

# 不同品种枣果实多糖含量分析

石浩<sup>1</sup>, 王仁才<sup>1\*</sup>, 庞立<sup>1</sup>, 仇振华<sup>2</sup>, 曾邹林<sup>1</sup>, 刘吉凯<sup>1</sup>

(1. 湖南农业大学园艺园林学院, 湖南长沙 410128; 2. 湖南玖一玉泉科技实业有限公司, 湖南衡阳 421001)

**摘要** [目的]分析不同品种枣果实多糖含量,筛选多糖含量高的枣果资源,促进枣果资源的综合开发利用。[方法]以鸡蛋枣、糖枣、药枣、长枣等16个湖南主要地方枣品种为试材,经硫酸-苯酚法对不同品种枣果实多糖含量进行了分析测定。[结果]分析表明,不同枣品种间最高与最低多糖含量相差达3.9倍,其中以小米枣和子代糖枣多糖含量最高,分别达9.75%、9.06%;母本糖枣、酸元枣、药枣、长枣、玉泉八号和南方冬枣次之,多糖含量分别为8.82%、6.20%、5.89%、5.56%、5.54%、5.23%;而光皮枣多糖含量最低,仅为2.45%。不同枣品种间多糖含量差异较大。[结论]研究显示,苯酚-硫酸法较为稳定,正确率和精密度高,重现性好,可作为枣多糖含量的测定方法;同时,枣具有很高的多糖加工利用价值,值得开发利用。

**关键词** 枣;品种;多糖;硫酸-苯酚法

**中图分类号** S665.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)19-06370-03

## Analysis of Polysaccharide in Fruits of Different Jujube Varieties

SHI Hao, WANG Ren-cai et al (College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128)

**Abstract** [Objective] To analyze polysaccharide content in different varieties of jujube fruit, screen out jujube fruit resources with high polysaccharide content and promote the comprehensive development and utilization. [Method] Taking Hunan local variety egg jujube, candied jujube, medicinal jujube, long jujube etc. 16 kinds of jujube cultivars as materials, the polysaccharide content in different jujube cultivars were determined by sulfuric acid-phenol method. [Result] The highest and the lowest polysaccharide content in different varieties of jujube fruit reach 3.9 times, among which, millet jujube and filial generation candied jujube has the highest polysaccharide content of 9.75%, 9.06% respectively; The secondly were the female candied jujube, acid yuan jujube, medicinal jujube, long jujube, Yuquan No. 8 and southern Dongzao, respectively, 8.82%, 6.20%, 5.89%, 5.56%, 5.54%, 5.23%, and the light skin jujube content is the lowest, only 2.45%. The polysaccharide content in different varieties of jujube fruit has significant differences. [Conclusion] The study showed that, sulfuric acid-phenol method is stable with high accuracy, precision and good reproducibility, which can be used for determination of polysaccharide content in jujube; meanwhile, jujube has higher polysaccharide processing and utilization value, and is worthy of development.

**Key words** Jujube; Varieties; Polysaccharide; Sulfuric acid-phenol method

枣树(*Zizyphus jujube* Mill)为鼠李科枣属木本植物,在我国已有4 000多年的种植历史。枣树为我国的特产果树,种植面积和总产量占全世界的90%以上<sup>[1-3]</sup>。湖南地区枣种植具有悠久的历史,枣资源丰富,品种繁多,分布范围广,充分利用地方枣品种资源,发展南方枣业对于促进湖南农业经济发展具有重要意义。

枣果又名红枣,营养丰富,用途广泛,食疗价值高,是上等的滋补食品,发展前景十分广阔。枣不仅是滋补佳品,而且也是一味传统的中药,因富含营养和保健成分而享誉中外,为我国传统药食兼用果品<sup>[4]</sup>。枣果中含有丰富的生物活性物质,如多糖、环磷酸腺苷(cAMP)、黄酮类、有机酸、三萜类、环磷酸腺苷、维生素、微量元素等<sup>[5-7]</sup>。

多糖是由多个单糖基及糖苷键相连接而成的高聚物,一般是20个以上的单糖聚合而成,广泛存在于动物细胞膜、高等植物和微生物的细胞壁中,是构成生命的四大基本物质之一,同维持生命活动密切相关<sup>[8]</sup>。多糖类化合物是中草药的有效成分之一,具有多种生物活性。枣果含有丰富的枣多糖,现代药理研究表明,大枣多糖具有明显的抗补体活性和促进淋巴细胞的增殖功能,具有养心安神、缓和药

