

微波辅助提取废次烟叶水溶性糖工艺

杜林洳¹, 徐翠莲², 樊素芳², 万郑凯², 王喜云²

1. 河南农业大学烟草学院, 郑州 450002

2. 河南农业大学理学院, 郑州 450002

摘要 为了有效地提取废次烟叶中水溶性糖, 进一步对水溶性糖生物活性进行基础和应用开发研究, 为废次烟叶水溶性糖的开发利用提供依据, 采用连续微波辐射方法进行微波萃取工艺的优化, 在单因素试验的基础上, 通过正交试验和极差分析考查了提取温度、微波功率、提取时间和料水比对水溶性糖提取率的影响。通过极差分析显示影响因素从大到小依次为: 料液比>功率>时间>温度, 正交实验的最佳提取条件是: 料液比 1:30、提取功率 400W、提取时间 20min、提取温度 60℃, 提取率为 28.54%。与经典法和直接水提法相比, 微波辅助提取法可将水溶性糖的提取率分别提高 6.39% 和 6.92%, 并具有高效、节能、产率稳定、省时等特点。

关键词 废次烟叶; 水溶性糖; 微波提取; 正交试验; 参数优化

中图分类号 R917

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)13-0092-05

Extraction of Water-soluble Saccharides from Abandoned Tobaccos with Microwave-assisted Technique

DU Linru¹, XU Cuilian², Fan Sufang², WAN Zhengkai², WANG Xiyun²

1. College of Tobacco, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

2. College of Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

Abstract In order to extract water-soluble saccharides from discarded tobaccos effectively, and to study their biological activity, the microwave technology is used in extraction of water-soluble polysaccharides from discarded tobaccos and the optimal process of extraction was obtained by the method of continuous microwave radiation. On the basis of one-factor tests, the effects of extraction temperature, microwave power, extraction time and liquid-to-solid ratio on the microwave extraction of water-soluble saccharides were analyzed by the orthogonal experiment and the range analysis. The results of range analysis show that the factors affecting extraction rate are in the following order in their importance: ratio of solid to liquid>microwave power>extraction time>temperature. The optimized conditions are: 1:30 of the ratio of solid to liquid, 400W of the microwave power, 20 min of the extraction time and 60℃ of the temperature. The extraction rate of 28.54% can be obtained under the above conditions, an increase of 6.39% and 6.92%, respectively, as compared with the classical method and the direct water extraction. This method enjoys advantages such as high efficiency, energy-saving, yield stability and time-saving.

Keywords discarded tobaccos; water-soluble saccharides; microwave extraction; orthogonal test; optimization

0 引言

中国是烟草种植大国, 年产烟叶 280 万 t, 仅河南省年产烟叶就达 50 万 t。烟叶中, 约 20%~30% 为废次烟叶, 不能用做卷烟原料, 也没有得到合理利用^[1], 废弃后既造成浪费, 又污染

环境^[2]。烟草中除含有多种特殊的化学物质如烟碱、烟酸、茄尼醇^[3]、果胶外, 还含有多种糖类成分, 这些成分都是很重要的化学原料^[4]。烟梗中含有的成分种类与烟叶成分基本一致, 仅在含量上略有差异^[5]。从烟草中提取天然有效成分是废次烟叶综合

收稿日期: 2010-04-26

作者简介: 杜林洳, 硕士研究生, 研究方向为烟草化学, 电子信箱: cangkuo9999@126.com; 徐翠莲 (通信作者), 教授, 研究方向为烟草化学, 电子信箱: xucuilian666@126.com

利用的重要途径,具有显著的社会、经济和生态效益^[6-7]。因此,探索提取和利用废次烟叶中理化性质各异的天然成分的合理工艺具有重要意义。

微波辅助萃取(Microwave Assisted Extraction, MAE)是利用微波能提高提取率的新技术,因其快速、高效的特点被广泛应用于提取天然产物化学成分。目前烟草水溶性糖的提取方法,主要有经典法(用乙醇提取后用水溶解,然后沉淀过滤除去蛋白质,再用盐酸水解,得到水溶性总糖的提取液)、醇提法、酸提法、碱提法、水提法、酶提法^[8]。有关烟草水溶性糖的微波提取工艺的研究在国内尚未报道。本文在前人研究^[9]的基础上,利用正交试验对微波条件下烟草水溶性糖的提取^[10]进行条件探索,为废次烟叶水溶性糖的开发利用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

