

酶法提取大枣多糖的研究

(河南中医学院, 郑州 450008) 杨云 谢新年 孟江 冯卫生

摘要: 比较了大枣多糖的多种提取方法。结果表明, 复合酶法为最佳提取方法, 即调 pH=7, 先加胰蛋白酶 3%, 65°C 水温浸 1.5h, 再加木瓜蛋白酶 2.5%, 55°C 温浸 1h

关键词: 大枣, 多糖, 复合酶, 提取

Abstract: The different extraction methods of polysaccharide in *Zizyphus jujuba* MILL. were compared. The result showed that the compound enzymatic way was the best one. The optimum extraction conditions were to add 3 percent of trypsin and extract 2h at temperature 65°C, pH value 7 and then add 2.5 percent of papain, temperature 55°C, pH value 7 and extract 1 h.

Key words: *Zizyphus jujuba* MILL.; polysaccharide; compound enzymatic; extraction

中图分类号: TS201.25 文献标识码: A
文章编号: 1002-0306(2003)10-0093-03

大枣味道鲜美, 营养丰富, 是深受人们喜爱的食品, 也是传统的中药, 其主要化学成分有多糖、蛋白质、氨基酸、维生素、生物碱、皂苷及矿物质等。本课题组研究表明, 大枣多糖具有增强巨噬细胞吞噬功能、促进淋巴细胞转换、抗衰老、补血及保肝的作用。传统的多糖水煎煮法提取效率较低, 本文采用复合酶法提取, 以提高多糖的得率, 降低生产成本, 为大枣的深开发开辟一条途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大枣 购于河南新郑金叶香料有限公司; AB-8 型大孔吸附树脂, 717 型阴离子交换树脂, 732 型阳离子交换树脂, 所用试剂 均为分析纯或化学纯。

722 型分光光度计 上海第三分析仪器厂; 医用离心机 LD5-10, 北京医用离心机厂; 电导率仪 DDS-11A 型, 上海大中分析仪器厂。

1.2 分析方法

总糖检测方法-苯酚硫酸法; 蛋白质含量测定方法-紫外吸收法^[1]; 数据处理方法-加权平均法。

收稿日期: 2003-01-21

作者简介: 杨云(1957-), 女, 教授, 研究方向: 中药新药的研究与开发。

2 结果与分析

2.1 不同酶提取方法的比较

取大枣果肉适量, 加 40 倍水并分别加 2% 胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、复合酶 1(木瓜蛋白酶加胰蛋白酶)、复合酶 2(先胰蛋白酶提, 后木瓜蛋白酶提), 在 pH=7, 55°C 条件下提取, 提取液减压浓缩至 1:2, 70% 乙醇沉淀, 静置过夜, 抽滤得粗多糖沉淀。沉淀用无水乙醇、丙酮、无水乙醚依次洗涤, 真空干燥, 得粗多糖, 测定多糖收率、含量及蛋白质含量, 结果见表 1。

表 1 不同酶提取方法的比较

	多糖得率 (%)	多糖含量 (%)	蛋白质含量 (%)	综合评分
胃蛋白酶(pH=7)	19.2	21.34	0.45	48.30
胃蛋白酶(pH=2)	18.57	20.19	0.52	45.17
木瓜蛋白酶	27.66	47.1	0.35	71.21
胰蛋白酶	51.43	44.69	1.17	58.65
复合酶 1	22.5	56.46	0.59	64.72
复合酶 2	53	68.13	0.28	100

由表 1 可看出, 不同酶对大枣多糖提取效果的影响因素依次为: 复合酶 2>木瓜蛋白酶>复合酶 1>胰蛋白酶>胃蛋白酶(pH=7)>胃蛋白酶(pH=2)。复合酶 2 作用条件温和, 多糖得率及含量较高, 且蛋白含量较低, 为一种理想的酶提取剂, 因此有必要对复合酶 2 最佳提取条件进行探讨。

2.2 复合酶法最佳提取条件的优选

根据文献报道^[2], 影响酶法提取多糖的因素主要有酶添加量、pH、温度、时间等, 采用单因素实验选择最佳 pH, 利用正交试验对酶添加量、温度、时间等因素进行考察。称取大枣 10g 共 9 份, 按正交设计表条件进行提取, 提取液浓缩至 1:5, 70% 醇沉, 静置过夜, 抽滤得粗多糖, 沉淀用无水乙醇、丙酮、无水乙醚依次洗涤, 真空干燥, 测多糖得率及含量。试验结果及方差分析见表 2。

