-128
- [8] 周跃斌, 王伟, 周向荣. 苯酚-硫酸比色法测定毛竹叶多糖的研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(2):180-183