

苯酚 - 硫酸法测定野木瓜中多糖含量的研究

王文平¹, 郭祀远¹, 李琳¹, 王明力², 梁桂娟²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640

2. 贵州省发酵工程与生物制药重点实验室, 贵州 贵阳 550003)

摘要: 采用苯酚 - 硫酸法对野木瓜中的多糖含量进行测定, 在波长 490nm 处测定吸光度, 实验表明标准葡萄糖在 8~64 μg 之间呈良好的线性关系, 该法简便易行, 准确性高, 重现性好。本文探讨了测定过程的影响因素, 并通过此法测得野木瓜中多糖含量为 12.02%。

关键词: 野木瓜; 多糖; 苯酚 - 硫酸法; 含量

Assay Study on Content of Polysaccharides in *Stanuntonia Chinensis* by Phenol-sulfuric Acid Method

WANG Wen-ping¹, GUO Si-yuan¹, LI Lin¹, WANG Ming-li², LIANG Gui-juan²

(1. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China

2. Guizhou Province Key Laboratory of Fermentation Engineering and Biopharmacy, Guiyang 550003, China)

Abstract: The content of polysaccharides in *Stanuntonia Chinensis* was determined by the method of phenol-sulfuric acid, to assay the absorbance at 490 nm. The results showed that there is a good linearity relationship between the absorbance and the content of standard glucose in the range of 8~64 μg. The method is simple, convenient and accurate, and has good reproducibility. The affecting factors in the assaying process were discussed in this paper respectively. By this method, the content of polysaccharides in *Stanuntonia Chinensis* is found to be 12.02%.

Key words *Stanuntonia Chinensis*; polysaccharides; phenol-sulfuric acid method; content

中图分类号: Q503

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0276-04

野木瓜 (*Stanuntonia Chinensis*) 是贵州省遵义正安县独有的野生天然特产资源, 属蔷薇科贴梗海棠灌木丛植物。正安县野木瓜品质独具特色, 具有果大、皮薄、

肉厚、肉质细嫩、味甘酸、气香等特点。木瓜在中医药学中用途广泛, 《中医大辞典》、《本草纲目》、《本草拾遗》等著名医著都记载了木瓜具有舒筋活络,

收稿日期: 2006-05-18

基金项目: 贵州省科技基金项目(黔科合J字[2005]2017号)

作者简介: 王文平(1966-), 女, 博士研究生, 研究方向为天然产物化学。

通过对低温浸泡时间、蒸馏速度、冷凝温度及磷酸浓度等具体实验参数的优化和控制, 明显提高了乙酰丙酮分光光度法的灵敏度和准确度, 测定低限可达 0.1 mg/kg, 回收率达 90%~111%。改进后的乙酰丙酮分光光度法能够准确定量测定菌菇类及水产品中的游离态和结合态甲醛含量, 具有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] 卫生部(卫法监发)[2001]159号. 食品中甲醛次硫酸氢钠的测定方法[S].
- [2] 张蕊, 赵成军, 周志刚, 等. 2004食品卫生检验新技术标准规程手册: 第一卷[M]. 北京: 光明日报出版社, 2004: 345-347.

- [3] 日本药学会. 卫生试验法注解[M]. 张洪祥, 译. 北京: 华文出版社, 1995: 384-395.
- [4] 范荻, 潘振球, 曹华娟, 等. 食品中甲醛测定前处理的干扰问题探讨[J]. 实用预防医学, 2002, 9(4): 412-413.
- [5] 李长海. 食品中甲醛次硫酸氢钠(吊白块)测定结果的分析[J]. 仪器分析, 2004(3): 49-52.
- [6] 段鸿莺, 王建林, 向国强, 等. 荧光光度法快速测定水溶液中甲醛的研究. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2001, 35(2): 185-188.
- [7] 唐小玲. 高效液相色谱测定车间空气中的甲醛[J]. 生态科学, 1991(2): 99-102.
- [8] 沈戮. 气相色谱法测定猪血制品中甲醛[J]. 食品科学, 1999, 20(8): 54-55.
- [9] 向仕学, 汤晓勤, 陈澍. 污染食品中甲醛的极谱分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2002, 14(1): 19-21.

