

微波辅助法提取猕猴桃果实多糖的研究

庞振凌 田龙 王小立 (南阳师范学院生命科学系, 河南南阳 473061)

摘要 采用微波辅助法提取猕猴桃果实中的多糖, 并对料液比、温度、时间3个因素进行单因素试验和正交试验, 确定了猕猴桃果实中多糖的最佳提取工艺, 即微波预处理30 min后, 温度70℃, 料液比1:25, 时间3 h。

关键词 猕猴桃; 果实; 多糖; 微波辅助提取

中图分类号 TS244 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)11-2510-02

Study on Microwave Assisted Extraction of Polysaccharides from Actinidia Chinensis Fruit

PANG Zhenling et al (Department of Life Science, Nanyang Normal College, Nanyang, Henan 473061)

Abstract There is a lot of polysaccharides in chinensis actinidia fruit. In order to know the extraction technology of soluble polysaccharides in it, orthogonal test and the analysis of range were applied to analyze the influence of each factor on the extraction ratio of the polysaccharides by microwave-assisted extraction method. Experimental results indicated that the optimum solid and liquid ratio was 1:25, temperature was 70℃ and the extraction time is 3 h.

Key words Chinensis actinidia; Fruit; Polysaccharides; Microwave-assisted extraction

猕猴桃果实营养丰富, 素有Vc之王的美称^[1]。现代药理活性实验也表明, 猕猴桃的果实、根、茎等含多种有效药用组分^[2], 尤其是猕猴桃多糖, 其含量约为8%~17%, 因其能阻断亚硝酸类化合物合成, 刺激或提高机体免疫功能, 激活或提高巨噬细胞的吞噬能力, 具有一定的抗癌作用^[3]而引起人们的广泛关注。

南阳市西峡县位于河南省西南部, 林果资源丰富, 已建成6667 hm²无公害中华猕猴桃基地。为提高猕猴桃的经济效益, 笔者用正交试验法优选猕猴桃果中多糖的提取工艺, 并用分光光度计法进行多糖含量测定, 为进一步开发提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料、试剂与仪器 猕猴桃, 产于南阳市西峡县, 低温干燥粉碎后密封保存于玻璃瓶中备用。

苯酚溶液(5%) : 取苯酚100 g, 油浴蒸馏, 收集180~182℃馏分。称取精制苯酚5.0 g, 加入溶解并稀释至100 mL, 混匀, 置冰箱中待用。

葡萄糖标准储备溶液: 称取在105℃干燥至恒重的葡萄糖标准品1.008 00 g, 加水溶解, 并定容至100 mL, 混匀, 置冰箱中保存。此溶液1 mL含10.080 ng葡萄糖。其他化学试剂均为分析纯。

仪器: UV-754 分光光度计, 真空恒温干燥箱, SHZ-D()型循环水真空泵, SB 3200 超声波仪, 800 型离心沉淀机, FA 1004 电子天平, 旋转混匀器, 超级恒温水浴锅。

1.2 猕猴桃果实多糖提取方法 猕猴桃果实预处理: 新鲜猕猴桃果实洗净切片, 烘箱内60℃烘干, 植物粉碎机粉碎, 密封保存。

称取上述粉末5 g, 加入蒸馏水300 mL, 先用功率为500 W的超声波仪处理约30 min, 再置于索氏提取器中, 用95%乙醇回流提取至无色, 脱脂, 残渣取出加水洗涤、过滤、烘干, 加入125 mL蒸馏水, 80℃恒温水浴2 h, 浸提2次, 抽提液以4 000 r/min离心15 min, 合并上清液。

1.3 除蛋白 采用铜离子沉淀法除蛋白。硫酸铜溶液浓度为2 mL/L, 分别加入不同量到10 mL供试液中, 使各个试液中

硫酸铜溶液的体积比分别为2%、4%、6%、8%、10%, 混匀后放于冰箱中4℃冷藏3 h, 8 000 r/min离心后, 测定上清液糖含量和蛋白质含量。

1.4 醇析 去蛋白后浓缩至适当体积, 分别加入不同量95%乙醇到供试液中, 使各个试液中乙醇溶液的体积比分别为30%、35%、40%、45%、50%、55%, 静置24 h后, 抽滤, 沉淀物用适量80%的酒精洗涤2次, 再用蒸馏水溶解, 抽滤去不溶物后溶液定容即为待测样液。

1.5 猕猴桃多糖含量测定

1.5.1 标准曲线的制作(图1)。精密吸取葡萄糖标准使用溶液0.02、0.4、0.6、0.8、1.0 mL分别置于25 mL比色管中, 准确补充水至2.0 mL, 加入苯酚溶液2.0 mL, 在旋转混匀器上混匀, 小心加入浓硫酸10 mL, 于旋转混匀器小心混匀, 置沸水浴中煮沸15 min, 冷却后用分光光度计在490 nm波长处以试剂空白溶液为参比, 1 cm比色皿测定吸光度值。

