

正交试验优化南酸枣多糖的提取工艺

李景恩¹, 龚毅², 罗园珍¹

(1. 江西农业大学 食品科学与工程学院, 江西 南昌 330045; 2. 江西正邦科技股份有限公司, 江西 南昌 330096)

摘要: 采用蒸馏水作溶剂从南酸枣果实中提取多糖, 分别以提取温度、提取时间、料液质量体积比和提取次数为主要影响因素, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进行提取工艺优化。结果表明, 影响南酸枣多糖得率的各因素顺序依次为提取温度、提取时间、料液质量体积比及提取次数, 且当提取温度 100 °C, 提取时间 5 h, 料液质量体积比 1 g:40 mL, 提取次数 1 次时, 南酸枣多糖的得率最高可达 21.79%。

关键词: 南酸枣; 多糖; 提取工艺; 优化; 正交试验

中图分类号: TS 201.2 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2018)07—0754—04

Study on Extraction Technology of Polysaccharides from *Choerospondias Axillaris* Fruit by Orthogonal Test

LI Jingen¹, GONG Yi², LUO Yuanzhen¹

(1. College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;

2. Jiangxi Zhengbang Science and Technology Limited Company, Nanchang 330096, China)

Abstract: The polysaccharides from *Choerospondias axillaries* fruit was extracted by distilled water, and the extraction parameters were optimized using $L_9(3^4)$ orthogonal test with extraction temperature, extraction time, solid-liquid ratio and extraction times as main effect factors. The results indicated that the influence order of them was extraction temperatures, extraction time, solid-liquid ratio and extraction times, respectively. And when the polysaccharides was extracted at 100 °C for one time, with a extraction time of 5 h and a solid-liquid ratio of 1:40 (g/mL), the yield of polysaccharides was up to 21.79%.

Keywords: *Choerospondias axillaries* fruit, polysaccharides, extraction technology, optimization, orthogonal test

南酸枣属系漆树科檳榔青族植物, 为一单种属, 仅有南酸枣 (*Choerospondias axillaris* (Roxb.) Burt et Hill) 一种, 主要分布在我国湖北、湖南、广

东、广西、福建、云南、浙江、贵州和江西等气候温湿适宜、阳光充足、土壤条件合适的地区。除此之外, 在日本、印度东北部及中南半岛等地也有栽培^[1]。南

收稿日期: 2016-03-24

基金项目: 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ150433); 江西农业大学博士启动项目(9232305199)。

作者简介: 李景恩(1984—), 女, 河北石家庄人, 工学博士, 讲师, 主要从事天然多糖的分离提取、结构鉴定及活性研究。

E-mail: enen928@163.com

引用本文: 李景恩, 龚毅, 罗园珍. 正交试验优化南酸枣多糖的提取工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(07): 754-757.

酸枣其果实为椭圆型或卵型,长 2~3 cm,宽 1.4~2.5 cm。成熟期果实一般为黄色,果肉较酸,有粘液,枣皮具有酸涩味^[2]。

据报道,南酸枣果实中主要含有甾醇、脂类、有机酸、糖类物质、黄酮、氨基酸及多种无机元素等化学成分^[3-4]。另外,国内许多研究表明多糖是枣属植物中一类重要的生物活性物质,不仅在体外可促进小鼠脾细胞增殖^[5-7],增强小鼠腹腔巨噬细胞的细胞毒性^[8-9],同时在体内具有清除自由基^[10]及抗衰老的作用^[11],并且参与细胞间的信号传导过程^[12-14]。

作者以江西赣州产的南酸枣为研究对象,用蒸馏水为溶剂从南酸枣果实中提取多糖,分别以提取温度、提取时间、料液质量体积比和提取次数为主要因素进行正交试验设计,优化其提取工艺,为后续南酸枣多糖的结构分析及药理活性研究提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

南酸枣:采自江西省赣州市崇义县,洗净、去核、烘干、粉碎后备用。

1.2 仪器

METTLER-TOLEDO AL104 型电子天平:瑞士梅特勒-托利多公司产品;Milli-Q 型超纯水制备系统:美国 Millipore 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 南酸枣多糖的提取过程 将南酸枣洗净去核、烘干、粉碎后,按一定料液质量体积比加入蒸馏水,于恒温水浴中浸提一段时间,采用抽滤的方法进行分离,收集提取液。抽滤所得残渣用同样的方法继续浸提几次,合并所有提取液。使用旋转蒸发器将所得提取液浓缩至适当体积,边搅拌边缓慢加入 3 倍体积的无水乙醇,搅拌均匀后静置于 4 ℃ 冰箱中保持 24 h。然后进行离心操作(4 800 r/min, 10 min),其取上清液后,收集下层沉淀部分,依次使用无水乙醇、丙酮、无水乙醚洗涤两次,干燥后得南酸枣多糖,计算其得率。

