

邓艳美,王红妹,万从庆. 青花菜中硫代葡萄糖苷的提取工艺[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):254-256.

青花菜中硫代葡萄糖苷的提取工艺

邓艳美,王红妹,万从庆

(枣庄学院生命科学学院,山东枣庄 277160)

摘要:研究青花菜中硫代葡萄糖苷物质的最佳提取方法,采用乙醇回流提取青花菜中硫代葡萄糖苷。结果表明,硫代葡萄糖苷最佳提取条件为:75%乙醇溶液、料液比为 1:7(g:mL)、温度为 80℃、提取时间为 20 min,提取液中硫代葡萄糖苷含量达到 33.71 μmol/g。

关键词:青花菜;硫代葡萄糖苷;提取

中图分类号: TS255.36 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0254-03

硫代葡萄糖苷(glucosinolates,简称硫苷)是十字花科蔬菜中重要的次生代谢产物。硫代葡萄糖苷由β-硫代葡萄糖基、磺酸肟和一个侧链组成。根据侧链 R 基团的不同,可以把硫苷分为脂肪族、芳香族和吲哚族三大类。目前已发现的硫苷有 120 多种,存在于十字花科蔬菜中的约有 15 种,主要存在于青花菜、羽衣甘蓝、抱子甘蓝、花椰菜、辣根、大白菜等十字花科蔬菜中,其中青花菜含有 5~6 种硫代葡萄糖苷。Merete 对青花菜的研究发现,青花菜虽然不是总硫代葡萄糖苷含量最高的蔬菜,但是其硫代葡萄糖苷含量也很高,其中以 4-甲基亚磺酰基丁烯基硫代葡萄糖苷和 3-甲基亚磺酰基丙烯基硫代葡萄糖苷为主。在植物体中,内源芥子酶和硫苷同时存在于不同的部位,完整的硫苷并不具有生理活性。但是,当硫代葡萄糖苷被食用或机械破碎时,硫苷在内源芥子酶的作用下容易水解产生异硫氰酸酯、硫氰酸酯、硫代噁唑烷酮

和腈类等不同化合物。这些降解产物具有较强抗菌作用及通过诱导泛醌还原酶的活性成为致癌物质的阻断剂^[1]。有关硫苷降解物的抗肿瘤作用,动物试验报道,硫苷对肿瘤有明显的抑制作用,且硫苷混合物具有更强的抗肿瘤活性^[2]。鉴于硫苷及其降解产物的抗肿瘤活性以及食用含硫苷丰富的食物可防癌变,且普遍存在于蔬菜、油料作物和菜籽粕中,近年来,对硫苷的提取、鉴定的研究引起科研工作者极大兴趣^[3]。

近 30 年来,国内外对硫苷的分析测试方法进行了多方面的研究和改进,逐步形成了硫苷测定技术。硫苷测试的方法多种多样,每种方法均有其优缺点和适用范围。高效液相色谱测硫苷分量技术、近红外光谱测定完整油菜籽中硫苷技术、芥酸硫苷定量速测技术是目前国内外广泛应用的硫苷测试分析技术^[4]。分析各种检测方法,许多精密方法都需用到标准品:酶制剂、离子交换柱等昂贵药品和实验仪器^[5-7]。根据各种方法的优缺点,从尽量发挥现有仪器设备功能,避免过大的投入,可以采用硫酸根离子沉淀测定法为常用检验方法。

我国青花菜资源丰富,许多省份均有种植,虽然种植量比较大,但是,在青花菜深加工方面,价值没有得到很好体现。

收稿日期:2012-12-28
作者简介:邓艳美(1977—),女,山东枣庄人,硕士研究生,研究方向为生物制药。E-mail:lwtgdy2012@163.com。

表 2 黄瓜薄荷冰淇淋最佳配方正交试验结果

序号	A:黄瓜浆 添加量(%)	B:薄荷汁 添加量(%)	C:白砂糖 添加量(%)	D:CMC 添 加量(%)	综合评分 (分)
1	20	3	8	0.3	70
2	20	4	10	0.4	68
3	20	5	12	0.5	69
4	25	3	10	0.5	88
5	25	4	12	0.3	85
6	25	5	8	0.4	78
7	30	3	12	0.4	76
8	30	4	8	0.5	73
9	30	5	10	0.3	82
k ₁	69.0	78.0	73.7	79.0	
k ₂	83.7	75.3	79.3	74.0	
k ₃	77.0	76.3	76.7	76.7	
R	14.7	2.7	5.6	2.3	