性、补气养血、健脾益胃、保肝、抗氧化、抗衰老、提高抗体免疫力等功效<sup>[9-12]</sup>。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 供试材料为湖南玖一玉泉科技实业有限公司种植的玉泉8号枣、南方冬枣和子代糖枣,以及湖南省衡阳市衡南县与祁东县采集的方头枣、小米枣、大米枣、母本糖枣、长枣、光皮枣、鸡蛋枣、药枣、酸枣、酸元枣、军枣、牛奶枣、瓜枣13种地方枣品种,共16个枣品种果实。

**主要仪器:**ZW1105051705紫外可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;SB-3200D超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司;AUW220D电子天平,日本shimadzu公司;DR-1001旋转蒸发仪,郑州长城科工贸有限公司。

**主要试剂:**无水葡萄糖对照品、无水乙醇、丙酮、正丁醇、氯仿、98%浓硫酸、苯酚,均为国药集团化学试剂有限公司,色谱纯。

## 1.2 枣多糖含量测定方法的确定

**1.2.1 供试品溶液的制备。**转红期鲜枣经65℃干燥至恒重,粉碎过70目筛,精确称取枣粉10g装入250ml锥形瓶中同时加150ml蒸馏水,60℃水浴超声提取3次,每次15min。抽滤弃去药渣,合并滤液,60℃减压蒸馏,滤液旋转蒸发约15ml体积后,用100ml无水乙醇萃取,静置2h后过滤,65℃水浴干燥至恒重;称重计算多糖粗提物质量。粗多糖用20ml丙酮洗涤多次,50ml蒸馏水溶解。以多糖水溶液1/3体积加入Sevag试剂(氯仿:正丁醇=4:1)混合振荡20min后静置15min,除去水层与溶剂交界处的变性蛋白质,重复多次

**基金项目** 湖南省2013年学位与研究生教育专项资金项目(CX2013-B294);湖南省科技计划重点项目(2011NK4042);湖南省自然科学基金委员会与衡阳市政府自然科学基金联合基金项目(13JJ8010)。

**作者简介** 石浩(1988-),男,湖南常德人,硕士研究生,研究方向:药用植物资源高值化利用技术。\*通讯作者,教授,博士生导师,从事药用植物资源工程研究。

**收稿日期** 2014-05-08

直至除尽,定容至 100 ml 容量瓶中,取 1 ml 置 100 ml 容量瓶中定容,即得。

**1.2.2 对照品溶液的制备。**精密称取经 105 °C 干燥至恒重的无水葡萄糖对照品 10 mg,置 100 ml 量瓶中,加蒸馏水溶解并定容,即得 100 μg/ml 葡萄糖标准液。

**1.2.3 测定波长的确定。**精密量取葡萄糖标准溶液 1 ml 于 20 ml 玻璃试管中,加入 5% 苯酚溶液 1 ml,迅速加入浓硫酸 5 ml,摇匀,常温静置 20 min 后沸水浴 3 min,取出后室温放置 30 min,各试管中补加蒸馏水 3 ml,在 400~600 nm 波长范围用紫外可见分光光度计全波长扫描。经测定,溶液在 490 nm 处有最大吸收峰。

**1.2.4 线性关系考察。**分别精密量取 0.15、0.30、0.45、0.60、0.75、1.00 ml 对照品溶液于 6 只 20 ml 玻璃试管中,加入 5% 苯酚溶液 1 ml,并迅速加入浓硫酸 5 ml,摇匀,常温静置 20 min 后沸水浴 3 min,取出后迅速冷却至室温,各试管中补加蒸馏水 3 ml,在波长 490 nm 处测定吸光度。精密量取蒸馏水 1 ml 同上述操作,作为空白对照。以浓度  $C$  对吸光度  $A$  作线性图。

**1.2.5 精密度试验。**不同检测人员,按照“1.2.3”项方法测定供试液吸光度;精密吸取多糖供试品溶液 6 份,每份 1.0 ml,测定出吸光度,计算  $RSD$  值考察试验精密度。

**1.2.6 重复性试验。**精密称取枣粉 10 g,共 6 份,按照“1.2.1”项供试液的制备方法,再按“1.2.3”项的显色方法测定吸光度,计算  $RSD$  值考察试验重复性。

**1.2.7 稳定性试验。**精密吸取多糖供试品溶液 1.0 ml,按照“1.2.3”项方法显色后,每隔 30 min 测定一次吸光度,连续 6 次,观察硫酸-苯酚法对多糖显色效果的稳定性,测定出吸光度,计算  $RSD$  值考察试验稳定性。

