

植物多糖的提取及对双歧杆菌的增殖作用

邱宏端, 林娟, 宋智晶, 石丽荣

(福州大学)

摘要: 采用水提法提取枸杞、红枣、甘薯、淮山 4 种植物原料及花菇多糖, 正交设计优化提取条件, 并将植物提取多糖用于双歧杆菌的增殖试验。结果表明, 植物多糖提取优化条件, 加水比例分别为: 枸杞、红枣 1:10, 花菇 1:15, 甘薯 1:3, 淮山 1:9; 提取温度: 80~95 °C; 提取时间 1~3 h。5 种原料在优化条件下的多糖提取率相对于植物取样质量分别为: 枸杞 51.18%、红枣 53.12%、花菇 28.12%、甘薯 18.18%、淮山 18.13%。5 种原料提取多糖对双歧杆菌的增殖作用: 菌体在对数生长期生长速率常数(R)提高 135%~85%, 世代时间(G)缩短 56%~44%。

关键词: 植物多糖; 提取; 双歧杆菌; 增殖作用

中图分类号: S377

文献标识码: A

文章编号: 1002-2689(2002)02-0096-05

活性多糖专指具有某种特殊生物活性的多糖化合物, 包含植物多糖、真菌多糖等。这类多糖作为广泛的免疫促进剂而引起人们的极大关注, 近 20 年来, 多糖的研究十分活跃, 其作用有促进多种免疫缺损疾病, 抗肿瘤、抗消化性溃疡、降低血糖血脂和促进双歧杆菌增殖等功能^[1,2]。

双歧杆菌能维持宿主肠道的微生态平衡, 提高人体对乳糖的耐受性; 具有抑制肠道病原菌生长, 改善蛋白质代谢; 并能合成多种维生素, 促进机体免疫功能等^[3,4]。由于人体肠道中双歧杆菌的数量随着年龄的增大而减少^[5,6], 近年来, 国内外出现了研究开发双歧杆菌产品的热潮, 目前主要的产品有酸乳制品、胶囊等, 但该类活菌制剂保存有效性较差及活菌摄入机体后受到胃酸影响的限制, 使向机体补充双歧杆菌的效果降低。因而, 向体内补充双歧生长因子, 采用促进双歧杆菌增殖的物质来补充体内有益菌群将是一条更易被接受的途径^[7]。在双歧生长因子中, 低聚糖类是最重要和最有效的, 如果糖低聚糖、大豆低聚糖、异麦芽寡糖等都具有促进双歧杆菌的增殖作用^[2,5,7]。我国植物资源丰富, 许多植物多糖对双歧杆菌的增殖作用研究还较为少见。本文报道了枸杞、红枣、甘薯、淮山、花菇 5 种原料多糖的提取与条件优化, 以及提取多糖对双歧杆菌的增殖作用。该研究为开发新双歧生长因子, 进一步丰富植物多糖的功能有着积极、重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料及设备

植物原料: 枸杞、红枣、花菇、甘薯、淮山均为市售(枸杞、红枣、花菇为干制品, 甘薯、淮山为新鲜原料)。双歧杆菌 W : 由南昌大学中德联合研究所提供。双歧杆菌基础培养基^[5]: 大豆蛋白胨 0.15 g, 胰酪 0.15 g, L 2 半胱氨酸 0.105 g, 酵母膏 110 g, 葡萄糖 110 g, 吐温 80 0.11 mL, 无机盐液 410 mL (每 1 L 含 CaCl₂ 0.12 g, K₂HPO₄ 110 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.148 g, pH₂PO₄ 110 g, NaHCO₃ 1010 g, NaCl 210 g), H₂O 100 mL, pH 7.10。

主要设备: 厌氧培养箱 (DY21 型, 浙江义乌冷冻机总厂制造), 托盘式扭力天平 (TN 2100B 型), 电热恒温水浴锅 (WSZ2133265 型), PHS23C 型酸度计 (上海雷磁电器厂), 便携式糖度计 (泉州光学仪器厂)。

