

紫山药多糖超声提取工艺研究

徐斗霞, 李国霜, 陈征, 徐皓* (陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西汉中 723001)

摘要 [目的]优化紫山药(*Dioscorea alata* L.)多糖的提取工艺。[方法]在单因素试验的基础上,根据 Box-Behnken 试验设计的原理,选取提取温度、提取时间和料液比 3 因素 3 水平进行中心组合试验,优化紫山药多糖提取条件。[结果]紫山药多糖提取最佳工艺条件为提取温度 60 ℃、提取时间 80 min、料液比 1:40(g:mL),在此条件下,紫山药多糖的得率为 8.76%。[结论]研究可为紫山药资源开发利用提供科学依据。

关键词 紫山药;多糖;超声波;提取工艺

中图分类号 S632.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)04-0083-03

Research on Extraction Technology of *Dioscorea alata* L. Polysaccharides by Ultrasonic

XU Dou-xia, LI Guo-shuang, CHEN Zheng, XU Hao* (College of Biological Science & Engineering, Shaanxi Sci-Tech University, Hanzhong, Shaanxi 723001)

Abstract [Objective] To study the extraction technology of *Dioscorea alata* L. polysaccharide by ultrasonic. [Method] Through the single factor experiment and according to the principle of Box-Behnken experimental design, extraction temperature, extraction time and solid-liquid ratio three factors and three levels were selected to conduct center combination experiment and optimize purple yam polysaccharide extraction conditions. [Result] The results showed that the optimum conditions were as following: extraction temperature 60 ℃, extraction duration 80 min, solid to liquid ratio 1:40(g:mL), the yield of purple yam polysaccharide was up to 8.76%. [Conclusion] The study can provide a scientific basis for development and utilization of purple yam resource.

Key words *Dioscorea alata* L.; Polysaccharides; Ultrasonic; Extraction technology

紫山药(*Dioscorea alata* L.)又名紫参薯、大薯、红切薯等,是薯蓣科(Dioscoreaceae)薯蓣属(*Dioscorea*)多年生草本蔓生植物。紫山药广泛分布于我国广东、海南、广西、湖南、湖北、福建、四川、云南、贵州、江西等地,亚洲其他热带地区也有分布,栽培或野生在山腰、山脚和溪边的微酸性黄壤或红壤上。紫山药块根呈不规则的扁块形,肉质为紫红色,皮呈紫黑色,富含蛋白质、维生素、多糖、胆碱、薯蓣皂苷,营养价值极高,经常食用能够增强人体的抵抗力,并有着很高的药用价值^[1]。

多糖作为一种生物活性物质,在很多方面有着重要作用,特别在医学方面应用更为广泛。主要功能体现在多糖可以调节人体免疫细胞,增强免疫力,可抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、降血糖、抗凝血、抗血栓^[2]。

超声波辅助提取可以提高多糖提取率,缩短提取时间、节能、节省溶剂、污染小而且有利于提取热不稳定物质,可避免长时间高温对有效成分的破坏^[3-5]。通过超声波辅助对紫山药多糖进行提取工艺研究,可为紫山药资源开发利用提供科学依据,具有一定的理论意义和实用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料。供试紫山药购于浙江省温州市,挑选当年采收、新鲜无腐烂、自然晾干的块状根茎,洗净去皮,切成约 3 mm 的薄片,于 45 ℃鼓风干燥箱内烘干,万能粉碎机粉碎,过 80 目筛后保存于二氧化硅干燥器内,于 4 ℃储存备用。

1.1.2 主要试剂。葡萄糖、蒸馏水、60%乙醇、95%乙醇、无

水乙醇、氯仿、正丁醇、苯酚、浓硫酸等试剂,均为分析纯。

1.1.3 主要仪器。烘箱(DHJ-9146A),上海精宏试验设备有限公司;粉碎机(FX-001),新元仪器有限公司;电子天平(TP-214),丹佛仪器北京有限公司;水浴锅(XMTD-7000),上海科恒实业发展有限公司;超声设备(SB-100DT),宁波新芝生物科技股份有限公司;天平(马头牌 JYT-5架盘药物天平),上海医用激光仪器厂;台式低速离心机(L550型),长沙湘仪离心机仪器有限公司;旋转蒸发仪(RV10DS25);真空泵(SENCO SHD-3);冰箱(BCD-560WD11HY),海信容声冰箱有限公司;电热恒温鼓风干燥箱(DHJ-9146A),上海精宏试验设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 紫山药多糖的提取。紫山药粉末→按比例加入蒸馏水浸提→超声波辅助提取→4 000 r/min 离心 10 min→沉淀再浸提→合并上清液→真空减压浓缩→去蛋白→60%乙醇沉淀(4 ℃过夜处理)→复溶后 95%乙醇洗涤 3 次→无水乙醇洗涤沉淀多糖→低温减压干燥→紫山药粗多糖。

