

不同提取方法对荔枝干粗多糖提取率及其自由基清除活性的影响

彭刚, 陈梓欣, 张晓辉, 黄略略, 张树飞, 乔方* (深圳职业技术学院应用化学与生物技术学院, 广东深圳 518055)

摘要 [目的]通过比较提取率和抗氧化活性,从3种多糖提取方法中筛选出适合荔枝干多糖的提取方法。[方法]优化热水浴、微波超声协同和纤维素酶活化各提取参数条件,比较三者或多糖得率、含量以及对ATBS和DPPH自由基清除方面的差异。[结果]热水浴法多糖提取率随温度升高而逐渐增加,但温度较高时其升幅降低;微波超声协同法液料比变化对提取率有影响,但提升幅度较小;纤维素酶活化法也存在类似现象。在最优条件下纤维素酶活化法具有最低的提取率和最高的多糖比率。另外,纤维素酶提取法所得多糖清除ATBS自由基能力较强,其次为热水浴法,最后为微波超声协同法。[结论]热水浴法具有提取率高、操作简便、多糖含量和抗氧化活性较高等优势,更适合于荔枝干多糖的提取。

关键词 荔枝干;多糖;抗氧化活性;提取率

中图分类号 S667.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)22-098-03

Effect of Different Extraction Methods on the Extraction Rate and Free Radical Scavenging Capacity of Dry Litchi Crude Polysaccharide

PENG Gang, CHEN Zi-xin, ZHANG Xiao-hui, QIAO Fang* et al (School of Applied Chemistry and Biological Technology, Shenzhen Polytechnic, Shenzhen, Guangdong 518055)

Abstract [Objective] In order to screen an extraction method for dry litchi, three different polysaccharide extraction methods were compared with their extraction rate and antioxidant activity. [Method] The parameters of conventional hot water, microwave-ultrasonic coordination and cellulose methods were optimized to reach optimal yield. Then the crude polysaccharide, polysaccharide content and their DPPH and ATBS scavenging capacity were compared. [Result] In conventional hot water method, the extraction rate was increased with the improvement of temperature. But at the high temperature stage, the increase was limited; in microwave-ultrasonic coordination method, the change ratio of liquid to material also had effect on extraction rate; the similar phenomenon was also found in cellulose method, which had the lowest extraction rate, but the highest polysaccharide rate. The antioxidant activity test showed that the polysaccharide from cellulose extraction method had the strongest ATBS free radical scavenging activity, then the conventional hot water and microwave-ultrasonic coordination method. But a little difference was found in DPPH test, due to the increase activity from microwave-ultrasonic coordination method. [Conclusion] Due to the highest extraction rate, easy operation, higher polysaccharide content and antioxidant activity, the conventional hot water method was fit to dry litchi polysaccharide extraction.

Key words Dry litchi; Polysaccharides; Antioxidant activity; Extraction rate

荔枝(*Litchi chinensis* Sonn)属于无患子科荔枝属植物,原产我国,目前在亚洲东南部、非洲、美洲、大洋洲均有广泛栽培^[1]。作为岭南特色热带水果,荔枝在我国已有两千多年的种植历史。荔枝鲜果采收期短,且不易保存,常被制成荔枝干,以保证市场周年供应。《本草纲目》记载:“常食荔枝,能补脑健身,治疗瘡疔肿,开胃益脾;干制品能补元气,为产妇及老弱补品^[2]。”研究表明,荔枝干果肉中主要活性成分为多糖,该成分具有降血压、降血糖、抗疲劳、提高免疫力等功效^[3]。

为了更好地研究荔枝干多糖,其成分提取是关键的一步。传统植物多糖提取常采用热水浴法,该方法具有操作简便、使用仪器少等特点。但随着科学技术手段的增加,新的提取工艺也在不断涌现,如纤维素酶活化、微波超声协同提取法^[4]。这些方法均具有各自的优缺点,但是否适用于荔枝干多糖提取,有待进一步研究。笔者采用3种多糖提取方法提取荔枝干多糖,比较3种方法在多糖提取率、多糖含量以及所提多糖抗氧化活性方面的差异,筛选出适合荔枝干多糖的提取方法,以期为进一步研究荔枝干多糖功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料及试剂。荔枝干购于深圳市南山区西丽果场。乙醇、甲醇、浓硫酸、葡萄糖购自广州化学试剂厂。纤维素酶和抗坏血酸购自广州健阳生物科技有限公司。考马斯亮蓝G-250、牛血清蛋白标准品、DPPH和ATBS均购自于Sigma公司;试验所用试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器。TM-767专业冰沙搅拌机,DK-20水浴磁力搅拌器,CW-2000超声微波协同萃取仪,L6紫外-可见分光光度计,5810R高速冷冻离心机,Enspire Xenon Light Module多功能酶标仪,Seven Multi多功能pH计。

