

赵丽平,乔新荣,殷东林.信阳红茶多糖的提取及其对葡萄糖激酶活性的影响[J].江苏农业科学,2014,42(10):263-265.

信阳红茶多糖的提取及其对葡萄糖激酶活性的影响

赵丽平,乔新荣,殷东林

(信阳农林学院,河南信阳 464000)

摘要:采用简单热水浸提法提取信阳红茶多糖,探讨料液比、提取时间、提取温度等因素对多糖提取率及葡萄糖激酶活性的影响。结果表明:提取红茶多糖的最佳工艺条件为料液比 1 g : 25 mL、提取时间 6 h、提取温度 95 ℃,该工艺条件下多糖的提取率为 3.50%,葡萄糖激酶的相对酶活比值达到 3.12。多糖提取率与葡萄糖激酶的相对酶活并不呈正相关关系。

关键词:信阳红茶;多糖;葡萄糖激酶;提取工艺

中图分类号: TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0263-02

信阳毛尖历史悠久,而且香气浓郁,甘醇爽口,是中国十大名茶之一。近几年来,河南省信阳市又生产出红茶新品种,名为“信阳红”^[1]。据报道,绿茶的抗氧化性主要来自于茶多酚,而红茶的抗氧化性主要来自于茶多糖。一直以来,人们对信阳绿茶多酚的研究较多,而对信阳红茶多糖的研究较少。研究表明,茶多糖具有降血糖、降血脂、降血压、减慢心率、增加冠脉流量、抗氧化、抗血栓及抗凝血等作用^[2-5]。茶多糖的提取方法有很多种,本研究采用操作简单、投资少的水提法提取红茶多糖,并应用正交设计优选法对红茶多糖的提取工艺进行研究。同时为揭示多糖的高提取效率与其高活性之间的相关性,以葡萄糖激酶为例,系统考察了提取条件对多糖活性的影响,以期红茶多糖生物活性的系统研究及将其作为药用及食品等多方面功能原料的开发提供理论参考依据。

1 材料与与方法

1.1 材料与试剂

信阳红茶,购自河南省信阳市茶市;试验动物为昆明种小鼠,由信阳农林学院动物科学系饲养。

分析纯无水乙醇、丙酮、氯仿-正丁醇(武汉中天化工有限责任公司);葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、ATP、NADP(Solarbio 公司)。

1.2 仪器与设备

MZ-10 粉碎机(青岛迈科隆粉体技术设备有限公司);101A-2 型电热鼓风干燥箱(上海贺德实验设备公司);DK-S24 型电热数显恒温水浴锅(上海精密科学仪器有限公司);FA1004 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司天平仪器厂);LD5-2A 型离心机(湘仪离心机仪器有限公司);721 分光光度计(上海光学仪器厂)。

1.3 试验方法^[6-10]

1.3.1 单因素试验 将一定量的红茶在烘箱中干燥后用粉

碎机粉碎,得红茶细粉末,用热水浸提,采用不同料液比(g : mL)、不同提取时间和不同提取温度提取红茶多糖。(1)料液比试验。称取 5 份干燥磨碎的红茶粉末,各 3.0 g,按料液比 1 g : 10 mL、1 g : 15 mL、1 g : 20 mL、1 g : 25 mL、1 g : 30 mL,分别于 95 ℃恒温 5 h,得到浸提液。(2)提取时间试验。称取 5 份干燥磨碎的红茶粉末,各 3.0 g,料液比设为 1 g : 20 mL,在 90 ℃条件下分别反应 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5 h,过滤后得到浸提液。(3)提取温度试验。称取 5 份干燥磨碎的红茶多糖粉末,各 3.0 g,料液比设为 1 g : 25 mL,分别在 80、85、90、95、100 ℃下反应 4.5 h,过滤,得到浸提液。将(1)至(3)中得到的浸提液用布氏漏斗过滤,浓缩滤液。(4)脱蛋白试验。采用 Sevage 法,按 1 : 4 向提取液中加入氯仿-正丁醇(体积比 4 : 1),混合 20 min,3 500 r/min 离心 5 min,中层白色絮状沉淀即为蛋白质,取上清液,重复 5~6 次,至中间无明显沉淀为止。(5)醇析试验。脱蛋白后,向提取液中缓缓加入无水乙醇,并用玻璃棒缓慢搅拌,静置 1 d,4 000 r/min 离心 15 min,沉淀即为粗多糖。重复几次后,加入 3 倍体积的无水乙醇进行沉淀,静置 1 d。4 000 r/min 离心 15 min 后,滤渣用无水乙醇、丙酮、乙醚交替洗涤,干燥后可得红茶多糖样品,计算红茶多糖提取率,公式如下:

