

淮山多糖微波法提取及清除羟基自由基的研究

胡月芳

(贺州学院 化学与生物工程学院, 广西 贺州 542899)

摘 要:以淮山为试材,采用微波法提取其多糖,设计 $L_9(3^4)$ 正交实验考察提取时间、提取功率、料液比、提取次数对淮山多糖提取率的影响,并通过分光光度法考察其清除羟基自由基的能力。结果表明:淮山多糖的最佳提取工艺为提取时间为 6 min、提取功率为 400 W、料液比为 1:20 g/mL、提取次数为 3 次。在此条件下,多糖的提取率最高,达 6.32%,试验结果还表明淮山多糖具有较好的清除羟基自由基的能力,且其清除能力与多糖浓度有明显的量效关系。

关键词:淮山;多糖;微波提取;羟基自由基

中图分类号:S 632.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)02-0135-03

淮山别名山药、怀山药等,营养丰富^[1],药用价值极高,具有补脾养胃、补肺益肾的功效^[2],既可作为保健食品,又可作为常用的药材,淮山块茎中主要含有淀粉、蛋白质、多糖、尿囊素、胆碱等成分,其中淮山多糖已被确定具有抗氧化性功能^[3-4],具有提高人体免疫功能和抗病能力^[5]。

近年来对淮山的研究多数是针对淮山中单组分的检测,如采用薄层扫描法^[6]、液相色谱法^[7-8]、毛细管电泳-电致化学发光^[9]测定淮山中尿囊素或胆碱含量,而同时对淮山多糖的提取与对羟基自由基清除作用的研究还较少。淮山多糖由于其多种多样的生物活性被广泛地应用在功能性食品、保健品和临床医疗上,深入研究淮山中的活性多糖对淮山的深度加工和综合利用有参考价值。该试验采用苯酚-硫酸法检测淮山中的多糖,并以微波法辅助提取,以淮山多糖提取率为指标,探讨淮山多糖的提取工艺,并通过研究淮山多糖对 Fenton 反应产生的羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的清除作用,考察淮山多糖的体外抗氧化活性效果,以期淮山多糖的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

新鲜淮山购自贺州市八步区阳光市场。

无水乙醇、丙酮、苯酚、浓硫酸、氯仿、乙醚、正丁醇、硫酸亚铁、水杨酸、过氧化氢均为分析纯试剂,试验用水为蒸馏水。

MG823LA3-NR 型美的微波炉(佛山市顺德区美的

微波电器制造公司);TDB80-2B 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂);SP-722 型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 标准曲线的绘制 称取干燥恒重的葡萄糖标准品 0.200 g,加入水溶解,并定溶至 1 000 mL 容量瓶中,混匀备用。吸取葡萄糖标准液 0.40、0.60、0.80、1.00、1.20 mL 于试管中,加蒸馏水使溶液为 2.00 mL,然后依次加入 1.00 mL 5% 苯酚液和浓硫酸 5.00 mL 混匀,以蒸馏水作空白,放置 30 min 后,在 490 nm 处测吸光度,以吸光度作纵坐标,葡萄糖浓度为横坐标绘制标准曲线(图 1),所得回归方程为: $Y = 0.0245X + 0.003$, $R^2 = 0.9998$ 。

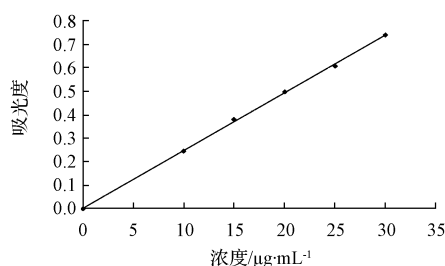


图 1 葡萄糖的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of glucose

1.2.2 多糖的提取 选新鲜淮山清洗干净去皮后放于温度为 60℃ 的烘箱内烘干至恒重,然后粉碎成粉末,过 60 目筛,密封好以便备用。将一定量淮山粉末,加入水进行微波提取一定次数。将微波提取液离心分离,滤液在 60℃ 左右进行真空减压浓缩。将浓缩液按体积比为 1:3 加无水乙醇进行醇沉,静置 8 h。分别加入 0.20、0.04 倍多糖溶液体积的氯仿与正丁醇混合,然后离心 10 min。用丙酮、乙醚、无水乙醇淋洗。将沉淀物

作者简介:胡月芳(1977-),女,硕士,讲师,研究方向为食品科学与电化学分析。E-mail:huyuefang@126.com

基金项目:广西高校科学技术研究资助项目(2013YB238)。

收稿日期:2013-09-13

置于表面皿中进行风干,干燥得白粉末状淮山多糖。

1.2.3 正交实验 通过正交实验对淮山多糖的提取工艺进行优化,选取提取时间、提取功率、料液比、提取次数4个主要因素,每个因素设置3个水平,采用 $L_9(3^4)$ 进行正交实验,以多糖提取率为指标,根据各单因素试验得出各因素水平范围,设定最佳提取工艺 $L_9(3^4)$ 因素水平设计如表1。

