

多指标正交优选甘蔗叶多糖的提取工艺

吴玉强, 侯小涛*, 郭振旺, 邓家刚
(广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的:通过正交试验设计法优选甘蔗叶粗多糖的提取工艺条件。方法:采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计法优化甘蔗叶提取工艺,通过分光光度法,以苯酚-硫酸法测定粗多糖含量,以多糖提取量为指标优选甘蔗叶粗多糖最佳提取工艺。结果:甘蔗叶粗多糖提取的最佳条件为料液比 1:30,于 100 °C 提取 3 次,每次 5 h。结论:验证试验表明优选出的提取工艺稳定、合理、可行。

[关键词] 甘蔗叶;多糖;正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0011-03

Optimization of Extraction Technology for Polysaccharide from Sugarcane Leaves by Orthogonal Test with Multi-index

WU Yu-qiang, HOU Xiao-tao*, GUO Zhen-wang, DENG Jia-gang
(Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction process of polysaccharide from sugarcane leaves by orthogonal design. **Method:** The yield of polysaccharide as index to optimize extraction process of polysaccharide from sugarcane leaves by orthogonal test with spectrophotometry. The content of polysaccharide was determined by phenol-sulfuric acid method. **Result:** The optimum extraction technology was as follows: extracted 3 times at 100 °C with 30 times amount of deionized water for 5 h per time. **Conclusion:** The verification test showed that the optimum extraction process was stable, reasonable and feasible.

[Key words] sugarcane leaves; polysaccharide; orthogonal test

甘蔗叶为禾本科甘蔗属植物甘蔗 *Sacharum sinense* Roxb. 的叶^[1-2]。其应用研究主要集中在农业、轻工和化工等领域。甘蔗性凉味甘,具有清热生

津、润燥解酒之功效^[3]。现代药理实验证明多糖具有增加机体免疫功能、降血糖、抗肿瘤、抗病毒、抗氧化等多种功效^[4-8]。化学预试验证明甘蔗叶中含一定量多糖,现采用正交试验,以多糖的提取量为评价指标,对甘蔗叶多糖的提取工艺进行优化选择,为合理开发利用甘蔗叶提供科学依据。

1 材料

UV-160 型紫外-可见分光光度计(日本岛津有限责任公司),Sartorius BP211D 型电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

D-无水葡萄糖对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110833-200503),其他试剂均为分析纯,水为去离子水,台糖 22 号甘蔗叶(采于广西甘蔗研究所 28,32 号试验田)经广西甘蔗研究所许树宁高级农艺师鉴定为禾本科甘蔗属植物甘蔗 *S. sinense*

[收稿日期] 20110130(005)

[基金项目] 2007 年第二批重点实验室能力提升及培育基地建设基金项目(桂科能 07109004-02k);广西壮族自治区中医药管理局中医药科技专项课题(GZKZ09-9);2009 广西教育厅面上项目(200911MS125);广西技术与开发项目(桂科攻 10124008-11)

[第一作者] 吴玉强,高级工程师,从事中药新产品研究与开发, Tel:13517883816, E-mail:wyqiang-1@163.com

[通讯作者] *侯小涛,教授,硕士生导师,从事中药、民族药活性成分研究及产品开发、药物质量控制研究, Tel:13878858205, E-mail:xthou@126.com

的叶。

2 方法与结果

2.1 甘蔗叶多糖含量测定

2.1.1 对照品溶液的配制 精密称取 105 °C 干燥至恒重的葡萄糖对照品 60 mg,用蒸馏水溶解,定容至 100 mL 量瓶中,得到 0.6 g·L⁻¹ 的对照品储备溶液。

2.1.2 样品溶液的制备 甘蔗叶粉碎、烘干、过 60 目筛处理后,精密称取样品粉末 1 g,置于圆底锥形瓶中,按物料比 1:30,在 100 °C 下水浴提取 2 h,放冷,补足质量,趁热抽滤,残渣加适量水继续提取,提取 3 次,合并滤液,放冷后移取 1 mL 定容到 25 mL 量瓶中即得。

