

食用花卉中微量元素锌可溶性糖结合态的提取研究

彭珊珊, 黄国清

(韶关学院食品工程系, 广东 韶关 512005)

摘 要: 采用醇提取法对3种食用花卉菊花、芙蓉花、金银花中微量元素锌的可溶性糖结合态进行提取、分离; 进行了锌的可溶性糖类结合态的提取、分离条件的选择试验, 并且使用原子吸收分光光度计测定了Zn的可溶性糖结合态含量。结果表明食用花卉中Zn可溶性糖结合态分布较多, 三种食用花卉中Zn的可溶性糖类结合态的含量分布相对较固定, 形态分布为13.4%~14.5%左右; 这说明Zn的形态之间存在着一定的平衡关系。

关键词: 食用花卉; 原子吸收分光光度法; Zn; 可溶性糖结合态

Study on Soluble Carbohydrate Binding Speciality of Zn in Edible Flowers

PENG Shan-shan, HUANG Guo-qing

(Food Engineering Department of Shaoguan University, Shaoguan 512005, China)

Abstract: In the paper the content and specific analysis for soluble carbohydrate binding speciality of trace elements zinc in three edible flowers: Chrysanthemum, Cottonrose hibiscus and Honeysucker have been studied respectively by AAS. The results show that the content of soluble carbohydrate binding speciation of zinc in the edible flowers is higher.

Key words: edible flower; AAS; Zn; ; soluble carbohydrate;

中图分类号: O657.31

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)08-0118-04

锌是人体必需微量元素之一, 它在维持人体健康及正常生理功能等方面具有重要的作用。人体内锌和氮的贮存量有平行关系。锌也是人体中约200种酶的组成成分, 此外锌还参与核酸与蛋白质的合成, 参与糖、水、

盐、脂肪等的代谢以及内分泌代谢, 锌还参与激素的合成, 能改善食欲和消化机能。缺锌, 人体就不能正常生长发育, 并引起智力低下, 器官和组织生理功能异常等一系列生化紊乱、病理变化等^[1,2]。随着食品营养学及分子微生态学的发展, 人们对食品及其成分的作用的认识不断深化, 在开发食品新资源, 饮食多样化的同时迫切希望饮食科学化, 以期通过食品对人体提高免疫力、预防疾病的发生、减轻疾病的症状发挥积极

收稿日期: 2003-11-03

作者简介: 彭珊珊(1945-), 女, 教授, 主要从事食品分析和加工研究。

- 观察研究[J]. 贵州农学院丛刊, 1996, 33(4): 84-86.
- [4] 梁宗琦, Fox RTV. 粉被虫草无性型单孢子株间和单孢子株内的营养亲合性[J]. 菌物系统, 1997, 16(3): 216-223.
- [5] 黄建忠, 梁宗琦, 刘爱英. 粉被虫草无性型对苏芸金杆菌抗紫外辐射的保护效应[J]. 西南农业学报, 1992, 5(2): 63-67.
- [6] 刘杰麟, 童宜英. 粉被虫草菌丝体发酵液对放射性损伤小鼠体液的免疫作用[J]. 中华放射医学与防护杂志, 1999, 19(2): 111.
- [7] 刘杰麟, 费樱, 戴氏虫草和粉被虫草多糖对巨噬细胞等活性的影响[J]. 免疫学杂志, 2001, 17(3): 189-191

- [8] 丁凤平, 姜文昌, 陈宗娟. 冬虫夏草的研究现状[J]. 中国生化药物杂志, 1994, 15(4): 297-299.
- [9] 肖建辉, 梁宗琦, 刘爱英. 虫草无性型及其相关真菌的研究开发现状[J]. 药理学, 2002, 37(7): 589-592.
- [10] 中国科学院数学研究所数理统计组. 正交试验法[M]. 北京: 人民教育出版社, 1975. 81-150.
- [11] 蔡武城. 生物物质常用化学分析法[M]. 北京: 科学出版社, 1982. 8-9, 59-60.
- [12] 陈金春, 刘祖同. 白蚁伞多糖的发酵生产[J]. 清华大学学报(自然科学版), 1997, 37(6): 54-57.

