

兰州百合鳞茎多糖超声波辅助提取工艺 优化及稳定性研究

Research on ultrasonic-assisted extraction process and stability of
polysaccharides from *Lilium davidii* var bulb

李刚刚 孙 静 伏衡一 效碧亮

LI Gang-gang SUN Jing FU Heng-yi XIAO Bi-liang

(兰州理工大学技术工程学院, 甘肃 兰州 730050)

(College of Technology and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou, Gansu 730050, China)

摘要:以兰州百合废弃鳞茎为原料,通过正交试验对超声波辅助提取兰州百合多糖的工艺进行优化,并考察了兰州百合多糖的稳定性。结果表明:超声波辅助提取兰州百合多糖的最佳工艺条件为料液比 1:20 (g/mL),超声时间 60 min,超声温度 60 °C,超声功率 250 W,该条件下兰州百合多糖提取率为 18.44%。多糖提取物抗氧化性较差,易被 H₂O₂ 氧化,但具有良好的抗还原性。

关键词:兰州百合;多糖;超声波辅助提取;稳定性

Abstract: An orthogonal test was utilized to optimize the ultrasonic-assisted extraction process of polysaccharides from *Lilium davidii* var waste bulb, and the stability of the polysaccharides was studied. The results showed that the optimum extraction conditions for ultrasonic-assisted extraction process were as followed: the ratio solid to liquid of 1:20 (g/mL), ultrasonic time of 60 min, ultrasonic power 250 W, and ultrasonic temperature 60 °C. Under the conditions, the extracting rate of polysaccharides from *Lilium davidii* var was 18.44%. The anti-oxidization stability of polysaccharide extracts was poor, which was easy to be oxidized by H₂O₂, but has good anti-reduction ability.

Keywords: *Lilium davidii* var; polysaccharide; extraction; ultrasonic-assisted; stability

兰州百合为百合科百合属多年生草本球根植物,纤维少,色泽洁白如玉,是中国唯一食用甜百合^[1]。因其多糖含量较多,具有抗衰老、提高免疫力、降低血脂等功能^[2]。杨颖等^[3]研究发现兰州百合多糖可通过提高机体

免疫功能增强化疗药物的抑瘤效果,并降低化疗的毒性损伤。目前中国对兰州百合多糖提取已有较多研究^[4-5],主要采用热回流水提法,该法浸取率偏低且提取时间较长。

试验拟以兰州百合废弃鳞茎为原料,采用超声波辅助法提取其多糖,并对多糖的稳定性进行测定,为兰州百合废弃物的综合利用提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

兰州百合:产地甘肃兰州彭家坪;
葡萄糖标准品:上海金穗生物科技有限公司;
无水乙醇、浓硫酸、苯酚等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;
真空干燥箱:DZF-6020 型,上海圣科仪器设备有限公司;
旋转蒸发器:RE-52A 型,上海亚荣仪器厂;
数控超声波清洗器:KQ-500DB 型,上海圣科仪器设备有限公司;
冷冻干燥机:Scientz-10N 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;
分光光度计:UV-3000 型,上海美谱达仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 兰州百合多糖的提取 兰州百合废弃鳞茎,干燥(50 °C, 12 h),粉碎,过 40 目筛得百合粉。称取 10.0 g 百合粉,按料液比 1:10 (g/mL),超声频率 40 kHz,超声池水位 120 mm,超声功率 200 W,50 °C 超声波辅助提取 60 min,减压抽滤,滤液浓缩至原滤液 1/4 后,加入 4 倍体积无水乙醇静置醇沉,离心(4 000 r/min, 15 min)分离,所

基金项目:甘肃省科技重点研发计划项目(编号:18FY1NA002);

甘肃省高等学校创新能力提升项目(编号:2019A-185)

作者简介:李刚刚(1984—),男,兰州理工大学技术工程学院讲师,硕士。E-mail:460341007@qq.com

收稿日期:2019-11-15

得沉淀冷冻干燥(冷阱温度 $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$,真空度 0.09 MPa ,干燥 12 h),得兰州百合粗多糖^[4-7]。

