

正交试验优选紫花毕岱不溶性膳食纤维的提取工艺[△]

金晓敏*, 陈虹#, 王磊, 张万鑫, 马静怡, 丁慧, 刘斌, 赵文彬(石河子大学药学院/新疆特种植物药资源教育部重点实验室, 新疆石河子 832002)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)03-0235-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.14

摘要 目的: 优选紫花毕岱(BD)不溶性膳食纤维的提取工艺。方法: 采用化学水解法进行提取, 以酸浸时间、酸浸温度、碱浸时间、碱浸温度为考察因素, 以BD不溶性膳食纤维得率为评价指标, 采用单因素、正交试验优选BD不溶性膳食纤维的提取工艺。结果: 最佳提取工艺为碱浸温度80℃, 碱浸时间60 min, 酸浸温度50℃, 酸浸时间3 h。结论: 所选工艺合理、可行, 可用于BD不溶性膳食纤维的提取。

关键词 紫花毕岱; 膳食纤维; 化学水解法; 正交试验

Optimization of the Extraction Technology of Insoluble Dietary Fiber in violet flower Bidai

JIN Xiao-min, CHEN Hong, WANG Lei, ZHANG Wan-xin, MA Jing-yi, DING Hui, LIU Bin, ZHAO Wen-bin (Key Laboratory of Xinjiang Endemic Phytomedicine Resources, Ministry of Education, School of Pharmacy, Shihezi University, Xinjiang Shihezi 832002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of insoluble dietary fiber in violet flower Bidai (BD). METHODS: The insoluble dietary fiber was extracted from BD by the method of acid base hydrolyses. The extraction technology of insoluble dietary fiber in BD was optimized by single factor test and orthogonal test with acid leaching time, acid leaching temperature, alkaline leaching time and alkaline leaching temperature as factors using the yield of BD insoluble dietary fiber as index. RESULTS: The optimal extraction technology was as follows: alkaline leaching temperature of 80℃, alkaline leaching time of 60 min, acid leaching temperature of 50℃ and acid leaching time of 3 h. CONCLUSIONS: The technology is reasonable, feasible and practical for the extraction of insoluble dietary fiber in BD.

KEYWORDS violet flower Bidai; Dietary fiber; Acid base hydrolyses; Orthogonal test

我国是世界上紫花毕岱(BD)品种资源较为丰富的国家之一。BD是一种优质多年生豆科牧草,起源于小亚细亚、外高加索、伊朗和土库曼一带。我国栽培BD已有2 000多年的历史,其广泛分布于西北、华北和东北地区^[1]。研究表明,BD因产量高,富含蛋白质、矿物质和氨基酸,被誉为“牧草之王”^[2]。《本草纲目》中记载BD“安中利人,可久食,利五脏,清身健人”^[3]。近期研究发现,BD还可以促进消化道蠕动,防止大便秘结,排毒养颜,改善更年期综合征,对女性预防骨质疏松及改善心血管疾病有明显作用^[4-5]。近年来发现,BD中存在多种生物活性成分,如黄酮类、皂苷(常春藤苷元)类、低聚糖和膳食纤维等^[6-7],其他还包括多糖、挥发油、有机酸、香豆素等^[8]。

膳食纤维是指不能被人体小肠消化、吸收,而在大肠中能被部分或全部发酵的可食用的植物性来源的碳水化合物及其类似物的总和^[9]。其具有降血脂、降血糖、通便、减肥、防止结肠癌等多种功能,被誉为“第七营养素”^[10],是预防因膳食纤维

缺少或营养过剩造成的现代文明病的重要营养物质。笔者将化学法应用于BD不溶性膳食纤维的提取,以中华人民共和国国家标准中谷物不溶性膳食纤维测定法(GB/T 9822-88)为标准,对BD不溶性膳食纤维提取工艺进行系统研究^[3]。

1 材料

1.1 仪器

XJZF-1A植物粉碎机、真空干燥器、D-50真空抽滤器(上海岩征实验仪器有限公司);XP-50-1培养箱(南京德悦康机电有限公司);9030(A)烘箱、搅拌器(南京沃环科技实业有限公司)。

1.2 药材

BD采自于新疆石河子大学试验基地,由新疆特种植物药资源教育部重点实验室鉴定为真品。将BD漂洗、干燥、粉碎、过筛,备用。

1.3 试剂

乙二醇四乙酸二钠(批号:V900081)、四硼酸钠(批号:229946)、十二烷基硫酸钠(批号:75746)、乙二醇-乙醚(批号:164496)、磷酸氢二钠(批号:71648)、磷酸(批号:P5811)、 α -淀粉酶(批号:10080)、十氢萘(批号:294772)、无水亚硫酸钠(批号:S00505)、甲苯(批号:244511)、丙酮(批号:650051),均购于美国Sigma公司。

