

青钱柳多糖提取工艺的研究

谢建华, 谢明勇*, 聂少平, 董彩军, 黄 璞, 刘 昕

(南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 以江西修水青钱柳粉末为原料, 采用热水浸提法提取青钱柳多糖, 研究了提取温度、提取次数、提取时间和料液比对青钱柳多糖得率的影响, 并以提取次数、提取时间和料液比为考察因素, 在 90 ℃下, 采用 $L_9(3^3)$ 正交试验确定了热水浸提法提取青钱柳多糖的最佳工艺参数, 即提取次数为三次, 提取时间为 150min, 液料比为 1:8。在上述提取条件下, 热水浸提法提取青钱柳多糖得率可达到 6.54%。

关键词: 青钱柳; 多糖; 提取; 得率

Study on Extraction Technology of Polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja

XIE Jian-hua, XIE Ming-yong*, NIE Shao-ping, DONG Cai-jun, HUANG Pu, LIU Xin

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Polysaccharides in *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja samples of Xiushui country in Jiangxi province were obtained from dried *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja powder by hot water extraction. The effects of extraction times, extraction time and the powder-to-water ratio were studied. $L_9(3^3)$ orthogonal test was carried out by taking extraction times, extraction time and the powder-to-water ratio as the parameters to determine at extraction temperature of 90 ℃. The optimal conditions are as following: extraction three times, extraction time 150 minutes and the powder-to-water ratio 1:8. Under these conditions, the yield of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides reached 6.54%.

Key words *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharide; extraction yield

中图分类号: Q946.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)10-0188-05

青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja] 又名青钱李、摇钱树等, 系双子叶植物纲 [*Dicotyledneae*] 胡桃科 [*Juglandaceae*] 青钱柳属植物。青钱柳属高大乔木, 广泛分布于江西、浙江、江苏、福建、台湾、广东、

广西等长江以南地区^[1]。它是我国特有的单种属植物, 是国家重点保护的濒危植物之一, 属三类保护植物。长期以来, 民间采其嫩叶制茶食用, 该茶具有生津止渴、清热解暑、降压强心及延年益寿的作用, 可有效地用于

收稿日期: 2007-07-26

*通讯作者

基金项目: 教育部长江学者和创新团队发展计划资助项目 (IRT0540); 江西省自然科学基金资助项目 (9920029); 南昌大学测试基金资助项目 (2006017)

作者简介: 谢建华 (1983-), 男, 硕士研究生, 主要从事食品化学与天然产物化学研究。

[J]. 食品科学, 2003, 24(10): 120-123.

[6] 何慧, 郭会侠, 孔林, 等. 用玉米大豆复配蛋白制备降血压肽水解酶筛选研究[J]. 中国粮油学报, 2005, 20(6): 25-29.

[7] 许庆陵, 曾庆祝, 崔铁军, 等. 鲢头酶解物对ACE的抑制活性[J]. 大连水产学院学报, 2004, 19(2): 87-91.

[8] 裘迪红. 鲈鱼蛋白酶解与脱腥工艺方法的研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2002.

[9] 黄艳春. 酶解淡水鱼蛋白制取血管紧张素转化酶抑制肽的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2004.

[10] 张意静. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 190-192.

[11] 姜锡瑞. 酶制剂应用手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 292-

297.

[12] 陈钧辉, 陶力, 李俊, 等. 生物化学实验[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 57.

[13] 毋瑾超, 朱碧英. 低值鱼酶解蛋白的制取及其组成研究[J]. 水产科学, 2001, 20(4): 7-10.

[14] 韦零, 卢家炯, 莫海涛, 等. 甘蔗汁提取物抗氧化活性初步研究[J]. 广西轻工业, 2006, 22(1): 11-14.

[15] 刘彬, 黄文, 张洁, 等. 家蝇幼虫提取物清除氧自由基的作用[J]. 昆虫知识, 2006, 43(1): 85-88.

[16] 张强, 阚国仕, 陈红漫, 等. 酶解玉米蛋白粉制备抗氧化肽[J]. 食品工业科技, 2005, 22(6): 109-111.

