

乔月芳,马艳弘,张宏志,等. 菊芋中菊糖的热水浸提工艺优化及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2016,44(3):291-294.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.03.083

菊芋中菊糖的热水浸提工艺优化及抗氧化活性

乔月芳^{1,2}, 马艳弘², 张宏志², 李亚辉², 侯红萍¹, 唐伯平³

(1. 山西农业大学食品科学与工程学院,山西太谷 030801; 2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所,江苏南京 210014;
3. 盐城师范学院江苏省滩涂生物农业协同创新中心,江苏盐城 224000)

摘要:研究菊芋菊糖的热水浸提法提取工艺,在单因素试验基础上,通过正交分析法优化菊糖的提取工艺,分析料液比、提取温度、提取时间对菊糖提取率的影响,并对菊糖的抗氧化活性进行分析。结果表明,菊芋菊糖的最佳提取工艺为:料液比 1 g : 30 mL,提取温度 90 ℃,提取时间 120 min,在此条件下菊糖的提取率为 89.60%。所提菊糖具有较强的抗氧化活性,0.10 mg/mL 浓度的菊糖对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除能力最高达 91.30%,抗超氧阴离子自由基能力最高达 205.59 U/L,对羟自由基的抑制率最高达 96.00%。

关键词:菊芋;菊糖;热水浸提;工艺优化;抗氧化活性

中图分类号: TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)03-0291-03

菊芋(*Helianthus tuberosus*)别称洋姜、鬼子姜或姜不辣,为菊科向日葵属宿根性草本植物,具有抗旱、耐低温和盐碱等生理特性,尤其适合在荒漠、盐碱滩涂地种植^[1],属于非耕地型经济作物。菊芋富含菊糖、多种氨基酸、维生素、果胶、有机酸、酚类化合物等营养物质,具有极高的营养价值、经济价值和开发应用前景^[2]。菊芋被美国防癌协会列为 30 种有防癌作用的蔬菜之一,菊糖是其中最主要的功能成分,其干物质含量占菊芋块茎的 70% 以上,是由 D-果糖经 $\beta(2\rightarrow1)$ 糖苷键脱水聚合而形成的呈线形直链状结构的天然果聚糖^[3],是超强的双歧杆菌增殖增效因子,具有降血脂、调节血糖、调节肠道功能、预防结肠癌、促进金属离子吸收、增强免疫功能等营养保健功效^[4-6],还具有低热量、脂质感、凝胶性、保湿性、稳定性等优良的理化特性^[7],已被 40 多个国家批准为功能食品,被广泛应用于乳制品、面包、糖果、饮料、调味料等食品加工领域。

目前国内市场上的菊糖大多采用菊苣为原料来制备,而以菊芋为原料的菊糖生产尚处于起步发展阶段。尽管有报道认为微波、超声辅助法提取菊糖技术具有提取率高、速度快、安全无污染等优点^[8-10],但大多不适合产业化生产。因此,本试验采用热水浸提法提取菊芋菊糖,采用正交试验法优化菊糖提取工艺,并探讨菊糖抗氧化活性,为寻求科学高效的菊糖提取技术途径及解决菊糖生产技术难题提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

收稿日期:2015-05-11

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金产业技术体系类项目[编号: CX(12)1005];江苏省科技支撑计划(编号: BE2014347)。

作者简介:乔月芳(1988—),女,山西大同人,硕士研究生,研究方向为食品微生物与发酵技术。E-mail: 15251889537@163.com。

通信作者:马艳弘,博士,副研究员,主要从事农产品加工与副产物综合利用研究。E-mail: ma_yhhy@126.com。

菊芋,由江苏大丰盐土大地农业科技有限公司提供;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),上海源叶生物科技有限公司;羟自由基测定试剂盒、抗超氧阴离子自由基测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;葡萄糖、3,5-二硝基水杨酸、氢氧化钠、浓硫酸、苯酚、4 水酒石酸钾钠、无水亚硫酸钠等均为分析纯试剂,购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 试验仪器

