

玉米花粉活性多糖的分离提取研究

何余堂, 孟良玉, 赵大军, 马 勇

(渤海大学生物与食品科学学院, 辽宁省食品质量安全与功能食品重点实验室, 辽宁 锦州 121000)

摘 要: 利用不同破壁技术对玉米花粉进行破壁处理, 采取正交设计对玉米花粉多糖的分离提取条件进行研究。结果表明, 花粉破壁处理是影响多糖产量的主要因素, 其次为料液比, 浸提温度和浸提时间。酶解破壁法和机械破壁法均显著优于温差破壁法, 而酶解破壁法与机械破壁法差异不明显。机械破壁法操作方便且成本较低, 因此认为适合在多糖提取中使用。玉米花粉多糖分离提取的最优条件为: 采取机械破壁法, 料液比为 1:6, 浸提温度为 70℃, 浸提时间 2h。

关键词: 玉米花粉; 破壁技术; 多糖; 工艺优化

Studies on Extraction of Active Pollen Polysaccharide of Corn

HE Yu-tang, MENG Liang-yu, ZHAO Da-jun, MA Yong

(Liaoning Provincial Key Laboratory of Food Quality Safety and Functional Food,
College of Biotech and Food Science, Bohai University, Jinzhou 121000, China)

Abstract: Corn pollen was processed by different wall-breaking methods before extraction. The orthogonal test design was used in extraction optimization of pollen polysaccharide of corn (PPC). It showed that the pollen wall-breaking process was the main factor influencing PPC extraction, followed by the proportion of pollen to solution, the extraction temperature and extraction time. The enzyme wall-breaking method and machine wall-breaking method were better significantly than temperature-difference wall-breaking method, but there showed no significant differences between the enzyme wall-breaking and machine wall-breaking method. As machine wall-breaking had advantages such as convenient and low cost over enzyme wall-breaking method, it was suitable in PPC extraction. For machine wall-breaking method the optimized conditions for PPC were: 1:6 proportion of pollen to solution and 70℃ of extraction temperature for 2 hours.

Key words: corn pollen; wall-breaking method; polysaccharide; optimization extraction

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)11-0112-03

玉米花粉营养丰富, 含有多种蛋白质、氨基酸、多糖、核酸、维生素及矿质元素, 具有很高的营养保健功能及增强免疫的作用, 多糖是玉米花粉中能增强机体免疫功能的重要物质^[1,2]。多糖是一类具有重要生理功能的生物大分子, 具有降血脂、抗肿瘤、增强人体免疫力的作用。玉米花粉的细胞壁分内外两层, 外壁坚硬, 主要由纤维素、孢粉素等组成, 具有抗酸、抗生物分解的特性, 内壁较薄软, 由纤维素、半纤维素、果胶质和蛋白质等组成。目前花粉破壁技术主要有温差破壁法、机械破壁法、酶解破壁法等^[3]。为了充分利用东北玉米花粉资源, 对玉米花粉多糖(Pollen polysaccharide of Corn, PPC)的分离提取工艺进行了探讨和优化。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米花粉从渤海大学试验地采集, 经低温、干燥、去除杂质后放于冰箱中保存。

1.2 仪器与试剂

电热恒温水浴槽 北京长风仪器公司; LD5-2A 离心机 北京医用离心机厂; 722 型分光光度计 上海光谱仪器有限公司; HMB-701 超微粉碎机 北京鑫环亚有限公司; FD-2 真空冷冻干燥机 上海市离心机械研究所。

无水乙醇、丙酮、乙醚、硫酸、苯酚等为国产分析纯。纤维素酶、果胶酶、蛋白酶 上海生物工程

收稿日期: 2004-11-24

基金项目: 辽宁省教育厅重点科研项目(2021401151)

作者简介: 何余堂(1967-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为功能性食品与食品生物技术。

