

杨志坚,温杭凯,刘江洪,等. 金边龙舌兰糖类提取工艺优化及不同肥料配方对其组分的影响[J]. 江苏农业科学,2021,49(21):187-190.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.21.030

金边龙舌兰糖类提取工艺优化及不同肥料配方对其组分的影响

杨志坚^{1,2}, 温杭凯², 刘江洪^{1,2}, 许明^{1,2}, 廖素凤^{1,2}

(1. 福建农林大学作物遗传育种与综合利用教育部重点实验室, 福建福州 350002; 2. 福建农林大学农产品品质研究所, 福建福州 350002)

摘要:研究金边龙舌兰糖类组分的最佳提取工艺及不同施肥配比对金边龙舌兰糖类组分的影响。利用正交设计筛选最佳的提取工艺为 $A_1B_3C_3D_3$ (85% 乙醇, 料液比为 1 g : 35 mL, 65 °C 超声提取 10 min), 利用该最佳提取工艺研究不同施肥配比对金边龙舌兰糖类组分含量的影响, 结果表明, 在 $N_3P_3K_1$ ($N_3 = 0.18$ g/L, $P_3 = 0.07$ g/L, $K_1 = 0.02$ g/L) 处理下蔗糖及果糖的含量最高, 分别达 0.66、0.09 mg/mL, 葡萄糖则是在 $N_4P_3K_2$ ($N_4 = 0.23$ g/L, $P_3 = 0.07$ g/L, $K_2 = 0.06$ g/L) 处理下含量最高, 达到 0.42 mg/mL, 而在 $N_3P_3K_1$ 组合处理下的葡萄糖含量为 0.40 mg/mL, 与其相差甚小, 因此要整体提高金边龙舌兰糖类组分可施用 $N_3P_3K_1$ ($N_3 = 0.18$ g/L, $P_3 = 0.07$ g/L, $K_1 = 0.02$ g/L) 组合的氮、磷、钾 (NPK) 配比。

关键词:金边龙舌兰; NPK 施肥; 糖类组分; 提取工艺优化; 正交试验

中图分类号: S682.360.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2021)21-0187-04

近些年, 国内有学者对龙舌兰科的植物进行多方面相关的研究^[1-7], 但是关于龙舌兰糖类组分的研究, 国内外鲜有相关文献发表。目前国内对龙舌兰科虎皮兰多糖的提取及活性的研究开展了一些

基础性研究工作, 马齿苋多糖中主要单糖组成物质质量之比大致为半乳糖醛酸: 葡萄糖: 半乳糖: 阿拉伯糖 = 1.75 : 1.00 : 1.58 : 1.00^[1]。

多糖对调节人体生理、有助于新陈代谢、增强免疫力、预防疾病等方面具有重要的作用。而金边龙舌兰 (*Agave americana*) 作为特种作物^[8], 具有抗逆性强、繁殖力高等特性^[9], 且在我国亚热带地区种植面积广^[10-11], 故对金边龙舌兰糖类组分进行相关研究, 具有长远的实际意义。

本试验根据金边龙舌兰生活习性^[12] 及对营养

收稿日期: 2021-04-28

基金项目: 福建省福州市科技计划 (编号: 2019-G-33); 福建农林大学科技创新专项基金 (编号: KFA17420A、KFA17155A); 福建省中青年教育科研项目 (编号: JT180145)。

作者简介: 杨志坚 (1981—), 男, 福建泉州人, 硕士, 讲师, 主要从事功能植物研究。E-mail: yangzj41@163.com。

[16] 张欣欣, 周哲, 陈炎, 等. 桑葚风味构成特点研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(7): 167-171.

[17] 余柳仪, 陈森芬, 刘京宏, 等. 桑不同部位及不同成熟度桑葚挥发性成分分析[J]. 湖南农业大学学报 (自然科学版), 2020, 46(1): 63-69.

