

微波辅助提取绞股蓝多糖的工艺研究

池爱平¹, 陈锦屏²

(1. 陕西师范大学体育学院, 陕西 西安

710062 2. 陕西师范大学食品工程系, 陕西 西安

710062)

摘 要: 采用单因素试验和正交试验, 进行了微波辅助提取绞股蓝多糖的研究, 得到了微波辅助提取绞股蓝多糖的最佳工艺条件: 料液比为 1:20, 微波功率为 400W, 微波处理时间为 12min, 浸提时间为 50min。在此工艺条件下, 多糖提取率为 3.37%。与热水提取法进行比较, 微波辅助提取能缩短提取时间, 提高绞股蓝多糖提取率。

关键词: 绞股蓝多糖; 微波; 提取

Study on Microwave-assisted Extraction of *Gynostemma pentaphyllum* Polysaccharides

CHI Ai-ping¹, CHEN Jin-ping²

(1. College of Physical Education, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

2. Department of Food Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: Microwave-assisted extraction of *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharides was studied by using single factor test and orthogonal test methods. It is concluded that the optimal conditions of extraction are microwave treatment for 12 min at power

收稿日期: 2007-05-10

作者简介: 池爱平(1972-), 男, 讲师, 博士研究生, 主要从事植物有效成分提取及活性研究。

表 9 色素质量表

Table 9 Pigment weight table

组别	1	2	3
色素量(g)	0.021	0.015	0.012

精制品, 称量, 结果如表 9。平均得色素质量为 0.016g, 则色素含量为 1.6%。

3 结 论

3.1 紫叶稠李叶片中的色素在蒸馏水、80% 乙醇中的溶解性较好, 但不溶于乙醚。证明此色素为花色苷类化合物, 属水溶性色素, 在中性或弱碱性溶液中不易被提取且不太稳定。所以, 提取过程通常采用酸性溶剂。由于紫叶稠李叶中还含有脂溶性叶绿素, 因此选用酸性蒸馏水作浸提剂最合适^[12-14]。

3.2 从紫叶稠李叶中提取色素的最佳方法是: 以蒸馏水作浸提剂, 使其 pH 值为 3, 在 60℃ 的温度条件下浸提 50min, 一般物料比为 1:40。

3.3 AB-8 树脂对紫叶稠李叶片色素的吸附量较高, 且用 40% 的乙醇洗脱效果最好。最后得出色素含量为 1.6%。

参考文献:

- [1] 胡迎芬. 紫叶小檗叶红色素的提取[J]. 冷饮与速冻食品工业, 2001, 7(1): 31-32.
- [2] 刘金. 紫叶稠李在园林上的应用[J]. 中国花卉, 2004(1): 33-36.
- [3] 曹海军. 紫叶稠李在园林中的应用[J]. 农业知识, 2005(5): 39.
- [4] 张会金. 园林中怎样使用紫叶稠李[J]. 中国花卉, 2004(4): 28-31.
- [5] 彭子模, 马晓东, 吕海英. 紫叶小檗叶片红色素提取方法的研究[J]. 生物学杂志, 2001, 18(4): 25-27.
- [6] 王薇. 食用天然色素的营养保健作用[J]. 中国食物与营养, 2005(5): 45-47.
- [7] 李维一, 罗中杰, 许泽宏. 红叶李天然使用色素的提取及理化性质[J]. 食品工业, 2003(3): 26-29.
- [8] 王华兴, 陈锦屏, 赵丽华. 山楂果实色素含量测定方法的研究[J]. 中国果菜, 1996(1): 32-34.
- [9] 赵彦杰. 香石竹红色素的提取研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 202-204.
- [10] 唐琳, 付荣恕, 张志威. 迎春花黄色素的提取及性质研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 188-191.
- [11] 赵伯涛, 钱骅, 张卫明, 等. 黑莓榨汁残渣中花色素的提取纯化、稳定性研究及功能研究[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 157-161.
- [12] 周立国. 食用天然色素及其提取应用[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1997: 102-122.
- [13] 北京医学院. 中草药成分化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 212-265.
- [14] 任玉林, 李华. 天然食用色素——花色苷[J]. 食品科学, 1995, 16(7): 22-27.

of 400 W after being extracted for 50 min, the ratio of material to water 1:20. Under these conditions, the yield of polysaccharides is 3.37%. Compared with direct heating extraction, MAE (microwave assisted extraction) can shorten the extraction time and improve yield of *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharides.

