

微波协同酶法提取玉米须多糖工艺的优化研究

陈 红, 张艳荣, 王大为*, 刘婷婷, 张 波
(吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林 长春 130118)

摘 要: 采用微波协同酶法提取玉米须多糖并对其工艺进行优化。通过单因素试验和正交试验, 确定微波协同酶法提取的最佳工艺条件: 微波功率 500W、微波处理时间 2min、液料比 30:1(mL/g)、纤维素酶用量 1.5%、酶解温度 50℃、酶解时间 40min、pH5.0, 在此工艺条件下, 多糖提取率为 8.12%。

关键词: 玉米须; 多糖; 提取; 微波; 纤维素酶

Microwave-assisted Enzymatic Hydrolysis of Corn Silk for Extraction of Polysaccharides

CHEN Hong, ZHANG Yan-rong, WANG Da-wei*, LIU Ting-ting, ZHANG Bo
(College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: The present study aimed at developing an optimal procedure for the extraction of polysaccharides from corn silk hydrolyzed with a commercial cellulase preparation under microwave assistance. The optimal values of crucial technological parameters for improved polysaccharides yield were determined by one-factor-at-a-time and orthogonal array design methods as follows: microwave power 500 W for 2 min treatment, water/material ratio 30:1 (mL/g), enzyme dosage 1.5%, pH 5.0 and hydrolysis temperature 50 °C for a hydrolysis duration of 40 min. Under such conditions, a maximum polysaccharides yield of up to 8.12% was obtained.

Key words: corn silk; polysaccharides; extraction; microwave; cellulase

中图分类号: TS242.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)10-0042-05

玉米须是禾本科作物玉米的干燥花柱和柱头, 其味甘, 性微温, 有利尿、平肝、利胆、抗肿瘤等功效^[1-2], 可用于治疗糖尿病、黄疸、高血压、胆囊炎、胆结石等病症^[3-4], 现代药理研究证明玉米须有显著的利尿效果和降血糖作用^[5-7]。玉米须来源丰富, 价格低廉, 易于获得, 是有待全面开发利用的药用资源, 具有广阔的研究与开发前景^[8]。

玉米须多糖是多聚糖, 主要由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、半乳糖醛酸、甘露糖和木糖所组成^[9], 玉米须多糖无毒安全, 具有降血糖、抗癌、增强免疫力等生理功能^[10-11]。传统的玉米须多糖提取方法是热水浸提法, 该法提取温度高、提取时间长、成本高、提取率低^[10]。微波技术是近几年来用于天然植物有效成分提取的一项新技术, 它具有快速、高效、安全、有效成分提取率高、节能等特点^[12]。目前国内外对玉米须多糖的研究较少, 尚未见有关微波协同纤维素酶提取玉米须多糖的研究报道。本实验利用此方法对玉米须多糖的提取工艺进行研究, 旨在为进一步开发利用玉米须

资源提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

成熟期玉米须, 采自吉林农业大学农学系实习基地。

纤维素酶(15000U/g) 中国科学院上海生化东风生化技术公司; 浓硫酸、苯酚、无水乙醇、三氯乙酸(TCA)等均为国产分析纯; 葡萄糖标准品 Sigma 公司。

1.2 仪器与设备

HH-SIS 数显恒温水浴锅 常州市国立试验设备研究所; TU-1810 紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; GZX-9240MBE 电热恒温鼓风干燥箱 上海跃进医疗器械厂; PHS-III 型精密 pH 计 上海天达仪器有限公司; LJX-II 型离心沉淀机 上海医用分析仪器厂。

1.3 方法

收稿日期: 2009-08-02

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2006BAD27B07)

作者简介: 陈红(1976—), 女, 讲师, 硕士, 主要从事食品营养与功能食品研究与开发。E-mail: chen hong216@yahoo.com.cn

* 通信作者: 王大为(1960—), 男, 教授, 博士, 主要从事功能食品研究与开发。E-mail: xcpyfzx@163.com

1.3.1 提取工艺

玉米须→烘干→粉碎(过 60 目筛)→索氏提取(乙醚脱脂)→干燥→称取脱脂玉米须 3g→加水浸泡→调 pH 值(磷酸盐缓冲溶液)→酶解(纤维素酶)→微波处理→离心(3500r/min, 30min)→取上清液→去蛋白(加三氯乙酸)→离心(3500r/min, 20min)→取上清液→浓缩→95% 乙醇沉淀→离心(3000r/min, 20min)→沉淀物→无水乙醇洗涤→冷冻干燥→粗多糖→稀释→多糖含量测定

