

微波辅助提取松仁多糖的工艺研究

王振宇^{1,2}, 孙芳¹, 刘荣¹

(1.东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040; 2.哈尔滨工业大学食品科学与遗传工程研究院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要:采用单因素实验和正交实验,进行了微波辅助提取松仁多糖的研究,得到了微波辅助提取松仁多糖的最佳工艺条件:料液比为1:15,微波功率为320W,微波处理时间为5min,浸泡时间为60min。在此工艺条件下,多糖提取率为6.01%。与直接加热提取法进行比较,结果表明,微波辅助提取能大大缩短萃取时间,降低提取剂用量,并能提高松仁多糖产率。

关键词:松仁多糖,微波辅助提取,正交实验

Abstract: Microwave-assisted extraction (MAE) of pine seed polysaccharides was studied by using single factor experiment and orthogonal method. It was concluded that the optimal condition of extraction is microwave treatment for 5min at power of 320W after marinated 60min, the mass ratio of material to water being 1:15. Under this condition, the yield of polysaccharides is 6.01%. Compared with direct-heating extraction MAE can shorten the extraction time, reduce the consumption of solvent and improve yield of pine seed polysaccharides.

Key words: pine seed polysaccharides; microwave-assisted extraction(MAE); orthogonal test

中图分类号: TS255.1 文献标识码: A
文章编号: 1002-0306(2006)09-0133-04

松仁,又名松子仁,海松子,是松科植物华山松、红松所结的种子,主产于我国东北的山林地区^[1]。多糖作为松仁的主要成分之一,具有多种免疫药理活性,对造血系统有明显作用,对抗肿瘤、抗辐射损伤也显示较好的疗效。微波辅助提取技术(MAE)具有穿透力强、选择性高、加热效率高等等优点,是天然产物提取中一种非常有发展潜力的新型技术。微波辐射(MWI)可以大大加快反应速度(最高达1240倍),反应

时间以分、秒计,比常规提取法用时短^[2,3]。近年研究表明,将微波技术应用于植物细胞破壁,可有效地提高收率^[4],是一种新兴的提取技术。本文用微波辅助提取松仁多糖,重点考察了料液比、微波功率、微波处理时间以及浸泡时间等因素对多糖提取效果的影响,并与传统的热水浸提法进行了比较。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

松仁 市售一级;乙醇、氢氧化钠、盐酸、葡萄糖、蒽酮、硫酸、丙酮、乙醚、三氯乙酸等 均为国产分析纯试剂。

超临界萃取装置 江苏,756紫外可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;FA25型高剪切力分散乳化机 上海弗鲁克流体机械制造有限公司;WD700型LG微波炉 天津乐津电子有限公司;冷冻干燥机,鼓风干燥箱,高速万能粉碎机,恒温水浴锅,离心机,恒速搅拌器等。

1.2 实验方法

1.2.1 原料预处理 松仁粉碎后,用超临界萃取装置除去大部分油脂,以丙酮为溶剂再次回流除脂,低温烘干,粉碎备用。

1.2.2 微波浸提工艺 每个处理称取2g松仁粉,置于试管中,按一定料液比加入蒸馏水,微波处理,离心,测定提取液中多糖的含量。

1.2.3 热水浸提法^[5] 称取10g松仁粉,加入200mL蒸馏水,均质乳化后,90℃恒温浸提2h,离心,测定提取液中多糖的含量。

1.2.4 多糖含量测定方法 本实验采用蒽酮-硫酸法^[6]测定提取液中多糖含量。

1.2.4.1 标准曲线的制作 精确称取恒重的葡萄糖

收稿日期:2006-01-05

作者简介:王振宇(1957-),男,教授,博士生导师,主要从事植物资源有效成分功能机理研究及其产品开发。

基金项目:黑龙江省博士后基金;东北林业大学创新基金。

0.0025g,定容至 25mL,分别吸取 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.6、0.8mL,各以蒸馏水补至 1.0mL,置于冰浴中,然后加入 4.0mL 萘酮溶液(0.2g 萘酮溶于 100mL80%的硫酸中),沸水中水浴 10min,室温冷却后,以蒸馏水为空白,在 620nm 波长处测定吸光度。所得的标准曲线回归方程为: $Y=0.0135X+0.0006$, 相关系数 $R=0.9992$, 其中, Y : 吸光度; X : 葡萄糖含量(μg)。

