

邓志勇, 吴桂容. 微波法提取叶下珠多糖工艺条件优化[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 241–243.

微波法提取叶下珠多糖工艺条件优化

邓志勇, 吴桂容

(贺州学院化学与生物工程学院, 广西贺州 542800)

摘要:采用单因素试验和 $L_9(3^3)$ 正交试验, 研究微波法提取叶下珠多糖工艺中微波功率、微波处理时间、料液比对多糖提取率的影响。结果表明, 影响叶下珠多糖提取率的各因素依次为微波功率(A) > 微波处理时间(B) > 料液比(C), 最佳提取工艺为 $A_2B_2C_3$, 即微波功率为中温档, 微波处理时间为 4 min, 料液比 1 g : 20 mL, 在此工艺条件下, 叶下珠多糖提取率为 7.94%。

关键词:叶下珠; 多糖; 微波法; 正交试验; 提取率

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0241-02

叶下珠 (*Phyllanthus urinaria* Linn.) 为大戟科叶下珠属中的一种草本植物, 又名珍珠草、夜合草、阴阳草、油柑草等^[1], 全草入药, 具有清热利尿、解毒、止泻、抑菌、体内和体外抗乙型肝炎病毒^[2]、防治肝细胞损伤^[3]、预防肝癌、抗艾滋病病毒及治疗乙型肝炎等作用^[4]。叶下珠属植物中含有丰富的活性成分, 如多糖、萜类、生物碱、黄酮、酚类及独特的氨基酸等^[5-6]。多糖广泛地存在于动物细胞膜、植物和微生物细胞壁中, 而多糖是叶下珠中的一种功能成分, 在调节免疫、抗氧化、降血糖、抗病毒以及抗肿瘤等方面有显著的作用。

近年来, 微波辅助技术已被用于植物有效成分的提取, 它具有快速、高效的特点。现在, 微波技术已用于某些生物材料的多糖提取中, 如甘薯、枸杞、大枣及牛蒡多糖的提取等, 用微波技术直接提取, 结果表明反应时间大大缩短^[7-10]。为了研究叶下珠多糖微波辅助提取的最佳工艺条件, 本研究采用单因素试验与正交试验, 对叶下珠多糖的微波辅助提取工艺条件进行了优化, 确立了叶下珠多糖提取最佳工艺, 以期对叶下珠药材资源的综合利用提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料与试剂 叶下珠样品采自广西贺州市郊区的农田, 将其在低温下烘干, 粉碎、过 40 目筛备用; 葡萄糖、苯酚、95% 乙醇、丙酮、乙醚、浓硫酸购于广东省汕头市西陇化工厂, 均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备 数显恒温水浴锅 (天津泰斯特仪器公司); 电子精密天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); VIS-7220 紫外可见分光光度计 (北京瑞利分析仪器公司);

HR-6702DW 海尔微波炉 (青岛海尔微波制品有限公司); TG16G 高速离心机 (长沙凯达科学仪器公司)。

1.2 方法

1.2.1 提取叶下珠多糖 称取 5 g 叶下珠粉末→加适量的蒸馏水→微波提取→抽滤→加 3 倍体积无水乙醇沉淀→离心→弃上清液→分别用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤→干燥→粗多糖制品。

1.2.2 标准曲线的绘制 精密称取于 105 °C 干燥至恒重的无水葡萄糖对照品 20 mg, 于 100 mL 容量瓶中定容, 得到 0.2 mg/mL 葡萄糖溶液。用移液管分别吸取上述葡萄糖溶液 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、14.0、16.0、18.0 mL 置于 50 mL 容量瓶, 加水稀释至刻度, 然后各取 2.0 mL 置于 10 mL 比色管, 分别加入 6% 苯酚溶液 1.0 mL, 摇匀后加入浓硫酸 5.0 mL 定容成 10 mL, 静置 10 min, 摇匀, 室温放置 20 min, 以蒸馏水做同样试剂处理为空白对照, 在 490 nm 波长处测吸光度 (D)。以葡萄糖浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制葡萄糖标准曲线。线性回归得方程 $y = 3.8271x + 0.0944$, 其中 $r^2 = 0.9974$, y 为吸光度, x 为葡萄糖浓度 (mg/mL) (图 1)。

