

# 超声-微波协同萃取枇杷叶多糖的 工艺研究

王志高, 鄢贵龙\*, 武华宜, 易梦雅  
(淮阴师范学院生物系, 江苏淮安 223300)

**摘要:**探讨了利用超声-微波协同萃取枇杷叶中多糖的提取工艺, 经过单因素和正交组合实验, 得到了在超声-微波协同作用下最佳的多糖提取工艺为: 料水比 1:15, 提取温度 85℃, 提取时间 90min。相对于水提醇沉法及微波提取法, 超声-微波协同萃取法具有提取率高, 提取时间短的特点, 是枇杷叶多糖提取的一种新的优选方法。

**关键词:** 枇杷叶, 多糖, 提取, 超声-微波协同萃取

## Study on ultrasonic-microwave synergistic extraction of polysaccharides from loquat leaves

WANG Zhi-gao, YAN Gui-long\*, WU Hua-yi, YI Meng-ya

(Department of Biology, Huaiyin Teachers College, Huai'an 223300, China)

**Abstract:** Polysaccharides in loquat leaves were extracted by ultrasonic-microwave synergistic extraction technology. Through single factor and orthogonal test, the optimum conditions of extraction were obtained as follows: adding 15 times water as much as loquat leaves in 85℃ for 90min. Compared with other extraction, the ultrasonic-microwave synergistic extraction was a better method for loquat leaves polysaccharides extraction with less time and higher extraction rate, it could be a better method for extracting the loquat leaves polysaccharides.

**Key words:** loquat leaves; polysaccharides; extraction; ultrasonic-microwave synergistic extraction

中图分类号: TS255.36

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2008)08-0207-03

枇杷(*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl)为蔷薇科植物, 又名金丸, 别名卢桔, 在我国有 2200 多年的栽培历史, 且分布广泛。枇杷营养丰富, 具有很高的药用价值, 其花、叶、果实、果核及果梗均可入药, 制成枇杷膏、枇杷露等<sup>[1]</sup>。枇杷叶是传统的中药材之一, 有止咳化痰、降气和胃之功效, 对咳嗽、腰痛、神经痛、关节炎有一定疗效, 还有抗癌功能。枇杷叶中含有多种有效成分, 如挥发油、苦仁甙、维生素 B<sub>1</sub> 和 V<sub>c</sub>、鞣质、有机酸、糖类等<sup>[2~4]</sup>。多糖因具有抗炎症、抗凝血、抗辐射、降血脂等作用, 而成为天然药物的研究热点之一, 目前全球至少有 12 种多糖分别用作抗肿瘤药物正在进行临床实验<sup>[5]</sup>。多糖提取工艺的研究也因此而越来越引起人们的关注<sup>[6~10]</sup>, 目前已经报道用水提醇沉法<sup>[11]</sup>提取枇杷叶中的多糖, 但是利用超声-微波协同萃取的相关研究还未见报道。超声-微波协同萃取是近年发展起来的一种新方法, 具有简单、快速、高效的特点, 已被广泛用于天然产物有效成分的提取尤其在黄酮类、萜类、多糖等有效成

分的提取上效果更好。本文研究了利用该新技术对枇杷叶中多糖提取的相关工艺条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

枇杷叶 采自淮阴师范学院北校区生物园, 品种为大五星枇杷, 以对角方位采集代表本品种特征的无病虫害的老化叶片; 所用试剂 均为分析纯; 实验用水 为纯水。

CW-2000 型超声-微波协同萃取仪 上海新拓微波溶样测试技术有限公司; 722S 可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司; GL-20G-II型离心机 上海安亭科学仪器厂; SQ2119 型多功能食品加工机 上海帅佳电子科技有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 原料的处理 将枇杷叶洗净后, 于 60℃ 烘箱内烘干, 取出粉碎, 将所得枇杷叶粉放入干燥器内备用。

1.2.2 枇杷叶多糖提取工艺 称取枇杷叶粉 4.00g, 加入一定量的纯水, 在超声-微波协同萃取仪中处理一定时间后, 以 6000r/min 离心 10min, 取出上清液并量出体积, 然后吸取一定量的上清液加入 3 倍体积的 95% 乙醇, 在 4℃ 下沉淀, 以 9000r/min 离心 10min, 收集沉淀并用 80℃ 水溶解, 摆匀定容到

