

无花果多糖提取技术研究

王振斌, 马海乐, 王超
(江苏大学生物与环境工程学院, 江苏 镇江 212013)

摘要: 以无花果取汁后的残渣为原料, 探讨浸提次数、时间、料液比和温度对多糖得率的影响, 在单因素试验的基础上, 通过正交试验确定最佳提取工艺条件。结果表明: 在试验范围内, 最佳提取温度为 100℃, 在此温度下提取次数对多糖提取率影响最大, 其次为料液比, 提取时间的影响最小。无花果多糖提取的最优条件为提取温度 100℃, 料液比 1:12, 浸提 2 次, 每次浸提 3h, 其水溶性多糖提取率达 8.52%。

关键词: 无花果; 多糖; 提取

Study on Extraction of Fig Polysaccharides from Fig Pomace

WANG Zhen-bin, MA Hai-le, WANG Chao
(College of Biology and Environment, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: In this paper fig polysaccharides extracting method from fig pomace after being processed was studied. The single factor tests results showed that more fig polysaccharides were obtained when the extraction temperature went up and extraction rate increased at the first stage and then dropped according to the extraction frequency concerned. The extraction times should be less than 3. The extraction hot water would be 15 times weight more than that of fig pomace. Orthogonal tests showed the optimum extraction parameters were as follows: 100℃, 120min, add 15 times weight of hot water and 2 times extraction. Under this extract method the fig pomace polysaccharides extraction rate is 8.52%.

Key words fig polysaccharide; extraction

中图分类号: S681.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0174-04

无花果是一种桑科榕属植物无花果(*Ficus carica*. L)的干燥花托, 具有广泛的营养价值和药用价值, 不但香甜可口, 而且具有润肺止咳、健胃清肠、消肿解毒、增强机体免疫功能、抑制多种肿瘤的的功效, 近年来

无花果抗肿瘤特性尤其受到人们的重视^[1]。目前国内外在无花果抗癌方面的研究十分活跃。

无花果多糖是无花果的重要的功能因子, 戴伟娟等(2002)研究发现^[2-4], 无花果多糖不仅对正常小鼠的免疫

收稿日期: 2005-03-07

基金项目: 江苏省农业攻关项目(BE2002336)

作者简介: 王振斌(1975-), 男, 博士, 主要从事天然产物中活性成分的分离与应用研究。

- 210-212.
- [20] P A Baghurst, K L Baghurst, S J Record. Dietary fibre. Non-starch polysaccharides and resistant starch-A review[J]. Supplement to Food Australia, 1996, 48: 56-60.
- [21] Kitty Kevin. Starch de resistance: the first generation of commercially available resistant starches boosts fiber without sacrificing texture[J]. Food Processing, 1995, (1): 65-67.
- [22] D Sievert, W Seibel, E Rabe, et al. Veranderungen von ballaststoffen durch die verfahrenstechnik der getreidetechnologie 1[J]. Getreide Mehl und Brot, 1987, 41: 172-176.
- [23] M Siljestrom, N G Asp. Resistant starch formation during baking: Effects of baking time and temperature and variations in the recipe[J]. Z Lebensm Unters Forsch, 1985, 181: 4-8.
- [24] Anon. Joint research leads to a new generation of high fibre products[J]. Confectionery Production, 1996, 62: 21-26.
- [25] Beatrix Wepner, Emmerich Berghoter, Ella Miesenberger, et al. Citrate starch-application as resistant starch in different food systems[J]. Starch, 1999, 51: 354-361.
- [26] 顾正彪, 周世英. 乙酰化二淀粉磷酸酯的制备及其特性的研究[D]. 硕士学位论文, 1988. 44-46.
- [27] 杨晓泉, 李汴生, 曹劲松. 计算机在食品工程中的应用[M]. 华南理工大学出版社, 1998. 65-71.