作用。要求食品具有人体调节功能,从而兴起了功能食品,而功能食品的研究方向之一就是寻找新的功能食品基料(即含功能因子的食品原料)。许多花卉还可以药、食两用,食后可调节人的神经系统,促进血液循环,改善心肌功能,提高机体免疫力。如菊花具有疏风明目,杀菌消炎,清凉解热功能;芙蓉花主治肿毒恶疮、烫伤炎症、乳腺炎、风湿性关节炎;金银花可止血凉血、解暑抗菌,用于痈肿疔疮、毒痢脓血等^[3]。

食物中锌的来源广泛,但食物中锌的吸收率较低,通常只有10%左右^[3]。如何提高锌的吸收利用率,降低锌在循环中的消耗,对提高我国医疗及居民健康水平具有重大的现实意义。当然,这与锌存在的形态密不可分。我们已分别对菊花、芙蓉花、金银花中的微量元素Zn的总量、悬浮态与可溶态、蛋白质结合态等形态作了初步研究^[4~6],本文通过实验,对菊花、芙蓉花、金银花的可溶性糖结合态Zn进行分析。通过选择最佳实验条件,建立了微量元素Zn的可溶性糖态分离体系及方法。为食用花卉的进一步功能鉴定及花卉功能食品的开发生产提供理论与应用基础,并为进一步研究微量元素Zn的吸收利用机理,揭示微量元素Zn的作用本质提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

SpectrAA-10 原子吸收分光光度计(Varian 公司)测试条件见表1。

表1 仪器测试条件

元素	波长 (nm)	灯电流 (mA)	狭缝 (nm)	空气流量 (L/min)	乙炔流量 (L/min)
Zn	213.9	5.0	1.0	4.5	1.4

1.2 供试样品

菊花 南昌市绿化园林所;芙蓉花、金银花 南昌县渡头乡。

1.3 元素标准溶液

由高纯试剂按常规法配制。其中贮备液浓度为1mg/ml,标准系列由贮备液加二次蒸馏水稀释制备。

1.4 实验方法

1.4.1 锌的可溶性糖类结合态的提取、分离和测定

1.4.1.1 提取条件的选择

目前可溶性糖类的提取方法有水提取法、醇提取法,但水提取法中,除糖类被提取外,还有许多可溶性物,如可溶性淀粉及糊精等,使可溶性糖态Zn结果出现偏差。使用醇提取法,能够较好的使糖类被提取而大多数多糖及蛋白质不被提取,并且可以避免糖类被

酶水解。

1.4.1.2 Zn的可溶性糖类结合态的分离和测定

技术路线:花样→清洗→风干→乙醇回流→过滤→离心→可溶性糖结合态锌→消化→测定

具体操作:准确称取经研磨的干燥花样1.0000g左右,加入30ml乙醚提取0.5h,以除去脂类等,过滤,移入三角瓶中,加入30ml 80%乙醇溶液,置于50℃水浴上加热回流1h,冷却,离心,倾出提取液,再加入30ml 80%乙醇溶液,重复提取2次,合并提取液,水浴加热回收乙醇,冷却,慢慢加入20%Pb(Ac)₂ 10ml,摇匀,静置10min,再加入10% Na₂SO₄ 10ml,定容,用干燥滤纸过滤,取一定量按湿法消化,AAS法测定Zn含量,同时制作空白。

1.4.2 Zn的可溶性糖结合态提取的最佳条件确定

1.4.2.1 实验指标 可溶性糖类提取率。

可溶性糖类提取率(%)=可溶性糖类含量/花干干重×100%

1.4.2.2 测定方法 还原糖法。

提取花样可溶性糖类后,在加热条件下,直接滴定过量的碱性酒石酸,以次甲基兰作为指示剂,根据消耗的可溶性糖类的体积,计算样品的可溶性糖类含量。

1.4.2.3 锌可溶性糖类含量的单因素试验

以芙蓉花为材料,采用乙醇回流提取法进行提取,选取影响可溶性糖提取率的三个主要条件:乙醇浓度、温度、时间,同时进行操作条件实验。最后依据可溶性糖的提取率高低来选择提取的可溶性糖含量最佳条件。