3 结论

试验结果表明,黄瓜薄荷冰淇淋的最佳配方为黄瓜浆

25%、薄荷汁 3%、白砂糖 10%、CMC 0.3%,在此工艺条件下制得的产品组织状态均匀稳定,口感最佳。该产品色泽青翠均匀,形态完整,细腻润滑,无凝粒及明显粗糙的冰晶,奶香浓郁,有清爽黄瓜香,薄荷味适中,各项理化指标及微生物指标均符合国家标准。

参考文献:

[1] 冰洁如. 冰淇淋制造新技术信息[J]. 食品工业,1995(1): 18-19.
[2] 张兰威. 乳与乳制品工艺学[M]. 北京:中国农业出版社,2006: 103-105.
[3] 张艳荣,王大为,王彦征. 影响冰淇淋膨胀率因素的研究[J]. 吉林农业大学学报,2002,24(5):100-103.
[4] 谢苒蓂,杨晓波,李淑华,等. 乳化剂的协同作用在冰淇淋中的应用[J]. 食品工业,2004,25(1):3-5.
[5] 钱 镭,蔡柏岩,刘 婷. 老化、均质条件对冰淇淋膨胀率和抗融性的影响[J]. 食品科技,2008,33(4):88-92.
[6] 郭奇慧,白 雪,胡新宇,等. 冰淇淋的感官评定方法与感官质量控制[J]. 食品研究与开发,2009,30(1):136-138.

作为原料的青花菜,其中硫代葡萄糖苷有着丰富多样的生物活性,在抗肿瘤、抗癌方面起到显著的作用^[8-9]。以青花菜为原料,加强对青花菜中硫代葡萄糖苷的研究和利用,开发出具有更高技术含量的产品,不仅可以提高青花菜原料本身的经济价值,为青花菜找到一条新的出路,让青花菜宝贵资源为社会带来更大的利益,为人类健康作出更大的贡献。

由于硫代葡萄糖苷的提取制备工艺不够成熟^[10],限制了大规模工业生产。本试验以青花菜为原料,系统研究提取温度、提取时间、溶剂浓度、料液比等因素对硫代葡萄糖苷提取的影响,通过正交试验优化硫苷的提取条件,提高硫苷的提取量,为工业化生产硫代葡萄糖苷提供基础,也为进一步生产抗癌活性物质——萝卜硫素提供丰富的资源。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜青花菜(购于枣庄市中区苏果超市),盐酸(AR)、醋酸钨(AR)、醋酸铅(AR)、氯化钡(AR)、乙醇(AR)、蒸馏水。

1.2 方法

1.2.1 青花菜干粉的制备 将经过筛选、清洗干净的青花菜置于烘箱中于 60 ℃ 烘烤至干,取花蕾部位粉碎,过 20 目筛备用。

1.2.2 硫代葡萄糖苷的提取工艺流程 青花菜→洗涤→切片→干燥→粉碎称重(花蕾部位)→乙醇加热回流→加入 Pb(AC)₂→静止→抽滤→滤液(硫代葡萄糖苷的粗提物)→加入 Ba(AC)₂,过滤→除乙醇→加入 BaCl、HCl→90 ℃ 水浴 2 h→静止过夜→过滤→灰化至恒重→称重→计算硫代葡萄糖苷含量(采用硫酸根离子沉淀法)

1.2.3 单因素试验设计 为了确定硫代葡萄糖苷提取正交试验设计各因素的影响程度和取值范围,首先对提取青花菜中硫苷的提取温度、时间、溶剂浓度、料液比 4 个因素进行单因素试验。

准确称取 5 g 20 目预处理后的青花菜花蕾部位干物质原料于 150 mL 锥形瓶中,按照一定料液比加入乙醇溶剂中,加热回流提取,检测硫代葡萄糖苷的提取含量。

2 结果与分析

2.1 硫代葡萄糖苷提取条件优化的单因素试验

2.1.1 温度对硫苷提取的影响 将青花菜干粉按照料液比 1 g : 7 mL 的比例加入 80% 乙醇溶剂,分别在 60、70、80、90 ℃ 的恒温水浴加热,提取 20 min,测定温度对硫苷提取的影响,结果见图 1。结果表明温度在 60~70 ℃ 之间,随着温度的升高,硫代葡萄糖苷的提取量逐渐增加,温度在 80 ℃ 时硫苷的