红茶多糖提取率 = (提取液中多糖的含量/红茶干物质的质量) × 100%。

1.3.2 正交试验 选取料液比、提取温度和提取时间 3 个因素,分别设置 3 个水平进行正交试验。

1.3.3 葡萄糖激酶活性的测定 取 5.0 g 饲养的昆明种小鼠肝脏,用 0.15 mol/L KCl、1.0 mmol/L EDTA 配置的清洗液洗净后,加 25 mL 缓冲液(在 pH 值 7.4 的 Tris-HCl 中加入 0.01 mmol/L 半胱氨酸和 1.0 mmol/L EDTA),冰浴匀浆,4 ℃、10 000 r/min 条件下处理 10 min,弃沉淀使得葡萄糖激酶粗酶液。取 0.1 mol/L Tris-HCl、0.2 mmol/L NADP、5.0 mol/L ATP、5.0 mmol/L MgCl₂、0.2 U 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、2.5 mmol/L (低糖组)或 100 mmol/L (高糖组)葡萄糖溶于蒸馏水中,定容至 100 mL。分别取 4.0 mL 低糖组、高糖组溶液,再加入 0.1 mg 红茶多糖提取物、0.1 mL 葡萄糖激酶粗酶液,在 30 ℃条件下反应 10 min,沸水浴中止反应,测其吸光度($D_{340\text{ nm}}$)。用高糖组反应液的吸光度减去低糖组反应

收稿日期:2013-12-08

基金项目:河南省茶产业发展研究计划(编号:KX13J11)。

作者简介:赵丽平(1979—),女,河南许昌人,硕士,讲师,主要从事生物化学方面的教学与研究。E-mail: zhaoliping19790224@163.com。

液的吸光度,即为葡萄糖激酶的相对酶活。

葡萄糖激酶相对酶活比值 = $\Delta D/\Delta D'$ 。

式中: ΔD 为添加红茶多糖提取物的葡萄糖激酶相对酶活, U/mL; $\Delta D'$ 为未添加红茶多糖提取物的葡萄糖激酶相对酶活, U/mL。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 料液比对红茶多糖化合物提取率的影响 由图 1 可知,在提取温度和提取时间一定时,提取率随料液比的增大呈现先增加后减小的趋势。料液比 1 g : 20 mL 时的提取率达最大值,而随液料比进一步加大,提取率反而下降,原因可能是由于随着液料比增大,溶液的黏度降低,红茶多糖的扩散阻力降低,从而有利于多糖的溶出,使多糖得率逐渐提高;但液料比过大会引起后续提取过程中多糖的损失,导致多糖得率减小。因此从全方位考虑,本试验选择的料液比的 3 个水平为 1 g : 15 mL、1 g : 20 mL、1 g : 25 mL 作为正交试验的料液比因素。

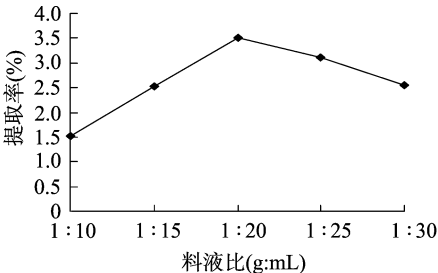


图1 料液比对红茶多糖提取率的影响

2.1.2 提取时间对红茶多糖化合物提取率的影响 由图 2 可以看出,在提取温度和料液比一定时,随着提取时间的延长,提取率呈现出先增加后减小的趋势,以提取 6.0 h 的提取率最高,在 6.0 h 以后,随着提取时间延长,提取率有所下降。这是因为在提取的初始阶段,随着时间延长,红茶多糖的溶解越来越充分,从而使多糖的提取率逐渐升高;当提取一定时间后,溶出的杂质也越来越多,溶液的黏度增加了,从而阻碍了多糖的扩散溶出,使多糖提取率反而下降;此外,也可能是提取时间过长导致红茶多糖部分降解所致。基于提取效率、提取成本方面的考虑,将 6.0 h 定为红茶多糖的较佳提取时间,选取 5.5、6.0、6.5 h 作为正交试验时间因素的 3 个水平。

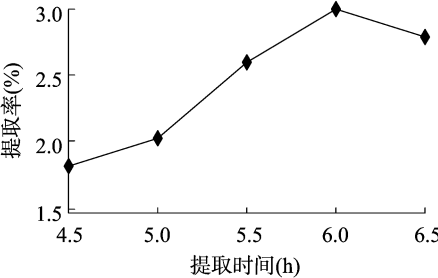


图2 提取时间对红茶多糖提取率的影响

2.1.3 提取温度对红茶多糖化合物提取率的影响 由图 3 可以看出,红茶提取率随着温度的升高明显增加。在 90 ℃ 左右时,红茶多糖提取率的上升开始不很明显;当温度超过