[18] 池旭娟, 朱引根, 杨佩华, 等. 桑椹成熟期营养成分的动态变化[J]. 中国蚕业, 2009, 30(1): 32-35.

[19] 乔健, 马智玲, 魏长宾, 等. 湛江地区不同桑葚品种的品质比较[J]. 食品工业科技, 2020, 41(12): 264-268, 290.

[20] 黄新球, 杨有仙, 梁铨, 等. 十一种蜂花粉中总黄酮和总多酚含量分析[J]. 蜜蜂杂志, 2017(11): 3-6.

[21] 董捷, 张红城, 秦健, 等. 十种蜂花粉醇提物中总多酚和总黄酮含量测定[J]. 食品科学, 2008, 29(12): 246-249.

[22] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. 蜂胶中总黄酮含量的测定方法 分光光度比色法: GBT 20574—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[23] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中水分的测定方法: GB 5009.3—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[24] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品中灰分的测定: GB 5009.4—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[25] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. 食品中总酸: GB/T 12456—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[26] 中华人民共和国农业部. 水果和蔬菜可溶性固形物含量的测定 折射仪法: NY/T 2637—2014[S]. 北京: 中国农业出版社, 2014.

[27] 韩丽颖, 张绍文. 果品贮藏保鲜技术问答[M]. 北京: 中国食品出版社, 1987: 7.

[28] 杨喆, 陈秋生, 张强, 等. 不同品种桑葚与桑叶中氨基酸含量差异研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(17): 4534-4538.

需求不同,设计不同氮磷钾(NPK)配比培养金边龙舌兰,探讨配施不同 NPK 含量对金边龙舌兰糖类组分含量的影响。在此试验基础上展开,是否能通过一定改进措施,如加强植物的水肥管理^[13],在满足金边龙舌兰生长需求的同时,提升金边龙舌兰中糖类组分含量,使施用 NPK 营养液的金边龙舌兰比在正常生长条件下的金边龙舌兰糖类组分含量有显著提高,进而筛选出最优 NPK 配比组合。本试验将为提高金边龙舌兰糖类组分含量提供科学合理的施肥配比,以期在相同试验条件下,以同等试验材料提取出更多糖类组分的目的。

1 材料与方法

1.1 试验时间

2017 年 9 月 2 日至 10 月 21 日。

1.2 试验地点

试验地点为福建农林大学农产品品质研究所。

1.3 试验材料

金边龙舌兰一年生植株 78 株,白色透明塑料盆 78 个。

试验试剂为 95% 乙醇、双蒸水(试剂为分析纯)、菲罗门氨基柱。试验仪器为 KQ-700E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、WZB-35 数显折射光仪(上海精密科学仪器有限公司)、BSA1245-CW 电子天平[塞多利斯科学仪器(北京)有限公司]、XMTD-8222 恒温烘干箱、D-2000 日立高效液相色谱仪。

1.4 最佳提取工艺方式的确定

1.4.1 金边龙舌兰的预处理 选取大小一致、生长健壮的一年生金边龙舌兰的叶片,将试验材料切碎,放入预热至 125 ℃ 的恒温烘箱内 10 min,后将温度调至 95 ℃,待水分完全散失,利用高速粉碎机将其磨成粉末。

1.4.2 糖类组分提取工艺流程 取粉末状金边龙舌兰各 5 g,在不同料液比、提取温度、提取时间及提取溶剂浓度下,超声,过滤,利用 WZB-35 数显折射光仪和日立高效液相色谱测定金边龙舌兰糖类组分含量。

1.4.3 试验设计 称取 5 g 金边龙舌兰粉,在超声时间 A(10、20、30 min),提取温度 B(55、60、65 ℃)、料液比 C(1 g:25 mL、1 g:30 mL、1 g:35 mL)、提取试剂乙醇浓度 D(75%、80%、85%)的条件下提取糖类组分,每个组合重复 3 次,

