

## 板栗多糖提取工艺的研究



LI Run-feng

李润丰, 常学东, 陈雪娜

(河北科技师范学院 食品科技学院, 河北 秦皇岛 066600)

**摘要:** 分别采用热水浸提法、超声波辅助提取法两种工艺提取板栗多糖,经乙醇沉淀、Sevage 法除蛋白、有机溶剂脱脂后用蒽酮-硫酸比色法测定其含量,通过单因素试验和正交试验确定不同工艺的最佳提取工艺参数。结果表明:1 g 板栗粉,热水浸提法提取板栗多糖的最佳条件为提取温度 60 ℃,提取时间 1.5 h,液料比 20:1(mL:g),板栗多糖得率为 9.85%;超声波辅助提取法的最佳提取条件为提取温度 65 ℃、液料比 35:1(mL:g)、提取时间 45 min、超声波功率 160 W,在最佳工艺条件下板栗多糖得率达到了 10.67%。

**关键词:** 板栗;多糖;热水浸提法;超声波辅助浸提法

中图分类号:TQ351

文献标识码:A

文章编号:0253-2417(2011)02-0096-05

## Study on Extraction Technology of Chestnut Polysaccharides

LI Run-feng, CHANG Xue-dong, CHEN Xue-na

(Food Science and Technology College, Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao 066600, China)

**Abstract:** Polysaccharides were extracted from chestnut using hot water extraction and ultrasound-assisted extraction. The contents of chestnut polysaccharides extracted by the two techniques were determined by anthrone-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> method after ethanol precipitation, Sevage deproteinization and organic solvent degreasing. The optimal extraction conditions were obtained by single factor and orthogonal experiments. The results showed that, the optimal conditions of hot water extraction were: chestnut 1 g, extraction temperature 60 ℃, liquid-solid ratio 20:1(mL:g), extraction time 1.5 h, the yield of polysaccharides was 9.85%; The optimal conditions of ultrasonic extraction were: extraction temperature 65 ℃, liquid-solid ratio 35:1(mL:g), extraction time 45 min, ultrasonic power 160 W, the yield of polysaccharides was 10.67%.

**Key words:** chestnut; polysaccharide; hot water extraction; ultrasound-assisted extraction

板栗是中国栽培最早的果树之一,又称栗子、栗果等,与枣、柿并称铁杆庄稼、木本粮食,具有养胃健脾、补肾强筋、活血止血之功效,还有增强人体免疫能力和抗癌能力,因而又具有显著的药用价值和保健功能,深受国内外消费者的青睐<sup>[1]</sup>。板栗营养价值很高,含淀粉 51%~60%,蛋白质 5.7%~10.7%,脂肪 2.0%~7.4%,多糖、粗纤维、胡萝卜素、维生素 A、B、C 及钙、磷、钾等矿物质。目前国内外对板栗的研究仅在板栗淀粉方面较为深入,对其中重要的功能性成分——多糖的提取研究鲜有文献报道。植物多糖的提取方法主要是运用直接水浸提<sup>[2-4]</sup>、超声波辅助水浸提<sup>[5-9]</sup>、微波辅助水浸提<sup>[10-13]</sup>以及酶水解法<sup>[14]</sup>。本研究以板栗为原料提取板栗多糖,对直接水浸提法和超声波辅助浸提法两种工艺的提取效果进行对比,以为板栗多糖的进一步研究提供一定的技术基础,为板栗营养和保健价值的开发提供新的思路。

## 1 实验

### 1.1 材料、试剂与仪器

板栗:大板红,产自河北省迁西县。蒽酮、硫酸、无水乙醇、丙酮、石油醚等试剂均为分析纯。723 型

收稿日期:2010-08-03

基金项目:农业科技成果转化资金项目(2008GB2A200014);河北省科技支撑计划项目(09231001D-1)

作者简介:李润丰(1973-),女,河北秦皇岛人,副教授,硕士,研究方向为天然产物中活性成分的提取分离。

可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;FA2004型电子天平,上海良平仪器仪表有限公司;W201B恒温水浴锅;101-2型电热鼓风干燥箱,上海博讯实业有限公司;800型低速离心沉淀机,常州市国华仪器厂;KQ5200DB型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