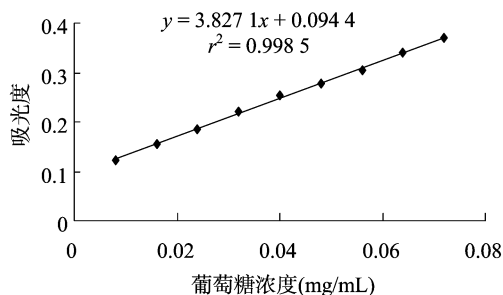


图1 葡萄糖标准曲线

1.2.3 多糖的测定 本试验采用苯酚-硫酸法测定叶下珠多糖的含量。取干燥至恒重后的叶下珠多糖供试品, 加蒸馏水定容到 100 mL, 摇匀, 用移液管移取 10 mL 定容到 50 mL, 精密吸取待测液 2 mL, 置于 10 mL 比色管, 按“1.2.2”方法显色, 测定 D 值, 多糖提取率按如下公式计算:

总多糖提取率 = $(C \times V \times D) / (m \times 1000) \times 100\%$ 。

式中: C 为葡萄糖浓度 (mg/mL); V 为溶液体积 (mL); D 为稀释倍数; m 为叶下珠粉末质量 (g)。

收稿日期: 2012-12-09

基金项目: 广西自然科学基金青年项目 (编号: 2011GXNSFB018055);

贺州学院植物学重点建设学科 (编号: 2011ZDJXSXK05)。

作者简介: 邓志勇 (1978—), 男, 广西临桂人, 硕士研究生, 讲师, 主要从事植物源农药研究及天然药物的开发与利用。E-mail: dengzhiyong05@163.com。

通信作者: 吴桂容 (1970—), 女, 硕士, 副教授, 主要从事植物污染生态研究。E-mail: hzwgn510@163.com。

1.2.4 微波辅助提取工艺条件的优化 (1)单因素试验:称取叶下珠粉末 5 g,按“1.2.1”试验方法,研究微波功率、微波处理时间、料液比 3 个单因素对叶下珠多糖提取率的影响,进而确定因素及其水平范围进行正交试验设计。(2)正交试验:以单因素试验为基础,选择微波功率、微波处理时间、料液比 3 个因素,以多糖提取率为指标,采用 $L_9(3^3)$ 正交设计,进行 3 因素 3 水平的正交试验。因素与水平见表 1。

表 1 叶下珠多糖提取正交试验因素水平			
试验水平	因素		
	A:功率	B:时间 (min)	C:料液比 (g : mL)
1	中低温	3	1 : 10
2	中温	4	1 : 15
3	中高温	5	1 : 20

2 结果与分析

2.1 单因素最佳参数的确定

2.1.1 微波功率对提取率的影响 在料液比为 1 g : 15 mL、浸泡 30 min、微波处理时间为 4 min 条件下,考察了微波功率在低温、中低温、中温、中高温、高温条件下对叶下珠多糖提取率的影响,结果如图 2 所示。随着微波功率的逐渐增大,多糖提取率先增大后减小,当处于中温档时,提取率明显增大,当继续增大微波功率后,提取率呈下降趋势,因此,微波功率可取中温档。

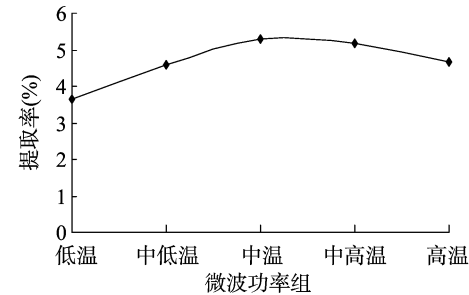


图2 微波功率对叶下珠多糖提取率的影响

2.1.2 微波处理时间对提取率的影响 在料液比为 1 g : 15 mL、浸泡 30 min、微波功率为中温档的条件下,考察了微波处理时间分别在 2、4、6、8、10 min 的条件下对叶下珠多糖提取率的影响,结果如图 3 所示。随着微波处理时间的延长,叶下珠多糖提取率先增大后减小,当微波处理时间在 4 min 时,多糖提取率达到最大,因此,微波处理时间可取 4 min。