收稿日期: 2007-12-19 \* 通讯联系人

作者简介: 王志高(1985-), 男, 从事食品、保健食品等研究开发工作。

基金项目: 淮安市科技计划项目(SN0767)。

100mL待测。

**1.2.3 标准曲线的确定** 准确称取干燥至恒重的葡萄糖0.0100g,加纯水溶解并定容到100mL,摇匀待用,分别吸取此溶液0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.1mL溶液于试管中,用纯水补至2.0mL,以纯水为对照;顺序加入1mL6%苯酚和5mL浓硫酸,振荡5min后放入冰水混合物中冷却。以吸光度为横坐标、相对应的葡萄糖含量为纵坐标作曲线,得出标准曲线方程为: $y = 0.022x - 0.0006$ , $R^2 = 0.9992$ ,其中x为吸光度,y为葡萄糖含量(单位为 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。

**1.2.4 多糖的测定** 吸取样液之前充分摇匀,准确移取1.0mL溶液于试管中,用纯水补至2.0mL,以纯水为对照,顺序加入1mL6%苯酚和5mL浓硫酸,振荡5min后放入冰水混合物中冷却,在490nm波长下测其吸光度。

## 2 结果与分析

### 2.1 超声开与超声关对水溶性多糖提取量的影响

在料水比为1:25,温度为80℃,提取时间为60min的情况下,超声开与超声关提取的多糖结果如图1。

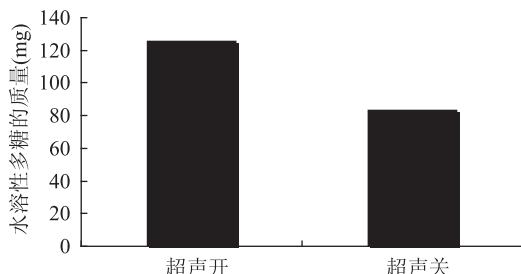


图1 超声开与关对多糖提取量的影响

由图1可以看出,超声开的多糖提取量为125.69mg,比超声关的时候高83.04mg,因为在超声提取条件下,超声波能产生高频振荡,强化传质,同时对植物的细胞壁有破碎作用,大大降低了传质阻力,另外超声热效应更加快了活性成分的溶解速度,增大了溶解度,因此超声开比超声关更适合萃取,以下实验都设置为超声开。

### 2.2 料水比对水溶性多糖提取量的影响

在超声开,提取温度为80℃,提取时间为60min的情况下,分别研究料水比为1:10、1:20、1:30、1:40对多糖提取量的影响,实验结果如图2所示。

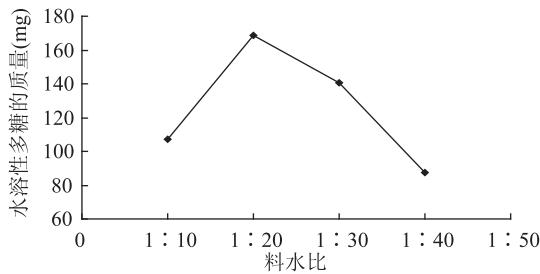


图2 不同料水比对多糖提取量的影响

枇杷叶中含有水溶性多糖等多种可溶性成分,并且溶解度各不相同。浸提过程中的用水量是影响多糖提取量的重要因素。从图2可以看出,在相同的超声-微波协同处理温度和时间之下,水溶性多

糖提取量在料水比为1:20时达到最大,随着用水量继续增加,则提取量下降。因此,选择料水比为1:20比较合适。

### 2.3 提取温度对水溶性多糖提取量的影响

在超声开,料水比为1:20,提取时间为60min的情况下,分别研究提取温度为60、70、80、90℃对多糖提取量的影响,实验结果如图3所示。

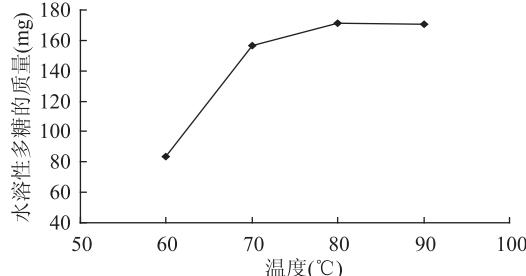


图3 提取温度对多糖提取量的影响

温度直接影响多糖在水中的溶解度,从而明显的影响多糖的提取效率<sup>[11]</sup>。所以,选择合适的提取温度,无论是对实验室研究或产业化都是至关重要的。从图3可以看出,在60~70℃范围内,随着温度的提高,多糖提取量逐渐增大,80℃时多糖提取量最高,超过80℃多糖提取量开始下降,所以采用80℃进行实验。