95 ℃ 时,提取率有下降趋势,这可能是因为温度过高时容易引起多糖的降解,因此提取率下降,而温度过低则不利于多糖物质的溶出。因此,选择 95 ℃ 作为红茶多糖的最佳提取温度,选择 85、90、95 ℃ 作为正交试验温度因素的 3 个水平。

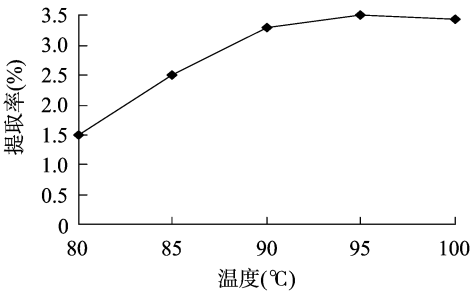


图3 温度对红茶多糖提取率的影响

2.2 正交试验结果

各因素水平设计见表 1,试验结果见表 2。

表 1 正交试验的因素水平设计

水平	因素		
	A:料液比 (g : mL)	B:提取时间 (h)	C:提取温度 (℃)
1	1 : 15	5.5	85
2	1 : 20	6.0	90
3	1 : 25	6.5	95

由表 2 可以看出,不同因素水平对红茶多糖提取率有不同影响,从极差 R 值可知,时间影响较小,温度次之,料液比的影响最大。按提取率大小确定最佳工艺条件为:提取时间 6.0 h、提取温度 95 ℃、料液比 1 g : 20 mL,即 $A_2B_2C_3$,在此最佳条件下红茶多糖的提取率为 3.50%。此外, $A_2B_2C_3$ 组合的葡萄糖激酶相对酶活比值也最大。

表 2 红茶多糖提取率正交试验结果与分析

编号	A:料液比 (g : mL)	B:提取时 间(h)	C:提取温度 (℃)	红茶多糖 提取率(%)	葡萄糖激酶 相对酶活比值
1	1	1	1	2.12	2.21
2	1	2	2	2.35	1.98
3	1	3	3	2.93	2.45
4	2	1	2	3.20	3.03
5	2	2	3	3.50	3.12
6	2	3	1	3.23	2.82
7	3	1	3	3.13	2.88
8	3	2	1	2.20	1.65
9	3	3	2	2.65	2.01
k_1	2.47	2.81	2.52		
k_2	3.31	2.68	2.73		
k_3	2.66	2.94	3.19		
R	0.84	0.13	0.46		

3 结论

红茶多糖提取过程中会受到多因素的影响,其中料液比、浸提时间和浸提温度均会对红茶多糖得率产生影响。本试验中,料液比对多糖提取率的影响最大,其次是浸提温度,最后为浸提时间;但从本试验结果来看,提取率与葡萄糖激酶相对酶活并不呈正相关关系。影响红茶多糖提取率及酶活的因素

管仁贵,柳 婵,褚菲菲. 正交设计优化制备淀粉接枝 AMPS 高吸水树脂[J]. 江苏农业科学,2014,42(10):265-267.

正交设计优化制备淀粉接枝 AMPS 高吸水树脂

管仁贵,柳 婵,褚菲菲

(烟台大学化学化工学院/山东省黄金工程技术研究中心,山东烟台 264005)

摘要:以 N,N -亚甲基双丙烯酰胺为交联剂、过硫酸钾为引发剂,采用正交设计优化合成了丙烯酰胺/2-丙烯酰胺基-2-甲基丙磺酸(AM/AMPS)接枝改性淀粉基高吸水树脂,通过红外光谱和扫描电镜对树脂的结构及吸水后的表面形貌进行表征。性能测试结果表明:在正交试验确定的较优工艺条件下,树脂对去离子水、自来水、生理盐水的吸液倍率分别为 1 797.0、162.5、79.4 g/g;加压 3 500 Pa 条件下的保水率为 74.4%。综合试验结果可以看出,树脂在土壤中的保水缓释作用显著,并且随着树脂用量的增加而增强。

