

山药多糖提取工艺研究

周垠辉¹, 诸爱士², 冯 晟²

(1. 浙江纳爱斯集团有限公司, 浙江 丽水 323000; 2. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 杭州 310023)

摘 要: 对山药多糖提取工艺进行优化, 得出较佳提取条件应用于山药多糖的提取。实验以山药多糖收率为指标, 对山药预处理时间, 提取过程中提取温度、提取时间、物水质量比及提取次数, 重复性, 回收溶剂再利用等因素进行了考察。结果表明: 山药多糖的较优提取工艺为预处理时间(2+2) h, 提取时间 2 h, 提取温度 60 ℃, 物水比 1:20, 提取次数 1 次; 这样的提取工艺操作重复性好, 溶剂回收再利用可行。

关键词: 山药多糖; 提取工艺; 收率; 溶剂回收

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1671-8798(2009)04-0323-04

Study on extraction technology of yam polysaccharide

ZHOU Yin-hui¹, ZHU Ai-shi², FENG Sheng²

(1. Nice Group Co., Ltd., Lishui 323000, China; 2. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China)

Abstract: The optimization experiment of active polysaccharide extraction of Chinese yam was carried out and the optimal extraction condition was determined, which has been used in extracting of Chinese yam polysaccharide. In the experiment yam polysaccharide yield was taken as an index, yam pretreatment time, extraction temperature, extraction time, material-water mass ratio and extraction times, repeatability, recovery and reuse of solvent in the extraction process were studied. The results showed that the better pretreatment time for yam polysaccharide extraction is (2+2) h, extraction time is 2 h, extraction temperature is 60 ℃, material-water ratio is 1:20, extraction times is 1; repeatability for extraction operation is good, recycling solvents are feasible.

Key words: yam polysaccharide; extraction process; yield; solvent recovery

山药多糖^[1]是目前公认的山药重要活性成分之一,同时山药还含有黏蛋白^[2]、尿囊素^[3]、氨基酸^[4]、淀粉、脂肪酸及微量元素和常量元素。

近年来,随着人们对多糖研究的深入,发现多糖具有多方面的生物活性与功能。山药主要活性成分之一的山药多糖也具有许多优越的生理功能^[5-6];具

收稿日期: 2009-05-05

基金项目: 浙江省科技计划重点项目(2007C21063)

作者简介: 周垠辉(1986—),男,浙江余姚人,2009 届本科毕业生,主要从事产品质量检测工作。

通讯作者: 诸爱士,副教授,主要从事单元操作教学与应用研究。

有免疫调节作用,可显著增强非特异性免疫功能和体液免疫功能;具有抗肿瘤作用,对多种实验型肿瘤有明显的抑制作用;具有对血糖的调节作用,对葡萄糖负荷的小鼠血糖有明显降低;具有明显的抗细菌作用;具有明显的降血脂和抗氧化作用。

王刚等^[7]采用水提取,乙醇和十六烷基三甲基溴胺盐(CTAB)沉淀法,对山药中的多糖进行了初步分离,从山药中分离纯化得到多糖。许本波等^[8]通过微波辅助法确定了山药多糖提取的最佳工艺条件为:微波功率 464 W,物水比 1:20,浸提温度 60℃,醇沉比 4:1。李金忠等^[9]对山药多糖的超声辅助水提取方法进行了研究,该工艺与传统的水提取法相比,得率提高 2 倍多,提取时间也缩短。张元等^[10]通过酶法确定了山药多糖提取的最佳工艺条件为:55℃,pH5.5,加酶量 1 mg/g,反应时间 1.0 h,酶辅助浸提结束后,对体系进行超声处理 5 min,多糖收率可达 6.792%,较单独酶辅助提取提高了 99.35%。

以上研究均没有考虑预处理时间对多糖收率的影响,也没有考虑回收溶剂。因此,本实验除了考察提取过程的温度、时间、物水比(预处理过的山药与去离子水质量比,全文同)及提取次数等因素,还考察了预处理时间、溶剂回收再利用等对收率的影响。

