

文章编号:1673-1689(2007)05-0006-04

微波提取青钱柳多糖的研究

上官新晨, 陈木森, 蒋艳, 吴少福, 沈勇根, 杨武英, 徐睿庸

(江西农业大学植物资源开发与利用研究室, 江西南昌 330045)

摘要: 使用微波辅助提取技术, 通过单因素实验和 $L_9(3^4)$ 正交试验对多糖提取工艺进行了优化, 并与常规热水提取法进行比较。结果表明: 以水为溶剂, 青钱柳多糖提取的最佳工艺为: 提取功率为 1400 W, 提取时间为 30 min, 料液比质量体积 1 g : 20 mL, 提取得率为 2.55%, 与常规提取法相比, 微波辅助提取法具有提取时间短、提取率高等优点。

关键词: 青钱柳; 多糖; 微波提取法

中图分类号: O 629.12

文献标识码: A

Microwave-Assisted Extraction of Polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal) Ijinskaja

SHANGGUAN Xin-chen, CHEN Mu-sen, JIANG Yan, WU Shao-fu,

SHEN Yong-gen, YANG Wu-ying, XU Rui-yong

(Plant Resources Exploitation and Utilization Laboratory, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: In this manuscript, the microwave-assisted extraction technology for *Cyclocarya paliurus* (Batal) Ijinskaja polysaccharide was studied by single factor and orthogonal experiments. The results indicated that the optimal extraction conditions were microwave power 600 W, extraction time 30 min, the ratio of sample to water 1 : 20, and the extraction rate is 2.55%. Compared with that of the traditional water extraction method, microwave-assisted extraction exhibited the advantage of higher extraction rate, and less extraction time.

Key words: *Cyclocarya paliurus* (Batal) Ijinskaja; polysaccharide microwave-assisted extraction

青钱柳(*Cyclocarya paliurus* (Batal) Ijinskaja) 俗称青钱李、山麻柳、甜茶树、一串钱、摇钱树等, 属双子叶植物胡桃科青钱柳属, 是我国特有的单属种, 是国家重点保护的濒危植物之一, 属三类保护植物。最近研究发现, 青钱柳提取物具有降血糖、降血压、降血脂、增强肌体免疫力、抗氧化抗衰老等生理活性^[1-5]。李磊等人^[1]从青钱柳水提取物中分离出多糖复合物, 用实验性糖尿病小鼠试验证明青

钱柳多糖复合物具有显著的降血糖作用, 并且通过小鼠的糖耐量试验证明青钱柳多糖复合物可以降低小鼠的餐后血糖。由于多糖一般具有毒副作用小、安全性高、效果好等优点^[6], 故青钱柳多糖的开发具有很重要的意义。

微波提取已被广泛应用于中草药有效成分提取中, 充分显示出其选择性高、快速高效、节省溶剂、省时节能等优点^[7,8]。而有关微波技术在青钱

收稿日期: 2007-01-15.

基金项目: 国家星火计划项目(2002EA730001); 江西省科技厅重点项目(2002163).

作者简介: 上官新晨(1962-), 男, 江西余干人, 教授, 理学博士, 主要从事农产品贮藏与加工研究.

Email: shangguanxc_818@ sina. com

柳多糖物质提取中的应用尚未见报道。因此作者对微波法提取青钱柳多糖的工艺进行详细的研究。

1 材料与方

1.1 材料

青钱柳叶:采自江西省修水县。

1.2 仪器

SP-754PC 型可见紫外分光光度计:上海光谱仪器有限公司产品;BS224S 电子天平:赛多利斯公司产品;WCD2S-03 型微波萃取设备:南京三乐微波技术发展有限公司产品;DTQ 多功能提取器:湖南衡阳东泰医药机械制造有限公司产品;TGL-20M 高速冷冻离心机:长沙湘仪离心机有限公司产品。

1.3 试剂

无水乙醇、浓硫酸、苯酚(重蒸馏)、标准葡萄糖:四川迈克科技有限责任公司产品。

1.4 方法

1.4.1 标准曲线的绘制 用葡萄糖配成 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液。准确移取 100、200、300、400、500 μL 标准溶液于各试管中,用蒸馏水补足到 500 μL ,空白管则加入蒸馏水 500 μL ,各试管加入 300 μL 质量分数 5% 苯酚溶液,混匀后快速加入 2.0 mL 浓硫酸,振荡混匀后室温静置 30 min,在 490 nm 处测其吸光度。以葡萄糖质量浓度作横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。计算得出回归曲线方程为: $C=91.149\ 4A-0.399\ 2$ 。 $R^2=0.999\ 5$,质量浓度在 0~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间呈现良好的线性关系。