FW100 高速万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;DHG-9070 电热鼓风干燥箱,上海齐欣科学仪器有限公司;HJ-6A 多头磁力搅拌器,常州国华仪器有限公司;XW-80A 型旋涡混合器,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;D-B5 型紫外可见分光光度计,上海奥析科学仪器有限公司;DDL-1kW 电子调温电炉,常州市伟嘉仪器制造有限公司;JJ-500 电子天平,常熟市双杰测试仪器厂;TGL-16B 台式离心机,上海安亭科学仪器厂;RE6000 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;ZD-F12 真空冷冻干燥机,南京载智自动化设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 菊芋菊糖的提取 将新鲜菊芋清洗干净,切成约 2 mm 厚的薄片,铺于鼓风干燥箱中,于 60 ℃ 烘干至恒质量,经高速万能粉碎机粉碎后过 60 目筛。准确称取一定量的菊芋干粉于锥形瓶中,在不同料液比、不同提取时间、不同提取温度下提取菊糖,离心得菊糖粗提取液,添加新鲜饱和石灰水调节 pH 值为 10 左右,放入 70 ℃ 恒温水浴保温 10 min,冷却至室温再用磷酸调 pH 值为 7 左右,离心得除杂后的菊糖提取液。在除杂提取液中加入 0.4% 高温活化处理过的活性炭粉末,混合均匀后于 50 ℃ 恒温水浴保温 10 min,冷却至室温后抽滤^[11-12],上清液于 50 ℃ 旋转蒸发浓缩,最后经冷冻干燥即可。

1.3.2 菊芋菊糖提取单因素试验设计 以菊芋菊糖提取率为考察目标,考察热水浸提法提取菊糖时不同料液比、提取时间、提取温度对菊芋菊糖提取率的影响,提取条件的单因素试验设计见表 1。

表 1 菊芋菊糖提取单因素试验设计

| 因素 | 水平 | 其他提取条件 |
|-------------|---|------------------------------|
| 料液比(g : mL) | 1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35 | 提取温度 70 ℃, 提取时间 90 min |
| 提取温度(℃) | 50、60、70、80、90、100 | 料液比 1 g : 20 mL, 提取时间 90 min |
| 提取时间(min) | 30、60、90、120、150、180 | 料液比 1 g : 20 mL, 提取温度 70 ℃ |

1.3.3 菊芋菊糖提取正交试验设计 根据单因素试验结果, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计方案, 以料液比、提取温度、提取时间为试验因素, 以菊糖提取率为指标优化工艺条件。试验因素水平见表 2。

表 2 菊芋菊糖提取工艺的正交试验因素水平

| 水平 | 料液比 (g : mL) | 提取温度 (℃) | 提取时间 (min) |
|----|-----------------|-------------|---------------|
| 1 | 1 : 20 | 70 | 90 |
| 2 | 1 : 25 | 80 | 120 |
| 3 | 1 : 30 | 90 | 150 |

1.3.4 菊糖提取率的测定 采用 DNS 试剂法测定提取液还原糖含量, 苯酚-硫酸法测定提取液总糖含量, 菊糖提取率的计算方法为:

菊糖提取率 = [总糖质量(g) - 还原糖质量(g)] / 菊芋质量(g) × 100% 。

1.3.5 菊芋菊糖抗氧化活性检测^[13-15]

1.3.5.1 DPPH 自由基清除能力测定 配制 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mg/mL 的菊芋菊糖溶液, 各取 2 mL 于具塞试管中, 每管加入 2 mL 2×10^{-4} mol/L DPPH 溶液, 摇匀后避光放置 30 min, 分别测定 517 nm 处的吸光度 $D_{517\text{ nm}}$ 。DPPH 自由基清除率计算公式为:

$$\text{DPPH 清除率} = [1 - (D_i - D_j) / D_c] \times 100\%$$

式中 D_i 为 2 mL 样品溶液 + 2 mL DPPH 溶液的吸光度; D_j 为 2 mL 样品溶液 + 2 mL 蒸馏水的吸光度; D_c 为 2 mL DPPH 溶液 + 2 mL 蒸馏水的吸光度。

