

油橄榄叶多糖含量测定方法的研究

杨豆豆, 田茂琳, 苏满春, 万瑞斌, 王都留, 陈海明

(陇南师范高等专科学校, 甘肃 成县 742500)

摘要: 采用苯酚-硫酸法测定油橄榄叶多糖含量, 优化得出最佳测定条件为苯酚 0.8 mL, 硫酸 4 mL, 反应温度 20 ℃, 反应时间 10 min。加样回收率为 99.95%, 测得油橄榄叶多糖含量为 (12.064 ± 0.265) mg/g。

关键词: 苯酚-硫酸法; 多糖; 油橄榄叶; 测定

中图分类号: TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)11-0048-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.11.016

Study on Determination of Olive Leaf Polysaccharide Using Phenol Sulfuric Acid Method

YANG Doudou, TIAN Maolin, SU Manchun, WAN Ruibin, WANG Duli, CHEN Haiming

(Longnan Normal College, Chengxian Gansu 742500, China)

Abstract: This paper established a phenol - sulfuric acid method for determining the method of olive leaf polysaccharide content, the result shows that the optimized result shows that: A2B1C1D1, namely the best conditions is phenol 0.8 mL, 4 mL of sulfuric acid, reaction temperature 20 ℃, the reaction time is 10 min. The recovery rate is 99.95%. The polysaccharide content is 12.064 ± 0.265 mg/g.

Key words: Phenol sulfuric acid method; Polysaccharide; Olive leaf; Determination

油橄榄(*Olea europaea* L.)是一种原产于地中海沿岸的木犀科(Europaea)木犀榄属(*Olea*)常绿乔木, 与油棕、油茶和椰子并称为世界四大木本油

料作物。油橄榄主要分布在欧洲地中海沿岸国家和美国加州地区, 自 1956 年起开始在我国引种^[1]。其果可以榨油, 也可以加工成各种食品^[2]。

收稿日期: 2017-06-29

作者简介: 杨豆豆(1990—), 女, 甘肃礼县人, 硕士, 研究方向为食品加工。E-mail: 1017243084@qq.com。

长期培肥逐步改良。从表 3 可以看出, 瘠薄培肥型类中低产田在两当县内分布广泛, 二到四级耕地均有对应, 总面积达 11 041.03 hm², 占两当县耕地总面积的 56.67%。主要土种为黄鄯土、黄土性石灰质褐土、砂土性石灰质褐土、料姜石土、黄红砂土等。

4 结论

根据耕地地力评价成果和当地自然资源特点, 结合影响中产田和低产田作物生长和产量构成的因子, 对照全国中低产耕地类型划分, 将两当县中低产田依次划分为坡地梯改型、瘠薄培肥型 2 种中低产田类型, 全县中低产田占耕地总面积的 84.94%, 其中, 中产田、低产田面积分别为 4 968.46 hm²、9 303.54 hm², 分别占全县耕地面积的 29.57%、55.37%。全县中低产田中, 坡地梯改型面积为 5 507.21 hm²; 瘠薄培肥型面积为 11 041.03 hm², 以瘠薄培肥型中低产田面积最大。根据中低产田

及障碍类型状况, 在今后的耕地质量提升和土壤改良中应着重加强土壤有机质和耕层结构的改善, 农业生产中应注重有机肥施用和秸秆还田技术的应用, 着力提升耕地质量。

参考文献:

- [1] 两当县农业技术推广服务中心. 两当县耕地资源管理信息系统建立与耕地地力评价[M]. 兰州: 甘肃省科技出版社, 2012.
- [2] 中华人民共和国农业部. NY/T310-1996 全国中低产田类型划分与改良技术规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [3] 杨义荣, 周彦芳, 董博, 等. 基于耕地地力评价成果的条山农场中低产田划分研究[J]. 甘肃农业科技, 2016(5): 3-6.
- [4] 江晶, 董博, 张仁陟. 舟曲县耕地地力评价研究[J]. 中国农学通报, 2014, 30(36): 188-192.
- [5] 崔艳琳. 基于主成分分析法的两当县土地生态安全评价研究[J]. 甘肃科技, 2016, 32(15): 28-33.