## 1.2 板栗多糖的提取

取已去皮、晒干的板栗1g,粉碎过筛,准确称取,按设定的功率、时间、温度、料液比加入蒸馏水进行浸提,冷却后离心,经离心后残渣以相同条件再浸提一次,合并上清液,浓缩,用Sevage法除蛋白多次,无水乙醇沉淀,4℃过夜,回收乙醇,收集沉淀物,离心,沉淀相继用无水乙醇、丙酮、石油醚洗涤多次,溶解后定容。

## 1.3 多糖含量的测定方法

**1.3.1 标准溶液的配制** 准确称取105℃干燥至质量恒定的葡萄糖1.0000g,用蒸馏水定容至1000mL的容量瓶中,摇匀,得葡萄糖标准溶液。分别移取1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0mL的标准溶液置于100mL容量瓶中,并用蒸馏水定容备用。

**1.3.2 标准曲线的制作** 分别移取1mL系列葡萄糖标准溶液于具塞试管中,以1mL蒸馏水作空白,每管再加入4mL 0.2% 蒽酮-硫酸溶液,立即摇匀,冷却至室温,然后于沸水浴中反应5min,之后用流动水迅速冷却至室温,静置10min后,于620nm处测定吸光度值,以葡萄糖浓度对其吸光度作回归处理,得到标准曲线,并回归出标准曲线方程: $Y = 10.666X - 0.0446$ ,相关系数 $r = 0.9976$ 。

**1.3.3 板栗多糖含量的测定** 采用蒽酮-硫酸法测定。提取多糖溶液用蒸馏水定容至1000mL,准确吸取板栗多糖溶液1mL于具塞试管中,加入4mL蒽酮-硫酸试剂,以蒸馏水作对照,按标准曲线的方法测定吸光度,由回归方程求得多糖含量。

## 1.4 热水浸提和超声波辅助浸提工艺的确定

**1.4.1 单因素试验** 分别称取相同质量的板栗粉,考察液料比、温度、浸提时间对热水浸提法提取效果的影响;分别称取相同质量的板栗粉,考察了温度、提取时间、液料比和功率对超声波辅助浸提法提取效果的影响。

**1.4.2 正交试验优化提取工艺** 以提取时间、提取温度、液料比为板栗多糖提取实验的影响因素,以 $L_9(3^4)$ 考察了热水浸提法的最优提取工艺。以超声波功率、提取时间、提取温度、液料比为板栗多糖提取实验的影响因素,以 $L_9(3^4)$ 考察了超声波辅助浸提的最优提取工艺。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同条件对浸提工艺的影响

**2.1.1 热水浸提法** 由图1(a)可以看出,提取初始阶段,随着提取时间的延长,多糖得率增加,但1.5h以后开始呈下降趋势,这可能是因为随着提取时间的延长,部分多糖降解为单糖、寡糖或低聚糖等产物可溶于乙醇,或在醇沉过程由于相对分子质量的减小不能沉淀而造成损失,故得率下降。因此,提取时间以1.5h为宜。

由图1(b)可知:提取温度过低对多糖的提取不利,60℃提取的得率远远高于在40℃的提取得率,温度高于60℃时得率增加缓慢,而且温度过高对板栗多糖的生物活性也有不利的影 响。故选择在60℃的水温来提取板栗多糖是比较适当的。

由图1(c)可看出:随着液料比值的增加,多糖得率逐渐增加,这是由于液料比越大,板栗细胞内外的多糖浓度差就越大,传质推动力大则利于多糖的浸出,液料比达到15:1(mL:g)后得率增加不显著,由于液料比过大,会增加浓缩的工作量,综合各方面考虑,液料比以15:1为宜。

由此单因素试验结果可以得出:提取时间以1.5h,提取温度60℃,液料比15:1为宜。

**2.1.2 超声波辅助浸提法** 由图2(a)可以看出:随浸提时间的延长板栗多糖得率逐渐增大,在40min时达最大,而后呈下降趋势,这可能是由于板栗多糖在长时间的超声波浸提过程中受到超声波的机械剪切作用、热、光、氧等因素的影响,导致其结构发生改变,造成得率下降。因此,提取时间选择为40min,