1.3.5.2 抗超氧阴离子自由基能力测定 配制 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mg/mL 的菊芋菊糖溶液, 按试剂盒说明书操作。超氧阴离子自由基清除能力计算公式为:

$$\text{抗超氧阴离子自由基能力 (U/L)} = (D_{550\text{ nm}}(\text{对照组}) - D_{550\text{ nm}}(\text{标准组})) / (D_{550\text{ nm}}(\text{对照组}) - D_{550\text{ nm}}(\text{测试组})) \times \text{标准品浓度}(\text{mg/mL}) \times 1\,000\text{ mL}$$

1.3.5.3 清除羟自由基能力测定 配制 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mg/mL 的菊芋菊糖溶液, 按试剂盒说明书操作。羟自由基抑制能力计算公式如下:

$$\text{羟自由基抑制率} = (D_{550\text{ nm}}(\text{对照组}) - D_{550\text{ nm}}(\text{测试组})) / D_{550\text{ nm}}(\text{对照组}) \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 料液比对菊芋菊糖提取率的影响 如图 1 所示, 在料液比 1 g : 10 mL ~ 1 g : 30 mL 范围内, 随料液比逐渐增大, 菊糖提取率逐渐增高; 当料液比达到 1 g : 30 mL 后, 继续增大提取溶剂量, 提取率提高极其缓慢。这可能是因为随着提取溶剂量的增大, 细胞内部的多糖物质向外扩散速度提高。溶

剂量过大会加重后续浓缩负担从而导致成本的增加, 因此, 综合考虑确定菊糖提取最佳料液比为 1 g : 30 mL。

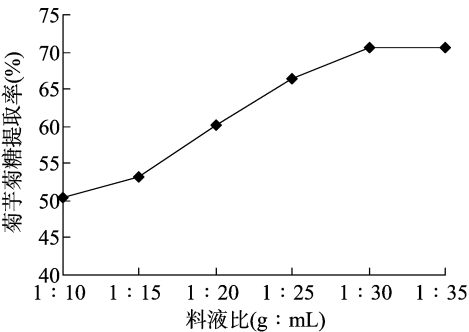


图 1 料液比对菊芋菊糖提取率的影响

2.1.2 提取温度对菊芋菊糖提取率的影响 如图 2 所示, 50 ~ 90 ℃ 范围内, 随着提取温度的提高, 提取率逐渐升高; 当温度大于 90 ℃ 后, 菊糖提取率呈下降趋势。表明在一定范围内, 温度越高越有利于菊糖的溶解, 但是温度太高既增加菊糖提取能耗, 又可导致菊糖轻微降解。因此, 可确定 90 ℃ 为适宜的提取温度。

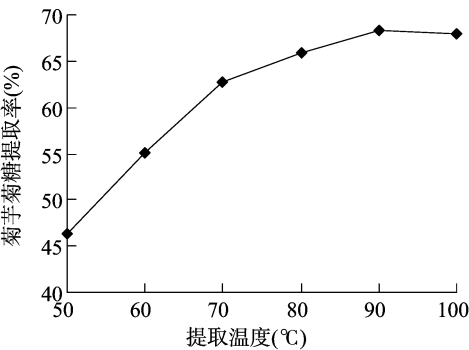


图 2 提取温度对菊芋菊糖提取率的影响

2.1.3 提取时间对菊芋菊糖提取率的影响 如图 3 所示, 在提取时间 30 ~ 120 min 以内, 菊糖提取率随着提取时间的延长而逐渐提高; 超过 120 min 后, 提取率逐渐趋于平缓。表明提取时间越长, 菊糖在溶液中溶解得越多, 当时间超过 120 min 后, 菊糖溶出基本达到平衡。因此, 120 min 为菊糖提取的适宜时间。

2.2 正交试验结果

在单因素试验基础上, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化菊糖提取工艺, 结果见表 3。由极差分析可知, 各因素对菊糖提取率的影响不同, 提取温度对菊糖提取率影响最大, 其次是料液比, 提取时间对菊糖提取率的影响最小, 即: $B > A > C$ 。最佳工艺组合为 $A_3B_3C_2$, 即料液比为 1 g : 30 mL、提取温度 90 ℃, 提取时间 120 min, 此条件下菊糖提取率高达 89.60%。

