

唐古特白刺果实多糖的提取工艺研究

王凌云^{1,2}, 丁晨旭^{1,2}, 王洪伦¹, 车国冬^{1,2}, 索有瑞^{1,*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院 北京 100049)

摘要: 本实验通过正交试验探讨了白刺多糖的最佳提取工艺。在多糖提取之前先将白刺果肉、果皮粉末除脂, 去除单糖等干扰因素。实验结果表明: 白刺多糖的最佳提取工艺是料液比为 1:5, 94℃ 下回流提取 3 次, 每次 2h。在此条件下得到的白刺多糖含量为 34.562mg/g。

关键词: 唐古特白刺; 多糖; 提取工艺

Extraction Process of Polysaccharide from *Nitraria tangutorum* Bobr.

WANG Ling-yun^{1,2}, DING Chen-xu^{1,2}, WANG Hong-lun¹, CHE Guo-dong^{1,2}, SUO You-rui^{1,*}

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;
2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In this research, the optimum extracting conditions of *Nitraria* polysaccharide were investigated by orthogonal test. Lipid and monosaccharide were removed before the extraction of polysaccharide. The results showed that under the conditions 94℃, 1:5 (W/V), extracting 3 times and 2h for each time, the content of polysaccharide is 34.562mg/g.

Key words: *Nitraria tangutorum* Bobr.; polysaccharide; extraction process

中图分类号: Q503

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)03-0233-04

唐古特白刺(*Nitraria tangutorum* Bobr.)为蒺藜科(Zygophyllaceae)白刺属(*Nitraria*)灌木,在青海柴达木盆地有大量的分布。其抗逆性强,耐盐碱,能适应严酷恶劣的生境,是荒漠地区重要的建群植物。除了生态作用外,还有广谱的医疗和保健作用^[1-2]。白刺种子已被做了大量的开发研究,并有相关产品的研发,例如白刺种子黄酮,白刺种子油^[3-4]。种子利用后的果肉、果皮粉末被丢弃,造成浪费。本研究从唐古特白刺果粉中提取水溶性多糖,使其资源得到充分利用。多糖是天然有机化合物中的大分子物质,由单糖基通过糖苷键连接而成。越来越多的国内外研究证明某些活性多糖具有抗肿瘤、增强免疫力、抗氧化、降血糖等作用^[5]。白刺果实多糖的研究尚未见报道,因此,本实验就唐古特白刺多糖做了初步研究,对其活性多糖资源的开发利用有着重要意义。

1 材料与方法

1.1 唐古特白刺原料

白刺采自柴达木盆地,经鉴定为唐古特白刺。取其果实 60g 烘干,去除种子,取其果皮、果肉,粉碎过 40 目筛作为实验样品。

1.2 试剂与材料

蒽酮、浓硫酸、葡萄糖、乙醇、石油醚、双氧水、氯仿、正丁醇、丙酮等均为国产分析纯;X-5 大孔吸附树脂 南开大学树脂厂;透析袋 上海绿鸟科技发展有限公司。

1.3 仪器

Cary300型紫外可见分光光度计 美国Varian公司;JA1003电子天平 上海天平仪器厂;R-201旋转蒸发仪 上海申顺生物科技有限公司;SHB-III循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;R2002K星海旋转蒸发器 无锡市星海王生化设备有限公司;Sigma 3-18k离心机;78HW-1 定时恒温磁力搅拌器 金坛市正基仪器有限公司;恒温水浴锅;电热鼓风干燥箱等。

1.4 方法

1.4.1 白刺多糖的提取

收稿日期: 2007-03-15

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养计划资助项目(110040321)

作者简介: 王凌云(1982-),女,博士研究生,主要从事天然产物化学和野生植物资源的开发利用。

E-mail: wanglingyun2004@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 索有瑞(1960-),男,研究员,博士,主要从事青藏高原特色生物资源研究与开发。E-mail: yrsuo@nwipb.ac.cn

1.4.1.1 实验样品的前处理^[6]

脱脂：称取干燥过筛后的白刺果粉(果肉、果皮粉末)，置索氏提取器中，加入4倍体积石油醚60回流提取两次，每次2h。

除单糖：脱脂后滤渣挥干溶剂，加入10倍体积80%乙醇，85回流提取两次，每次1.5h，过滤，滤渣挥干溶剂备用。

1.4.1.2 多糖含量的测定方法(蒽酮-硫酸法)^[7]