主要参数测定与计算

多糖含量: 手提糖度计法

多歧杆菌数量: 平板菌落计数法

植物多糖提取率(%) : $\frac{\text{浸提液中多糖质量} \times 100}{\text{植物取样质量}}$ ^[8]

双歧杆菌对数生长期生长速率常数(R) : $\frac{3.1322}{(\lg X_2 - \lg X_1) \cdot (t_2 - t_1)}$ ^[9]

双歧杆菌对数生长期世代时间(G) : $\frac{(t_2 - t_1) \cdot 3.1322}{\lg X_2 - \lg X_1}$ ^[9]

式中 t_1, t_2 为培养时间, X_1, X_2 为培养 t_1, t_2 时间时的双歧杆菌细胞数量 (个/mL) 或 ($n \cdot \text{mL}$)

1.2 试验方法

1) 植物原料多糖提取

植物原料多糖提取基本工序: 原料处理 (如甘

收稿日期: 2001210212

作者简介: 邱宏端, 女, 副教授, 福州市福州大学生物与食品科学工程系, 350002

薯、淮山去皮, 红枣去核, 花菇去蒂) — 称量 — 切成细块 (枸杞除外) — 按一定加水比于水浴锅中保温提取 — 过滤除渣 — 提取液粗多糖含量测定 — 常压浓缩 — 植物粗多糖。

2) 植物多糖提取条件优化

采用正交设计^[10]探讨提取温度, 原料加水比和提取时间对不同植物原料提取多糖的影响。

3) 植物提取多糖对双歧杆菌的增殖作用

双歧杆菌基础培养液中添加植物提取粗多糖为试验组, 基础培养液为对照组, 各培养液分别装入 $18 \times 180 \text{ mm}$ 试管中, 10 mL 支装量, 121 灭菌 15 min 后接种双歧杆菌菌种 1 mL, 37 厌氧培养一定时间, 分别取 1 mL 菌种培养液测定双歧杆菌细胞数量, 以基础培养液中双歧杆菌细胞数量为参比, 衡量各植物提取多糖对双歧杆菌的增殖作用^[5]。

2 结果

2.1.1 植物多糖提取及对双歧杆菌的增殖基础实验

枸杞、花菇、红枣多糖提取加水比 1 : 10, 淮山、甘薯多糖提取加水比 1 : 6, 分别于 80 温度下浸提 3 h, 滤液浓缩成膏状 (固形物含量大于 70%), 后以 0.12% 添加量添加到双歧杆菌基础培养液中, 经灭菌、接种, 厌氧培养 24 h, 测定双歧杆菌细胞数量。结果显示 (表 1), 5 种原料提取多糖对双歧杆菌均具有明显的增殖作用。表中两批次菌体数量相差较大, 应是菌体初始浓度差异所致。

表 1 植物提取多糖对双歧杆菌增殖基础试验结果

Table 1 The basic experimental effects of polysaccharose extracted from vegetable on the multiplication of bifidobacterium

批次	双歧杆菌细胞数量 $\times 10^8$ 个/mL					
	枸杞	淮山	甘薯	花菇	红枣	对照
1	114	0184	115	0175	0197	0129
2	0145	0133	0138	0135	0127	0111

注: 菌体起始浓度 1 批次 512×10^6 个/mL, 2 批次 510×10^4 个/mL

2.1.2 植物提取多糖条件优化

植物提取多糖条件优化试验, 首先按原料质地、含水率不同分为 3 类, 后按表 2 设计因素水平, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验方案, 以粗多糖提取率为指标衡量各因素水平的效果, 并用方差分析检验显著性因素, 结果如表 3、4。

表 2 不同植物多糖提取因素水平表

Table 2 The level of extracting factors of different vegetal polysaccharose

水平	因素				
	提取温度 $T/^\circ\text{C}$	原料加水比			提取时间 t/h
		É	°	、	
1	65	1 : 5	1 : 3	1 : 10	1
2	80	1 : 10	1 : 6	1 : 15	2
3	95	1 : 15	1 : 9	1 : 20	3