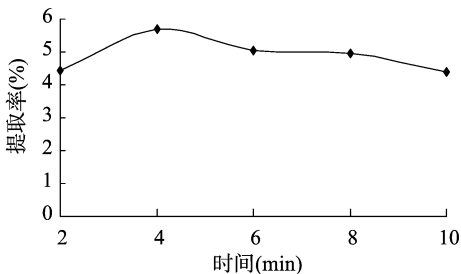


图3 微波处理时间对叶下珠多糖提取率的影响

2.1.3 料液比对提取率的影响 在浸泡 30 min、微波功率为

中温档、微波处理时间为 4 min 的条件下,考察了料液比 (g : mL) 分别为 1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25、1 : 30 的条件下对叶下珠多糖提取率的影响,结果如图 4 所示。随着水用量的增加,多糖提取率在增加,当料液比为 1 g : 15 mL 时,多糖提取率最高,之后,随着水用量的增加,多糖的提取率降低,因此料液比可取 1 g : 15 mL。

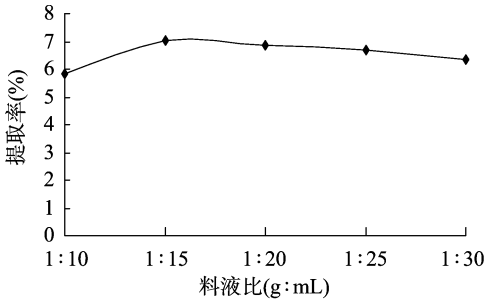


图4 料液比对叶下珠多糖提取率的影响

2.2 正交试验结果与分析

正交试验结果见表 2。从正交试验方差分析可知,各因素对叶下珠多糖提取率的影响程度为:微波功率(A) > 微波处理时间(B) > 料液比(C)。由 k 比较可得,A 因素中水平的重要性依次为 $k_2 > k_3 > k_1$, B 因素中水平的重要性依次为 $k_2 > k_3 > k_1$ 。C 因素中水平的重要性依次为 $k_3 > k_2 > k_1$ 。因此,微波法提取叶下珠多糖的最佳工艺组合为 $A_2B_2C_3$,即微波功率为中温档,微波处理时间为 4 min,料液比 1 g : 20 mL。按最佳工艺提取,重复试验 3 次,取平均值得到叶下珠多糖提取率为 7.94%,高于其他组合。

表 2 叶下珠多糖提取正交试验结果

试验编号	因素			多糖提取率 (%)
	A	B	C	
1	1	1	1	5.534
2	1	2	2	6.632
3	1	3	3	6.266
4	2	1	2	6.775
5	2	2	3	7.756
6	2	3	1	7.063
7	3	1	3	7.115
8	3	2	1	7.011
9	3	3	2	6.854
k_1	6.144	6.475	6.536	
k_2	7.198	7.133	6.754	
k_3	6.993	6.728	7.046	
极差 R	1.054	0.658	0.510	
最优组合	A_2	B_2	C_3	

3 结论与讨论

通过单因素试验及正交试验,确定了微波法提取叶下珠多糖的最佳工艺:微波功率中温档,微波处理时间 4 min,料液比 1 g : 20 mL。按最佳工艺提取,重复试验 3 次,取平均值得到叶下珠多糖提取率为 7.94%,高于其他组合。

用微波法提取叶下珠多糖有明显的协同作用,因为微波的热效应能使细胞壁破裂和使细胞膜中的酶失去活性,细胞

张宏喜,周婷婷,李楠,等. 利用乙醇自催化法提取棉秆中的木质素[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):243-245.

利用乙醇自催化法提取棉秆中的木质素

张宏喜¹,周婷婷¹,李楠¹,薛来奇²,孟宪锋¹

(1. 昌吉学院化学与应用化学系,新疆昌吉 831100; 2. 昌吉学院科研处,新疆昌吉 831100)

摘要:采用乙醇自催化法提取棉秆中的木质素,考察了乙醇浓度、反应温度、反应时间、棉秆-乙醇的固液比等因素对木质素产率的影响规律。确定了乙醇自催化法提取棉秆中木质素的最优提取条件为:乙醇浓度为 75%,反应时间为 3 h,反应温度为 200 ℃,棉秆-乙醇固液比为 1 g:6 mL。在此条件下所得木质素的产率最高,为 47.0%。

