

薛菲,刘顺刚,张祥胜,等. 盐地碱蓬叶中可溶性膳食纤维的提取与抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2017,45(1):175-178.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.049

盐地碱蓬叶中可溶性膳食纤维的提取与抗氧化活性

薛菲^{1,2,3}, 刘顺刚², 张祥胜³, 陈燕²

(1. 江苏省滩涂生物资源与环境保护重点实验室,江苏盐城 224051; 2. 盐城师范学院海洋与生物工程学院,江苏盐城 224051;
3. 江苏省盐土生物资源研究重点实验室,江苏盐城 224051)

摘要:以盐地碱蓬叶为试材,采用双酶法从中提取可溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF)。通过单因素试验及正交试验研究不同提取条件对碱蓬叶中 SDF 提取率的影响;通过测定羟自由基清除率、还原力和 DPPH 自由基清除率鉴定其抗氧化性。结果表明,双酶法提取 SDF 的最佳工艺条件为料液比 1 g : 25 mL、木瓜蛋白酶用量 16%、酶解时间 3 h、酶解温度 55 °C、糖化酶用量 1.0%;提取液具有显著的羟自由基清除率、DPPH 自由基清除能力和铁还原力。

关键词:盐地碱蓬叶;可溶性膳食纤维;抗氧化;正交试验;提取工艺

中图分类号: TS201.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)01-0175-03

盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)为藜科、碱蓬属草本植物,别称盐蓬、黄须菜、盐蒿,是典型的盐地指示植物。幼苗可作蔬菜,种子可榨油。富含不饱和脂肪酸、维生素和微量元素,具有降糖、降压、扩张血管、防治心脏病和增强人体免疫力等药用效能^[1]。膳食纤维一般指包含纤维素、半纤维素、树脂、果胶及木质素等成分,在人体中不易被消化吸收的多糖类食物成分,主要存在于植物的细胞壁中。根据膳食纤维的溶解性不同,它包括可溶性膳食纤维(SDF)和不溶性膳食纤维(IDF)^[2-3]。膳食纤维对人的生理具有积极的促进作用,包括通便、降血脂、降血糖等^[4]。近年来,对盐地碱蓬叶化学成分方面的研究,主要为无机元素,而有机成分仅限于对其营养成分和总黄酮提取测定方面的研究,关于其中 SDF 提取工艺及其抗氧化活性方面极少,因此,本试验主要研究盐地碱蓬叶中 SDF 的提取条件,通过优化条件,获得最高提取率,并通过不同方法评价其提取物的抗氧化性,旨在为盐地碱蓬叶作为天然抗氧化剂来源的可行性开发提供前期准备。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试碱蓬叶,采摘于江苏省盐城市滩涂自然保护区。供试试剂有木瓜蛋白酶(100 000 U/g)、糖化酶(100 000 U/g),江苏锐阳生物科技有限公司;磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、盐酸、氢氧化钠、无水乙醇等均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 盐地碱蓬叶中 SDF 提取工艺流程 碱蓬叶干燥至恒

质量→粉碎→过筛(40目)→称取样品1g→加磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH 值为6.6)溶解、调pH值至7.0→加入植物蛋白酶酶解→灭酶(100 °C, 5 min)→调pH值至4.0~4.6、加入糖化酶、酶解(酶解温度60 °C)→灭酶(100 °C, 5 min)→(用2层纱布过滤)离心(9 000 r/min, 4 min)取滤液浓缩至5 mL→醇析(4倍体积95%热乙醇)→离心(9 000 r/min, 4 min)、取滤渣、洗涤滤渣(用丙酮、78%乙醇)→干燥至恒质量,即得 SDF,计算 SDF 提取率^[4-5]。

1.2.2 SDF 提取率的计算 SDF 提取率 = [提取所得的 SDF 质量(g)/样品质量(g)] × 100%。

1.2.3 盐地碱蓬叶 SDF 提取条件优化 选取对 SDF 提取率有影响的料液比、植物蛋白酶酶解时间、植物蛋白酶添加量、植物蛋白酶酶解温度、糖化酶添加量等 5 个因素,在单因素试验的基础上,做 5 因素 4 水平的正交试验,考察其对 SDF 提取率的影响(表 1)。