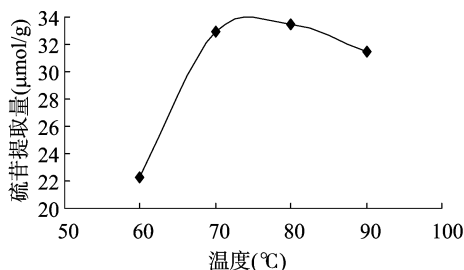


图1 温度对硫苷提取量的影响

提取量最大,达到 33.36 μmol/g。但是,温度在 70~80 ℃ 之间提取量变化不显著,从节约能耗考虑,选择 70 ℃ 为最佳提取温度。提取温度高于 80 ℃ 可能导致部分硫苷的分解,硫苷提取量有所下降。

2.1.2 时间对硫苷提取的影响 将青花菜干粉按照料液比 1 g : 7 mL 的比例加入 80% 乙醇溶剂,在 70 ℃ 恒温水浴中分别提取 10、15、20、25、30 min,测定时间对硫苷提取的影响,结果见图 2。结果表明提取时间为 20 min 时硫苷提取量最大,达到 33.40 μmol/g。随着提取时间的进一步延长,硫苷的提取量变化不明显。当提取时间小于 20 min 时,可能是由于浸提时间过短,硫苷不能及时溶出,提取量不高。延长浸提时间,浸提液与被提取物质相互作用的时间越长,浸出量就越高,表明原料颗粒内部溶质的溶解及扩散均需要一定的时间,但是超过 20 min 后,随着时间的延长,硫苷和提取溶剂之间已经达到了平衡,提取量不会随着时间的延长而增加。

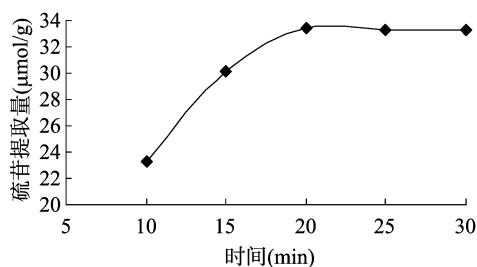


图2 时间对硫苷提取量的影响

2.1.3 乙醇浓度对硫苷提取的影响 将青花菜干粉按照料液比 1 g : 7 mL 的比例分别加入 70%、75%、80%、85%、90% 的乙醇溶剂中,在 70 ℃ 恒温水浴中提取 20 min,测定溶剂浓度对硫苷提取的影响,结果见图 3。结果表明乙醇浓度为 80% 对提取量最大,达到 33.42 μmol/g,随着溶剂浓度继续增高,提取量不断减小。由于原料颗粒内部溶质的溶解及扩散需要一定乙醇量和水的量比,不同的比重,硫苷提取量不同,比重偏高或偏低都可能影响硫苷提取的量。在乙醇为 80% 浓度条件下,乙醇和水达到最佳比重,提取量达到最高。

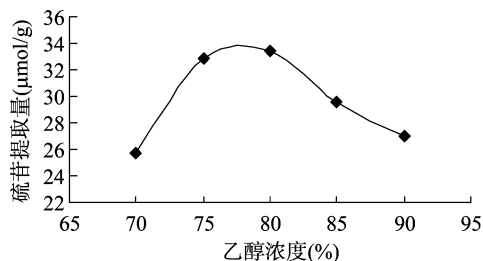


图3 乙醇浓度对硫苷提取量的影响

2.1.4 料液比对硫苷提取的影响 将青花菜干粉分别按照料液比 1 : 5、1 : 7、1 : 9、1 : 11(g : mL) 的比例加入 80% 乙醇中,在 70 ℃ 恒温水浴中提取 20 min,测定料液比对硫苷提取的影响,结果见图 4。结果表明料液比为 1 : 7(g : mL) 时,硫苷的提取量达到最大,为 33.56 μmol/g,随着提取溶剂的增加,原料中硫苷的提取量变化趋势不明显。

2.2 正交试验和工艺条件的优化

根据单因素试验结果,按照表 1 设计的正交试验,选用不同的提取温度、提取时间、溶剂浓度、料液比作为研究因素,以

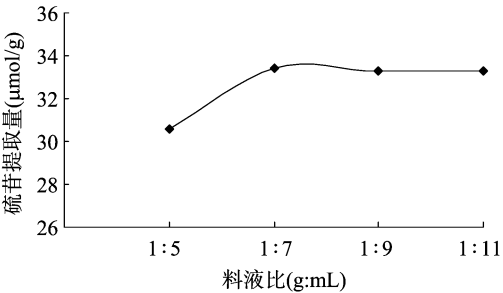


图4 不同料液比对硫苷提取量的影响

提取液中硫代葡萄糖苷的含量为研究指标,对青花菜中硫苷提取的 $L_9(3^4)$ 正交试验方案和结果进行极差分析,结果见表 2。

表 1 硫代葡萄糖苷提取正交试验设计

水平	因素			
	A:温度 (℃)	B:时间 (min)	C:乙醇浓度 (%)	D:料液比 (g : mL)
1	70	15	75	1 : 5
2	80	20	80	1 : 7
3	90	25	85	1 : 9