2.3 菊芋菊糖抗氧化活性分析

2.3.1 清除 DPPH 自由基能力 检测菊糖对 DPPH 自由基

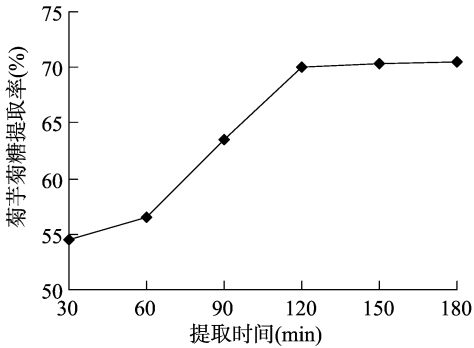


图3 提取时间对菊芋菊糖提取率的影响

表3 菊芋菊糖提取工艺正交试验结果

| 试验号 | A:料液比 | B:提取温度 | C:提取时间 | 菊糖提取率(%) |
|----------------|-------|--------|--------|----------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 70.02 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 64.23 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 74.31 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 71.65 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 77.08 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 79.05 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 73.29 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 72.03 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 89.60 |
| k ₁ | 69.52 | 71.65 | 73.70 | |
| k ₂ | 75.93 | 71.11 | 75.16 | |
| k ₃ | 78.31 | 80.99 | 74.89 | |
| R | 8.79 | 9.87 | 1.46 | |

的清除能力。如图 4 所示,随着菊糖浓度的增加,对 DPPH 自由基清除能力不断增强,在 0.10 mg/mL 浓度时,菊糖对 DPPH 自由基清除能力最高,为 91.30%。

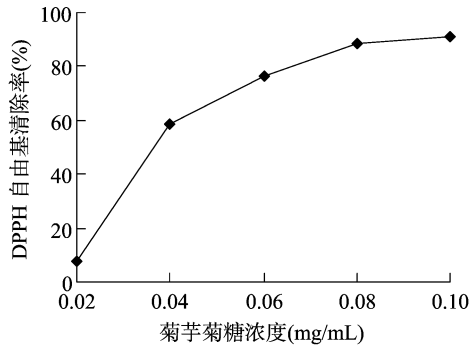


图4 菊芋菊糖浓度对DPPH自由基清除率的影响

2.3.2 抗超氧阴离子自由基能力 如图 5 所示,随样品溶液浓度的增加,抗超氧阴离子自由基能力不断增强。在 0.02 ~ 0.10 mg/mL 浓度范围内,菊糖抗超氧阴离子自由基能力上升趋势明显,在 0.10 mg/mL 浓度时,菊糖抗超氧阴离子自由基能力最高,达 205.59(U/L)。

2.3.3 抑制羟自由基能力 如图 6 所示,随样品溶液浓度的增加,菊芋菊糖对羟自由基抑制率不断提高,在 0.04 ~ 0.10 mg/mL 浓度范围内,其抑制率趋于平衡,在 0.10 mg/mL 浓度时,抑制率最高,达 96.00%。

3 结论

在单因素试验基础上,通过正交分析法优化了菊芋菊糖

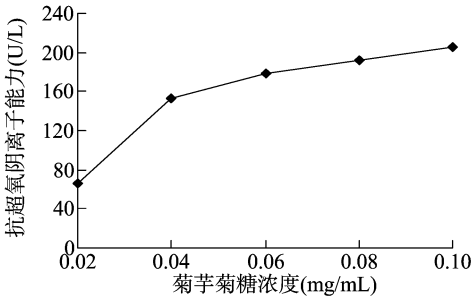


图5 菊芋菊糖浓度对抗超氧阴离子自由基能力的影响

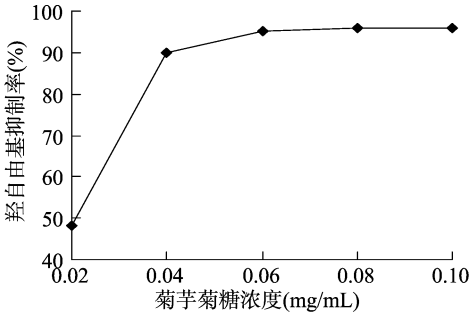


图6 菊芋菊糖对羟自由基的抑制率

提取工艺,得到最佳提取条件为:料液比 1 g : 30 mL,提取温度 90 ℃,提取时间 120 min,在此条件下菊芋菊糖的提取率为 89.60%。通过 DPPH 自由基清除能力、抗超氧阴离子自由基能力、羟自由基抑制能力发现,所提取的菊芋菊糖有较强的抗氧化能力,其 DPPH 自由基清除能力最高达 91.30%,抗超氧阴离子自由基能力最高达 205.59(U/L),羟自由基抑制率最高达 96.00%。