1 实验部分

1.1 主要原料、试剂及仪器

实验原料:山药饮片,产地河南;安徽德昌药业饮片有限公司生产。

实验试剂:无水乙醇、无水乙醚、丙酮、甲醇、正丁醇、硫酸、苯酚、三氯甲烷、葡萄糖,均为 AR。

实验仪器:可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司 722E 型),电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司 DK-S24 型),电子天平(北京塞多利斯仪器系统有限公司 BS124S 型),旋转蒸发仪(上海亚龙生化仪器厂 RE52CS),离心机(上海安亭科学仪器厂 800B),电热恒温鼓风干燥箱(上海精密实验设备有限公司 DHG-9123A 型)。

1.2 实验步骤

1.2.1 山药饮片的预处理 实验选用山药饮片,在使用前先将其初步粉碎,在恒温 50℃烘干 4 h,再粉碎至粉末干燥待用。

1.2.2 山药多糖的提取 将粉碎的山药粉加入乙醇(80%以上),在 90℃热水浴中回流间歇搅拌进行提取预处理,离心得提取液,残渣再用乙醇提取一

次,合并提取液,经离心收集沉淀,上清液回收乙醇,沉淀物依次用无水乙醇、丙酮、甲醇进行抽洗,挥发溶剂至干,干燥保存,用于提取多糖。将乙醇回流提取过的残渣在一定的物水比、提取温度、提取时间、提取次数下恒温水浴,间歇搅拌,离心分离,上清液浓缩,加乙醇醇析;沉淀物用蒸馏水复溶后再加乙醇醇析,将沉淀依次用 40 mL 无水乙醇、无水乙醚、丙酮洗涤以除去杂质,干燥,得山药水溶性多糖粗品。采用 Sevage 法去除蛋白:用少量双蒸水溶解粗多糖,混匀后按 4:1 的比例加入氯仿-正丁醇(5:1)混合液,振摇 20 min,可见凝胶状的蛋白质析出,用离心法除去^[11]。

1.2.3 葡萄糖含量测定及提取收率计算 精密称取恒重干燥的山药多糖 0.100 g,蒸馏水溶解并定容 100 mL,精密移取 10 mL,再次定容至 100 mL,此时终质量浓度为 0.10 g/L。精密吸取溶液 1.00 mL 于 10 mL 具塞试管内,补充水至 2.00 mL,另取一支空管加入 2.00 mL 蒸馏水做对照。每管各精密加入质量浓度为 20 g/L 的苯酚溶液(新鲜配制,精密称取 2 g 苯酚用蒸馏水定容至 100 mL 得 20 g/L 苯酚溶液)1 mL,浓硫酸 5 mL,混匀,放置 5 min,沸水浴加热显色 5 min,冷水浴冷却 30 min,在 485 nm 处测定吸光度,重复测 3 次,取 3 次平均值^[12]。经作工作曲线,将吸光度与质量浓度拟合得关系式如下:

$$X=0.0255Y-0.00006$$

其中: X 为葡萄糖含量, g/L; Y 为 485 nm 处的吸光度。

山药多糖的质量浓度以葡萄糖计^[7,11],山药多糖的收率依以下公式计算:

$$\eta = \frac{10mX}{M} \times 100\%$$

其中: η 为山药多糖的收率,%; m 为提取出的山药多糖的质量, g; X 为由吸光光度法测得的山药多糖的质量浓度, g/L; M 为原料山药用量, g。

2 实验结果与讨论

2.1 预处理时间对收率的影响

文献[12]报道山药不经预处理直接进行水提多糖。经考察,发现直接水提,山药粉易糊化,后续很难过滤分离,为此选用乙醇先进行预处理。预处理时间会对后期的山药多糖的提取有一定的影响,因此取干燥恒重过的山药粉 10 g,2 次各加 45 mL 无水乙醇,用(1+1) h、(1+2) h、(2+1) h、(2+2) h、

(3+3) h不同的时间组合(处理方法详见1.2.2)进行乙醇回流处理,处理过的料再在相同的条件下水提,测定多糖提取收率,结果分别为2.54%,3.46%,3.78%,4.88%,4.90%。

乙醇的回流处理可以除去一些溶于醇的物质,而山药多糖不溶于乙醇,更重要的是经过乙醇回流处理的山药粉,其中的淀粉有一定的变性,使易糊化的支链淀粉断链变成直链淀粉而不易糊化,有利于下面的水提过滤分离。从测定得到的收率可以确定乙醇预处理的时间采用(2+2) h。

