

生姜多糖的提取及脱蛋白研究

秦卫东, 马利华, 陈学红, 赵悦
(徐州工程学院食品学院, 江苏 徐州 221008)

摘 要: 以新鲜的生姜为试材, 通过正交试验研究了生姜多糖的最佳提取方案, 比较了三氯乙酸法、鞣酸法和 Sevag 法脱蛋白的效果。结果表明: 在温度为 60℃、固液比为 1:10、时间为 3h 时, 生姜多糖的提取率最高; 以 3 倍体积 95% 的乙醇提纯处理多糖后, 生姜多糖粗得率为 20.43% ± 0.23%。脱除多糖中的蛋白质以鞣酸法较好, 除蛋白后得到的多糖纯度为 73.11% ± 0.05%。

关键词: 生姜; 多糖; 提取; 脱蛋白

Study on Extraction and Deprotein of Polysaccharide in Ginger

QIN Wei-dong, MA Li-hua, CHEN Xue-hong, ZHAO Yue
(College of Food, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou 221008, China)

Abstract: Fresh ginger was used as materials in this study. The optimal extractional conditions of the polysaccharide were researched by orthogonal test using temperature, time and ratios of ginger to water as testing parameters. The methods of deprotein of ginger polysaccharide extract were compared among trichloroacetic acid method, digallic acid method and Sevag method. The results showed that: the optimal conditions of ginger polysaccharide extraction are 60℃ of temperature, 1:10 of ratios of ginger to water and 3 h of extracting times, the extracting ratio is 20.43% ± 0.23% under these conditions. The digallic acid method is more suited to remove protein from ginger polysaccharide extracts, the purity of obtained the polysaccharide after deprotein is 73.11% ± 0.05%.

Key words ginger; polysaccharide; extraction; deprotein

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)04-0218-03

生姜(*Zingiber officinalis*), 为姜属植物姜(*Zingiber officinale* Rosc.) 的新鲜根茎, 作为一种历史悠久的香辛调味料, 生姜广泛用于亚洲食物的烹调中, 同时也是常用的传统中药材。对于生姜的药用成分研究, 主要集中在其精油^[1]和酚类物质^[2-5]。最近研究发现, 一些多糖具有其独特的生物活性, 如降血糖与降血脂^[6]、免疫调节作用^[7]、抗氧化^[8-10]、抗肿瘤^[11]。本研究的目的是探讨生姜多糖的提取及脱蛋白条件, 为生姜多糖的进一步研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

市购新鲜生姜, 洗净后切片, 于 60℃ 烘箱中干燥 24 h, 取出后磨成细粉, 密封后保存待用。

试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 生姜多糖的提取

采用 $L_9(3^3)$ 正交表, 以不同的料液比, 提取温度, 提取时间为因素设计正交试验, 确定最佳浸提工艺。正交试验的表头设计如表 1 所示。

表 1 生姜多糖提取的因素水平表
Table 1 Factor and levels of polysaccharide extraction

水平	因素		
	A 温度(℃)	B 时间(h)	C 料液比(m/V)
1	60	2.0	1:8
2	65	2.5	1:9
3	70	3.0	1:10

1.2.2 多糖含量的测定

以葡萄糖为标准, 采用硫酸-蒽酮法测定不同浓度葡萄糖在 620nm 波长下的吸光度, 建立葡萄糖浓度与吸光度标准曲线方程。测定提取物的吸光度计算多糖含量。

1.2.3 多糖提取率的计算

将生姜多糖提取液真空浓缩后, 用 3 倍体积 95% 乙醇沉淀, 4000r/min 离心 15min 去除上清液, 将沉淀物转入恒重的培养皿中于 60℃ 真空干燥箱中干燥 5h, 即得

收稿日期: 2007-07-15

作者简介: 秦卫东(1961-), 男, 教授, 学士, 研究方向为果蔬活性成分功能性。E-mail: wdqin@xzit.edu.cn

粗多糖。按下式计算多糖含量：

$$\text{粗多糖得率}(\%) = \frac{\text{粗多糖重量}(\text{mg})}{\text{样品干重}(\text{mg})} \times 100$$