2.1.3 检测波长的选择 精密移取对照品溶液及供试品溶液各 2 mL 置 10 mL 具塞玻璃管中,各加 5% 苯酚试液 1.0 mL,摇匀,均匀滴加浓硫酸 7.0 mL,摇匀,静置 10 min,再置沸水浴中加热 15 min,取出,流水冷却至室温,在 400~900 nm 扫描,两者均在 485 nm 波长处有最大吸收,故选择 485 nm 为检测波长。另以 2 mL 蒸馏水加相应试剂作为空白对照,在相应波长处测定吸光度。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密量取对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 mL 分别置于 25 mL 量瓶中,各加蒸馏水定容至刻度,摇匀。按照 2.1.3 项下操作,于 485 nm 波长处测定吸收度,以葡萄糖质量浓度(C)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $A = 0.1127C + 0.0831$ ($R^2 = 1$),葡萄糖在 12.24~73.44 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系。

2.1.5 精密性、稳定性、重复性试验 取甘蔗叶粗粉 1 g,精密称定,按样品溶液制备和含量测定方法项下操作,测定吸收度,连续测 6 次,结果 RSD 0.14%,表明仪器精密性较高。

取甘蔗叶粗粉 1 g,精密称定,按样品溶液制备和测定方法项下操作,分别在 0,15,30,45,60,90,120,150,180 min 测定 A,结果 RSD 5%,比较数据,样品和对照品溶液显色后在 30 min 内 RSD < 3%,样品稳定。

取相同甘蔗叶粗粉 6 份,每份 1 g,精密称定。按样品溶液制备和含量测定方法项下操作,测定含量。结果 RSD 1.2%,表明试验方法重复性较好。

2.1.6 回收率试验 精密称取同一甘蔗叶供试品 6 份,分别精密加入不同量的甘蔗叶多糖,按样品溶

液制备和含量测定方法项下操作,测定回收率。结果见表 1。

表 1 甘蔗叶多糖加样回收率试验

No.	样品含量 /mg	测得量 /mg	加样回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	37.51	74.40	99.71		
2	37.41	74.60	100.51		
3	37.30	74.25	99.86	99.91	0.46
4	37.45	74.57	100.32		
5	37.62	74.33	99.22		
6	37.64	74.58	99.84		

注:对照品加入量均为 37 mg。

2.2 甘蔗叶多糖提取工艺优选

2.2.1 单因素试验 选定提取时间、料液比、提取温度、提取次数 4 个影响因素作为考察对象,每组试验平行 3 份。

2.2.1.1 提取温度对含量的影响 取甘蔗叶粗粉 15 份,每份 1 g,精密称定,按料水比 1:40,分别在 50,60,70,80,90,100 °C 温度下提取 1 h,按 2.1 项进行处理与测定,计算多糖质量分数分别为 2.71%,3.06%,3.39%,3.74%,4.47%,4.26%;50~90 °C 时,多糖含量随提取温度的升高而逐渐增大,100 °C 时有所下降。

2.2.1.2 提取时间对含量的影响 取甘蔗叶粗粉 15 份,每份 1 g,精密称定,按料水比 1:40,在 100 °C 条件下,分别提取 1,2,3,4,5 h,按 2.1 项进行处理与测定,计算多糖分别为 3.21%,3.49%,3.60%,3.70%,3.32%;甘蔗叶粗多糖的含量在 4 h 内随着提取时间的增加而逐渐增大,4 h 后多糖含量基本持平,5 h 后有下降的趋势。

2.2.1.3 料水比对多糖含量的影响 取甘蔗叶粗粉 15 份,每份 1 g,精密称定,分别按 1:20,1:30,1:40,1:50,1:60,1:70,1:80 料水比,在 100 °C 提取 1 h,按样品溶液制备与含量测定方法项进行处理与测定,计算多糖质量分数分别为 3.69%,3.88%,3.69%,3.42%,3.45%,2.99%,3.25%。多糖质量分数随料水比增加而逐渐增大,当料水比达到 1:30 以后,多糖含量增长速度变慢且逐渐平衡,而增加料水比,能耗也逐渐增大。

