

# 超声波辅助提取笃斯越桔叶片多糖的研究

刘艳丰, 林松毅, 刘静波\*, 张 巍

(吉林大学军需科技学院营养与功能食品研究室, 吉林 长春 130062)

**摘 要:** 本实验对影响超声波技术辅助水浸提工艺的多个因素进行了研究, 优化了超声波作用时间、超声功率、热水浸提时间、热水浸提温度四个工艺条件。 $L_9(3^4)$  正交试验, 结果表明各因素影响程度依次为: 浸提温度>超声时间>超声功率>水浸提时间, 得到最佳参数为: 超声时间 15min, 超声功率 200W, 水浸提时间 75min, 浸提温度 90℃。在此参数条件下多糖的提取率达 7.96%, 总提取时间为 90min。与传统方法相比, 大大缩短了提取时间, 降低了能量消耗。

**关键词:** 超声波; 笃斯越桔; 多糖; 正交试验

Study on Ultrasonic Extraction Technology of Polysaccharide from Leaves of *Vaccinium uliginosum* L.

LIU Yan-feng, LIN Song-yi, LIU Jing-bo\*, ZHANG Wei

(Laboratory of Nutrition and Functional Food, College of Quartermaster Technology, Jilin University, Changchun 130062, China)

**Abstract:** Supersonic technology assisted water extraction to extract polysaccharides from leaves of *Vaccinium uliginosum* L. was researched in this experiment. The factors of ultrasonic time, ultrasonic power, extracting time and water temperature were studied. Through a comparison analysis and  $L_9(3^4)$  orthogonal design, ultrasonic time, ultrasonic power, extracting time with water and water temperature were investigated respectively. The results indicated that the most significant factor was the extraction temperature, then the ultrasonic time, ultrasonic power and time of water diffusion. The optimal conditions in the extraction procession were as follow: ultrasonic time 15 min, ultrasonic power 200 W, water diffusion time 75 min and water temperature 90℃. On the optimal conditions the extracting rate of polysaccharides could reach 7.96%. The total extraction time is only 90 min. Compared with the traditional technology, it reduces the time of extract process and energy consumption significantly.

**Key words** supersonic; *Vaccinium uliginosum* L.; polysaccharide; orthogonal test

中图分类号: Q946.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)10-0290-04

笃斯越桔中富含多糖、花青素、黄酮、多酚、熊果甙等多种生物活性物质, 成为近年来科研机构以及食品、药品加工制造行业瞩目的食材和药材。由于植物多糖具有降血糖、抗肿瘤、抗氧化等多种生理功能<sup>[1]</sup>, 众多学者将广泛开发多糖资源、深入研究多糖保健功效、系列研制功能食品等领域推进为研究热点和焦点。

多糖的提取方法有多种。传统的水浸提法操作简单, 然而耗时长, 耗能多, 提取效率较低。超声波技术随着科学技术的发展已经投入到多种物质的提取中。大量的资料表明, 超声波的强烈搅拌、振动、空化作用可以破坏细胞结构, 加速有效物质的溶出<sup>[2]</sup>, 不仅可以提高提取效率, 而且可以大大的缩短时间, 节省能源。因此本实验通过超声波辅助水提工艺, 旨在

为笃斯越桔叶片中的多糖提取提供一个优良、便捷的提取方法, 为长白山地区丰富的笃斯越桔资源的多功能开发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

长白山野生笃斯越桔叶片采摘于吉林省长白山林区。

葡萄糖、丙酮、无水乙醇、浓硫酸(均为国产分析纯) 北京化工厂; 苯酚(分析纯) 天津市博迪化工有限公司。

### 1.2 主要仪器

超声波细胞粉碎机(JY92-2D型) 宁波新芝生物科技

收稿日期: 2007-09-02

\*通讯作者

基金项目: 吉林省科技厅应用基础研究项目(20050567); 吉林大学农学部大学生科技创新基金资助项目(2007051841)

作者简介: 刘艳丰(1986-), 女, 本科生, 研究方向为营养与功能食品。

股份有限公司; 万能粉碎机(FW-200) 北京中兴伟业仪器有限公司; 电热恒温鼓风干燥箱(101-3-S) 上海跃进医疗器械厂; 电子天平(AG204型) 瑞士梅特勒-托利多公司; 超纯水机 美国Millipore公司; 电热恒温水浴锅(R501) 巩义市英峪仪器厂; 旋转蒸发仪(R-250) 瑞士布奇公司; 循环水式真空泵(SHZ-D(III)) 巩义市予华仪器有限责任公司; 紫外分光光度计(752pc) 上海光谱仪器有限公司。