废次烟叶(三门峡烟草公司提供):除去病虫害烟叶、烟梗,烘干至恒重,粉碎、过 80 目筛,置粉末于 60℃烘箱烘干至恒重,置于锥形瓶中密封保存备用。标准单糖(果糖)、苯酚、硫酸、蒸馏水、无水乙醇,化学试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

XH-100A 型微波炉(北京祥鹤科技发展有限公司),FW100 型高速万能粉碎机(南京庚辰科学仪器公司),RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),UV-9200 型紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),PH211C 型酸度计(盐城市思锐电子仪器有限公司),KQ-100DB 型数控超声波清洗器(东星机械工贸有限公司),LXJ-2 型离心机(上海天呈科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品提取方法

1) 精确称取 5.000g 烟叶粉末置于圆底烧瓶中,加 80mL 体积分数为 80%的乙醇,设定适当的微波功率和时间,在 90℃条件下回流提取 10min,趁热过滤,残渣用 20mL 体积分数为 80%热乙醇洗涤 3 次,目的是除去烟叶中单糖、双糖、低聚糖、苷类、生物碱、氨基酸和醇溶性蛋白质等物质^[11]。

2) 待乙醇挥发干后,于 60℃烘干至恒重,按料液比(原料质量与提取液体积的比(g/mL))加入一定量的蒸馏水,加热升温至 90℃搅拌保持温度,10min 后降温至 60℃,调溶液 pH 值至 4.5~5.0。

3) 加 1%的复合酶制剂^[12-13],反应 80min 后升温至 90℃,使酶丧失活性后降温,并调节溶液 pH 值至 7.0 左右,置于微波中提取一定时间。

4) 采用不同的料液比、提取时间、温度和功率分次微波提取,于 4000r/min 离心机中离心 10min,抽滤除渣,得烟叶提取液。

5) 加 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 使溶液 pH 值至 11.0,除去溶液中少量蛋白质、果胶、有机酸等杂质。

6) 加入磷酸中和过量的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$,使溶液 pH 值达 8.0 时

停止,产生的磷酸钙沉淀进一步吸附澄清,过滤得滤液。

7) 向滤液中加磷酸至溶液达到一定 pH 值,再于恒温水浴下加热水解,冷却后用 CaCO_3 调节 pH 值至中性后过滤,加入活性炭,于 60℃下加热 15min 进行脱色,后浓缩至一定体积后用乙醇沉淀、抽滤,无水乙醇洗涤 3 次、每次 20mL,60℃烘干至恒重称重、得到烟叶水溶性糖并计算产率。

1.3.2 单因素试验

单因素试验^[14]方法如下。

1) 固定料液比 1:20,浸提功率 700W,浸提时间 20min,浸提次数 1 次,浸提温度分别取 60、70、80、90℃。

2) 固定浸提功率 700W,浸提温度 80℃,浸提料液比 1:20,浸提次数 1 次,浸提时间分别取 10、20、30、40min。

3) 固定料液比 1:20,浸提时间 20min,浸提温度 80℃,浸提次数 1 次,浸提功率分别取 300、500、700、900W。

4) 固定浸提功率 700W,浸提温度 80℃,浸提功率 70W,浸提时间 20min,浸提次数 1 次,浸提料液比分别取 1:10、1:20、1:30、1:40。

1.3.3 正交试验

正交试验方法参见文献[15]、[16]。由于各因素之间存在相互影响,为了确定最佳的提取条件,在单因素试验的基础上,以提取温度、时间、功率、料液比为分析因素,以测得烟叶水溶性糖含量为分析指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交表对烟叶水溶性糖的提取工艺进行研究,并对经典法、水提法、微波法 3 种提取方法进行比较。

1.3.4 提取次数对水溶性糖提取率的影响

称取经处理后的烟叶粉末 5.000g,加入 150mL 水,提取温度 60℃,时间 20min,功率 400W,共提取 3 次,每次提取液减压过滤,测定水溶性糖含量^[17]。