功能有增强作用,而且对荷瘤小鼠的免疫功能抑制状态有恢复作用,推测无花果多糖的抗癌机制可能与激活机体的免疫系统有关。

无花果残渣是无花果取汁后的下脚料,其中含有丰富的多糖成分,现在常被废弃于环境中。目前对适合工业化生产的无花果多糖提取技术研究不多,以无花果残渣为原料提取无花果多糖更未见报道。本文在充分调查研究的基础上,针对我国无花果加工企业无花果残渣利用现状,研究了无花果残渣中多糖的提取技术,为推动无花果综合加工、延长农业产业链和保护环境提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料、试剂与设备

无花果残渣 江苏省丰县中研无花果有限责任公司。

分析纯试剂 正丁醇,三氯甲烷,95%乙醇,三氯乙酸。

HH 恒温水浴锅 江苏中大仪器厂; GFB 高速万能粉碎机 北京长风仪器仪表公司; RE-52A 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; LD5-2A 医用离心机 北京医用离心机厂; 快速混匀器 中外合资深圳天南海北有限公司; 冷冻干燥器, DTS 050 型真空冷冻干燥实验机。

1.2 方法

1.2.1 提取工艺

无花果残渣→超临界 CO₂ 去脂→热水浸提→除蛋白→浓缩→乙醇沉淀→去色→冷冻干燥→无花果多糖

1.2.2 试验方法

1.2.2.1 去脂对多糖提取率的影响

取 20g 无花果残渣和 20g 无花果残渣超临界 CO₂ 萃取后的萃余物在干燥皿中贮放 3d 后,取出,分别加 18 倍的双蒸水,在沸水浴中提取 2h,离心,沉淀再用双蒸水浸泡并离心一次,合并两次上清液,定容至 250ml,测定多糖含量。

1.2.2.2 温度对多糖提取率的影响

分别称取无花果残渣粉 20g,加 18 倍水,浸提时间 6h,提取 1 次,研究在不同提取温度(20、40、60、80、100℃)下多糖的得率。

1.2.2.3 提取时间对提取率的影响

称取无花果残渣粉 20g,加水 900ml,提取温度 100℃,提取 1 次,研究在不同提取时间(10、30、60、90、120、150、180、210、270min)时多糖的得率。

1.2.2.4 加水倍数对提取率的影响

分别称取无花果残渣粉 20g,在提取温度 100℃,提取时间 120min 时,研究不同加水倍数(3、9、12、15、18 和 100 倍)时多糖的提取率。

1.2.2.5 提取次数对提取率的影响

分别称取无花果残渣粉 20g,在提取温度 100℃,提取时间 3h,加水倍数为 12 倍时,研究不同提取次数(1,2,3,4,5 次)对多糖提取率的影响。

1.2.2.6 正交试验

根据单因素试验的结果,确定正交试验的因素水平,研究无花果多糖的最优提取工艺。

1.2.2.7 除蛋白方法的确定

比较两种除蛋白方法(Sevag 法,三氯醋酸法)对无花果多糖提取液中蛋白质去除效果。Sevag 法是在多糖提取液中加入氯仿:戊醇(或正丁醇)=5:1 的混合溶剂,混合物剧烈振摇 20~30min,蛋白质与氯仿-戊醇(或正丁醇)生成凝胶物,离心,分去水层和溶剂层交界处的变性蛋白质。三氯醋酸法是在冰浴中搅拌的情况下缓缓于提取液中加入 15%~30% 三氯醋酸,直至溶液不再继续混浊。在低温下(4℃)放置 4h。离心除去沉淀即得无蛋白质的多糖提取液。

1.2.2.8 多糖测定方法 硫酸-苯酚法^[5]。

2 结果与分析

2.1 去脂对多糖提取率的影响

许多多糖是胞内多糖,常常被脂肪包裹,因此去脂肪往往可以提高多糖的提取率。去脂对无花果多糖提取率影响的试验结果如表 1 所示。

表 1 去脂对多糖提取率的影响
Table 1 Effect of oil-extracting on polysaccharides extraction

原料处理方法	多糖提取率(%)
未去脂	7.80
去脂	8.41

从表 1 可以看出,去脂处理明显提高了多糖的提取率,而且无花果脂肪还有很好的保健功能,可以加工成其他的保健食品。

2.2 温度对多糖提取率的影响

温度是影响多糖提取的关键因素之一。随着温度的升高,一方面组织中的多糖向提取液中的传质速率增加;另一方面多糖的黏度降低,有利于组织中的多糖浸出。但是温度太高,会导致多糖降解甚至失活。不同温度对无花果残渣中多糖的影响如图 1 所示。