**1.2.8 加样回收率试验。**精密吸取 40 μg/ml 的多糖供试品溶液 0.5 ml,共 6 份,精密加入 0.5 ml (10、30、50、70、90、100 μg/ml) 的葡萄糖对照品溶液,摇匀后按照“1.2.3”项方法显色,测定多糖含量,计算  $RSD$  值考察试验加样回收率。

回收率% = (测得多糖的质量 - 供试品中多糖的质量) / 添加葡萄糖对照品质量 × 100%

**1.2.9 多糖含量的计算。**公式如下:

$$\text{多糖含量}(\%) = C_i \times N/M$$

式中, $C_i$  为样品测定吸光度在标准曲线中对应浓度(μg/ml); $N$  为样品稀释倍数(10 000); $M$  为枣粉质量(10 g)。

## 2 结果与分析

### 2.1 试验测定方法的分析

**2.1.1 线性关系考察。**以浓度  $C$  对吸光度  $A$  作线性图,得回归方程  $y = 0.0092x + 0.0072$  ( $R^2 = 0.9994$ )。结果表明,葡萄糖标准溶液经硫酸-苯酚法显色后在 15~100 μg/ml 范围线性关系良好。

**2.1.2 精密度试验结果。**不同检测人员对 6 份多糖供试品溶液所测得吸光值分别为:0.455、0.475、0.466、0.465、0.448、0.460,经计算其  $RSD$  值为 2.04%,小于 3%,说明该方法具有良好的精密度。

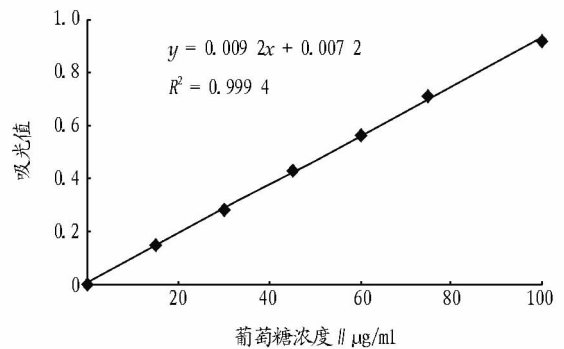


图 1 葡萄糖标准溶液线性关系考察

**2.1.3 重复性试验结果。**按照“1.2.1”项供试液的制备方法,再按“1.2.3”项的方法显色后测得 6 份多糖供试品溶液吸光值分别为:0.455、0.458、0.438、0.422、0.460、0.453,经计算其  $RSD$  值为 1.98%,小于 3%,说明该方法具有良好的重复性。

**2.1.4 稳定性试验结果分析。**从表 1 中可知,多糖溶液经硫酸-苯酚法显色后,在 2.0 h 内其吸光值的检测结果没有变化,2.5 h 后溶液吸光值开始略微降低,通过 spss 软件方差分析  $F$  值为 0.887,大于 0.05,可判断不同时间段所测定吸光值不具有显著性差异。由此说明,采用硫酸-苯酚法测定多糖含量,吸光值随时间变化不大,但显色后的溶液在 2.0 h 内检测效果最佳。

表 1 稳定性试验结果

测定时间 h	A 值			A 平均值
	重复 1	重复 2	重复 3	
0.5	0.460	0.475	0.468	0.468
1.0	0.458	0.473	0.470	0.467
1.5	0.475	0.466	0.462	0.468
2.0	0.472	0.462	0.468	0.467
2.5	0.466	0.458	0.471	0.465
3.0	0.458	0.466	0.463	0.462

**2.1.5 加样回收率试验结果分析。**由表 2 可知,在硫酸-苯酚法测定多糖含量加样回收试验结果中,其  $RSD$  值为 2.6%,小于 3%,该方法回收率良好,所制订分析方法的准确度高。

表 2 加样回收率试验结果

序号	取样量	添加量	测得量	回收率	平均回收	$RSD$ %
	μg	μg	μg	%	率//%	
1	20	5	25.12	102.40	99.23	2.08
2	20	15	35.07	100.47		
3	20	25	44.80	99.20		
4	20	35	54.31	98.03		
5	20	45	64.52	98.93		
6	20	50	68.18	96.36		

**2.2 不同枣品种多糖粗提物及多糖含量测定结果分析** 不同品种枣果实多糖粗提物含量有一定差异。由表 3 可知,16 个枣品种中,多糖粗提物含量均值为 1.55 g,其中以小米枣、子代糖枣含量最高,分别为 3.02、2.79 g,均值达到了