1.2.2 单因素试验。精确称取脱脂脱色后的紫山药粉末 10 g,按以下单因素试验条件进行多糖提取,根据粗多糖的得率确定最佳提取条件。

1.2.2.1 料液比。提取时间为 80 min,提取温度为 60 ℃条件下,设计料液比分别为 1:10、1:20、1:30、1:40 和 1:50(g:mL),在超声波功率为 100 W 的条件下提取,研究不同料液比对多糖提取率的影响^[6]。

1.2.2.2 提取温度。料液比为 1:20,提取时间为 40 min 条件下,设计提取温度为 30、40、50、60 和 70 ℃,在超声波功率为 100 W 的条件下提取,研究不同提取温度对多糖提取率的影响。

1.2.2.3 提取时间。料液比为 1:40,提取温度为 50 ℃条件

基金项目 大学生创新创业训练计划项目(UIRP15086)。

作者简介 徐斗霞(1993—),女,陕西旬阳人,本科生,专业:生物科学。
*通讯作者,副教授,硕士生导师,从事植物资源开发与利用研究。

收稿日期 2017-02-06

下,设计提取时间为20、40、60、80和100 min,在超声波功率为100 W的条件下提取,研究不同提取时间对多糖提取率的影响。

1.2.3 正交试验设计。根据单因素试验结果,以多糖提取率为考察指标,选取料液比、提取温度、提取时间作为考察因素,各取3个水平,进行正交试验,以确定多糖提取的最优工艺条件^[7]。

1.2.4 紫山药多糖含量的测定。采用苯酚-硫酸法测定多糖含量^[8]。称取50 mg紫山药粗多糖粉末,定容至50 mL容量瓶中,充分溶解。按2:1:5的比例分别加入紫山药粗多糖溶液2.0 mL,5%苯酚1.0 mL,浓硫酸5.0 mL。放置常温后沸水浴15 min,蒸馏水充分溶解。吸取0.2 mL的样品液,以蒸馏水补至2.0 mL,然后加入5%苯酚1.0 mL,浓硫酸5.0 mL,摇匀冷却至室温放置20 min以后测定波长490 nm处的吸光度。

1.2.5 线性关系考察。精确称取0.5 g葡萄糖标准品,用水溶解,定容至500 mL的容量瓶中,量取5.0 mL葡萄糖标准液移入50.0 mL容量瓶中,加水定容。精确吸取稀释后的葡萄糖溶液2.4、6.8、10于10 mL大试管中,设置一组对照组,所有溶液加水至10 mL。按照2:1:5的比例分别加入葡萄糖、5%的苯酚和浓硫酸,静置至常温然后在水浴锅中沸水浴15 min,取出冷却至常温,在波长490 nm处测定其吸光度。以葡萄糖的浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线,并计算回归方程^[9-11]。

$$\text{多糖得率} = \text{样品多糖含量}(C \text{ 值}) \times \text{稀释倍数} / \text{样品干重} \times 100\%$$

$$C = (A - 0.1752) / 9.42$$

2 结果与分析

2.1 线性关系考察按“1.2.3”进行操作,结果葡萄糖标准液浓度(X)与吸光度(Y)的回归方程为: $Y = 0.678X + 0.0836$, $R^2 = 0.9997$,表明在0.2~1.0 mg/mL范围内线性关系良好(图1)。

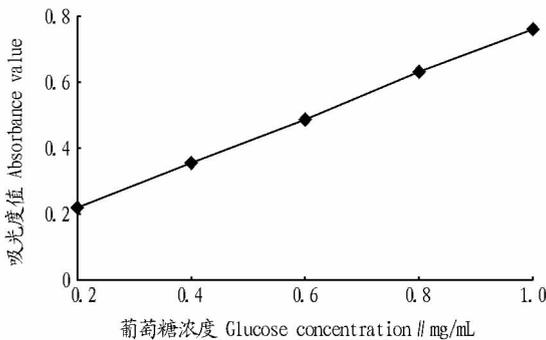


图1 葡萄糖的浓度与吸光度值的关系

Fig. 1 Relationship between glucose concentration and absorbance value

2.2 单因素试验结果

2.2.1 料液比对多糖得率的影响。由图2可知,当料液比为1:40时,紫山药多糖得率最高,之后多糖得率随料液比中溶剂用量的增加而减小,故选择料液比1:20、1:30、1:40 3个

