

木瓜蛋白酶法提取桃金娘多糖工艺研究

赵广河, 凌丽萍

(贺州学院 化学与生物工程学院, 广西 贺州 542800)

摘要:以桃金娘为试材, 采用木瓜蛋白酶法提取桃金娘多糖, 并通过单因素试验和正交试验优化桃金娘多糖提取工艺。结果表明: 桃金娘多糖的最佳提取工艺为木瓜蛋白酶用量 0.80%, 酶解 pH 6.6, 酶解温度 55℃, 酶解时间 90 min, 料液比 1:20。

关键词:桃金娘; 多糖; 木瓜蛋白酶; 提取

中图分类号:TS 255.36 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)19-0131-03

桃金娘(*Rhodomyrtus tomentosa*)属桃金娘科桃金娘属常绿小灌木, 广泛分布于广西、广东、海南、福建等地区, 资源极其丰富, 且大多处于野生状态^[1]。桃金娘的果实完全成熟时极甜, 略有涩味, 汁液呈诱人的紫红色, 富含多糖、蛋白质、单宁、黄酮类、氨基酸、有机酸以及花青素等多种化学成分^[2]。研究表明, 桃金娘多糖具有抗氧化^[3]、护肝^[4]等功能。该试验采用木瓜蛋白酶法对桃金娘多糖的提取工艺进行了研究, 以期对桃金娘的开发利用提供理论和方法依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

市售桃金娘; 木瓜蛋白酶(活力 10 万 U/g), 购自广西庞博生物工程有限公司; 其它化学试剂均为国产分析纯。主要仪器设备有: JA2103N 电子精密天平(上海民桥精密科学仪器有限公司); AR224CN 电子天平(美国奥豪斯仪器有限公司); FW100 万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司); HH. S21-6-S 恒温水浴锅(上海贺德实验室设备有限公司); pH-S-2C 数显酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司)等。

1.2 试验方法

1.2.1 样品预处理 选取颗粒成熟、饱满的新鲜桃金娘洗净, 80℃烘干, 用粉碎机粉碎过 80 目筛; 先用石油醚回流脱脂, 而后用 80%乙醇溶液回流脱除单糖及低聚糖; 将脱脂、脱单糖、低聚糖后的粉料密封于阴凉处保存备用。

1.2.2 木瓜蛋白酶法提取桃金娘多糖 精确称量一定量的脱脂、脱单糖及低聚糖后的粉料, 固定料液比为 1:20, 加入一定量的木瓜蛋白酶, 在一定 pH、浸提温度、浸提时间下提取, 提取结束后于沸水浴中灭酶 10 min, 抽滤,

取部分滤液, 稀释一定倍数, 然后用蒽酮比色法测定样品的吸光度, 计算多糖得率。以吸光度指标代替多糖得率研究试验条件对桃金娘多糖提取效果的影响。

1.2.3 单因素试验 精确称量一定量的粉料, 分别研究木瓜蛋白酶用量(0.20%、0.40%、0.60%、0.80%、1.00%), 酶解 pH(5.4、6.0、6.6、7.2、7.8), 酶解时间(30、60、90、120、150 min)和酶解温度(45、50、55、60、65℃)这 4 个单因素对桃金娘多糖提取效果的影响。

1.2.4 正交实验 在单因素试验的基础上设计 $L_9(3^4)$ 正交实验, 优化提取工艺。正交实验因素水平见表 1。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交实验因素水平

水平	因素			
	A 酶用量/%	B pH	C 温度/℃	D 时间/min
1	0.40	7.8	50	120
2	0.60	7.2	55	90
3	0.80	6.6	60	60

1.3 项目测定

多糖含量采用蒽酮比色法^[5](有改动)测定; 多糖得率=(提取出的多糖的质量/桃金娘干粉质量)×100%。

2 结果与分析

2.1 木瓜蛋白酶用量对多糖提取效果的影响

由图 1 可知, 随着木瓜蛋白酶用量的增加, 桃金娘多糖得率逐渐增大, 在酶用量超过 0.60%以后, 吸光度趋于平缓。其原因可能是由于木瓜蛋白酶分子已饱和, 再增加酶用量, 增加的酶分子也没有机会与底物结合, 多糖得率不会有显著增加。因此, 选择 0.60%作为木瓜蛋白酶用量的较优值。

2.2 酶解 pH 对多糖提取效果的影响

pH 值的大小影响酶的活力, 适宜的 pH 值, 通过静电作用, 维持了酶活性中心的最佳三维构象, 促进酶与底物结合。由图 2 可知, 桃金娘多糖得率随着 pH 值的升高, 先缓慢增加后较快降低, 在 pH 7.2 时, 桃金娘多糖得率达到最大值。因此, 选择 pH 7.2 为酶解 pH 较优值。

第一作者简介:赵广河(1977-), 男, 河南南阳人, 硕士, 讲师, 研究方向为果蔬深加工及功能食品。E-mail:greatriver2007@163.com。