有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 花粉破壁处理

分别采用温差破壁法、机械破壁法、酶解破壁法对玉米花粉进行破壁处理^[3]。

1.3.2 玉米花粉多糖提取流程

以花粉破壁方法、浸提温度、固液比、浸提时间为因素，采用L₉(3⁴)正交实验设计^[4]，优化工艺条件；3000r/min，离心20min。

称取定量玉米花粉→破壁处理→热水浸提2次→离心分离，合并上清液→浓缩乙醇沉淀→沉淀溶于水→加4倍体积95%乙醇沉淀→Sevage法去除蛋白质→取水相，95%乙醇沉淀→取沉淀，无水乙醇，丙酮，乙醚洗涤→冷冻干燥→玉米花粉粗多糖→分析测定。

1.3.3 花粉多糖含量测定 采用苯酚-硫酸法^[5]。

1.4 提取条件正交设计

在玉米花粉多糖的分离提取中，很多因素影响多糖的提取率，主要是温度、提取时间、料液比例，另外花粉是否进行破壁处理及不同的破壁方法对多糖的提取也有很大的影响。根据预备实验及前人的研究结果^[6,7]，选择破壁处理、料水比、浸提温度和浸提时间4个因素，各取3个水平，进行4因素3水平正交试验设计L₉(3⁴)(表1)。

2 结果与分析

2.1 玉米花粉多糖提取条件的优化

采取L₉(3⁴)正交设计对玉米花粉多糖提取条件进行优化。极差的大小可以反映各因素对花粉多糖提取的影响

表1 正交实验因素水平

Table 1 Factors of orthogonal experiment

因素水平	A 破壁处理	B 料水比	C 浸提温度(℃)	D 浸提时间(h)
1	温差破壁法	1:4	60	1
2	机械破壁法	1:5	70	2
3	酶解破壁法	1:6	80	3

程度。根据表2、图1的极差分析，可排出各因素的顺序：A(破壁处理)>B(料液比)>C(浸提温度)>D(浸提时间)。因素A和B均以第三水平为最好，因素C和D以第二水平为最好。因此，玉米花粉多糖的提取优化条件为：A₃B₃C₂D₂。

从表2、表3的方差分析结果可知，花粉破壁处理是影响花粉多糖产量的最主要因素，其次为料液比、提取温度、提取时间，均达到极显著或显著水平。虽然浸提温度和浸提时间也达到显著水平，但影响相对较小。

表3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance

变异来源	平方和	自由度	均方	F	F _{0.05}	F _{0.01}
破壁处理(A)	0.2003	2	0.1002	37.11**	4.26	8.02
料水比(B)	0.1121	2	0.0561	20.78**		
浸提温度(C)	0.0465	2	0.0233	8.63**		
浸提时间(D)	0.0363	2	0.0182	6.74*		
误差	0.0240	9	0.0027			
总变异	0.4192	17				

表2 正交实验结果

Table 2 Results of orthogonal experiment

实验号	A 破壁处理	B 料液比	C 浸提温度(℃)	D 浸提时间(h)	多糖提取量(g)			
					I	II	总和	平均值
1	1(温差破壁)	1(1:4)	1(60)	1(1)	0.438	0.494	0.932	0.466
2	1	2(1:5)	2(70)	2(2)	0.796	0.740	1.536	0.768
3	1	3(1:6)	3(80)	3(3)	0.745	0.797	1.542	0.771
4	2(机械破壁)	1	2	3	0.790	0.864	1.654	0.827
5	2	2	3	1	0.861	0.805	1.666	0.833
6	2	3	1	2	0.930	1.018	1.948	0.974
7	3(酶解破壁)	1	3	2	0.934	0.850	1.784	0.892
8	3	2	1	3	0.763	0.847	1.61	0.805
9	3	3	2	1	0.970	1.060	2.03	1.015
K ₁	4.010	4.370	4.490	4.628				
K ₂	5.268	4.812	5.220	5.268				
K ₃	5.424	5.52	4.992	4.806				
k ₁	0.668	0.728	0.748	0.771				
k ₂	0.878	0.802	0.870	0.878				
k ₃	0.904	0.920	0.832	0.801				
极差R	0.236	0.192	0.122	0.107				
优水平	A ₃	B ₃	C ₂	D ₂				