可以使多糖物质基本溶出,又能保证其活性不受到严重破坏。

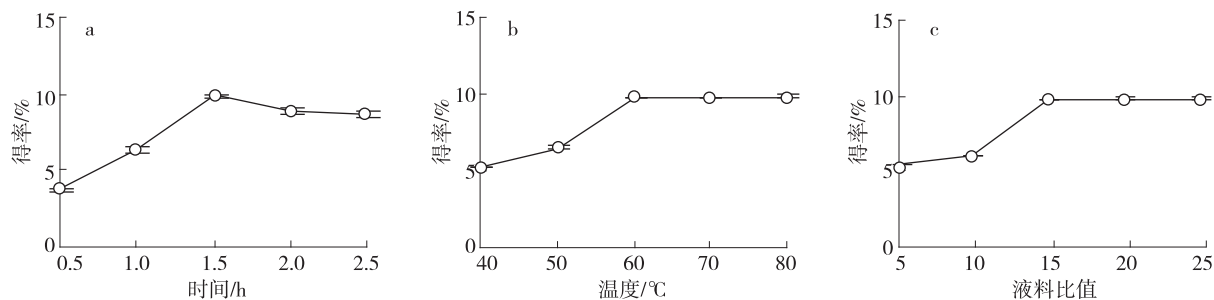


图1 不同条件对热水浸提工艺提取效果的影响

Fig.1 Effects of different conditions on hot water extraction

由图2(b)可知:板栗多糖得率随液料比增大有逐步上升的趋势。在液料比为30:1以后,得率增加趋势缓慢,表明板栗多糖在30:1的液料比的条件下已基本溶出,继续增大液料比会为后续浓缩工作带来困难,所以选此液料比为最佳条件。

由图2(c)可看出:得率在温度为40~60 °C 范围内逐渐增大,在高于60 °C 时得率增加缓慢。这可能是因为在高温下部分多糖分子会发生键的断裂,结构破坏,其活性也会相应下降,同时过高的温度对设备要求较高,耗能更大,所以本试验采用60 °C 为最高温度。

由图2(d)可看出:超声波功率为120~160 W 范围内,板栗多糖的得率随着功率的增加而增加,由于超声波功率增大,加大了破壁程度,多糖逐渐溶出,在功率为160 W 时达到最大值,超过160 W 后,得率减小。因此选择160 W 为最佳提取功率。