1.3.2 葡萄糖标准溶液的配制

精确称取干燥至质量恒定的葡萄糖 100mg, 定容至 100mL, 得浓度为 1mg/mL 的葡萄糖贮备溶液。再准确移取 10mL, 用蒸馏水定容至 100mL, 得 0.1mg/mL 的葡萄糖使用液。

1.3.3 苯酚溶液的制备

取苯酚 100g, 加 0.1g 铝片和 0.05g 碳酸氢钠蒸馏, 收集 182℃ 馏分。称取馏出液 15g, 加蒸馏水定容至 300mL 溶解, 混匀并转移至棕色瓶中, 即得 5% 苯酚溶液, 置 4℃ 冰箱备用。

1.3.4 标准曲线的绘制

采用苯酚-硫酸法^[13]。取上述 0.1mg/mL 的葡萄糖使用液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2mL 分别置于 25mL 比色管中, 依次加水使最终体积为 2mL, 同时吸取 2mL 水于 25mL 比色管中作空白对照, 分别加入 1mL 5% 苯酚溶液, 再加入 5.0mL 浓硫酸, 迅速摇匀。室温静置 20min, 以使其充分显色, 然后于 490nm 波长处测定吸光度, 以葡萄糖含量(X , mg)为横坐标, 吸光度(A)为纵坐标, 得标准曲线的回归方程为 $A = 0.009X - 0.0063$, $R^2 = 0.9991$ 。

1.3.5 多糖提取率计算

精确称取 20mg 自制玉米须粗多糖, 用少量 50℃ 水完全溶解后, 用蒸馏水定容至 100mL。吸 0.5mL 多糖液加 1.5mL 的蒸馏水, 再加入 5% 苯酚溶液 1.0mL 及浓硫酸 5.0mL; 室温静置 20min 后于波长 490nm 处测吸光度。将所测吸光度代入回归方程, 得多糖相当于葡萄糖含量 C (mg)。

$$\text{多糖提取率} / \% = \frac{C \times D \times F}{m_0} \times 100$$

式中: C 为多糖液测定 A 值从回归方程求得的多糖相当于葡萄糖的含量 / mg; D 为稀释倍数; F 为玉米须多糖相对葡萄糖的换算因子, 其值为 2.365; m_0 为玉米须干质量 / mg。

1.3.6 单因素试验设计

利用单因素试验分别考察微波功率、微波处理时间、液料比、纤维素酶用量、酶解温度、酶解时间、酶解体系 pH 值 7 个因素对玉米须多糖提取率的影响程

度, 选择最佳的提取工艺条件。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 微波功率对多糖提取率的影响

在微波处理时间 2min、液料比 30:1(mL/g)、纤维素酶用量 1.5%、酶解温度 50℃、酶解时间 40min、酶解体系 pH5.0 条件下, 不同微波功率对多糖提取率的影响结果见图 1。

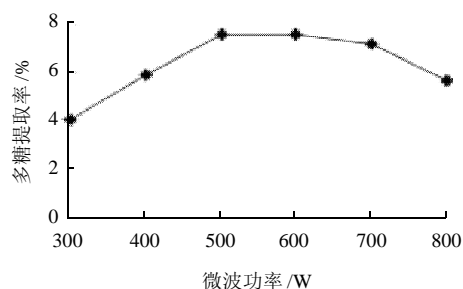


图1 微波功率对多糖提取率的影响

Fig.1 Effect of microwave power on polysaccharides yield

由图 1 可知, 微波功率小于 500W 时, 多糖的提取率随着功率的增大而提高, 但功率超过 700W 提取率显著下降。故微波功率选取 500W 为宜。原因是功率太小, 则不足以提供足够的摩擦热使胞内水分汽化而实现微波破壁, 故提取率相对较低。随着微波功率的增大, 物系吸收微波能增多, 玉米须细胞内部温度上升较快, 温度越高, 对玉米须细胞壁的破坏作用就越大, 有利于物料有效成分浸出。但如果功率过高, 因瞬间加热作用会使被处理成分发生变性, 对提取介质的渗入造成较大的阻碍, 导致有效成分提取率下降。