解渴生津、平肝和胃、祛风除湿等功效,能治疗腰膝疼痛,脚气水肿,痢疾霍乱,心痛腹痛等疾病,另外,还有镇咳、清暑利尿、解酒祛痰等作用。现代研究表明,野木瓜含有丰富的有机酸、果胶、蛋白质、多种氨基酸、多种维生素和多种矿物质^[1]。

野木瓜用途广泛,集观赏、食用、药用于一体,生态、经济、社会三个效益兼得,特别是经济效益显著,是不可多得的名贵经济树种。鉴于其独特的临床效果、重要的经济价值及广泛的应用前景,野木瓜已成为极具开发潜力的天然产物资源之一,受到人们的广泛关注^[2]。但目前木瓜产品在食品开发方面也仅开发出木瓜酒、木瓜脯、木瓜饮料等一般食品。为进一步开发野木瓜的利用价值,本文对野木瓜多糖进行了测定,旨在为野木瓜多糖的分离纯化、药理作用的深入研究打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料

野木瓜由贵州遵义天楼木瓜有限公司提供。

苯酚、浓硫酸、石油醚、葡萄糖、无水乙醇等均为国产分析纯试剂。

1.2 仪器设备

HH·SH-Z 型电热恒温水浴锅 北京长安科学仪器厂; ZK-828 型电热真空干燥箱 上海跃进医疗器械厂; DWF-180 型电动植物粉碎机 河北省黄骅市科研器材厂; SL2000 电子天平 澳豪斯公司; UV2550 紫外可见分光光度计 岛津公司; N-1000V-WB 旋转蒸发仪 日本东京理化器械株式会社。

1.2 方法

1.2.1 野木瓜多糖的提取与精制工艺

样品处理→脱脂→浸提→抽滤除渣→减压浓缩→乙醇沉淀多糖→真空干燥→粗多糖→复溶→脱蛋白→离心分离→乙醇沉淀多糖→真空干燥→精制多糖

1.2.2 工艺要点说明

1.2.2.1 样品处理

将鲜野木瓜去籽切片烘干,在粉碎机中粉碎,过40目筛,将样品粉末置于棕色磨口瓶中备用。

1.2.2.2 脱脂

称取25.00g样品粉末,置于500ml圆底烧瓶中,加入250ml石油醚,回流2h,脱去表面脂肪,抽滤,风干,重复一次。

1.2.2.3 浸提

脱脂后的样品,以1:30的料液比加入蒸馏水,在90℃水浴中浸提2h,过滤后,滤渣在相同条件下重复浸提一次。

1.2.2.4 抽滤除渣

将两次浸提液减压过滤,去除滤渣,合并两次滤液。

1.2.2.5 减压浓缩

将合并滤液在真空旋转蒸发器中浓缩至小体积。在浓缩后的多糖溶液中加入3倍95%乙醇,经抽滤,真空干燥后得粗多糖。

1.2.2.6 脱蛋白

粗多糖复溶后经过Sevag试剂(氯仿:正丁醇=5:1)除蛋白,连续操作多次,直到完全脱除蛋白为止。

1.2.2.7 醇沉

在脱蛋白后的多糖溶液中加入3倍95%乙醇,沉淀用乙醇、丙酮及乙醚反复洗涤,经抽滤、真空干燥后得到精制多糖。

1.2.3 标准曲线的绘制

1.2.3.1 葡萄糖标准溶液的配制

取葡萄糖于105℃干燥至恒重,精确称取20mg,加蒸馏水溶解,定容至500ml,即可得到浓度为0.04mg/ml的葡萄糖标准溶液。

1.2.3.2 苯酚溶液的配制^[3]

称取苯酚100g,加铝片0.1g,加碳酸氢钠0.05g,油浴中常压蒸馏,收集182℃的馏分,取馏出液10g,加蒸馏水150ml,置于棕色瓶中备用。

1.2.3.3 标准曲线的制备

分别吸取0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6ml的0.04mg/ml的葡萄糖标准液,置于10ml试管中,各加水补足至2ml,加入6%苯酚1ml,摇匀,迅速滴加浓硫酸5ml,放置5min,置沸水浴中加热20min,迅速冷却至室温,于490nm处测吸光度。

1.2.4 样品中多糖含量测定^[4]

精确称取野木瓜粉末0.2g,用80%乙醇浸泡过夜,索氏抽提器中用80%乙醇回流3h,以去除单糖、低聚糖、苷类及生物碱等成分。残渣挥干乙醇后用蒸馏水抽提2h,反复洗至250ml容量瓶中,定容成样品液。吸取样品液0.5ml,按上述标准曲线操作步骤,测吸光度,按标准曲线和下式计算样品中多糖的百分含量,多糖含量(%)=C×D×F/W。式中,C为样品液中葡萄糖的浓度;D为样品液的稀释因素;F为换算因子;W为样品的重量。