蒽酮-硫酸试剂的配制：准确称取200.0mg蒽酮，溶于浓硫酸中，再定容于100ml棕色容量瓶中，配成2.000g/L的试剂，当日配制当日使用。

标准曲线的绘制：精确称取100.00mg葡萄糖(于105烘干至恒重)。用蒸馏水溶解后定容于100ml容量瓶中，准确从中分别吸取1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0ml置于6个100ml容量瓶中，然后各吸取2.0ml分别加入到6支20ml带塞试管中，以蒸馏水做空白对照，往7支试管中分别加入8.0ml蒽酮-硫酸试剂，加完后立刻置冰水中冷却5min，再将7支试管同时浸入沸水浴中，加热10min后取出，于水中冷却至室温，620nm波长处测定其吸光度。测定结果用最小二乘法作线性回归，得方程为：

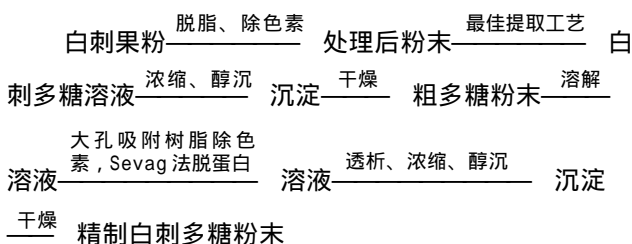
$$A=7.67C+0.0703, r=0.9991.$$

1.4.1.3 提取条件的选择

以水作为提取溶剂，选取温度、料液比、提取时间、提取次数四个因素进行单因素试验，所得提取液定容于500ml容量瓶中，取2ml溶液硫酸-蒽酮反应后测其吸光值，确定每一因素的最佳值。每个因素下分设不同的三个水平，采用 $L_9(3^4)$ 正交表作正交设计试验，水提后按上述方法测定其吸光值，并计算多糖含量，确定白刺多糖提取的最佳条件。

1.4.2 白刺多糖含量及得率测定

1.4.2.1 白刺多糖的提取与精制工艺流程



1.4.2.2 多糖含量的测定及得率的计算

换算因子的计算：精确称取干燥至恒重的精制多糖粉末20mg，置50ml容量瓶中，加蒸馏水溶解并稀释至刻度，摇匀。从中精确吸取2ml，用1.4.1.2的方法测吸光度(A)，并求出多糖供试液中相当的葡萄糖浓度(C)，按下式计算得换算因子 $f=4.835$ 。 $f=W/(C \times D)$ ^[8]

式中，W为精制多糖质量(mg)；C为多糖稀释液中葡萄糖浓度(mg/ml)；D为多糖的稀释因素。

多糖含量测定：正交试验结果以多糖含量表示(mg/g)，多糖含量的计算公式如下：

$$E(\text{mg/g})=C \times D \times f/W$$

式中，C为多糖稀释液中葡萄糖浓度(mg/ml)，D为多糖的稀释因素，F为换算因子，W为实验样品的质量(g)。

多糖得率的计算：

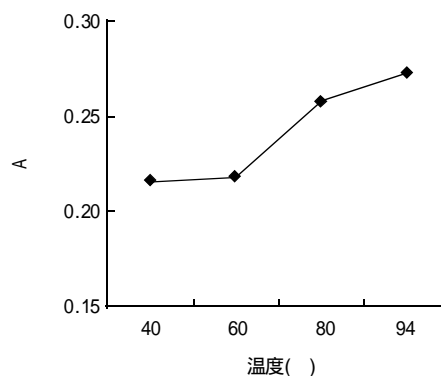
$$\text{得率}(\%) = \frac{\text{精制白刺多糖粉末中多糖的重量(g)}}{\text{白刺果粉中多糖的重量(g)}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 温度对提取效果的影响

准确称取3.00g实验样品4份，分置于100ml圆底烧瓶中。按1.4.1.1的方法处理后加入30ml H₂O分别在40、60、80、94(沸水)水浴中加热回流提取2h，提取液蒽酮-硫酸法测其吸光度，结果如图1所示。从图中可以看出，温度的升高有利于白刺多糖的提取，沸水提取效果最好，而且因为多糖的性质比较稳定，较高温度不会破坏其结构，故选择沸水(94)为提取温度。