### 2.4 提取时间对水溶性多糖提取量的影响

在超声开,料水比为1:20,提取温度为80℃的情况下,分别研究提取时间为30、60、90、120min对多糖提取量的影响,实验结果如图4所示。

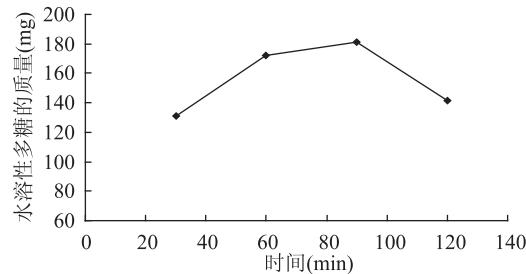


图4 提取时间对多糖提取量的影响

从图4可以看出,多糖提取量在90min时达到最高值,之后随着时间的延长反而有所降低。多糖是由单糖聚合而成的,长时间的高温可能会使多糖内部的结合键趋于断裂,从而使其提取量下降<sup>[11]</sup>。所以,综合考虑各方面的因素,采用90min的提取时间相对较优。

### 2.5 正交实验结果

根据单因素实验的结果,选择料水比、提取温度和时间三个因素设计正交实验,因素水平表见表1,结果见表2。由极差分析可以看出,影响枇杷叶多糖提取量的因素主次顺序是料水比(A) > 提取时间(C) > 提取温度(B),最佳组合为A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即提取工艺参数为料水比1:15,在85℃下提取90min。

为验证所优选工艺的可靠性和重复性,我们在枇杷叶多糖提取的最佳工艺参数条件下,进行验证性实验,得出多糖的质量为193.73mg,结果表明该工艺稳定可行。

表1 正交实验因素水平表

| 水平 | 因素         |         |           |
|----|------------|---------|-----------|
|    | A 料水比(w/v) | B 温度(℃) | C 时间(min) |
| 1  | 1:25       | 75      | 75        |
| 2  | 1:25       | 80      | 90        |
| 3  | 1:25       | 85      | 105       |

表2 正交实验结果

| 实验号            | A     | B     | C     | 水溶性多糖提取量(mg) |
|----------------|-------|-------|-------|--------------|
| 1              | 1     | 1     | 1     | 139.180      |
| 2              | 1     | 2     | 2     | 172.695      |
| 3              | 1     | 3     | 3     | 158.038      |
| 4              | 2     | 1     | 2     | 184.821      |
| 5              | 2     | 2     | 3     | 145.519      |
| 6              | 2     | 3     | 1     | 191.373      |
| 7              | 3     | 1     | 3     | 156.715      |
| 8              | 3     | 2     | 1     | 205.693      |
| 9              | 3     | 3     | 2     | 186.525      |
| K <sub>1</sub> | 5.716 | 4.325 | 4.728 |              |
| K <sub>2</sub> | 4.479 | 4.667 | 4.825 |              |
| K <sub>3</sub> | 3.610 | 4.813 | 4.252 |              |
| R              | 2.106 | 0.488 | 0.573 |              |

### 3 结论

本实验考察了料水比、提取温度、提取时间等因素对多糖提取量的影响,结果表明,在超声-微波协同作用下,比常规的水提醇沉法、微波提取法缩短了操作时间,提高了多糖的提取量。通过正交实验,得出了枇杷叶多糖提取工艺的最佳参数组合为:料水比为1:15,提取温度为85℃,提取时间为90min。在此最佳参数组

(上接第206页)

组成有些差异<sup>[7]</sup>,同报道的米糠游离蛋白的氨基酸组成相比,Asp、Thr、Pro、Val、Phe、Cys含量偏高,而Ser、Glu、Gly、Ala、Arg含量偏低。由于目前还不清楚米糠膳食纤维中的阿拉伯木聚糖是怎样和蛋白质及多酚类物质具体连接起来的,尤其是有哪些氨基酸参与了交联作用而将阿木聚糖和结合蛋白质连接起来的,所以我们还不能解释这种氨基酸组成差异的原因。