超声,趁热过滤,将滤液按料液比进行定容。选用 $L_9(3^4)$ 正交试验(表 1),对超声时间、提取温度、料液比、提取溶剂溶度进行优化。

表 1 超声波法提取金边龙舌兰糖类含量正交试验设计

水平	因素			
	A:超声时间 (min)	B:提取温度 (℃)	C:料液比 (g:mL)	D:提取溶剂 溶度(%)
1	10	55	1:25	75
2	20	60	1:30	80
3	30	65	1:35	85

1.5 不同氮磷钾配比对金边龙舌兰糖类组分的影响

1.5.1 金边龙舌兰的预处理 选取生长健壮、大小一致的一年生金边龙舌兰 51 株,将植株根系洗净,栽植在统一规格的白色透明塑料盆内,分为 17 组,每组重复 3 次,用双蒸水培养 1 周(确保金边龙舌兰 2/3 根系能接触到双蒸水),以适应水培环境。

1.5.2 试验流程 将预处理过的金边龙舌兰植株培养在不同配比氮磷钾(NPK)水培液中 5 周,运用金边龙舌兰糖类组分最佳提取工艺提取,利用 WZB-35 数显折射光仪和日立高效液相色谱仪测定金边龙舌兰各糖类组分含量。

1.5.3 试验设计 用正交试验设计通过不同 NPK 比例配施水培金边龙舌兰,水培液每周更换 1 次,持续更换 5 周。本试验探讨不同 NPK 配施水培金边龙舌兰,旨在筛选出最佳 NPK 营养液配比方案,以期获得金边龙舌兰糖类组分含量最高的植株。

试验在参照前人不同 NPK 配比施肥的基础上,以 NPK 三大营养元素的不同浓度配比为处理条件,采用 3 因素 4 水平,设计 16 个 NPK 试验组合。试验因素水平见表 2。每次每盆金边龙舌兰植株施用 500 mL 水培液,保证金边龙舌兰根系有 2/3 接触到水培液,试验所用 N、P、K 肥来源为尿素(AR)、过磷酸钙(LR)、氯化钾(AR),其对应的有效成分含量分别为 46% N、12% P_2O_5 、60% K_2O 。除施肥因素外,其他养护管理措施都相同。

表 2 $L_{16}(4^3)$ 正交试验设计

水平	因素		
	N(N,g/L)	P_2O_5 (P,g/L)	K_2O (K,g/L)
1	0.08(N_1)	0.01(P_1)	0.02(K_1)
2	0.13(N_2)	0.04(P_2)	0.06(K_2)
3	0.18(N_3)	0.07(P_3)	0.10(K_3)
4	0.23(N_4)	0.10(P_4)	0.14(K_4)

1.6 数据统计与分析

采用 Excel 2007 软件对金边龙舌兰糖类组分含量基础数据进行整理,取平均值。

2 结果与分析

2.1 提取工艺对金边龙舌兰单糖提取率的影响

利用 WZB-35 数显折射光仪对金边龙舌兰糖分含量进行测量,3 组测量数据取其平均值,同时转化为同等体积下的糖分浓度,结果见表 3。

表 3 金边龙舌兰糖分含量

序号	组合	平均糖分含量 (%)	转换值 (%)
1	A ₁ B ₁ C ₁ D ₁	20.07 ± 1.55	25.09 ± 1.55
2	A ₁ B ₂ C ₂ D ₂	19.13 ± 0.47	28.70 ± 0.47
3	A ₁ B ₃ C ₃ D ₃	19.87 ± 1.27	34.77 ± 1.27
4	A ₂ B ₁ C ₂ D ₃	21.00 ± 0.17	31.50 ± 0.17
5	A ₂ B ₂ C ₃ D ₁	17.60 ± 1.15	30.80 ± 1.15
6	A ₂ B ₃ C ₁ D ₂	20.60 ± 0.61	25.75 ± 0.61
7	A ₃ B ₁ C ₃ D ₂	19.60 ± 0.92	34.30 ± 0.92
8	A ₃ B ₂ C ₁ D ₃	20.93 ± 0.21	26.16 ± 0.21
9	A ₃ B ₃ C ₂ D ₁	19.87 ± 0.90	29.81 ± 0.90

