

超临界CO₂萃取瓜蒌多糖工艺研究

盛桂华¹,周泉城^{2,*}

(1.山东理工大学生命学院,山东淄博 255049;2.山东理工大学轻工学院,山东淄博 255049)

摘要:目的:确定超临界 CO₂ 萃取瓜蒌多糖的最佳条件。方法:以瓜蒌为实验材料,以瓜蒌多糖得率为评价指标,通过四因素三水平的响应曲面实验设计,对超临界 CO₂ 萃取瓜蒌多糖最佳条件进行确定。结果:最佳提取条件为:萃取压力 20.1MPa,萃取温度 55.2℃,携带剂乙醇浓度 50.2%,携带剂用量 12.0mL/100g,此条件下瓜蒌多糖得率为 0.95%,与模型拟和良好,比文献方法提高了 3%。结论:本实验确定的超临界 CO₂ 萃取瓜蒌多糖的最佳条件得率较高、切实可行、条件稳定。

关键词:瓜蒌,多糖,超临界,提取,响应曲面

Study on extraction technology of polysaccharide in *Trichosanthes kirilowii* by supercritical CO₂

SHENG Gui-hua¹, ZHOU Quan-cheng^{2,*}

(1.College of Life Science, Shandong University of Technology, Zibo 255049, China;

2.College of Light Industry and Agricultural Engineering, Shandong University of Technology, Zibo 255049, China)

Abstract: Object: the extract conditions of polysaccharide in *Trichosanthes kirilowii* by supercritical CO₂ was studied. Methods: using *Trichosanthes kirilowii* as experiment material, through response surface analysis design, the effect of temperature of extraction, pressure of extraction, content of ethanol in cosolvent and quantity of cosolvent on the yield of polysaccharide were studied. Results: the optimal extract conditions were as follows: temperature of extraction was 55.2℃, pressure of extraction was 20.1MPa, content of ethanol in cosolvent was 50.2% and quantity of cosolvent 12.0mL/100g. Under the above optimal extraction, the yield of polysaccharide was 0.95% and increased by 3% compared with the yield in reference. Conclusions: the optimal extract condition by supercritical CO₂ were confirmed and stable, and the yield of polysaccharide was high.

Key words: *Trichosanthes kirilowii*; polysaccharide; supercritical; extract; response surface analysis

中图分类号:TS201.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2008)05-0208-03

瓜蒌(*Trichosanthes kirilowii*)系葫芦科多年生藤本植物。据《本草纲目》记载,有润肺、化痰、散结、润肠作用,主治痰热咳嗽、肺痰咳血、胸闷和便秘等症。近年来又发现其具有消炎、抗癌等功效。瓜蒌含有皂甙、有机酸、树脂和糖类物质^[1,2]。屠捷红^[2]认为瓜蒌多糖由鼠李糖、阿拉伯糖和葡萄糖三种单糖组成,但对其超临界 CO₂ 提取方法却未广泛研究。超临界 CO₂ 是一种高效、无污染、绿色环保的加工技术。其无污染不仅指对环境,更主要是其产品无溶剂提取的溶剂残留问题,因此,作为保健产品来说,不含对人体有害的溶剂等物质。本文旨在利用响应曲面法确定瓜蒌多糖超临界 CO₂ 提取最佳工艺,从而为瓜蒌资源开发提供思路,为瓜蒌多糖纯化制备和工业化生产提供技术参数。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

瓜蒌 购自药材公司;试剂 均为国产分析纯。

HL-1L/50MPa 型超临界萃取设备;Shimadzu UV-1700 型紫外可见分光光度计。

1.2 实验方法

1.2.1 5%苯酚溶液的配制 蒸馏苯酚,收集 180~182℃的馏分,称取馏分 12.5g,置 250mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,避光,现用现配。

1.2.2 超临界 CO₂ 提取操作 称取一定质量的瓜蒌于超临界萃取釜中,封釜,排空气,通携带剂,当压力和温度达实验所需时,开始实验计时。每隔 1h 取样 1 次,共取 2 次,取得萃取物后计重,测定其多糖含量。

1.2.3 多糖测定方法 多糖测定采用苯酚-硫酸法^[4,5]。葡萄糖标准曲线为 $A = 0.8465C - 0.007$,式中 A 为吸光度, C 为测定液质量浓度 (mg/mL),相关系数 $r = 0.9998$ 。

1.2.4 响应曲面分析法优化实验条件 根据实验设备参数范围和预实验结果,确定实验参数范围。采用 Plackettman 中心组合旋转实验设计原理,因素编码

收稿日期:2007-11-08 * 通讯联系人

作者简介:盛桂华(1976-),女,硕士,讲师,研究方向:天然产物化学及农产品加工。

基金项目:山东理工大学科研基金资助项目(2004KJM09);山东省高等学校优秀青年教师国内访问学者项目经费资助。

和水平见表 1,每个实验做 2 次平行,取平均值。

表 1 响应曲面分析法实验因素编码及水平表

水平	因素			
	A 萃取压力 (MPa)	B 萃取温度 (℃)	C 乙醇含量 (%)	D 携带剂用 量(V/W)
-1	10	30	0	0
0	20	55	50	12.5
1	30	80	100	25