综上所述,从单因素试验可以看出,超声波辅助浸提法的工艺中,提取时间选择40 min,液料比为30:1,提取温度60 °C,提取功率160 W 为适宜条件。

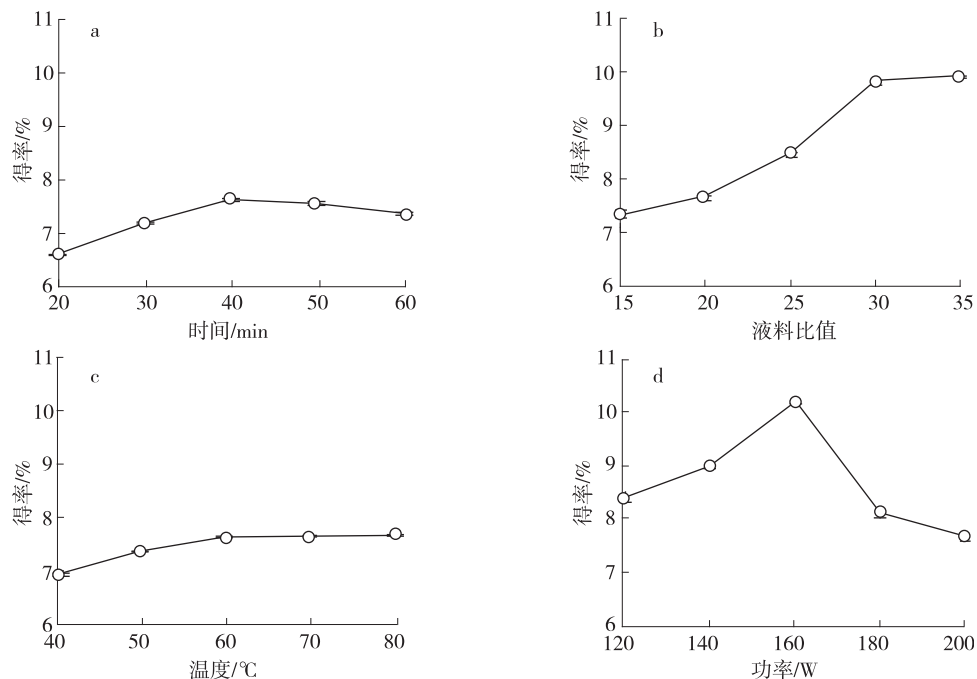


图2 不同条件对超声波辅助浸提工艺提取效果的影响

Fig.2 Effects of different conditions on ultrasonic extraction

## 2.2 最佳提取条件的优化

**2.2.1 热水浸提法** 在单因素试验的基础上进行正交试验。试验选取温度、时间、料液比3因素,每个因素取3个水平,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,结果见表1。

表1 热水浸提工艺正交试验结果  
Table 1 Result of orthogonal experiment for hot water extraction

试验号 No.	A 温度/℃ temperature	B 时间/h time	C 液料比(mL:g) liquid to solid ratio	得率/% yield
1	55	1	10:1	8.69
2	55	1.5	15:1	9.14
3	55	2	20:1	8.99
4	60	1	15:1	9.74
5	60	1.5	20:1	9.85
6	60	2	10:1	9.70
7	65	1	20:1	9.59
8	65	1.5	10:1	9.47
9	65	2	15:1	9.36
$k_1$	8.940	9.340	9.287	
$k_2$	9.763	9.487	9.413	
$k_3$	9.473	9.350	9.477	
R	0.823	0.147	0.190	

根据表1结果可知本试验中A、B、C 3个因素的主次关系是A>C>B。即提取温度为最重要的因素,其次为液料比,提取时间影响最小。由正交表可以看出:以多糖得率为目标,最优试验条件的组合是A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>,即提取温度60℃,提取时间1.5h,液料比20:1,该提取条件得到的板栗多糖得率为9.85%。

2.2.2 超声波辅助提取法 在单因素试验的基础上进行正交试验。试验选取温度、时间、液料比、功率4项为考察因素,各取3个水平,进行L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验,结果见表2。

表2 超声波辅助浸提工艺正交试验结果  
Table 2 Result of orthogonal experiment for ultrasonic extraction

试验号 No.	A 温度/℃ temperature	B 时间/h time	C 液料比(mL:g) liquid to solid ratio	D 功率/W ultrasonic power	得率/% yield
1	55	35	25:1	140	7.67
2	55	40	30:1	160	8.24
3	55	45	35:1	180	8.09
4	60	35	30:1	180	7.97
5	60	40	35:1	140	7.86
6	60	45	25:1	160	8.69
7	65	35	35:1	160	10.34
8	65	40	25:1	180	8.09
9	65	45	30:1	140	9.62
$k_1$	8.000	8.660	8.150	8.383	
$k_2$	8.173	8.063	8.610	9.090	
$k_3$	9.350	8.800	8.763	8.050	
R	1.350	0.737	0.613	1.040	

由极差分析可知,影响板栗多糖得率的各因素主次关系为:提取温度>超声波功率>提取时间>液料比,即提取温度影响最大,超声波功率次之,提取时间再次之,液料比影响最小;由指标均值可以看出:A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>为最优组合。经3次平行验证实验得到该条件下的得率为10.67%,高于正交试验各处理中最优的处理7(A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>)的得率10.34%。因而,板栗多糖的超声波浸提最优工艺参数为A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>,即提取温度65℃,浸提时间45min,液料比35:1,超声波功率160W。

### 2.3 讨论

超声波辅助提取法比热水浸提法的最佳提取得率高出将近一个百分点,综合各方面因素考虑,超声波辅助提取法更具优势。植物多糖的提取方法除了本研究中选择的两种以外,常用的还有微波辅助浸提法,酶法提取等,利用这些工艺提取板栗多糖的提取效果还有待于进一步的研究。