1.2.4 多糖提取物中蛋白质的确认及脱蛋白方法

将得到的多糖提取物用水完全溶解，在190~900nm处进行紫外分析，测多糖的吸光度，检测在260~280nm处是否有最大吸收峰，确认是否存在蛋白质和核酸。

多糖提取物脱蛋白质的方法参考文献[12]，分别采用三氯乙酸法、鞣酸法和Sevag法。其中鞣酸法是将文献中的2mol/L盐酸更换为1%鞣酸溶液。

1.2.5 多糖纯度的计算

将脱除蛋白的多糖溶液用硫酸-蒽酮法测定总糖含量按下式计算：

$$\text{多糖纯度}(\%) = \frac{\text{提取物中多糖含量}(\text{mg})}{\text{提取物重量}(\text{mg})} \times 100$$

1.2.6 蛋白质含量的测定

采用考马斯亮蓝G250法，以牛血清白蛋白(2~10μg)作标准曲线(标准曲线方程为 $y=0.0574x-0.0058$, $r=0.9996$)。

吸取提取液0.1ml，放入具塞试管中，加入5ml考马斯亮蓝G-250蛋白试剂，同蛋白质标准曲线制作之操作在595nm下比色，记录吸光度，通过标准曲线查得每毫升溶液的蛋白质含量。按下式计算：

$$\text{样品蛋白质含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{A \times \text{提取液总体积}}{\text{测定取用体积} \times \text{样品重}(\text{g})}$$

式中，A为标准曲线上查得的蛋白质含量，单位为μg。

2 结果与分析

2.1 葡萄糖溶液标准曲线方程

以0~100μg/ml葡萄糖溶液的吸光实验数据进行回归分析，得标准曲线方程为：

$$A=0.0127C+0.0023(R^2=0.9990)$$

式中，C为糖浓度，μg/ml。

2.2 生姜多糖提取的正交试验

表1给出了用正交试验法确定的提取生姜多糖的试验结果。由表1可知，提取生姜多糖的最佳条件为 $A_1C_3D_3$ ，即提取温度为60℃，时间3.0h，固液比为1:10。

2.3 生姜多糖提取物的脱蛋白

对生姜多糖溶液进行紫外光谱扫描，得到图1。由图1可知，生姜多糖溶液中含蛋白质和核酸。因而需对提取液进行脱蛋白处理。

表2 正交试验结果表

Table 2 Results of orthogonal design for polysaccharide extraction

试验号	A 温度	空列	B 时间	C 料液比	提取率(%)
1	1	1	1	1	1.209
2	1	2	2	2	1.567
3	1	3	3	3	1.850
4	2	1	2	3	1.118
5	2	2	3	1	1.109
6	2	3	1	2	1.083
7	3	1	3	2	1.251
8	3	2	1	3	1.122
9	3	3	2	1	1.117
K_1	4.626	3.578	3.414	3.435	
K_2	3.310	3.798	3.802	3.901	
K_3	3.490	4.050	4.210	4.090	
k_1	1.542	1.193	1.138	1.145	
k_2	1.103	1.266	1.267	1.300	
k_3	1.163	1.350	1.403	1.363	

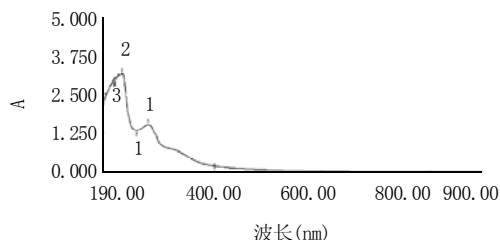


图1 生姜多糖溶液的紫外吸收光谱

Fig.1 Ultraviolet absorption spectrophotograph of ginger polysaccharide solution

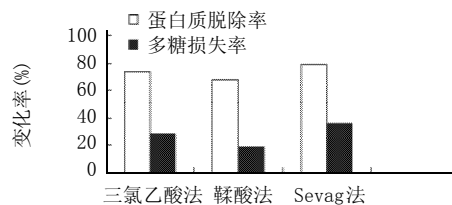


图2 生姜多糖提取液除蛋白方法比较

Fig.2 Comparison of deprotein methods from ginger polysaccharide extracts

不同脱蛋白方法对蛋白脱除率及多糖损失率的影响见图2。结果表明，三氯乙酸法蛋白质去除率为73.44%，糖损失率28.82%；鞣酸法蛋白质去除率为67.87%，糖损失率为18.18%；Sevag法蛋白质去除率为78.81%，糖损失率为35.46%。三氯乙酸法虽然去除蛋白率高，但是多糖损失率最高，这可能是由于溶液pH值接近生姜多糖中杂蛋白的等电点，蛋白沉淀的同时也引起了多糖的沉淀，造成多糖的损失率较高；Sevag法利用正丁醇与氯仿能使含有蛋白的溶液乳化，使其变性，蛋白质停留在氯仿和水中，蛋白去除率最高，但由于此法使用的试剂是氯仿和正丁醇，而氯仿是有毒物质，容易造成多糖活性下降和溶剂残留，同时，也使得多糖损