防治糖尿病、高血压、冠心病、神经衰弱等疾病^[2-3]。青钱柳多糖是青钱柳中一种生理活性物质,引起了人们的极大兴趣和广泛关注。研究证明,青钱柳中的多糖成分具有明显的降血糖活性^[4-7]。近年来,对青钱柳功能性因子的研究及相应功能食品的开发越来越得到重视。因此,从青钱柳叶中提取青钱柳多糖具有重要的实际意义。本研究采用正交试验设计对热水浸提法提取青钱柳多糖提取工艺中的关键参数进行优化研究,以期工业生产及青钱柳的综合开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 材料与试剂

青钱柳[*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja] 江西神茶实业有限公司。

水为蒸馏水;无水乙醇、浓硫酸、蒽酮、葡萄糖均为分析纯。

1.1.2 仪器

TU-1900双光束紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;UV-2000紫外分光光度计 上海尤尼柯仪器有限公司;FA1104电子天平 上海精天电子仪器厂;HH-4数显恒温水浴锅 国华电器有限公司;旋转蒸发器 上海荣生有限公司;DGG-9140B型电热恒温鼓风干燥箱 上海森信实验仪器有限公司;TDL-5型离心沉淀机 上海飞鸽系列离心机厂;SHZ-III型循环水真空泵 上海亚荣生化仪器厂;ALPHA 1-2冷冻干燥机 德国Martin Christ公司。

1.2 方法

1.2.1 青钱柳多糖提取工艺

青钱柳粉末→乙醇回流→干燥称重→热水浸提→过滤→澄清液→浓缩液→醇析→洗涤→冷冻干燥→青钱柳多糖

该工艺操作要点如下:

(1)原料处理。青钱柳粉末放入鼓风干燥箱内进行干燥恒重,干燥箱内温度控制在60℃以下,防止高温引起多糖活性的变化。

(2)乙醇回流。称取500g青钱柳粉末,用1500ml 80%乙醇回流提取两次,每次2h。本道工序的目的是除去青钱柳中的单糖、双糖、低聚糖、甙类、生物碱、氨基酸等醇溶性物质^[8]。滤液经蒸馏回收乙醇,残渣干燥称重用于多糖提取。

(3)热水浸取。残渣挥干乙醇干燥称重每次5g后,按不同的提取次数、提取时间、料液比,用蒸馏水进行青钱柳多糖的提取,比较提取的效果。

(4)过滤、浓缩。提取液真空过滤,去除残渣,得

澄清液。再将澄清液于60℃左右下用真空浓缩法进行浓缩,以防止多糖的热降解,浓缩为原体积的五分之一。

(5)醇析。多糖类物质不溶于乙醇,在一定浓度的乙醇溶液中,浓缩液中的多糖类物质沉淀析出,呈纤维状。本研究加入四倍提取液体积的不同浓度的乙醇溶液进行实验。采用离心分离的方法对沉淀析出的多糖进行分离。

(6)洗涤、干燥。沉淀分离所获得的多糖提取物中常含有无机盐、醇不溶的低分子有机物和大分子蛋白质、脂类等杂质,多糖本身也会吸附很多小分子物质,用无水乙醇进行洗涤,去除杂质。多糖冷冻干燥,即得青钱柳多糖粗品。

1.2.2 青钱柳多糖的含量及得率计算

青钱柳多糖含量采用蒽酮-硫酸法对其进行含量测定^[8],然后按下式计算青钱柳多糖得率:

$$\text{多糖得率}(\%) = \frac{\text{提取物中多糖质量}}{\text{原料质量}} \times 100$$

1.2.3 试验方案的设计

研究发现采用乙醇溶液除杂热水浸提青钱柳多糖的过程中,料液比、提取次数、提取温度和提取时间是影响青钱柳多糖得率的主要因素,并且确定了各因素的水平。单因素试验设计:固定料水比为1:15,提取时间为60min,提取次数一次,提取温度分别取60、70、80、90、100℃;固定提取温度为90℃,提取时间60min,提取次数一次,料水比取(g/ml) 1:6、1:8、1:10、1:12、1:15;固定提取温度90℃,提取时间60min,固定料水比为1:10,提取次数取1、2、3、4次;固定料水比为1:10,提取次数一次,提取温度为90℃,提取时间为60、90、120、150、180min。提取工艺水平及因素设计表见表1。

表1 提取工艺水平及因素设计表
Table 1 Factors and levels of extraction technique

水平	因素		
	提取次数	提取时间(min)	料液比
	A	B	C
1	1	60	1:6
2	2	100	1:8
3	3	150	1:10

2 结果与分析

2.1 热水浸提法提取多糖各单因素对多糖得率的影响

2.1.1 提取温度对青钱柳多糖得率的影响

从图1中可以看出,青钱柳多糖得率随提取温度升高,增加明显,得率呈上升趋势,在60~90℃之间,

多糖得率随提取温度提高, 也有较大增加。提取温度超过 90℃, 多糖得率增加不明显。这是由于温度过高, 多糖受热强度加大, 活性成分遭到破坏, 杂质溶出较多且操作不便、设备费用增加, 所以提取温度选择在 90℃ 为宜。结果如图 1 所示。