### 1.3 多糖含量测定方法

目前多糖含量测定方法有苯酚-硫酸法和蒽酮硫酸法等。本实验采用苯酚-硫酸法<sup>[3-4]</sup>, 以葡萄糖为标准样品。

#### 1.3.1 确定标准曲线回归方程的方法

精密吸取浓度为0.1mg/ml的葡萄糖对照品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2ml, 分别置于25ml比色管中, 依次加水使最终体积为2ml, 同时吸取2ml水于25ml比色管中作空白对照, 分别加入5%苯酚1ml, 摇匀, 迅速加入浓硫酸5ml, 混匀放入沸水与加热15min, 取出流水速冷至室温, 于490nm波长处测量吸光度(A), 以葡萄糖浓度为自变量(x), 490nm处吸光度为变量(y), 确定标准曲线的回归方程。

#### 1.3.2 确定葡萄糖与笃斯越桔叶片多糖的换算系数

精密称取总多糖25.0mg, 置25ml容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密量取贮备液10.0ml, 置100ml容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 此为供试品溶液。精密量取供试品溶液2.0ml, 与标准曲线制备方法相同, 测定OD, 从回归方程中求出供试液中含量, 按公式(1)计算葡萄糖与笃斯越桔叶片多糖的换算系数<sup>[5]</sup>。

$$J = \frac{W}{c} \quad (1)$$

式中, W为实际总多糖量; C为测得多糖液中总多糖含量。

测得 $J=7.078311$  ( $n=5$ ,  $RSD=2.2\%$ )。

#### 1.3.3 多糖含量测定方法

称取干燥至恒重的多糖样品适量, 根据标准曲线按照公式(2)计算样品中粗多糖含量<sup>[6]</sup>。

$$\text{多糖含量}(\%) = \frac{c \times d \times f}{m} \times 100 \quad (2)$$

式中, c为多糖液中葡萄糖浓度; d为多糖稀释因素; f为葡萄糖换算多糖的换算因素; m为笃斯越桔叶片粉末质量。

### 1.4 笃斯越桔叶片多糖的研究方法

#### 1.4.1 超声料液比对笃斯越桔叶片多糖得率的影响

在超声功率为200W、常温、超声处理时间15min的试验条件下, 对比分析超声料液比依次为1:10、1:20、1:30、1:40、1:50五种试验条件下笃斯越桔叶片多糖得率, 以确定适宜的料液比范围。

#### 1.4.2 超声功率对笃斯越桔叶片多糖得率的影响

在常温、超声处理时间15min, 适宜料液比的试验条件下, 对比分析超声功率依次为50、100、200、300、400、600W六种试验条件下笃斯越桔叶片多糖得率, 以确定适宜的超声功率范围。

#### 1.4.3 超声时间对笃斯越桔叶片多糖得率的影响

在常温、适宜超声料液比、适宜超声功率的试验条件下, 对比分析超声时间依次为5、15、25、35、45、55、65、75min八种试验条件下笃斯越桔叶片多糖得率, 以确定适宜的超声时间范围。

#### 1.4.4 超声波辅助水浸提法笃斯越桔叶片多糖工艺的优化方法

在料液比1:30的试验条件下, 利用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计方案(如表1所示), 考察超声时间为5、10、15min, 超声功率为100、200、300W, 水浸提时间为45、75、105min, 水浸提温度为70、80、90℃, 以优化出笃斯越桔叶片多糖最佳浸提参数。

表1  $L_9(3^4)$ 正交设计因素水平表  
Table 1 Factors and levels of  $L_9(3^4)$

水平	因素			
	A 超声时间(min)	B 超声功率(W)	C 水提时间(min)	D 水提温度(℃)
1	5	100	45	70
2	10	200	75	80
3	15	300	105	90

## 2 结果与分析

### 2.1 多糖含量测定标准曲线回归方程

490nm波长处测吸光度, 吸光度-葡萄糖浓度对照数据见表2。以葡萄糖浓度为自变量(x), 490nm处吸光度为变量(y)确定了标准曲线的回归方程为: $y=0.0069x+0.0111$ ,  $R^2=0.998$ 。可以看出标准曲线的线性关系良好。

表2 吸光度-葡萄糖浓度对照数据  
Table 2 Absorbance-glucose concentration data

葡萄糖浓度(mg/ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2
吸光度	0	0.145	0.298	0.421	0.579	0.704	0.816

### 2.2 超声料液比对多糖得率的影响情况

在超声功率为200W、常温、超声处理时间15min

的试验条件下,不同超声料液比对筳斯越桔叶片多糖得率影响情况如图1所示。当料液比为1:30时多糖得率达到峰值,这是因为在一定条件下一定范围内,在料液比很小时,多糖的溶出率受溶解度约束较大,提取率随着加水量的增加而显著增加,不利于多糖的溶出,当料水比达到1:30后,多糖的提取率变化缓慢,可能由于多糖的溶出受溶解度的约束作用变小,因此,超声料液比选择1:30为宜。