关键词:正交法;淀粉;AMPS;接枝;土壤保水

中图分类号: TQ321.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0265-03

淀粉基高吸水树脂因生产成本低、可生物降解、对环境无污染且具有优越的吸水保水性能等优点而被广泛应用于医疗卫生、农林园艺、沙漠治理等领域^[1-2],而提高该类产品的综合吸液能力是目前的研究热点^[3]。2-丙烯酰胺基-2-甲基丙磺酸(以下简称 AMPS)分子中含有吸水性和耐盐性极强的离子型亲水基团磺酸基^[4-5],丙烯酰胺(以下简称 AM)单体上含有吸水性较强的非离子型基团酰胺基,本试验采用 AM 和 AMPS 与淀粉接枝共聚的方法得到分子链上含有 2 种不同类型亲水基团的吸水树脂^[6-7],并利用基团间的协同互补效应提高树脂的吸水保水能力。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

主要试剂有:可溶性淀粉、AMPS、过硫酸钾(KPS)、氢氧

化钠(NaOH)、 N,N -亚甲基双丙烯酰胺(MBA)、AM。除 AM 为化学纯(95%)外,其余均为分析纯,所有试剂均直接使用。

主要仪器有:冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;IRPrestige-21 傅里叶变换红外光谱仪,日本岛津公司;HITACHI S-4800 型高分辨率场发射扫描电子显微镜,日本日立公司。

1.2 试验方法

称取 1 g 可溶性淀粉于 100 mL 三口烧瓶中,加入 15 mL 去离子水,通氮气,80 ℃ 搅拌糊化;1 h 后降温至 60 ℃,加入过硫酸钾溶液;30 min 后将适量 AMPS(冰水浴中用 NaOH 溶液调节 pH 值至 6~7)、AM、MBA 溶液一起加入到三口烧瓶中,体系总用水量为 30 mL;恒温反应 3 h,产物用无水乙醇洗涤浸泡,45 ℃ 真空干燥至恒重。

1.3 性能测试

1.3.1 吸液性能 称取 0.05 g 树脂(记为 m_1)加入到盛有 500 mL 去离子水的烧杯中,吸水饱和后将树脂倾倒在 100 目的筛上,过滤至无水滴下,称重(记为 m_2)。吸水倍率的计算公式为: $Q(\text{g/g}) = (m_2 - m_1)/m_1$ 。以此类推,测试树脂在自来水和生理盐水中的吸液能力。

1.3.2 保水性能 将吸水饱和后的树脂(记为 m_1)置于

收稿日期:2013-12-27

基金项目:山东省高等学校科技计划(编号:J13LD11);烟台大学青年基金(编号:HY11Z6)。

作者简介:管仁贵(1974—),男,山东日照人,博士,讲师,研究方向为纳米及催化材料。E-mail:guanrengui@sina.com。

很多,除了上述因素外,多糖提取方法、茶叶的采摘时期、除蛋白试剂的种类和方法等都会影响红茶多糖提取率。因此今后还需要对这些因素进行分析,以进一步优化提取条件,提高提取率,从而在综合多方面因素的基础上探讨提取率与多糖酶活性的关系。同时,对红茶多糖其他方面的研究,如分离纯化、组分鉴定、分子测量和生物活性测定等也有待深入。

参考文献:

- [1] 佚名. “信阳红”今年产值 25 亿元[J]. 中国茶叶,2012(1):25.
- [2] 王莉英,俞茂华. 茶多糖的组分及其生物活性[J]. 中国临床医学,2004,11(5):924-925.
- [3] 倪德江,陈玉琼,谢笔钧,等. 绿茶、乌龙茶、红茶的茶多糖组成、抗氧化及降血糖作用研究[J]. 营养学报,2004,26(1):57-60.

- [4] 王 超,施晓云,祁 杨. 茶多糖提取及其稳定性研究[J]. 江苏科技大学学报:自然科学版,2011,25(2):187-190.
- [5] 刘素强,钟应富,吴 全,等. 茶多糖的研究及其利用[J]. 南方农业,2009,3(5):111-113.
- [6] 赵雨平,肖 颖,董 翠. 信阳绿茶中茶多糖提取工艺研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(10):245-246.
- [7] 章银良,李红旗,高 峻,等. 螺旋藻多糖提取新工艺的研究[J]. 食品与发酵工业,1999,25(2):15-18.
- [8] 林标声,杨生玉,胡晓冰,等. 茯苓液体培养法中羧甲基茯苓多糖(CMP)的提取、纯化及鉴定[J]. 河南大学学报:自然科学版,2008,38(3):296-300.
- [9] 王红庆,赵雨平,朱晓明. 槐花多糖提取工艺的研究[J]. 湖北农业科学,2011,50(13):2733-2735.
- [10] 周向军,高义霞,袁毅君,等. 乌龙茶多糖提取工艺及抗氧化作用研究[J]. 中国酿造,2011(8):80-84.