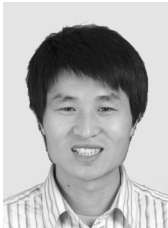


专题报道——多酚化学

板栗苞单宁纯化的研究



DU Yun-ping

杜运平¹, 秦清^{1*}, 徐浩¹, 张宗和², 黄嘉玲², 陈文文¹, 陶林²

(1. 中国林业科学研究院林产化学工业研究所; 生物质化学利用国家工程实验室; 国家林业局林产化学工程重点开放性实验室; 江苏省生物质能源与材料重点实验室, 江苏南京 210042;
2. 南京龙源天然多酚合成厂, 江苏南京 210032)

摘要: 以通常废弃的板栗苞为原料, 经过提取得到板栗苞单宁提取物, 并对提取物的纯化进行了研究。分别研究了吸附剂的选择、柱前液质量浓度、洗脱剂、蒸馏水的 pH 值、流速等单因素对单宁得率的影响, 并通过正交试验得出了纯化的最佳工艺条件, 即: 选用大孔树脂 D301 为吸附剂, 丙酮为洗脱液, 柱前液质量分数为 9%, 蒸馏水 pH 值为 7, 过柱流速为 0.4 L/h。最后, 通过稳定性实验对所得工艺条件进行了验证, 按此工艺条件纯化后的板栗苞单宁得率在 82% 以上, 单宁质量分数在 62% 以上。

关键词: 板栗苞; 单宁; 纯化; 大孔树脂

中图分类号: TQ35

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2012)02-0061-05

Study on Purification of Chestnut Shell Tannin

DU Yun-ping¹, QIN Qing¹, XU Hao¹, ZHANG Zong-he²,
HUANG Jia-ling², CHEN Wen-wen¹, TAO Lin²

(1. Institute of Chemical Industry of Forest Products, CAF; National Engineering Lab. for Biomass Chemical Utilization; Key and Open Lab. of Forest chemical Engineering, SFA; Key Lab. of Biomass Energy and Material, Jiangsu Province, Nanjing 210042, China; 2. Nanjing Longyuan Natural Polyphenol Synthesis Factory, Nanjing 210032, China)

Abstract: Purification of chestnut shell tannin from generally abandoned chestnut shell was studied. The effect of adsorbent, pre-column concentration, eluent, pH value of distilled water and flow rate on tannin yield was tested respectively. According to single factor and orthogonal experiment results, the optimum experimental conditions were as follows: macroporous resin D301 as adsorbent, acetone as eluent, pre-column concentration 9%, pH value 7.0 of distilled water, flow rate 0.4 L/h. Finally, the best process condition was verified by stability test. Under these conditions, the yield of chestnut shell tannin was up to 82%, and tannin mass fraction was higher than 62%.

Key words: chestnut shell; tannin; purification; macroporous resin

板栗 (*Castanea mollissima* Blume) 属壳斗科栗属乔木经济植物, 主要分布于北半球温带及亚热带。我国种植板栗已有 3000 多年的历史, 大部分地区均有分布, 以华北和长江流域各地集中栽培。随着社会的发展, 政策的引导和市场对板栗产品需求的刺激, 近年来我国板栗的栽培面积和产量迅猛增加, 2007 年产量已达到 92.5 万吨, 占世界板栗总产量的 75.61%, 且还在稳步增长^[1]。伴随着板栗产业的快速发展, 板栗产量不断加大, 深加工产品不断增加, 板栗生产的废弃物——板栗苞(板栗毛球), 也急剧增加。根据板栗产量的估算板栗苞每年的产量大约有 30 万吨, 但目前对其利用还非常有限。传统的处理方法是燃烧和自然腐烂, 不仅造成了对环境的污染, 还是一种资源浪费。板栗苞中含有单宁、纤维

收稿日期: 2011-12-26

基金项目: 国家林业局林业公益性行业科研专项(201004013)