(本文责编: 郑立龙)

油橄榄叶中也含有丰富的营养成分及活性物质, 现代药理学研究表明, 油橄榄叶提取物具有抗氧化、抗真菌、降血压、降血脂等活性^[1,3]。油橄榄多糖具有抗氧化性和抑菌性等多种活性^[4], 属于植物多糖, 国内外已有相关的专家对其做了研究, 但主要研究其生理活性及提取方法, 对其含量的测定报道较少。我们利用苯酚-硫酸法测定了油橄榄多糖含量, 优化了各个测定条件及方法, 建立了油橄榄多糖含量的测定方法, 可为以后相关研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料与试剂

供试油橄榄叶采自陇南师范高等专科学校智能温室大棚(春季生长的新叶)。苯酚分析纯由上海埃彼化学试剂有限公司提供; 浓硫酸(分析纯, 98%), 由天津红岩试剂厂提供; 无水乙醇(分析纯, 98%), 由天津红岩试剂厂提供; 葡萄糖标准品(纯度>99%), 由西安汇林生物科技有限公司提供。

1.2 主要仪器与设备

包括量筒、温度计、电子分析天平(德国赛多利斯)、电热恒温干燥箱(由陕西欣鹏教育科技有限公司提供)、紫外分光光度计(Thermo Scientific GENESYS 10S)、不锈钢粉碎机、120 目筛子、50 mL 玻璃刻度试管、数控恒温水浴锅(由陕西欣鹏教育科技有限公司提供)、涡旋混合器、贝克曼高速离心机。

2 方法

2.1 实验设计

实验采用 $L_9 3^4$ 正交设计, 吸取 1.0 mL 葡萄糖标准溶液。各因素与水平见表 1, 处理组合见表 2。

2.2 实验方法

2.2.1 油橄榄叶前处理 鲜叶采摘后用自来水冲洗干净表面的泥土后, 放入烘箱中 60 °C 烘干至恒重, 用不锈钢粉碎机粉碎, 过 120 目筛, 存于 -18 °C 冰箱待用。

表 1 苯酚硫酸法测定油橄榄叶多糖测定条件正交水平因素

水平	因素			
	苯酚(A) /mL	硫酸(B) /mL	反应温度(C) /°C	反应时间(D) /min
1	0.4	4	20	10
2	0.8	5	30	20
3	1.0	6	40	30

表 2 苯酚硫酸法测定油橄榄叶多糖测定条件正交组合设计

试验编号	A /mL	B /mL	C /°C	D /min
1	0.4	4	20	10
2	0.4	5	30	20
3	0.4	6	40	30
4	0.8	4	30	30
5	0.8	5	40	10
6	0.8	6	20	20
7	1.0	4	40	20
8	1.0	5	20	30
9	1.0	6	30	10

2.2.2 油橄榄叶多糖提取 参照中华人民共和国出入境检验检疫行业标准 SN/T 4260-2015《出口植物源食品中粗多糖的测定 苯酚-硫酸法》^[5]。称取样品 0.200 0 g 于 50 mL 具赛离心管中, 用 5 mL 蒸馏水浸湿样品, 缓慢加入 20 mL 无水乙醇, 同时用涡旋混合器震荡, 置 120W 超声波提取器中提取 30 min。提取结束后, 在 4 000 r/min 的条件下离心 10 min, 弃去上清液。不溶物用 10 mL 80% 乙醇溶液洗涤、离心。将不溶物转移到圆底烧瓶中, 加入 50 mL 蒸馏水, 于 120W 超声波提取器中提取 30 min, 重复 2 次, 冷却至室温, 过滤, 将上清液转移至 200 mL 容量瓶中, 残渣洗涤 2~3 次, 定容。此样品液为测定液。

2.2.3 标准曲线的绘制 将烘干至恒重的葡萄糖标准样品准确称取 0.100 0 g 配制成 100 mg/L 的母液。分别用吸量管准确吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 的母液于 20 mL 具塞玻璃试管中, 用蒸馏水补足至 1 mL, 再分别按照实验优化所得的苯酚、硫酸加入量、反应时间、反应温度进行实验。反应结束后于 490 nm 处用紫外分光光度计测定吸光值。所得数据利用 Excel 做标准曲线。

2.4 样品测定

吸取样品液 1.0 mL 于 20 mL 具塞试管中, 然后按 2.2.3 操作方法让其发生显色反应, 并在 490 nm 处测定吸光值。

2.5 实验设计与数据处理工具

样品中的含糖量 = $(m_1 \times v_1) \times 0.9 \times 10^{-4} / (m_2 \times v_2)$

式中, m_1 是从标准曲线上查得的含糖量, 单位为 ug; v_1 是样品定容体积, 单位为 mL; v_2 是比色测定时所取的样液的体积, 单位为 mL; m_2 是样