表 1 盐地碱蓬叶 SDF 提取正交试验因素与水平

水平	因素				
	A:料液比(g:mL)	B:植物蛋白酶添加量(%)	C:植物蛋白酶酶解时间(h)	D:植物蛋白酶酶解温度(°C)	E:糖化酶添加量(%)
1	1:10	8	2	45	0.6
2	1:15	12	3	50	0.8
3	1:20	16	4	55	1.0
4	1:25	20	5	60	1.2

1.2.4 盐地碱蓬叶中 SDF 提取物抗氧化活性研究

1.2.4.1 羟自由基清除率的测定 羟自由基的清除能力是体外常用的评估抗氧化方法之一^[6]。本试验采用紫外分光光度法,取 9 mmol/L 的 FeSO₄ 溶液 1 mL, 8.8 mmol/L H₂O₂ 溶液 1 mL, 9 mmol/L 的水杨酸-乙醇溶液 1 mL, 加入不同浓度的 SDF 提取液 1 mL, 静置 30 min, 用蒸馏水作空白对照, 510 nm 处测量其吸光度, 代入以下公式计算^[7-8]:

$$\text{清除率} = [1 - (D_1 - D_2) / D_3] \times 100\%。$$

式中: D₁ 表示加了样液的吸光度; D₂ 表示不加显色剂的样液的本底吸光度, 是为了减去样液本身颜色对于试验的影响; D₃ 表示以蒸馏水代替样液的空白管的吸光度。

收稿日期:2016-02-02

基金项目:江苏省滩涂生物资源与环境保护重点实验室开放课题(编号:JLCBE13009);江苏省盐土生物资源研究重点实验室开放课题(编号:JKLBS2013010);国家级大学生创新训练计划(编号:201610324003)。

作者简介:薛菲(1981—),女,江苏盐城人,硕士,讲师,主要从事食品营养与卫生学研究。Tel:(0515)88233191;E-mail:yingmufeixue@126.com。

1.2.4.2 还原力的测定 取1 mL不同浓度的SDF提取液分别置于试管中,依次加入0.2 mol/L磷酸盐缓冲液(pH值为6.6)0.2 mL和1%铁氰化钾溶液0.5 mL,50℃水浴20 min,快速冷却后加入10%三氯乙酸溶液1 mL,以2 000 r/min的转速离心10 min,取上清液1.5 mL,加入3 mL蒸馏水和0.1% FeCl₃溶液1 mL,以蒸馏水作为空白对照,充分混匀,静置10 min后,在700 nm下测定其吸光度值 $D^{[9]}$ 。

1.2.4.3 DPPH自由基清除率的测定 取不同料液比的SDF提取液各1.0 mL加入试管中,加含0.057 mg/mL DPPH自由基的乙醇溶液1.0 mL,置于暗处反应30 min,在517 nm波长处测定吸光度,以蒸馏水作为空白,计算清除率^[10-11]。

$$\text{清除率} = [1 - (D_i - D_j) / D_0] \times 100\%$$

式中: D_i 表示1 mL提取液+1 mL DPPH溶液的吸光度; D_j 表示1 mL提取液+1 mL无水乙醇的吸光度; D_0 表示1 mL DPPH+1 mL无水乙醇的吸光度。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 料液比对SDF提取率的影响 设定植物蛋白酶添加量12%,称取1 g样品,在50℃下酶解4 h,糖化酶添加量1.0%,分别按照料液比1:10、1:15、1:20、1:25、1:30(g:mL)提取SDF,考察料液比对SDF提取率的影响(图1)。

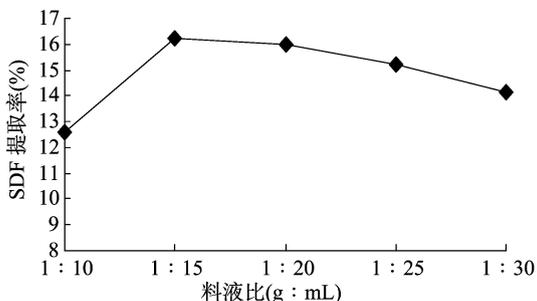


图1 料液比对SDF提取率的影响

由图1可知,随着溶剂的量的增大,SDF提取率先上升后下降,且在1 g:15 mL处时提取率最高,为16.21%。因此,确定设计料液比在1 g:15 mL左右为宜。可能是因为溶剂过少时溶解度低,反应体系较为黏稠,酶与底物接触不够充分;但当溶剂过多时,底物浓度过低,酶被稀释,使底物与酶之间的结合受阻,因此SDF提取率随着溶剂的量的增大呈先升后降的趋势。