2.2.1 胰蛋白酶最佳提取条件的优选

2.2.1.1 正交试验 正交试验及方差分析结果表明, 胰蛋白酶提取多糖的影响因素大小顺序为: A>B>C,

表2 胰蛋白酶酶法提取大枣多糖 L₉(3⁴)正交试验方案及结果

试验号	A 温度(°C)	B 酶添加量(%对底物)	C 时间(h)	D	多糖得率(%)	多糖含量(%)	综合评分
1	1(45)	1(2.0)	1(1.5)	1	16.4	73.99	80.69
2	1	2(3.0)	2(2.5)	2	11.3	84.63	77.38
3	1	3(4.0)	3(3.5)	3	20	40.99	66.50
4	2(55)	1	2	3	9.29	66.8	61.82
5	2	2	3	1	12.3	72.7	71.66
6	2	3	1	2	13.4	84.2	61.30
7	3(65)	1	3	2	11.48	92.7	82.96
8	3	2	1	3	17.14	89.6	92.27
9	3	3	2	1	12.12	89.4	82.10
K ₁	224.57	225.47	234.26	234.45	G=676.68		
K ₂	194.78	241.31	221.3	221.64	CT=50877.3		
K ₃	257.33	209.9	221.12	220.59			
k ₁	50431.68	50836.72	54877.7	54966.8			
k ₂	37939.2	58230.52	48973.69	49124.3			
k ₃	66218.73	44058	48894.05	48659.95			
R	154589.6	153125.2	152745.4	152751.1			
S	652.57	164.4467	37.84667	39.71667			

表3 方差分析表

方差来源	离差平方和 SS	自由度 r	方差(MS)	F 值	显著性 P
A	652.57	2	326.29	16.83	※
B	164.4467	2	82.2	4.24	
误差	77.56	4	19.39		

注:※表示有显著性影响, F_{0.05}(2,4)=6.94, F_{0.01}(2,4)=18.

表4 不同 pH 对木瓜蛋白酶提取大枣多糖的影响

pH	多糖得率(%)	多糖含量(%)	综合评分
5	14.7	44.8	79.21
6	15.28	52.6	88.11
7	16.18	62.7	100
8	11.94	50.3	77.65

其中 A 因素各水平之间有显著性差异, 最佳提取条件为: A₃B₂C₁, 即加入胰蛋白酶 3%, 于 65°C 温浸 1.5h.

2.2.1.2 pH 对胰蛋白酶提取大枣多糖的影响 在温度 65°C, 酶加入量 3%, 提取时间 1.5h 的条件下, 调 pH 分别为 5、6、7、8、9 提取, 提取液浓缩至 1:2, 70%

醇沉, 静置过夜, 抽滤得粗多糖, 沉淀、真空干燥, 计算得率及多糖含量, 试验结果见表 4.

由表 4 看出, pH=7 综合评分最高, 综上所述, 胰蛋白酶最佳提取条件为: 加胰蛋白酶 3%, 40 倍溶剂于 pH=7、65°C 温浸 1.5h.

2.2.2 木瓜蛋白酶最佳提取条件优选

2.2.2.1 正交试验 正交试验及方差分析结果表明, 木瓜蛋白酶提取多糖的影响因素大小顺序为: C>A>D, 其中提取时间各水平之间有极显著性差异 (P<0.01), 最佳提取条件为: C₂A₁D₁, 即在温度为 55°C, 酶加入量 2.5%, 提取时间 1h.