Key words *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharides microwave extraction

中图分类号: TQ929.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0181-04

绞股蓝为葫芦科绞股蓝属多年生草质藤本植物。在我国野生资源丰富, 储量巨大且无污染。目前研究结果表明, 绞股蓝多糖(*Gynostemma Pentaphyllum* polysaccharides; GPP)具有包括抗肿瘤抗癌、免疫提高作用、降血糖作用和抗衰老作用^[1-5]。多糖的提取方法很多, 其中微波辅助提取技术是天然产物提取中一种非常有发展潜力的新型技术, 具有穿透力强、选择性强、加热效率高等优点, 微波辐射可以大大加快反应速度, 比常规提取法用时短。研究表明, 将微波技术应用于植物细胞破壁, 可有效地提高得率。本研究用微波辅助提取绞股蓝多糖, 重点考察了料液比、微波功率、微波处理时间以及浸泡时间等因素对多糖提取效果的影响, 并与传统的热水浸提法进行了比较。

1 材料与方法

1.1 原料、试剂与仪器

绞股蓝采自陕西省安康地区平利县, 采收部位为绞股蓝叶、茎。

实验所用化学试剂均为国产分析纯试剂。

电热恒温水浴锅 上海福玛实验设备公司; 离心机 上海安亭科学仪器厂; 电子天平 梅特勒-托利多仪器上海有限公司; 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; 循环水多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司; 冷冻干燥机 德国(Christ Alpha1-4); 紫外-可见分光光度计 上海分析仪器厂; 真空干燥箱 上海福玛实验设备公司; WG700CSL20 II-K6 微波炉 广东格兰仕集团有限公司。

1.2 方法

1.2.1 原料预处理

绞股蓝样品自然干燥后, 粉碎, 过 20 目筛, 用终浓度为 80% 的乙醇, 在 50℃ 水浴中浸提三次, 每次 2h, 间隙搅拌, 上清液回收乙醇, 残渣干燥后提取多糖。

1.2.2 多糖的测定

采用苯酚-硫酸法^[6]。精密称取 105℃ 干燥至恒重的 D(+) 葡萄糖 40mg, 蒸馏水溶解, 并转移至 1000ml 容量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 摇匀。精密吸取 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8ml 分别置具塞试管中, 平行 3 份, 分别加水适量补足体积为 2ml。各试管再加 5% 苯酚 1ml, 摇匀后迅速加入浓硫酸 5ml, 密塞, 摇匀, 室温静置 30min, 同时用不加葡萄糖液做对照, 在

490nm 处测定吸光度。以横坐标为葡萄糖浓度, 纵坐标为吸光度, 得标准曲线。结果见表 1。

表 1 葡萄糖标准浓度-吸光值
Table 1 Standard glucose concentration-absorbance

名称	1	2	3	4	5	6	7	8
浓度 C (mg/ml)	0.008	0.012	0.016	0.020	0.024	0.028	0.032	0.036
吸光度	0.109	0.162	0.217	0.274	0.336	0.398	0.457	0.521

以吸光度 A 对葡萄糖浓度 C 做回归处理, 得回归方程: $C=0.0689A+0.0006$, $R^2=0.9989$ 。

将多糖液稀释定容于 100ml 容量瓶中, 从中移取 2ml 溶液稀释、定容于 25ml 容量瓶中, 精取待测多糖稀释液 1.0ml, 加蒸馏水至 2.0ml, 加苯酚试液 1.0ml, 摇匀, 放置 10min 后, 快速加入 5.0ml 浓硫酸, 以便其使快速混合, 摇匀, 放置 20min。490nm 测定吸光值, 根据回归方程计算各待测液中多糖浓度, 计算多糖提取率。