关键词:棉秆;木质素;提取;乙醇

中图分类号: O636.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0243-03

木质素是自然界中唯一可再生的芳香化合物,在石油、煤等提供芳香化合物的矿产资源供应日趋紧张与需求日益增加的剧烈矛盾背景下,对于木质素的提取利用研究具有更加重要的意义。木质素广泛分布于各类植物中,以农业副产物秸秆为例,我国每年副产秸秆约 7 亿 t,约含木质素 1.4 亿 t^[1]。巨量的木质素富集了大量的太阳能,可循环利用,可生物降解,无温室气体的净排放,无毒无害,是极为理想的芳香化合物来源和化工原料。因此,木质素的分离与利用对于缓解能源危机、减轻环境污染、提高资源的可再生循环利用具有十分重要的意义。我国是世界最大产棉国,年产棉秆超过 2 000 万 t,棉秆中含约 20% 的木质素。新疆是我国最大产棉区,年产棉秆约 800 万 t。由于棉秆中营养成分少,质地坚硬,不易就地利用,大部分棉秆目前的处理方式是焚烧或填埋,造成了环境污染和资源浪费。将棉秆中丰富的木质素进行洁净分离和利用,是解决棉秆污染和浪费问题的有益方式。

目前木质素的主要产品是木质素磺酸盐(碱木质素),在建筑、油田、农药等领域应用广泛。碱木质素的价格低廉,但是化学活性也较低,且灰分含量、糖含量较高,需要进行精制

和化学改性后才可用于精细化学品的生产。因其来源于碱法制浆的黑液,也存在着污染大、分离难的问题。近年来,有机溶剂法成为木质素分离的研究方向,其中,乙醇自催化制浆法以其成本低、溶剂可回收利用、基本上无废液排放等特点成为研究热点^[2-3]。此方法得到的木质素产品相对于碱法制浆而言,具有灰分含量低、分子量较为均一、化学活性高、可直接用于精细化学品合成^[4-9]等优点,物理、化学性质有明显提高。

基于以上原因,本研究进行了乙醇自催化法提取棉秆中木质素的试验。对影响乙醇自催化法的主要工艺因素即温度、反应时间、乙醇浓度、固液比等进行了分析。通过试验优化,筛选了最佳分离条件,并对所得产品进行了表征。

1 材料与方法

1.1 供试材料

棉秆取自早 26 提高系 998 棉花品种。无水乙醇、氯化镁、浓硫酸、浓硝酸、浓盐酸等试剂均为分析纯。Lambda-35 型紫外-可见分光光度计(美国珀金-埃尔默公司);330 型傅立叶变换红外光谱仪(美国 Thermo 公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 棉秆各组分的含量测定 棉秆中木质素的测定采用克拉逊法;纤维素的测定参照硝酸乙醇法;灰分的测定方法参照 GB5009.4—2010《食品中灰分的测定》。

1.2.2 棉秆中木质素的分离 准确称取一定量粉碎的棉秆,转入 50 mL 反应釜,加入一定量乙醇,加热到一定温度并保温

收稿日期:2012-11-27

基金项目:昌吉学院科研基金(编号:2010YJZD001);昌吉学院教科研基金(编号:10JYZD002)。

作者简介:张宏喜(1977—),男,新疆巩留人,博士,副教授,主要从事生物质转化与利用的研究。E-mail:zhx@ejc.edu.cn。

中多糖很容易突破细胞壁和细胞膜障碍而被萃取出来,从而降低提取剂用量,缩短提取时间和提高多糖产率,具有省时、高效、节能等优点,因而能降低提取成本,在很多方面优于传统的直接加热提取法。

参考文献:

- [1] 罗文继,阮细发,杨义雄. 叶下珠研究概述[J]. 海峡药学,1988,10(1):70-72.
- [2] 张 韬. 叶下珠的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2002,19(4):22-23.
- [3] 周 军,李 茂. 叶下珠醇提物对实验性肝损伤的保护作用[J]. 广西中医学院学报,2004,7(1):5-7.
- [4] 马海伦. 苦味叶下珠抗乙型肝炎病毒作用的研究进展[J]. 天津

医药,1994(12):760-763.

- [5] 周 宇,袁福华. 叶下珠化学成分的研究进展[J]. 药学实践杂志,2007,25(4):206-209.
- [6] 范 适,李兰岚,饶力群. 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:自然科学版,2006,20(2):83-87.
- [7] 王桃云,金 璘,胡翠英,等. 响应面法优化甘薯多糖萃取工艺与抗氧化性研究[J]. 江苏农业科学,2011,39(6):540-542.
- [8] 陈吉生,吕剑豪. 枸杞多糖提取工艺研究[J]. 医药导报,2010,25(5):649-652.
- [9] 石 奇,石 昇. 微波法提取大枣多糖的工艺研究[J]. 应用科技,2008,35(7):56-58.
- [10] 朱建飞. 微波法提取牛蒡多糖的工艺研究[J]. 湖南农业科学,2010(13):117-118.