

芦荟多糖提取及酸水解动力学研究

陈 萍, 苗晓燕, 何富强

(保定学院 生化系, 河北 保定 071000)

摘 要:以新鲜库拉索芦荟为试材,采用改良的超声醇沉法提取芦荟多糖,并用旋光法测定了多糖在不同浓度 HCl 条件下水解反应动力学。结果表明:水解反应很好的符合一级动力学方程;改良的超声醇沉法简化了多糖提取工艺,耗能少,产率高,适用于实际生产;特别是用简单的旋光法测定的芦荟多糖的可控酸水解,为制备目标分子量规格的活性低聚糖奠定了理论基础。

关键词:芦荟多糖;提取;酸水解动力学

中图分类号:Q 949.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)12-0110-03

芦荟(*Aloe barbadensis miller*)属百合科多年生草本植物,原产于非洲及地中海,热带、亚热带地区也有大量分布^[1]。鉴于其富含芦荟多糖^[2]、芦荟素以及多种人体必需的氨基酸、维生素、矿物质,已被联合国粮农组织(FAO)誉为“21 世纪最佳保健品”。芦荟多糖作为无毒、无害、无刺激的中草药成分,具有杀菌消炎^[3]、抗肿瘤^[4]、抗艾滋病^[5]、降血糖^[6]、调节机体的免疫水平^[7]、清除皮肤色素抗氧化性^[8]、改善由于辐射引起的白细胞减少症^[9]、抑制细胞凋亡^[10]等作用,被广泛用于医疗、美容、保健、食用、观赏,甚至是材料研发。因此芦荟多糖的提取和开发具有非常重要的意义。

芦荟多糖的提取有很多种方法,热水浸提、水提醇沉法^[11]、微波辅助法^[12]、超声辅助提取^[13]等。该试验采用改良超声醇沉法提取芦荟多糖,比传统水提醇沉法操作方法简便,耗能少。多糖水解形成的低聚糖有不同的功用,提纯不同类型和不同分子量的低聚糖成为很多研究者的目标。目前对多糖水解反应动力学的研究报道极少,仅见张燕^[14]开展了关于白及多糖酸水解反应动力学的研究,但其采用凝胶渗透色谱-蒸发光散射检测法,对仪器设备要求比较高,可操作性差。现以新鲜库拉索芦荟为试材,采用改良的超声醇沉法提取芦荟多糖,并用旋光仪测定考察芦荟多糖酸水解过程,以期对芦荟多糖的深加工利用和提高附加值提供新的途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

鲜芦荟(库拉索芦荟);无水乙醇(天津市富裕精细化工有限公司);葡萄糖(天津市化学试剂三厂)。

第一作者简介:陈萍(1959-),女,河北保定人,本科,教授,研究方向为生物科学。E-mail:shmily3205@126.com

收稿日期:2014-01-24

WZZ-2SS 型数字式自动旋光仪(上海精密科学仪器有限公司);离心机(北京京立离心机有限公司);烘箱(上海申贤恒温仪器设备厂);FW80 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);B3200S-T 型超声波清洗机(杭州旭东升科技有限公司)

1.2 试验方法

1.2.1 改良超声醇沉法提取芦荟多糖及纯化 取 1 株鲜芦荟,洗净,剪碎,40℃ 恒温干燥 36 h,高速粉碎打成粉末状,精确称取 13.463 g,加入适量蒸馏水(约 1:20),超声 1 h,抽滤,滤液用 6 M HCl,调 pH 3.0~3.5,加入 4 倍体积无水乙醇,超声 30 min,静置 2 h,4 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,沉淀为芦荟粗多糖,用 Sevag 法^[15](氯仿:正丁醇=4:1 混合液)脱蛋白,分离,干燥,称量 1.085 g。紫外扫描芦荟多糖水溶液是否脱蛋白。

1.2.2 芦荟多糖酸水解动力学研究 取芦荟多糖 0.058 g 溶于 20 mL 蒸馏水中,超声 30 min,离心,取上清液,过微滤膜,取 15 mL 置于干燥的锥形瓶中,加入 1 mL 2 M HCl 溶液(25℃),在加入一半时开始计时,每 3 min 测 1 次旋光度 α_t ,将旋光管置于 65℃ 的水浴中 30 min,以加速水解反应,冷却至室温,测量其旋光度,此数值即为 α_∞ 。测定芦荟多糖酸水解速率常数。

1.2.3 催化剂浓度对反应速率的影响 用 1 mL 6 M HCl 替代 1.2.2 项下 1 mL 2 M HCl,记录 α_t 和 α_∞ 数据。考察改变催化剂浓度对反应速率的影响。

2 结果与分析

2.1 改良超声醇沉法提取芦荟多糖结果

由试验结果可知,改良超声醇沉法提取芦荟粗多糖为土黄色,产率 12.41%,传统水提醇沉法产率为 12.09%,2 种方法虽然产率接近,但改良法提取工艺简便,操作时间缩短,耗能少,可节约生产成本,因此适于工业生产推广。