作者简介: 杜运平(1982-), 男, 河南濮阳人, 硕士, 主要从事单宁加工与利用方向研究

* 通讯作者: 秦清(1961-), 女, 福建福州人, 高级实验师, 主要从事林产化工方面研究; E-mail: qqlychem@sina.com。

素、木质素、氮、磷、钙等^[2]成分。随着对单宁的研究越来越深入,应用范围越来越广,用量也越来越大,传统的单宁资源明显不足,板栗苞恰恰是单宁非常丰富的资源。为了更有效地对板栗苞进行加工利用,目前已有学者开始对板栗苞提取单宁^[3-8]、栽培蘑菇^[9]及制备活性炭进行研究与开发,但提取出来的单宁含量较低,杂质多,只能用在要求相对低端的领域中。若能充分利用板栗苞这一废弃物,既能获得经济效益、生态效益和社会效益,又能促进板栗产业的良性发展,对我国农业经济的发展具有深远意义^[10]。目前,未见对板栗苞单宁纯化方面的报道,仅有少量提取方面的报道。作者通过对板栗苞中单宁纯化条件的研究,确定了最佳纯化工艺条件。为板栗苞这一废弃物的提取物在制革、矿业、建材、化工等行业的综合利用提供了重要依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

材料:板栗采集于南京市六合区竹镇,经低温爆破脱壳,取其板栗苞洗净,在80℃干燥箱中烘干。用粉碎机将板栗苞粉碎过筛,保存备用;大孔树脂(上海亚东核级树脂有限公司);聚酰胺、Sephadex G-25(国药集团试剂化学有限公司)。

主要试剂:单宁酸、铬皮粉购于中国林科院林化所;无水乙醇、甲醇、丙酮均为化学纯。

1.2 主要仪器与设备

紫外可见分光光度计,日本岛津 UV-250 IPC 型;W201-S 型旋转蒸发器;FA1604 型电子天平;ZK-82B 型真空干燥箱。

1.3 实验方法

1.3.1 原料分析 板栗苞原料分析结果见表1。

表1 板栗苞原料分析结果¹⁾

Table 1 Analytical result of raw material from chestnut shell

总固体物/% total solid	可溶物/% soluble matter	不溶物/% insoluble matter	单宁/% tannin	非单宁/% non-tannin
31.13	30.00	1.13	18.87	11.13

1)可溶物、不溶物、单宁、非单宁均按干基计算 soluble, insoluble matter, tannin and non-tannin were calculated based on dry basis

1.3.2 板栗苞单宁提取物的制备 称取粉碎过的板栗苞粉末,按文献[7]的方法在一定温度下水浴中浸提,获得提取液,浓缩回收乙醇,调成一定的浓度后待用。

1.3.3 纯化的试验方法 取一定量经预处理的吸附剂装层析柱,去离子水平衡柱子后,提取物溶液上样进行层析,样品过柱后,先用一定 pH 值的蒸馏水洗脱杂质(主要是糖类物质),检测洗脱液至无糖,然后再用洗脱剂洗脱,减压浓缩、干燥,得到板栗苞单宁。产品按照国家标准 GB 2615 ~ 2623-1981《栲胶原料与产品的检验方法》,测定提取液中单宁的含量,计算出其得率。同时以得率为依据考察各因素的影响。

1.3.4 单因素试验 按照 1.3.3 的试验方法分别进行了吸附剂的选择、柱前液浓度、洗脱剂、蒸馏水的 pH 值、流速等单因素的试验。

1.3.5 正交试验 为了验证板栗苞单宁纯化工艺条件,以得率、产品质量、生产效率综合考虑,根据柱前液浓度、蒸馏水的 pH 值、过柱流速等影响因素,按 $L_9(3^4)$ 设计正交试验,以确定板栗苞单宁提取物纯化最佳工艺条件。

1.3.6 含量测定 板栗苞原料单宁含量和产品的单宁含量按照国家标准 GB 2615 ~ 2623-1981《栲胶原料与产品的检验方法》进行测定。糖的测定采用苯酚-硫酸法^[10]。

1.3.7 得率的计算 纯化得率按下式计算:

$$\text{得率} = \text{纯化物质质量(g)} \times \text{单宁质量分数(\%)} / \text{提取物中单宁总量(g)} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 板栗苞提取实验结果