由表 3 可知,在 A₁B₃C₃D₃ 组合提取条件下即超声时间为 10 min、提取温度为 65 ℃、料液比为 1 g : 35 mL、溶剂浓度为 85%,测得金边龙舌兰所含糖分最高,为 34.77%;其次为 A₃B₁C₃D₂ 组合,与 A₁B₃C₃D₃ 组合相差非常小,但如果考虑提取效率,则以 A₁B₃C₃D₃ 组合为最佳。为了深入了解提取工艺对金边龙舌兰各个糖类组分含量的影响,在此试验的基础上利用高效液相色谱法精确测量金边龙舌兰糖类组分提取液中各糖类组分的含量,结果见表 4。

表 4 金边龙舌兰各糖类组分含量

序号	处理	糖类含量 (mg/mL)		
		葡萄糖	果糖	蔗糖
1	A ₁ B ₁ C ₁ D ₁	0.77 ± 0.04	0.11 ± 0.04	0.07 ± 0.01
2	A ₁ B ₂ C ₂ D ₂	0.65 ± 0.03	0.10 ± 0.02	0.03 ± 0.02
3	A ₁ B ₃ C ₃ D ₃	0.85 ± 0.02	0.10 ± 0.03	0.10 ± 0.02
4	A ₂ B ₁ C ₂ D ₃	0.67 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.02 ± 0.01
5	A ₂ B ₂ C ₃ D ₁	0.63 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.02 ± 0.01
6	A ₂ B ₃ C ₁ D ₂	0.59 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.00 ± 0.00
7	A ₃ B ₁ C ₃ D ₂	0.63 ± 0.03	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01
8	A ₃ B ₂ C ₁ D ₃	0.72 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.02 ± 0.01
9	A ₃ B ₃ C ₂ D ₁	0.74 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.00 ± 0.00

由表 4 可知,葡萄糖和蔗糖在组合 A₁B₃C₃D₃ 提取条件下,即超声时间为 10 min、提取温度为 65 ℃、

料液比为 1 g : 35 mL、溶剂浓度为 85%,其含量都为最高,葡萄糖含量为 0.85 mg/mL,蔗糖含量为 0.10 mg/mL,而果糖却是在 A₁B₁C₁D₁、A₂B₃C₁D₂、A₃B₃C₂D₁ 组合提取条件下最高,为 0.11 mg/mL。但考虑到果糖在每个组合提取条件下的含量变化极小,所以综合表 3、表 4 的数据分析, A₁B₃C₃D₃ 组合提取金边龙舌兰糖类组分效率最高,为最优的组合。

2.2 NPK 不同配比对金边龙舌兰各糖类组分含量的影响

通过试验研究得出最佳提取工艺组合处理金边龙舌兰,得到糖类组分提取液,利用 WZB-35 数显折射光仪测得金边龙舌兰糖分含量,结果见表 5。

表 5 NPK 不同配比下金边龙舌兰糖分含量

序号	组合	质量 (g)	糖分含量 (%)
1	N ₁ P ₁ K ₁	1.012 3	21.1 ± 0.29
2	N ₁ P ₂ K ₂	1.004 0	21.3 ± 0.06
3	N ₁ P ₃ K ₃	1.004 1	21.1 ± 0.46
4	N ₁ P ₄ K ₄	1.008 5	21.1 ± 0.17
5	N ₂ P ₁ K ₂	1.003 6	21.1 ± 0.29
6	N ₂ P ₂ K ₁	1.003 6	21.1 ± 0.35
7	N ₂ P ₃ K ₄	1.002 6	21.2 ± 0.06
8	N ₂ P ₄ K ₃	1.000 5	21.2 ± 0.17
9	N ₃ P ₁ K ₃	1.000 5	21.4 ± 0.17
10	N ₃ P ₂ K ₄	1.003 8	21.3 ± 0.17
11	N ₃ P ₃ K ₁	1.006 9	21.2 ± 0.17
12	N ₃ P ₄ K ₂	1.005 0	21.2 ± 0.29
13	N ₄ P ₁ K ₄	1.004 4	21.2 ± 0.23
14	N ₄ P ₂ K ₃	1.003 4	21.3 ± 0.06
15	N ₄ P ₃ K ₂	1.002 6	21.2 ± 0.12
16	N ₄ P ₄ K ₁	1.005 4	21.2 ± 0.06
17	N ₀ P ₀ K ₀	1.008 9	21.2 ± 0.17