注: É 类为枸杞、红枣, ° 类为甘薯、淮山, 、 类为花菇原料

表 3 不同植物多糖提取 $L_9(3^4)$ 正交试验方案及结果

Table 3 The schemes and results of orthogonal design of extraction of different vegetal polysaccharose $L_9(3^4)$

试验号	提取温度 $T/^\circ\text{C}$ (A)	加水比 (B)	提取时间 t/h (C)	4	提取率 $\%$				
	1	2	3		枸杞	红枣	甘薯	淮山	花菇
1	1	1	1	1	2912	3416	5138	2156	1615
2	1	2	2	2	4514	5217	8100	3105	2118
3	1	3	3	3	4817	4513	5171	4148	2212
4	2	1	2	3	2918	3710	1717	1212	1618
5	2	2	3	1	4713	4811	1811	1613	2216
6	2	3	1	2	5017	4314	1216	1619	1915
7	3	1	3	2	3819	4715	1812	1211	2312
8	3	2	1	3	3611	4515	1418	1616	2614
9	3	3	2	1	5110	4018	1318	1811	2714
枸杞 K_1	12313	9718	11611	12717					
K_2	12717	15818	12614	13511			$T = 37719$		
K_3	12612	15016	13419	11416					
红枣 K_1	13217	11912	12315	12315					
K_2	12815	14613	13015	14316			$T = 39419$		
K_3	13318	12915	14019	12718					

续表 3

试验号	提取温度 $T/^\circ\text{C}$ (A)	加水比(B)	提取时间 t/h (C)		提取率 $\delta\%$				
	1	2	3	4	枸杞	红枣	甘薯	淮山	花菇
甘薯 K_1	19109	41138	32178	3712					
K_2	4814	4019	3915	3819			$T = 11414$		
K_3	4619	32111	4211	3812					
淮山 K_1	10109	26186	36106	36196					
K_2	4514	35195	33135	32105			$T = 10213$		
K_3	4618	39148	32188	33128					
花菇 K_1	6015	5615	6214	6611					
K_2	5819	7018	6612	6415			$T = 19616$		
K_3	7712	6913	6810	6514					

表 4 植物多糖提取条件优化及显著性因素

Table 4 The optimization of extracting conditions of different vegetal polysaccharose and the test of marked factors

植物原料	正交各因素主次关系	优化水平	显著性因素
枸杞	B—A C	A ₂ B ₂ C ₃	
红枣	B—C A	A ₂ B ₂ C ₃	
甘薯	A—B C	A ₂ B ₁ C ₃	A ³ B ³ C ³
淮山	A—B C	A ₂ B ₃ C ₁	A ³ B ³
花菇	A—B C	A ₂ B ₂ C ₃	A ³ B ³

由表 3、表 4 可知, 植物多糖提取优化条件: 枸杞提取温度 80 , 加水比 1 : 10, 时间 3 h; 红枣提取温度 95 , 加水比 1 : 10, 时间 3 h; 甘薯提取温度 80 , 加水比 1 : 3, 时间 3 h; 淮山提取温度 95 , 加水比 1 : 9, 时间 1 h; 花菇提取温度 95 , 加水比 1 : 15, 时间 3 h。在各因素中, 提取温度对甘薯、淮山多糖提取具有高度显著性, 加水比对甘薯、淮山、花菇多糖提取具有一般显著性, 时间只对甘薯多糖提取具有一般显著性, 而三因素对枸杞、红枣多糖提取均无显著性。由此看出, 不同的植物原料, 多糖提取条件差异较大。

2.1.3 植物提取多糖对双歧杆菌生长曲线、对数期生长速率与世代时间的影响

试验组: 植物提取粗多糖(固形物含量大于 70%)以 0.13% 添加量添加到双歧杆菌培养液中(含 1% 葡萄糖和 0.13% 提取粗多糖), 对照组含 1% 葡萄糖; 同时为消除实验组与对照组糖浓度的差异, 又设试验组以 1% 提取多糖(以干基计算添加)代替对照组 1% 的葡萄糖。经试验, 获得双歧杆菌生长曲线, 菌体对数生长期生长速率常数与世代时间的差异。结果见图 1~ 4。