2.2 单因素考察

2.2.1 提取时间对收率的影响 物水比1:20,在60℃水浴中加热搅拌提取,提取时间分别为0.5,1,2,3,4 h,提取1次。测定多糖提取收率,结果见图1。

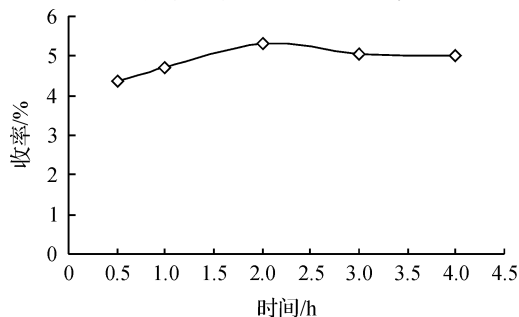


图1 提取时间对收率的影响

Fig.1 Effects of extraction time on extraction yield

由图1可以看出,多糖收率与浸提时间有一定关系。当浸提时间小于2 h,多糖收率随时间的增加有比较大的增加,而时间大于2 h后,多糖收率随时间有所减少,这是因为山药多糖的提取是一个固液非均相的提取过程,需要一定的时间才能使目标物从固体内部传递到液体,因此随提取时间的增长收率就提高,但是时间过长可能由于多糖变化使得结果有所降低。从实际生产考虑,提取时间越长,就意味着生产周期越长,设备的生产能力就降低;同时能耗、人工的投入就越大,而且时间过长可能会使山药淀粉溶出增加,产品纯度降低,后期提纯负荷增大,所以确定提取时间为2 h。

2.2.2 提取温度对收率的影响 物水比1:20,分别在20,30,40,50,60,70℃水浴中加热搅拌提取2 h,提取1次。测定多糖提取收率,结果见图2。

由图2可以看出,60℃以下时,多糖收率随温度升高而上升,当温度大于60℃后,多糖收率有所下降,其原因是低温时物质的扩散较高温时慢,造成相同提取时间低温提取收率较低。70℃时收率又

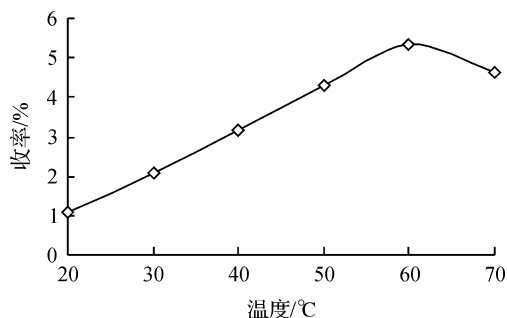


图2 提取温度对收率的影响

Fig.2 Effects of extraction temperature on extraction yield 下降分析与山药多糖的热敏性有关,部分多糖降解使收率降低。过高的温度和过长的提取时间会使山药粉糊化,不利于分离;温度的提高也代表了能耗的增加,因此确定多糖提取温度为60℃。

2.2.3 物水比对收率的影响 物水比分别为1:5,1:10,1:15,1:20,1:25,1:30,在60℃水浴中加热搅拌提取2 h,提取1次。测定多糖提取收率,结果见图3。

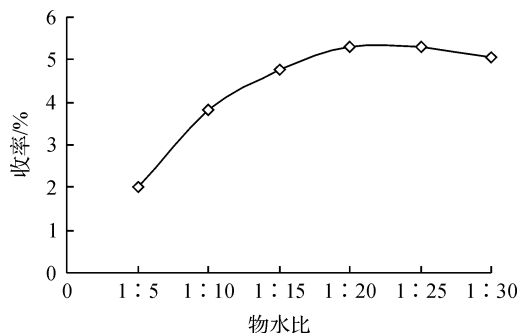


图3 物水比对收率的影响

Fig.3 Effects of material-water ratio on extraction yield

由图3可知,当物水比小于1:20时,多糖收率随着物水比的增加而增大,这是由于山药多糖提取过程中溶质的推动力影响,推动力随物水比的增加而增加,但在物水比大于1:20时,多糖收率反而有所下降。物水比大则水用量大,使浓缩过程的产品损耗增大,并且大的物水比就需要大的提取设备,浓缩的能耗也急剧上升。物水比小会使推动力减小,提取液也过于黏稠,容易有胶状物悬浮,难分离而收率降低,所以在提取多糖时取物水比选1:20。