参考文献:

[1]胡素琴,蔡飞鹏,王建梅,等. 菊芋的种植和开发利用[J]. 生物化学工程,2012,46(1):51-54.

[2]Bach V, Clausen M R, Edelenbos M. Chapter 12 - Production of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and impact on inulin and phenolic compounds[M]//Preedy V. Processing and Impact on Active Components in Food. US:Academic Press,2015:97-102.

[3]殷洪,林学进. 菊粉、低聚果糖的研究进展[J]. 中国食品添加剂,2008(3):97-101.

[4]Ellegard L, Anderson H, Bosaeus I. Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe, or bile acids but increase energy excretion in ileostomy subjects [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 1997, 51(1):1-5.

[5]Baba S, Ohta A, Ohtsuki M, et al. Fructooligosacch - arides stimulate the absorption of magnesium from the hindgut in rats [J]. Nutrition Research, 1996, 16(4):657-666.

[6]Nair K K, Kharb S, Thompsonkin D K. Inulin dietary fiber with functional and health attributes - a review[J]. Food Reviews International, 2010, 26(2):189-203.

[7]Arango O, Trujillo A J, Castillo M. Predicting coagulation and syneresis parameters of milk gels when inulin is added as fat substitute using infrared light backscatter [J]. Journal of Food Engineering, 2015, 157:63-69.

任乃林,李 红. 铽离子增敏荧光光度法测定鱼肉组织中的恩诺沙星残留[J]. 江苏农业科学,2016,44(3):294-296.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.03.084

铽离子增敏荧光光度法测定鱼肉组织中的恩诺沙星残留

任乃林,李 红

(韩山师范学院化学系,广东潮州 521041)

摘要:为了研究建立分析测定恩诺沙星的新方法,以铽-恩诺沙星配合物的荧光特性为基础,发现在 pH 值为 6.0 的 HAc-NaAc 缓冲溶液中,铽与恩诺沙星的配合物在 545 nm ($\lambda_{\text{ex}} = 328 \text{ nm}$) 处产生了 Tb^{3+} 的特征荧光峰,可用于恩诺沙星的分析测定,从而建立了简单、快速、灵敏测定恩诺沙星的荧光方法,并优选了反应的最佳条件。在最佳试验条件下,恩诺沙星浓度在 $1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-6} \text{ g/mL}$ 范围内与其 545 nm 的荧光强度呈良好的线性关系 ($r^2 = 0.9923$),检出限为 $1.3 \times 10^{-9} \text{ g/mL}$;对药片中恩诺沙星的测定回收率为 97.7%,变异系数为 1.4%;对于鱼肉组织中恩诺沙星测定回收率为 79.0%~94.5%,变异系数为 2.0%~7.8%。

关键词:增敏荧光分光光度法;恩诺沙星;铽(Ⅲ);药片;鱼肉残留检测;新方法

中图分类号: S912 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)03-0294-03

恩诺沙星(enrofloxacin, ENR)别称乙基环丙沙星,是第 3 代氟喹诺酮类抗菌药,为动物专用抗菌素,因具有抗菌谱广、抗菌活性强、生物利用度高、毒副作用小等优点而受到国内外临床兽医的关注,在临床上已被广泛应用。恩诺沙星为广谱抗菌药,对大肠杆菌、沙门氏杆菌、嗜血杆菌、巴氏杆菌等革兰氏阴性菌有很强的抗菌作用^[1];此外,对革兰氏阳性菌亦表现出良好的抗菌作用。恩诺沙星主要用于治疗猪、鸡、鹅、牛等的细菌性感染,同时用于治疗继发性感染和猪、鸡的霉形体病。但是长期用药所产生的不良反应、在畜禽产品中的残留、耐药性的增加以及在环境中的生态效应等已经引起广泛的关注,农业部也制定了相关残留限量标准。