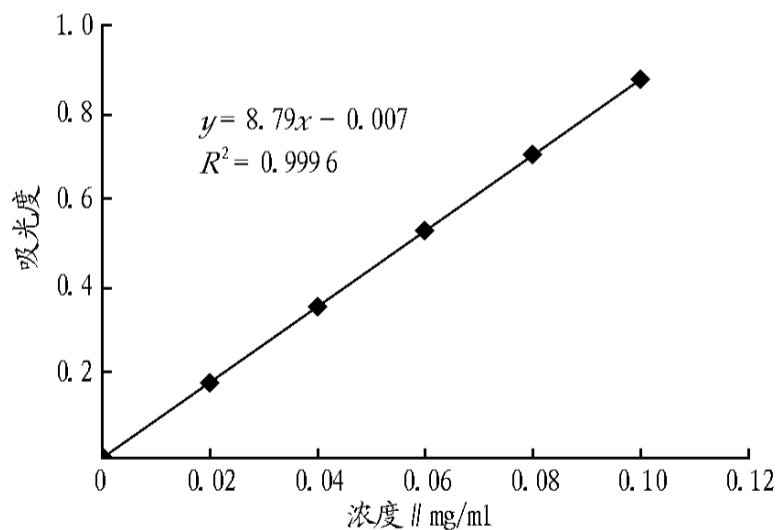


图1 标准回归曲线

以吸光度为纵坐标, 以葡萄糖浓度为横坐标, 求得标准曲线回归方程为 $y = 8.79x - 0.007$, 相关系数为0.9996。

1.5.2 样品多糖含量测定^[4]。精确吸取供试液0.10 mL, 按“1.5.1”所述方法测定, 从标准曲线上查出葡萄糖多糖含量。

1.6 单因素试验 影响多糖提取率的主要因素有: 温度、时间、料液比等。为确定猕猴桃中可溶性多糖的提取工艺, 料液比采用1:20、1:25、1:30、1:45 4个水平分别进行单因素试验, 浸提温度采用60、70、80、90℃, 浸提时间采用1、2、3、4 h。

1.7 正交试验 根据预做试验结果, 选取料液比、浸提温度、浸提时间作为考察因素, 以多糖提取率为指标, 设计3

因素3 水平正交试验,以确定猕猴桃多糖提取的最佳工艺。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 料液比对多糖提取率的影响。在自然pH值下,以料液比对提取率进行单因素试验,结果见图2。由图2可见:随着料液比的增加,多糖的溶出量也增加,但达到一定比例后,增加的幅度明显下降,以1:25为最佳。

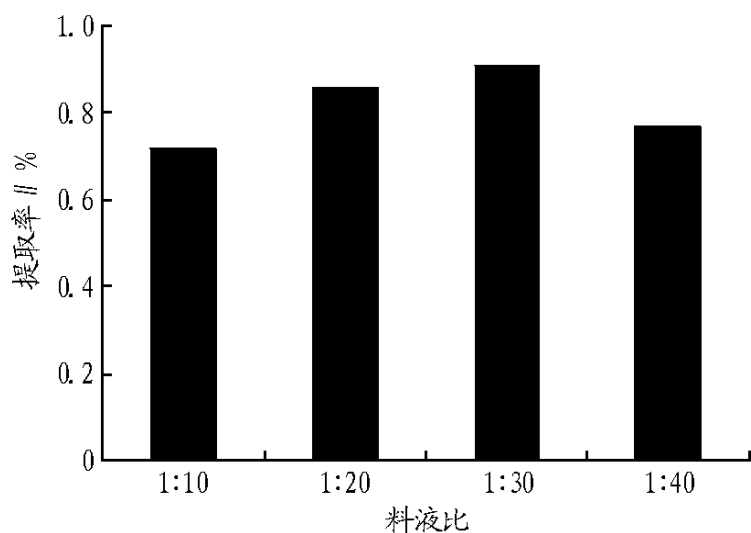


图2 料液比对多糖提取率的影响

2.1.2 浸提温度对多糖提取率的影响。在自然pH值下,以浸提温度对提取率进行单因素试验,结果见图3。由图3可知:温度对多糖提取有显著的影响。多糖提取率随温度的上升而显著提高,在70℃条件下提取率最高,随着温度的进一步增加,提取率略呈下降趋势。因此,选用浸提温度为70℃。