通过凝胶层析法测定,米糠半纤维素C的分子量分布在39.6万和25.3万Da位上。两者的检测峰面积相差很小,可见米糠半纤维素C的阿木聚糖链以这两种分子量的糖链为主,与作者报道的RBHB分子量分布有区别,后者分子量主要有50万、3万、1.1万Da三种<sup>[4,5]</sup>,以50万Da的为主,由于两次实验所使用的是相同的新鲜脱脂米糠,尽管碱提溶度和温度过高都会使得半纤维素的分子量分布发生一些的影响<sup>[4]</sup>,但本实验所使用的碱提溶度和温度条件都很温和(4%NaOH碱提,在25℃下),所以作者仍可以推断,由该品种水稻获得的米糠中,至少会含有多种分子量较大的阿木聚糖主链。

### 参考文献:

[1]胡国华主编.食品添加剂在粮油制品中的应用[M].北京:化学工业出版社,2005,8.

合下,每克枇杷叶中提取多糖的量为48.43mg。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000. 163.
- [2] 郑少泉. 枇杷品种与优质高效栽培技术原色图说[M]. 北京:中国农业出版社,2005. 1~2.
- [3] 翟小芬,蔡健. 枇杷的营养保健和开发利用[J]. 广州食品工业科技,2004,20(3): 104~106.
- [4] 远一摘译. 枇杷叶中含有抗癌成分[J]. 世界农业,2002(12):52~52.
- [5] 程霜,冯泽静. 冬瓜多糖的分离与鉴定[J]. 粮油加工与食品机械,2002(9): 44~46.
- [6] 吴广枫,张拥军,汤坚. 超声波用于芦荟多糖提取的研究[J]. 食品科技,2001(6):23~24.
- [7] 刘依,韩鲁佳. 微波技术在板蓝根多糖提取中的应用[J]. 中国农业大学学报,2002,17(2):27~30.
- [8] 徐凌川,张华,许冒盛,等. 超声波提取灵芝多糖的最佳工艺探讨[J]. 中国中药杂志,2005,30(6):471~472.
- [9] 郑宝东,曾绍校. 福建余甘可溶性多糖提取工艺研究[J]. 中国食品学报,2003,3(1): 37~40.
- [10] 邹祥,胡昌华,章克昌. 姬松茸胞内多糖提取工艺的研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),2004,29(5):891~894.
- [11] 姜帆,高慧颖,陈秀妹,等. 枇杷叶水溶性多糖提取工艺的研究[J]. 福建果树,2005(4):1~3.
- [12] 王明艳,许瑞波,贺俊霞. 超声波技术用于枇杷叶多糖的提取研究[J]. 中药材,2006,29(11):1230~1232.
- [2] 吴东儒主编. 糖类的生物化学[M]. 北京:高等教育出版社,1988.
- [3] 青江诚一郎. 米糠の半纤维素[J]. 日本酿造会誌,1994,89:48.
- [4] 胡国华. 脱脂米糠半纤维素B分离鉴定及其特性与功能活性研究[D]. 南昌大学硕士学位论文,1998,6.
- [5] 胡国华,等. 脱脂米糠半纤维素B的分离与鉴定[J]. 中国食品添加剂,1998(3):5.
- [6] 胡国华,等. 可溶性米糠半纤维素B在功能性饮料中的应用[J]. 粮食与饲料工业,2000(8):32.
- [7] 胡国华,等. 米糠半纤维素B在面包生产中的应用[J]. 上海师范大学学报,2003(6):49.
- [8] 胡国华,等. 米糠半纤维素的研究及应用[J]. 粮食与饲料工业,1998(2):42.
- [9] 张惟杰主编. 复合多糖生化研究技术[M]. 上海:上海科学技术出版社,1987.
- [10] S Aoe, et al. characterization of defatted rice bran hemicelluloses[J]. Cereal Chemistry,1993,70:423.
- [11] Bors Luh. Rice Utilization Vol II, 3rd Edition, New York, Van Reinhold, 1999.
- [12] Bors Luh. Rice bran: Chemistry and technology. In Rice: Production and utilization. Westport, CT: AVI Publishing, Co INC, 1990.
- [13] Bors Luh. Rice Utilization Vol II, 2nd Edition, New York, Van Reinhold, 1991.