1.2.5 验证实验 按由回归方程得到的最佳实验条件进行 3 次实验,以验证最佳条件。

1.2.6 数据分析 用 SAS8.1 统计软件响应面法进行实验统计与数据分析,并拟合出模型。

2 结果与讨论

2.1 回归方程及方差分析

由表 2 数据得回归方程为: $y = -0.30065 - 0.01127a + 0.01858b + 0.00754c + 0.09630d + 0.00016215a^2 - 0.00020765b^2 - 0.0000759c^2 + 0.00203d^2 + 0.00031363ab - 0.00008431ac - 0.00142ad + 0.00002bc - 0.00070bd - 0.00032cd$

表 2 响应曲面实验设计及实验结果

实验号	A	B	C	D	得率(%)
1	1	0	0	0	0.85
2	1	-1	-1	-1	0.27
3	1	1	-1	1	0.65
4	1	1	-1	-1	0.22
5	1	1	1	1	0.08
6	0	0	1	1	0.73
7	0	-1	0	0	0.23
8	-1	-1	-1	-1	0.16
9	0	0	-1	0	0.19
10	0	1	0	0	0.66
11	0	0	0	0	0.55
12	0	0	0	0	0.56
13	-1	0	0	0	0.17
14	1	-1	1	1	0.14
15	1	-1	-1	-1	0.18
16	-1	1	1	1	0.23
17	1	-1	-1	1	0.6
18	0	0	0	0	0.66
19	-1	1	-1	-1	0.14
20	0	0	1	0	0.11
21	0	0	0	0	0.65
22	-1	-1	-1	-1	0.1
23	0	0	0	0	0.57
24	0	0	0	-1	0.23
25	-1	-1	-1	1	0.91
26	0	0	0	0	0.65
27	-1	1	-1	1	0.38
28	-1	-1	1	1	0.69
29	1	1	1	-1	0.31
30	-1	1	1	-1	0.12

由表 3 可知,瓜蒌多糖得率回归方程在 0.05 水平上是显著的,即所采用的二次数学模型拟和良好。

表 3 瓜蒌多糖得率方程方差分析

来源	自由度	平方和	均方	F 值	概率
回归	14	1.49217	0.10658	2.71	0.0325
剩余	15	0.58975	0.03932		
总和	29	2.08192			

由表 4 方程可知,所有实验因素的一次项、二次项和交互项对瓜蒌多糖得率的影响均不显著。一次项中只有萃取压力与瓜蒌多糖得率有负相关关系,其余实验因素均为正相关关系;二次项中萃取压力和携带剂用量与瓜蒌多糖得率有正相关关系,其余实验因素均为负相关关系;交互项中萃取压力和萃取温度,萃取温度和乙醇浓度与瓜蒌多糖得率呈正相关,其余因素的交互项则呈负相关。总体而言,四个实验因素对瓜蒌多糖得率的影响顺序为携带剂用量 > 乙醇浓度 > 萃取压力 > 萃取温度。

表 4 瓜蒌多糖得率方程偏回归系数分析

变量	自由度	系数估计	标准差	t 值	概率
截距	1	-0.30065	0.67408	-0.45	0.6620
a	1	-0.01127	0.04824	-0.23	0.8184
b	1	0.01858	0.02110	0.88	0.3923
c	1	0.00754	0.00890	0.85	0.4099
d	1	0.09630	0.06357	1.51	0.1506
a*a	1	0.00016215	0.00115	0.14	0.8896
b*b	1	-0.00020765	0.00018755	-1.11	0.2857
c*c	1	-0.00007590	0.00008146	-0.93	0.3663
d*d	1	0.00203	0.00566	0.36	0.7252
a*b	1	0.00031363	0.00020772	1.51	0.1518
a*c	1	-0.00008431	0.00010720	-0.79	0.4438
a*d	1	-0.00142	0.00104	-1.37	0.1923
b*c	1	0.00002	0.00004104	0.53	0.6043
b*d	1	-0.00070	0.00041665	-1.68	0.1131
c*d	1	-0.00032	0.00021357	-1.52	0.1504

由瓜蒌多糖得率回归方程得最佳萃取条件为:萃取压力 20.1MPa,萃取温度 55.2℃,携带剂乙醇浓度 50.2%,携带剂用量 12.0mL/100g。

2.2 验证实验结果

经验证实验,在最佳萃取条件下,瓜蒌多糖得率为 0.95%,模型多糖得率为 0.92%。经方差分析,Pr = 0.1108 > 0.5,验证实验结果和模型多糖得率之间无显著性差异,这说明模型拟和良好,实验条件可靠,重现性好。

3 结论

瓜蒌多糖得率最高的萃取条件为:萃取压力 20.1MPa,萃取温度 55.2℃,携带剂乙醇浓度 50.2%,携带剂用量 12.0mL/100g。此条件下瓜蒌多糖得率为 0.95%,相比于文献[3]方法的多糖得率提高了 3%。

瓜蒌多糖是一种对人体具有多种药理作用的物质,通过超临界 CO₂ 萃取的瓜蒌多糖萃取物不仅多糖得率增加,而且无有毒溶剂残留,此工艺适合工业化推广,而产品则具有保健食品特性。

参考文献:

[1] 沈爱宗,刘圣,张明生. 瓜蒌研究进展[J]. 中医药信息, 1997(6):14~16.
[2] 屠捷红,余菁,盛静. 瓜蒌多糖的提取及组分分析[J]. 中国现代应用药学杂志, 2005,22(3): 239~241.
[3] 周泉城. 响应曲面法优化桔梗保健饮料配方研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(2):87~90.