2.1.2 微波处理时间对多糖提取率的影响

在微波功率 500W、液料比 30:1、纤维素酶用量 1.5%、酶解温度 50℃、酶解时间 40min、酶解体系 pH5.0 条件下, 不同处理时间对多糖提取率的影响结果见图 2。

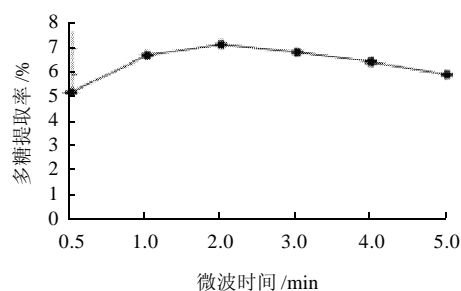


图2 微波处理时间对多糖提取率的影响

Fig.2 Effect of microwave treatment time on polysaccharides yield

由图2可知,处理时间小于2min时,多糖提取率随着处理时间的增加而增大,当微波处理时间为2min时,提取率达到最大值,而后又有所下降。故微波处理时间以2min为宜。

2.1.3 液料比对多糖提取率的影响

在微波功率500W、微波处理时间2min、纤维素酶用量1.5%、酶解温度50℃、酶解时间40min、酶解体系pH5.0条件下,不同液料比对多糖提取率的影响结果见图3。

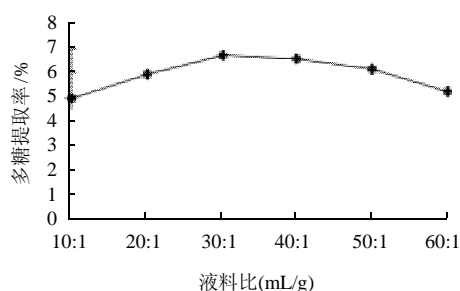


图3 液料比对多糖提取率的影响

Fig.3 Effect of water/material ratio on polysaccharides yield

由图3可知,液料比小于30:1时,多糖提取率随液料比的增大而增加,当液料比为30:1时,多糖提取率达到最大值,因为适当的液料比可以提高多糖的溶出率,液料比过小,溶剂量太少,会使物料黏度大,扩散速度慢,阻碍多糖的进一步溶出,难以保证原料中的多糖大量转移到提取液中,提取不完全,故多糖提取率较低;当液料比超过30:1,多糖提取率有下降趋势。故液料比以30:1为宜。

2.1.4 纤维素酶用量对多糖提取率的影响

在微波功率500W、微波处理时间2min、液料比30:1、酶解温度50℃、酶解时间40min、酶解体系pH5.0条件下,不同纤维素酶用量对多糖提取率的影响结果见图4。

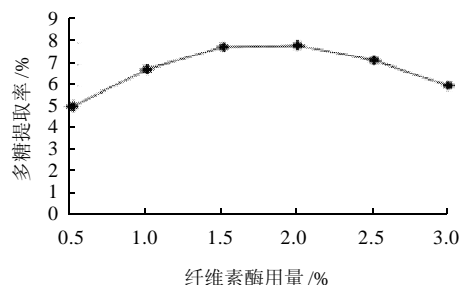


图4 纤维素酶用量对多糖提取率的影响

Fig.4 Effect of cellulase dosage on polysaccharides yield

由图4可知,纤维素酶用量在0.5%~1.5%时,随

着酶用量的增加,多糖提取率提高显著,故纤维素酶用量以1.5%~2%为宜。

2.1.5 酶解温度对多糖提取率的影响

在微波功率500W、微波处理时间2min、液料比30:1、纤维素酶用量1.5%、酶解时间40min、酶解体系pH5.0条件下,不同酶解温度对多糖提取率的影响结果见图5。

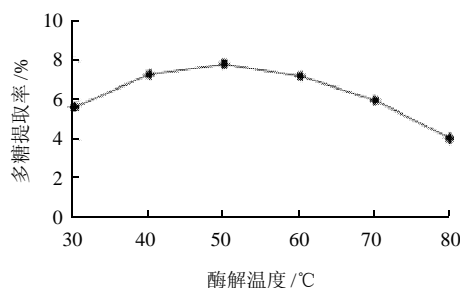


图5 酶解温度对多糖提取率的影响

Fig.5 Effect of hydrolysis temperature on polysaccharides yield

由图5可知,酶解温度在30~50℃时,随着温度升高,提取率不断增大,在50℃达到最大值。当酶解温度大于50℃时,提取率随温度升高逐渐下降。故酶解温度以50℃为宜。