条件：3g，料液比1:10，提取2h，1次。

图1 温度对提取效果的影响

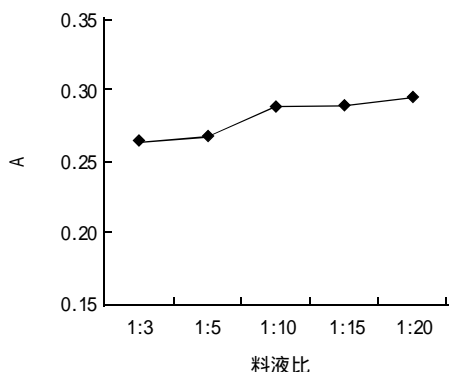
Fig.1 Effects of temperature on extracting

2.1.2 料液比对提取效果的影响

准确称取3.00g实验样品5份，分置于100ml圆底烧瓶中。按1.4.1.1的方法处理后分别加9、15、30、45、60ml H₂O，沸水浴中回流提取2h，提取液蒽酮-硫酸法测其吸光值，结果如图2所示。随着料液比的增大，吸光值不断增加，但当料液比达到1:10时，吸光值增加的很少。所以选择1:10为最佳的料液比。

2.1.3 时间对提取效果的影响

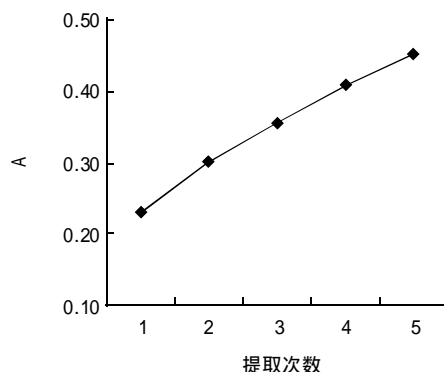
准确称取3.00g实验样品5份，分置于100ml圆底烧瓶中。按1.4.1.1的方法处理后加入30ml H₂O，沸水



条件: 3g, 94, 2h, 1次。

图2 不同料液比对提取效果的影响

Fig.2 Effects of quantity ratio of material and solvent on extracting

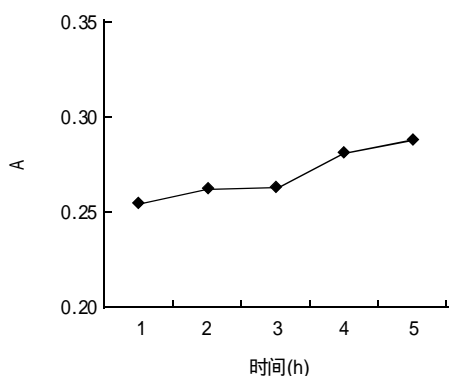


条件: 3g, 94, 料液比 1:10, 2h。

图4 提取次数对提取效果的影响

Fig.4 Effects of extraction times on extracting

浴中分别回流提取 1、2、3、4、5 h, 提取液蒽酮 - 硫酸法测其吸光度, 实验结果如图 3。从图 3 中可以看出时间的延长有利于白刺多糖的提取, 但总体看来提取时间对其影响不大。过长的提取时间不仅增加能源消耗而且不利于工作效率的提高, 所以选择 2 h 为较适的提取时间。



条件: 3g, 94, 回流 1次, 料液比 1:10。

图3 提取时间对提取效果的影响

Fig.3 Effects of extraction time on extracting

2.1.4 提取次数对提取效果的影响

准确称取 3.00g 实验样品 5 份, 分置于 100ml 圆底烧瓶中。按 1.4.1.1 的方法前处理后加入 30ml H₂O, 沸水浴中分别回流提取 1、2、3、4、5 次, 每次 2 h, 提取液蒽酮 - 硫酸法测其吸光度, 结果见图 4。由图中可以看到, 随着提取次数的增多, 吸光度增大。但提取次数过多会给后续的滤液浓缩带来困难, 综合考虑, 以 3 次提取为宜。