根据文献[7]的方法在较优工艺条件:用40%乙醇水溶液,料液比为1:20,进行3次浸提,3次溶

剂比例为5:3:2,在70℃的水浴中浸提,每次浸提120 min。在该条件下产品得率达到71%,单宁质量分数在49%左右。

2.2 板栗苞单宁提取物纯化单因素试验

2.2.1 吸附剂的选择 由于提取后的板栗苞单宁提取物质量分数在49%左右,在其应用方面受到了限制。因此,为了提高提取物的单宁含量扩大其应用范围,分别选用葡萄糖凝胶、聚酰胺、大孔树脂D201和大孔树脂D301作为吸附剂,柱前液提取物质量分数为9%,丙酮为洗脱剂,流速为0.4 L/h(层板柱的内径为1.6 cm,树脂填充高度为85 cm),洗涤水pH值为7,按1.3.3方法进行最佳吸附剂的选择试验。

不同的吸附剂对板栗苞单宁的纯化有很大差别。葡萄糖凝胶 Sephadex G-25 的得率最高(82.97%),得到的单宁含量也相对较高,但存在着流速慢,机械强度差,再生时间长等缺点,故不宜采用;其次是大孔树脂D301的(82.54%);再次为大孔树脂D201(77.43%);得率最低的是聚酰胺(74.59%),实验过程中发现聚酰胺对单宁不能完全吸附,在洗脱杂质的同时,部分单宁被洗脱下来,分离度差,单宁损失大。由此可知,选择大孔树脂D301为最佳吸附剂,单宁质量分数可提高至62%以上。

2.2.2 蒸馏水pH值的选择 大孔树脂D301作为吸附剂,柱前液提取物质量分数为9%,丙酮为洗脱剂,流速为0.4 L/h,样品过柱后分别选用pH值为5、6、7、8、9的蒸馏水洗涤层析柱,实验结果如图1(a)所示。

由图可知,随着pH值的增加,得率不断增加。当pH值增加到7时,得率达最大值,继续加大pH值得率明显下降。这是因为蒸馏水为酸性时,发生离子交换部分单宁被洗脱下来;蒸馏水为碱性时,部分单宁发生了中和反应,继而使得单宁被洗脱下来。故选择pH值为7的中性蒸馏水为洗涤水。

2.2.3 柱前液质量分数的选择 大孔树脂D301作为吸附剂,丙酮为洗脱剂,流速为0.4 L/h,洗涤水pH值为7,分别选用质量分数为8%、9%、10%、11%、12%的提取液,按1.3.3方法进行最佳柱前液质量分数的选择试验。实验结果如图1(b)所示。

由图1(b)可知,柱前液质量分数在8%~9%时,随着浓度增大,得率逐渐增加,当质量分数超过9%时,得率明显下降。所以本实验选用柱前液质量分数为9%为最佳。

2.2.4 洗脱溶剂的选择 大孔树脂D301作为吸附剂,柱前液提取物质量分数为9%,流速为0.4 L/h,洗涤水pH值为7,分别用去离子水、甲醇、乙醇、丙酮作洗脱液,按1.3.2的方法进行试验,选择最佳的洗脱溶剂。

由实验可知,不同的洗脱液对得率的影响差别很大,丙酮作为洗脱液洗脱效果最好,得率为82.16%,乙醇73.01%,甲醇72.17%,水1.87%。故选用丙酮为洗脱液。

2.2.5 过柱流速的选择 大孔树脂D301作为吸附剂,柱前液提取物质量分数为9%,丙酮为洗脱剂,洗涤水pH值为7,分别选用0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 L/h的流速按1.3.3的方法进行试验,选择最佳的流速。实验结果见图1(c)。