2.1.6 酶解时间对多糖提取率的影响

在微波功率500W、微波处理时间2min、液料比30:1、纤维素酶用量1.5%、酶解温度50℃、酶解体系pH5.0条件下,不同酶解时间对多糖提取率的影响结果见图6。

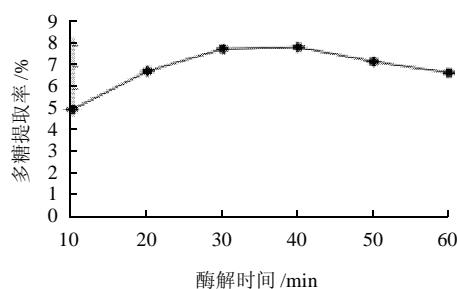


图6 酶解时间对多糖提取率的影响

Fig.6 Effect of hydrolysis time on polysaccharides yield

由图6可知,酶解时间低于30min时,多糖提取率提高比较显著,30~40min之间提取率的增加不明显,40min之后提取率有略微下降趋势。故酶解时间以30~40min为宜。

2.1.7 酶解体系pH值对多糖提取率的影响

在微波功率 500W、微波处理时间 2min、液料比 30:1、纤维素酶用量 1.5%、酶解温度 50℃、酶解时间 40min 条件下,不同酶解体系 pH 值对多糖提取率的影响结果见图 7。

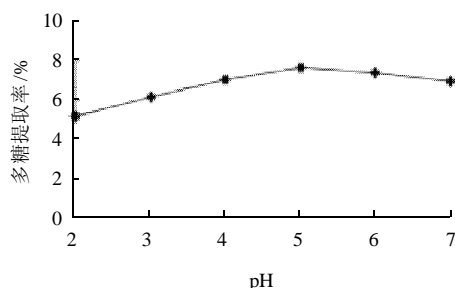


图7 酶解体系 pH 值对多糖提取率的影响

Fig.7 Effect of pH on polysaccharides yield

由图 7 可知,当 pH 值为 5.0 时,多糖的提取率达到最大, pH 值增大或减小,提取率均开始下降。这可能是因为 pH 值过高或过低都会影响酶的活性,导致提取率降低, pH 值为 5.0 时酶活性达到最大。故酶解体系 pH 值以 5.0 为宜。

2.2 正交试验设计及结果

表1 正交试验因素水平

Table 1 Factors and levels in orthogonal array design

水平	A 酶解温度/℃	B 纤维素酶用量/%	C 微波功率/W	D 酶解时间/min
1	50	1	400	30
2	60	1.5	500	40
3	70	2	600	50

表2 正交试验结果表

Table 2 Orthogonal array design matrix and experimental values of polysaccharides yield

试验号	A 酶解温度/℃	B 纤维素酶用量/%	C 微波功率/W	D 酶解时间/min	多糖提取率/%
1	1(50)	1(1)	1(400)	1(30)	7.65
2	1	2(1.5)	2(500)	2(40)	8.12
3	1	3(2)	3(600)	3(50)	7.23
4	2(60)	1	2	3	7.85
5	2	2	3	1	7.55
6	2	3	1	2	7.40
7	3(70)	1	3	2	7.14
8	3	2	1	3	7.55
9	3	3	2	1	7.35
K_1	23.00	22.64	22.60	22.55	
K_2	22.80	23.22	23.32	22.66	
K_3	22.04	21.98	21.92	22.63	
k_1	7.67	7.55	7.53	7.52	
k_2	7.60	7.74	7.77	7.55	
k_3	7.35	7.33	7.31	7.54	
R	0.32	0.41	0.46	0.03	

在单因素试验结果基础上,确定微波处理时间 2min,液料比 30:1,酶解体系 pH5.0 条件下,以玉米须多糖提取率作为评价指标,选取对提取率有较大影响的酶解温度、纤维素酶用量、微波功率、酶解时间 4 个因素进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,确定最佳提取工艺条件,因素及水平设计见表 1。结果及分析见表 2。