2.2.4 提取次数对收率的影响 物水比1:20,在60℃水浴中加热搅拌提取2 h,分别浸提1,2,3次。测定多糖收率,结果分别是5.32%,5.33%,5.49%;由此可以看出,提取次数对多糖收率影响不大,虽然收率有所提高,但是提高的增量与幅度分别为2次:0.01%,0.2%,3次:0.17%,3.2%,虽然产

品收率小幅度的提高可以增加产品的产量和效益,但所带来的问题是能耗的成倍增加,水用量的加倍,浓缩体积的加大,蒸汽冷凝量的加大,从能耗和水用量上考虑,增加提取次数所带来的收益弥补不了消耗的增大,故选提取次数为 1 次。

2.2.5 单因素较佳条件的实验 由以上实验结果得到单因素的较佳条件是:预处理时间(2+2) h,提取时间 2 h,提取温度 60 ℃,物水比 1:20,提取次数 1 次。在上述条件下进行重复验证实验,得到山药多糖的收率为 5.16%。该结果与单因素实验中收率最大值比相差 3.0%,在操作与分析误差范围之内,说明提取操作重复性较好。

2.2.6 回收溶剂在较佳条件的实验 该提取方法用的溶剂量相当大,水提前为避免糊化而先用乙醇预处理需要耗用大量乙醇,如果溶剂不回收,产品的成本相当高,不具有工业使用价值。因此将用过的溶剂进行回收,用处理过的溶剂代替新鲜溶剂在单因素较佳条件下进行 2 次提取实验,得到山药多糖的平均收率为 4.89%,收率减少幅度为 6.7%。提取收率比新鲜溶剂有所降低,分析是由于每次操作多糖的损失量不同,加上实验产品量小,使其差距偏大;工业化生产时,产量大,可以肯定差距会缩小。溶剂的回收循环利用是降低生产成本的重要因素,也是该提取方法工业化应用的前提,实验证明该方法可行。

提取过多糖的残渣中大部分是淀粉,可以考虑回收利用,也可以采用其他方法提取另外的有效成分,本文不作具体探讨。综合考虑溶剂的回收及淀粉等的回收利用后,多糖提取的经济性可有很大的改变,具有工业应用价值。

3 结 论

实验结果表明:

1)乙醇预处理时间(2+2) h,提取时间 2 h,提

取温度 60 ℃,物水比 1:20,提取次数 1 次为较佳工艺条件;

2)重复验证实验说明提取操作重复性较好;

3)用回收的溶剂进行提取,得到的结果与新鲜溶剂相当,说明溶剂回收再利用可行。

参考文献:

- [1] SAUTOUR Marc, MITAINE Offer A C, MIYAMOTOT, et al. A New Phenanthrene Glycoside and Other Constituents from *Dioscorea Opposite* [J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52(10):1235-1237.
- [2] 姜芳婷,李明静,史会齐,等.山药的研究[J].河南大学学报, 2004, 23(2):4-6.
- [3] 李锋涛,陈毓.山药的研究进展[J].海峡药学, 2008, 20(10):91-93.
- [4] MARTIN F W, THOMPSON A E. Crude Protein Content of Yams[J]. Hortscience, 1971, 6(6):545-546.
- [5] 赵国华,立志孝.山药多糖的免疫调节作用[J].营养学报, 2002, 24(4):187-188.
- [6] IWU M M, OKUNJI C O, AKAH P, et al. Dioscoretine: the Hypoglycemic Principle of *Dioscorea Dumetorum* [J]. Planta Med, 1990, 56(1):119-120.
- [7] 王刚,杜士明,肖森生.山药多糖的提取分离及山药总多糖的含量测定[J].中国医院药学杂志, 2007, 7(10):1414-1416.
- [8] 许本波,张世俊,江洪波.微波辅助法提取山药多糖的研究[J].安徽农学通报, 2007, 13(12):34-35.
- [9] 李金忠,马海乐,吴沿友.山药多糖的超声辅助提取技术研究[J].食品研究与开发, 2005, 4(26):72-75.
- [10] 张元,林强,魏静娜,等.酶法提取山药中多糖的工艺研究[J].中国中药杂志, 2008, 33(4):374-377.
- [11] 梁亦龙,阎光凡,舒坤贤,等.山药水溶性多糖的提取及抗氧化性研究[J].食品研究与开发, 2007, 128(11):1-3.
- [12] 程林,陈斌,蔡宝昌.正交实验法优选山药多糖的提取工艺[J].中国药物与临床, 2005, 9(5):650-651.