1.2.4.2 样品测定 吸取除蛋白的多糖提取液 1mL,定容至 100mL。取定容液 1mL,按上述步骤操作测定吸光度,以标准曲线回归方程计算多糖含量。

1.2.5 微波辅助提取茶叶多糖的单因素实验 微波提取工艺的优化主要包括微波输出功率、处理时间、液固比和浸泡时间的选择^[7,8]。针对这几个因素,分别在保持其它因素相同的条件下进行单因素实验,考察各因素对提取率的影响,选择最佳的提取工艺条件。

1.2.6 微波法提取条件的优化 在单因素考察的基础上,用正交实验对影响提取的因素进行优化,见表 1。

表 1 正交实验水平表

水平	A 料液比	B 功率 (W)	C 处理时间 (min)	D 浸提时间 (min)
1	1:5	320	1	45
2	1:10	480	3	60
3	1:15	640	5	75

称取相同质量的松仁粉 9 份,分置于 9 个烧杯中,按照正交实验设计调整微波功率、处理时间、液固比及浸提时间,操作步骤同 1.2.2。

2 结果与讨论

2.1 微波辅助提取多糖的单因素考察

2.1.1 微波功率 称取 2g 松仁粉,加入 20mL 蒸馏水,浸泡 30min,以不同功率的微波辅助提取 4min,测定提取液的糖含量。选取功率为 160、320、480、640、800W,结果见图 1。

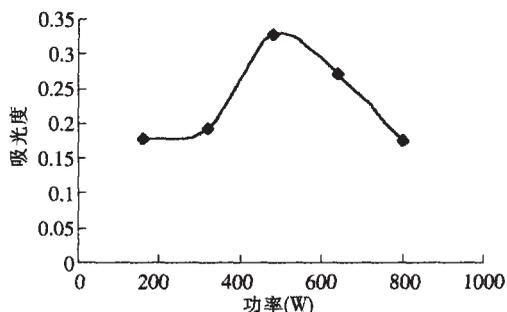


图 1 微波功率对多糖提取率的影响

从图 1 可知,多糖提取率随着功率的增大逐渐增加,480 W 时效果最好,而后,随着微波功率的增加,萃取液沸腾剧烈,甚至出现萃取液从冷凝管溢出现象,导致多糖产率降低。所以,选择微波功率 480W 左右为宜。

2.1.2 微波处理时间 称取 2g 松仁粉,加入 20mL

蒸馏水,浸泡 30min,按照不同的提取时间,以 480W 的微波辅助提取,测定提取液的糖含量。选取时间为 2、3、4、5、6、7min,结果见图 2。

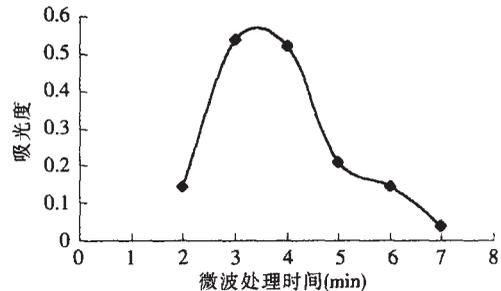


图 2 微波处理时间对多糖提取率的影响

从图 2 可知,多糖提取率随着时间的延长逐渐增加,3~4min 时效果最好,而后,随着处理时间的延长,多糖的提取率反而降低。这是由于微波辐射在短时间内对细胞膜的破碎作用比较大,溶出物多,所以产率上升较快。但当溶解度达到饱和时,有效成分不再被溶解,产率也就不再有明显提高。随着微波辐射时间的延长,细胞膜进一步破裂,溶解的杂质也会相应增多。而且微波沸腾时间太长,水蒸汽蒸发过量,物料太干,导致传质困难。所以,微波辐射时间不宜过长。根据实验结果,选择每次提取 10min 左右为宜。有文献[9]报道,采用间歇微波处理来延长提取时间,有效地提高了多糖的提取率。