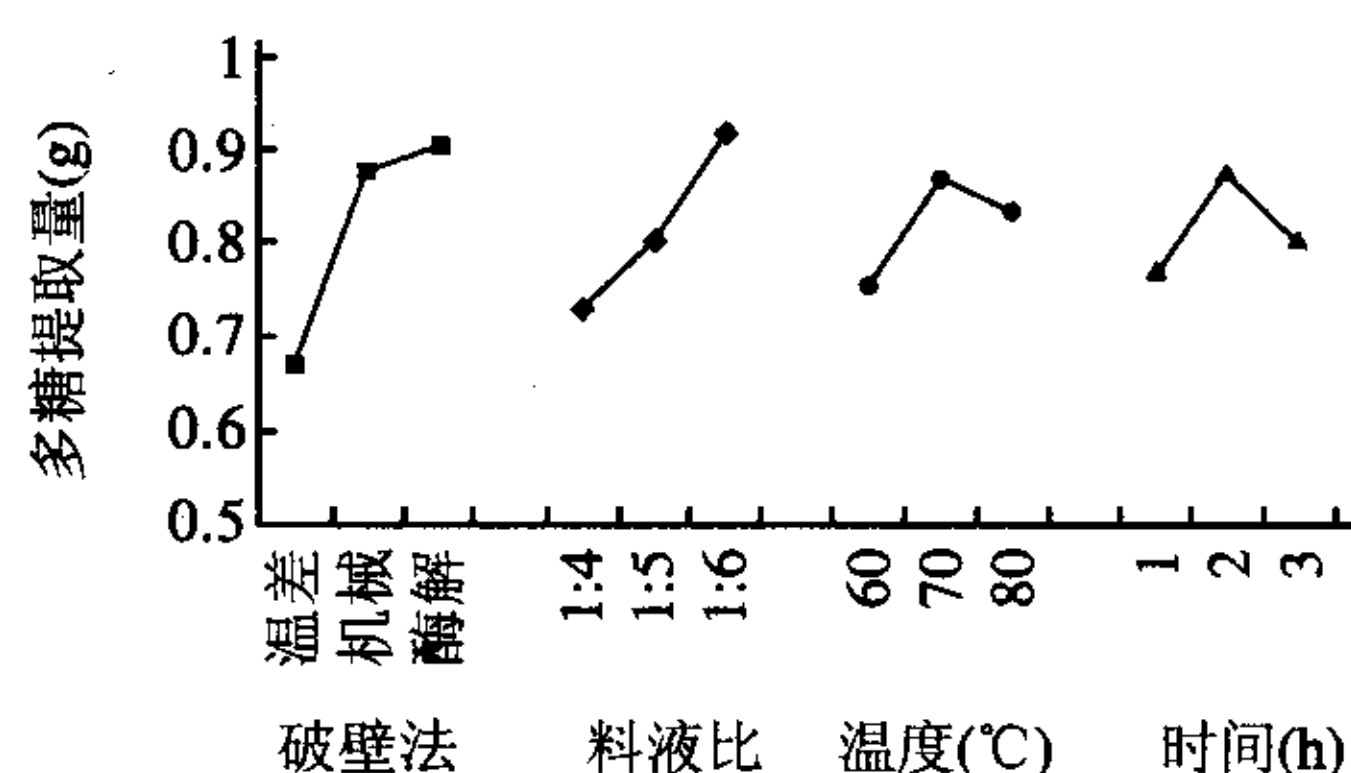


图1 四种因素的极差分析

Fig.1 Range analysis of four factors

表4 A因素各水平平均数多重比较表(SSR法)