基金项目:贺州学院科研资助项目(2013ZXZK06)。

收稿日期:2013-05-16

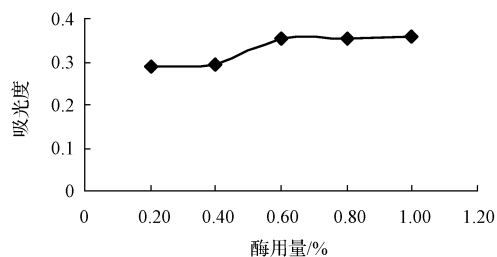


图1 酶用量对多糖提取效果的影响

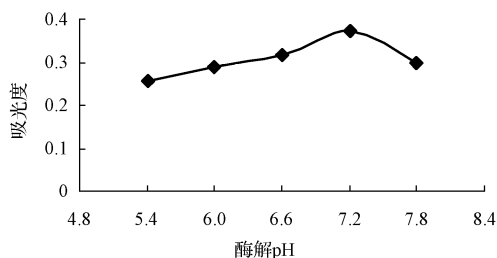


图2 酶解 pH 对多糖提取效果的影响

2.3 酶解温度对多糖提取效果的影响

在酶催化反应中,温度是重要参数之一,不仅对酶活性有影响,而且对多糖溶解度和组织细胞都有影响。由图3可知,随着酶解温度的升高,桃金娘多糖得率逐渐增大,而当温度超过55℃后多糖得率开始出现下降的趋势,可能是温度升高导致酶活力降低,使得多糖得率下降。因此,选择55℃为酶解温度较优值。

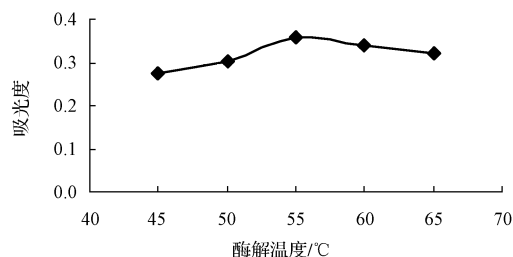


图3 酶解温度对多糖提取效果的影响

2.4 酶解时间对多糖提取效果的影响

酶解时间和酶解进行程度有着密切的关系,提取时间太短,酶解进行的不充分,而当多糖溶解达到平衡时,酶解时间的延长并不能显著增加其得率。由图4可知,

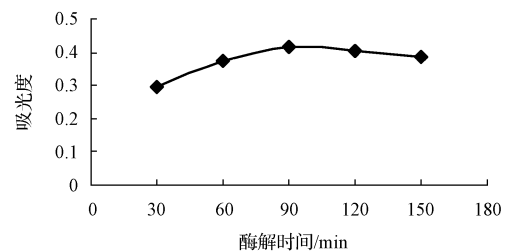


图4 酶解时间对多糖提取效果的影响

随着酶解时间的延长,桃金娘多糖得率呈上升趋势,在90 min时达到最大值,而后随着酶解时间的进一步延长,桃金娘多糖得率呈缓慢下降趋势,可能是多糖水解的结果。因此,选择90 min为酶解时间较优值。

2.5 正交实验结果

由表2可知,影响桃金娘多糖得率的主次因素依次是:A>B>C>D,即木瓜蛋白酶用量>酶解 pH>酶解温度>酶解时间。由表3可知,在试验选择的因素水平范围内,木瓜蛋白酶用量对桃金娘多糖提取效果的影响最为显著。由于提取桃金娘多糖的较优工艺 A₃B₃C₂D₂ 组合不在正交实验设计的9个组合中,因此有必要对其进行验证。按较优工艺 A₃B₃C₂D₂ 提取桃金娘多糖,重复3次,吸光度平均值为0.437,高于正交实验中的9号组合(0.421),因此,确定桃金娘多糖的最佳提取工艺为 A₃B₃C₂D₂,即木瓜蛋白酶用量0.80%,酶解 pH 6.6,酶解温度55℃,酶解时间90 min,料液比1:20,在该条件下,桃金娘多糖得率为4.03%。

表2 桃金娘多糖提取工艺正交实验结果

试验号	A	B	C	D	吸光度
1	1	1	1	1	0.257
2	1	2	2	2	0.314
3	1	3	3	3	0.293
4	2	1	2	3	0.341
5	2	2	3	1	0.344
6	2	3	1	2	0.364
7	3	1	3	2	0.385
8	3	2	1	3	0.395
9	3	3	2	1	0.421
k ₁	0.288	0.328	0.339	0.341	
k ₂	0.350	0.351	0.359	0.354	
k ₃	0.400	0.359	0.341	0.343	
R	0.112	0.031	0.020	0.013	

表3 正交实验方差分析

变异源	SS	df	MS	F	显著性
A	0.0190	2	0.0095	47.5	显著
B	0.0016	2	0.0008	4	不显著
C	0.0007	2	0.0004	2	不显著
D(误差列)	0.0003	2	0.0002	1	不显著
总和	0.2017	8			