[△] 基金项目:新疆生产建设兵团医药专项(No.2012BA043);石河子大学高层次人才科研启动资金项目(No.RCGB201101);石河子大学科学技术研究发展计划“自然科学与技术创新”重点项目(No.ZRKK2009ZD05)

* 硕士研究生。研究方向:心脑血管药理。E-mail:125575463@qq.com

通信作者:教授,硕士研究生导师。研究方向:心脑血管药理、神经药理。E-mail:chenhong57@126.com

2 方法与结果

2.1 不溶性膳食纤维含量测定

2.1.1 中性洗涤溶液的制备 将18.41 g乙二胺四乙酸二钠和6.61 g四硼酸钠用150 ml水加热溶解,作为第1种溶液。另将30.0 g十二烷基硫酸钠和10 ml乙二醇-乙醚溶于700 ml热水中,加入到第1种溶液中。再将4.46 g磷酸氢二钠溶于150 ml热水中,加入到第1种溶液中。如果需要,用磷酸调pH6.7~7.1,使用时若有沉淀形成,可加热到60 ℃使沉淀溶解。

2.1.2 α -淀粉酶溶液的制备 用0.1 mol/L磷酸氢二钠溶液和0.1 mol/L磷酸二氢钠溶液各500 ml,混匀,制备成0.1 mol/L磷酸盐缓冲液。称取12.0 mg α -淀粉酶,用0.1 mol/L磷酸盐缓冲液溶解并定容至250 ml量瓶中。

2.1.3 不溶性膳食纤维的提取 BD经合适的粉碎机一次研磨后全部通过直径为1 mm的筛孔(细度约20~60目)。精确称取上述粉末0.5~1.0 g,放入300 ml锥形瓶中,依次加入100 ml中性洗涤溶液、2 ml十氢萘、0.5 g无水亚硫酸钠。在5~10 min内,将300 ml锥形瓶中的内容物加热至沸腾,从沸腾开始计时,微沸1 h。取洁净的玻璃过滤坩埚,在110 ℃烘箱内干燥4 h,放入干燥器中,冷却后称量,直至恒质量。将经过中性洗涤溶液处理的纤维残留物加入,抽滤,用不少于300 ml的100 ℃水清洗。加入5 ml α -淀粉酶溶液,抽滤,以置换清洗用水,用合适的胶塞塞住玻璃过滤坩埚的底部,加入20 ml酶液和几滴甲苯,放入(37±2) ℃的培养箱中,保温18 h。取下塞子,抽滤,用不少于500 ml的水清洗纤维残留物,再用约75 ml丙酮清洗。在100 ℃的烘箱中干燥4 h,然后放入干燥器中,冷却后称量,直至恒质量。

2.1.4 不溶性膳食纤维得率的计算 不溶性膳食纤维得率= $(m_2 - m_1) / m \times 100\%$ (式中, m_1 为玻璃滤器烘干质量, m_2 为玻璃滤器及残留物烘干质量, m 为BD质量)。

2.2 单因素试验优选提取工艺

2.2.1 碱浸温度对不溶性膳食纤维含量的影响 精密称取10.0 g BD药材粗粉(过60目筛)于锥形瓶中,加入5% NaOH溶液80 ml,碱浸时间为30 min,碱浸温度分别为90、80、70、60、50 ℃,漂洗至中性,加入1% HCl溶液80 ml,酸浸时间为2 h,酸浸温度为30 ℃,进行逐次提取、滤过、干燥,得膳食纤维,再按“2.1”项下方法测定不溶性膳食纤维含量。碱浸温度对不溶性膳食纤维含量的影响见表1。

表1 碱浸温度对不溶性膳食纤维含量的影响

Tab 1 Effects of alkaline leaching temperature on the content of insoluble dietary fiber

试验号	碱浸温度, ℃	碱浸时间, min	酸浸温度, ℃	酸浸时间, h	得率, %
1	90	30	30	2	68.075
2	80	30	30	2	71.253
3	70	30	30	2	70.642
4	60	30	30	2	67.347
5	50	30	30	2	64.189

由表1可知,随着碱浸温度的降低,BD不溶性膳食纤维含量(以得率表示)有逐渐降低的趋势,减小的相对量为9.91%;当碱浸温度为80 ℃时,不溶性膳食纤维含量较高,表明提取效果较好。