2.2 芦荟多糖紫外扫描图谱

由图 1 可以看出,芦荟多糖的紫外图谱呈双曲线型,为多糖典型图谱,且在 280 nm 处无吸收,表明不含蛋白质。

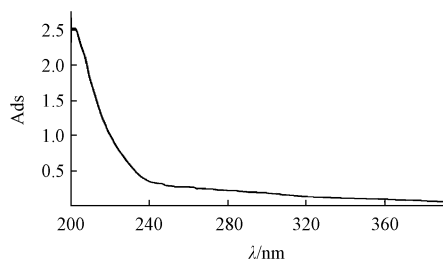


图 1 芦荟多糖紫外扫描图谱

Fig. 1 UV scanning spectrum of aloe polysaccharide

2.3 芦荟多糖的酸水解反应分析

分别考查 2 M HCl 和 6 M HCl 作为催化剂对芦荟多糖水解反应速率的影响,以 $\ln(a - a_\infty)$ 对时间 t 作图,均为一直线。由图 2 可知,a 为 2 M HCl 作催化剂的反应,直线方程为 $y = -0.0488x - 1.131$, $R^2 = -0.99458$;斜率为 -0.0488 ,则反应速率常数 $K = 0.0488 \text{ min}^{-1} = 8.13 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$,半衰期 $t_{1/2} = \ln 2/k = 0.693/0.0488 = 14.2 \text{ min}$ 。b 为 6 M HCl 作催化剂的反应,直线方程为 $y = -0.126x - 1.9097$, $R^2 = -0.9995$;斜率为 -0.126 ,则反应速率常数 $K = 0.126 \text{ min}^{-1} = 0.0021 \text{ s}^{-1}$; $t_{1/2} = \ln 2/k = 0.693/0.126 = 5.5 \text{ min}$ 。

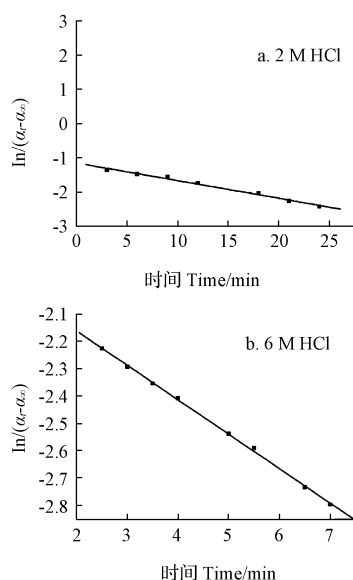


图 2 芦荟多糖酸水解反应速率

Fig. 2 Acid hydrolysis rate of aloe polysaccharide

综上所述,2 种浓度 HCl 作催化剂的芦荟多糖水解反应均符合一级动力学反应。即在水解反应过程中,随反应时间增加,多糖的水解反应速度与反应物的浓度成

正比关系,但随催化剂浓度的增加,水解反应速率明显增大。因此工业生产中,可以通过改变催化剂浓度,控制反应速率,缩短反应时间,可较好的保持低聚糖的生物学活性。

3 讨论与结论

经过改良的超声醇沉法得到的芦荟多糖由于没有高温,没有其它溶剂的影响,可极大程度保护芦荟多糖的活性,而且比传统方法操作简便,能耗小,得到芦荟多糖产率相差无几,适合推广于工业生产。

通过对芦荟多糖酸水动力学研究可知,改良超声醇沉法提取的芦荟多糖,在添加不同浓度 HCl 的酸水解过程中,均符合一级反应类型。其反应速度只与反应物浓度的一次方成正比,而且添加高浓度的 HCl 催化剂,可加快反应速率,缩短反应时间,从而较好保持低聚糖的生物学活性。因此在工业生产中,可通过控制反应速率和条件来制备目标分子量规格的产品,对芦荟多糖的开发具有重大意义。

参考文献

- [1] 周媛,陈冬梅. 芦荟的毒理研究进展[J]. 现代农业科技,2006(6): 118-119.
- [2] 李天东,罗英,李俊刚. 芦荟多糖生物活性研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(5):2033-2035.
- [3] 于芳,胡云,彭常安,等. 芦荟汁的抑菌作用[J]. 食品科学,2004,25(10):77-80.
- [4] Saini M, Goyal P K, Chaudhary G. Anti-tumor activity of Aloe Vera against DMBA/croton oil-induced skin papillomagenesis in *Swiss albino* mice [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2010;29(2):127-135.
- [5] 郑敏霞,丰素娟. 芦荟的药用研究进展[J]. 浙江中医药大学学报, 2006,30(3):313-315.
- [6] 崔晏. 苦瓜多糖和芦荟多糖的降血糖作用及其机理的研究[D]. 济南:山东大学,2003.
- [7] 张素兰. 芦荟多糖免疫调节作用研究进展[J]. 安徽农业科学,2009, 37(32):15837-15839.
- [8] 于洁,李威. 含芦荟多糖与维生素 E 乳状化妆品的制备及其性能 [J]. 日用化学工业,2007(4):281-282.
- [9] 杨继远,袁仲. 芦荟化学成分的保健功效与产品开发[J]. 农牧产品开发,2001(4):6-8.
- [10] Lu Z Q, Deng Y J, Lu J X. Effect of aloe polysaccharide on caspase-3 expression following cerebral ischemia and reperfusion injury in rats [J]. Molecular Medicine Reports, 2012,6(2):371-374.
- [11] 王俊玲,张丽芳,倪中海,等. 芦荟多糖的提取及总糖含量测定[J]. 海峡药学,2002(5):57-69.
- [12] 马稳,袁红霞. 微波辅助提取芦荟中芦荟多糖的研究[J]. 食品科技, 2008(9):162-168.
- [13] 刘晓鹏,姜宁,向东山. 库拉索芦荟多糖超声辅助提取工艺的研究 [J]. 食品科学,2008,29(10):286-289.
- [14] 张燕. 白及多糖酸水动力学研究[D]. 苏州:苏州大学,2010.
- [15] 齐慧玲,魏绍云,王继伦. Sevag 法去除白及多糖中蛋白的研究[J]. 天津化工,2000(3):20-21.