图 1 显示, 添加枸杞、甘薯、红枣、花菇、淮山提

取多糖后, 双歧杆菌细胞数量有效增多, 衰亡速度也大大减缓。

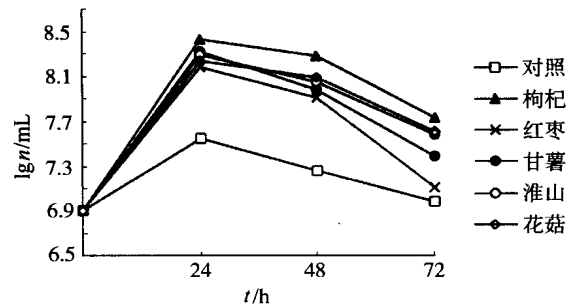


图 1 添加植物提取多糖对双歧杆菌生长曲线的影响

Fig 1 The influence of polysaccharose extracted from vegetal on the growth curve of bifidobacterium

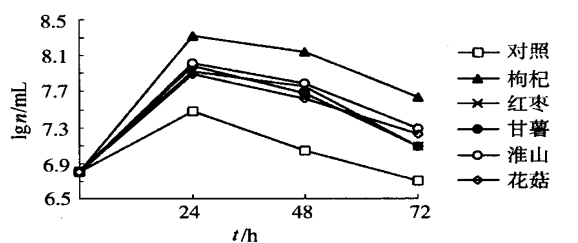


图 2 植物提取多糖代替葡萄糖培养双歧杆菌的生长曲线

Fig 2 The growth curve of bifidobacterium when polysaccharose is extracted from vegetal replacing glucose

图 2 显示, 在糖浓度近于相同情况下, 枸杞、甘薯、淮山、红枣、花菇提取多糖比葡萄糖更有利于双歧杆菌增殖。

图 3、图 4 显示, 不管是在培养液中添加提取多糖(图 1 曲线)还是以提取多糖代替葡萄糖(图 2 曲线), 双歧杆菌对数生长期的生长速率常数(R)都显

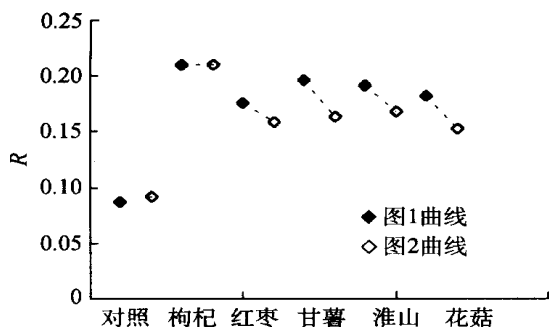


图 3 双歧杆菌对数生长期生长速率常数(R)比较

Fig 3 The comparison of growth rate constant (R) of bifidobacterium in logarithmic phase

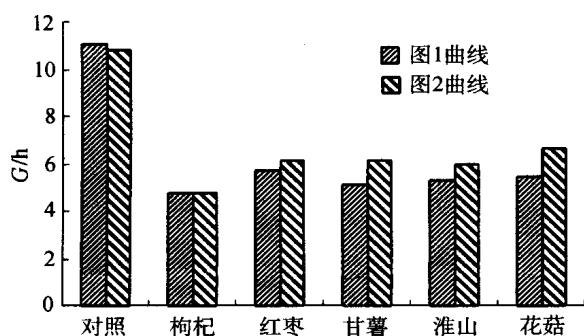


图 4 双歧杆菌对数生长期世代时间(G)比较

Fig 4 The comparison of generation time (G) of bifidobacterium in logarithmic phase