1.2 方法

1.2.1 荔枝干粉制备。将购买的妃子笑荔枝干去除果皮和种子后,称取500g放入冰沙搅拌机中,并加入500mL 80%的乙醇溶液,开机搅拌2min;将匀浆液倒入已铺设2层纱布的漏斗中进行过滤,并不断用钥匙搅拌以加快过滤过程;待滤液流尽后,再次将滤渣与500mL 80%的乙醇溶液混合搅拌,过滤,完后重复1次;所获得滤渣在50℃下烘干,打粉备用。

1.2.2 传统热水浴提取荔枝干多糖。称取1g左右荔枝干粉末,按10:1,20:1,30:1的液料比加入纯水(pH 7.5);放入磁力转子,分别置于60、80和100℃的热水浴中搅拌2h;待冷却至室温后,在4℃、10 000 r/min离心10min;最后量取上清液,并加入3倍体积的无水乙醇,混匀后4℃沉淀过夜,

基金项目 深圳市科技计划项目(JCYJ20140508155916427);现代农业产业技术体系建设专项(CARS-33-20)。

作者简介 彭刚(1983-),男,四川宜宾人,助理研究员,博士,从事植物生物活性物质提取及开发方面的研究。*通讯作者,教授,博士,从事食品功能性开发研究。

收稿日期 2016-06-22

次日离心后,沉淀即为荔枝干粗多糖^[5]。多糖提取率公式参照张钟等^[6]的方法。

1.2.3 纤维素酶活化提取荔枝干多糖。参考 Zhang 等^[5]的方法并进行调整,具体步骤:称取 1 g 荔枝干粉末,并按物料比 0.5%、1.0%、1.5% 加入相应量的纤维素酶粉,再按 10:1、20:1、30:1 的比例加入 pH 4.8 的水溶液;随后将溶液与粉末混匀后,加入磁力转子,在 50 ℃ 下水浴反应 2 h;最后按照热水浴法离心、沉淀多糖。

1.2.4 微波超声协同法提取荔枝干多糖。称取 1 g 荔枝干粉末,按 10:1、20:1、30:1 的液料比加入纯水,装入特制的超声瓶中,放入超声微波协同萃取仪;设置温度上限为 50 ℃,并调整微波功率从 100~300 W,反应 30 min;完成后,取出反应溶液,离心取上清,其余步骤采用热水浴法提取和沉淀多糖^[5]。

1.2.5 荔枝干多糖含量测定。参照姜琼等^[7]的苯酚-硫酸法制作葡萄糖标准曲线和测定多糖含量。多糖比率计算公式参照张钟等^[6]的方法。

1.2.6 荔枝干粗多糖 DPPH 抗氧化活性测定。参照 Zhang 等^[8]的方法,以抗坏血酸为标准物。

1.2.7 荔枝干粗多糖 ATBS 抗氧化活性测定。参照 Re 等^[9]的方法,以抗坏血酸为标准物。

2 结果与分析

2.1 不同参数条件下传统热水浴法对荔枝干多糖提取的影响 由表 1 可知,在一定提取温度范围内(60~80 ℃),随着温度的升高,多糖提取率从 4.3% 升高到 10.0% 左右。但随着温度的进一步升高(80~100 ℃),多糖提取率则呈平稳或略有降低的趋势。这表明温度过高反而抑制荔枝干粗多糖提取率的上升。类似现象在其他材料上均有发现^[10-11]。因此,热水浴最优温度应在 80 ℃ 左右,而此时荔枝干多糖提取率约为 10%。在相同温度(80 ℃)下,随着液料比的增加多糖提取率升高。但在高温条件下(80 ℃ 以上),液料比为 30:1~20:1 多糖提取率差异不显著,且提取液的增加反而加大了后续操作难度。因此,液料比一般控制在 30:1 和 20:1 为宜。在多糖比率方面,无论是温度还是液料比的改变并未使得多糖比率呈明显规律性变化,基本维持在 37.0%~44.4%。

