

花生粕多糖提取方法的比较和提取条件的优化^{*}

高思思,高航,徐虹

(北京工商大学,北京市食品添加剂工程技术研究中心,食品营养与人类健康北京高精尖创新中心,北京,100048)

摘 要 通过单因素实验,利用热水浸提法和微波辅助提取法从花生粕中提取多糖,分别研究了料液比、提取时间、提取温度或料液比、微波时间、微波功率对花生粕多糖提取率的影响,并运用 $L_9(3^4)$ 正交实验对微波辅助提取法的提取条件进行优化。结果表明:热水浸提法的提取条件为料液比 1:40 (g:mL)、提取时间 120 min、提取温度 100 ℃;而微波辅助提取法适宜的提取条件为料液比 1:25 (g:mL)、微波时间 2 min、微波功率 300 W,其中微波功率是最主要的影响因素,其次是提取时间,料液比影响最小。

关键词 花生粕;多糖;热水浸提;微波辅助;提取;正交实验

花生,原名落花生,是亚洲、非洲等大部分地区的重要作物之一^[1]。花生粕是脱壳花生果经榨油后的副产物。花生粕呈淡褐色或深褐色,有淡淡的花生香味,形状为小块或粉状。花生饼粕富含多种功效成分,如糖类、黄酮类、氨基酸、蛋白质、鞣质、三萜或甾体类化合物和一些人体必需的微量元素等^[2],其中糖类物质是花生粕的第二大功效成分,其含量在 30% 左右。现代研究表明,多糖具有抗氧化、保护肝脏、降血糖等生物活性^[3-6]。长期以来,对于花生粕的研究主要集中在花生饼粕蛋白、多肽的制备上,花生饼粕中的多糖等活性物质没有被进一步的深度开发利用^[7-8]。

目前关于多糖的提取方法已有很多,如酸碱提取法^[9-10]、超声辅助提取法^[11]、酶提取法^[12]等,但均存在不同的缺点,如酸碱提取法易破坏多糖结构且易造成酸碱残留,超声辅助提取法由于超声波的空化作用和机械剪切作用可能造成多糖结构的破坏和降解,酶提取法耗时长且成本高。微波提取技术因其快速、高效、安全的特点,已被广泛应用于天然产物的开发研究中。本研究采用传统的热水浸提法和微波辅助提取法提取花生粕多糖并比较了提取效果。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

花生粕,由山东沂蒙山花生油股份有限公司提供。

第一作者:硕士研究生(徐虹教授为通讯作者, E-mail: xuhong@th.btbu.edu.cn)。

^{*}北京市属高等学校创新团队建设与教师职业发展计划项目(IDHT20130506)

收稿日期:2015-03-06,改回日期:2015-06-22

浓 H_2SO_4 (分析纯),购自北京化工厂;苯酚(分析纯),购自国药集团化学试剂公司;葡萄糖(分析纯),购自北京益利精细化学品有限公司。

752N 紫外可见分光光度计,上海精科有限公司;HH-501 超级恒温水浴(数显),常州国华电器有限公司;DHG-9246A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海精密实验设备有限公司;高速冷冻离心机,美国 Sigma 公司;微波催化合成/萃取仪,北京祥鹤科技发展有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺路线

热水浸提法^[13-15]:脱脂花生粕 2 g→热水浸提→10 000 r/min 离心 15 min→取上清液→苯酚-硫酸法测定总糖含量

微波辅助提取法^[16-18]:脱脂花生粕 2 g→加入一定量的蒸馏水→微波处理→10 000 r/min 离心 15 min→取上清液→苯酚-硫酸法测定总糖含量

1.2.2 多糖含量与提取率的计算

1.2.2.1 标准曲线的绘制

精确称取在 105 ℃ 干燥至恒重的葡萄糖标准样品 20 mg 于 500 mL 容量瓶中,得到质量浓度为 40 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液,备用。准确吸取 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 及 1.8 mL 标准溶液,分别加蒸馏水补足到 2.0 mL,然后再分别加入 5% 的苯酚 1 mL,98% 浓 H_2SO_4 5 mL,静置 10 min,摇匀,在室温下放置 20 min。以 0 号管作为空白对照,在 490 nm 处分别测定吸光值,以葡萄糖质量浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制出葡萄糖的标准曲线。得回归方程为 $Y=0.0148x+0.0101$, $R^2=0.9983$,说明葡萄糖在 8~36 μg 内呈良好的线性关系。

