

## 陕北红枣中多糖的酶加水法提取工艺研究

杨世平<sup>1,2</sup>, 孙润广<sup>2</sup>

(1. 延安大学物理与信息学院, 陕西延安 716000; 2. 陕西师范大学物理学与信息技术学院, 西安 710062)

**摘要:** 以多糖含量和得率为指标, 采用正交试验法对陕北红枣中多糖的提取与分离工艺进行优选。酶加水提取的最佳工艺为: ①温度 70℃、酶添加量 3.0%、时间 2 h; ②温度 70℃、酶添加量 2.0%、时间 4 h。分离的最佳工艺为: 分级沉淀多糖时采用浓缩液: 无水乙醇(v/v)以 1:3 效果最好; 当采用活性炭脱色时, 活性炭用量为 7 g/L 时, 既达到了脱色的目的, 多糖的损失率又较小。

**关键词:** 红枣; 多糖; 提取; 分离; 正交实验

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2005)04-0373-03

### Study on Extractive Craft of Polysaccharides by Enzymolysis with Watering from *Ziziphus jujuba* Mill. in the north of Shaanxi

YANG Shi-Ping<sup>1,2</sup>, SUN Run-Guang<sup>2</sup>

(1. College of Physics and Information, Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China;

2. College of Physics and Information Technology, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

**Abstract:** Taking polysaccharide content and extract rate as the index, the orthogonal was used for optimizing extraction and isolation procedure of polysaccharide from *Ziziphus jujuba* Mill. in the north of Shaanxi. The result shown that extraction employed enzymolysis with watering was the best one. (1) Temperature 70℃, enzyme recruitment 3.0%, 2 hours; (2) Temperature 70℃, enzyme recruitment 2.0%, 4 hours. When fractionated precipitation of polysaccharide, the optimize ratio between concentrated solution and absolute ethyl alcohol is 1:3, while de-colorization, the amount of activated charcoal is 7 g/L.

**Key words:** *Ziziphus jujuba* Mill. (Jujube); Polysaccharide; Distill; Separation; Orthogonal experiment

红枣系鼠李科枣属落叶乔木, 在我国已有三千多年的利用史, 远在周代黄河流域已有成片的枣园种植。红枣味甜可口, 营养丰富, 既可食用又可入药, 具有滋阴补肾、强身健体、软化血管、开胃健脾等多种药用功能, 有“百果之王”的美称。其主要成分为糖类、维生素 C、蛋白质和粗脂肪。红枣中的多糖成分可以提高衰老模型小鼠 SOD、CAT、GSP-PX 活力, 对大、小鼠血虚模型、气血双虚模型有较好改善作用<sup>[1]</sup>。陕北黄河沿岸诸县是枣树的发祥地, 历史上就有“陕北大红枣”美誉。但对陕北红枣中多糖的研究鲜有报道, 本实验以多糖的含量和得率为指标, 采用

正交实验法对陕北红枣中多糖的提取工艺进行优选, 获得最佳条件, 以期对陕北红枣的综合开发利用提供实验根据。

### 1 实验原料、仪器和试剂

#### 1.1 原料

采自延安市延川县的优质红枣 *Ziziphus jujuba* Mill. (Jujube)。

#### 1.2 仪器

DS-1 高速组织捣碎机(上海标本模型厂); FD-1 冷冻干燥机(北京博康实验仪器有限公司); KDC-2044

收稿日期: 2005-04-19, 修回日期: 2005-07-04。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20272035)。

作者简介: 杨世平(1964—), 男, 陕西子长县人, 延安大学副教授, 硕士, 主要从事生物物理新技术和新方法的教学和科研工作。

低速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司)。

### 1.3 试剂

乙醇,石油醚,三氯乙酸,碘-碘化钾,溴化钾,苯胺-邻苯二甲酸,柠檬酸。木瓜蛋白酶为Sigma公司产品,其它试剂均为分析纯。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 实验设计

影响红枣多糖提取率的因素很多,如温度、酶添加量、时间以及提取次数等,为综合分析各因素的影响程度,本实验采用3因素3水平正交实验 $L_9(3^3)$ ,因素水平设计如下<sup>[1]</sup>。

温度(°C): $A_1$ 为60°C, $A_2$ 为70°C, $A_3$ 为80°C;

酶添加量(%): $B_1$ 为2.0%, $B_2$ 为2.5%, $B_3$ 为3.0%;时间(h): $C_1$ 为2h, $C_2$ 为4h, $C_3$ 为6h。

