

水溶液提取荞麦水溶性多糖的研究

柴瑞娟, 马加红, 徐的琴

(安徽工程科技学院生化系, 安徽芜湖 241000)

摘要: 用水溶液提取荞麦水溶性多糖, 分别用料水比(1:20, 1:30, 1:40)和提取时间(1, 2, 3h), 提取温度(70, 80, 90)三因素三水平正交法提取多糖, 并研究了这三个因素对多糖得率的影响。方差分析表明, 此提取模型选择恰当($P < 0.05$), 同时温度对多糖提取影响显著($P < 0.05$), 料水比对多糖提取影响较显著($P < 0.1$), 时间影响不显著。在本实验条件下, 荞麦多糖的得率达 16.50%。同时用 Sevag 方法除蛋白, 石油醚回流脱脂, 淀粉酶、纤维素酶除去淀粉和纤维素, 双氧水脱去色素对多糖进行了纯化。

关键词: 荞麦, 多糖, 正交

中图分类号: TS210.1 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2007)04-0163-02

荞麦是一种具有保健功能的食品, 其营养价值倍受青睐, 并且已有报道荞麦多糖具有一定的药理作用^[1], 但对水溶液提取荞麦多糖的报道国内还很少见。本文首次报道了水溶液提取荞麦水溶性多糖的条件, 并研究了提取条件对多糖提取率的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

淀粉酶, 纤维素酶, 分析纯试剂。

JF-SD-70 实验室粉碎磨 上海嘉定粮油检测仪器厂; Sp-723 紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; 数显恒温水浴锅、80-2 离心机 国华电器; 旋转式蒸发仪 上海青浦沪西仪器厂; 冷凝回流装置等。

1.2 实验方法

收稿日期: 2006-09-25

作者简介: 柴瑞娟(1975-), 女, 硕士, 讲师, 主要从事植物化学方面的研究。

1.2.1 葡萄糖标准曲线的制备及多糖含量的计算

1.2.1.1 葡萄糖标准曲线的制备 精密称取干燥的葡萄糖 50mg, 加适量去离子水溶解, 并于 500mL 的容量瓶中定容, 吸取上述葡萄糖母液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL 分别置于试管中, 加去离子水至 10mL, 再分别吸取 1.0mL 置于另外的试管中, 然后加入 1.0mL 去离子水和 1.0mL 6.0% 的苯酚溶液, 并迅速滴加浓硫酸 5.0mL, 静置 10min, 摇匀再静置 20min, 另外取一试管用去离子水代替葡萄糖溶液作对照, 用紫外可见分光光度计在 490nm 处测定它们的吸光度 (OD), 并以葡萄糖含量 (mg) 为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制标准曲线, 得到回归方程为: $y = 4.733x + 0.005$, $r = 0.982$ (x 为葡萄糖浓度, y 为吸光值)。

1.2.1.2 多糖含量的计算^[2]

多糖含量 (M) (mg/mL) = 葡萄糖浓度 \times 样品稀释倍数 (n) $\times 0.9$

(0.9 为葡萄糖换算成多糖的系数)。

多糖提取率 = 多糖含量 (M) \times 多糖溶液体积 (V1) / 荞麦质量 (G) $\times 100\%$

1.2.2 荞麦前处理

1.2.2.1 原料处理 用实验室粉碎磨粉碎荞麦。

1.2.2.2 脱脂 称取一定量粉碎好的荞麦粉, 用 3 倍量 (w/v) 石油醚回流脱脂 2 次, 将处理后的荞麦放入 70 的风箱中风干备用。

1.2.2.3 除淀粉^[3] 上步处理的荞麦放入 1000mL 的大烧杯中, 加 400 mL 0.5 mg/mL 的淀粉酶液和 600mL pH 为 7.0 的 NaH_2PO_4 缓冲溶液, 并在 40 恒温水浴锅中保温, 并不断搅拌, 每隔 1h 取出一点样液, 用碘液和它反应, 直到反应为无色, 抽滤。

[17] Kreft, S Knapp M, Kreft I. Extraction of rutin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds and determination by capillary electrophoresis [J]. J Agric Food Chem, 1999, 47: 4649 ~ 4652.

[18] Dietary supplement for insulin-resistant diabetics [P].

United states patent: 5,124,360.

[19] Suzuki T, Sakurada H, Meguro H, et al. Content and distribution of rutin in buckwheat (Japanese) [J]. New Food Ind, 1987, 29(6): 29 ~ 32.

