

番石榴多糖提取工艺的优化

邱敏芳,黎 莉^{*},方继德,刘 恋

(武汉工程大学化工与制药学院,绿色化工过程教育部重点实验室,湖北 武汉 430074)

摘 要:优选并确定番石榴多糖的最佳提取工艺.用水提取番石榴多糖,以多糖含量为考察指标,以提取时间、提取次数、料液比为三因素,每个因素选择三个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进行提取工艺的优化研究.最佳提取条件为料液比质量 1:8,提取 2 次,每次提取 50 min.

关键词:番石榴;多糖;正交试验;提取工艺

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2011.01.006

0 引 言

番石榴为桃金娘科番石榴属番石榴(*Psidium guajava* L.)的成熟果实,又名鸡矢果、拔子、芭乐,番桃,是一种热带水果,在我国南方地区如广东、广西、福建、海南、台湾等省区均有栽培.番石榴富含葡萄糖、果糖、蔗糖、维生素 C、谷氨酸等,还含有蛋白质、苹果酸、柠檬酸、鞣皮素、番石榴苷及鞣质,以及丰富的磷、钙、铁等,从而具有较高的营养价值和药用价值.国内外民间常用来治疗糖尿病,患者血糖下降,疗效较好^[1].有文献报道^[2-3],番石榴多糖对四氧嘧啶致病的糖尿病小鼠具有降血糖作用,提示番石榴多糖具有显著的降血糖效果,是一种潜在的糖尿病治疗药物.本研究采用正交试验法,对番石榴多糖的提取工艺进行了优化,将为番石榴多糖的开发利用提供一定的实验依据.

1 实验部分

1.1 仪器与材料

T6 新世纪紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;DZ-1BC 型真空干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司;番石榴为桃金娘科植物番石榴 *Psidium guajava* L. 的干燥成熟果实,购于广东虎门,由武汉工程大学黎莉教授鉴定.葡萄糖,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;其余试剂均为分析纯.

1.2 番石榴多糖提取工艺的优化

1.2.1 正交试验设计 选取提取时间 A,提取

次数 B,料液质量比 C 作为三个考察因素,每个因素选择三个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,以番石榴多糖含量为考察指标.因素水平表见表 1.

表 1 因素水平表

Table 1 Lists of facts and levels

水平	提取时间(A)/min	提取次数(B)/次	料液质量比(C)/倍
1	30	2	1:8
2	40	3	1:10
3	50	4	1:12

1.2.2 提取工艺 番石榴多糖提取方法参考相关文献^[4],将番石榴切片,于 50 ℃ 烘干后剪碎成粗颗粒.按表 2 进行实验.以 1 号实验为例,称取一定量的番石榴颗粒,加 8 倍量的蒸馏水,回流提取 2 次,每次 30 min,合并 2 次滤液即得样品溶液.

1.3 番石榴多糖含量测定及方法

1.3.1 对照品溶液的配制 精密称取于 105 ℃ 下干燥至恒重的葡萄糖 0.006 5 g 于 25 mL 容量瓶中,加水溶解定容至刻度,质量浓度为 0.26 mg/mL,放入冰箱待用.

1.3.2 显色剂的配制 称取蒽酮 0.1 g 溶于 100 mL 质量分数为 95% 浓硫酸中,避光保存待用,需现配现用.

1.3.3 测定波长的确定 精密吸取葡萄糖对照液 0.3 mL 于试管中,先加水稀释至 1 mL,再加质量分数为 0.2% 蒽酮-硫酸溶液(显色剂) 3 mL,置沸水浴中反应 10 min,在冰水浴中迅速冷却.以 1 mL 蒸馏水加 3 mL 显色剂同法处理作空白对照,在 250~1 000 nm 波长范围内进行光谱扫描,

收稿日期:2010-10-31

作者简介:邱敏芳(1986-),女,湖北潜江人,硕士研究生.研究方向:中药活性成分及制剂.

指导老师:黎莉,女,研究员,硕士研究生导师.研究方向:中药活性成分及制剂.*通信联系人

发现在 622 nm 处葡萄糖对照液有最大吸收,样品溶液也有较大吸收,故选择 622 nm 为测定波长.

1.3.4 标准曲线的绘制 精密吸取 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 mL 葡萄糖对照液于 5 个试管中,按 1.3.3 同法操作. 以质量浓度 $C(\text{mg/mL})$ 为横坐标,吸光度 A 为纵坐标绘制标准曲线,得出回归方程为: $A=21.53C-0.0355$, $R^2=0.9995$,结果表明多糖浓度在 0.0046~0.023 mg/mL 之间与吸光度有较好的线性关系.

1.3.5 稳定性实验 精密吸取样品溶液 10 μL ,按标准曲线项下方法操作,每隔 10 min 记录一次吸光度,连续测定 3 h,RSD 为 0.89%,说明稳定性良好.

1.3.6 精密度实验 精密吸取同一样品溶液 5 份,各 10 μL ,按样品含量测定项下方法操作,平行测定吸光度,RSD 为 0.84%,说明精密度良好.

1.3.7 重复性实验 称取同一批番石榴样品 5 份,分别制备样品溶液,按上述方法测定多糖含量,RSD 为 0.79%,说明重复性较好.

1.3.8 回收率实验 称取已知含量同一批号的样品 5 份,分别制备样品溶液,每份取 10 μL ,分别加入葡萄糖对照品溶液 1 mL,依法操作,于 622 nm 处测定其吸光度,计算多糖含量,计算平均加样回收率为 97.83%,RSD 为 1.05%.