(1) 乙醇浓度对可溶性糖类提取的影响

测试条件:时间1h,温度60℃,乙醇浓度选择及测试结果如表2。

表2 乙醇浓度试验

乙醇浓度(%)	65	70	75	80	85	90
可溶性糖 提取率(%)	6.4770	7.1318	8.0509	9.5154	9.2847	8.1983

测试结果表明,随乙醇浓度增加,可溶性糖提取率先增后减,可能是乙醇浓度过高时,某些糖态不能被溶解所致,本试验选取水平为:75%、80%、85%。

(2) 温度对可溶性糖类提取的影响

测试条件:时间1h、乙醇浓度80%,温度选择及测试结果如表3:

测试结果知,随温度增加,糖类提取率增加,且在50~70℃时,增加速度较快,但是,温度过高某些多糖以及淀粉、糊精容易分解或析出。造成结果偏高,故选择温度水平为50、60、70℃。

表3 温度影响试验

温度(℃)	30	40	50	60	70	80
可溶性糖 提取率(%)	6.3119	7.1971	8.1335	9.5154	9.6434	9.8343

(3) 时间对可溶性糖态提取的影响

测试条件: 温度 60℃, 乙醇浓度 80%, 时间设计及测试结果见表 4。

表4 时间对可溶性糖态提取的影响

时间(h)	0.25	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0
可溶性糖 提取率(%)	7.7738	8.4572	9.1004	9.1774	9.3149	9.4779

测试结果知, 随时间增长, 可溶性糖类提取率逐渐增加, 但增加比越来越小, 提取 1.0h 后, 增加比变小, 本实验选时间水平为 1.0、1.5、2.0h。

1.4.2.4 正交试验表设计实验

根据单因素试验的结果, 设计可溶性糖正交试验因素水平表, 应用 $L_9(3^4)$ 如表 2, 提取的正交试验方案见表 3。以芙蓉花、金银花、菊花为材料, 参照以上选取的最佳提取条件, 提取花卉中的可溶性糖, 最后以原子吸收分光光度法(AAS 法)测定提取的可溶性糖中的 Zn 含量。

表5 因素—水平表

水平	因素		
	A 乙醇浓度(%)	B 提取温度(℃)	C 提取时间(h)
1	85	70	2.0
2	80	60	1.5
3	75	50	1.0

表6 正交试验方案及结果分析表

试验号	A	B	C	提取率(%)
1	1	1	1	7.57
2	1	2	2	8.71
3	1	3	3	9.05
4	2	1	2	9.14
5	2	2	3	10.36
6	2	3	1	10.65
7	3	1	3	8.17
8	3	2	1	9.56
9	3	3	2	9.48
K_{1j}	25.32	24.88	27.78	$T=82.69$
K_{2j}	30.15	28.63	27.33	
K_{3j}	27.21	29.17	27.58	
R_j	4.83	4.29	4.45	
S_j	3.95	3.64	0.03	

1.5 方法的精密度和回收率实验

采用加标回收, 多次平行测定的方法, 求出 RSD% 和回收率, 论证方法的可行性。

2 结果与讨论

2.1 提取条件的确定结果分析见表 6(结果为三次平均含量), 方差分析见表 7。

表7 方差分析表

变异来源	差方和S	自由度f	均方S	F值	显著性
A	3.9526	2	1.9763	1235.2	**
B	3.6414	2	1.8207	1137.9	**
C	0.0340	2	0.0170	10.625	

注: ** 表示极显著, 查 F 临界值为: $F_{0.01(2,2)}=99.00$, $F_{0.05(2,2)}=19.00$ 。

从表 7 可知, 因素 A、B 影响极为显著, 必须严格选取最优水平, 而因素 C 则不显著, 可以任意选择其中任一水平, 所以最终选择, 最优方案为 $A_2B_3C_3$, 即乙醇浓度 80%, 温度 50℃, 时间 1.0h,

2.2 Zn 可溶性糖形态分析方法的精密度和回收实验

对芙蓉花样液的可溶性糖态锌进行多次平行测定, 得出其相对标准偏差, 计算回收率, 结果如表 8。

表8 可溶性糖态锌分析方法的精密度和回收实验结果

芙蓉花样液 (μ g/ml)	加标量 (μ g/ml)	测得值 (μ g/ml)	RSD (%)	回收率 (%)
0.035	0.500	0.519	3.2	96.8