由表 2 正交试验结果可以看出,对玉米须多糖提取率的影响程度强弱顺序为 $C > B > A > D$,最佳工艺条件为 $A_1B_2C_2D_2$,即酶解温度 50℃、纤维素酶用量 1.5%、微波功率 500W、酶解时间 40min。

2.3 传统的热热水浸提法与微波协同酶提取法比较

表3 两种方法比较结果

Table 3 Comparisons between hot water extraction and microwave-assisted cellulase hydrolysis of corn silk in optimal conditions and polysaccharides yield

提取方法	时间/min	液料比(mL/g)	多糖提取率/%
热水浸提法	180	30:1	4.58
微波协同酶提取法	42	30:1	8.12

由表 3 可知,与传统的热热水浸提法相比,微波协同酶法可显著提高玉米须多糖的提取率。原因主要有以下两点:微波加热将导致细胞内部温度迅速上升,液态水分汽化产生的压力将使细胞膜和细胞壁急剧破裂,形成微小的孔洞,持续的迅速加热,会使细胞急剧收缩,表面出现裂纹。细胞膜和细胞壁上孔洞和裂纹的存在使细胞外溶剂容易进入细胞内,溶解并释放出胞内产物;玉米须的细胞壁主要由纤维素构成,所以纤维素可能是制约多糖最大限度溶出的主要物质。纤维素酶能特异性降解纤维素,破坏细胞壁,使细胞内多糖最大限度地溶出^[14-17]。

3 结 论

微波协同酶法提取玉米须多糖的最佳工艺条件:微波功率 500W,微波处理时间 2min、液料比 30:1、纤维素酶用量 1.5%、酶解温度 50℃、酶解时间 40min、酶解体系 pH 5.0,在此工艺条件下,多糖提取率为 8.12%。

参考文献:

- [1] 刘娟,张晶.超声波法提取玉米须多糖的工艺研究[J].佳木斯大学学报:自然科学版,2007,25(5):707-709.
- [2] 马虹.玉米须提取物具有抗癌作用[J].南京中医药大学学报,1998,14(1):28.
- [3] 周鸿立,张艳,金海甲,等.玉米须多糖药理作用及提取纯化研究进展[J].吉林化工学院学报,2009,26(1):23-26.
- [4] 魏静娜,林强.玉米须多糖提取方法的比较研究[J].中药材,2007,30(1):92-94.
- [5] 吴征镒.新华本草纲要[M].上海:上海科学技术出版社,1990:525.

- [6] 李伟, 陈颖莉, 杨铭, 等. 玉米须降血糖的实验研究[J]. 中草药, 1995, 26(6): 305-306.
- [7] 汤鲁宏, 丁霄霖, 尤丽芬, 等. 玉米须生物活性成分的初步研究: 玉米须多糖及其免疫增强作用[J]. 无锡轻工大学学报, 1995(4): 319-324.
- [8] 王英平, 李向高. 玉米须化学成分和药理作用研究进展[J]. 特产研究, 2004(2): 42-46.
- [9] 李波, 崔震昆, 赵永春. 玉米须多糖的制备方法及其化学组成的研究[J]. 农产品加工: 学刊, 2008(5): 34-36.
- [10] 应奇才, 华启洪, 蔡玲斐, 等. 玉米须多糖提取工艺条件的优化[J]. 中国生化药物杂志, 2006, 27(4): 233-234.
- [11] 郑鸿雁, 闵伟红, 昌友权, 等. 玉米须多糖调节免疫功能研究[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 291-293.
- [12] 张艳荣, 单玉玲, 刘婷婷, 等. 微波萃取技术在姬松茸多糖提取中的应用[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 267-270.
- [13] 董群, 郑丽伊, 方积年. 改良的苯酚-硫酸法测定多糖和寡糖含量的研究[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(9): 550-552.
- [14] 姜绍通, 邵平, 赵妍嫣. 小麦胚芽 VE 的微波萃取工艺和神经网络模型的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(2): 25-28.
- [15] 吴春, 张艳. 纤维素酶法提取葡萄籽中原花青素的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 258-261.
- [16] CHOUDHARI S M, ANANTHANARAYAN L. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues[J]. Food Chemistry, 2007, 102(1): 77-81.
- [17] 徐建国, 王向东, 胡青平, 等. 纤维素酶提取槐花芦丁的新工艺研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 315-318.