2.2.1.4 提取次数对多糖含量的影响 精密称取甘蔗叶多糖粗粉 1 g,按料水比 1:50,100 °C 回流提

取4 h,分别提取1,2,3,4次,再按样品溶液制备与含量测定方法项进行处理与测定,抽滤后的滤渣再按上述条件提取第2次,计算多糖质量分数分别为3.65%,3.87%,4.01%,4.07%,4.10%。随着提取次数的增加,粗多糖质量分数逐渐增加,但增幅不大。

2.2.2 甘蔗叶多糖提取工艺正交试验 根据单因素结果确定料水比、提取时间、提取次数、提取温度4个影响因素,每个因素选定3个水平,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,因素水平见表2。正交试验结果见表3。

表2 甘蔗叶多糖提取因素水平

水平	A 料液比	B 提取时间/h	C 提取次数/次	D 提取温度/℃
1	1:20	3	1	80
2	1:30	4	2	90
3	1:40	5	3	100

表3 甘蔗叶多糖提取正交试验安排

No.	A	B	C	D	多糖/%
1	1	1	1	1	4.318
2	1	2	2	2	4.989
3	1	3	3	3	6.263
4	2	1	2	3	5.542
5	2	2	3	1	5.853
6	2	3	1	2	4.467
7	3	1	3	2	5.151
8	3	2	1	3	4.097
9	3	3	2	1	4.802
K_1	15.570	15.011	12.882	14.973	
K_2	15.862	14.939	15.333	14.607	
K_3	14.050	15.532	17.267	15.902	
R	1.812	0.593	4.385	1.295	

结果表明,各因素对制取甘蔗叶粗多糖提取效果的影响程度依次为 $C > A > D > B$,即提取次数影响最大,综合各因素, $A_2B_3C_3D_3$ 确定为最佳的提取条件,即提取温度100℃、提取时间为5 h、提取次数为3次,提取时的料液比1:30。

3 讨论

多糖大多能溶于水,极性比较强,相对分子质量分布范围广,容易产生变性失活。多糖尤其对温度和酸比较敏感。温度高,多糖分子链空间结构发生改变,甚至断裂分解而显色;在酸性环境下,多糖分子也容易发生水解反应。因此在提取多糖的过程中选择适当的方法条件尤为重要。选取恒温水浴提取,此法条件温和,杂质溶出少,多糖含量较高,操作简便易行。

本文对影响甘蔗叶粗多糖提取工艺的各因素进行了考察,其中甘蔗叶粗多糖提取时间考察表明,当提取时间在1~4 h,多糖含量随着提取时间的延长而增加,4 h后多糖含量基本持平,5 h以后有下降的趋势,可能是多糖在长时间高温条件下水解或被破坏所致。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:411.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典:下册[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005:797.
- [3] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京:人民卫生出版社,1996,100
- [4] Ray B, Lahaye M. Cell-wall polysaccharides from the marine green alga *Ulva rigida* (Ulvales, Chlorophyta) extraction and chemical composition[J]. Carbohydr Res, 1995,274(1):251.
- [5] 郭鹏,欧阳静萍,毛先晴,等. 黄芪多糖对2型糖尿病KKAy小鼠早期肾脏病理改变的影响[J]. 武汉大学学报:医学版,2007,28(1):73.
- [6] 刘宗林. 西洋参茎叶水溶性多糖结构分析及其生理活性的研究[J]. 食品工业科技,2001,22(2):20.
- [7] 杨方美,王林,胡秋辉. 鼠尾藻多糖的制备及其抗氧化活性[J]. 食品科学,2005,26(2):224.
- [8] 关奇,杨万政,温中平. 沙棘果皮叶中多糖的提取及其抑菌作用研究[J]. 国际沙棘研究与开发,2005,3(2):17.

[责任编辑 仝燕]