2.2.2 碱浸时间对不溶性膳食纤维含量的影响 精密称取10.0 g BD药材粗粉(过60目筛)于锥形瓶中,加入5% NaOH溶液80 ml,碱浸温度为80 ℃,碱浸时间分别为30、40、50、60、

70 min,随后漂洗至中性,加入1% HCl溶液80 ml,酸浸时间为2 h,酸浸温度为30 ℃,进行逐次提取、滤过、干燥,得膳食纤维,再按“2.1”项下方法测定不溶性膳食纤维含量。碱浸时间对不溶性膳食纤维含量的影响见表2。

表2 碱浸时间对不溶性膳食纤维含量的影响

Tab 2 Effects of alkaline leaching time on the content of insoluble dietary fiber

试验号	碱浸温度, ℃	碱浸时间, min	酸浸温度, ℃	酸浸时间, h	得率, %
1	80	30	30	2	71.253
2	80	40	30	2	73.082
3	80	50	30	2	74.215
4	80	60	30	2	69.571
5	80	70	30	2	66.463

由表2可知,随着碱浸时间的延长,BD不溶性膳食纤维含量有先升后降的趋势,变化的相对量为10.45%;当碱浸时间为50 min时,不溶性膳食纤维含量较高,表明提取效果较好。

2.2.3 酸浸温度对不溶性膳食纤维含量的影响 精密称取10.0 g BD药材粗粉(过60目筛)于锥形瓶中,加入5% NaOH溶液80 ml,碱浸温度为80 ℃,碱浸时间为50 min,随后漂洗至中性,加入2% HCl溶液80 ml,酸浸时间为2 h,酸浸温度分别为30、40、50、60、70 ℃,进行逐次提取、滤过、干燥,得膳食纤维,再按“2.1”项下方法测定不溶性膳食纤维含量。酸浸温度对不溶性膳食纤维含量的影响见表3。

表3 酸浸温度对不溶性膳食纤维含量的影响

Tab 3 Effects of acid leaching temperature on the content of insoluble dietary fiber

试验号	碱浸温度, ℃	碱浸时间, min	酸浸温度, ℃	酸浸时间, h	得率, %
1	80	50	30	2	74.215
2	80	50	40	2	72.352
3	80	50	50	2	71.073
4	80	50	60	2	67.358
5	80	50	70	2	64.617

由表3可知,随着酸浸温度的升高,BD不溶性膳食纤维含量逐渐降低,减小的相对量为12.93%;当酸浸温度为30 ℃时,不溶性膳食纤维含量较高,表明提取效果较好。

2.2.4 酸浸时间对不溶性膳食纤维含量的影响 精密称取10.0 g BD药材粗粉(过60目筛)于锥形瓶中,加入5% NaOH溶液80 ml,碱浸温度为80 ℃,碱浸时间为50 min,随后漂洗至中性,加入1% HCl溶液80 ml,酸浸温度为40 ℃,酸浸时间分别为1、2、3、4、5 h,进行逐次提取、滤过、干燥,得膳食纤维,再按“2.1”项下方法测定不溶性膳食纤维含量。酸浸时间对不溶性膳食纤维含量的影响见表4。

表4 酸浸时间对不溶性膳食纤维含量的影响

Tab 4 Effects of acid leaching time on the content of insoluble dietary fiber

试验号	碱浸温度, ℃	碱浸时间, min	酸浸温度, ℃	酸浸时间, h	得率, %
1	80	50	40	1	67.391
2	80	50	40	2	72.352
3	80	50	40	3	73.862
4	80	50	40	4	74.135
5	80	50	40	5	71.246

由表4可知,随着酸浸时间的延长,BD不溶性膳食纤维含量呈上升趋势,变化的相对量为9.10%;当酸浸时间为4 h时,不溶性膳食纤维含量较高,表明提取效果较好。

2.3 正交试验优选提取工艺

根据单因素试验结果,选取碱浸温度(A)、碱浸时间(B)、酸浸温度(C)、酸浸时间(D)为考察因素,每个因素选取3个水平,以BD中不溶性膳食纤维得率为指标,选用 $L_9(4^3)$ 正交表进行试验。因素与水平见表5;正交试验结果见表6;方差分析结果见表7。