1.3.5 标准曲线的绘制

水溶性糖的测定方法采用苯酚-硫酸法^[18]。精密称取干燥至恒重的果糖 4.000g 置于 100mL 容量瓶中,加水至刻度,分别从中取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8mL,再各以水补至 2.0mL,各加入 6%苯酚 1.0mL 和浓硫酸 5.0mL,静止 10min,摇匀,放置 20min。以 2.0mL 水按同样操作作为空白,用 1cm 比色皿于 490nm 处测量吸光值,以浓度 C 为横坐标,吸光值 A 为纵坐标,得出标准曲线的回归方程为: $A=0.0789C+0.0091$, $R^2=0.9995$ 。

1.3.6 烟叶水溶性糖含量的测定

称取 5.000g 烟叶粉末,以水为溶剂微波提取,抽滤,滤液定容至 100mL,再取 0.5mL 定容至 1000mL,然后取稀释液 1mL,按上述操作步骤,测吸光度,以回归方程得到糖含量。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 浸提温度对烟草水溶性糖提取率的影响

准确称取 5.000g 烟叶粉末 5 份,在料液比 1:20,处理时间为 20min,微波功率为 700W,处理温度分别为 50、60、70、80、

90℃下进行提取,减压过滤、浓缩、称重、计算提取率,得到水溶性糖提取率与提取温度之间的关系(图1)。从图中可以看出,提取温度低于80℃时,随温度升高,水溶性糖提取率明显增加,80℃时提取率达最大值,之后随着温度的升高提取率呈现降低的趋势。说明温度过高时,部分水溶性糖发生降解,影响水溶性糖提取率,水溶性糖的最佳提取温度约为80℃。

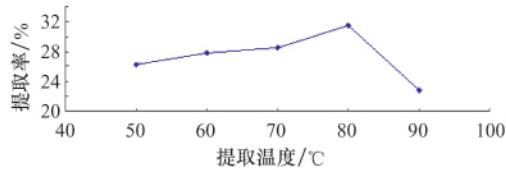


图1 提取温度对烟叶水溶性糖提取率的影响

Fig. 1 Effects of extraction temperature on the extraction rate of tobacco water-soluble saccharides

2.1.2 浸提时间对烟叶水溶性糖提取率的影响

准确称取5.000g烟叶粉末5份,在料液比1:20,温度80℃,微波功率700W,处理时间分别为10、20、30、40、50min条件下进行提取,减压过滤、浓缩、称重、计算提取率,得到烟叶水溶性糖提取率与提取时间的关系(图2)。可以看出,随着时间延长,水溶性糖含量增加,当提取时间为3min时,水溶性糖含量达到最大,之后随着时间延长,水溶性糖含量降低。说明在水溶性糖含量达到最大后再延长提取时间,使一些易溶出物的溶出量增加,这些成分与水溶性糖类化合物竞相与水分子结合,导致提取的水溶性糖类物质溶解度降低,从而影响了水溶性糖的提取率。

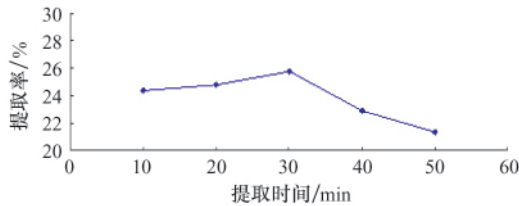


图2 提取时间对烟叶水溶性糖提取率的影响

Fig. 2 Effects of extraction time on the extraction rate of tobacco water-soluble saccharides

2.1.3 浸提功率对烟叶水溶性糖提取率的影响

准确称取5.000g烟叶粉末5份,在料液比1:20,处理时间20min,温度80℃,微波功率分别为100、300、500、700、900W条件下提取,减压过滤、浓缩、称重、计算提取率,得到烟叶水溶性糖提取率与微波功率之间的关系(图3)。可以看出,随着功率的增大,水溶性糖提取率升高,功率为300W时水溶性糖提取率达到最大,功率继续增大,提取率降低。原因是当水溶性糖含量达到最大后继续增大功率,使水溶性糖类物质逐渐降解导致提取率降低。

2.1.4 料液比对烟叶水溶性糖提取率的影响

准确称取5.000g烟叶粉末5份,在料液比分别为1:10、1:20、1:30、1:40、1:50,处理时间20min,温度80℃,功率300W条

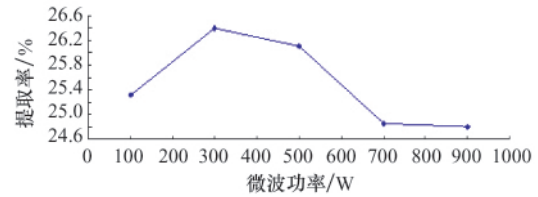


图3 微波功率对烟叶水溶性糖提取率的影响

Fig. 3 Effects of microwave power on the extraction rate of tobacco water-soluble saccharides