### 3 结论

热水浸提法提取板栗多糖的最佳条件是1 g 板栗粉,提取温度 60 ℃,提取时间 1.5 h,液料比 20:1 (mL:g),板栗多糖得率 9.85%;超声波辅助提取法提取多糖的最佳条件是1 g 板栗粉,温度 65 ℃,超声波功率 160 W,提取时间 45 min,液料比 35:1 (mL:g),板栗多糖得率达到 10.67%。

#### 参考文献:

- [1] 阮在新,魏天才. 板栗的营养保健作用及其开发利用[J]. 农牧产品开发,1999(4):4-5.
- [2] 刘剑利,曹向宇,李其久,等. 萝卜水溶性多糖的提取工艺研究[J]. 辽宁大学学报:自然科学版,2009,36(1):82-84.
- [3] 卢金珍,任俊,赵为,等. 水法提取茶多糖工艺研究[J]. 武汉生物工程学院学报,2007,3(4):201-204.
- [4] 蔡凌云,黎云祥,陈蕉,等. 白藜多糖的提取工艺和含量比较[J]. 光谱实验室,2009,26(2):251-257.
- [5] 赵鹏,李稳宏,朱骤海,等. 款冬花多糖提取工艺的研究[J]. 中成药,2010(1):58-61.
- [6] 陈吉生,吕剑豪. 超声法提取枸杞多糖工艺研究[J]. 今日药学,2009,19(12):47-51.
- [7] 曲晓兰,高红莉,段瑞,等. 超声法提取马齿苋多糖的研究[J]. 泰山医学院学报,2009,30(2):119-121.
- [8] 邓镗,杨军,王立强,等. 扯根菜多糖的提取[J]. 中药材,2009,32(1):121-123.
- [9] 颜辉,朱冬吉,吴杰. 超声波辅助提取蛹虫草多糖的研究[J]. 江苏农业科学,2009(1):255-257.
- [10] 范益军,罗傲雪,罗傲霜,等. 超声波辅助技术提取选鞘石斛多糖工艺研究[J]. 中国医院药学杂志,2009,20(22):1909-1911.
- [11] 张双灵. 微波辅助提取紫菜多糖的工艺研究[J]. 饮料工业,2009,2(2):3-6.
- [12] 杨学敏,陈仪男. 微波辅助技术优化猪肚菇多糖提取工艺[J]. 漳州师范学院学报:自然科学版,2009,22(4):66-99.
- [13] 张海艳,崔海洋. 微波提取海带多糖的工艺研究[J]. 江苏农业科学,2009(6):360-361.
- [14] 赵玉,徐雅琴. 微波协同酶法提取南瓜多糖最佳提取条件的研究[J]. 食品工业科技,2009,30(1):221-223.

## 本刊信息

### 征订启事

《林产化学与工业》(双月刊)是中国林业科学研究院林产化学工业研究所和中国林学会林产化学化工分会共同主办的学术类刊物。报道范围是可再生的木质和非木质生物质资源的化学加工与利用,包括生物质能源、生物质化学品和生物质材料等,主要包括植物资源的热转化、热化学转化和活性炭,木材化学和制浆造纸,生物质原料水解,松脂及松香、松节油、植物多酚、林产香料、油脂、药物和生物活性物质,木工胶黏剂,树木寄生产物以及其他森林天然产物等方面的最新研究成果。

本刊自 1981 年创刊,被美国《CA》、美国“乌利希国际期刊指南”、英国《CAB Abstracts》、英国《FPA》、俄罗斯《PK》、日本《科学技术文献速报》、“中文核心期刊”、“中国精品科技期刊”、“中国期刊全文数据库”、“中国科学引文数据库”、“中国学术期刊综合评价数据库”、“万方数据——数字化期刊群”、“中文科技期刊数据库”、“中国科技核心期刊”、“中国核心期刊(遴选)数据库”、《中国学术期刊文摘》源期刊、《中国农业核心期刊概览 2006》等 10 多种大型刊库收录。

本刊为双月刊,逢双月月末出版,大 16 开,定价:15.00 元,全年 90.00 元。刊号:ISSN 0253-2417, CN 32-1149/S。国内外公开发行人,国内邮发代号:28-59;国外发行代号:Q5941。地址:210042 南京市锁金五村 16 号林化所内。电话:(025)85482493;传真:(025)85482493;E-mail:cifp@vip.163.com;http://www.cifp.ac.cn。