由表 5 可知,在不同的 NPK 配施下金边龙舌兰的总糖分含量无明显差异,所以量化到以葡萄糖、果糖、蔗糖等各个多糖含量为指标,通过高效液相色谱法精确测量,结果见表 6。

由表 6 可知,蔗糖、果糖都是在 N₃P₃K₁ 处理下含量最高,分别为 0.66、0.09 mg/mL;葡萄糖则是在 N₄P₃K₂ 处理下含量最高,为 0.42 mg/mL,而在 N₃P₃K₁ 组合处理下的葡萄糖含量为 0.40 mg/mL,与其相差甚小,故从整体最优原则看,处理 11 即 N₃P₃K₁ 处理对金边龙舌兰各糖类组分含量的影响最大,且其组间糖类组分含量高低为蔗糖 > 葡萄

糖>果糖,分别为 0.66、0.40、0.09 mg/mL。同时从表 6 可知,金边龙舌兰各糖类组分含量大致的高低为蔗糖和葡萄糖含量同为最高,果糖最低,其中果糖在不同 NPK 配施影响下波动较小且含量极少,所以果糖指标可忽略考虑,从而得到 N₃P₃K₁ 对金边龙舌兰各糖类组分含量的影响最大。综上所述,整体最优组合为 N₃P₃K₁;蔗糖和果糖都是在 N₃P₃K₁ 处理下含量最高,分别为 0.66、0.09 mg/mL;葡萄糖则是处理 15 即 N₄P₃K₂ 处理下含量最高,为 0.42 mg/mL。

表 6 不同 NPK 配施下的金边龙舌兰各糖类组分含量

序号	处理	糖类含量 (mg/mL)		
		葡萄糖	果糖	蔗糖
1	N ₁ P ₁ K ₁	0.19±0.02	0.01±0.00	0.25±0.01
2	N ₁ P ₂ K ₂	0.25±0.01	0.03±0.01	0.20±0.01
3	N ₁ P ₃ K ₃	0.18±0.01	0.02±0.01	0.17±0.01
4	N ₁ P ₄ K ₄	0.24±0.01	0.03±0.01	0.28±0.01
5	N ₂ P ₁ K ₂	0.20±0.02	0.01±0.01	0.21±0.01
6	N ₂ P ₂ K ₁	0.17±0.02	0.01±0.01	0.13±0.01
7	N ₂ P ₃ K ₄	0.30±0.03	0.04±0.01	0.27±0.01
8	N ₂ P ₄ K ₃	0.35±0.02	0.08±0.01	0.43±0.01
9	N ₃ P ₁ K ₃	0.25±0.02	0.04±0.01	0.31±0.01
10	N ₃ P ₂ K ₄	0.31±0.01	0.03±0.01	0.35±0.02
11	N ₃ P ₃ K ₁	0.40±0.02	0.09±0.01	0.66±0.01
12	N ₃ P ₄ K ₂	0.31±0.02	0.04±0.01	0.35±0.01
13	N ₄ P ₁ K ₄	0.24±0.01	0.03±0.01	0.36±0.01
14	N ₄ P ₂ K ₃	0.30±0.01	0.02±0.01	0.27±0.03
15	N ₄ P ₃ K ₂	0.42±0.01	0.07±0.01	0.31±0.01
16	N ₄ P ₄ K ₁	0.25±0.02	0.02±0.01	0.24±0.03
17	N ₀ P ₀ K ₀	0.18±0.01	0.04±0.01	0.30±0.01