2.1.2 植物蛋白酶添加量对SDF提取率的影响 设定料液比为1 g:15 mL,糖化酶添加量1.0%,分别按8%、12%、16%、20%、24%的植物蛋白酶添加量,50℃下酶解4 h,计算SDF提取率(图2)。由图2可知,随着植物蛋白酶添加量的提高,SDF提取率先增加后降低,且在添加量为16%时,达到最大提取率18.66%。可能是因为植物蛋白酶增加后,使底物与酶反应更彻底,所以SDF提取率越来越高;而继续增加植物蛋白酶量时,过多的酶反而抑制了反应的进行,致使SDF提取率反而降低。所以植物蛋白酶添加量在16%时最佳。

2.1.3 植物蛋白酶酶解时间对SDF提取率的影响 设定料液比为1 g:15 mL,糖化酶添加量1.0%,植物蛋白酶添加量

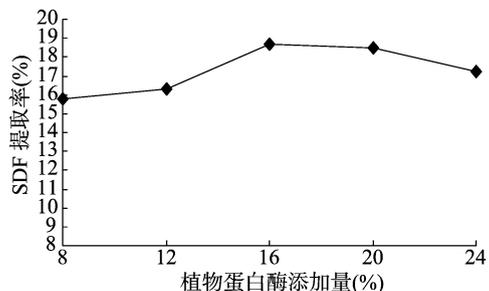


图2 植物蛋白酶添加量对SDF提取率的影响

16%,酶解温度50℃,分别酶解2、3、4、5、6 h,计算SDF提取率(图3)。由图3可知,随着植物蛋白酶酶解时间的增加,SDF提取率先增加后降低,且在3 h时SDF提取率最大,为21.15%。可能是因为随着酶解时间的增加,碱蓬叶中的SDF被充分提取出来,而随着时间越来越长,SDF暴露在空气中被氧化,提取量反而减少。因此蛋白酶酶解时间3 h为最佳提取条件。

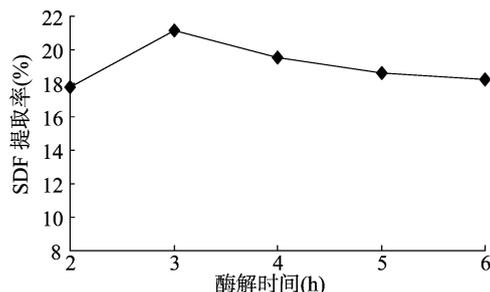


图3 植物蛋白酶酶解时间对SDF提取率的影响

2.1.4 植物蛋白酶酶解温度对SDF提取率的影响 设定料液比为1 g:15 mL,糖化酶添加量1.0%,植物蛋白酶添加量16%,酶解3 h,分别于40、45、50、55、60℃对蛋白酶进行酶解提取SDF,考察植物蛋白酶酶解温度对SDF提取率的影响(图4)。由图4可知,随着酶解温度的提高,SDF提取率先增加后降低,且在50℃时最大,达19.29%。可能是因为随着酶解温度提高,植物蛋白酶的活性也越来越高,从而SDF的提取率增加,而当酶解温度超过最适温度后,蛋白酶渐渐失活,提取率也降低。所以50℃为适宜的蛋白酶酶解温度。

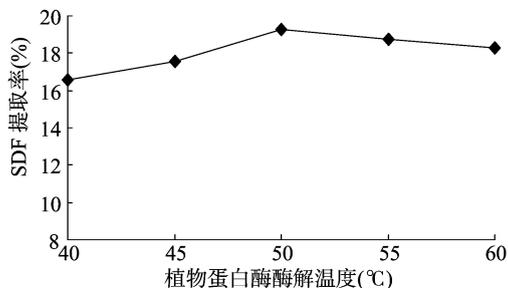


图4 植物蛋白酶酶解温度对SDF提取率的影响

2.1.5 糖化酶添加量对SDF提取率的影响 设定料液比为1 g:15 mL,植物蛋白酶添加量15%,50℃酶解3 h,分别加入糖化酶0.6%、0.8%、1.0%、1.2%、1.4%,考察其添加量对SDF提取率的影响(图5)。由图5可知,随着糖化酶添加量的提高,SDF提取率先增加后降低,且当添加量为1.0%