水平进行正交试验^[12]。

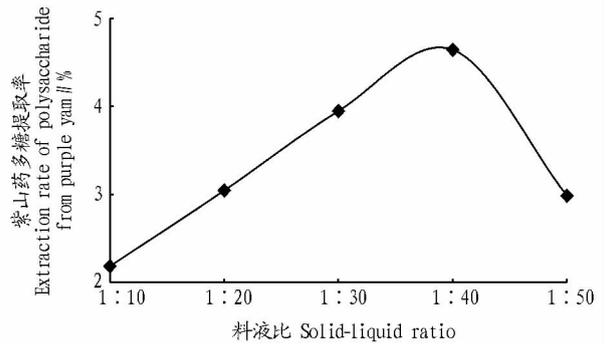


图2 料液比对紫山药多糖得率的影响

Fig. 2 Effects of solid-liquid ratio on the yield of polysaccharide from purple yam

2.2.2 提取温度对多糖得率的影响。由图3可知,随着温度升高,紫山药多糖得率增加,至60℃左右时达到最大,此后随着温度的提高,多糖得率反而下降。故选择40、50、60℃ 3个水平进行正交试验。

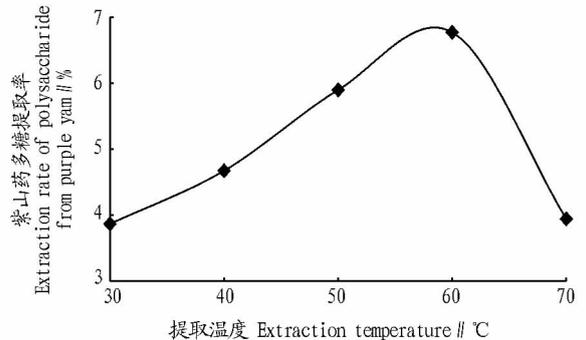


图3 提取温度对紫山药多糖得率的影响

Fig. 3 Effects of extraction temperature on the yield of polysaccharide from purple yam

2.2.3 提取时间对多糖得率的影响。由图4可知,延长提取时间,紫山药多糖得率逐渐增加,到80 min时多糖得率最高,此后随着时间的增加,多糖得率反而减小。故选择40、60、80 min 3个水平进行正交试验。

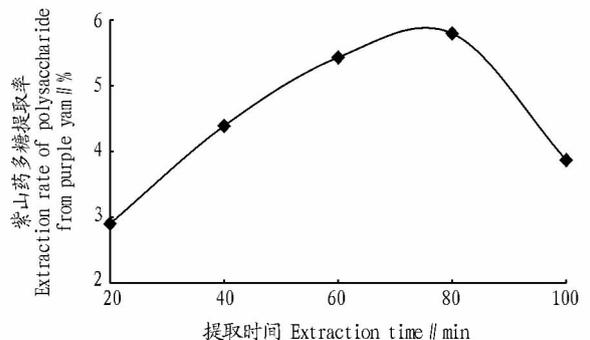


图4 提取时间对紫山药多糖得率的影响

Fig. 4 Effects of extraction time on the yield of polysaccharide from purple yam

2.3 正交试验结果选取料液比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)3个因素作为考察因素进行正交试验设计,优化紫

山药多糖的提取工艺条件,正交试验因素水平设计见表 1,结果见表 2。

表 1 紫山药多糖提取正交试验因素水平

Table 1 Factor and level of orthogonal test for polysaccharide extraction from purple yam

水平 Level	因素 Factor		
	料液比(A) Solid to liquid ratio	提取温度(B) Extraction temperature//℃	提取时间(C) Extraction time//min
1	1:20	40	40
2	1:30	50	60
3	1:40	60	80

表 2 紫山药多糖提取正交试验设计与结果分析

Table 2 Design and results of orthogonal experiment for polysaccharide extraction from purple yam

试验号 No.	因素 Factor			多糖提取率 Yield of poly- saccharide//%
	A	B	C	
1	1	1	1	1.998
2	1	2	2	2.395
3	1	3	3	2.915
4	2	1	2	3.799
5	2	2	3	4.673
6	2	3	1	4.188
7	3	1	3	4.319
8	3	2	1	3.680
9	3	3	2	5.790
k_1	2.436	3.372	3.289	
k_2	4.220	3.583	3.995	
k_3	4.596	4.298	3.969	
R	2.160	0.926	0.706	

由表 2 中 R 值可知,影响紫山药多糖提取率的大小因素依次为料液比、提取温度、提取时间。方差分析结果显示,料液比、浸提温度对提取率的影响极为显著。由 k 值大小可知,优化的工艺组合为 $A_3B_3C_3$,此结果与单因素试验筛选出的最佳条件组合一致,而正交试验直观分析提取率最高组合