表 1 不同条件下热水浴法对荔枝干粗多糖提取效率的影响

Table 1 The effect of different hot-water extraction parameters on dry litchi polysaccharide extraction

提取温度 Extraction temperature/℃	液料比 Liquid - solid ratio	提取率 Extraction rate//%	多糖比率 Polysaccharide ratio//%
60	10:1	4.3 ± 0.46	43.2
60	20:1	6.6 ± 0.44	37.4
60	30:1	7.8 ± 0.40	41.4
80	10:1	7.7 ± 0.42	40.6
80	20:1	9.6 ± 0.51	37.0
80	30:1	10.1 ± 0.03	42.5
100	10:1	6.6 ± 0.96	44.4
100	20:1	8.1 ± 0.77	37.8
100	30:1	10.2 ± 0.50	41.8

2.2 不同参数条件下微波超声协同法对荔枝干多糖提取的影响 由表 2 可知,在微波超声协同提取荔枝干粗多糖过程

中,随着微波功率的增加,多糖提取率略有降低,但基本保持在 8.1%~10.3%。但液料比的增加,总体小幅度提高了多糖提取率。在多糖比率方面,在相同微波功率条件下,随着液料比中提取液含量的增加,多糖比率呈上升趋势,基本维持在 35.6%~46.3%。而在相同液料比条件下,微波功率变化对多糖比率的影响不存在明显规律。在相同超声功率条件下,当微波功率高于 200 W 时多糖提取率下降^[12-13]。另外,在微波功率高于 200 W 时,随着液料比的增加,多糖提取率呈小幅上升趋势。这与关于金针菇方面的试验结果相近^[14]。

表 2 不同条件下微波超声协同法对荔枝干粗多糖提取效率的影响

Table 2 The effect of different microwave-ultrasonic coordination extraction parameters on dry litchi polysaccharide extraction

微波功率 Microwave power//W	液料比 Liquid - solid ratio	提取率 Extraction rate//%	多糖比率 Polysaccharide ratio//%
100	20:1	9.0 ± 0.21	40.3
100	30:1	9.1 ± 0.17	42.1
100	40:1	8.8 ± 0.37	41.3
200	20:1	8.1 ± 0.12	30.0
200	30:1	9.1 ± 0.35	35.7
200	40:1	9.2 ± 0.11	43.2
300	20:1	7.5 ± 0.21	35.6
300	30:1	8.5 ± 0.33	38.3
300	40:1	10.3 ± 0.18	46.3

2.3 不同参数条件下纤维素酶活化对荔枝干多糖提取的影响 由表 3 可知,在相同液料比条件下,不同酶用量对荔枝干粗多糖提取率影响不明显。但在相同酶用量条件下,随着液料比的增加,多糖提取率从 2.5% 逐渐升高到 4.2%。但在不同条件下,多糖比率基本保持在 48%~50%。提取过程中,纤维素酶用量在 0.5%~1.5%,多糖比率总体呈上升趋势,但不同处理之间差异不显著^[15]。而相同酶用量条件下,液料比的改变则使得多糖提取率小幅提升,小于 1%。这与纤维素酶法提取金钗石斛多糖结果相近,即液料比对提取率有影响,但提升幅度较小^[16]。

表 3 不同条件下纤维素酶活化对荔枝干粗多糖提取效率的影响

Table 3 The effect of different cellulose extraction parameters on dry litchi polysaccharide extraction

酶用量 Enzyme dosage//%	液料比 Liquid - solid ratio	提取率 Extraction rate//%	多糖比率 Polysaccharide ratio//%
0.5	10:1	2.1 ± 0.29	51.0
0.5	20:1	3.3 ± 0.17	46.8
0.5	30:1	3.3 ± 0.08	57.7
1.0	10:1	2.0 ± 0.33	44.3
1.0	20:1	3.3 ± 0.09	48.6
1.0	30:1	3.2 ± 0.16	59.6
1.5	10:1	2.5 ± 0.05	53.6
1.5	20:1	3.6 ± 0.10	51.0
1.5	30:1	4.2 ± 0.17	56.8