表1 正交实验因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	A 提取时间/min	B 提取功率/W	C 料液比/g·mL ⁻¹	D 提取次数/次
1	5	300	1:10	2
2	6	400	1:15	3
3	7	500	1:20	4

1.2.4 淮山多糖清除羟基自由基试验 淮山多糖的清除羟基自由基试验通过清除 Fe^{2+}/H_2O_2 体系中的 $\cdot OH$ 来确定淮山多糖的清除羟基自由基能力。把5支试管依次编号,往每支试管加入1 mL 9 mmol/L $FeSO_4$, 2 mL 9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液,接着按试管编号各加入浓度分别为10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 $\mu g/mL$ 的多糖溶液2 mL,最后加入2 mL 8.8 mmol/L H_2O_2 ,静放反应1 h。以蒸馏水作空白对比,将波长调至510 nm处测定各编号试管里溶液的吸光度,记录数据,连续测定3次,取平均值。羟基自由基清除率以下公式计算:清除率(%)=($A_0 - A_s$)/ $A_0 \times 100\%$ 。式中: A_0 为空白对照液的吸光度; A_s 为加入提取液后的吸光度。

2 结果与分析

2.1 正交实验结果

从表2可以看出,正交实验中4个因素的 R 值,各因素对淮山多糖提取影响顺序依次为:提取功率>料液比>提取时间>提取次数。通过正交实验的直观分析得到最佳提取工艺条件是 $A_2B_2C_3D_2$,即提取时间6 min、提取功率400 W、料液比1:20 g/mL、提取次数3次。根据方差分析可知,微波功率对提取率影响显著。在最佳条件下,进行3次平行试验检测提取效率,以便考

表2 淮山多糖提取的正交实验结果

Table 2 Results of yam polysaccharide extraction with orthogonal experiment

序号	A	B	C	D	淮山多糖提取率/%
1	1	1	1	1	4.5
2	1	2	2	2	5.4
3	1	3	3	3	4.0
4	2	1	2	3	5.5
5	2	2	3	1	6.2
6	2	3	1	2	3.8
7	3	1	3	2	5.8
8	3	2	1	3	5.1
9	3	3	2	1	3.4
K_1	4.633	5.267	4.467	4.700	—
K_2	5.167	5.567	4.767	5.000	—
K_3	4.767	3.733	5.333	4.867	—
R	0.534	1.834	0.866	0.300	—

察最佳条件的合理性和可靠性。3次试验结果差别较小,平均提取率为6.32%,这说明该提取工艺条件效果好,稳定可靠,适用淮山多糖的提取。

2.2 淮山多糖对羟基自由基的清除效果

由图2可知,不同浓度的淮山多糖都具有清除作用,且清除率与多糖的浓度存在正相关的量效关系,即随着多糖浓度的增高,羟基自由基的清除效果增强。试验结果表明,淮山多糖具有抗氧化性,对人体具有功能性的保健作用。

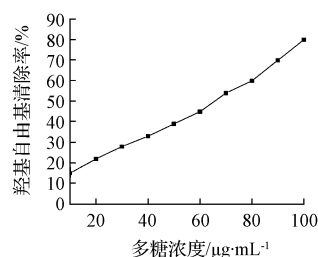


图2 淮山多糖对羟基自由基的清除效果

Fig. 2 Scavenging effect of yam polysaccharide on hydroxyl free radical

3 结论

采用微波法提取淮山中的多糖与传统工艺相比,具有提取效率高、节能、省时和高效等优点。从正交实验数据可以看出,各因素对淮山多糖提取的影响程度依次为提取功率>料液比>提取时间>提取次数。最佳提取条件为提取时间6 min、提取功率400 W、料液比1:20 g/mL、提取次数3次,在此工艺条件下淮山多糖提取率达到6.32%。淮山多糖对Fenton反应产生的羟基自由基具有较强地清除能力,具体表现为淮山多糖用量越大,其清除 $\cdot OH$ 的效果越强。有望将其开发成为一种具有保健作用的抗氧化剂,应用到保健品、医疗食品和医药行业中。