失率高达 35.46%；而鞣酸法脱蛋白利用单宁与蛋白质生成沉淀，直到饱和，离心使蛋白析出，虽然蛋白去除率较以上两种方法小，但是此种方法是利用鞣酸于蛋白质的特异性反应，不会造成多糖的损失，因此，多糖损失率仅为 18.78%。

这一结果与以前的研究结论相一致。史德芳等^[13]在研究仙人掌多糖的脱蛋白时确认，三氯乙酸法好于 Sevag 法；张黎明等^[14]在对葫芦巴种子半乳甘露聚糖脱蛋白处理时也证实 TCA 法脱蛋白效果优于 Sevag 法。另外，董英等^[12]在进行水飞蓟粗多糖脱蛋白的实验结果表明，盐酸法效果最好，二氯乙酸法次之，Sevag 法最差。

2.4 生姜多糖的提取率及纯度

按照正交试验确定的最佳条件，采用鞣酸法脱蛋白，重复三次得到的结果如表 3、4 所示。

因此，生姜多糖的提取率为 $20.43\% \pm 0.23\%$ ，多

糖纯度为 $73.11\% \pm 0.05\%$ 。

参考文献：

- [1] 葛毅强, 倪元颖, 张振华, 等. 生姜精油的研究新进展[J]. 中国调味品, 2004(9): 3-9.
- [2] 曹立民, 张建忠. 生姜提取物对于低密度脂蛋白(LDL)体外氧化的抑制作用[J]. 食品科学, 2002, 23(6): 49-52.
- [3] 王桥, 宋学英, 朱莹, 等. 生姜醇提取物抗氧化与抗缺氧作用的研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(6): 551-552.
- [4] CIPPOUSHI A, TAKEUCHI H, ITO H, et al. Antioxidative effects of daikon sprout (*Raphanus sativus* L.) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in rats[J]. Food Chemistry, 2007, 102(1): 237-242.
- [5] STOILLOVA A, KRASTANOV A, STOYANOVA P, et al. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*) [J]. Food Chemistry, 2007, 102(3): 764-770.
- [6] 罗祖友, 胡筱波, 吴谋成. 植物多糖的降血糖与降血脂作用[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 596-600.
- [7] 张磊, 孟林. 植物多糖的免疫调节作用研究进展[J]. 天津医科大学学报, 2007, 13(4): 615-618.
- [8] 张强, 牟雪姣, 周正义, 等. 洋葱多糖的提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(1): 138-141.
- [9] 秦卫东, 梅红霞, 朱金凤. 仙人掌多糖清除自由基的研究[J]. 中国食品添加剂, 2006(5): 66-68.
- [10] 李朝阳, 刘魁, 韩忠宵, 等. 大蒜多糖的酶法提取及其抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2008, 29(1): 117-120.
- [11] 林梦感, 杨义芳, 李永辉. 多糖抗肿瘤活性构效关系的研究进展[J]. 中草药, 2007, 38(6): 949-953.
- [12] 董英, 张艳芳, 孙艳辉. 水飞蓟粗多糖脱蛋白方法的比较[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 82-84.
- [13] 张黎明, 孙茜, 赵朝. 葫芦巴种子中半乳甘露聚糖脱色、脱蛋白工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(1): 55-59.
- [14] 史德芳, 杨洋, 孙晓雪, 等. 仙人掌多糖提取过程中三种脱蛋白方法的比较研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(4): 93-95.

表 3 生姜粗多糖得率的测定结果

Table 3 Determining results of extraction rate of aloe polysaccharide in zingiber

编号	样品干(g)	粗多糖(g)	粗多糖得率(%)
1	164	33.555	20.46
2	158	31.490	19.93
3	164	34.261	20.89

表 4 生姜多糖含量的测定结果

Table 4 Determining results of ginger polysaccharide contents

编号	生姜提取物重量(g)	多糖含量(g)	多糖纯度(%)
1	33.555	24.585	73.27
2	31.490	23.047	72.86
3	34.261	25.123	73.20