时,提取率达到 19.68%。因此,确定糖化酶添加量在 1.0% 时为最佳提取条件。

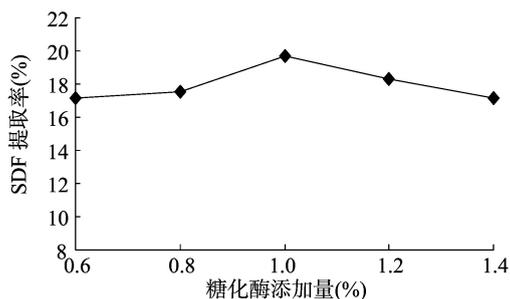


图5 糖化酶添加量对 SDF 提取率的影响

2.2 正交试验结果

由表 2 可知,因为 $R_A > R_B > R_C > R_D > R_E$,所以各因素对 SDF 提取率影响的大小依次为 $A > B > C > D > E$,各种因素的 k 值表明各因素水平的影响程度分别是 $A_4 > A_3 > A_2 > A_1$, $B_3 > B_4 > B_2 > B_1$, $C_2 > C_4 > C_3 > C_1$, $D_3 > D_4 > D_1 > D_2$, $E_3 > E_4 > E_2 > E_1$,各因素水平的最佳组合为 $A_4B_3C_2D_3E_3$,即碱蓬叶中 SDF 提取的最佳条件为料液比 1 g : 25 mL,植物蛋白酶添加量为 16%,酶解时间为 3 h,酶解温度为 55 °C,糖化酶添加量为 1.0%。

表 2 SDF 提取正交试验结果

序号	A:料液比(g : mL)	B:植物蛋白酶添加量(%)	C:植物蛋白酶酶解时间(h)	D:植物蛋白酶酶解温度(°C)	E:糖化酶添加量(%)	SDF 提取率(%)
1	1 : 10	8	2	45	0.6	9.86
2	1 : 10	12	3	50	0.8	14.61
3	1 : 10	16	4	55	1.0	16.88
4	1 : 10	20	5	60	1.2	15.64
5	1 : 15	8	3	55	1.2	14.64
6	1 : 15	12	2	60	1.0	13.47
7	1 : 15	16	5	45	0.8	16.12
8	1 : 15	20	4	50	0.6	14.87
9	1 : 20	8	4	60	0.8	15.52
10	1 : 20	12	5	55	0.6	17.89
11	1 : 20	16	2	50	1.2	16.55
12	1 : 20	20	3	45	1.0	18.76
13	1 : 25	8	5	50	1.0	16.63
14	1 : 25	12	4	45	1.2	18.51
15	1 : 25	16	3	60	0.6	20.06
16	1 : 25	20	2	55	0.8	16.49
k_1	14.247	14.162	14.092	15.813	15.670	
k_2	14.775	16.120	17.018	15.665	15.685	
k_3	17.180	17.402	16.445	16.475	16.435	
k_4	17.922	16.440	16.570	16.172	16.335	
R	3.675	3.240	2.926	0.810	0.765	

2.3 盐地碱蓬叶中 SDF 的抗氧化作用

2.3.1 羟自由基清除率的测定 不同料液比的 SDF 提取液对羟自由基的清除作用见图 6。由图 6 可知,料液比分别为 1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35 (g : mL) 的提取液清除自由基时,它的羟自由基清除率随着料液比的增加而降低,与样品的浓度呈正相关,当样品浓度达到一定程度时,羟自由基清除率将趋于稳定,这与张志旭等的研究结果^[12]一致。