1.2.2 兰州百合多糖含量及提取率的测定 采用苯酚—硫酸法^[8-9]测定兰州百合多糖含量。以葡萄糖标准品绘制标准曲线,得线性回归方程: $A=0.013m-0.009(R^2=0.998)$ 。按式(1)计算兰州百合多糖提取率。

$$E=(CV/M)\times 100\%, \quad (1)$$

式中:

E ——兰州百合多糖提取率,%;

C ——兰州百合多糖提取液浓度, mg/mL ;

V ——兰州百合多糖提取液体积, mL ;

M ——兰州百合粗多糖质量, mg 。

1.2.3 单因素试验设计

(1) 料液比:在超声功率 200 W ,超声频率 40 kHz ,超声时间 60 min ,超声温度 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下,考察料液比 $[1:5,1:10,1:15,1:20,1:25\text{ (g/mL)}]$ 对兰州百合多糖提取率的影响。

(2) 超声功率:在料液比 $1:15\text{ (g/mL)}$,超声频率 40 kHz ,超声时间 60 min ,超声温度 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下,考察超声功率($100,150,200,250,300\text{ W}$)对兰州百合多糖提取率的影响。

(3) 超声温度:在料液比 $1:15\text{ (g/mL)}$,超声功率 250 W ,超声频率 40 kHz ,超声时间 60 min 的条件下,考察超声温度($50,60,70,80,90\text{ }^{\circ}\text{C}$)对兰州百合多糖提取率的影响。

(4) 超声时间:在料液比 $1:15\text{ (g/mL)}$,超声功率 250 W ,超声频率 40 kHz ,超声温度 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下,考察超声时间($20,40,60,80,100\text{ min}$)对兰州百合多糖提取率的影响。

1.2.4 正交试验设计 在单因素试验基础上,以兰州百合多糖提取率为评价指标进行正交试验,筛选最佳提取工艺条件。

1.2.5 兰州百合多糖稳定性试验

(1) H_2O_2 对兰州百合多糖提取物稳定性的影响:取兰州百合粗多糖 0.1000 g 溶解于 100 mL 水中配制成母液,加入 30% 的 H_2O_2 ,使 H_2O_2 含量为 $0.15\%,0.30\%,0.45\%,0.60\%,0.75\%,0.90\%$,混合后密封静置冷藏 24 h 后,在 490 nm 处测定吸光度^[10-11]。

(2) Na_2SO_3 对兰州百合多糖提取物稳定性的影响:取兰州百合粗多糖 0.1000 g 溶解于 100 mL 水中配制成母液,加入适量 Na_2SO_3 ,使 Na_2SO_3 含量为 $0.25\%,0.50\%,0.75\%,1.00\%$,混合后密封静置冷藏 24 h 后,在 490 nm 处测定吸光度^[10-11]。

1.3 数据处理

采用Excel 2007制作图表,SPSS Statistics 17.0软件进行数据处理分析。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果