1.2.3 热水浸提法

称取 10g 干燥绞股蓝残渣, 经单因素分析与正交试验后, 选用温度 80℃、料液比 1:15、提取时间 120min, 离心分离得到上清液, 残渣弃去。将上清液稀释定容于 100ml 容量瓶中, 从中移取 2ml 溶液稀释、定容于 25ml 容量瓶中, 按 1.2.2 所示方法测定吸光度, 计算多糖提取率。

1.2.4 微波辅助提取工艺

经过预处理的绞股蓝残渣 10g, 置于三角锥形瓶内, 加入一定量的提取溶剂, 选定一定的功率, 在一定时间内, 微波提取。离心分离得到上清液, 定容, 按 1.2.2 所示方法测定吸光度, 计算多糖提取率。

1.2.5 微波辅助提取单因素试验

微波提取工艺的优化主要包括微波输出功率、处理时间、料液比和浸泡时间的选择^[7]。针对这几个因素, 分别在保持其它因素相同的条件下进行单因素试验, 考察各因素对提取率的影响, 选择最佳的提取工艺条件。

1.2.6 微波法提取条件的优化

在单因素考察的基础上, 用正交试验对影响提取的因素进行优化, 按照正交试验设计调整微波功率、处理时间、料液比及浸提时间, 操作步骤同 1.2.4。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 微波功率对多糖提取率的影响

预处理的绞股蓝残渣 10g, 置于三角锥形瓶内, 在固定条件下: 料液比 1:15、浸泡 30min, 选择不同微波功率 200、300、400、500、600W 处理 8min, 提取完毕后, 离心分离得到上清液, 稀释, 测定吸光度, 计算多糖提取率。结果见图 1。

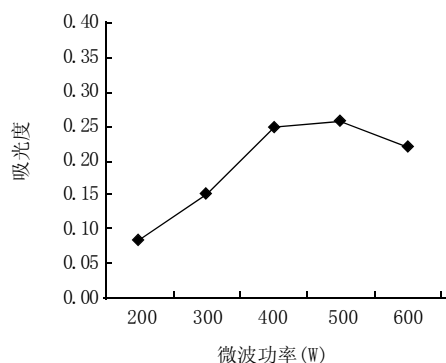


图1 微波功率对提取的影响

Fig.1 Effects of microwave power on extraction

从图 1 中看出, 提取率随微波功率的增大而呈先升后将趋势, 在 400W 左右为较好的提取条件, 以此条件进行以后的正交试验。

2.1.2 微波处理时间对多糖提取率的影响

预处理的绞股蓝残渣 10g, 置于三角锥形瓶内, 在固定条件下: 料液比 1:15、微波功率 400W, 选择微波提取时间 2、4、6、8、10min, 提取完毕后, 离心分离得到上清液, 稀释, 测定吸光度, 计算多糖提取率。结果见图 2。

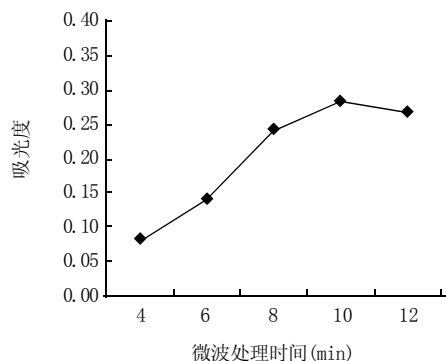


图2 微波处理时间对提取的影响

Fig.2 Effects of processing time on extraction

由图 2 可看出, 提取率随微波提取时间的延长而增加, 但 10min 之后增加不大, 所以选取 8、10、12min

进行正交试验。

2.1.3 料液比对多糖提取率的影响

预处理的绞股蓝残渣 10g, 置于三角锥形瓶内, 选择料液比 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25, 在固定条件下: 微波提取时间 8min、微波功率 400W, 提取完毕后, 离心分离得到上清液, 稀释, 测定吸光度, 计算多糖提取率。结果见图 3。