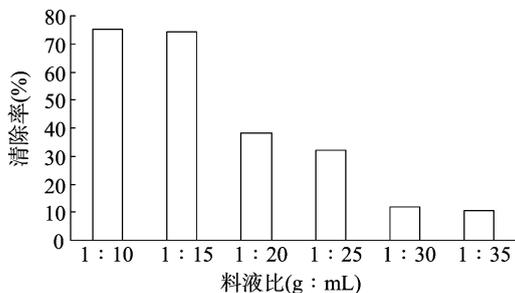


图6 不同料液比下提取的 SDF 对羟自由基的清除率

2.3.2 还原力的测定 对不同料液比的 SDF 提取液测其吸光度,吸光度 D 值越大,表示还原力越强,其相应的还原力测定值见图 7。由图 7 可知,随着料液比的增加,它的吸光度呈下降趋势,说明盐地碱蓬叶中可溶性膳食纤维随着料液比的增加还原力降低。

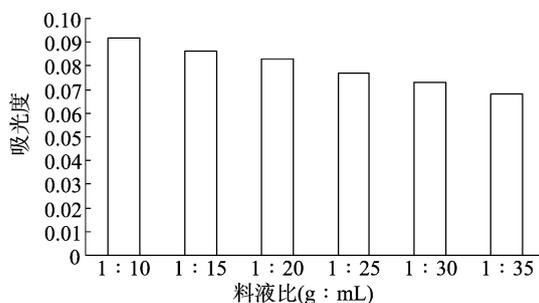


图7 不同料液比下提取的 SDF 还原力测定

2.3.2 DPPH 自由基清除率的测定 DPPH 自由基是一种稳定的自由基,根据吸光度的变化可测得样品中清除率的大小^[13]。不同料液比的 SDF 提取液其对 DPPH 自由基的清除作用见图 8。由图 8 可知,不同料液比的 SDF 溶液对 DPPH 自由基清除能力呈正相关关系,随着料液比的增加,DPPH 自由基清除率越小。

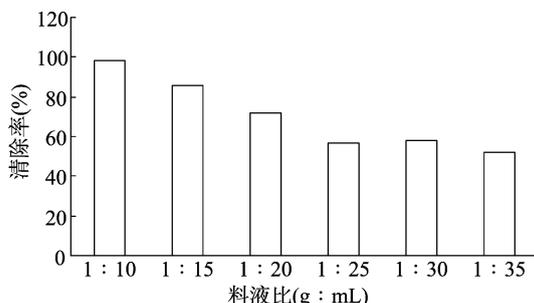


图8 不同料液比下提取的 SDF 对 DPPH 自由基的清除率

3 结论

该试验以盐地碱蓬叶中的 SDF 提取率为指标,采取单因素试验,确定单因素的合适范围,在此基础上进行正交试验优化提取工艺。结果表明,各因素水平的最佳组合为 $A_4B_3C_2D_3E_3$,即碱蓬叶中 SDF 提取的最佳条件为料液比 1 g : 25 mL,植物蛋白酶添加量为 16%,酶解时间为 3 h,酶解温度为 55 °C,糖化酶添加量为 1.0%。通过羟自由基清除率、还原力和 DPPH 自由基清除率鉴定其提取液的抗氧化性,提取液具有显著的羟自由基清除率、DPPH 自由基清除能力

叶坤,左金,黄昊宇,等.一种新的综合法破壁灵芝孢子技术[J].江苏农业科学,2017,45(1):178-180.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.050

一种新的综合法破壁灵芝孢子技术

叶坤,左金,黄昊宇,高鹏

(中国空气动力研究与发展中心高速空气动力研究所,四川绵阳 622762)

摘要:以微波预处理对灵芝孢子进行脆化,采用正交试验法对影响灵芝孢子含水量、脆化率的因素进行了试验和分析,获得了微波的最佳工艺组合,并结合气流粉碎进行破壁。结果发现,当温度为40℃、功率为9kW、处理时间达到30min时微波预处理的效果最好。与预处理前相比,经过预处理后的灵芝孢子采用气流粉碎的破壁率明显提高,而粉碎所用时间大大缩短。气流破壁灵芝孢子的多糖和三萜含量较破壁前显著增加,同时不会引入重金属杂质。

关键词:灵芝孢子;微波预处理;正交试验;脆化;气流粉碎;破壁

中图分类号:S567.3⁺10.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)01-0178-03

灵芝孢子即灵芝的种子,是灵芝在生长成熟时期从菌盖弹射出来的极为细小的颗粒,内含丰富的生物活性成分,其中多糖类和三萜类化合物被看作是主要活性物质,具有抗肿瘤、抗心血管疾病、增强免疫等作用^[1-2],其有效成分含量高出灵芝75倍^[3]。