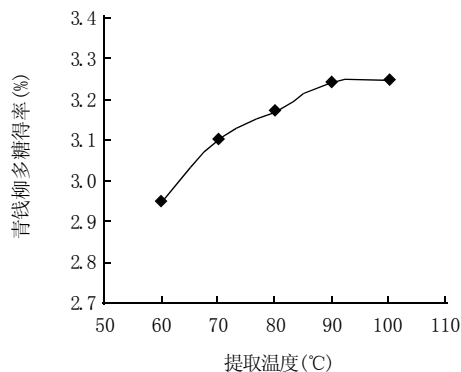


图 1 提取温度对多糖得率的影响

Fig.1 Effects of different extracting temperatures on efficiency of extraction

2.1.2 料液比对青钱柳多糖得率的影响

可以以浸没样品的最低限度为基础, 选择各水平进行实验。从图 2 中看出, 料液比越大, 也即水越多, 青钱柳多糖得率越高, 提取越彻底。从生产成本考虑, 料液比不可能无限减小, 当料水比达到 1:10 左右时, 就能获得较好的得率。从降低成本、节省能源及结合最优工艺参数等角度考虑, 一般生产加工中取料水比介于 1:8~1:15 之间。

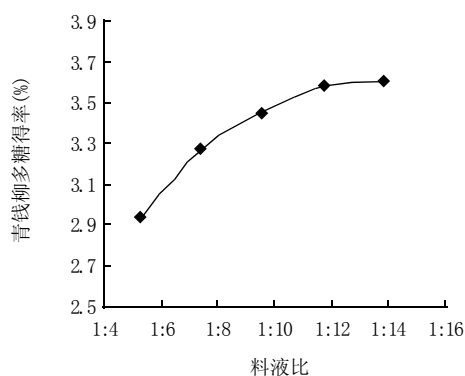


图 2 料液比对多糖得率的影响

Fig.2 Effects of different S to L ratios on efficiency of extraction

2.1.3 提取次数对青钱柳多糖得率的影响

从图 3 中可以看出, 提取次数越多, 青钱柳多糖得率越高, 提取一次和提取两次相比较, 多糖得率有明显差别, 提取次数再继续增加至三次和四次时, 多糖得率的增加程度越来越小。提取次数增多, 成本迅速增加, 因此实际生产中, 提取次数最多三次。

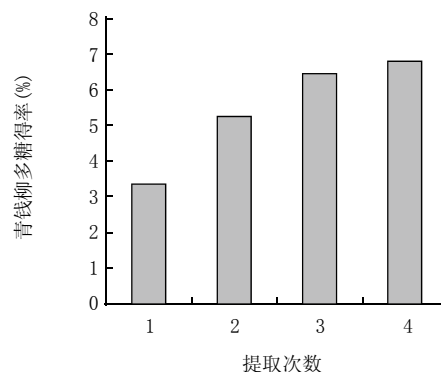


图 3 提取次数对多糖提取的影响

Fig.3 Effects of different extraction times on efficiency of extraction

2.1.4 提取时间对青钱柳多糖得率的影响

从图 4 可以看出, 提取时间在前 30~60min 内, 青钱柳多糖得率增长较快; 在 60~150min 内, 多糖得率仍有提高, 但提高速率减小; 提取时间超过 150min, 多糖得率没有明显提高。

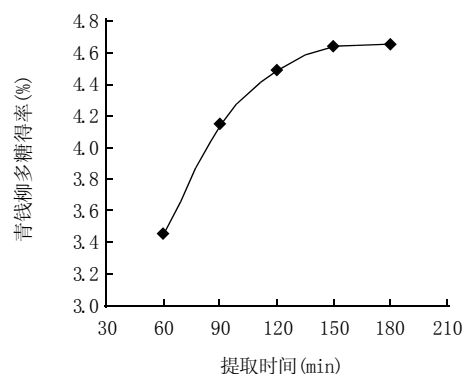


图 4 提取时间对多糖提取的影响

Fig.4 Effects of different extracting time on efficiency of extraction

2.2 提取工艺条件的优化

用水提法提取青钱柳多糖, 由单因素试验确定了水提法提取青钱柳多糖的因素和水平。为确定最佳提取工艺参数, 以提取时间、提取温度和料液比三个因素设计 $L_9(3^3)$ 正交试验^[9], 以青钱柳多糖得率为指标。

2.2.1 正交试验的安排及结果

青钱柳多糖的提取正交试验安排及结果见表 2。

表 3 方差分析表明, 提取次数、提取时间、料液比对青钱柳多糖得率均有不同程度的影响, 其中提取次数对多糖得率的影响较为显著, 各种因素对青钱柳多糖得率影响的大小顺序为: $A > B > C$ 。热水浸提法提取青钱柳多糖的最佳工艺条件组合为 $A_3B_3C_2$, 即提取次数为三次; 提取时间 150min; 料液比为 1:8。在最佳条件下, 热水浸提法提取青钱柳多糖得率可达到 6.24%。