2.4 不同提取方法所得粗多糖的抗氧化活性差异 由图 1 可知,作为标准物,维生素 C 无论对 ATBS 自由基还是 DPPH 自由基均具有较强的自由基清除能力,其 IC_{50} 分别为 47.2 和 23.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。热水浴法所提粗多糖在清除 ATBS 和 DPPH 自由基方面均明显低于纤维素酶活提取法。在 ATBS 自由基

清除能力方面,热水浴法所提多糖 IC_{50} 为 214.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$;纤维素酶活法 IC_{50} 为 196.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。而清除 DPPH 自由基时,二者 IC_{50} 分别为 139.2、123.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。但微波超声协同法所提多糖对不同自由基清除能力存在差异。其对 ATBS 自由基清除能

力较弱($IC_{50} = 267.3 \mu\text{g}/\text{mL}$),而对 DPPH 自由基清除能力较强($IC_{50} = 100.8 \mu\text{g}/\text{mL}$)。这可能是由于超声处理易导致多糖长链分子断裂,从而提高了其对 DPPH 自由基清除能力^[17-18]。

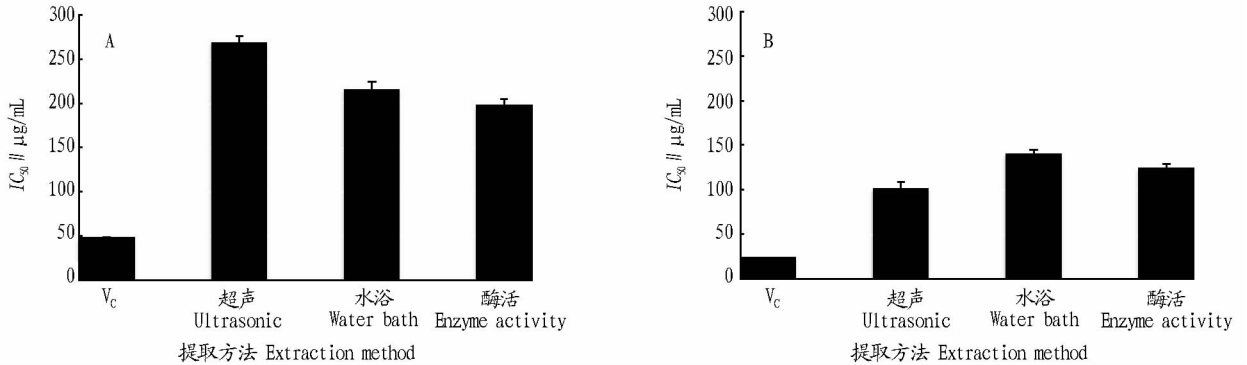


图1 不同提取方法所得多糖对 ATBS(A)和 DPPH(B) 自由基清除能力

Fig.1 The ATBS (A) and DPPH (B) free radical scavenge capacity of polysaccharides from different extraction methods

3 结论与讨论

该研究对荔枝干多糖不同提取方法的参数进行优化,结果表明,传统热水浴法:提取温度 80 $^{\circ}\text{C}$,液料比 20:1,多糖提取率为 10%;超声微波辅助法:功率 200 W,液料比 30:1,多糖提取率为 9.1%;纤维素酶活法:酶量 1.0%,液料 30:1,多糖提取率为 3.2%。比较 3 种方法所得荔枝干粗多糖在 DPPH 和 ATBS 自由基清除能力方面的差异,结果表明,微波超声协同法所得多糖活性较低,热水浴与纤维素酶活法所得多糖活性相近。综合考虑多糖提取率和活性指标,传统热水浴法更适合荔枝干多糖的提取。

参考文献

- [1] 陈厚彬. 中国荔枝现状和发展分析[J]. 世界热带农业信息, 2008(6): 3-6.
- [2] 周浓. 荔枝粗多糖提取工艺的研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(3): 121-123.
- [3] 杨丹,任谓明,王艳红,等. 复合多糖药理活性研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(3): 94-97.
- [4] 张燕,张树森,王飞,等. 近年来植物多糖提取方法研究进展[J]. 农产品加工, 2015(6): 65-68, 72.
- [5] ZHANG Z F, LV G Y, HE W Q, et al. Effect of extraction methods on the antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Flammulina velutipes* [J]. Carbohydrate polymers, 2013, 98(2): 1524-1531.
- [6] 张钟,唐绪明,张玲. 荔枝肉水溶性多糖提取工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(10): 70-74.