表 8 表明, Zn 的可溶性糖态的相对标准偏差小于 5%, 回收率为 96.8%, 说明本法的精密度和准确度均较好。

2.3 菊花、芙蓉花、金银花 Zn 的可溶性糖态与蛋白态和总量的测定结果^[4、6]对照见表 9, 其 Zn 形态占总量的比例如表 10。

表9 Zn的形态分析(μ g/g)

花样	总量	蛋白质态	可溶性糖态
菊花	32.22	6.71	4.32
芙蓉花	27.93	5.52	4.04
金银花	26.47	5.35	3.75

表10 Zn的形态分布(%)

花样	总量	蛋白质态	可溶性糖态
菊花	100	20.83	13.41
芙蓉花	100	19.76	14.46
金银花	100	20.21	14.17

牛血铜锌超氧化物歧化酶分离提取新工艺

张 良¹, 薛 刚², 张彩莹³, 黄开勋¹

(1. 华中科技大学化学系, 武汉 430000; 2. 南阳理工学院, 河南 南阳 473004;

3. 南阳师范学院, 河南 南阳 473000)

摘 要: 在传统制备超氧化物歧化酶的基础上, 进行工艺改进。直接用血块, 采用机械破碎法破膜, 热变性及两次乙醇-氯仿沉淀除杂蛋白, 然后丙酮沉淀, 按照此工艺分离提取获得高纯度的 Cu,Zn-SOD, 比活达到 6988U/mg · pro。

关键词: 牛血; 铜锌超氧化物歧化酶(Cu,Zn-SOD); 分离提取; 新工艺

Extraction New Technology of Bovine Blood Copper and Zinc Superoxide Dismutase (Cu, Zn-SDD)

ZHANG Liang¹, XUE Gang², ZHANG Cai-ying³, HUANG Kai-xun¹

(1. Department of Chemical, Huazhong Science and Technology University, Wuhan 430000, China;

2. Nanyang Science and Technology College, Nanyang 473004, China;

3. Nanyang Normal College, Nanyang 473000, China)

Abstract: A new procedure is designed based on the conventional method. Higher purity Cu,Zn-SOD is obtained by thermal denaturalization, twice ethanol-chloroform to remove other protein, acetone precipitation. Its specific activity is 6988U/mg · pro.

Key words: bovine blood; copper and zinc superoxide dismutase(Cu,Zn-SOD); extraction; new technology

中图分类号: TS201.25

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2004)08-0121-04

超氧化物歧化酶(SOD)是广泛存在于生物体内的一类金属酶, 按其所含金属离子的不同至少分为三种: Cu,

Zn-SOD、Mn-SOD 和 Fe-SOD^[1]。自 1969 年 McCord 和 Fridovich^[2]发现该酶并阐明其生物学功能以来, 有关的理论和应用研究迅速发展。现已证实, SOD 不仅在生物体内对抗氧化、解毒等起重要作用, 而且也有抗辐射、抗肿瘤及抗衰老等功能^[3], 因而受到医药界的极大关注。

收稿日期: 2003-11-03

作者简介: 张良(1970-), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为生物化学。

由表 9、10 样品分析结果表明, 食用花卉中 Zn 的可溶性糖类结合态的形态分布为 14% 左右, 食用花卉中 Zn 的蛋白质结合态含量分布比可溶性糖类结合态更多, 而且 Zn 的蛋白质结合态与可溶性糖类结合态含量分布差异较明显; 另外值得注意的是, 三种食用花卉中 Zn 的可溶性糖类结合态的含量分布相对较固定, 这说明 Zn 的形态之间存在着一定的平衡关系, 这为我们进行深入的形态分析研究提供了基础。

参考文献:

[1] 颜世铭, 洪昭毅, 李增禧. 实用元素医学[M]. 河南: 河南

医科大学出版社, 1999.

[2] 王夔. 生命科学中的微量元素[M]. 北京: 中国计量出版社, 1995.

[3] 李时珍. 本草纲目[M]. 中国中医药出版社, 1998.

[4] 药食两用花卉中营养元素的光谱测定[M]. 光谱学与光谱分析, 2000.

[5] 食用花卉中微量元素 Zn 的初级形态分析[M]. 光谱实验室, 2001.

[6] 食用花卉中微量元素 Fe、Zn 的蛋白质态分布[M]. 光谱实验室, 2002, (3).

[7] 袁东星, 等. 化学形态分析[R]. 分析测试通报, 1992, (4).