1.3.2 单因素试验 选择不同温度、提取时间、料液质量体积比及提取时间进行单因素试验,计算南酸枣多糖的得率。

1.3.3 正交试验 结合单因素试验结果,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进行南酸枣多糖提取工艺的优化设

计。选择提取温度(A)、提取时间(B)、料液比(C)和提取次数(D)为主要因素,每个因素选取 3 个水平,分析这些因素对南酸枣多糖得率的影响。每个组合重复操作 3 遍,取其平均值。

1.3.4 验证试验 为检验正交试验所得结果的可靠性,在上述所得优化条件下进行 3 次平行实验,考察其结果的可靠性与重复性。

2 结果与分析

2.1 单因素试验分析

2.1.1 提取温度对南酸枣多糖得率的影响 图 1 表明,当固定提取时间 4 h,料液质量体积比 1 g:50 mL,提取次数为 1 次时,在实验设定温度范围内,提取温度越高,南酸枣多糖得率也越高。当温度升高到 100 ℃ 时,南酸枣多糖得率最高为 20%,因此采用 100 ℃ 作为提取的最适温度。

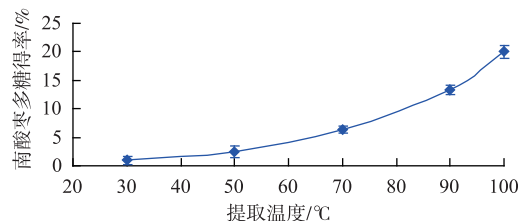


图 1 提取温度对南酸枣多糖得率的影响($n=3$)

Fig. 1 Effect of extraction temperature on the yield of polysaccharides from *Choerospondias axillaries* fruit ($n=3$)

2.1.2 提取时间对南酸枣多糖得率的影响 当固定提取温度 90 ℃,料液质量体积比 1 g:50 mL,提取次数为 1 次时,不同提取时间下南酸枣多糖的得率见图 2。由图可知,当提取时间达到 5 h 时,多糖得率最大,为 16.95%。超过 5 h 之后,南酸枣多糖得率开始下降,可能是因为较高的提取温度和较长的提取时间导致多糖发生部分水解,因此选择 5 h 作为最适提取时间。

2.1.3 料液质量体积比对南酸枣多糖得率的影响 由图 3 可知,当料液质量体积比为 1 g:10 mL 和 1 g:20 mL 时,南酸枣得率并未达到最大值,这可能因为较小的料液质量体积比使得提取溶液过早达到饱和状态,因而多糖无法完全溶出。而当继续提高料液质量体积比为 1 g:50 mL 时,南酸枣多糖得率达到最大值 18.6%。此时若继续增大料液比,多糖得率则无明显增加,因此选择 1 g:50 mL 作为合适的料

液质量体积比。

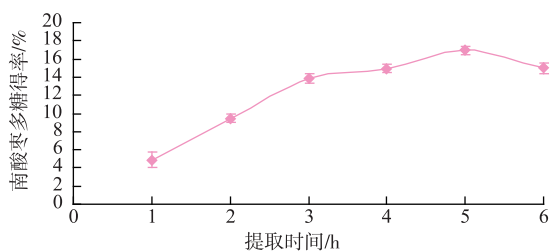


图 2 提取时间对南酸枣多糖得率的影响 ($n=3$)

Fig. 2 Effect of extraction time on the yield of polysaccharides from *Choerospondias axillaris* fruit ($n=3$)

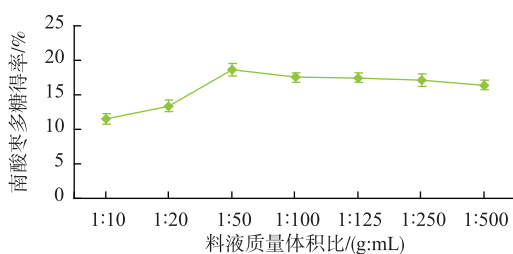


图 3 料液质量体积比对南酸枣多糖得率的影响 ($n=3$)

Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on the yield of polysaccharides from *Choerospondias axillaris* fruit ($n=3$)

2.1.4 提取次数对南酸枣多糖得率的影响 称取原料 2.0 g, 固定提取温度 100 ℃, 提取时间 5 h, 料液质量体积比 1 g:50 mL, 提取次数分别选择 1 次, 2 次, 3 次, 4 次和 5 次, 南酸枣多糖得率的变化情况见图 4。

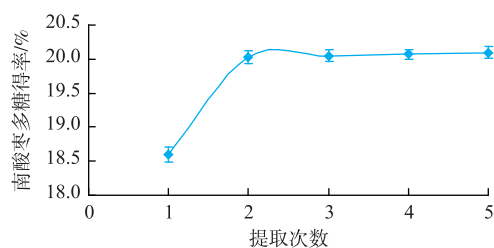


图 4 提取次数对南酸枣多糖得率的影响 ($n=3$)

Fig. 4 Effect of extraction times on the yield of polysaccharides from *Choerospondias axillaris* fruit ($n=3$)

图 4 表明, 提取 2 次比提取 1 次时, 南酸枣多糖的得率更高。但当提取次数大于 2 次时, 多糖得率将不再显著增加, 因此从提取成本、节约能源方面考虑, 选择提取次数 2 次, 此时南酸枣多糖得率

为 20.03%。

2.2 正交试验设计

将提取温度、提取时间、料液质量体积比和提取次数分别标记为字母 A、B、C、D, 进行 4 因素 3 水平的 $L_9(3^4)$ 正交试验设计, 各因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	A/℃	B/h	C/(g:mL)	D
1	80	3	1:20	1
2	90	4	1:40	2
3	100	5	1:60	3

表 2 直观分析结果

Table 2 Intuitive analysis results

序号	A/℃	B/h	C/(g:mL)	D	多糖得率/%
1	80	3	1:20	1	4.46
2	80	4	1:40	2	6.84
3	80	5	1:60	3	10.37
4	90	3	1:40	3	9.09
5	90	4	1:60	1	11.58
6	90	5	1:20	2	7.69
7	100	3	1:60	2	15.53
8	100	4	1:20	3	11.90
9	100	5	1:40	1	21.79
K_1	7.223	9.693	8.017	12.610	-
K_2	9.453	10.107	12.573	10.020	-
K_3	16.407	13.283	12.491	10.453	-
极值(R)	9.184	3.590	4.556	2.590	-

表 3 方差分析结果

Table 3 Variance analysis result

因素	偏差平方和	自由度	F 值	F 临界值	显著性
提取温度	137.655	2	2.583	4.460	
提取时间	23.150	2	0.434	4.460	
料液质量体积比	40.810	2	0.766	4.460	
提取次数	11.547	2	0.217	4.460	
误差	213.16	8			

正交试验直观分析表(表 2)中, K_1, K_2, K_3 分别表示在各因素各水平条件下南酸枣多糖得率的平均值。极差值 R 通过多糖平均得率的最大值与最小值之差计算, 用于反映各因素在不同水平下对多糖得率的影响大小。极差值大的对结果的影响也大, 反之亦然。由直观分析结果(表 2)可知, 提取温度(极值 $R=9.184$) 对南酸枣多糖得率的影响最大, 其

次为料液质量体积比 ($R=4.556$)、提取时间 ($R=3.590$)和提取次数 ($R=2.590$)。结合方差分析结果(表3),最后确定试验结果组合为 $A_3B_3C_2D_1$,即当提取温度 $100\text{ }^\circ\text{C}$,提取时间 5 h ,料液质量体积比 $1\text{ g}:40\text{ mL}$,提取次数 1 次时,南酸枣多糖得率最高,最大值为 21.79% 。

2.3 验证试验

为验证正交试验结果的准确性,按照 2.2 中所得最佳提取条件进行 3 次验证试验,得率分别见表 4。

表 4 验证试验结果

Table 4 Results of the confirmatory experiment

序号	A/ $^\circ\text{C}$	B/h	C/(g:mL)	D	得率/%	平均得率/%
1	100	5	1:40	1	21.02	
2	100	5	1:40	1	20.47	21.46
3	100	5	1:40	1	22.87	