表5 因素与水平

Tab 5 Factors and levels

水平	因素			
	A,℃	B,min	C,℃	D,h
1	70	40	30	3
2	80	50	40	4
3	90	60	50	5

表6 正交试验结果

Tab 6 Results of orthogonal test

试验号	因素				得率,%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	67.135
2	1	2	2	2	64.318
3	1	3	3	3	65.083
4	2	1	2	3	72.317
5	2	2	3	1	75.481
6	2	3	1	2	73.612
7	3	1	3	2	70.370
8	3	2	1	3	69.415
9	3	3	2	1	72.362
K_1	65.512	69.941	70.054	71.659	
K_2	73.803	69.738	69.666	69.433	
K_3	70.716	70.325	70.311	68.938	
R	8.291	0.614	0.645	2.721	

表7 方差分析结果

Tab 7 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	均方	F	P
A	105.358	2	52.679	3.536	<0.10
B	0.588	2	0.294	0.020	
C	0.634	2	0.317	0.021	
D	12.604	2	6.302	0.423	
误差	119.18	8			

注: $F_{0.1}(2,8)=3.11$

note: $F_{0.1}(2,8)=3.11$

由表6、表7可知,各因素对提取工艺影响的主次顺序为A>D>C>B,即碱浸温度>酸浸时间>酸浸温度>碱浸时间。其中,碱浸温度对BD不溶性膳食纤维含量的影响有统计学意义($P<0.10$)。BD不溶性膳食纤维的最佳提取工艺为 $A_2B_3C_3D_1$,即碱浸温度为80℃,碱浸时间为60min,酸浸温度为50℃,酸浸时间为3h。

2.4 工艺验证试验

称取BD药材适量,共3份,按上述优选的工艺进行提取,并测定BD中不溶性膳食纤维的得率。结果,不溶性膳食纤维的得率分别为76.214%、76.359%、75.893%,均高于正交试验

结果,表明所选工艺合理、可行,可用于BD中不溶性膳食纤维的提取。

2.5 BD不溶性膳食纤维理化性状分析

经最佳工艺提取的BD不溶性膳食纤维,再行超微粉碎,使其活化。测定经活化的BD不溶性膳食纤维的膨胀力与持水力。

2.5.1 膨胀力的测定 在50ml量筒中放入1g活化的BD不溶性膳食纤维,加入50ml水,放置24h,读取溶胀前后样品体积数。按下式计算膨胀力:膨胀力=(膨胀后体积数-膨胀前体积数)/样品质量。结果表明,BD不溶性膳食纤维的膨胀力为 (5.46 ± 0.16) ml/g。

2.5.2 持水力的测定 称取1g活化的BD不溶性膳食纤维,悬浮于50ml去离子水中,在25℃下搅拌24h,悬浮液离心30min(转速:3500r/min,离心半径:5cm),将上清液倒出,甩干。按下式计算持水力:持水力=(离心后不溶性膳食纤维质量-离心前不溶性膳食纤维质量)/离心前不溶性膳食纤维质量。结果表明,BD不溶性膳食纤维的持水力为 (6.50 ± 0.19) ml/g。

3 讨论

本试验建立的测定新疆产BD中膳食纤维的方法具有一定的先进性,且操作简单、分析时间短,并具有良好的重复性和较高的回收率,可基本满足后续试验研究的需要。

参考文献

- [1] 杨玲玲,王成章.苜蓿产品在食品及饲料工业中的应用[J].草业科学,2008,25(3):85.
- [2] 王彦华,王成章,史莹华,等.苜蓿多糖的研究进展[J].草业科学,2007,24(4):50.
- [3] 王鑫,马永祥,李娟.紫花苜蓿营养成分及主要生物学特性[J].草业科学,2003,20(10):39.
- [4] 金贞姬.苜蓿皂苷的分离鉴定及总苷的生物活性研究[J].白求恩医科大学学报,1992,11(6):50.
- [5] 谭周进,谢达平.多糖的研究进展[J].食品科技,2003(3):10.
- [6] 李时珍.本草纲目:校点本:第3册[M].北京:人民卫生出版社,1978:1652.
- [7] 商常发,李庆林,何领.壳聚糖絮凝法在澄清中药水提液中的应用[J].中国中医药科技,2006,13(5):651.
- [8] 徐玮,张黎明,杜连祥.胡芦巴甙体总皂苷水提取液的澄清工艺研究[J].天津科技大学学报,2005,20(1):13.
- [9] 张宁生.高活性苜蓿膳食纤维的制备方法:中国,200410079035.5[P].2005-03-02.
- [10] 王彦玲,刘冬,付全意,等.膳食纤维的国内外研究进展[J].中国酿造,2008(5):1.

(收稿日期:2013-03-01 修回日期:2013-04-16)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