3 结论与讨论

金边龙舌兰在我国南方大量种植,资源丰富^[10,14],本试验研究了金边龙舌兰糖类组分最佳提取工艺和 NPK 3 个因素配比对水培金边龙舌兰产生各糖类组分的影响程度。结果表明,金边龙舌兰糖类组分的最佳提取工艺为在 85% 乙醇料液比为 1 g:35 mL 的条件下,通过 65℃ 超声提取 10 min,金边龙舌兰的糖类组分提取率最高。经验证该工艺稳定可行,适合于金边龙舌兰各糖类组分的提

取。在此基础上,利用选出的最佳提取工艺,提取经不同配比 NPK 处理的金边龙舌兰糖类组分,使用高效液相色谱法测得其葡萄糖、果糖、蔗糖的含量。结果表明,在进行配施时,不同 NPK 浓度水平及配比施用能提高水培金边龙舌兰各糖类组分含量,即不同配比 NPK 营养液用以水培金边龙舌兰植株,其产生各糖类组分能力存在一定差异。须要整体提高金边龙舌兰的蔗糖、葡萄糖及果糖含量时,使用 N₃P₃K₁ 的 NPK 配比效果最佳。因此,不同的 NPK 配比对金边龙舌兰蔗糖、葡萄糖及果糖含量的影响效果是不一致的。需要得到某一种糖类组分,可在施肥过程中改变 NPK 的配比,以期得到最多该糖类组分,但对于其产生的机制尚未可知,须要对金边龙舌兰细胞结构进行深入研究。

参考文献:

[1]黄艳伟,张雪红,姚先超,等. 剑麻果胶多糖脱蛋白方法研究[J]. 食品科技,2011,36(2):144-147,153.

[2]杨就锦,陈冰,李嘉亮,等. 金边龙舌兰超氧化物歧化酶的提取与特性研究[J]. 化学研究与应用,2014,26(4):497-500.

[3]金建明,刘锡葵,杨崇仁. 龙舌兰发酵叶汁中的一个新甾体皂苷[J]. 云南植物研究,2002,24(4):539-542.

[4]魏霞,辛悦芳,王修德,等. 龙舌兰口服液治疗慢性支气管炎临床研究[J]. 山东中医杂志,2001,20(8):468-469.

[5]黄献胜. 浅谈龙舌兰的纵切繁殖[J]. 中国花卉盆景,2007(4):12-13.

[6]曾胜,周苹. 土家药龙舌兰外用治疗急性痛风肿痛[J]. 中国民族医药杂志,2008,14(5):19.

[7]杨志坚,温杭凯,陈选阳,等. 金边龙舌兰组织培养技术研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(5):37-39.

[8]裴超群,陶玉兰,李海连. 龙舌兰科植物资源调查报告[J]. 广西热作科技,1997(1):15-21.

[9]张森,高阳,王玢,等. 东北地区龙舌兰盆栽技术要点[J]. 特种经济动植物,2011,14(9):26.

[10]王成聪,陈恒彬,陈榕生. 福建厦门地区龙舌兰科多肉植物资源及其园林应用[J]. 亚热带植物科学,2014,43(1):69-72.

[11]陈叶海,胡乃盛. 我国龙舌兰麻种质资源的研究现状及应用前景[J]. 福建热作科技,2002,27(1):42-44.

[12]刘方农,彭世逞,刘联仁. 金边龙舌兰的开花与栽培繁殖研究[J]. 农业科学与技术,2012,13(9):1864-1869.

[13]兑宝峰. 龙舌兰属植物栽培与繁殖[J]. 中国花卉园艺,2012(20):34-36.

[14]黄威廉. 世界龙舌兰科族属分类及地理分布[J]. 贵州科学,2016,34(1):1-4.