1.2.2.2 样品多糖含量的测定

精密吸取 1 mL 样品溶液,采用苯酚-硫酸法,在 490 nm 处测定吸光值,从而利用标准曲线方程计算样品中多糖的含量。多糖提取率用下式计算:

$$\text{多糖提取率}/\% = \frac{\text{上清液多糖含量}}{\text{原料质量}} \times 100$$

1.2.2.3 单因素试验

热水浸提法:分别以料液比、提取时间、提取温度为单因素进行试验,考察各单因素对花生粕多糖提取率的影响。

微波辅助提取法:分别以料液比、微波时间、微波功率为单因素进行试验,考察各单因素对花生粕多糖提取率的影响。

1.2.2.4 微波辅助提取法正交试验设计

选取微波时间(A , min)、微波功率(B , W)、料液比(C , g: mL),做 4 因素 3 水平(L_3^4)的正交试验优化花生粕多糖的提取工艺,实验因素和水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	A	B	C
1	1	300	1:15
2	2	400	1:20
3	3	500	1:25

2 结果与分析

2.1 热水浸提法单因素实验

2.1.1 提取时间对多糖提取率的影响

称取脱脂花生粕 2 g,粉碎过 100 目筛,固定料液质量比为 1:10 (g: mL),温度 90 °C 下分别提取 60、90、120、150、180 min,不同提取时间的花生粕多糖提取率变化如图 1 所示。

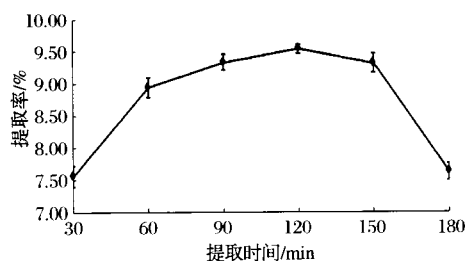


图 1 提取时间对多糖提取率的影响

Fig. 1 Influence of extraction time on the yield of polysaccharide extraction

由图 1 可知,提取时间对花生粕多糖提取率有较大影响。随着提取时间的延长,花生粕多糖的提取率

逐渐增加,在 120 min 时花生粕多糖的提取率达到最大,超过 120 min 后,多糖提取率随着时间的延长逐渐下降。故选择 120 min 作为进一步优化提取条件的浸提时间。

2.1.2 提取温度对多糖提取率的影响

称取脱脂花生粕 2 g,粉碎过 100 目筛,固定料液质量比为 1:10 (g: mL),在温度为 60、70、80、90、100 °C 条件下浸提 120 min,不同提取温度的花生粕多糖提取率变化如图 2 所示。

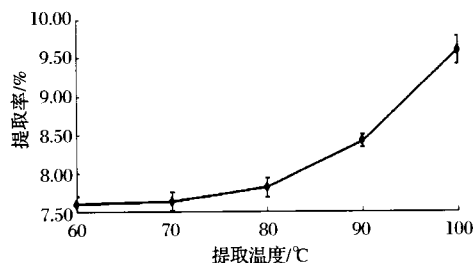


图 2 提取温度对多糖提取率的影响

Fig. 2 Influence of extraction temperature on the yield of polysaccharide extraction

由图 2 可知,在所选的 5 个温度下,随着温度的升高,花生粕多糖的提取率随之提高,其中多糖的提取率从 90 °C 到 100 °C 有非常明显的提高,到达 100 °C 时提取率达到最大。故选择 100 °C 作为进一步优化提取条件的浸提温度,但实际生产中,还要结合生产条件、设备等条件进行选择。

2.1.3 料液比对多糖提取率的影响

称取脱脂花生粕 2 g,粉碎过 100 目筛,料液质量比为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 (g: mL),在温度为 100 °C 条件下浸提 120 min,不同料液比的花生粕多糖提取率变化如图 3 所示。