结果表明,3 次平行试验中所得南酸枣多糖的得率分别为 21.02% 、 20.47% 和 22.87% ,平均值为 21.46% ,与表 2 中 9 号试验的结果(21.79%)相差不大,说明应用正交试验法优化南酸枣多糖的提取工艺是可行的。

3 结语

利用单因素试验和正交试验得到南酸枣多糖的最佳提取工艺,即提取温度 $100\text{ }^\circ\text{C}$,提取时间 5 h ,料液质量体积比 $1\text{ g}:40\text{ mL}$,提取次数 1 次,且上述因素中提取温度对多糖得率的影响最大。在此条件下,南酸枣多糖得率可达 21.79% ,说明南酸枣果实中含有丰富的多糖成分。该研究结果不仅为南酸枣多糖的提取工艺提供一定的参考依据,同时也有助于这一天然野生资源得到更好地开发与利用。

参考文献:

- [1] 中国药材公司编著. 中国中药资源志要[M]. 北京:科学出版社,1994.
- [2] CHONG Xiaotao, CHENG Zhanli, YAO Qingqiang. Review on chemical constituents and pharmacological activities of *Choerospondias Burtt et Hill*[J]. **Qilu Pharmaceutical Affairs**, 2008, 27(5):289-291. (in Chinese)
- [3] SHI Runju, DAI Yun, FANG Minfeng, et al. HPLC-ESI-MSⁿ analysis of the water soluble extracts of fructus choerospondiatis[J]. **Journal of Chinese Medicinal Materials**, 2007, 30(3):294-297. (in Chinese)
- [4] LIU Xiaogeng, CHEN Yousheng. Analysis of constituents in *choerospondias axillaries* fruits[J]. **Chinese Wild Plant Resources**, 2000, 19(3):35-40. (in Chinese)
- [5] ZHANG Qing, LEI Linsheng, YANG Shuqin, et al. Effects of neutral jujube date polysaccharide on the proliferation of rat splenocytes[J]. **Academic Journal of First Military Medical University**, 2001, 21(6):426-428. (in Chinese)
- [6] ZHANG Qing, LEI Linsheng, LIN Qinbao, et al. Comparison of the effects of three jujube date polysaccharides on the proliferation of mice spleen lymphocytes [J]. **Academic Journal of First Military Medical University**, 1999, 19(5):398. (in Chinese)
- [7] LI Jinwei, DING Xiaolin. Study on Biological Vitality for *Zizyphus Jujuba* cv. Jinsixiaozao Polysaccharides [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(5):103-106. (in Chinese)
- [8] ZHANG Qing, LEI Linsheng, YANG Shuqin, et al. Effects of jujube date polysaccharide on tumor necrosis factor production and its mRNA expression in peritoneal macrophages in mice[J]. **Academic Journal of First Military Medical University**, 2001, 21(8):592-594. (in Chinese)
- [9] ZHANG Qing, LEI Linsheng, SUN Lisha, et al. Effects of Jujube date polysaccharide on functions of murine peritoneal macrophages in vitro[J]. **Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica**, 1999, 15(3):21-23. (in Chinese)
- [10] LI Xuehua, LONG Shengjing. Extraction of jujube polysaccharide and its effect of cleaning oxygen radical [J]. **Guangxi Sciences**, 2000, 7(1):54-56, 63. (in Chinese)
- [11] MIAO Mingsan, SHENG Jiahe. Morphometry observation of the effect of jujube polysaccharide on the thymus, spleen and brain tissue of aging model mice[J]. **Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica**, 2001, 17(5):18. (in Chinese)
- [12] ZHANG Qing, LEI Linsheng, YANG Shuqin, et al. Effect of neutral jujube date polysaccharide on $[\text{Ca}^{2+}]$ in macrophages of mice [J]. **Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica**, 2001, 17(3):14-17. (in Chinese)
- [13] ZHANG Qing, LEI Linsheng, XU Jun. Jujube date polysaccharide can induce membrane depolarization of murine peritoneal macrophages[J]. **Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica**, 2001, 17(6):22-24. (in Chinese)
- [14] ZHANG Qing, LEI Linsheng, XU Jun. Jujube date polysaccharide can increase pH in murine peritoneal macrophages [J]. **Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica**, 2002, 18(1):8-9. (in Chinese)