由图 1 可以看出,在试验温度范围内,随着温度的升高,多糖的提取率也随着升高。本试验一方面由于条件的限制,另一方面考虑到实际生产中的成本,没

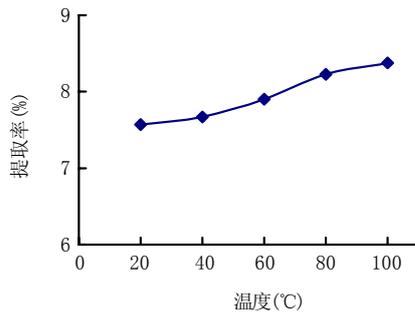


图1 温度对无花果多糖提取率的影响

Fig.1 Effect of temperature on polysaccharides extraction

有研究100℃以上温度时多糖的提取率。因此在正交试验时,确定提取温度恒定为100℃。

2.3 提取时间对提取率的影响

提取时间是影响多糖提取率的重要因素,图2是提取时间对提取率的影响。

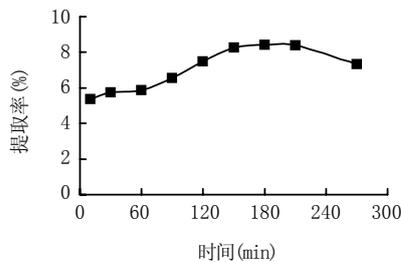


图2 提取时间对无花果提取率的影响

Fig.2 Effect of time on polysaccharides extraction

从上图可以看出,无花果多糖提取率随着提取时间的延长而增大,当提取时间为180min时,达到最大值8.41%,随后又有所下降,分析可能是无花果多糖长时间在高温下降解造成的。并由此确定正交试验时提取时间120、150、180min;当提取时间为10min,无花果多糖的提取率可以达到5.36%,占全部多糖的63.7% (5.36%/8.41%=63.7%),提示无花果多糖大部分是细胞外多糖,比较容易提取。

2.4 加水倍数对无花果多糖提取率的影响

加水倍数对无花果多糖提取率的影响如表2所示,加水倍数越大,多糖提取率才越大。加水倍数为18倍和100倍时的多糖提取率相差不多,所以加水倍数最好选择小于18倍,正交试验时加水倍数选择12、15、18倍。

表2 加水倍数对无花果多糖提取率的影响

Table 2 Effect of amount of water added on polysaccharides extraction

加水倍数(倍)	3	6	9	12	15	18	100
多糖提取率(%)	5.36	7.22	8.10	8.32	8.29	8.40	0.844

2.5 提取次数对无花果多糖提取率的影响

第一次提取的多糖最多,随着次数的增加,每次提取的多糖量越来越少,第四次仅为总多糖量的0.60%,所以提取次数应小于3次,则正交试验时提取次数可以选择1、2、3次。

表3 提取次数对无花果多糖提取率的影响

Table 3 Effect of extraction times on polysaccharides extraction

提取次数	1	2	3	4
多糖提取率(%)	7.31	0.83	0.11	0.05
提取比例(%)	88.07	10.00	1.33	0.60

2.6 正交试验

从前面的单因素试验可以得到,在提取温度为100℃时,无花果多糖提取正交试验的因素水平表(见表4),无花果多糖提取的正交试验结果如表5所示。

表4 无花果多糖提取正交试验的因素水平表

Table 4 Factors and level of orthogonal tests

因素	水平		
提取时间(min)	120	150	180
提取次数(次)	1	2	3
加水倍数(倍)	9	12	15

表5 正交试验结果表

Table 5 Results of orthogonal tests

试验号	A (提取时间)	B (提取次数)	C (加水倍数)	多糖提取率 (%)
1	1(120)	1(1)	1(9)	6.74
2	1(120)	2(2)	2(12)	8.13
3	1(120)	3(3)	3(15)	8.56
4	2(150)	1(1)	2(12)	7.26
5	2(150)	2(2)	3(15)	8.38
6	2(150)	3(3)	1(9)	8.25
7	3(180)	1(1)	3(15)	7.59
8	3(180)	2(2)	1(9)	7.91
9	3(180)	3(3)	2(12)	8.34
K ₁	23.43	21.59	22.9	
K ₂	23.89	24.42	23.73	
K ₃	23.84	25.15	24.53	
k ₁	7.81	7.19	7.63	
k ₂	7.96	8.14	7.91	
k ₃	7.95	8.38	8.18	
R	0.137	1.19	0.54	
主次因素		B, C, A		
优组合		A ₂ B ₃ C ₃		

从表5可以看出,提取次数对多糖的提取率影响最大,料液比的影响次之,浸提时间的影响最小;当提取温度为100℃时,最佳的提取工艺为:提取时间150min,加水15倍,浸提3次,即正交试验中的组合3,多糖提取率为8.56%。进一步对正交表进行分析,发现在试验范围内,提取时间的极差较小,仅为0.137,提取2次和提取3次之间的极差只有0.143,从节约提取成本的方面考虑,实际生产可以采用的提取工艺条件