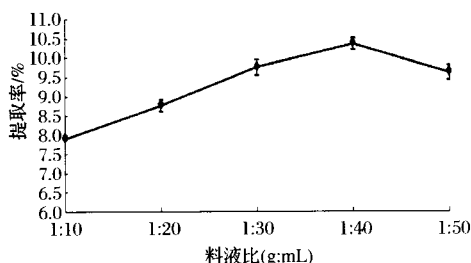


图 3 料液比对多糖提取率的影响

Fig. 3 Influence of solid/liquid ratio on the yield of polysaccharide extraction

由图 3 可知,随着料液比的增加,花生粕多糖的提取率先增大后减少,在 1:40 (g: mL) 处达到最大值,随后增大料液比,多糖的提取率开始缓慢下降,故选择

1:40作为进一步优化提取条件的浸提料液比。

2.2 微波辅助提取法单因素实验

2.2.1 提取时间对多糖提取率的影响

称取脱脂花生粕2 g,粉碎过100目筛,固定料液质量比为1:10(g:mL),功率为400 W下分别提取1、2、3、4、5 min,不同提取时间的花生粕多糖提取率变化如图4所示。

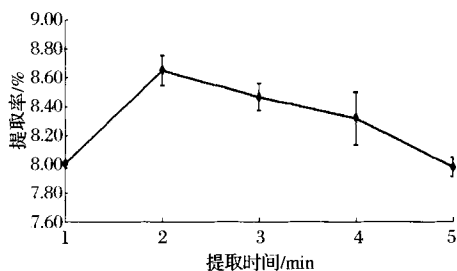


图4 微波辅助提取时间对多糖提取率的影响

Fig. 4 Influence of extraction time on the yield of polysaccharide extraction assisted by microwave

由图4可知,在提取时间为2 min以前,随着提取时间的延长,多糖提取率逐渐升高。但辐射时间超过2 min时,花生粕多糖的提取率反而有所下降,可能是因为微波在短时间内迅速升温,微波时间越长温度越高,过高的温度使部分多糖结构破坏,从而导致提取率下降。故选择2 min作为进一步优化提取条件的最佳提取时间。

2.2.2 微波功率对多糖提取率的影响

称取脱脂花生粕2 g,粉碎过100目筛,固定料液质量比为1:10(g:mL),在功率为200、300、400、500、600 W条件下浸提2 min,不同微波功率的花生粕多糖提取率变化如图5所示。

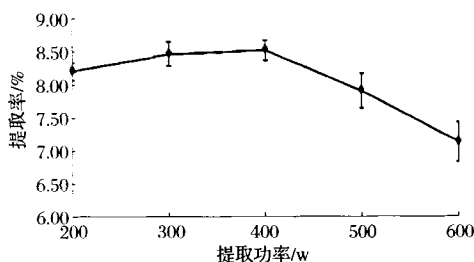


图5 微波功率对多糖提取率的影响

Fig. 5 Influence of microwave power on the yield of polysaccharide extraction

由图5可知,随微波功率提高,花生粕多糖提取率随之提高,当提取功率达到300~400 W时达到最大,经统计学分析,当提取功率分别为300 W和400 W时,所得提取率之间没有显著性差异($P > 0.05$)。但

之后多糖提取率随微波功率的提高而逐渐下降,可能是因为功率过高导致多糖氧化分解。故选择微波功率为300 W作为进一步优化的提取条件的最佳功率。

2.2.3 料液比对多糖提取率的影响

称取脱脂花生粕2 g,粉碎过100目筛,料液质量比为1:10、1:15、1:20、1:25、1:30(g:mL),在功率为400 W条件下辐射2 min,不同料液比的花生粕多糖提取率变化如图6所示。

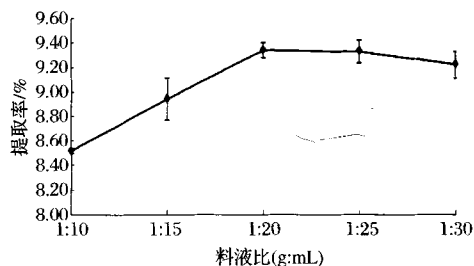


图6 微波辅助料液比对多糖提取率的影响

Fig. 6 Influence of solid/liquid ratio on the yield of polysaccharide extraction assisted by microwave

由图6可知,随着料液比提高,花生粕多糖提取率随之提高,当料液比达到1:20(g:mL)时达到最大,之后再提高料液比,多糖提取率提高不显著,可能是因为多糖的溶出率已达到平衡,再增加提取液的量,溶出率也不会增加。故选择1:20作为进一步优化提取条件的最佳料液比。

2.3 微波辅助提取法正交试验结果与分析

为了确定在提取过程中各因素的影响大小,本研究对微波辅助提取法提取花生粕多糖的3个单因素即提取时间(A)、微波功率(B)、料液比(C)进行正交试验,并以多糖提取率作为提取工艺的判断依据,正交试验结果见表2。