2.1.3 液固比 称取 2g 松仁粉,按照不同液固比加入蒸馏水,浸泡 30min,以 480W 的微波提取 4min,测定提取液的糖含量。选取的液固比为 6:1,8:1,10:1,12:1。实验结果见图 3。

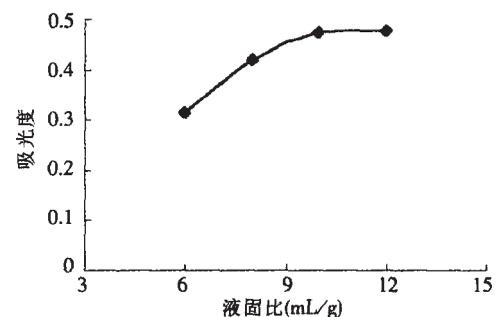


图 3 液固比对多糖提取率的影响

由图 3 可知,溶剂用量对多糖提取率的影响也很明显。随提取溶剂的增加,多糖提取率增加较为明显;当提取溶剂达到 10 倍以上时,提取率变化不明显。溶剂用量的影响,其原因可能在于溶剂用量影响有效成分浸出液的浓度,从而影响到原料内部与外部之间成分的扩散过程。但是,随着溶剂用量的增加,浓缩的困难增加。根据本实验结果,液固比宜选择 10:1。

2.1.4 浸泡时间 称取 2g 松仁粉,加入 20mL 蒸馏水,浸泡不同时间后,以 480 W 的微波提取 4min,测

定提取液的糖含量。选取的浸泡时间为 10、20、30、40、50、60、70min, 结果见图 4。

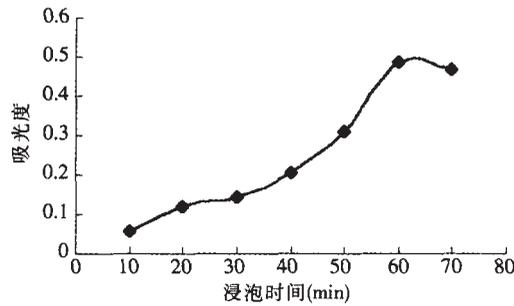


图 4 浸泡时间对多糖提取率的影响

由图 4 可知, 随浸泡时间的增加, 多糖提取率增加较为明显; 浸泡 60min 提取率最高, 而浸泡 70min 时, 提取率变化不大。因此, 浸泡时间宜选择为 60min。

2.2 微波辅助提取条件的优化

对正交实验的结果进行了直观分析和方差分析^[10], 结果见表 2、表 3。

表 2 正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	D	糖含量(%)
1	1	1	1	1	2.84
2	1	2	2	2	1.62
3	1	3	3	3	1.50
4	2	1	2	3	4.58
5	2	2	3	1	3.07
6	2	3	1	2	3.44
7	3	1	3	2	6.83
8	3	2	1	3	2.32
9	3	3	2	1	5.03
K ₁	5.96	14.25	8.60	10.94	
K ₂	11.09	7.01	11.23	11.89	
K ₃	14.18	9.97	11.40	8.40	
k ₁	1.99	4.75	2.87	3.65	
k ₂	3.70	2.34	3.74	3.96	
k ₃	4.73	3.32	3.80	2.80	
R	2.74	2.41	0.93	1.16	

由表 2 的直观分析可以看出, 四个因素对多糖提取含量的影响为 A>B>D>C。最佳工艺组合为 A₃B₁D₂C₃, 即液固比为 1:15, 微波功率为 320W, 处理时间为 5min, 浸泡时间为 60min。在此工艺条件下, 多糖得率为 6.01%。

表 3 正交实验方差分析表

来源	离差平方和(S)	自由度(f)	平均离差平方和(S ²)	F 值	p 值
A	11.49	2	7.41	9.04	**
B	8.83	2	4.42	5.39	*
e(误差)	3.81	4	0.95	1.33	
总和	24.13				