国内外关于恩诺沙星的检测方法主要有高效液相色谱法(HPLC)^[2-6]、高效毛细管电泳法(HPCE)^[7-8]、酶联免疫法^[9-10]、化学发光分析法^[11-12]和荧光光谱法^[13]等。

从化学结构看,恩诺沙星药物与其同类药物类似,其核心部分为喹啉,具有较大的共轭结构和刚性平面结构,因此可产生较显著的荧光,适合采用荧光光度法测定。

稀土离子 Tb^{3+} 是灵敏的荧光探针,被广泛用于药物、蛋白质、核酸等测定和研究,利用稀土 Tb^{3+} 作为荧光探针测定

喹诺酮类药物已见报道^[14-16],如周静等研究了铽-培氟沙星的荧光特性^[16]。本研究主要探讨了 ENR 与 Tb^{3+} 离子配合物体系的荧光特性,发现 ENR 与 Tb^{3+} 离子能形成稳定的配合物,能够发射铽离子的特征谱线^[16],由此建立 1 种简单、快速、可靠的检测药物中恩诺沙星含量的方法,并用于实际样品鱼肉组织中恩诺沙星残留的检测。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

RF-5301 型荧光分光光度计(日本岛津分析仪器公司);pHS-3D 型 pH 计(上海雷磁仪器厂)。

主要试剂有:恩诺沙星标准储备液(1 mg/mL):准确称取恩诺沙星标准对照品,用适量蒸馏水溶解,配成浓度为 1.0 mg/mL 贮备液; 2 mol/L HAc 溶液;HAc-NaAc 缓冲溶液:取 50 mL 2 mol/L HAc 溶液用 2 mol/L NaOH 溶液调至所需 pH 值,定容至 100 mL ; Tb^{3+} 标准溶液(20 mmol/L):准确称取 Tb_4O_7 粉末 0.3738 g 于烧杯中,逐渐加入适量的浓盐酸,用电热套加热,保持微沸使其溶解,溶解后继续加热至蒸发结晶,再用 0.1 mol/L 稀盐酸溶解并转移至 100 mL 容量瓶中定容,用时稀释到所需浓度。

荧光测定均在室温进行,所有化学试剂除特别注明外均为分析纯试剂,试验用水为 2 次蒸馏水。

1.2 试验方法

在 10 mL 的比色管中,分别加入适量的恩诺沙星标准储

收稿日期:2015-01-13

基金项目:韩山师范学院科研基金(编号:511043)。

作者简介:任乃林(1962—),男,陕西宝鸡人,硕士,教授,研究方向为分析化学。E-mail:hsml@163.com。

[8] 张泽生,张建平,王 浩,等. 菊芋菊糖的超声波提取、纯化及 HPLC 法纯度检测[J]. 食品工业科技,2009,30(6):260-262.

[9] 徐 鑫,陈小辉,刘国艳,等. 微波辅助法提取牛蒡根中菊糖的研究[J]. 食品科学,2007,28(10):207-210.

[10] 陈秀枝,沈辰婷,曹未音,等. 菊芋中菊糖提取方法的比较[J]. 江苏农业科学,2013,42(11):312-313,314.

[11] 吴洪新,阿拉木斯,张存莉,等. 活性炭法用于菊苣菊粉脱色的研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(7):2626-2628.

[12] 李丹丹,金征宇. 牛蒡菊糖脱色工艺的研究[J]. 农业工程学报,2007,23(8):241-244.

[13] 牟建楼,王 颀. 响应面法优化灵芝枣饮料工艺及其抗氧化性研究[J]. 中国食品学报,2013,13(11):21-27.

[14] 陈莉华,龙进国,谭林艳,等. 红果参多糖的提取纯化及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2013,25(2):170-173.

[15] Li X X, Han L J, Chen L J. *In vitro* antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from corn gluten meal[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88(9):1660-1666.