

# 盐碱滩涂菊芋菊糖的提取纯化及其聚合度分布

王月霞, 周佳栋, 曹 飞\*, 余作龙, 张芙蓉, 黄荣醒

(南京工业大学生物与制药工程学院, 江苏 南京 210009)

**摘 要:** 对来自江苏盐城盐碱滩涂上生长的菊芋中菊糖的提取纯化与聚合度分布进行研究。经过菊芋成分分析可知, 来自盐碱滩涂的菊芋灰分含量较高; 通过考察不同提取条件, 确定最优提取条件为 90℃ 水浴、料液比(g/mL)1:15、提取时间 40min、提取两次后提取率可达 89.56%。与传统的磷酸-石灰乳法纯化相比, 采用截留分子质量为 10kD 的有机膜可去除大分子蛋白质及果胶, 蛋白质去除率及菊糖得率分别提高了 27.12% 和 13.41%。采用不同截留分子质量的超滤膜对提取液中菊糖的聚合度分布进行分析, 其聚合度主要分布在 16~60 之间, 占总菊糖成分的 76.1%。确定了活性炭脱色的最佳条件为活性炭用量 5g/L、60℃ 脱色 20min, 脱色率达 92.87%, 菊糖得率 91.63%。超滤纯化方法简便、快速, 大大减少了纯化工序, 便于工业化应用。

**关键词:** 盐碱滩涂; 菊芋; 菊糖; 提取纯化; 聚合度

## Extraction, Purification and Polymerization Degree Distribution of Inulin from *Jerusalem artichoke* Grown in Saline-alkaline Soil

WANG Yue-xia, ZHOU Jia-dong, CAO Fei\*, YU Zuo-long, ZHANG Fu-rong, HUANG Rong-xing

(College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

**Abstract:** The extraction and purification of inulin from *Jerusalem artichoke* grown in the saline-alkaline soil of Yancheng, Jiangsu province. The ash content of the botanic material was higher than those previously reported in the literature for *Jerusalem artichoke* samples from Fujian province and Gan county, Jiangxi province. Twice repeated extraction for 40 min each time at 90 °C with a 15-fold volume of water proved optimal, and the resulting extraction efficiency was 89.56%. Ultrafiltration membrane separation with 10 kD MWCO membrane could more effectively remove macromolecular substances such as protein and pectin from the obtained inulin extract when compared with the conventional phosphate-lime milk method, and the removal rate of protein and the retention ratio of inulin were improved by 27.12% and 13.41%, respectively. Polymerization degree analysis of different MWCO (10000, 5000, 2500 D and 340 D) fractions of the inulin extract showed that the polymerization degrees of inulin were varied from 16 to 60, which accounted for 76.1% of the total inulins. The optimal decoloration conditions for the inulin extract were activated carbon dosage of 5 g/L, decoloration temperature of 60 °C and decoloration time of 20 min. Under these conditions, the decoloration efficiency and the recovery of inulin were 92.87% and 91.63%, respectively. Therefore, ultrafiltration can greatly reduce the separation procedure due to convenience and rapidity and fewer procedures, thus showing a very promising prospect for industrial applications.

**Key words:** saline-alkaline beach; *Jerusalem artichoke*; inulin; extraction and purification; degree of polymerization

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)12-0164-05

菊芋(*Jerusalem artichoke*)俗称洋姜、鬼子姜、地姜等, 为菊科向日葵属多年生宿根性草本植物, 原产于北美, 在我国各地广泛栽培, 其块茎富含菊糖。菊糖含量为菊芋湿质量的 10%~20%, 干质量的 80% 左右<sup>[1]</sup>。菊糖是 D- 呋喃果糖以  $\beta$ -2,1- 糖苷键连结而成的多聚果糖, 其还原端接一葡萄糖基, 呈直链结构, 其聚合度

为 2~60<sup>[2]</sup>。作为一种天然功能性食用多糖<sup>[3]</sup>, 菊糖已被广泛应用于低热量、低糖、低脂食品中<sup>[4]</sup>。不同聚合度的菊糖有不同的生理功能, 低聚合度的菊糖对于促进生长发育、防止骨质疏松症<sup>[5]</sup>、提高免疫力和抗病力<sup>[6]</sup>具有明显作用; 高聚合度的菊糖可用于制备超高果糖浆<sup>[1]</sup>、双果糖酐<sup>[7]</sup>、代脂肪等<sup>[8]</sup>。

收稿日期: 2010-09-01

基金项目: 国家“973”计划项目(2009CB724700); 国家自然科学基金青年基金项目(30900009);