纳米银和硫代硫酸银预处理对减轻蜡花切花乙烯伤害的研究

刘季平^{1,2}, 张昭其², 李红梅¹, 冼锡金¹, 黎洪波¹, 何生根¹

(1. 仲恺农业工程学院 生命科学学院, 广东 广州 510225; 2. 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642)

摘要:以乙烯敏感型切花蜡花为试材,用 10、20 mg/L 纳米银(nano-silver, NS)溶液及 0.5 mmol/L 硫代硫酸银(silver thiosulfate, STS)溶液分别预处理蜡花切花茎基端 24 h,以去离子水为对照,随后移至去离子水中瓶插,并用 5 μ L/L 外源乙烯处理 24 h,观测瓶插期间的观赏品质、瓶插寿命和花朵脱落率。结果表明:乙烯处理可加快蜡花切花失水凋萎及花朵脱落,并抑制花朵开放,而 NS 和 STS 预处理可显著减轻乙烯处理对蜡花切花的不利影响,其中以 0.5 mmol/L STS 处理效果最佳,10 mg/L NS 处理次之;另外,采用电感耦合等离子体-原子发射光谱(ICP-AES)法测定 10 mg/L NS 和 0.5 mmol/L STS 溶液预处理后银(Ag)在蜡花切花体内分布发现,2 种处理的茎末端、茎上部、花瓣和叶片均有 Ag 分布,但 NS 处理的茎末端 Ag 含量明显高于 STS 处理,而前者花瓣 Ag 含量则显著低于后者。

关键词:蜡花切花;纳米银;硫代硫酸银(STS);乙烯;花朵脱落

中图分类号:S 681.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)12-0112-04

蜡花(*Chamelaucium uncinatum*)属桃金娘科(Myrtaceae)蜡花属(*Chamelaucium*)植物^[1-2]。蜡花切花是典

型的乙烯敏感型切花,采后贮运过程中的水分缺失、病菌感染等都会促使蜡花内源乙烯释放量增加而导致其小花脱落^[3-4]。Ag⁺可通过竞争性地结合到乙烯作用位点而有效抑制乙烯的作用,而硫代硫酸银(silver thiosulfate, STS)作为一种含 Ag 的阴离子复合物,可有效防止由乙烯引起的蜡花脱落^[5-6],目前在蜡花切花贮运保鲜上广泛应用。但是 STS 溶液性质不稳定,见光易有沉淀产生、需要现配现用,且使用浓度较高,废液进入环境中会造成对土壤和水体的污染,因此其应用受到关注和限制^[7-8]。

第一作者简介:刘季平(1982-),女,博士,实验员,研究方向为切花采后生物学。E-mail:liujipingpipi@163.com.

责任作者:何生根(1965-),男,博士,教授,研究方向为观赏植物生物学。E-mail:howtoroot@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31071829,31272193);广东省自然科学基金资助项目(10151022501000035, S2012010010418);广东省高校优秀青年创新人才培养计划资助项目(2012LYM0079)。

收稿日期:2014-01-17

Study on Kinetics of Acid Hydrolysis and Extraction of Polysaccharide From Aloe

CHEN Ping, MIAO Xiao-yan, HE Fu-qiang

(Department of Biochemistry, Baoding University, Baoding, Hebei 071000)

Abstract: Taking fresh Curacao aloe as material, polysaccharide was extracted by the optimized ultrasound alcohol sedimentation method, the polysaccharides was determined in different concentration of HCl conditions with the optical method. The results showed that the hydrolysis reactions was coincidence with first grade equation. The optimized traditional alcohol sedimentation method was suitable for the industrial production because of simplified procedure and low energy consumption; these results would lay a theoretical foundation for the development application of aloe polysaccharide, especially in the preparation of active oligosaccharide with certain molecular under the acid-controllable conditions.

Key words: aloe polysaccharide; extraction; acid hydrolysis kinetics