品称取质量,单位为g;0.9是葡萄糖换算成葡聚糖的换算系数。

实验设计软件为正交设计助手3.1(共享版)。

3 结果与分析

3.1 测定条件的优化

根据表3所列的条件测定所得吸光值可知,苯酚硫酸法测定油橄榄叶多糖的最佳条件组合为:A₂B₁C₁D₁,即苯酚0.8 mL,硫酸4 mL,反应温度20 ℃,反应时间10 min。测得的葡萄糖标准曲线如图1所示。对本测定条件进行了加样回收率测定,如表4所示。实验测得的加样回收率为99.95%。

表3 苯酚硫酸法测定油橄榄叶多糖测定条件探索

试验号	因素水平				吸光值
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	1.011
2	1	2	2	2	0.678
3	1	3	3	3	0.642
4	2	1	2	3	0.910
5	2	2	3	1	0.959
6	2	3	1	2	0.778
7	3	1	3	2	0.772
8	3	2	1	3	1.009
9	3	3	2	1	0.821
\bar{x}_1	0.777	0.898	0.933	0.930	
\bar{x}_2	0.882	0.882	0.803	0.743	
\bar{x}_3	0.867	0.747	0.791	0.854	
R	0.105	0.151	0.142	0.187	

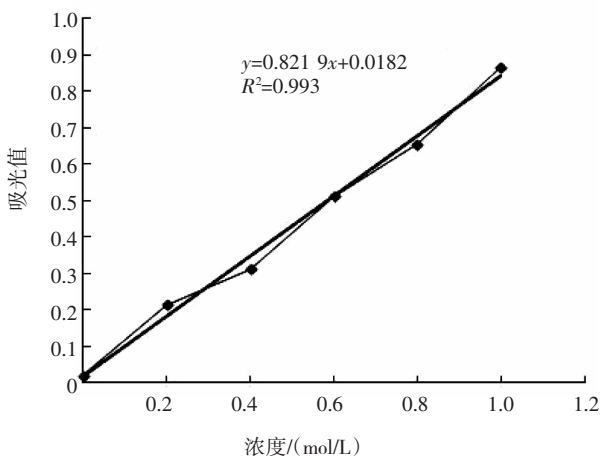


图1 葡萄糖标准曲线

表4 加样回收率测定

序号	样品质量/mg	葡萄糖加入量/mg	总含量/mg	测得值/mg	回收率/%
1	0.029 2	0.05	0.079 2	0.007 9	99.00
2	0.029 7	0.05	0.079 7	0.007 9	100.08
3	0.027 7	0.05	0.077 8	0.007 8	99.29
4	0.029 8	0.05	0.079 8	0.007 9	101.30
5	0.030 2	0.05	0.080 2	0.008 0	101.30
6	0.028 4	0.05	0.078 3	0.007 8	98.71
平均值					99.95 ± 1.14

3.2 橄榄叶多糖含量的测定

橄榄叶多糖含量的测定结果见表5。根据计算结果和对照葡萄糖标准曲线,测得油橄榄叶多糖含量为(12.064 ± 0.265) mg/g。

表5 油橄榄叶多糖含量结果

样品编号	称量质量/g	吸光值	测得值/mg	多糖含量/(mg/g)
1	0.214 2	0.258	25.8	12.282 6
2	0.227 4	0.262	26.2	11.762 5
3	0.210 7	0.246	24.6	11.862 3
4	0.216 5	0.263	26.3	12.405 3
5	0.224 8	0.266	26.6	12.093 6
6	0.213 2	0.251	25.1	11.980 3
平均值				12.064 ± 0.265

4 结论

研究表明,采用苯酚-硫酸法测定油橄榄叶多糖含量最佳条件为苯酚0.8 mL,硫酸4 mL,反应温度20 ℃,反应时间10 min。加样回收率为99.95%。测得油橄榄叶多糖含量为12.064 ± 0.265 mg/g。

参考文献:

- [1] 郑媛媛,李辰,封士兰,等.油橄榄叶中总黄酮含量测定方法探讨[J].光谱学与光谱分析,2011(2):547-550.
- [2] 祁菲菲.油橄榄叶食用历史和保健功能研究进展综述[G]//中国营养学会.中国营养学会第十一次全国营养科学大会暨国际DRIs研讨会学术报告及论文摘要汇编(下册)-DRIs新进展:循证营养科学与实践学术.北京:中国营养学会,2013.
- [3] 叶建中,王成章,陈虹霞,等.油橄榄叶中羟基酪醇的含量变化规律研究[J].林产化学与工业,2011(2):69-74.
- [4] 李陈桑.橄榄多糖提取分离及其功能特性的研究[D].福州:福建农林大学,2014.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.SN/T 4260-2015,出口植物源食品中粗多糖的测定 苯酚-硫酸法[S].北京:中国标准出版社,2016.

(本文责编:杨杰)