树莓超氧化物歧化酶的提纯方法比较

郭雪松^{1,2}, 孟宪军¹

(1.沈阳农业大学食品学院, 辽宁沈阳 110161;

2.辽宁医学院食品科学与工程学院, 辽宁锦州 121001)

摘要:利用凝胶层析初步纯化树莓 SOD, 纯化条件: 柱体 1.6cm × 60cm, 磷酸盐缓冲液 pH7.8、2.5mmol/L, 流速 0.3mL/min, 每管收集 3mL。经过 SephadexG-100 层析分离纯化, 得到三种 SOD 同工酶。分别通过金属螯合亲和层析和 DEAE-52 层析进一步对树莓 SOD 纯化, 并比较两者纯化效果。金属螯合亲和层析纯化得到 SOD 的回收率和纯化倍数均高于 DEAE-52 层析, 因此金属螯合亲和层析更有利于 SOD 的进一步纯化。

关键词:树莓, 超氧化物歧化酶, 分离纯化

Study on comparison of purification methods of superoxide dismutase from raspberry

GUO Xue-song^{1,2}, MENG Xian-jun¹

(1.Food College, Shenyang Agriculture University, Shenyang 110161, China;

2.Food Science and Engineering College of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, China)

Abstract: Raspberry SOD was purified primarily through gel chromatogram. The condition of purification was: dimension of pillar 1.6cm × 60cm, phosphate buffer concentration 2.5mmol/L, pH 7.8, velocity of flow 0.3mL/min, 3mL sample collected in each tube. And three isoenzymes were gained after purifying by Sephadex G-100 gel filtration. Raspberry SOD gained above was respectively purified by metal chelate affinity chromatography and DEAE-52 chromatogram. The conclusion was that the recovery and the specific activity of SOD purified by metal chelate affinity chromatography was superior to that of DEAE-52 chromatogram. So metal chelate affinity chromatography were more fit for purification of raspberry SOD.

Key words: raspberry; SOD; purification

中图分类号: TS201.2⁺5

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2008)05-0210-03

SOD 即超氧化物歧化酶, 它能清除机体代谢过程中产生的过多的氧自由基, 可预防疾病和延缓人体衰老。SOD 广泛存在于动物、植物和微生物体内, 但目前, 我国主要是从动物血液中提取, 受到血源和得率的限制, 影响了 SOD 的生产成本和推广应用。树莓是我国北方常见植物, 现已证明, 树莓是富含 SOD 的水果资源。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

树莓 产于辽宁营口; SephadexG-100、Chelating Sepharose Fast Flow Pharmacia; DEAE-52 Whatman。

HI-2S 型恒流泵、TH-300 梯度混合器、SBS-100

自动部分收集器、HD-2H 核酸蛋白检测仪、XW7 S 记录仪 上海青浦沪西仪器厂; WFJ7200 型可见分光光度计, UV-1100 紫外分光光度计, Himac CR21G 高速冷冻离心机。

1.2 实验方法

取 100g 冷冻树莓, 1.5:1 (G:V) 比例加入 pH7.8, 50mmol/L 的磷酸盐缓冲液 150mL, 先加入 75mL 磷酸盐缓冲液和少许石英砂, 在冰盐浴的条件下充分研磨; 在 12000r/min 的离心条件下高速冷冻离心 40min, 使悬浮物完全沉淀, 取沉淀再加入 75mL 的磷酸盐缓冲液, 冰盐浴充分研磨, 并高速冷冻离心; 弃去沉淀, 合并两次上清液, 加 50% 饱和度的硫酸铵, 冷藏静置 2h, 12000r/min 下冷冻离心 40min; 取上清液, 加 90% 饱和度的硫酸铵, 冷藏静置 2h, 12000r/min 下冷冻离心 60min; 沉淀用缓冲液溶解、透析、聚乙二醇浓缩、离心, 上 SephadexG-100 层析柱 (柱体为 1.6 × 60cm), 用 pH7.8, 2.5mmol/L 磷酸盐缓冲液洗脱, 流速为

收稿日期: 2007-11-13

作者简介: 郭雪松 (1971-), 男, 副教授, 研究方向: 农产品加工。

[4] 于村, 丁钢强, 俞莎, 等. 保健食品中多糖测定的研究 [J]. 中国卫生检验杂志. 2000, 10(3): 281~282.

[5] 徐斌, 董英, 林琳, 等. 改良苯酚-硫酸法测定苦瓜多糖含量 [J]. 食品科技, 2005(7): 81~84.