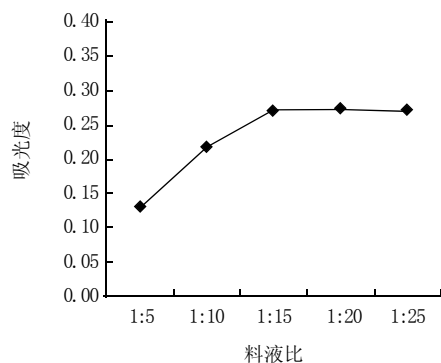


图3 料液比对提取的影响

Fig.3 Effects of solid-liquid ratio on extraction

从图 3 中看出, 提取率随料液比的增大而呈上升趋势, 但增加到一定程度就趋于平稳, 1:10、1:15、1:20 为较好的提取条件, 以此条件进行以后的正交试验。

2.1.4 浸提时间对多糖提取率的影响

预处理的绞股蓝残渣 10g, 置于三角锥形瓶内, 料液比 1:15, 选取的不同浸泡时间 10、30、50、70、90min, 微波功率 400W 处理时间 8min, 提取完毕后, 离心分离得到上清液, 稀释, 测定吸光度, 计算多糖提取率。结果见图 4。

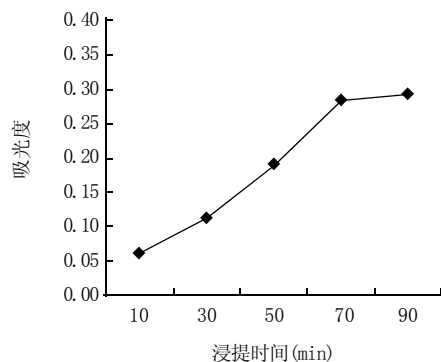


图4 浸提时间对多糖提取率的影响曲线

Fig.4 Effects of extraction time on extraction

从图 4 中看出, 提取率随浸泡时间的增大而呈上升趋势, 但增加到一定程度就趋于平稳, 超过 70min 后提取率变化不大, 因此, 浸泡时间宜选择为 70min 左右, 以此条件进行以后的正交试验。

2.2 微波提取工艺条件的正交试验

为了优化提取工艺条件, 本试验选取对提取率有较大影响的四个因素及其三个水平: 微波功率 (300、400、500W)、选择微波处理时间 (8、10、12min)、料液比 (1:10、1:15、1:20)、浸提时间 (50、70、90min), 进行正交试验。选用因素及水平见表 2, 正交试验结果见表 3。

表 2 试验因素水平 $L_9(3^4)$
Table 2 Factors and levels of orthogonal test $L_9(3^4)$

水平	因 素			
	A 微波功率 (W)	B 处理时间 (min)	C 料液比 (g/ml)	D 浸提时间 (min)
1	300	8	1:10	50
2	400	10	1:15	70
3	500	12	1:20	90

表 3 正交试验结果表
Table 3 Results of orthogonal test

编号	A	B	C	D	提取率 (%)
1	1	1	1	1	1.46
2	1	2	2	2	1.51
3	1	3	3	3	2.14
4	2	1	2	3	2.43
5	2	2	3	1	3.26
6	2	3	1	2	3.04
7	3	1	3	2	2.54
8	3	2	1	3	2.08
9	3	3	2	1	2.91
K_1	5.11	6.43	6.58	7.63	
K_2	8.73	6.85	6.85	7.09	
K_3	7.53	8.01	7.94	6.65	
k_1	1.70	2.14	2.19	2.54	
k_2	2.91	2.28	2.28	2.36	
k_3	2.51	2.69	2.65	2.22	
R	1.21	0.55	0.45	0.33	