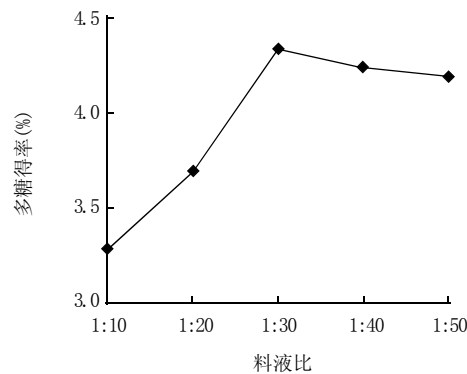


图1 超声料液比对多糖提取率的影响  
Fig.1 Effects of solid-liquid ratio on polysaccharide yield

2.3 超声功率对多糖得率的影响

在常温、超声处理时间15min,适宜料液比的试验条件下,对比分析超声功率依次为50、100、200、300、400、600W六种试验条件下筳斯越桔叶片多糖得率如图2所示。多糖提取率在超声功率50~200W有明显上升趋势,到达300W后直至600W,提取率明显下降。在200W时多糖得率出现峰值,因此,超声功率选择200W为宜。分析原因:超声波的物理剪切力和空化作用可以在短时间内破坏筳斯越桔叶片的细胞结构,促使多糖迅速有效的溶出,功率到达一定数值之后,高功率的作用有可能会破坏多糖的结构,使多糖含量反而降低。

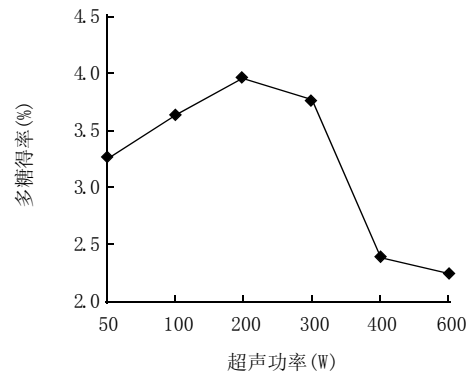


图2 超声功率对多糖提取率的影响  
Fig.2 Effects of supersonic acoustic power on polysaccharide yield

2.4 超声时间对多糖得率的影响

在常温、适宜超声料液比、适宜超声功率的试验条件下,不同超声时间对筳斯越桔叶片多糖得率影响情况由图3所示。在常温下,超声波时间对多糖提取率在45min影响较大,变化较快,在45min后多糖提取率的升高幅度缓慢。因此,超声波时间选在45min内适宜。

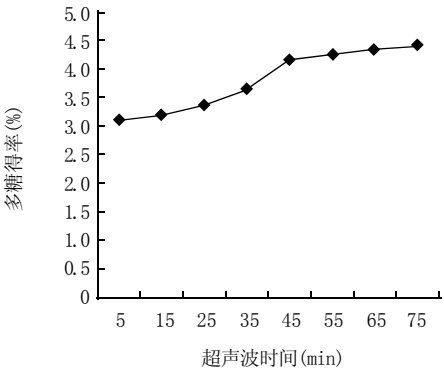


图3 超声时间对多糖提取率的影响  
Fig.3 Effects of ultrasonic wave time on polysaccharide yield

2.5 正交试验结果与分析

在料液比1:30试验条件下,  $L_9(3^4)$  正交试验与分析结果见表3, 方差分析结果如表4所示。从表3极差分析知,影响筳斯越桔叶片多糖得率的主次因素顺序如下:  $D > A > B > C$ , 得出最优方案为  $A_3B_2C_2D_3$ , 即超声时间为15min, 超声功率为200W, 水浸提时间为

表3 超声波辅助水浸提  $L_9(3^4)$  正交试验与分析结果  
Table 3 Orthogonal test and results

试验号	因 素				多糖得率 (%)
	A 超声时间 (min)	B 超声功率 (W)	C 水浸提时间 (min)	D 水浸提温度 (℃)	
1	1	1	1	1	4.56
2	1	2	2	2	5.35
3	1	3	3	3	6.07
4	2	1	2	3	6.03
5	2	2	3	1	4.76
6	2	3	1	2	5.09
7	3	1	3	2	5.38
8	3	2	1	3	6.25
9	3	3	2	1	4.86
$K_1$	15.98	15.97	15.9	14.18	$T_{总}=48.35$
$K_2$	15.88	16.36	16.24	15.82	
$K_3$	16.49	16.02	16.21	18.35	
$k_1$	5.33	5.32	5.30	4.73	
$k_2$	5.29	5.45	5.41	5.27	
$k_3$	5.50	5.34	5.40	6.12	
R	0.20	0.13	0.11	1.39	
优水平	$A_3$	$B_2$	$C_2$	$D_3$	
主次因素	$D > A > B > C$				
最优组合	$A_3B_2C_2D_3$				