综合图1及兰州百合多糖提取效果可知,兰州百合

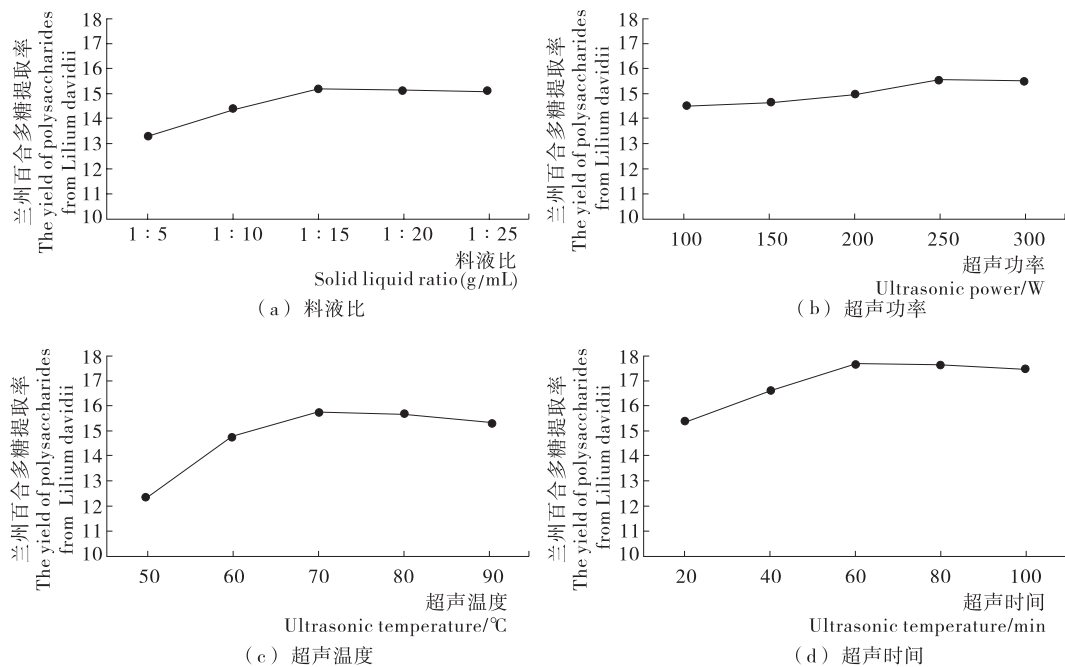


图1 不同因素对兰州百合多糖提取率的影响

Figure 1 Effect of different factors on the yield of polysaccharides from *Lilium davidii* var

多糖提取工艺条件为:料液比 1 : 15 (g/mL)、超声功率 250 W、超声温度 70 °C、超声时间 60 min。当料液比达到 1 : 15 (g/mL)时,多糖提取率达到最大,随溶剂量增大,大量非多糖类水溶性物质浸出,导致提取率减小;超声时间 60 min 时达到最大值,因初始提取液中百合多糖浓度低,延长提取时间有助于多糖的溶出,但当多糖的溶出达到一定程度后,单纯延长很难再促进多糖的进一步溶解,甚至使多糖降解^[9],影响兰州百合多糖提取率。

2.2 兰州百合多糖提取工艺优化

依据单因素试验结果,确定正交试验的因素水平见表 1。正交试验结果见表 2。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal test factors and treatment level arrangement

因素	A 料液比 (g/mL)	B 超声功率/W	C 超声温度/°C	D 超声时间/min
1	1 : 10	200	60	40
2	1 : 15	250	70	60
3	1 : 20	300	80	80

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal experimental result and analysis

编号	A	B	C	D	多糖提取率/%
1	1	1	1	1	9.34
2	1	2	2	2	10.40
3	1	3	3	3	8.95
4	2	1	2	3	8.27
5	2	2	3	1	12.27
6	2	3	1	2	13.97
7	3	1	3	2	12.88
8	3	2	1	3	18.40
9	3	3	2	1	13.73

k_1	9.563	10.163	13.903	11.780	
k_2	11.503	13.690	10.800	12.417	
k_3	15.003	12.217	11.367	11.873	
R_j	5.440	3.527	3.103	0.637	

由表 2 可知,影响兰州百合多糖提取率因素的主次顺序为:A(料液比)>B(超声功率)>C(超声温度)>D(超声时间),最佳提取工艺为:料液比 1 : 20 (g/mL),超声功率 250 W,超声温度 60 °C,超声时间 60 min。经 3 次重复实验验证,兰州百合多糖提取率为 18.44%。由表 3 可知,料液比、超声功率和超声温度对兰州百合多糖提取率有显著影响。在细胞壁表面多糖组分传质扩散速率较慢,而超声波的空化效应能加速物质中分子的运动^[12],增