从表 3 可看出, 微波提取不同因素水平对多糖提取率有明显的影响。从极差 R 值可知, 三因素对多糖提取率影响的主次顺序为 $A > B > C > D$, 微波功率为主要影响因素, 微波作用时间次之。由此确立最佳提取工艺为 $A_2B_3C_3D_1$, 即微波功率 400W、作用时间 12min、料液比 1:20、浸提时间 50min, 在此条件下, 绞股蓝多糖提取率为 3.37%。

2.3 热水浸提法

按照 1.2.3, 测定在此条件下提取液中多糖的含量, 计算后得出绞股蓝多糖提取率为 2.82%。

2.4 微波提取与热水提取对绞股蓝多糖提取率的比较

由表 4 可以看出, 采用微波辅助提取法时, 绞股蓝多糖提取率为 3.22%, 较单纯热水浸提法, 绞股蓝水

表 4 绞股蓝多糖的微波提取法与热水提取法的效果对比

Table 4 Comparison of extraction rates between hot water and microwave-assisted extraction

方法	提取率 (%)	时间 (min)
热水提取法	2.82	120
微波辅助提取法	3.37	62

溶性多糖提取率增加 0.55%; 此外, 在提取时间上, 明显缩短了约 60min。故采用微波辅助提取法, 具有明显的优势。从细胞破碎的角度看, 微波加热方式将导致细胞内的极性物质, 尤其是水分子, 吸收微波能后形成大量的热量, 使得细胞内部温度迅速上升, 液态水分汽化产生的压力将使细胞膜和细胞壁急剧破裂, 形成微小的孔洞, 持续的迅速加热, 将导致细胞急剧收缩, 表面出现裂纹。细胞膜和细胞壁上孔洞和裂纹的存在使细胞外溶剂容易进入细胞内, 溶解并释放出胞内产物。本实验中所采用的微波提取法, 与水提法有机地结合在一起, 明显提高了多糖提取率。

3 结 论

本实验采用热水浸提法提取绞股蓝水溶性多糖, 并对微波辅助提取绞股蓝多糖进行了研究。采用微波辅助提取的方法, 最佳提取工艺为: 微波功率 400W、微波作用时间 12min、料液比 1:20、浸提时间 50min, 其中, 微波功率和微波作用时间对多糖提取率有较为明显的影响。在此条件下, 绞股蓝多糖提取率为 3.37%, 较热水浸提法提取, 绞股蓝水溶性多糖提取率增加 0.55%。与热水浸提法相比较, 微波辅助提取技术的最大优点是提高提取率、节省时间, 同时它还具有成本低、投资少的优点, 在工业化提取植物有效成分方面具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 娄振岭, 陈伟民, 马丽萍, 等. 绞股蓝多糖对肿瘤细胞的抑制作用[J]. 河南医科大学学报, 1996, 31(1): 87-88.
- [2] 钱新华, 王俏先, 唐晓玲, 等. 绞股蓝多糖对免疫功能的影响[J]. 中国药科大学学报, 1998, 31(1): 51-53.
- [3] 沈爱宝, 邵健. 绞股蓝粗多糖抗癌作用的初步观察[J]. 南通医学院学报, 1995, 15(1): 148.
- [4] 娄振岭, 马丽萍, 张晓琴. 绞股蓝多糖(GPS)生物学作用的研究[J]. 河南肿瘤学杂志, 1996: 30(9): 168-170.
- [5] 李景良, 彦振岭, 马丽萍, 等. 绞股蓝多糖口服液治疗 62 例失眠症临床分析[J]. 河南医科大学学报, 1996, 33(3): 90-91.
- [6] 唐小俊, 池建伟, 张名位, 等. 荔枝多糖的提取条件及含量测定[J]. 华南师范大学学报: 自然科学版, 2005(2): 27-31.
- [7] 刘依, 韩鲁佳. 微波技术在板蓝根多糖提取中的应用[J]. 中国农业大学学报, 2002, 7(2): 27-30.