1.4.2 青钱柳多糖的测定青钱柳叶经过除杂、干燥、粉碎后,用多功能提取器在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下石油醚脱脂脱色 3 h,滤去石油醚,再经微波提取,溶液过滤,取 1 mL 滤液加入 3 mL 无水乙醇醇沉,溶液在 8 000 r/min 转速下离心 10 min,弃去上层清液得到沉淀,用蒸馏水溶解沉淀,准确吸取该溶液 0.5 mL,按 1.4.1 中方法进行显色,在 490 nm 下测定其吸光值,根据所得回归曲线方程计算多糖含量,按以下公式计算多糖得率:

青钱柳叶多糖得率(%)=(滤液中多糖的质量)/(青钱柳叶质量) $\times$ 100

1.4.3 提取时间对多糖得率的影响 称取 1 kg 青钱柳叶,按料液比为 1 kg : 10 L,提取功率为 700 W 进行微波提取,每隔 5 min 进行取样,测定提取液中多糖浓度。

1.4.4 溶剂体积对多糖得率的影响 取一定质量的青钱柳叶,按提取功率为 700 W,提取时间 30 min,料液比分别为 1 kg : 8 L、1 kg : 10 L、1 kg :

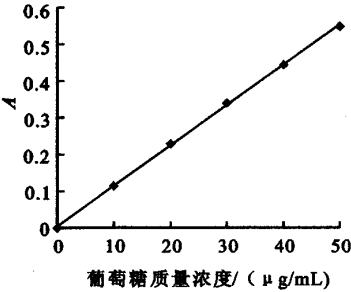


图 1 葡萄糖标准曲线

Fig. 1 Standard curve of glucose

15 L、1 kg : 20 L 进行提取。

1.4.5 提取功率对多糖得率的影响 称取 1 kg 青钱柳叶,按照料液比为 1 kg : 10 L,提取时间为 30 min,提取功率分别为 700、1 400、2 100 W 进行提取。

1.4.6 提取级数对提取多糖的影响 称取一定质量的青钱柳叶,按提取功率为 700 W,提取时间 30 min,料液比为 1 kg : 10 L 进行提取,重复提取 3 次,测定多糖质量浓度。

1.4.7 微波提取多糖正交试验 在微波单因素试验结果的基础上,进行三因素三水平 $L_9(3^3)$ 正交试验,其因素水平表见表 1,各组提取液经过过滤、醇沉后测定多糖质量浓度,计算提取得率,选出微波提取青钱柳多糖最优的工艺参数。

表 1 微波提取多糖正交试验设计 $L_9(3^3)$

Tab. 1 Levels and factors of orthoynal experiment

水平数	因素		
	提取功率/W	微波时间/min	料液质量体积比/(g/mL)
1	700	25	1 : 10
2	1 400	30	1 : 15
3	2 100	35	1 : 20

1.4.8 水提取法对比实验 用 10 g 青钱柳叶按提取时间为 7 h,料液比为 1 g : 20 mL,pH 值为 9 进行提取(水浸提法最佳提取工艺条件参数另文报道),按苯酚-硫酸法测定多糖质量浓度,计算多糖提取得率。

2 结果与讨论

2.1 微波辅助提取单因素试验结果

2.1.1 提取时间对多糖得率的影响 由图 2 可知多糖的得率随着微波辐照时间的增加而提高,提取时间在 5~30 min 内时增加的趋势明显,30 min 以后,增加趋势不明显。在 20~330 min 时,微波对细胞壁的破坏作用大,多糖溶出增多,提取得率也相应增加,当超过 30 min 时后,细胞膜的过分破碎使溶解