1.3.9 样品含量测定 精密吸取各样品溶液 10 μL ,加水稀释至 1 mL,加入新鲜配制的蒽酮显色剂 3 mL,依法操作,计算多糖含量.

2 结果与讨论

2.1 正交试验测定结果及分析

正交试验测定结果及分析见表 2,方差分析结果见表 3.

由表 2 知影响提取效果的主次因素顺序为: $A>C>B$,即提取时间>料液比>提取次数. 最佳提取工艺条件为 $A_3B_2C_1$,即在提取时间 50 min,提取 2 次,料液比质量为 1:8 的条件下,提取的多糖含量较高. 方差分析结果表明,提取时间、提取次数和料液质量比均对多糖含量有显著性影响.

2.2 最佳工艺验证

按照 $A_3B_2C_1$ 条件进行 3 次重复试验,得到的多糖质量分数分别为:83.73%、82.72%、83.01%. 验证试验结果与正交试验结果基本吻合,表明工艺稳定,重现性好.

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal tests					
编号	A	B	C	误差	多糖质量分数/%
1	1	1	1	1	55.75
2	1	2	2	2	72.05
3	1	3	3	3	50.85
4	2	1	2	3	51.28
5	2	2	3	1	62.82
6	2	3	1	2	63.40
7	3	1	3	2	50.99
8	3	2	1	3	83.01
9	3	3	2	1	72.77
k_1	59.55	59.17	68.92		
k_2	52.67	72.63	62.34		
k_3	67.39	65.37	54.89		
R	14.71	13.46	14.04		

表 3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis					
方差来源	离差平方和	自由度	平均方差	F	P
提取时间(A)	183.199	2	91.599	25.075	<0.05
提取次数(B)	597.395	2	298.698	81.768	<0.05
料液比(C)	270.161	2	135.080	22.383	<0.05
误差	7.127	2	3.563	1.000	

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

3 结 语

随着人们生活水平的提高,糖尿病的发病率逐年上升,成为威胁人类健康的“第三杀手”^[5],因此研究治疗糖尿病的新药已成为医疗工作者的热门课题. 虽然已有治疗糖尿病的西药上市,但是其毒副作用较高^[6]. 番石榴作为一种水果,无毒无害,廉价易得,而番石榴可用于治疗糖尿病,番石榴多糖具有降低血糖的作用^[7],若以番石榴多糖为原料研制开发治疗糖尿病的新药,将具有广阔的前景及意义. 本文优选的番石榴多糖提取工艺简单易行、提取率高,以期为研究开发番石榴多糖新的药物功能及保健食品提供基础数据.

参考文献:

[1] 王波,刘衡川. 番石榴的降血糖作用研究[J]. 现代预防医学,2005,32(10):1293.
[2] 吴建中,郭开平,陈静,等. 番石榴多糖的降血糖作用研究[J]. 食品与机械,2006,22(6):80-82.
[3] Oh W K, Lee C H, Lee M S, et al. Antidiabetic effects of extracts from Psidium guajava[J]. Journal of Ethnopharmacology,2005(96):411-415.
[4] 张晓静,刘会东. 植物多糖提取分离及药理作用的研究进展[J]. 时珍国医国药,2003,14(8):495.
[5] 陈丽华,马庆一,杨冰. α -葡萄糖苷酶抑制剂研究进展[J]. 食品科技,2005,8:91-94.

[6] 李玉萍,白冰,叶军,等. α -葡萄糖苷酶抑制剂的制备和活性研究进展[J]. 食品科学, 2008, 29 (9): 617 - 619.

al. Functional properties of guava seed glutelins[J]. Agricultural and Food Chemistry, 2005 (53): 3613 - 3617.

[7] Bernardino-Nicanor A, Anon M C, Scilingo A A, et

Study on optimization of polysaccharidesextraction technology from *Psidium guajava* L.

QIU Min-fang , LI Li , FANG Ji-de , LIU Lian

(Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, School of Chemical Engineering & Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract: The optimum conditions for extracting the polysaccharide of *Psidium guajava* L. were optimized and determined. The polysaccharide was extracted with distilled water, with polysaccharide content as inspection index. The extraction time, extraction times and extraction ratio were used as 3 factors and 3 levels were adopted at each factor. The $L_9(3^4)$ orthgonal test was used for optimizing the extraction technology. The optimum extraction was described as followes: the material to water ratio was 1:8, and the herb was extracted 2 times with 50 minutes for each time.

Key words: *Psidium guajava* L. ;polysaccharide;orthogonal test;extraction technology

本文编辑:张瑞



(上接第 21 页)

Determination of berberine hydrochloride in Zhike complex granules by RP-HPLC

WANG Yu-qiao , ZHAO Yi-mei , WANG Kai

(1. Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China; 2. State-level Enterprise Technology Center of Wuhan RHK, Wuhan 430074, China)

Abstract: A HPLC method was established for the determination of berberine hydrochloride in Zhike complex granules by RP-HPLC. A Kromasil C18 column was used with acetonitrile and $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{KH}_2\text{PO}_4$ (5:95) (Including 0.4% triethylamine, adjust pH to 2.7 with phosphoric acid) as the mobile phase at the flowing rate of $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The detection wavelength was set at 210 nm. The calibration range of berberine hydrochloride was $0.1 - 2.0\text{ }\mu\text{g}$ ($r=0.999\text{ }9$). The mean recovery was 100.3% and RSD was 0.79%. The method is simple, rapid, accurate, reliable and reproducible. At the same time, using this method for the 10 batches of ephedrine hydrochloride of Zhike complex granules, the determined content is 86.3%—96.0%.

Key words: zhike complex granules; berberine hydrochloride; RP-HPLC; chromatograph

本文编辑:张瑞