为：提取温度 100℃时，提取时间 120min，加水 15 倍，提取 2 次。

按照正交试验结果进行验证试验(表 6)，在最佳的试验条件下，即提取温度 100℃时，提取时间 120min，加水 15 倍，提取 2 次。多糖平均提取率为 8.52%。

表 6 验证试验

Table 6 Results of validate tests

次数	1	2	3	
多糖提取率	8.48	8.52	8.55	平均=8.52

2.7 除蛋白方法的确定

Sevage 法在避免降解上有较好效果，但效率不高，通常需要重复 6~8 次才能较彻底的除去蛋白质，有机溶剂浪费大。该法效率较高，一般需要 2 次即可完全除去提取液中的蛋白质。所以三氯醋酸法除蛋白的效果较好。

3 结论与讨论

3.1 无花果残渣中多糖的提取工艺条件为：提取温度 100℃，料液比 1:12，浸提 2 次，每次浸提 3h，其水溶性多糖提取率达 8.52%。

3.2 在提取多糖以前，首先对原料脱脂，可以明显的提高多糖的提取率。

3.3 三氯醋酸法较 Sevage 法效率高，节约有机溶剂，除蛋白的效果较好。

3.4 本试验是以干燥后的无花果残渣为原料的，如果以无花果鲜果、果干或未经干燥的残渣为原料，应当重新确定提取工艺。

3.5 在提取多糖后还剩余大量的残渣，可以作为动物饲料、食用菌的培养基或者从中提取膳食纤维，这些工作有待进一步进行。

参考文献：

- [1] 汪开治. 功能食品无花果[J]. 植物杂志, 2002, (1): 12-13.
- [2] 戴伟娟, 司端运, 王绍红, 等. 无花果多糖对免疫抑制小鼠的免疫调节作用[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, (3): 16-18.
- [3] 戴伟娟, 司端运, 王绍红, 等. 无花果多糖对荷瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 时珍国医国药, 2001, (12): 1059-1060.
- [4] 戴伟娟, 司端运, 辛勤, 等. 无花果多糖对小鼠细胞免疫功能的影响[J]. 中草药, 2000, (5): 355-356.
- [5] 吴亚林, 黄静, 潘远江. 无花果多糖的分离、纯化和鉴定[J]. 浙江大学学报(理学版), 2004, (2): 177-179.
- [6] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术(第二版)[M]. 浙江大学出版社, 1992.
- [7] Benencia F, Rodriguez M C, Matulewicz M C, et al. Neutral polysaccharide from cedrela tubiflora with anti-complementary activity[J]. Phytochem, 1999, 50(1): 57.
- [8] zhuang C, Mizuno T, Ito H, et al. Chemical modification and antitumor activity of polysaccharides from the mycelium of liquid-culture Grifola frondosa[J]. Nippon Shokuling Kogyo Gakkaishi, 1994, 41(10): 733-740.
- [9] 杨晓萍, 罗祖友, 吴谋成. 油菜花粉多糖提取工艺条件研究[J]. 食品科学, 2004, (9): 129-131.
- [10] 莫开菊, 谢笔均, 汪兴平, 等. 葛仙米多糖的提取、分离与纯化技术研究[J]. 食品科学, 2004, (10): 103-108.



日本公开流感病毒表面蛋白 立体构造预测数据

目前，世界各地的研究人员都可以在日本理化研究所的网站上，浏览流感病毒表面蛋白神经氨酸酶 1500 多个种类的立体构造预测数据。

神经氨酸酶是流感病毒增殖不可缺少的蛋白质，也是许多抗流感药物攻击病毒的“靶子”。著名的抗流感药达菲就是通过阻碍神经氨酸酶的活性而发挥作用的。神经氨酸酶大体分为 N1 至 N9 共 9 大类，但是根据其氨基酸序列的微小差异可以进一步细分为 1603 个种类，其中能够感染人类的 N1 型和 N2 型约占 80%。

日本理化研究所的研究人员介绍说，他们从美国收集的组成蛋白质的氨基酸序列数据库中调取和神经氨酸酶相关的氨基酸序列数据，输入预测蛋白质立体构造的电脑软件。在参照利用 X 射线已经完成解析的约 70 种神经氨酸酶构造的基础上，研究人员预测出了剩余 1500 多种神经氨酸酶的立体构造。相关数据已被加工成数据库，刊登在理化研究所的网站上。