江苏省自然科学基金项目(BK2010557); 江苏省普通高校研究生创新计划项目(CX08B\_115Z)

作者简介: 王月霞(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物化工。E-mail: yuexia\_w@163.com

\* 通信作者: 曹飞(1975—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为生物化工。E-mail: csaoifeiw@njut.edu.cn

文献[9-11]报道的菊糖提取主要是热水提取法,超声波<sup>[12-13]</sup>、微波<sup>[14]</sup>进行提取的方法仅限于实验室研究。纯化步骤主要采用磷酸-石灰乳法<sup>[15-16]</sup>,该方法对于蛋白去除率低,容易在后续产品中引入杂质,而膜分离技术作为新兴的分离技术,在多糖纯化中也有应用<sup>[17-18]</sup>。本实验以盐碱滩涂菊芋为研究对象,分析盐碱滩涂菊芋干片的主要成分;研究热水提取法的最佳提取条件;在菊糖提取液纯化时引入单步膜分离,一步去除蛋白质、果胶和色素等大分子物质,减少菊糖损失;并采用多级膜分离对菊糖聚合度分布进行初步研究。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

产自江苏盐城滩涂菊芋 盐城绿源海蓬子有限公司;苯酚(分析纯) 上海凌峰化学试剂有限公司;果糖(生化试剂)、酒石酸钾钠、3,5-二硝基水杨酸、蒽酮、无水乙醚(均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司;活性炭(ZX-3011) 溧阳竹溪活性炭有限公司。

### 1.2 仪器与设备

FZ102型微型植物粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司;JJ-1型增力电动搅拌机 江苏金坛市医疗仪器厂;WMNK 401型数字温度控制仪 上海华辰医用仪表有限公司;FA1004N型电子天平 上海精密科学仪器有限公司;85-1型磁力搅拌器 江苏金坛市医疗仪器厂;LNG-NF-101型实验室专用超滤膜分离设备 上海朗极化工科技有限公司;XL-1型马弗炉 鹤壁亿欣仪器仪表有限公司;101A-2型电热鼓风干燥箱 上海实验仪器厂有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 粗菊芋粉的制备

新鲜菊芋洗净,切片,于60℃电热恒温鼓风干燥箱中干燥24h,得菊芋干片;进一步用粉碎机粉碎,得到粗菊芋干粉,备用。

#### 1.3.2 菊芋菊糖提取

称取1.3.1节得到的粗菊芋干粉于圆底烧瓶中,加入一定比例的蒸馏水,置于电热恒温水浴锅中,加热至不同温度,搅拌,提取不同时间。提取结束后,过滤,滤饼继续用蒸馏水同样再提取一遍,过滤,合并粗滤液,离心,得澄清的菊糖提取液,测定提取液中菊糖含量,计算出提取率,确定最佳提取条件。

$$\text{提取率}/\% = \frac{\text{提取得到的菊糖质量}}{\text{菊芋中菊糖总质量}} \times 100$$

#### 1.3.3 纯化

将1.3.2节得到的菊糖提取液平均分成两份,分别

采用石灰乳-磷酸法纯化和超滤膜法进行纯化。

##### 1.3.3.1 石灰乳-磷酸法纯化

取少量熟石灰加少量的蒸馏水配成乳液,将菊糖提取液倒入烧杯中冷却,慢慢向其中加石灰乳,至pH11(提取液颜色为赤豆红色),片刻后,放入80℃水浴锅中保温1h,8000r/min离心15min,上层清液用磷酸调pH8.0,离心15min,得离心液。

##### 1.3.3.2 超滤膜法纯化

利用膜孔选择性的筛分作用,在压力驱动下,将菊糖提取液中大分子物质(蛋白质、果胶等)截留,考虑到菊糖的聚合度,选择截留分子质量为10kD的膜件,操作压力0.5MPa,操作温度15℃,得到澄清透明的菊糖纯化液。

#### 1.3.4 菊糖聚合度分布测定

参照文献[19-20]的方法,可以通过不同截留分子质量的超滤膜的筛分作用,分析菊芋菊糖的聚合度情况。将1.3.2节得到的菊糖提取液依次通过截留分子质量10000、5000、2500、340D的超滤膜,操作压力0.5MPa,操作温度15℃,然后测定每段的菊糖的含量以了解菊芋菊糖的聚合度分布。

#### 1.3.5 脱色

选用ZX-3011糖脱色活性炭,对1.3.3.2节得到的菊糖纯化液进行脱色,采用不同的活性炭用量,不同温度下脱色不同时间,测定色度及菊糖含量,计算出脱色率及菊糖得率,确定最佳脱色条件。