### 2.2 多糖的提取工艺流程<sup>[2]</sup>

将红枣洗净去核,平均分成9份,每份50g,粉碎打浆后加入2.5%木瓜蛋白酶,混匀,再加入柠檬酸调pH=6.5,用热水浸提,将浸提液过滤。再一次热水浸提,过滤,合并两次滤液,冷冻浓缩,加无水乙醇沉淀,在4°C下静置2h后离心(400 r/min)10 min,然后沉淀过滤,用石油醚脱脂,冷冻浓缩后就得到了粗多糖。

### 2.3 多糖提取结果

每一水平重复实验3次得I、II、III号多糖样品,实验结果见表1。

表1 红枣多糖提取正交(有重复)实验结果

Table 1 Jujube polysaccharide extracted through orthogonal experiment

温度(°C) Temperature	酶添加量(%) Material to water ratio	时间(h) Time	粗多糖量(g) Crude polysaccharide weight			综合评分 Synthesis rates
			I	II	III	
$A_1:60$	$B_1:2.0$	$C_1:2$	22.8	21.4	20.2	42.1
$A_1:60$	$B_2:2.5$	$C_2:4$	30.6	30.5	31.4	75.2
$A_1:60$	$B_3:3.0$	$C_3:6$	25.2	25.5	25.6	66.1
$A_2:70$	$B_1:2.0$	$C_2:4$	39.9	40.4	40.3	82.2
$A_2:70$	$B_2:2.5$	$C_3:6$	38.6	36.2	42.3	80.2
$A_2:70$	$B_3:3.0$	$C_1:2$	40.2	40.9	40.8	85.1
$A_3:80$	$B_1:2.0$	$C_3:6$	20.4	21.6	20.6	40.1
$A_3:80$	$B_2:2.5$	$C_1:2$	35.9	39.0	39.3	76.2
$A_3:80$	$B_3:3.0$	$C_2:4$	32.7	33.4	33.3	76.1

为使结果分析更为客观,采用加权评分法,把表1中各项与该列最大值相除再乘以100为该项得分,通过这样处理,使多糖得率和多糖含量转化为0~100之间的数,另根据多糖得率( $x$ )和含量( $y$ )的作用,确定两者的权重系数均为0.5,对两项指标进行加权求和,通过公式 $z=0.5x+0.5y$ ,可得到综合评分( $z$ )。

方差分析表明:红枣多糖提取工艺各因素中温度(A)和酶添加量(B)对多糖得率有明显影响,而提取时间(C)对多糖得率无明显影响(表2)。

表2 方差分析

Table 2 Variance analysis

方差来源 Variance source	离均差平方和 Sum of squares	自由度 Degrees of freedom	方差 Variance	F值 F value
A	264.58	2	132.29	17.81
B	184.36	2	92.18	13.43
C	86.21	2	43.10	3.23

根据表1、表2可筛选出优化水平组合为 $A_2B_1C_2$ 、 $A_2B_3C_1$ 。

### 2.4 乙醇量对多糖得率的影响

本实验采用乙醇作为多糖沉淀剂,以1:1、1:2、1:3[滤液:无水乙醇(v/v)]对在最优化水平下所得红

枣多糖浓缩溶液进行分级沉淀,冷冻干燥,得到I、II、III号粗多糖(见表3)。

表3 不同体积比乙醇沉淀多糖的实验结果

Table 3 Different volume ratio of the experimental result form ethyl alcohol precipitation polysaccharide

体积比 Volume ratio	粗多糖量(g) Crude polysaccharide weight	粗多糖得率(%) The obtain ratio of crude polysaccharide	得率比(%) Percentage of obtained ratio
(I) 1:1	3.69	9.25	70.06
(II) 1:2	4.87	12.20	92.42
(III) 1:3	5.29	13.20	100.00

注:得率比以多糖得率最高者为100%计算。

Note: Obtained ratio means calculated with the highest rate of polysaccharide as 100%.