表2 正交试验结果及极差分析

Table 2 Results of orthogonal test and range analysis

实验号	A	B	C	D	多糖提取率/%
1	1	1	1	1	8.85
2	1	2	2	2	8.76
3	1	3	3	3	8.92
4	2	1	2	3	9.15
5	2	2	3	1	8.90
6	2	3	1	2	8.61
7	3	1	3	2	8.97
8	3	2	1	3	8.40
9	3	3	2	1	7.41
k_1	8.84	8.99	8.62	8.39	
k_2	8.89	8.69	8.44	8.78	
k_3	8.26	8.31	8.93	8.82	
R	1.89	2.04	1.47	1.30	

由表2的极差分析结果显示,3个因素对花生粕多糖的提取率的影响依次为:微波功率(B) > 提取时间(A) > 料液比(C),正交优化的条件为 $A_2B_1C_3$,即提取时间为2 min,微波功率为300 W,料液比为1:25 (g:mL)。

2.4 验证性实验

由于正交实验所确定的最佳条件并未包含在正交表的9个实验中,为了进一步确认结果,按微波法提取花生粕多糖的最佳工艺条件 $A_2B_1C_3$,即提取时间为2 min,微波功率为300 W,料液比为1:25 (g:mL)的条件下分别进行重复性试验3次,进行验证,结果见表3。

表3 验证实验结果

Table 3 Verification testing results

实验号	多糖提取率/%	平均值/%	RSD 值/%
1	9.96	9.93	0.03
2	9.90		
3	9.94		

由表3可知,在此工艺条件下,多糖平均提取率为 $(9.93 \pm 0.03)\%$,优于正交实验中任何一组。验证实验结果表明,最佳提取工艺条件为 $A_2B_1C_3$ 。

2.5 两种提取方法比较

同法采用常规热水浸提法得出花生粕多糖的最佳提取条件为料液比为1:40 (g:mL),提取时间为120 min,提取温度为100 ℃,花生粕多糖提取率平均值为10.35%;微波辅助提取法最佳提取条件为料液比为1:25 (g:mL),提取时间为2 min,微波功率为300 W,花生粕多糖提取率平均值为9.93%。两种提取方法比较见表4。

表4 热水浸提法与微波辅助提取法效率比较

Table 5 Comparison of the extraction efficiency among the hot water method and the microwave-assisted method

提取方法	时间/min	温度/℃	料液比	多糖提取率/%	显著性
热水浸提	120	100	1:40	10.35 ± 0.14	$P < 0.05$
微波辅助	2	-	1:25	9.93 ± 0.03	

由表4可知,热水浸提法花生粕多糖的提取率为10.35%,微波辅助提取多糖的提取率为9.93%。与传统高温热水浸提的方法相比较,微波辅助法的花生粕多糖提取率虽比传统高温热水浸提法降低了0.42%,但采用微波辅助强化提取花生粕多糖的方法明显地缩短了提取时间,减小了料液比。所以,微波辅助方法具有迅速、节能的特点,是强化辅助提取多

糖的较好方法。

3 结论

本试验采用热水浸提法和微波辅助提取法提取花生粕多糖,并对花生粕多糖的提取工艺进行了优化。热水浸提法的最佳工艺条件为:料液比为1:40 (g:mL)、提取时间为120 min、提取温度为100 ℃,多糖的提取率为10.35%;而微波辅助提取法适宜的提取条件为料液比为1:25 (g:mL)、微波时间为2 min、微波功率为300 W,多糖提取率的平均值为9.93%。

本研究所用的微波辅助提取法提取花生粕多糖的提取率为9.93%,较文献报道的超声波法^[19]、酶法^[20]的提取率有了一定的提高,且超声波法因设备价格高等原因,使其在工业化生产上具有一定的局限性,酶法的效果受温度、pH、底物浓度、抑制剂等因素的限制,且耗时长、成本高,而微波法辅助提取花生粕多糖具有短时高效的特点,故微波辅助提取法是强化辅助提取多糖的较好方法,可为进一步研究多糖结构和生理功能奠定基础。