灵芝孢子具有坚韧的双层外壁结构,研究表明孢壁成分中几丁质含量为52.08%~57.64%,无机元素构成以硅(19.01%)、钙(24.31%)为主,硅、钙掺入几丁质使得孢壁更加结实坚韧、耐酸碱,极难氧化分解^[4]。因此,利用一般的物理、化学方法很难将灵芝孢子壁打破。研究表明,人体对不破壁孢子内的营养成分很难吸收,生物利用率低^[5]。未破壁的灵芝孢子有效成分进入体内的消化利用率仅为12%,破壁后的灵芝孢子有效成分的消化吸收率可达95%,而且破壁前后孢子的活性成分是有差异的,研究结果显示,破壁灵芝孢子的

多糖与三萜含量明显高于未破壁灵芝孢子^[6-7]。因此,为了充分利用灵芝孢子内的有效成分,必须对其进行破壁。目前,国内的研究人员已经对灵芝孢子的破壁方法进行了大量的研究。这些破壁方法可以归纳总结为生物法^[8]、化学法^[9]、物理法^[10]、机械法^[11]4种类型,但是这些方法普遍存在生产成本低、破壁率低、产品中的有害残留较高、生产效率较低等缺点。为了弥补灵芝孢子现有破壁技术的不足,充分利用其中的营养成分,本试验研究了一种对灵芝孢子进行预处理后采用气流粉碎破壁的综合方法,该方法易于实现、操作简单,既可以保证灵芝孢子破壁完全,又可以完整保留其中的有效成分,而且不会引入重金属杂质。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

原料来自安徽省金寨县提供的大别山灵芝孢子(未破壁),平均粒径为4~6μm,水分含量约为10%。

自制真空低温微波预处理设备;自制CP-20型超微气流粉碎分级机;XSP-24N生物显微镜,南京江南永新光学有限公司生产;S-4800扫描电子显微镜,日本日立公司生产。

收稿日期:2015-11-21

基金项目:国家自然科学基金(编号:51327804)。

作者简介:叶坤(1976—),男,湖南常德人,博士,工程师,从事超微粉碎技术的应用研究。E-mail:yekun2008313@163.com。

和铁还原力,为其作为功能性食品开发提供了参考。

参考文献:

[1] 邵秋玲,李玉娟.盐地碱蓬开发前景广阔[J].植物杂志,1998(3):12.

[2] 扈晓杰,韩冬,李铎.膳食纤维的定义、分析方法和摄入现状[J].中国食品学报,2011,11(3):133-137.

[3] Llobera A,Canellas J. Dietary fiber content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem[J]. Food Chemistry,2007,101(2):659-666.

[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品中膳食纤维的测定:GB/T 5009.88—2014[S].北京:中国标准出版社,2015.

[5] 郑毅,伍斌,邓建梅.酶-重量法测定不同品种芒果皮中膳食纤维的含量[J].热带农业工程,2013,37(1):4-7.

[6] 王海宽,赵新淮,姜岩.甘草有效成分分离及其对自由基的清

除能力[J].食品与机械,2000,21(4):23-24.

[7] 郑德勇,安鑫南.竹叶提取物清除DPPH自由基的测定方法[J].福建农林大学学报(自然科学版),2005,34(1):59-62.

[8] 郭艳华,胡思前.葶苈皮提取物的抗氧化活性研究[J].食品与发酵工业,2007,33(10):128-130.

[9] 杨晓宽,李汉臣,张建才,等.芦笋膳食纤维品质分析及抗氧化性研究[J].中国食品学报,2013,13(10):205-212.

[10] 张建民,肖小年,易醒,等.车前草可溶性膳食纤维的提取及其对自由基清除能力的研究[J].天然产物研究与开发,2007,19(4):667-670.

[11] 方敏,占才贵,官智勇.玉米须总黄酮的提取与抗氧化活性研究[J].食品科学,2009,30(18):206-208.

[12] 吴巧攀,乔洪翔,何厚洪,等.银杏叶渣中多糖的提取及其抗氧化活性研究[J].中国现代应用药学,2014(1):9-13.

[13] 张志旭,陈岳文,刘东波.苦瓜膳食纤维的抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2012(8):933-935.