著提高, 世代时间(G)则有效缩短。在这些提取多糖中, 以枸杞多糖更为显著, 其它多糖的效果较为接近。

3 结 论

本文考察了枸杞、红枣、甘薯、淮山、花菇多糖的提取条件优化和提取多糖对双歧杆菌的增殖作用, 得到以下初步结论:

1) 在双歧杆菌培养液中, 添加 0.12% ~ 0.13% 的植物提取多糖或直接用提取多糖代替原培养液中葡萄糖, 双歧杆菌生长速率加快, 衰亡速率减缓; 4 种植物原料及花菇提取多糖在双歧杆菌对数生长期间, 生长速率常数(R)提高 135% ~ 85%, 世代时间(G)缩短 56% ~ 44%。该结果表明, 试验植物原料等提取多糖含有双歧生长因子, 即在植物多糖中, 应含有 2~ 10 个单糖单位通过糖苷键连接的小聚合体, 糖苷键中 A2, 1, 4 糖苷键比例小, A2, 1, 6, B2, 1, 6, B2, 1, 4 等糖苷键形式较多, 成为非消化性糖 NDO。NDO 能被消化道后部的有益微生物如双歧杆菌利用产生简单的有机酸^[2, 7]。目前, 已知花菇多糖主链是 B2, 1, 3 糖苷键的葡萄糖, 分支链上有 B2, 1, 6, B2, 1, 3

糖苷键连接的葡萄糖低聚糖; 枸杞多糖有低聚四糖、低聚三糖等, 但其精细结构还未明确; 而淮山、甘薯、红枣多糖的成分和精细结构都未见研究报道, 有待于进一步研究。

2) 在植物多糖提取条件优化中, 水浸提温度是极其重要的因素, 温度低, 植物原料多糖扩散慢, 多糖提取率低, 但温度太高, 色泽加深, 粘度加大, 破坏多糖结构, 本试验结果热水浸提温度为 80~ 95 。另外, 加水比也很重要, 应视原料含水量不同加以控制, 含水量高的原料加水比要小, 含水量低的原料加水比要大, 加水比太小, 提取时粘度大, 影响植物多糖扩散, 加水比太大, 得率提高, 但给多糖提取液的浓缩纯化带来操作不便和较高成本。本试验 5 种原料多糖提取加水比控制: 甘薯 1 : 3, 花菇 1 : 15, 淮山 1 : 9, 枸杞、红枣 1 : 10。提取时间对试验植物多糖提取的影响较小, 因此, 虽然植物多糖提取优化水平多为 3 h, 但可适当缩短些提取时间以提高提取效率。本研究采用优化条件提取植物粗多糖, 植物粗多糖得率相对于取样质量为: 枸杞 51.15%、红枣 53.12%、甘薯 18.18%、淮山 18.13%、花菇 28.12%。

3) 试验植物提取多糖对双歧杆菌具有显著的增殖作用, 可作为双歧生长因子进一步开发研制。而我们在日常的膳食结构中, 可尽量多调配些这些食品食用。因为, 有选择地服食这些促生物质能促进肠道内双歧杆菌的生长, 调节肠菌群结构, 使双歧杆菌等有益菌群在肠内占优势^[7]。

[参 考 文 献]

- [1] 方一苇 具有药理活性多糖的研究现状[J]. 分析化学, 1994, 22(9): 955~ 960
- [2] 杨曙明 新型饲料添加剂——寡糖的研究进展[J]. 中国粮油学报, 1998, 13(2): 46~ 51
- [3] Hoover D G. Activity and potential benefits[J]. Food Technol, 1993, 6: 120~ 124
- [4] Norio Ishibashi, Seiichi Shimamura. Research and development in Japan[J]. Food Technol, 1993, 6: 126 ~ 135
- [5] 邱宏端, 李志达, 朱秋享等 异麦芽寡糖对双歧杆菌增殖及影响因素的研究[J]. 福州大学学报, 1999, 27(4): 112~ 115
- [6] 杜 敏, 南庆贤, 龚海岩等 双歧杆菌及其保健机理[J]. 食品与发酵工业, 1995, (2): 81~ 83
- [7] 钟卫鸿, 汪 剑, 裘娟萍等 酶法制备低聚糖浆的双歧杆菌促生作用研究[J]. 食品科学, 1998, 19(7): 5~ 8
- [8] 林宇野, 杨 虹 酶法提取银耳多糖的研究[J]. 食品与发酵工业, 1995, 1: 13~ 17
- [9] 周德庆 微生物学教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993, 5(1999 重印).