强细胞渗透效应与毛细管效应,有利于兰州百合中的多糖组分转移、扩散^[13],提高多糖提取率,缩短提取时间,对兰州百合多糖结构及理化性质影响较小。

表 3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance of orthogonal test

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F 值	显著水平
A	45.60	2	22.80	64.30	0.015<0.05
B	18.82	2	9.41	26.54	0.036<0.05
C	16.38	2	8.19	23.10	0.041<0.05
D	0.71	2	0.36		
误差	0.71	2	0.36		
总和	81.53				

2.3 H₂O₂对兰州百合多糖提取物稳定性的影响

由图 2 可见,当 H₂O₂浓度为 0.15%~0.90%时,兰州百合多糖提取物水溶液的吸光度随 H₂O₂浓度的增大逐渐减小,因为 H₂O₂具有较强的氧化性,使多糖羟基氧化,分子链断裂,说明兰州百合多糖抗氧化性较差。

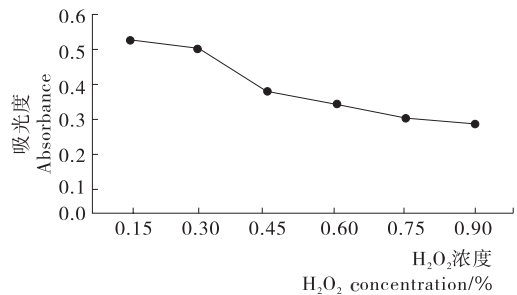


图 2 氧化剂 H₂O₂对兰州百合多糖提取物稳定性的影响

Figure 2 Effects of oxidants H₂O₂ on the stability of polysaccharide extracts from *Lilium davidii* var

2.4 Na₂SO₃对兰州百合多糖提取物稳定性的影响

由图 3 可知,兰州百合多糖提取物水溶液的吸光度随还原剂 Na₂SO₃浓度的增大略有减小,可能是还原剂 Na₂SO₃未与兰州百合多糖发生化学反应,多糖结构相对稳定,说明其具有良好的抗还原性。

3 结论

采用正交试验优化兰州百合多糖超声波辅助提取工艺,得最佳条件为料液比 1 : 20 (g/mL),超声功率 250 W,超声温度 60 °C,超声时间 60 min。此条件下,兰州百合多糖提取率为 18.44%。采用此工艺提取兰州百合多糖,提取率高于熊明郁等^[4]、高丹丹等^[5]采用的水提法。兰州百合多糖提取物的稳定性研究表明,兰州百合多糖提取物抗氧化性较差,易被 H₂O₂氧化,具有良好的抗还原性。

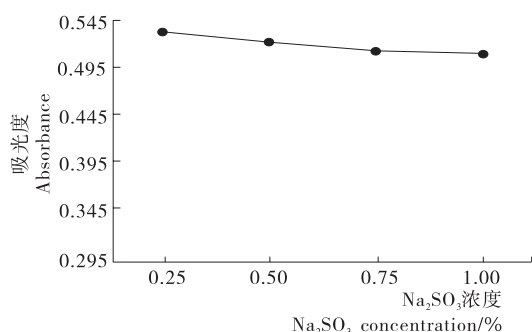


图3 还原剂 Na_2SO_3 对兰州百合多糖提取物稳定性的影响

Figure 3 Effect of reducing agent Na_2SO_3 on the stability of polysaccharide extracts from *Lilium davidii* var