# 大豆胚芽油的超临界 CO<sub>2</sub> 萃取研究

宋玉卿<sup>1</sup>, 于殿宇<sup>2,\*</sup>, 张晓红<sup>2</sup>, 张智<sup>2</sup>

(1. 吉林工商学院, 吉林 长春

130062 2. 东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨

150030)

**摘 要:** 通过超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取大豆胚芽油的实验, 探讨了萃取压力、萃取温度、萃取时间和 CO<sub>2</sub> 流量对大豆胚芽油萃取率的影响。结果表明, 最适宜的萃取条件为萃取压力 30MPa、萃取温度 45℃、萃取时间 120min、CO<sub>2</sub> 流量 25kg/h, 在此条件下萃取率为 91.38%; 超临界 CO<sub>2</sub> 法得到的大豆胚芽油不饱和脂肪酸含量为 84.2%, 其中亚麻酸和亚油酸占 74%, 碘值为 152gI/100g。

**关键词:** 大豆胚芽油; 超临界 CO<sub>2</sub> 流体; 萃取

## Study on Extraction of Soy Germ Oil with Supercritical Carbon Dioxide

SONG Yu-qing<sup>1</sup>, YU Dian-yu<sup>2,\*</sup>, ZHANG Xiao-hong<sup>2</sup>, ZHANG-Zhi<sup>2</sup>

(1. Jilin College of Industry and Business, Changchun 130062, China;

2. College of Food Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** Clearly demonstrated the principal factors affecting the extraction of soy germ oil with supercritical CO<sub>2</sub> fluid. These were extracting pressure, extracting temperature, extracting period, and CO<sub>2</sub> flowing rate. The results showed that satisfactory extracting conditions: extracting pressure of 30 MPa, extracting temperature of 45 °C for 120 minutes at CO<sub>2</sub> flowing rate of 25 kg/h. Under these conditions, the yield of soy germ oil reached 91.38%. At the same time we analyzed the Compositions on extracting of soy germ oil with supercritical carbon dioxide. Supercritical carbon dioxide method got the unsaturated fatty acid

收稿日期 2007-07-26

\*通讯作者

基金项目: 黑龙江省科技攻关计划项目(GA06B402-7)

作者简介: 宋玉卿(1964-), 女, 副教授, 主要从事油脂工程研究。

表4 方差分析表

Table 4 Results of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	均方和	F 比	显著性水平 $\alpha$
A	0.071	2	0.0355	1.5	—
B	0.03	2	0.015	0.22	—
D	2.942	2	1.471	53.88	0.05
误差	0.024	2	0.012	—	—
总和	48.35				

$F_{0.05}(2, 2)=19.00$

75min, 水浸提温度为 90℃。由表 4 方差分析结果可知, 水浸提温度(℃)因素最显著, 显著性水平  $\alpha$  达到 0.05。

由于此最佳试验组合未出现在九次试验方案中, 经验证后多糖得率为 7.96%。

### 3 结 论

3.1 在料液比 1:30 的实验条件下, 超声波辅助水浸提工艺的最佳条件为超声时间 15min, 超声功率为 200W, 水浸提温度为 90℃, 水浸提时间为 75min。

3.2 在此工艺条件下多糖的提取率为 7.96%, 总的提取时间是 90min, 而在传统水浸提最佳技术参数下提取率为 12.46% 所需 8h 相比, 可以实现较短时间内获得较高的提取效率, 超声波辅助水浸提莺斯越桔叶片多糖是一种节能、省时的方法。

### 参考文献:

- [1] 陈朝银, 食品多糖的研究和开发[J]. 食品与机械, 1994, 44(6): 15-16.
- [2] 张昌君, 原方圆, 邵红兵. 超声波法在提取多糖类化合物中的应用研究[J]. 化工时刊, 2007, 21(2): 54-56.
- [3] 邓君. 牛膝多糖的提取工艺及抗衰老活性成分研究[D]. 重庆: 西南师范大学, 2001.
- [4] 张青, 张天民. 苯酚-硫酸比色法测定多糖含量[J]. 山东食品科技, 2004(7): 17-18.
- [5] 张桂, 赵国群. 超声波萃取植物多糖的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 302-304.
- [6] 鲁建江, 王莉, 顾承志, 等. 板蓝根多糖的提取及含量测定[J]. 广东药学, 2001, 11(4): 16-18.