的杂质相应增多,溶剂几乎饱和,有效成分的溶解几乎停止,得率无明显增加,因此采用 30 min 即可。

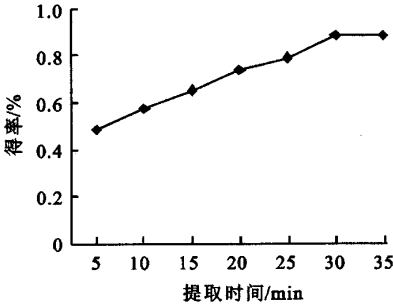


图 2 提取时间对微波提取多糖的影响

Fig. 2 Effects of extraction time on the polysaccharide extraction rate

2.1.2 溶剂体积对多糖得率的影响 从图 3 中可以看出料液比增大,多糖提取得率增大,当料液比在 1 g : 10 mL 时提取得率增加幅度大,料液比在 1 g : 10 mL 后,增加趋势不明显。料液比偏小时,固液相中有效成分的浓度差偏小,提取过程中传质速度慢,多糖溶于溶剂的量偏少;随着料液比的增大,提取过程中两相浓度差增大,传质速度加快,多糖在溶剂中的量不断增加。当料液比增加到一定程度时,虽然两相中有效成分的浓度差依然存在,但传质动力增加不大,所以多糖的提取率增幅不明显。从资源的有效利用及降低能耗两方面考虑,微波提取青钱柳多糖料液比不宜太小,也不宜过大,因此采用 1 g : 10 mL 的料液比较适宜。

2.1.3 提取功率对多糖得率的影响 由图 5 可知,随着微波提取功率的加大,多糖提取得率也增大。在相同提取时间内,提取功率加大,物质吸收的微波能越多,细胞破坏程度就越大,有利于活性物质的溶出,所以采用 2 100 W 的提取功率。

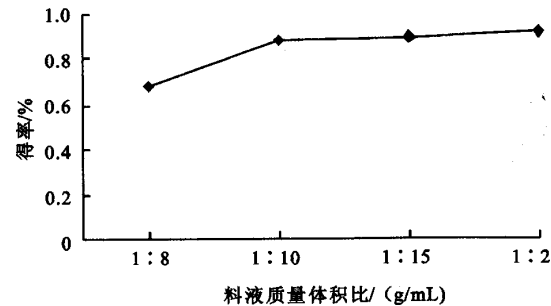


图 3 料液质量体积比对微波提取多糖的影响

Fig. 3 Effects of the ratio of material to solvent on the polysaccharide extraction rate

2.1.4 提取级数对提取多糖的影响 从表 2 中可以知道,增加提取级数,提取得率迅速下降,提取 3 次时,其提取得率较低,而且后期的浓缩分离等工序很

困难,所以一般情况下采用二级提取较为经济合理。

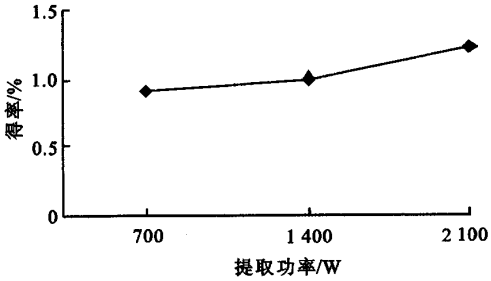


图 4 提取功率对微波提取多糖的影响

Fig. 4 Effects of microwave power on the polysaccharide extraction rate

表 2 提取级数对提取多糖的影响

Tab. 2 Effects of extraction times on the polysaccharide extraction rate

提取级数	得率/%
一级	1.23
二级	0.89
三级	0.32

2.2 微波辅助提取正交试验结果

按照所设计进行三因素三水平 $L_9(3^4)$ 正交设计实验,实验结果见表 3。从正交试验表可以看出,影响青钱柳多糖提取得率诸因素的主次关系依次是料液比、时间、功率。最佳的提取工艺条件为:提取功率为:1 400 W,提取时间为:30 min,料液质量体积比为:1 g : 20 mL。在此条件下多糖提取得率为 2.55%。

表 3 微波提取法 $L_9(3^4)$ 正交试验结果及分析

Tab. 3 Results and analysis of orthogonal experiment

序号	功率/W	时间/min	料液质量 体积比/ (g/mL)	空白 列	得率/%
1	1(700)	1(25)	1(1 : 10)	1	0.648 6
2	1	2(30)	2(1 : 15)	2	0.945 7
3	1	3(35)	3(1 : 20)	3	1.035 2
4	2(1 400)	1	2	3	0.967 2
5	2	2	3	1	2.551 6
6	2	3	1	2	0.610 3
7	3(2 100)	1	3	2	0.714 4
8	3	2	1	3	0.696 1
9	3	3	2	1	1.084 7
K_1	2.629 5	2.330 2	1.955 0	4.284 8	
K_2	4.129 2	4.193 4	2.997 5	2.270 4	
K_3	2.495 2	2.730 2	4.301 3	2.698 6	
R	0.544 7	0.621 1	0.782 1	0.671 5	