注 F_{0.10}(2, 4)=4.32 F_{0.05}(2, 4)=6.94 F_{0.01}(2, 4)=18.00。

从表 3 的方差分析可以看出, 液固比对多糖提取率有显著的影响, 其次是微波功率, 微波处理时间

和浸泡时间对多糖的提取率无显著影响。

2.3 热水浸提法

按照 1.2.3 的方法进行提取, 测得提取液的糖含量为 5.92%。

2.4 微波辅助提取法和热水浸提法的比较

微波辅助提取与热水浸提法相比较, 结果见表 4。

表 4 微波辅助提取与热水浸提法结果的对比

浸提方法	溶剂用量 (mL/g)	提取时间 (min)	多糖提取率(%)
热水浸提法	20	120	5.92
微波辅助提取法	15	65	6.01

由表 4 可知, 微波辅助提取比热水浸提的效率高出得多, 不仅溶剂用量省, 提取时间缩短了一半左右, 而且多糖产率也比热水浸提法高。该技术能够提高提取效率主要是由微波加热的特殊性质决定的。从细胞破碎的角度看, 微波加热方式将导致细胞内的极性物质, 尤其是水分子, 吸收微波能后形成大量的热量, 使得细胞内部温度迅速上升, 液态水分汽化产生的压力将使细胞膜和细胞壁急剧破裂, 形成微小的孔洞, 持续的迅速加热, 将导致细胞急剧收缩, 表面出现裂纹。细胞膜和细胞壁上孔洞和裂纹的存在使细胞外溶剂容易进入细胞内, 溶解并释放出胞内产物。本实验中所采用的微波提取法, 与水提法有机地结合在一起, 明显提高了多糖提取率。

3 结论

经优化实验, 微波辅助提取茶叶多糖的条件为: 料液比为 1:15, 微波功率为 320W, 微波处理时间为 5min, 浸泡时间为 60min。其中, 料液比和微波功率对多糖提取率有较为显著的影响。与传统的热水浸提法相比较, 微波辅助提取技术的最大优点是提高提取率、节省时间, 同时它还具有成本低、投资少的优点, 在工业化提取植物有效成分方面具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 冯彦博, 等. 松仁的营养价值及其深加工[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(4): 86.
- [2] Ganzler K, Salgo A, Valko K. Microwave extraction—a novel sample preparation method for chromatography[J]. Journal of chromatography, 1986, 371:299~306.
- [3] 曾昭钧, 李香文. 微波有机化学进展[J]. 沈阳药科大学学报, 1999, 16(4):304.
- [4] 张代佳, 刘传斌, 修志龙, 等. 微波技术在植物胞内有效成分提取中的应用[J]. 中草药, 2000, 31(9):附 5~6.
- [5] 李巧云, 居红芳, 翟春. 五味子粗多糖提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2004, 25 (5):105~109.

(下转第 139 页)

表8 pH多重比较

B因素	B ₃	B ₄	B ₁	B ₂
\bar{x}_i	6.6083	6.1333	6.0167	5.2333
显著性(5%)	a	ab	b	c

表9 Zn(CH₃COO)₂浓度多重比较

C因素	C ₄	C ₂	C ₃	C ₁
\bar{x}_i	6.4500	6.0250	5.8917	5.6250
显著性(5%)	a	ab	ab	b

表10 CuSO₄浓度多重比较

D因素	D ₁	D ₂	D ₄	D ₃
\bar{x}_i	6.4583	6.2833	5.6833	5.5667
显著性(5%)	a	a	b	b

表11 护绿时间多重比较

E因素	E ₁	E ₂	E ₄	E ₃
\bar{x}_i	6.6667	6.2917	5.6000	5.4333
显著性(5%)	a	a	b	b

量元素,且极限摄入量较高,所以选择浓度较大的水平,确定 Zn(CH₃COO)₂ 浓度为 200mg/kg。

2.2.4 CuSO₄ 浓度多重比较 从表 10 可以看出, CuSO₄ 浓度的较好取值为第一水平,即 50mg/kg,且 CuSO₄ 浓度取第一水平和第二水平时护绿效果差别不显著。Cu²⁺ 为人体限量元素,在食品中的添加量有严格的限制,在保证较好的护绿效果的同时,应尽量减少 CuSO₄ 用量,最终选择 CuSO₄ 浓度为 50mg/kg。