注: F_{0.05}(2,2)=19.00。

3 讨论与结论

木瓜蛋白酶是一种含巯基(-SH)肽链内切酶,具有蛋白酶和酯酶的活性,在桃金娘多糖提取过程中可使桃金娘中的游离蛋白质发生水解,并进一步水解糖蛋白等结合蛋白中的蛋白质,减小它们与桃金娘多糖的结合力,有利于桃金娘多糖的溶出,同时也提高了桃金娘多糖的纯度,简化了桃金娘多糖的提取工艺。

采用木瓜蛋白酶法提取桃金娘多糖的最佳工艺为:木瓜蛋白酶用量0.80%,酶解 pH 6.6,酶解温度55℃,酶解时间90 min,料液比1:20。

益肾型覆盆子复合饮料的制作工艺研究

陈晓燕¹, 陈少华¹, 熊天昱¹, 孙汉巨¹, 程小群²

(1. 合肥工业大学 生物与食品工程学院, 安徽 合肥 230009; 2. 黄山山太士药业有限公司, 安徽 黄山 230001)

摘要:以覆盆子为基料, 枸杞子、山药为辅料, 并加入西红柿汁以改善口感, 利用单因素试验研究覆盆子汁的最佳酶解工艺, 并采用正交实验优化覆盆子复合饮料的最佳工艺。结果表明: 覆盆子汁酶解最佳工艺条件为: 酶解温度 45℃、pH 4.2、酶添加量 0.8 g/L、酶解时间 90 min; 益肾型覆盆子复合饮料最佳复配比为: 覆盆子原汁用量为 40%、复合配料(枸杞原汁: 山药原料液 = 3:1)为 20%、西红柿汁用量为 6%、白砂糖用量 15%。

关键词:覆盆子; 复合饮料; 果胶酶; 营养配比

中图分类号:TS 275.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)19-0133-04

覆盆子(*Rubus idaeus*)属蔷薇科悬钩子属浆果植物, 又称树莓、牛奶母、大号角公, 主要产于浙江、安徽、四川、贵州等地^[1-2]。覆盆子富含维生素 E、超氧化物歧化酶(SOD)、γ-氨基丁酸等抗衰老物质; 其性味甘、酸, 微温,

归肝、肾经, 有补肾固精、助阳缩尿功能, 可治疗肾虚遗精、阳痿、遗尿和尿频等病症^[3-4]。此外, 覆盆子还含有丰富的纤维素和 K、Zn、Fe、Cu、Mn 等多种微量元素^[5], 长期食用能有效地起到保护心脏、防止心血管疾病、抗癌与减肥作用, 具有较高的药用保健开发价值^[6]。枸杞子味甘、性平, 归肝、肾经, 有补肝、益肾、明目的功能, 可用于治疗虚劳精亏、腰膝酸痛等病症。枸杞子是营养增补剂及食品的中药原料^[7-9]。山药能益肾气, 健脾胃, 止泻痢, 化癰涎, 润皮毛, 为补虚之要药^[10]。覆盆子、枸杞、山药这三味药材滋补功能互补, 符合中医配伍“相须”原则, 均具有补肾功能。该试验以覆盆子为基料, 枸杞和山药为辅料, 加之新鲜西红柿汁改善口味, 研制了益肾型覆盆子复合饮料, 符合天然食品营养要求^[11-12]。

第一作者简介:陈晓燕(1979-), 女, 浙江湖州人, 硕士, 工程师, 研究方向为食品科学与工程。

责任作者:孙汉巨(1966-), 男, 安徽肥西人, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为食品科学与工程。E-mail: sunhanju@163.com。

基金项目:2012 年度安徽省科技计划资助项目(12030603020); 2011~2012 学年合肥工业大学大学生创新基金“百千百”专项资助项目; 国家自然科学基金资助项目(31171787)。

收稿日期:2013-05-16

参考文献

- [1] 张宏达, 缪汝槐, 陈介, 等. 中国植物[M]. 53 卷. 1 分册. 北京: 科学出版社, 1984: 28-29.
- [2] 王鸿博. 常用药用植物手册[M]. 广州: 广东经济出版社, 1997: 1019-1020.
- [3] 孙慧琳, 毛安伟, 刘珍珍, 等. 桃金娘果多糖的抗氧化性研究[J]. 新中

医, 2012, 44(4): 127-129.

- [4] 陈旭, 杜正彩. 桃金娘多糖对大鼠急性肝损伤保护作用的研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(11): 5644.

- [5] 王宪泽. 生物化学实验技术原理和方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 75-77.

Study on Extraction of Polysaccharides from *Rhodomyrtus tomentosa* with Papain Method

ZHAO Guang-he, LING Li-ping

(College of Chemical and Biological Engineer, Hezhou University, Hezhou, Guangxi 542800)

Abstract: Taking *Rhodomyrtus tomentosa* as material, polysaccharides was extracted from *Rhodomyrtus tomentosa* with papain method, and the extraction technology was optimized by single-factor experiments and orthogonal test. The results showed that the optimal conditions were as follows: papain dose 0.80%, hydrolysis pH 6.6, hydrolysis temperature 55℃, hydrolysis time 90 min, and solid-liquid ratio 1:20.

Key words: *Rhodomyrtus tomentosa*; polysaccharides; papain; extraction