Table 4 Multiple comparison of A factor

因素	平均数	多重比较显著性分析			
A 因素					
A ₃	0.904	0.236**	0.026		
A ₂	0.878	0.210**			
A ₁	0.668				
B 因素					
B ₃	0.920	0.192**	0.118**		
B ₂	0.802	0.074*			
B ₁	0.728				
C 因素					
C ₂	0.870	0.122**	0.038		
C ₃	0.832	0.084*			
C ₁	0.748				
D 因素					
D ₂	0.878	0.107**	0.077*		
D ₃	0.801	0.030			
D ₁	0.771				
K 值	SSR _{0.05}	SSR _{0.01}	LSR _{0.05}	LSR _{0.01}	
2	3.20	4.60	0.0678	0.0975	
3	3.34	4.86	0.0708	0.1030	

对四个因素不同水平进行了多重比较分析(表4)。结果表明,四个因素各水平之间均达到极显著或显著差异。在花粉破壁处理(A)中,酶解法(A₃)和机械法(A₂)极显著地高于温差法(A₁),酶解法和机械法间差异不显著。料液比(B)三个水平之间的差异均达显著或极显著。在浸提温度处理中,C₂和C₃水平的差异显著地高于C₁,但C₂与C₃间差异不显著。浸提时间处理D₂显著地高于D₁、D₃,但D₁与D₃间差异较小。

2.3 不同花粉破壁方法对多糖提取的影响

对玉米花粉细胞壁进行破壁处理有利于营养物质的释放和多糖等生物大分子的分离提取^{[1][8]}。花粉细胞壁的外壁坚硬,内壁薄软,目前花粉破壁主要有三种方法:酶解破壁法、机械破壁法、温差破壁法等。温差破壁法是利用花粉中的水结冰,加热熔化产生的张力,以破坏花粉壁的组织结构;机械破壁法是将花粉用液氮浸渍、粉碎机破碎以破坏花粉壁的结构;而酶解破壁法是利用纤维素酶、果胶酶和蛋白酶处理花粉,以达到破壁的目的。在本研究中,花粉破壁处理是影响花粉多糖产量的最主要因素(表2、表3),而多重比较显著性分析(表4)表明,酶解破壁法和机械破壁法虽然明显优于温差破壁法,但它们之间并无明显差异。机械破壁法操作方便,程序简单,而酶解破壁法相比较而言,较为复杂且成本较高。因此认为,在玉米花粉多糖的提取中使用机械破壁法比较合适。

3 结论

本研究结果表明,花粉破壁处理是影响多糖产量的主要因素,其次为料液比,浸提温度,浸提时间,均达到极显著水平。玉米花粉多糖分离提取的最优条件为:料液比为1:6,浸提温度为70℃,浸提时间2h,采取机械破壁法破壁。

参考文献:

- [1] 励建荣,李力,徐沁芳,等.花粉常压提取方法的研究和花粉运动饮料的研制[J].食品科学,1994,(1):41-44.
- [2] 耿越,王开发,张玉兰,等.玉米花粉多糖的免疫学作用分析[J].动物学报,2001,47:250-254.
- [3] 杨晓宇,杨少玲,杨华.花粉资源利用研究进展[J].特产研究,2003,(4):52-56.
- [4] 明道绪.生物统计附试验设计[M].中国农业出版社,2002.
- [5] 李如亮.生物化学实验[M].武汉大学出版社,1998.
- [6] 姜元荣,姚惠源,谢兆进.米糠多糖的提取条件及其沉淀特性研究[J].食品科学,2003,24(1):93-96.
- [7] 樊黎生,张声华,夏服宝.黑木耳粗多糖的分离提取工艺及其理化性能研究[J].食品科学,2004,25(8):100-103.
- [8] 李道荣,李魁,段雪梅.蒲黄花粉多糖提取工艺研究[J].郑州工程学院学报,2002,23(4):55-63.

欢迎订阅 2006 年《食品科学》杂志