件下提取,减压过滤、浓缩、称重、计算提取率,得到烟叶水溶性糖提取率与微波功率的关系(图4)。可以看出,随着料液比的减小,水溶性糖提取率呈现降低趋势,当料液比为1:10时,水溶性糖提取率最大。原因是随着料液比增大,分子间碰撞机会减小,导致水溶性糖提取率降低。

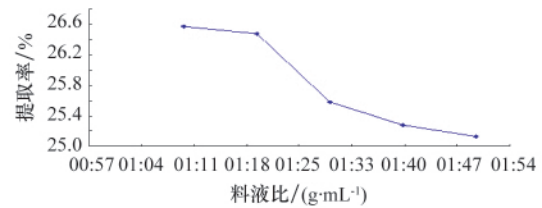


图4 料液比对烟叶水溶性糖提取率的影响

Fig. 4 Effects of stock ratio on the extraction rate of tobacco water-soluble saccharides

2.2 微波工艺条件优化

在不同提取因素对烟叶多糖提取率影响的基础上,对微波提取烟叶水溶性糖的工艺条件进行优化^[9],按照试验设计的方法,将试验分成9组,每组称取预处理后的烟叶粉末5.000g,根据正交试验设计表进行浸提,采用4因素3水平正交试验,浸提液于3000r/min离心15min,取上清液;上清液置旋转蒸发器中减压浓缩,加入4倍无水乙醇沉淀,静置过夜,抽滤,沉淀用无水乙醇、丙酮、无水乙醚依次洗涤,洗涤完后置于60℃恒温干燥箱中干燥,测定水溶性糖提取率;重复3次,取平行值。因素水平见表1,正交试验结果见表2。

正交试验极差分析显示,影响微波提取烟叶水溶性糖的诸因素的主次顺序为A>D>B>C,即料液比>功率>时间>温度。工艺优化条件为料液比1:30,功率400W,时间20min,温度60℃,即最佳条件因素水平为A₃B₂C₁D₂。

表1 因素水平

Table 1 Factors and levels in the test

水平	A 料液比/(g·mL ⁻¹)	B 时间/min	C 温度/℃	D 功率/W
1	1:10	10	60	300
2	1:20	20	70	400
3	1:30	30	80	500