2 结果与分析

2.1 标准曲线回归方程建立

用紫外分光光度计,在490nm的波长处测定吸光度,以试剂空白参比,实验结果见表1。

所得其线性回归方程式 $Y=0.05629X+0.00145$,

表1 葡萄糖标准溶液浓度与吸光度值
Table 1 Concentration of standard glucose and its absorbance

标准液体积(ml)	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6
标准液浓度(μg/ml)	0.0	8.0	16.0	24.0	32.0	40.0	48.0	56.0	64.0
吸光度	0.000	0.054	0.123	0.169	0.219	0.287	0.348	0.389	0.451

$r^2=0.99851$, 相关系数 $r=0.9993$, 表明葡萄糖在 $8.0\sim 64.0\mu\text{g/ml}$ 范围内很好地符合郎白-比尔定律。以吸光度为纵坐标, 葡萄糖浓度为横坐标, 绘制标准曲线见图1。

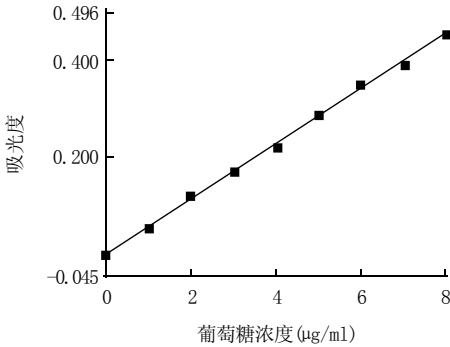


图1 葡萄糖标准曲线
Fig.1 Standard curve of glucose

2.2 换算因子的测定^[5-6]

精确称取干燥至恒重的精制野木瓜多糖 4mg , 置于 50ml 容量瓶中, 加水溶解至刻度。吸取上述溶液 1.0ml , 按1.2.3中的方法测定吸光度, 求出此精制多糖中葡萄糖的浓度, 按下式计算出换算因子 F , $F=W/(C\times D)$ 。式中, W 为多糖重量(mg); C 为精制多糖中葡萄糖的浓度($\mu\text{g/ml}$) D 为多糖的稀释因素。实验测得吸光度值为 0.356 , 由回归方程得多糖含量为 $6.297\mu\text{g/ml}$, 经计算 $F=1.59$ 。

2.3 样品中多糖含量测定结果

按上述多糖含量测定方法, 同时做三个重复, 经测定吸光度值分别为 0.215 、 0.216 、 0.212 , 计算得野木瓜多糖平均含量为 12.02% 。

2.4 稳定性实验

取试样 1.0ml , 连续 $2\sim 3\text{h}$, 每隔一定时间测一次吸光度, 观测其稳定性, 结果表明在显色 90min 时间内吸光度稳定性较好, 结果见表2。

表2 稳定性实验结果
Table 2 Results of stability assay

时间(min)	0.5	30	60	90	120
吸光度	0.267	0.268	0.269	0.269	0.268

2.5 精密度实验

按样品测定方法, 吸取标准溶液(0.04mg/ml)进行精密度实验, 连续进行6次测定其吸光度, 得 $\text{RSD}=1.12\%$, 小于 5% , 表明精密度好, 结果见表3。

表3 精密度实验结果
Table 3 Results of precision assay

样品号	1	2	3	4	5	6	RSD(%)
吸光度	0.418	0.427	0.428	0.426	0.420	0.432	1.12

2.6 重现性实验

精确吸取来自同一批原料的试样, 按样品测定方法, 分别测定其吸光度, 检验该测定方法的重现性, 得 $\text{RSD}\%=1.81$, 小于 5% , 表明重复性较好, 结果见表4。

表4 重现性实验结果
Table 4 Results of reproducibility assay

样品号	1	2	3	4	5	平均	RSD(%)
吸光度	0.239	0.244	0.236	0.235	0.246	0.240	1.81

2.7 回收率实验

精密吸取已配制的 $40\mu\text{g/ml}$ 粗多糖溶液 1.0ml , 分别加入 0.1 、 0.2 、 0.3 、 0.4 、 0.5ml 的 0.04mg/ml 标准葡萄糖溶液, 按样品测定方法, 分别测定其吸光度, 计算回收率, 结果见表5, 样品回收率均在 $95\%\sim 105\%$ 之间, 表明本法可行^[7-8]。

表5 回收率实验结果
Table 5 Results of recovery assay

样品含糖量(μg)	加入葡萄糖量(μg)	测得总量(μg)	回收率(%)	平均(%)	RSD(%)
4.114	0.5	4.660	99.01		
4.114	1.0	5.047	101.33		
4.114	1.5	5.658	99.22	99.11	1.26
4.114	2.0	6.265	97.59		
4.114	2.5	6.723	98.38		