2.2.5 护绿时间多重比较 由表 11 可知,护绿时间为第一水平 8h 时,色泽评分均值较大,效果较好,护绿时间为 8h 和 12h 时,护绿效果的差别不显著。由于长时间浸泡会导致可溶性营养成分溶解在水中,造成营养成分的过度流失,所以选择护绿效果较好且浸泡时间较短的取值水平,确定护绿时间为 8h。

3 结论

本研究最终确定真空冷冻干燥绿芦笋加工中较好的漂烫工艺条件为:切分长度 5~6cm、漂烫温度 85~95℃、漂烫时间 3.5~4min;较好的护绿工艺条件为:Na₂CO₃ 溶液浓度 0.3mol/L、浸泡时间 40s、护绿剂 pH7.5、Zn(CH₃COO)₂ 浓度 200mg/kg、CuSO₄ 浓度

50mg/kg、浸泡时间 8h。

4 讨论

4.1 利用护绿剂对绿芦笋进行护绿处理时,各种金属离子对叶绿素中 Mg²⁺ 的置换机理相同,但复绿效果却不同,在相同浓度下, Cu²⁺ 的护绿效果比 Zn²⁺ 好^[4],所以本实验选择 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 作为混合护绿剂。国家规定食品中铜的允许限量一般不超过 5~20mg/kg,本研究确定 CuSO₄ 的浓度为 50mg/kg, Cu²⁺ 用量符合国家规定。

4.2 在研究中发现,绿芦笋不同部位的 POD 活性也不相同,一般是基部>中部>笋尖,所以,在进行 POD 活性检测时,应以笋体基部的 POD 彻底失活为标准。

参考文献:

- [1] 马凤桐. 芦笋—高效营养保健型蔬菜[M]. 北京:世界图书出版公司,1994.
- [2] 陈益忠. 绿芦笋的产品开发及市场前景[J]. 农牧产品开发,2001(5):20~22.
- [3] 蒲彬,李先义,刘娅,等. 速冻芦笋的热烫工艺条件研究[J]. 食品与机械,2003(3):6~8.
- [4] 焦凌梅,袁唯. 绿色蔬菜加工护绿技术的研究及进展[J]. 保鲜与加工,2004,4(1):11~14.
- [5] 薛志勇. 影响果蔬干制品质量的主要因素[J]. 食品与药品,2005,7(2A):52~54.
- [6] M H Lau, J Tang, B G Swanson. Kinetics of textural and color changes in green asparagus during thermal treatments[J]. Journal of Food Engineering,2000,45:231~236.
- [7] 王钦德,杨坚. 食品实验设计与统计分析[M]. 北京:中国农业大学出版社,2003.
- [8] 沈卫荣,韩丽萍,江莹,等. 乳酸盐护色剂在绿芦笋护色保鲜工艺中的应用[J]. 陕西农业科学,2003(4):8~9.
- [9] 徐艳阳,张愨,孙金才. 真空冷冻干燥毛竹笋的实验研究[J]. 食品工业科技,2005(2):99~101.
- [10] 张德权,艾启俊. 蔬菜深加工新技术[M]. 北京:化学工业出版社,2002.
- [11] 大连轻工业学院等八大院校编. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,2002.

(上接第 135 页)

- [6] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术(第二版)[M]. 杭州:浙江大学出版社,1999.12~13.
- [7] 王立娟,李坚,张丽君. 微波法提取槐米中芦丁的工艺条件[J]. 东北林业大学学报,2003,31(3):36~37.
- [8] 刘依,韩鲁佳. 微波技术在板蓝根多糖提取中的应用[J]. 中国

农业大学学报,2002,7(2):27~30.

- [9] 江河源,蒋迎. 茶叶多糖的微波辅助提取技术研究[J]. 食品科技,2003(10):17~19.
- [10] 郑少华,姜奉华. 实验设计与数据处理[M]. 北京:中国建材工业出版社,2004.3.67~102.