为 $A_3B_3C_2$,综合考虑,选取最优工艺组合 $A_3B_3C_3$,即料液比 1:40、提取温度 60℃、提取时间 80 min,此条件下紫山药多糖的提取率为 8.76%。

3 结论

该试验通过单因素试验和正交试验,采用超声法提取紫山药多糖,并进行工艺优化。试验结果表明,影响超声提取紫山药多糖提取率的 3 个因素中料液比、提取温度对提取率的影响极为显著,其大小顺序依次为料液比、提取温度、提取时间。综合考虑各因素得到的优化工艺参数为料液比 1:40,提取温度 60℃,提取时间 80 min,提取 2 次,超声功率 100 W。在该条件下紫山药多糖的提取率为 8.76%,与常规水提法相比,超声法安全、简单易行、效率高,有利于提高紫山药粗多糖得率。因此,超声波辅助提取方法在紫山药多糖生产上具有一定的应用价值,是一种提取紫山药多糖的有效途径。

参考文献

- [1] 明兴加,李坤培,张明,等.紫色甘薯的生理活性及开发应用研究进展[J].食品研究与开发,2007,28(7):144-147.
- [2] 吴笛笛.多糖的作用及其研究进展[J].沈阳师范大学学报(自然科学版),2008,26(2):221-223.
- [3] 陈涛.植物多糖的提取方法概述[J].科技风,2010(8):246.
- [4] 易阳,张名位,廖森泰,等.龙眼多糖超声波-酶解辅助提取工艺优化[J].农业机械学报,2010,41(5):131-136.
- [5] 李粉玲,蔡汉权,陈桐滨,等.超声波辅助提取木棉花多糖[J].湖北农业科学,2012,51(6):1214-1217.
- [6] 陈少青,蒋旭钢,汪财生,等.紫山药多糖超声波辅助提取工艺优化及抗氧化性能研究[J].江苏农业科学,2009,30(5):231-234.
- [7] 姚惠伶,蒋林彬.超声波提取紫薯多糖的工艺优化[J].安徽农业科学,2011,39(14):8357-8358,8361.
- [8] 姜琼,谢好.苯酚-硫酸法测定多糖方法的改进[J].江苏农业科学,2013,41(12):316-318.
- [9] 刘杭达,马千苏,王傑,等.紫山药粗多糖提取工艺的优化及其抗氧化性的研究[J].食品工业科技,2015,36(23):208-213.
- [10] 薛芳,颜瑞,王承明.超声辅助碱提取花生多糖的研究[J].食品科学,2008,29(8):158-163.
- [11] 李宏睿,范琳琳,徐明生,等.苦瓜多糖超声波辅助提取工艺优化[J].食品与机械,2010,26(2):107-109.
- [12] 董红敏,李素清,牛小勇,等.正交实验优化川明参多糖超声提取工艺[J].食品工业科技,2014,35(8):306-309.
- [13] 贺帆,王涛,余金恒,等.不同典型浓香型产区烟叶化学成分差异分析[J].福建农业学报,2012,27(11):1189-1193.
- [14] 张晓蕴,赵铭钦,卢叶,等.南阳烟区不同品种烤烟打顶后酶活性及化学成分分析[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2010,36(2):155-159.
- [15] 景延秋,张红立,李爱芳,等.河南烟区不同烤烟品种化学成分差异分析[J].广西农业科学,2010,41(11):1214-1218.
- [16] 戴冕.我国主产区烟区若干气象因素与烟叶化学成分关系的研究[J].中国烟草学报,2000(1):27-34.
- [17] 孙建锋,章新军,毕庆文,等.河南烤烟主产区烟叶化学成分的比较分析[J].郑州轻工业学院学报(自然科学版),2006,21(2):40-43.
- [18] 贺帆,王涛,余金恒,等.不同典型浓香型产区烟叶化学成分差异分析[J].福建农业学报,2012,27(11):1189-1193.

(上接第 24 页)

- [12] 王彦亭,谢剑平,李志宏.中国烟草种植区划[M].北京:科学出版社,2009.
- [13] MOHAPATRA S C. Comparison of methods for starch extraction and estimation[J]. CORESTA,1988,71-73.
- [14] DAVIS L D, NIELSEN M T. 烟草:生产,化学和技术[M].北京:化学工业出版社,2003.
- [15] 中国农业科学院烟草研究所.中国烟草栽培学[M].上海:上海科学技术出版社,2005.
- [16] 殷延齐,刘惠民,夏巧玲,等.卷烟烟丝中游离子态氨基酸的主成分分析和聚类分析[J].烟草科技,2007(10):36-40.
- [17] 吴文斗,杨志雷,王超,等.烟叶氨基酸、质体色素和多酚含量与评吸质量的相关性分析[J].云南农业大学学报(自然科学版),2013,28(3):353-359.