- [7] 姜琼,谢好. 苯酚-硫酸法测定多糖方法的改进[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(12): 316-318.
- [8] ZHANG R F, ZHANG F X, ZHANG M W, et al. Phenolic composition and antioxidant activity in seed coats of 60 Chinese black soybean (*Glycine max* L. Merr.) varieties [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2011, 59(11): 5935-5944.
- [9] RE R, PELLEGRINI N, ROTEGGENTE A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. Free radical biology & medicine, 1999, 26(9): 1231-1237.
- [10] 赵宁,李伟泽,张倩,等. 白及多糖提取工艺优化[J]. 应用化工, 2015, 44(12): 2212-2215.
- [11] 向东,赖凤英,陈冠. 水溶性南瓜多糖的提取工艺的研究[J]. 广州食品工业科技, 2004, 20(2): 48-50.
- [12] 陈桑,曾红亮,陈万明,等. 超声微波协同提取橄榄多糖及其脱氮白工艺的研究[J]. 热带作物学报, 2015, 36(8): 1484-1490.
- [13] 陈义勇,窦祥龙,刘晶晶,等. 超声-微波辅助联合提取茶多酚和茶多糖工艺研究[J]. 常熟理工学院学报(自然科学版), 2014, 28(4): 72-74.
- [14] 王丽威,郭旭颖,陈梁成,等. 水浴法和微波法提取金针菇下脚料多糖的优化及比较研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(2): 322-325.
- [15] 汪建红,李迪. 纤维素酶法提取荸荠皮中多糖的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(5): 248-252.
- [16] 张晓敏,孙志容,朱南南,等. 纤维素酶提取金钗石斛多糖工艺研究[J]. 中医药信息, 2015, 32(2): 50-53.
- [17] YANG B, ZHAO M M, SHI J, et al. Effect of ultrasonic treatment on the recovery and DPPH radical scavenging activity of polysaccharides from longan fruit pericarp [J]. Food chemistry, 2008, 106(2): 685-690.
- [18] SUN L Q, WANG L, LI J, et al. Characterization and antioxidant activities of degraded polysaccharides from two marine Chrysophyta [J]. Food chemistry, 2014, 160(10): 1-7.

(上接第 12 页)

离在城市的边缘成为城市游民,正在上学的“农二代”疲于参加招教考试、事业单位考试、公务员考试以增加就业砝码,对前途非常担忧。因此,建议各级政府从工作素质、投资帮扶、普法教育、农村政策、民生问题等各个方面进行改革,通过加大投入、政策支持、教育引导帮助普通“农二代”,支持帮扶西北地区普通“农二代”“农三代”摆脱生存困境,促进城镇化稳定持续发展以及社会的和谐稳定。

参考文献

- [1] 刘洪银. “农二代”城镇层级流动对打工收入增长的影响[J]. 西南大学

- 学报(社会科学版), 2015, 41(6): 44.
- [2] 周潇. 从学校到工厂: 中等职业教育与农二代的社会流动[J]. 青年研究, 2015(5): 22.
- [3] 满仓. 农二代,大城市到处都是他们的身影[J]. 当代工人, 2015(20): 15.
- [4] 魏露露,金佳斌,庄虹. “农二代”的身份认同危机及影响: 基于在杭“农二代”的考察[J]. 才智, 2013(13): 279.
- [5] 余建超. 流动人口犯罪问题研究: 以务工“农二代”为例[J]. 湖北警官学院学报, 2015(5): 131.
- [6] 周晓进. “农二代”大学生创业教育研究: 基于创业机会理论的视角[J]. 继续教育研究, 2015(12): 28.
- [7] 黄彤. 我国征地制度存在的问题及对策研究[J]. 安徽农业科学, 2015(27): 272-273.