- [4] 赵铭钦, 刘国顺, 于建春, 等. 香料烟浸膏提取工艺及应用效果研究[J]. 河南农业大学学报, 1998, 32(9): 45-49.
Zhao Minqin, Liu Guoshun, Yu Jianchun, et al. *Journal of Henan Agricultural University*, 1998, 32(9): 45-49.
- [5] 鲁雷, 付敏, 郭宝星. 烟梗成分提取及应用研究 [J]. 四川化工, 2004, 7(1): 9-11.
Lu Lei, Fu Min, Guo Baoxing. *Sichuan Chemical*, 2004, 7(1): 9-11.
- [6] 王静, 王安亭. 废次烟叶的综合利用研究 [J]. 洛阳大学学报, 2007, 22(4): 51-55.
Wang Jing, Wang Anting. *Journal of Luoyang University*, 2007, 22(4): 51-55.
- [7] 彭靖里, 马敏象, 吴绍情. 论烟草废弃物的综合利用技术及其发展前景 [J]. 中国资源综合利用, 2001, 15(8): 18-20.
Peng Jingli, Ma Minxiang, Wu Shaoqing. *Comprehensive Utilization of China Resources*, 2001, 15(8): 18-20.
- [8] 王海燕, 崔春, 赵谋明, 等. 烟草多酚提取工艺优化及成分定性分析[J]. 华南理工大学学报, 2008, 36(3): 64-68.
Wang Haiyan, Cui Chun, Zhao Mouming, et al. *Journal of South China University of Technology*, 2008, 36(3): 64-68.
- [9] 陶红, 沈光林, 赵谋明, 等. 烟梗的碱处理[J]. 烟草科技, 2009(4): 37-40.
Tao Hong, Shen Guanglin, Zhao Mouming, et al. *Tobacco Science & Technology*, 2009(4): 37-40.
- [10] 王飞生, 文媛, 赵鹏飞. 蒸馏法提取香根油成分的 GC-MS 分析[J]. 食品科学, 2009, 30(8): 212-214.
Wang Feisheng, Wen Yuan, Zhao Pengfei. *Food Science*, 2009, 30(8): 212-214.
- [11] 彭爱红, 叶鹏, 陈素艳, 等. 食用仙人掌黄酮的超声提取条件及其抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 527-530.
Peng Aihong, Ye Peng, Chen Suyan, et al. *Food Science*, 2006, 27(12): 527-530.
- [12] 谢红旗, 周春山, 杜邵龙, 等. 酶法提取、超滤分离香菇多糖新工艺研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(4): 217-219.
Xie Hongqi, Zhou Chunshan, Du Shaolong, et al. *Food Science*, 2007, 28(4): 217-219.
- [13] 陈学伟, 马书林. 酶法提取黄芪多糖的研究 [J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(1): 56-58.
Chen Xuewei, Ma Shulin. *Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2005, 39(1): 56-58.
- [14] 任初杰, 姚华杰, 王承明. 酸提花生粕多糖工艺研究[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 128-131.
Ren Chujie, Yao Huajie, Wang Chengming. *Food Science*, 2007, 28(9): 128-131.
- [15] 陈素艳, 彭爱红, 吴升山, 等. RSM 优化巴戟天多糖的超声波辅助提取工艺[J]. 华侨大学学报, 2008, 29(1): 76-79.
Chen Suyan, Peng Aihong, Wu Shengshan, et al. *Journal of Hua Qiao University*, 2008, 29(1): 76-79.
- [16] Lee W C, Yusof S, Hamid N S A, et al. Optimizing conditions for hot water extraction of banana juice using response surface methodology (SRM)[J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 75(4): 473-479.
- [17] 王俊, 朱一凡. 槲寄生多糖的提取分离和含量测定 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(22): 2387-2389.
Wang Jun, Zhu Yifan. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2007, 32(22): 2387-2389.
- [18] 邓泽元, 刘娟, 余迎利. 决明子水溶性多糖提取的研究 [J]. 食品科学, 2002, 23(1): 72-75.
Deng Zeyuan, Liu Juan, Yu Yingli. *Food Science*, 2002, 23(1): 72-75.
- [19] 王黎明, 夏文水. 水法提取茶多糖工艺条件优化[J]. 食品科学, 2005, 26(5): 171-174.
Wang Liming, Xia Wenshui. *Food Science*, 2005, 26(5): 171-174.
- [20] 曾满枝, 罗志刚, 凌晨. 烟草中水溶性总糖提取方法的改进 [J]. 烟草科技, 2002(2): 27-28.
Zeng Manzhi, Luo Zhigang, Ling Chen. *Tobacco Science & Technology*, 2002(2): 27-28.
- [21] 李卫旗, 何国庆, 李志昂. 金耳水溶性多糖 JP-2 的分离及化学结构的研究[J]. 中国食品学报, 2003, 3(3): 13-17.
Li Weiqi, He Guoqing, Li Zhiang. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2003, 3(3): 13-17.
- [22] 杨晓萍, 倪德江, 郭大勇, 等. 微波萃取茶叶有效成分的研究[J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(5): 505-507.
Yang Xiaoping, Ni Dejiang, Guo Dayong, et al. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2003, 22(5): 505-507.
- [23] 么宏伟, 张学义, 冯磊, 等. 微波、超声波萃取技术提取松茸多糖的研究 [J]. 中国林副特产, 2008(6): 10-15.
Me Hongwei, Zhang Xueyi, Feng Lei, et al. *Forest By-Product and Speciality in China*, 2008(6): 10-15.

(责任编辑 吴晓丽)

全国第十二届中医糖尿病大会

 时间: 2010年8月6-8日
地点: 辽宁·沈阳

主办单位: 中华中医药学会

 联系电话: 024-31207159
 电子信箱: tnbsy@sohu.com
 通信地址: 辽宁省沈阳市皇姑区崇山东路79号辽宁中医药大学临床技能中心
 会议网站: http://db.lnuctm.edu.cn