2.91 g;母本糖枣、长枣、南方冬枣、酸元枣、药枣含量次之,分别为2.63、1.84、1.38、1.31、1.30 g;而瓜枣、光皮枣含量最低,仅为1.08、1.10 g。多糖含量高与含量低枣品种之间含量相差达2.6倍。

不同品种枣果实多糖含量差异较大。由表3可见,16个品种枣果中,多糖含量均值为5.25%,其中以小米枣、子代糖枣含量最高,分别为9.75%、9.06%,均值达到了9.41%;母本糖枣、酸元枣、药枣、长枣、玉泉八号和南方冬枣次之,分别为8.82%、6.20%、5.89%、5.56%、5.54%、5.23%;而光皮枣、瓜枣含量最低,仅为2.45%、2.54%;多糖含量高与含量低枣品种之间含量相差达3.9倍。通过方差分析,无论是多糖粗提物还是多糖含量,其 $F > F_{0.01}(15, 32)$ ,差异达极显著水平,说明不同枣品种间多糖粗提物及其多糖含量差异极为显著。

对比多糖含量与多糖粗提物含量还可看出,两者基本上存在一一对应的关系,多糖粗提物含量高的枣品种其多糖含量也相对高一些;多糖含量组内均方为0.009,多糖粗提物质量组内均方为0.017,对比两者组内均方可知,多糖含量测定具有很高的稳定性,多糖粗提物测定其稳定性相对较低一点。

表3 不同品种枣果中多糖粗提物及多糖含量

枣果名称	多糖粗提物含量//g	多糖含量%	枣果名称	多糖粗提物含量//g	多糖含量%
方头枣	1.21	3.55	大米枣	1.16	4.91
小米枣	3.02	9.75	玉泉八号	1.27	5.54
子代糖枣	2.79	9.06	酸枣	1.12	3.55
母本糖枣	2.63	8.82	酸元枣	1.31	6.20
长枣	1.84	5.56	军枣	1.12	2.87
光皮枣	1.10	2.45	牛奶枣	1.18	4.32
鸡蛋枣	1.24	3.84	瓜枣	1.08	2.54
药枣	1.30	5.89	南方冬枣	1.38	5.23

### 3 结论与讨论

枣资源多种多样,资源基因差异大,不同品种枣果实多糖的含量存在较大差异。该试验结果表明,不同枣品种间多糖含量最高与最低相差达3.9倍,其中小米枣与子代糖枣多糖含量高达9%以上,具有很高的多糖加工利用价值,值得开发利用。

试验过程中始终保持65℃左右的温度,既能提高试验效率,又能避免因温度过高导致枣多糖颜色过深;通过水浴超声所浸提出的粗多糖经乙醇沉淀、洗涤,丙酮洗涤,Sevag试剂除蛋白,可除去大量脂溶性物质、色素、单糖、蛋白质等进而使测定结果更加精准。该试验研究显示,苯酚-硫酸法较为稳定,准确率和精密度高,而且重现性好,可作为枣多糖含量的测定方法。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:21-22.
- [2] 何峰,潘勤,闵知大. 枣属植物化学成分研究进展[J]. 国外医药·植物分册,2005,20(1):1-5.
- [3] 陈辉. 食品原料与资源学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007.
- [4] 李进伟. 金丝小枣多糖的研究[D]. 无锡:江南大学,2006.
- [5] 姚文华,尹卓容. 大枣的研究[J]. 农产品加工·学刊,2006(2):28-31.
- [6] 赵爱玲,李登科,王永康,等. 枣树不同品种、发育时期和器官的水溶性多糖含量研究[J]. 山西农业科学,2012,40(10):1040-1043.
- [7] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 2版. 杭州:浙江大学出版社,1999.
- [8] 何余堂,潘黎明. 植物多糖的结构与活性研究进展[J]. 食品科学,2010,31(17):493-496.
- [9] SPILLER G A. Dietary fiber in prevention and treatment of disease[M]// SPILLER G A. CRC handbook of dietary fiber in human nutrition. Washington: CRC Press LLC,2001:363-431.
- [10] 顾有方,董策龙,陈会良,等. 大枣多糖对大鼠血清自由代谢的影响[J]. 中国中医药科技,2007,14(S1):347-348.
- [11] ZHANG H,JIANG L,YE S, et al. Systematic evaluation of antioxidant capacities of ethanolic extract of different tissues of jujube from china[J]. Food and Chemical Toxicology,2010(48):1461-1465.
- [12] 吴娜,杨洁,许海燕,等. 若羌大枣多糖的分离纯化及抗氧化活性的研究[J]. 天然产物研究与开发,2009,21(2):319-323.