参考文献

- [1] 雷伏贵,华树妹,涂前程,等. 山药种质资源亲缘关系的ISSR分析[J]. 福建农业学报,2013,28(1):27-32.
- [2] 贾艳. 山药多糖的药理学研究[J]. 中国医药指南,2012,10(9):54-55.
- [3] 张卫明,单承莺,杭悦宇,等. 温度因素对薯蓣多糖测定的影响研究[J]. 食品科学,2008,29(5):393-395.
- [4] 胡国强,杨保华,张忠泉. 山药多糖对大鼠血糖及胰岛释放的影响[J]. 山东中药杂志,2004,23(4):230-23.
- [5] 盛玮,薛建平,谢笔钧. 怀山药零余子提取物抗氧化活性的研究[J]. 食品科学,2009,30(3):92-94.
- [6] 张留记,屠万倩,都恒青. 薄层扫描法测定怀山药降糖胃舒散中尿囊素的含量[J]. 中国中药杂志,2001,26(8):567-570.
- [7] 李明静,宋爱新,史会齐,等. 高效液相色谱法测定山药样品中尿囊素的含量[J]. 化学研究,2003,14(1):67-70.
- [8] 王海波,蔡宝昌. 反相高效液相色谱法测定不同产地山药中尿囊素的含量[J]. 中药新药与临床药理,2004,15(3):190-193.
- [9] 胡月芳,李建平,黄志强. 毛细管电泳-电致化学发光法测定淮山药中胆碱和尿囊素[J]. 分析试验室,2012,31(12):104-107.

双酶法提取角瓜籽仁蛋白质的工艺研究

夏光辉^{1,2}, 刘欢¹, 何文兵¹

(1. 通化师范学院 长白山食品工程研究中心, 吉林 通化 134002; 2. 通化师范学院 制药与食品科学学院, 吉林 通化 134002)

摘要:以角瓜籽为试材,采用超声波进行预处理,选取纤维素酶和 Alcalase 碱性蛋白酶以 2:1 比例复配为复合酶制剂,研究了双酶法提取角瓜籽仁蛋白质的最佳工艺条件。结果表明:角瓜籽仁蛋白质的最佳提取工艺为:料液比 1:20 g/mL、总加酶量 7%、酶解温度 55℃、酶解时间 120 min,酶解 pH 7.5,在此条件下角瓜籽仁蛋白质的提取率最高,为 74.2%。

关键词:角瓜籽;蛋白质;酶;提取;工艺

中图分类号:S 642.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)02-0137-04

角瓜籽是葫芦科南瓜属 1 a 生草本植物角瓜的种子,其不但含有丰富的蛋白质和脂肪,还具有碳水化合物、膳食纤维、胡萝卜素、硫胺素、核黄素、维生素 E、甾醇、钾、钠、硒、铜、锌、锰、铁、镁、钙等营养成分,具有辅助降血脂、降胆固醇、润肺滋肠和养颜护肤等保健功效^[1]。角瓜籽是吉林省长白山地区的特色产品之一,也是我国传统出口商品^[2]。市场上销售的角瓜籽主要是籽用角瓜的种子,我国吉林、黑龙江和河北 3 个省份是籽用角瓜的主产区,产量逐年提升。研究角瓜籽蛋白质的提取分离,可以进一步开发相应的产品,有助于扩大角瓜籽的内需,拉动地方经济增长。传统的蛋白质提取方法以

碱溶酸沉法为主,具有提取率低、蛋白质品质差等缺点^[3]。酶法提取蛋白质是近年发展起来的新兴技术,虽操作复杂、成本高,但提取出的蛋白质品质好,提取率高,反应条件温和,是一种环保型的蛋白质提取技术^[4]。超声波常用作辅助提取物料中有些成分的有效手段^[5],杨萌萌等^[6]研究了超声波前处理对酶法提取胶原蛋白的影响,利用一定功率的超声波能提高蛋白质的得率。该试验利用超声波进行酶解前的预处理,研究双酶法提取角瓜籽仁蛋白质的工艺方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试角瓜籽产于吉林省通化市。

供试牛血清蛋白质由北京奥博星生物技术有限责任公司提供;氢氧化钠、95%乙醇、浓盐酸、浓硫酸、硼酸、硫酸铜、硫酸钾、考马斯亮蓝、甲基红、溴甲酚绿,均为分

第一作者简介:夏光辉(1978-),男,吉林通化人,硕士,讲师,现主要从事农产品加工与贮藏等研究工作。E-mail:xiaghui@163.com.
收稿日期:2013-09-23

Study on the Microwave Extraction and Hydroxyl Radical Scavenging of Yam Polysaccharide

HU Yue-fang

(College of Chemistry and Bioengineering, Hezhou University, Hezhou, Guangxi 542899)

Abstract: Taking yam as material, polysaccharide was extracted from yam by microwave, and $L_9(3^4)$ orthogonal experiment based on extraction time, extraction power, material-liquid ratio and extraction times was tested to optimize the extraction technology. The hydroxyl radical scavenging effect was studied by spectrophotometry method. The results showed that the best extracting technology was extraction time for 6 min, extraction power for 400 W, material-liquid ratio of 1:20 g/mL and extraction times was 3 times. Under these conditions, the yield of yam polysaccharide was 6.32%. The results showed that the yam polysaccharide had the good ability to scavenge the hydroxyl radicals, which had the dose-effect relationship between the concentration of yam polysaccharide.

Key words: yam; polysaccharide; microwave extraction; hydroxyl radicals