表2 青钱柳多糖提取正交试验与结果
Table 2 Results of $L_9(3^3)$ orthogonal test

试验号	提取次数	提取时间(min)	料液比	青钱柳多糖得率(%)
1	1	60	1:6	3.24
2	1	100	1:8	3.83
3	1	150	1:10	4.29
4	2	60	1:8	4.59
5	2	100	1:10	5.31
6	2	150	1:6	5.09
7	3	60	1:10	5.78
8	3	100	1:6	5.94
9	3	150	1:8	6.24
K_1	3.787	4.537	4.757	
K_2	4.997	5.027	4.987	
K_3	6.087	5.307	4.927	
R	2.300	0.770	0.370	
最优水平	A_3	B_3	C_2	

表3 青钱柳多糖得率方差分析
Table 3 Variance analysis of *Cyclocarya paliurus* (Batal.)
Iljinskaja polysaccharides

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
提取次数	7.942	2	294.148	19.000	*
提取时间	0.911	2	33.741	19.000	*
料液比	0.209	2	7.741	19.000	
误差	0.03	2			

提取多糖常用的方法有热水浸提、盐溶液、酸碱溶液提取等。用酸处理后，由于糖苷键对酸不稳定，酸能破坏多糖的糖苷键而形成较多的单糖和低聚糖，从而使多糖含量降低，总糖含量虽然很高，但同时还原糖含量也升高，所以一般不采用在酸性条件下提取的方式；碱溶液提取的表观得率较高，原因是纤维素、半纤维素和木质素类物质也被提取了出来；稀的盐溶液有使多糖增溶的作用，但会加重后续脱盐步骤的负担，另外考虑到工业化大规模生产的需要，用热水浸提法提取多糖成本较低。同时，用热水浸提法提取青钱柳多糖方法比较简单、实用，可达到较高提取率。因此，本实验选择热水浸提法提取青钱柳多糖的方法。李贵荣等研究发现，多糖纯品与粗品的生物学活性存在一定的差异，粗品的一些活性甚至优于纯品^[10]。他们认为在纯化过程中，许多原本与多糖相结合的成分被除去，而这些成分中的一些物质如糖肽、结合蛋白等可能具有较强的生物学活性。基于此，同时也为了降低提取成本，本实验所提取的多糖没有进行除蛋白处理。

2.2.2 验证实验

表4 青钱柳多糖验证实验结果
Table 4 Validation results of *Cyclocarya paliurus* (Batal.)
Iljinskaja polysaccharides

实验号	青钱柳质量(g)	吸光度	多糖得率(%)	平均得率(%)
1	5.0132	0.592	6.24	6.25
2	5.0090	0.581	6.12	
3	5.0059	0.605	6.38	

以上试验得出青钱柳多糖的最佳提取工艺为：提取次数为三次；提取时间150min；料液比为1:8。为考察上述提取工艺的稳定性，按该最佳工艺提取三批产品，分别测定青钱柳多糖得率。验证结果见表4，计算得青钱柳多糖的平均得率为(6.25±0.13)%。三次结果差异较小，说明该工艺稳定可行。

3 结 论

本实验由正交设计得出热水浸提法提取青钱柳多糖工艺中提取次数是影响青钱柳多糖得率的最主要因素，达到了显著水平。另外，提取时间对青钱柳多糖得率也有显著的影响。青钱柳多糖最佳提取条件是：提取次数为三次，提取时间150min，料液比为1:8。用此工艺提取青钱柳多糖，可得到理想的结果。

参考文献：

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 21卷[M]. 北京: 科学出版社, 1979.

[2] 冷任轩. 青钱柳的基础理论研究和临床观察[J]. 江西中医药, 1994, 25(2): 64-65.

[3] 舒任庚. 青钱柳植物化学成分研究简报[J]. 江西中医学院学报, 1996, 8(2): 34.

[4] 李磊, 谢明勇, 易醒. 青钱柳多糖降血糖作用研究[J]. 中药材, 2002, 25(1): 39-41.

[5] 徐明生, 沈勇根. 青钱柳水提物降血糖作用的研究[J]. 营养学报, 2004, 26(3): 230-234.

[6] 李磊, 赵丽, 谢明勇, 等. 青钱柳多糖组分生物活性及其元素化学形态分析[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2003, 42(1): 73-77.

[7] XIE MY, LI L, NIE SP, et al. Determination of speciation of elements related to blood sugar in bioactive extracts from *Cyclocarya paliurus* leaves by FIA-ICP-MS[J]. European Food Research and Technology, 2006, 223(2): 202-209.

[8] 谢建华, 谢明勇, 聂少平, 等. 青钱柳中多糖含量的测定[J]. 分析试验室, 2007, 26(8): 33-36.

[9] 江腾龙. 生物统计学[M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 2001: 174-207.

[10] 李贵荣. 枸杞多糖的提取及其对活性氧自由基的清除作用[J]. 中国现代应用药学杂志, 2002, 19(2): 94-96.