2.2 正交试验结果

提取效果受多个因素的交叉影响。上述实验只是单因素影响, 为了确定在提取过程中这四个因素对白刺多

糖提取效果的影响大小, 选出最佳的提取条件, 本实验选取了温度、料液比、提取时间和提取次数四个因

表1 四因素三水平表
Table 1 Four factors and three levels of orthogonal test

水平	A温度()	B 料液比(W/V)	C 提取时间(h)	D 提取次数
1	60	1:5	1	1
2	80	1:10	2	2
3	94	1:15	3	3

表2 正交试验结果的直观分析
Table 2 Visual analysis of orthogonal test results

序号	处理组合	因素				多糖含量 (mg/g)
		A	B	C	D	
1	A ₁ B ₁ C ₁ D ₁	1	1	1	1	19.943
2	A ₁ B ₂ C ₂ D ₂	1	2	2	2	22.658
3	A ₁ B ₃ C ₃ D ₃	1	3	3	3	26.677
4	A ₂ B ₁ C ₃ D ₂	2	1	3	2	30.969
5	A ₂ B ₂ C ₁ D ₃	2	2	1	3	29.335
6	A ₂ B ₃ C ₂ D ₁	2	3	2	1	25.054
7	A ₃ B ₁ C ₂ D ₃	3	1	2	3	34.562
8	A ₃ B ₂ C ₃ D ₁	3	2	3	1	29.535
9	A ₃ B ₃ C ₁ D ₂	3	3	1	2	32.056
K ₁		69.278	85.473	81.334	74.530	K=250.789
K ₂		85.358	81.528	82.274	85.583	
K ₃		96.153	83.787	87.181	90.574	
R		26.875	3.945	5.847	16.044	

素进行正交试验, 每一因素选取三个水平, 正交试验设计见表 1, 正交试验结果如表 2 所示。

通过直观分析, 从极差 R 的大小可看出四个因素对

表3 正交试验的方差分析
Table 3 Variance analysis of orthogonal test

因素	d	SS	S ²	F	p
A	2	122.340	61.170	47.958	< 0.05
C	2	6.567	3.283	2.574	> 0.05
D	2	39.254	19.627	15.388	> 0.05
误差	2	2.551	1.275		

注: F_{0.05}(2,2)=19.00, F_{0.01}(2,2)=99.00。

白刺多糖提取影响的顺序：提取温度 > 提取次数 > 提取时间 > 料液比。因素 B 的极差较小，所以将此列作为方差分析的误差列^[9]，结果见表 3。

F 测验表明，A 因素(温度) $p < 0.05$ ，有显著差异，说明在所设的不同水平的温度下，其提取效果有显著性差异。其他因素各水平间均差异不显著。从正交试验结果可以看出多糖含量最高的提取条件是 $A_3B_1C_2D_3$ ，即提取温度为 94℃，料液比为 1:5，提取时间为 2h，提取次数为 3 次。对有显著差异的因素确定最好水平，温度确定为 94℃。料液比对提取效果的影响很小，从实际生产考虑，低的料液比不会给下一步的滤液浓缩造成困难，因此选定 1:5 的料液比。综合考虑，确定最佳的提取条件为料液比为 1:5，94℃ 下回流提取 3 次，每次 2h。

3 结 论

本实验通过单因素及正交试验得出了白刺多糖的最佳提取工艺条件为：温度 94℃，料液比 1:5，提取时间 2h，提取次数 3 次。在确定的最佳工艺测得白刺果粉中多糖含量为 34.562mg/g，在此工艺条件下提取多糖

得得率为 48.235%。得率小于 1，可能在脱色素、除蛋白过程中多糖有所损失造成的。本实验为分离纯化和利用白刺多糖奠定了基础。至于白刺多糖的各组分，单糖含量，分子量及生理活性等还有待进一步的研究。

参 考 文 献：

- [1] 蒋福祯, 王舰, 张艳萍. 柴达木盆地野生白刺资源调查及其综合利用[J]. 青海科技, 2005(1): 15-17.
- [2] 李必华, 邢尚军. 白刺及其开发利用[J]. 山东林业科技, 1994(3): 7-12.
- [3] 王洪伦, 李玉林, 索有瑞. 白刺种子黄酮类化合物最佳提取工艺研究[J]. 食品科学, 2004, 25(7): 97-99.
- [4] 索有瑞, 高航, 王洪伦. 柴达木盆地唐古特白刺籽油保护肝损伤作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(5): 573-576.
- [5] 陈留勇, 孟宪军, 孔秋莲, 等. 黄桃水溶性多糖的提取和分离纯化[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 81-84.
- [6] 朱炯波, 赵虹桥, 董爱文, 等. 拐枣中多糖的提取与含量测定[J]. 林产化工通讯, 2004, 39(1): 27-30.
- [7] 张惟杰. 糖复合生化研究技术[M]. 2版. 浙江大学出版社, 1999: 12-13.
- [8] 田洪舟, 裘爱泳, 史小华. 茶籽多糖提取工艺的研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(6): 27-29; 44.
- [9] 苏本正, 黄丁毅, 于宗渊. 正交试验优选川芎羌活的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(1): 13.