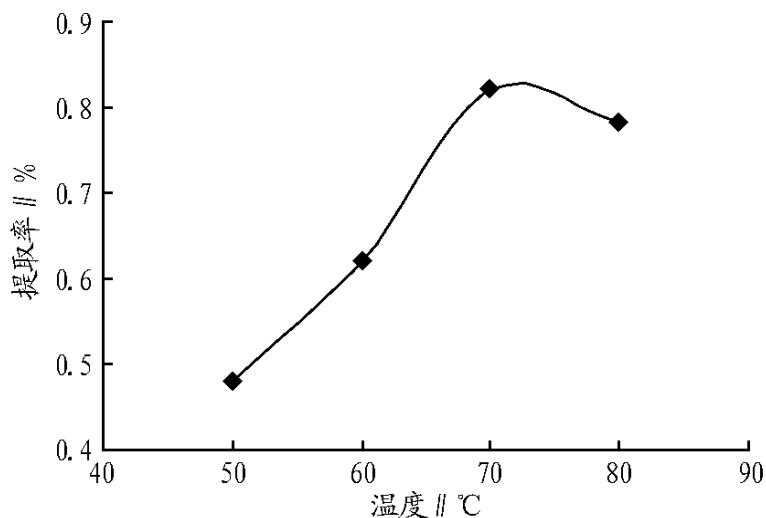


图3 浸提温度对多糖提取率的影响

2.1.3 浸提时间对多糖提取率的影响。在自然pH值下,以浸提时间对提取率进行单因素试验,结果见图4。图4表明,随着热浸提时间的增加,多糖提取率也有所增加,但增加的趋势逐渐趋缓。因此,以3h为最佳。

2.2 正交试验结果 在单因素试验的基础上,选定料液比1:20、1:25、1:30,浸提温度60、70、80℃,浸提时间2、3、4h,3因素3水平进行正交试验,结果见表1。

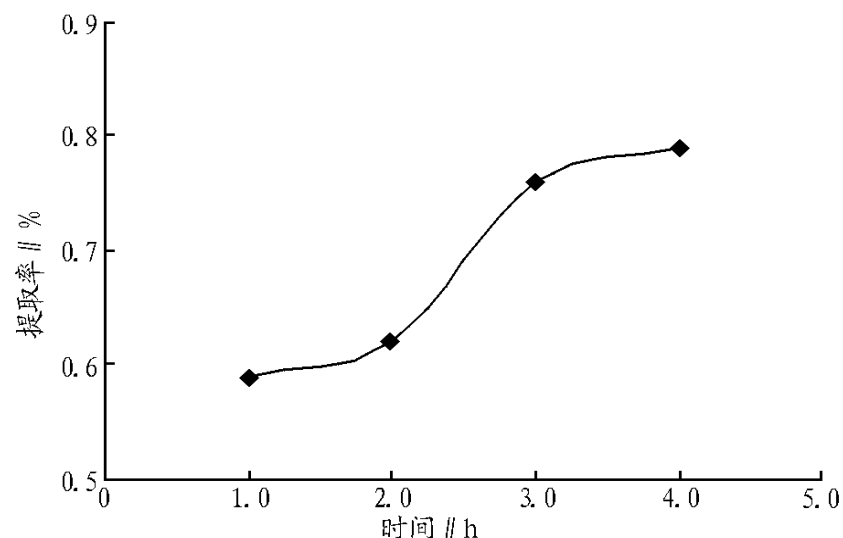


图4 浸提时间对多糖提取率的影响

表1 正交试验结果及极差分析

试验号	水平			多糖提取率 / %
	料液比	温度	时间	
1	1	1	1	0.57
2	1	2	2	0.73
3	1	3	3	0.81
4	2	1	2	0.64
5	2	2	3	0.75
6	2	3	1	0.86
7	3	1	3	0.71
8	3	2	1	0.67
9	3	3	2	0.83
K ₁	2.11	1.92	2.10	
K ₂	2.25	2.15	2.20	
K ₃	2.21	2.50	2.27	
R	0.14	0.58	0.17	

由表1可知:影响猕猴桃果实可溶性多糖提取率的诸因素的主次关系依次是浸提温度、时间、料液比。同时可以看出,对于多糖粗品提取率的最优水平搭配为浸提温度70℃,料液比1:25,提取时间3h。验证试验表明,最佳组合时,猕猴桃多糖提取率为0.96%。

3 结论

影响多糖提取率的主要因素有:温度、时间、料液比。由正交试验得出猕猴桃果实多糖微波辅助法最佳提取工艺为:温度70℃、料液比1:25、时间3h。验证试验表明:最佳组合对猕猴桃果实多糖的提取率为0.96%。

参考文献

- [1] 侯芳玉,陈飞,陆意,等.长白山产软枣猕猴桃茎多糖抗感染和抗肿瘤作用的研究[J].白求恩医科大学学报,1995,21(5):472-474.
- [2] 刘成梅,游海.天然产物有效成分的分离与应用[M].北京:化学工业出版社,2003:242-248.
- [3] 中华人民共和国药典编委会.中华人民共和国药典[M].北京:化学工业出版社,2000:17.
- [4] 樊君,尚红.大枣多糖的提取工艺研究[J].食品研究与开发,2002,23(3):29-31.