- [10] 张铁茂, 丁进国 试验设计与数据处理[M]. 北京: 兵器出版社, 1990

Extraction of Vegetal Polysaccharose and Its Effect on Bifidobacterium Multiplication

Qiu Hongduan, Lin Juan, Song Zhijing, Shi Lirong

(Department of Biotechnology and Food Science, Fuzhou University, Fuzhou 350002, China)

Abstract The water extraction of vegetal polysaccharose from the fruit of Chinese wolfberry, red jujube, flower mushroom, sweet potato and huai shan, the optimization of extracting conditions by orthogonal design and the multiplication of bifidobacterium functioned by polysaccharose extracted from vegetable were studied. The results showed that the optimal extracting conditions of vegetal polysaccharose are as follows: the adding ratio of water, for the fruit of Chinese wolfberry and red jujube is 1:10, flower mushroom is 1:15, sweet potato is 1:3 and huai shan is 1:9, the temperature of extraction: is 80~95 °C, the time of extraction: is 1~3 h. In the conditions, the extraction rates of vegetal polysaccharose are: wolfberry 51.18%, red jujube 53.12%, flower mushroom 28.12%, sweet potato 18.18%, huai shan 18.13%. The multiplication of bifidobacterium functioned by polysaccharose extracted from five kinds of vegetable was that the growth rate constant (R) is raised by 135%~85% and the generation time (G) is reduced 56%~44% in logarithmic phase.

Key words: vegetal polysaccharose; extraction; bifidobacterium; multiplication

致谢本刊审稿专家

《农业工程学报》是广大农业工程科技工作者的学术交流园地, 本刊的发展离不开广大同仁的关心与支持, 特别是广大编委、专家为本刊做了大量认真细致的审稿工作, 为本刊论文的学术质量把关做出了贡献, 本刊对审稿专家的辛勤劳动表示衷心的感谢。本刊将分批次在“读者、作者和编者”栏目公布近期审稿专家的名单(按姓氏笔划为序)。本刊此次感谢的审稿专家有:

于志远	马廷玺	马成林	毛志怀	王云龙	王一鸣	王松涛	王茂新	王革华	王爱国	王德俊
王乃信	邓勇	邓达华	冯广志	冯绍元	白人朴	白友仁	白战礼	邝朴生	齐飞	刘钰
刘昌明	刘洪禄	华云龙	孙忠富	庄大方	朱明	朱永达	朱克勤	朱宝馨	江荣凤	何东健
林坚	林培	林性粹	张君海	张国祥	张铁中	李久生	李长生	李世煌	李必治	李秀金
李里特	李保国	李保明	李益农	杨邦杰	杨诗秀	杨振声	杨培岭	汪懋华	沈雪民	肖明松
陈大雕	陈侍良	陈端生	麦康森	周一鸣	周长吉	周祖镔	范志书	郑耀泉	封俊	俞明轩
南庆贤	施世锦	施正香	段桂芳	洪仁彪	胡南强	费良军	赵杰文	鄢文聚	徐泳	徐师华
郭佩玉	陶兰	高灵旺	高焕文	崔远勃	曹崇文	梁兆兰	黄文彬	黄兴法	喻谷源	惠士博
焦险峰	程序	董红敏	蒋卫杰	蒋亦元	谢崇宝	韩北忠	韩鲁佳	廉亚平	廉镜清	窦以松
雷之栋	雷霆武	翟志庆	蔡同一	蔡典雄	裴志远					