3 结论

本实验通过水提醇沉, 提取野木瓜多糖, 用苯酚-硫酸法测定其含量, 通过实验可知, 该法准确率较高, 重复性较好, 结果可靠, 并且此法简便灵敏, 适宜于野木瓜多糖的含量测定。

参考文献:

- [1] 李显国. 立足资源创特色产业[J]. 黔中巡礼, 2000, 16(1): 18-19.
- [2] 吴虹, 魏伟, 吴成义. 木瓜化学成分及药理活性的研究[J]. 安徽中医学院学报, 2004, 23(2): 62-64.
- [3] 余晓雷, 张可, 郑旭霞. 芦荟中多糖含量测定方法的探讨[J]. 营养学报, 2003, 25(2): 149-152.

DSC 法研究小麦淀粉与面粉糊化和回生特性

朱 帆, 徐广文*, 丁文平
(武汉工业学院, 湖北 武汉 430023)

摘 要: 利用差示扫描量热仪结合 Avrami 方程考察了 8 种不同小麦淀粉与面粉糊化和回生特性, 探讨了直链淀粉和蛋白含量对其热力学行为产生的影响, 并用 SPSS 软件计算其相关性。结果表明: 对于淀粉与面粉体系, 直链淀粉含量与糊化热焓值 ΔH 呈较显著的负相关, 与 Avrami 指数 n 呈弱的负相关, 而与速率常数 k 呈较显著的正相关, 与最大回生度 DR 呈一定的正相关; 对于面粉体系, 蛋白含量与面粉糊化热焓值 ΔH_f 呈一定的负相关, 与面粉体系 Avrami 指数 n_f 和速率常数 k_f 分别呈弱的正相关和较显著的负相关, 与面粉体系最大回生度 DR_f 呈弱的正相关。

关键词: 糊化; 回生; DSC; Avrami; 相关性

Study on Gelatinisation and Retrogradation Properties of Wheat Starch and Flour by DSC

ZHU Fan, XU Guang-wen*, DING Wen-ping
(Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract: Gelatinisation and retrogradation of starch and flour properties from 8 wheat species were studied by DSC to fit Avrami equation. The relationship between thermal kinetics and the contents of amylose and protein was evaluated by SPSS. For both of starch and flour, amylose content is negatively correlated with gelatinisation enthalpy (ΔH), weakly correlated with Avrami exponent (n), highly positively correlated with rate constant (k) and highly negatively correlated with degree of retrogradation (DR). For flour system, the protein content is negatively correlated with ΔH_f , highly negatively correlated with k_f and positively correlated with both n_f and DR_f .

Key words: gelatinisation; retrogradation; DSC; Avrami; correlationship

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0279-04

小麦淀粉作为球状半晶体的多糖, 受热糊化时, 颗粒吸水膨胀, 半晶体瓦解, 直链淀粉往颗粒外渗透, 相对于熔融的支链淀粉形成基质, 阻止其晶体融化^[1]。糊化后的淀粉胶体在冷却后通过氢键作用开始回生, 在 4℃左右时, 小麦淀粉回生速率达到最大^[2]。24h 内主要为系统内直链淀粉的有序化, 之后主要是支链淀粉侧链的结晶。淀粉的理化性质包括外观直链淀粉含量, 脂-

直链结合物含量和支链淀粉的精细结构等对其糊化和回生特性有着重要的影响^[1-3]。

在淀粉体系中按比例加入面筋蛋白, 可溶性小麦蛋白, 戊聚糖和矿物质等成分就组成了面粉。其糊化和回生特性除了受淀粉影响外, 还受到加入成分的影响。但是对于面筋蛋白对其回生特性的影响有着不同的研究结果, Eliasson 认为其能减小淀粉体系的回生度, 而

收稿日期: 2006-05-18

*通讯作者

基金项目: 中荷国际合作项目(2005CA022)

作者简介: 朱帆(1982-), 男, 硕士研究生, 研究方向为谷物化学。

[4] 聂国朝. 中药木瓜多糖的提取分离及含量测定[J]. 微量元素与健康研究, 2003, 20(5): 30-38.

[5] 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]. 中国药理学杂志, 1996, 31(9): 550-552.

[6] 高丽君, 王汉忠, 崔建华, 等. 苯酚-硫酸法测定白首乌中多糖含量

[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2004, 35(2): 295-297.

[7] 秦岩, 董薇, 葛欣. 木瓜中多糖和微量元素含量分析[J]. 光谱实验室, 2005, 22(2): 287-289.

[8] 蔡云清, 杨婕, 易凌, 等. 树花多糖的提取及含量测定[J]. 食品研究与开发, 2002, 23(6): 88-90.