1.2.2.4 除纤维素 上步抽滤后的荞麦再加 300mL 1.0mg/mL 的纤维素酶液和 600mL pH 为 7.0 的 NaH_2PO_4 缓冲液,并在 40 恒温水浴锅中保温并不断搅拌,每隔 1h 取出一点样液,用浓硫酸和碘液与它反应,直到反应为无色,抽滤,抽滤后的荞麦放入 80 的风箱中风干备用。

1.2.2.5 除糖 用体积分数 80%的乙醇 5 倍回流提取 2h,除去单糖和低聚糖。重复 2 次,抽滤,抽滤后的荞麦放入 80 的风箱中风干备用。

1.2.3 称取上述处理好的荞麦适量(G),用正交法^[4,6]研究荞麦多糖提取时料水比、提取温度和提取时间三因素对荞麦多糖得率的影响。然后用 Sevag^[5]方法除蛋白,直到 280nm 基本无光吸收,旋转蒸发仪浓缩后用 3 倍 95%乙醇沉淀多糖 12h,离心,沉淀经无水乙醇、丙酮、乙醚依次洗涤干燥^[6]后再用一定体积(V_i)去离子水溶解,从此多糖溶液中取 1mL 适当稀释(倍数 n)后检测,发现在 200nm 有多糖特征光吸收,再用苯酚-硫酸法测定其 OD₄₉₀ 值,以 1.2.1.2 中公式计算多糖含量。

2 结果与分析

2.1 水溶液提取荞麦水溶性多糖正交实验结果

表 1 正交实验结果分析

实验号	A 料水比 (w/v)	B 温度 ()	C 时间 (h)	多糖得率 (%)
1	120	70	3	12.80
2	120	80	1	10.90
3	120	90	2	3.40
4	130	70	3	16.50
5	130	80	2	15.10
6	130	90	1	9.30
7	140	70	2	14.50
8	140	80	1	11.00
9	140	90	3	3.40
K ₁	27.10	43.80	31.20	
K ₂	40.90	37.00	33.00	
K ₃	28.90	16.10	32.70	
k ₁	9.03	14.60	10.40	
k ₂	13.63	12.33	11.00	
k ₃	9.63	5.37	10.90	
R	4.60	9.23	0.60	
优水平	A ₂	B ₁	C ₂	
主次顺序		B>A>C		

由表 1 可知,水溶液提取荞麦中多糖的较好条件是料水比为 130,在 70 的恒温水浴锅中保温 2h,即对应的优化组合为 A₂B₁C₂。由极差分析可知,多糖提取因素的主次顺序为 B>A>C,即温度影响最大,料水比次之,时间最小。

2.2 方差分析

方差分析表明,提取模型选择恰当(P<0.05)温度对多糖的提取差异影响显著(P<0.05),料水比影响较显著(P<0.1),表明荞麦多糖提取工艺中温度和料水比起主要作用,而时间差异不显著,表明时间对多糖提取影响较小。

3 小结

植物多糖在医疗和保健方面的作用正受到越来越多的人的重视,但多糖的提取条件和得率是影响多糖应用的很大原因。常见的多糖提取方法是用水、酸、碱溶液或二甲亚砜来做溶媒,但二甲亚砜对人体有害,不适宜用来提取多糖^[7]。本研究首次报道用水溶液提取荞麦多糖,并研究了料水比,提取时间,提取温度三因素对多糖得率的影响,结果表明,其中温度影响最大,料水比次之,时间最小。在本实验条件下,荞麦多糖的得率是 16.50%,本研究为荞麦的深加工和进一步利用提供了一定依据。

参考文献:

- [1] 曾靖,张黎明,江丽霞,等.荞麦多糖对小鼠实验性肝损伤的保护作用[J].中药药理与临床,2005,21(5):29-30.
- [2] 林加涵,魏文玲,彭宣宪主编.现代生物学实验下册[M].北京:高等教育出版社,2001.7-8.
- [3] 尹源明,何国庆,郑小东,等.大麦中活性多糖提取的研究[J].中国粮油学报,2002,7(1):43-44.
- [4] 陶勤南.农业试验设计与统计方法 100 例(第二版)[M].西安:陕西科学技术出版社,1987.329-385.
- [5] Staub A N. Removal of Protein from polysaccharides[J]. Methods in Carbohydrate Chemistry,1965(5):5.
- [6] 周浓.荔枝粗多糖提取工艺的研究[J].现代食品科技,Vol22(3):121-123.
- [7] 孙锋,谷文英,丁宵霖.山药粗多糖的提取工艺[J].食品与生物技术学报,Vol.25(3):79-83.

表 2 正交实验方差分析

数据来源	自由度 DF	变动平方和	平均变动	F 值	显著性
模型	6	177.5733333	29.5955556	20.36	0.0475
料水比(w/v)	2	37.5200000	18.7600000	12.91	0.0719
温度()	2	138.9266667	69.4633333	47.80	0.0205
时间(h)	2	1.1266667	0.5633333	0.39	0.7207
Error	2	2.9066667	1.4533333		
Corrected Total	8	180.4800000			