表5 木瓜蛋白酶酶法提取大枣多糖 L₉(3⁴)正交试验方案及结果

试验号	A 温度(°C)	B	C 酶添加量(%对底物)	D 时间(h)	多糖得率(%)	多糖含量(%)	综合评分
1	1(55)	1	1(2.0)	1(1)	62.76	22.6	88.63
2	1	2	2(2.5)	2(2)	59.21	20.34	82.26
3	1	3	3(3.0)	3(3)	65.42	19.84	87.27
4	2(60)	1	2	3	25.73	24.62	57.44
5	2	2	3	1	22.43	29.1	40.57
6	2	3	1	2	29.36	21	55.8
7	3(65)	1	3	2	36.53	17.24	57.2
8	3	2	1	3	21.96	22.7	51.34
9	3	3	2	1	54.75	28.3	89.11
K ₁	258.16	203.27	195.77	218.31			
K ₂	153.816	174.17	228.81	195.26			
K ₃	197.65	232.18	185.04	196.05			
k ₁	66646.59	41318.69	38325.89	47659.26	G=609.62		
k ₂	23659.36	30335.19	523540.02	38126.47	CT=41292.95		
k ₃	39065.52	53907.55	34239.80	38435.60			
R	129371.47	125561.43	596105.71	124221.56			
SS	1830.87	560.86	157408.95	114.24			

海带枣冻的研制

(河北农业大学农学系, 保定 071001) 马利华 李晓丽

摘要:以海带、红枣为主要原料,明胶为最佳凝胶剂,6%明胶与30%白砂糖、6%柠檬酸进行配比,使海带枣冻的色泽、风味均达到上乘质量。

关键词:海带,红枣,果冻,凝胶剂

中图分类号: TS255.43 文献标识码: A
文章编号: 1002-0306(2003)10-0095-02

海带营养丰富,被誉为“人类营养元素的宝库”,含有多种对人体健康有特殊作用的物质,其热量低,风味清淡;红枣不仅有很高的营养价值,其药用价值

收稿日期: 2002-12-12

作者简介: 马利华(1966-),女,工程师,研究方向:植物生理生化。

也很高。其中含山楂酸等三萜类化合物和二磷酸腺苷等多种抗肿瘤的活性物质,还含有达玛烷型皂苷,具有抗疲劳作用。我们通过对海带及红枣的营养分析,对果冻凝胶剂的选择及凝胶条件等方面进行了研究,确定了最佳凝胶剂及合理的工艺配方,制成了色泽鲜艳,营养丰富,口感细腻柔和,风味独特的海带枣冻。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

金丝小枣 河北沧州产;海带、蜂蜜 市售;白砂糖、柠檬酸 市售;果胶、明胶 市售;琼脂、卡拉胶 市售。

表6 方差分析表

方差来源	离差平方和 SS	自由度 r	方差(MS)	F 值	显著性 P
A	1830.87	2	915.44	5.42	
C	157408.95	2	78704.48	466.31	*
误差	675.1	4	168.78		

注: *表示有显著性影响, $F_{0.05}(2,4)=6.94$, $F_{0.01}(2,4)=18$ 。

2.2.2.2 pH对木瓜蛋白酶提取大枣渣多糖的影响 在温度55℃,酶加入量2.5%,提取时间1h的条件下,调pH分别为5、6、7、8、9,提取液浓缩至1:2,70%醇沉,静置过夜,抽滤得粗多糖沉淀,真空干燥,计算得率及多糖含量。试验结果见表7。

表7 不同pH对木瓜蛋白酶提取大枣多糖的影响

pH	多糖得率(%)	多糖含量(%)	综合评分
5	13.69	55.36	82.54
6	13.6	57.23	84.35
7	22.34	46.4	88.65
8	17.59	45.89	79.61
9	15.63	43.32	73.41

由表7看出,pH=7时综合评分最高,综合上述实验结果,确定木瓜蛋白酶提取最佳水解条件为:温度55℃,pH=7,酶加入量2.5%,提取时间1h。

3 结论

3.1 复合酶2最佳提取条件为:先加胰蛋白酶3%,40倍水于pH=7、65℃温浸1.5h;再加木瓜蛋白酶2.5%,在pH=7、55℃温浸1h。

3.2 酶提取能够提高多糖的提取率及多糖含量主要是因为酶对大枣中的游离蛋白质具有水解作用,使大枣结构变得松散;同时酶还会使糖蛋白和蛋白聚糖中游离的蛋白质水解,降低了它们与原料的结合力,有利于多糖的浸出。由于酶具有除蛋白作用,提取液中只含少量蛋白质,减轻了下一步除蛋白的任务,所以酶法是一种理想的提取方法。

参考文献:

- [1] 蔡武城,袁厚积主编.生物物质常用化学分析法[M].科学出版社,1982.98.
- [2] 孙向军.螺旋藻多糖提取新工艺的研究[J].食品科学,2000(2):32~34.