试验提供了一种简单高效的提取方法,后期可采用微波、生物酶、粒子液体等其他方法进一步减少提取时间。

参考文献

- [1] 卫莹芳. 中药鉴定学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2010: 281.
- [2] 任利君, 刘俊田, 弥曼, 等. 百合多糖的研究进展[J]. 西北药学杂志, 2005, 20(6): 284-285.
- [3] YANG Ying, LI Fen. Effects of neutral polysaccharide from lily on enhancing efficacy and reducing toxicity of 5-FU and proliferation of gastric carcinoma cell line SGC-7901 in vitro[J]. Journal of Yanan University : Medical Sciences, 2013, 11(2): 8-11.
- [4] 熊明郁, 牛世全. 水提法提取百合多糖优选工艺的研究[J]. 安徽农业科学, 2014(36): 13 047-13 049.
- [5] 高丹丹, 安文强, 陈红. 响应面法优化兰州百合多糖的提取工艺[J]. 食品工业科技, 2013(5): 226-229.
- [6] 张占军, 王富花, 葛洪, 等. 响应面法优化百合多糖超声辅助提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2017(18): 40-44.
- [7] 刘佳, 郭少林, 陈婷婷, 等. 响应面法优化超声辅助提取桔梗多糖工艺[J]. 生物化工, 2019(2): 70-72.
- [8] 陈晓白, 蒋夏荣, 杨秋元, 等. 山银花多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2018(11): 155-161.
- [9] HALL M B. Efficacy of reducing sugar and phenol-sulfuric acid assays for analysis of soluble carbohydrates in feedstuffs[J]. Animal Feed Science and Technology, 2013, 185(1): 94-100.
- [10] 史娟. 微波预处理—超声波提取山茱萸多糖及稳定性研究[J]. 食品研究与开发, 2014(1): 1-5.
- [11] 蔡锦源, 梁莹. 白及多糖的提取工艺及其生物活性研究[J]. 食品工业, 2018(1): 45-49.
- [12] RAZA Aun, LI Feng, XU Xiu-quan, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant polysaccharides from the stem of *Trapa quadrispinosa* using response surface methodology[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 94: 335-344.
- [13] 赵玉红, 王静, 金秀明. 超声波辅助酶法提取榛子壳色素工艺条件的研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(4): 110-114.
- [14] TUNG Yu-tang, HUANG Cheng-ze, LIN Jia-hong, et al. Effect of *Phyllanthus emblica* L. fruit on methionine and choline-deficiency diet-induced nonalcoholic steatohepatitis [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2018, 26(4): 1 245-1 252.
- [15] 佟永薇. 黄酮类化合物提取方法的研究及展望[J]. 食品研究与开发, 2008(7): 188-190.
- [16] 夏甜天, 曹龙奎. 几种不同提取方法对燕麦总多酚含量的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(20): 183-189.
- [17] 陈义勇, 张德谨. 乌饭树叶黄酮超声-微波辅助提取工艺的优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(1): 148-153.
- [18] 胡爱军, 郑捷. 食品工业中的超声提取技术[J]. 食品与机械, 2004(4): 57-60.
- [19] 施利奇, 张彦青, 戚务勤, 等. 酸枣水提物不同提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(11): 182-190.
- [20] 许建本, 苏秀芳, 莫耀芳. 超声波辅助法提取假苹婆树叶总黄酮及其清除羟自由基能力[J]. 食品工业科技, 2018, 39(23): 199-202, 209.
- [21] 张雪春, 田智宇, 王振兴, 等. 核桃青皮多糖微波辅助提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(7): 146-151.
- [22] TSAI Chun-en, LIN Li-huei. DPPH scavenging capacity of extracts from *Camellia* seed dregs using polyol compounds as solvents[J]. Heliyon, 2019, 5(8): 1-6.
- [23] 程知庆, 沈和定, 姚理想, 等. 干燥方法对瘤背石磺多糖抗氧化性和还原力的影响[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 169-172.
- [24] 苏适, 王双侠. 响应曲面优化超声波辅助提取无花果叶总黄酮的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(9): 101-106.
- [25] 杨丽维, 陈颖, 张峻. 葛根总黄酮提取工艺比较研究[J]. 天津农学院学报, 2016, 23(3): 27-30.
- [26] 余腾飞, 唐年初, 刘诚毅. 忧遁草多糖提取工艺优化及抗氧化活性研究[J/OL]. 食品与机械. (2019-12-09) [2020-03-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1183.TS.20191209.1136.002.html>.

(上接第 189 页)