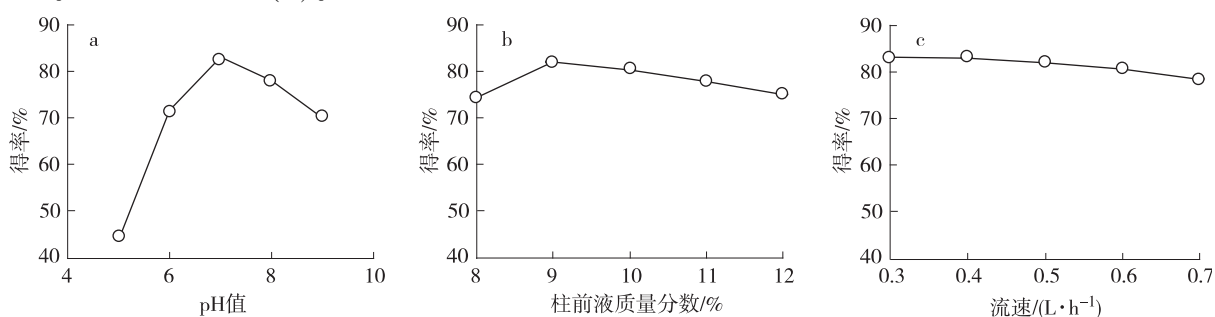


图1 不同因素对得率的影响

Fig.1 Effect of different factors on yield

由图1(c)可知,得率随着流速的增加在不断的下降,流速从0.3 L/h升到0.4 L/h时,下降还不明显,再继续加大流速,得率明显下降。综合考虑生产效率、产品质量等因素,选择0.4 L/h为最佳流速。

2.3 板栗苞单宁提取物纯化正交试验

为了优化板栗苞单宁纯化工艺条件,根据柱前液浓度、蒸馏水的pH值、过柱流速等影响因素,设计了正交试验。试验结果见表2。

表2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

序号 No.	A 柱前液质量分数/% mass fraction of precolumn	B pH值 pH value	C 流速/(L·h ⁻¹) flow rate	得率/% yield
1	9	6	0.3	77.13
2	9	7	0.4	82.94
3	9	8	0.5	78.75
4	10	6	0.4	76.61
5	10	7	0.5	81.54
6	10	8	0.3	79.26
7	11	6	0.5	76.32
8	11	7	0.3	80.67
9	11	8	0.4	78.59
k_1	79.61	76.69	79.02	
k_2	79.14	81.72	79.38	
k_3	78.53	78.87	78.87	
R	1.08	5.03	0.51	

由正交试验计算结果,根据极差(R)可判断各因素对试验结果影响的大小,造成极差较大的为主要的因素。由 R 值可知,3个因素对产物得率的影响为 $R_B > R_A > R_C$,即蒸馏水pH值影响最大,其次为柱前液质量分数,过柱流速影响最小。每个因素的较优水平分别为: A_1 、 B_2 、 C_2 ,即柱前液质量分数为9%,蒸馏水pH值为7,过柱流速为0.4 L/h,由此得出优化方案为 $A_1B_2C_2$ 。

2.4 稳定性实验

根据正交试验结果得到的最优工艺条件,进行了4次平行试验验证,实验结果见表3。

表3 稳定性实验结果

Table 3 Results of stability test

实验序号 No.	原料/g raw material	实验条件 conditions	得率/% yield	单宁质量分数/% tannin mass fraction
1	200	$A_1B_2C_2$	82.46	62.35
2	200	$A_1B_2C_2$	82.97	62.79
3	200	$A_1B_2C_2$	82.64	63.04
4	200	$A_1B_2C_2$	83.04	62.61

由表3可知,在选定的最佳工艺条件下,实验重现性好,平均得率为82.78%,单宁质量分数都在62%以上。表明工艺条件稳定性好,得到的产品得率、质量比较稳定。

3 结论

对板栗苞单宁提取物纯化工艺条件进行了研究。分别对吸附剂的选择、柱前液浓度、洗脱剂、蒸馏水的pH值、流速等单因素的试验,为了优化方案,做了正交试验及稳定性试验。得出最佳工艺条件为:选用大孔树脂D301为吸附剂,丙酮为洗脱液,柱前液质量分数为9%,蒸馏水pH值为7,过柱流速为0.4 L/h。按此工艺条件板栗苞单宁纯化得率在82%以上,单宁质量分数在62%以上。

本研究制备的板栗苞单宁提取物为其在制革、矿业、建材、化工等行业的综合利用打下了基础。

参考文献:

- [1] 戚建华,梁宗锁,邓西平,等. 板栗壳吸附 Cu^{2+} 的平衡与动力学研究及工艺设计[J]. 环境科学报,2009,29(10):2144-2147.
- [2] 霍婷,杨建华,薛文通,等. 板栗的综合开发与利用[J]. 食品工业科技,2008,29(7):297-299.
- [3] 杨志斌,辜忠春,杨柳,等. 板栗苞中栲胶提取的初步研究[J]. 湖北林业科技,2006,139:3436.
- [4] 谭文英,方桂珍. 板栗壳中栲胶的提取工艺[J]. 东北林业大学学报,2006,34(2):6061.
- [5] 张国春,王书民,任有良. 栗栲胶浸提的实验研究[J]. 安康学院学报,2009,21(6):9697.
- [6] 李金凤,段玉清,马海乐,等. 板栗壳中多酚的提取物体外抗氧化性研究[J]. 林产化学与工业,2010,30(1):5358.
- [7] 杜运平,徐浩,张宗和,等. 板栗苞多酚提取条件的研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(2):8288-29.
- [8] 杜运平,秦清,徐浩,等. 膜分离法制备板栗单宁的研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(11):6574-6572.
- [9] 覃宝山,覃勇荣. 板栗苞栽培平菇的实验[J]. 食用菌,2009(4):3839.
- [10] 杜运平. 板栗苞植物多酚提取、纯化及其应用研究[D]. 北京:中国林业科学研究院硕士学位论文,2011.
- [11] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 2版. 杭州:浙江大学出版社,2003:129-126.

本刊信息

《林产化学与工业》征稿简约

《林产化学与工业》是中国林业科学研究院林产化学工业研究所和中国林学会林产化学化工分会共同主办的学术类刊物。报道范围是可再生的木质和非木质林产品和生物质资源的化学加工与利用,包括生物质能源、生物质化学品和生物质材料等,主要包括生物质资源的热转化、热化学转化和活性炭,木材化学和制浆造纸,生物质原料水解,松脂及松香、松节油,植物多酚,林产香料、油脂、药物和生物活性物质,木工胶黏剂,树木寄生产物以及其他森林天然产物等方面的最新研究成果。为了保证刊物的质量,根据国家的有关标准和本刊的实际,特制定本简约。

1 文稿基本要求

论文应有一定的科学性、创新性、实用性和可读性,内容充实,数据可靠,论点明确,文字精练。论文一般不超过7000字(含图表)。文稿按顺序应包含:题目,作者姓名、单位,中文摘要,关键词(3~5个),中图分类号,英文摘要,正文,致谢,参考文献。来稿首页页下请注明第一作者的个人信息、基金项目名称及编号。书写格式具体要求请详见本刊网站投稿指南(<http://www.cifp.ac.cn/cn/tgzn.asp>)。

2 投稿约定

2.1 来稿请登录 www.cifp.ac.cn, 在线投稿, 并请留下作者详细通讯地址、邮政编码及联系电话。稿件一经受理即交纳审稿费。稿件处理结果可登录投稿系统查询。

2.2 对于拟发表的稿件, 作者应根据审稿人和编辑部的意见对稿件进行修改, 在指定时间内修回, 同时提供电子文档, 交纳版面费及照片等。修改后的稿件统一由主编终审后再进行排版印刷(稿件一经发排, 不得擅自修改或变更作者署名, 且一般不得对文稿进行增删)。来稿一经发表, 即酌付稿酬, 并赠送当期期刊2册、单行本5份。本刊以刊登中文稿件为主, 同时接受英文稿件(附中文摘要)。

2.3 凡属实验研究报告的稿件, 需提供作者所在单位推荐信, 内容包括: 文章题名、作者姓名及其排序, 无泄密情况, 无一稿多投; 若为基金项目请给出项目名称及编号。

2.4 来稿文责自负, 请勿一稿多投。编辑部对来稿有权作技术性和文字修饰, 但实质性内容的修改须征得作者同意。

2.5 凡本刊发表的文章将有可能进入国内外相关数据库并在互联网上运行, 其作者著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。如作者不同意将文章编入相关数据库, 请在来稿时声明, 本刊将做适当处理。