(上接第6369页)

- [15] 王爱华,王松峰,官长荣. 氮素用量对烤烟上部叶片多酚类物质动态的影响[J]. 西北农林科技大学学报,2005,33(3):57-60.
- [16] 郭永新,王岩,刘德玉,等. 烤烟不同部位叶片中氮磷钾含量的变化[J]. 现代化农业,2008(6):26-27.
- [17] 何永秋,刘国顺,母海勇,等. 不同钾肥组合对烤烟质体色素及降解产物的影响[J]. 土壤,2013,45(3):495-500.
- [18] 徐增汉,王能如,王书茂,等. 不同采收方式对烤烟上部叶烘烤质量的影响[J]. 安徽农业科学,2001,29(5):660-662.
- [19] 闻刚,赵铭钦,李小勇,等. 烤烟生长过程中多酚及相关酶活性的动态变化[J]. 江西农业学报,2013,25(2):98-100.
- [20] 兰俊荣,靖军领,黄一兰,等. 不同成熟度烟叶烘烤过程中多酚氧化酶活性变化[J]. 现代农业科技,2010(23):54-56.
- [21] 王能如,方传斌,徐增汉,等. 烤烟上部叶采收成熟度试验[J]. 烟草科技,1993(5):32-33.
- [22] 徐建平,胡选彪,朱颖勋,等. 不同采收方法对烤烟上部叶烘烤质量及烤烟产量的影响[J]. 安徽农业科学,2006,34(8):1609-1610.
- [23] 赵元宽. 顶部烟叶带茎烘烤试验简报[J]. 烟草科技,2004(4):36-39.
- [24] 崔国明,孟凡军. 浅析烟叶挂灰的原因及解决方法[J]. 科技咨询导报,2007(20):255.
- [25] 谭青涛,杨杰. 含水量大的上部烟叶产生挂灰的原因及对策[J]. 科技资讯,2011(6):47.
- [26] 杨杰,谭青涛,朱先志,等. 含水量大的上部烟叶产生挂灰的原因及对策[J]. 科技资源,2011(6):47.
- [27] 马云红,马维广,邢世东. 控制烘烤温湿度解决烟叶汗斑、烤红、挂灰问

- 题的试验研究[J]. 农业科技与装备,2009(2):72-74.
- [28] 吕永华,詹寿,马武军,等. 石灰、钙镁磷肥对烤烟生产及土壤酸度调节的影响[J]. 生态环境,2004,13(3):379-381.
- [29] 王世济,赵第银,崔仁权,等. 缺镁对烟叶内外观质量影响初探[J]. 安徽农学通报,2010,16(7):80-82.
- [30] 李章海,宋泽民,黄刚,等. 钼对烤烟烘烤过程中酶促棕色化和烟叶质量的影响[J]. 中国烟草科学,2011,32(3):46-50.
- [31] 张纪利,李章海,李余湘,等. 钼对烤烟烘烤过程中酶促棕色化反应相关指标的影响[J]. 烟草科技,2010(10):52-55.
- [32] 余金恒,代丽,刘霞,等. 采收方式对烤烟上部叶烘烤过程生理特性及品质的影响[J]. 云南农业大学学报,2009,24(2):210-215.
- [33] 薛焕荣,谭青涛,蒋本利,等. 解决烟叶挂灰的几项技术措施[J]. 中国烟草科学,1999(1):49-50.
- [34] 李尼抗,卢红,杨焕文. 烘烤过程中多酚氧化酶抑制剂对烤烟多酚的影响[J]. 云南农业大学学报,2007,22(1):71-75.
- [35] 韩富根,韩锦峰,赵铭钦,等. 烤烟叶片多酚氧化酶和抗坏血酸氧化酶活性影响因素研究[J]. 河南农业大学学报,2004,38(4):432-435.
- [36] HE Q,LUO Y G,CHEN P. Elucidation of the mechanism of enzymatic browning inhibition by sodium chlorite[J]. Food Chemistry,2008,110:847-851.
- [37] 任杰,李雨江,包可翔,等. 亚氯酸钠对烤烟酶促棕色化反应及烟叶质量的影响[J]. 中国农业大学学报,2012,175(5):81-85.
- [38] 李玉娥,尹启生,宋纪真,等. 烤烟中多酚氧化酶促褐变反应抑制剂的筛选[J]. 烟草科技,2008(11):40-44.
- [39] 李玉娥,宋纪真,蔡杰杰,等. 多酚氧化酶抑制剂对烟叶质量的影响[J]. 烟草科技,2009(8):56-61.