表 2 硫代葡萄糖苷提取正交试验结果

序号	A:温度	B:时间	C:乙醇 浓度	D:料 液比	硫代葡萄糖苷 含量(μmol/g)
1	1	1	1	1	32.11
2	1	2	2	2	33.39
3	1	3	3	3	24.42
4	2	1	2	3	33.52
5	2	2	3	1	27.54
6	2	3	1	2	30.61
7	3	1	3	2	27.48
8	3	2	1	3	32.92
9	3	3	2	1	23.56
k_1	29.973	31.037	31.880	27.737	
k_2	30.557	31.283	30.157	30.493	
k_3	27.987	26.197	26.480	30.287	
R	2.570	5.086	5.400	2.756	

由表 2 的正交试验结果,得出各因素对提取硫代葡萄糖苷提取率的主次因素依次为:乙醇浓度 > 时间 > 料液比 > 温度。青花菜中硫代葡萄糖苷的提取率最高的试验组合为 $A_2B_2C_1D_2$,即提取的最佳条件为温度 80℃、时间 20 min、乙醇浓度 75%、料液比为 1 : 7(g : mL)。经验证试验,在上述最佳提取工艺条件下,从青花菜中提取硫苷的总量为

33.71 μmol/g。

3 结论与讨论

对乙醇回流法提取青花菜中硫代葡萄糖苷的各个相关因素进行了研究,在单因素试验的基础上,对乙醇回流法提取青花菜中硫代葡萄糖苷的提取条件进行了正交试验优化,并通过验证试验得到了最佳乙醇回流法提取青花菜中硫代葡萄糖苷的工艺条件,即提取时间 20 min,提取温度 80℃,乙醇浓度 75%,原料料液比 1 : 7(g : mL),从青花菜中提取硫苷的总量为 33.71 μmol/g。

据相关文献报道,对硫代葡萄糖苷的研究方向侧重于对硫代葡萄糖苷单体结构鉴定的分析,对提取工艺的研究几乎是空白。试验结果为从天然材料中提取硫代葡萄糖苷的工业化生产提供理论依据。

在现有的试验设备和试剂的基础上,初步讨论了与硫代葡萄糖苷相关的 4 个不同因素对硫苷提取量的影响,并得到了预期效果。今后将进一步开展硫代葡萄糖苷的分离纯化及其水解产物萝卜硫素的抑菌性研究,为工业化生产硫代葡萄糖苷提供基础。

参考文献:

[1] 沈莲清,苏光耀,王奎武. 西兰花种子中硫苷酶解产物萝卜硫素的提纯与抗肿瘤的体外试验研究[J]. 中国食品学报,2008,8(5):15-21.

[2] 季宇彬,池文杰,邹翔,等. 西兰花中萝卜硫素提取、分离与抗癌活性研究[J]. 哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2005,21(3):270-273.

[3] 涂宗财,郭逍遥,刘成梅,等. 芥菜中硫代葡萄糖苷提取工艺条件的优化[J]. 食品与生物技术学报,2007,26(6):9-12.

[4] 李培武,周海燕. 油菜硫代葡萄糖苷检测技术研究进展[J]. 中国油料作物学报,2008,30(1):127-131.

[5] 何洪巨,陈杭,Schnitzler W H. 芸薹属蔬菜中硫代葡萄糖苷鉴定与含量分析[J]. 中国农业科学,2002,35(2):192-197.

[6] 宋廷宇,侯喜林,何启伟,等. 薹菜中硫代葡萄糖苷的鉴定与含量分析[J]. 园艺学报,2008,35(8):1161-1166.

[7] 夏薇,赵秀娟,吴坤,等. 北方 12 种蔬菜中菜菔硫烷含量的测定[J]. 疾病控制杂志,2005,9(3):209-211.

[8] 钱丽丽,刘江丽,李扬,等. 西兰花中硫代葡萄糖苷的提取及抑菌试验初报[J]. 中国农学通报,2008,24(2):335-338.

[9] 修丽丽,钮昆亮. 十字花科植物中的硫代葡萄糖苷及其降解产物[J]. 浙江科技学院学报,2004,16(3):187-189,211.

[10] 袁丽凤,郭伟强,王志刚. 油菜籽中 4-戊烯基硫代葡萄糖苷的提取、分离及结构鉴定[J]. 分析化学,2004,32(11):1513-1516.