参 考 文 献

- [1] 周瑞宝. 花生加工技术[M]. 北京:化学工业出版社, 2002:134.
- [2] 梅娜,周文明,胡晓玉,等. 花生粕营养成分分析[J]. 西北农业学报,2007,16(3):96-99.
- [3] 何余堂,潘孝明. 植物多糖的结构与活性研究进展[J]. 食品科学,2010,31(17):493-496.
- [4] Bo Jiang, Hongyan Zhang, Changjian Liu et al. Extraction of water-soluble polysaccharide and the antioxidant activity from Ginkgo biloba leaves[J]. Medicinal Chemistry Research, 2010, 19(3):262-270.
- [5] 姚秀芬,程栋,王承明. 花生粗多糖对四氯化碳及酒精所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 食品科学,2011, 32(9):261-265.
- [6] LIU Wei, ZHENG Ying, ZHANG Zhen-zhen et al. Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of Sarcandra glabra polysaccharide in type 2 diabetic mice[J]. Food & function, 2014, 5(11):2850-2860.
- [7] 王莹,王瑛瑶,刘建学,等. 低温花生粕蛋白制备及其饮料稳定性分析[J]. 食品科学,2014,35(20):26-30.
- [8] 明强强. 微生物固态发酵花生粕制备抗氧化肽的研究[D]. 济南:山东师范大学,2014.
- [9] 任初杰,姚华杰,王承明,等. 酸提花生粕多糖工艺研究[J]. 食品科学,2007,28(9):128-132.
- [10] 任初杰,高丽,王承明,等. 碱提花生粕水溶性多糖工艺

- 研究[J]. 农业工程学报, 2008(7): 251 - 254.
- [11] 杨卫, 王承明. 超声水提花生粕多糖工艺的研究[J]. 中国油脂, 2010, (2): 60 - 63.
- [12] 刘洁, 杜方岭, 王文亮, 等. 纤维素酶法提取花生粕中多糖的研究[J]. 中国酿造, 2011(11): 30 - 33.
- [13] 韩冰, 李全宏. 花生多糖的提取工艺优化及抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2010(12): 54 - 58.
- [14] ZHANG Z F, LV G Y, JIANG X et al. Extraction optimization and biological properties of a polysaccharide isolated from *Gleostereum incarnatum*[J]. Carbohydrate polymers, 2015, 117: 185 - 191.
- [15] 姜楠, 刘红芝, 刘丽, 等. 花生粕多糖热水提取工艺优化[J]. 中国食品学报, 2014, 14(6): 97 - 103.
- [16] 吴琼, 代永刚, 邹险峰, 等. 正交试验优化微波辅助提取人参根茎和人参须多糖[J]. 食品科学, 2012, 33(24): 156 - 159.
- [17] 徐虹, 朱雨薇, 曹杨, 等. 莲子红皮多糖提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2011(2): 266 - 268.
- [18] 谢建华, 庞杰, 李志明, 等. 微波辅助提取双孢蘑菇柄中多糖的工艺研究[J]. 北京工商大学学报(自然科学版), 2011(5): 30 - 35.
- [19] 杨卫, 王承明. 超声水提花生粕多糖工艺的研究[J]. 中国油脂, 2010(2): 60 - 63.
- [20] 刘洁, 杜方岭, 王文亮, 等. 纤维素酶法提取花生粕中多糖的研究[J]. 中国酿造, 2011(11): 30 - 33.

Comparison of extraction methods of polysaccharide from peanut meal and optimization of its extraction

GAO Si-si, GAO Hang, XU Hong

(Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives,
Beijing Innovation Centre of Food Nutrition and Human Health, Beijing 100048, China)

ABSTRACT Using single factor experiment, polysaccharide was extracted from peanut meal by hot water extraction and microwave-assisted extraction. The factors such as solid/liquid ratio, extraction time, extraction temperature or solid/liquid ratio, microwave time, microwave power on the extraction rate of polysaccharide from peanut meal were investigated, and the extraction conditions of the microwave-assisted extraction were optimized with $L_9(3^4)$ orthogonal experiment. The results showed that the optimal conditions for hot water extraction were 1:40 (g/mL) of solid/liquid ratio, 120 min of extraction at 100 °C; and the optimal conditions for microwave-assisted extraction were: 11:25 (g/mL) of solid/liquid ratio, 2 min extraction at 300 W. Microwave power is the main factor to influence polysaccharide extraction rate, followed by extraction time and solid/liquid ratio.

Key words peanut meal; polysaccharides; hot water extraction; microwave assisted; extraction; orthogonal experiment