从表3粗多糖得率可知,滤液与乙醇体积比为1:3时沉淀多糖效果最好,其次为1:2,最差的为1:1。

### 2.5 三氯乙酸法去蛋白<sup>[3]</sup>

准确称取多糖0.2g,定容至100 mL。从其中吸取5 mL加入不同体积的三氯乙酸(80%),摇匀静置10 h,再离心(400 r/min)10 min,分离,取上层清液测量其吸光度,并用蒽酮比色法<sup>[4]</sup>以葡萄糖为标准测定多糖含量,结果见表4。

表4 不同浓度三氯乙酸去蛋白比较(原液  $A_{280}=1.414$ )  
Table 4 The comparison of different concentration of trichloroacetic acid deprotein

三氯乙酸溶液终浓度(%) Terminal concentration of trichloroacetic acid solution	吸光度(280 nm) Light absorbing range(OD)	总糖含量(%) Total sugar content	多糖损失率(%) Loss rate
2	1.27	33.01	0.32
6	1.23	32.53	0.80
10	1.21	31.52	1.82
14	1.20	31.15	2.16
18	1.16	30.38	2.76
22	1.13	29.95	3.38

注:损失率=总多糖含量-去蛋白后多糖含量。

Note: After the total polysaccharide content subtracts the deprotein polysaccharide content to be equal to the loss factor.

由表4可见,随着三氯乙酸浓度的增大,吸光度减小即蛋白质含量减小,脱蛋白能力也加强,但效果不是很明显,同时多糖的损失率也在增大。

## 2.6 粗多糖脱色

鉴于红枣多糖提取液颜色呈深褐色,我们对粗多糖进行了脱色。取粗多糖0.4 g,定容至100 mL,准确吸取6份(每份10 mL),加入一定量的活性炭,50℃,振荡15 min,离心(400 r/min)10 min,取上层清液观察,采用蒽酮比色法测定多糖含量,结果见表5。

表5 活性炭脱色最佳用量

Table 5 The best quantity using of active charcoal to decolourize

活性炭含量(g/L) Active charcoal content	颜色变化 Color change	总糖含量(%) Total sugar content	多糖损失率(%) Loss rate
1	黄色 Yellow	32.40	0.93
3	浅黄 Shallow yellow	31.90	1.44
5	淡黄 Thin yellow	30.70	2.63
7	微黄 Tiny yellow	28.68	4.65
9	无色 Colourless	25.27	8.07
11	无色 Colourless	24.70	8.63

注:损失率=总多糖含量-脱色后多糖含量。

Note: After the total polysaccharide content subtracts the decolorized the polysaccharide content to be equal to the loss factor.

由表5可见,当活性炭用量为9 g/L时脱色效果较佳,但多糖的损失也较大,因此,综合考虑可选择活性炭用量为7 g/L进行脱色为宜。

## 3 结论

(1) 由正交实验结果可知,红枣多糖提取工艺各因素中温度(℃)和酶添加量(%)对多糖得率有明显影响,而提取时间(h)对多糖得率无明显影响。实验表明陕北红枣中多糖的酶-水最佳提取工艺为:优化水平组合  $A_2B_3C_1$ 、 $A_2B_1C_2$ 、温度70℃、酶添加量3%时最佳。

(2) 酶-水法提取可分为两个阶段,第一阶段为酶促细胞破壁过程,主要作用是酶解细胞表面结构及胞间连接物,并伴有部分糖类物质的溶出;第二阶段是胞内物浸出过程,通过提高温度后,既有灭酶的作用,同时也可使溶于热水的胞内物浸出率增加,这两个阶段在酶法提取中同等重要。

(3) 用乙醇分级沉淀多糖时采用浓缩液:无水乙醇(v/v)以1:3效果最好,由得率比可见,二者体积比由1:2增加到1:3时,多糖的得率增加了7.5%。在工业生产中,可根据原材料成本和红枣的商品价格选择合适的工艺。

(4) 采用活性炭脱色效果较佳。当活性炭用量为9 g/L时,即可完全脱色,但多糖损失也较大,故在生产中,可选择活性炭用量为5 g/L或7 g/L进行脱色为宜。活性炭不仅脱色、脱臭效果良好,而且可以反复使用,成本低,适用于工业化生产。

## 参考文献:

- [1] 刘来福,程书肖.生物统计[M].北京:北京师范大学出版社,1998.260-283.
- [2] 杨云,刘福勤,冯卫生,孟江,田润涛.碱法提取大枣渣多糖及活性炭脱色的工艺研究[J].食品与发酵工业,2004,30(7):30-32.
- [3] 杨云,孟江,冯卫生,苗明三.大枣渣多糖不同提取方法的比较研究[J].中成药,2004,26(10):860-863.
- [4] 中国科学院上海药物研究所.中草药有效成分提取与分离[M].第2版.上海:上海科学技术出版社,1983.