2.3 水提取法对比实验

根据两种提取方法所选定的最佳工艺条件,得到的提取得率见表4,从表中可以看出,微波提取法的多糖得率要比水提取法得率高,并且微波提取法的时间远少于水提取法。

表4 微波提取法与水提取法对比试验结果

Tab. 4 Comparison between traditional water extraction method and microwave extraction rate

提取方法	提取时间/min	料液质量体积比/(g/mL)	提取级数	得率/%
水提法	420	1:20	1	1.71
微波提取法	30	1:20	1	2.55

参考文献(References):

- [1] 李磊, 谢明勇, 易醒, 等. 青钱柳多糖组分及其降血糖活性研究[J]. 江西农业大学学报, 2001, 23(4): 484—486.
LI Lei, XIE Ming-yong, YI Xing, et al. Bioactivity of Polysaccharide from Cyclocarya paliurus(Batal.) Iljinsk Leaves in Reducing Blood Sugar[J]. *Acta Agriculurae Universitatit Jiangxiensis*, 2001, 23(4): 484—486. (in Chinese)
- [2] 上官新晨, 陈锦屏, 吴少福, 等. 青钱柳提取物对家兔实验性糖尿病模型降血糖作用的研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2003, 31(6): 117—120.
SHANGGUAN Xin-chen, CHEN Jin-ping, WU Shao-fu, et al. Hypoglycemic effects of Cyclocarya paliurus(Batal.) Iljinsk extracts on diabetic rabbit[J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 2003, 31(6): 118—120. (in Chinese)
- [3] 徐明生, 沈勇根, 吴海龙, 等. 青钱柳水提物降血糖作用的研究[J]. 营养学报, 2004, 26(3): 230—234.
XU Ming-sheng, SHEN Yong-gen, WU Hai-long, et al. The Hypoglycemic Effects of Cyclocarya paliurus(Batal.) Iljinsk water Extracts on Diabetes Mice[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2004, 26(3): 230—234. (in Chinese)
- [4] 王文君, 蒋艳, 吴少福, 等. 青钱柳提取物对糖尿病小鼠降血糖作用的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2003, 34(6): 562—566.
WANG Wen-jun, JIANG Yan, WU Shao-fu, et al. Hypoglycemic Effects of Cyclocarya paliurus(Batal.) Iljinsk Ethanol Abstracts on Diabetic Mice[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2003, 34(6): 562—566. (in Chinese)
- [5] 上官新晨, 陈木森, 徐睿庸. 超声法提取青钱柳多糖[J]. 江西农业大学学报, 2006, 29(6): 809—812.
SHANGGUAN Xin-chen, CHEN Mu-shen, XU Rui-yong. Ultrasonic extraction of Polysaccharide from *Cyclocarya paliurus*(Batal.) Iljinskaja[J]. *Acta Agricultural Universitatit Jiangxiensis*, 2006, 29(6): 809—812. (in Chinese)
- [6] 谢明勇, 聂少平. 茶叶多糖的研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(2): 107—113.
XIE Ming-yong, NIE Shao-ping. A Review of the Research Progress on Tea Polysaccharide[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 25(2): 107—113. (in Chinese)
- [7] 谢明勇, 陈奕. 微波辅助萃取技术研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(1): 105—114.
XIE Ming-yong, CHEN Yi. The Research Progress of Microwave-Assisted Extracting Technology[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 25(1): 105—114. (in Chinese)
- [8] 聂金媛, 吴成岩, 吴世容. 微波辅助提取茯苓中茯苓多糖的研究[J]. 中草药, 2004, 35(12): 1346—1348.
NIE Jin-yuan, WU Cheng-yan, WU Shi-rong. Microwave-assistant extraction of water-soluble pachyman from *Poria cocos* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2005, 35(12): 1346—1348. (in Chinese)
- [9] 梁艳, 应苗苗, 吕英华, 等. 微波辅助提取仙人掌多糖的工艺研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(7): 159—162.
LIANG Yan, YING Miao-miao, LY Ying-hua, et al. Microwave-assisted technology for extracting opuntia polysaccharide [J]. *Transactions of the CSAE*, 2006, 22(7): 159—162. (in Chinese)
- [10] 舒任庚, 舒积成, 刘玉凤. 青钱柳嫩叶中多糖的含量测定[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(3): 45—46.
SHU Ren-gen, SHU Ji-cheng, LIU Yu-feng. Determination of Polysaccharide in the *Cyclocarya Paliurus* (Batal.) Iljinskaja[J]. *Chinese Journal of Information on TCM*, 2005, 12(3): 45—46. (in Chinese)

(责任编辑: 朱明)