#### 1.3.6 冷冻干燥

将1.3.5节得到的菊糖脱色液冷冻干燥,得白色菊糖。

### 1.4 指标测定

#### 1.4.1 菊芋干片成分分析

菊芋干片中脂肪的测定:GB/T 5512—1985《粮食、油料检验:粗脂肪测定法》;菊芋干片中脂肪的菊芋干片中水分测定:GB/T 5497—1985《粮食、油料检验:水分测定法》;菊芋干片中灰分测定:GB/T 5505—1985《粮食、油料检验:灰分测定法》;菊芋干片中粗纤维测定:GB/T 5009.10—2003《植物类食品中粗纤维的测定》。

#### 1.4.2 多糖含量的测定

采用硫酸-蒽酮法测多糖含量。标准曲线的绘制:配制不同质量浓度梯度的果糖标准液,置于冰浴中,分别向各管中加蒽酮试剂后,同时放到沸水浴中,精确加热8min,立即取出冷却至室温,于620nm波长处测各管的吸光度,以吸光度为纵坐标,果糖溶液质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

#### 1.4.3 蛋白质含量的测定

采用考马斯亮蓝法测蛋白质含量。标准曲线的绘制:以牛血清白蛋白溶液为标准,配制不同质量浓度的牛血清白蛋白标准液,将标准液与考马斯亮蓝工作液 1:10 振荡混匀,测定波长 595nm 处的吸光度,以吸光度为纵坐标,牛血清白蛋白溶液质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

#### 1.4.4 色度测定

对菊糖脱色液进行全波长扫描,发现在紫外区吸收呈不稳定的波动状态,在可见区波长 420nm 处吸光度较大,以蒸馏水作空白,测定菊糖脱色液在波长 420nm 处的吸光度。

## 2 结果与分析

### 2.1 菊芋干片成分分析

菊芋耐寒抗旱,适应性强,在我国大部分地区都有栽培,但是不同的生长环境对于菊芋地下根茎及地上枝叶成分有一定的影响,本实验选择来自江苏盐城盐碱滩涂的菊芋,对其干片的成分进行了分析,结果见表 1。

表 1 菊芋干片主要成分的含量

Table 1 Major component contents in dry slices of Jerusalem artichoke grown in the saline-alkaline soil of Yancheng, Jiangsu province

成分	菊糖	蛋白质	脂肪	粗纤维	灰分	水分
含量/%	76.51	4.11	3.57	2.59	6.69	6.53

相对文献中产于福建省的菊芋<sup>[21]</sup>和产于江西赣县的菊芋<sup>[22]</sup>,江苏盐城盐碱滩涂生长的菊芋中灰分含量较高。文献<sup>[23]</sup>表明,在海水灌溉条件下,栽培菊芋地的土壤电导率和无机盐含量有显著下降的趋势,这说明菊芋有很高的除盐能力,因而该地区的菊芋中灰分含量较一般的菊芋高。

### 2.2 菊芋菊糖最佳提取条件的确定

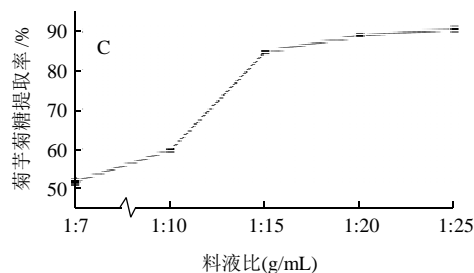
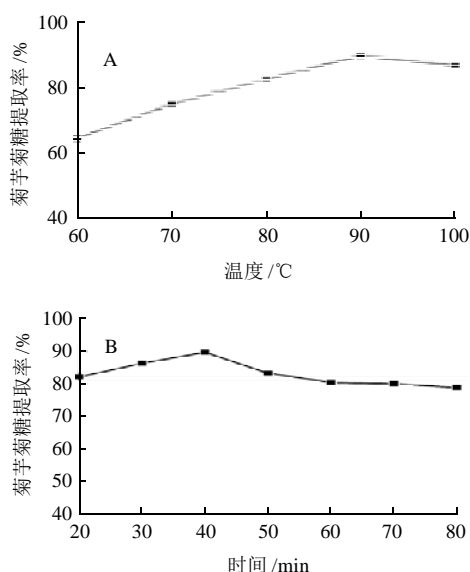


图 1 温度(A)、时间(B)及料液比(C)对提取率的影响

Fig.1 Effect of temperature, time and material-to-liquid on extraction rate of inulin

菊芋菊糖的提取受提取温度、提取时间、提取料液比及提取次数的影响,采用单因素试验,考察各因素对提取收率的影响,其结果见图 1 及表 2。

从图 1A 可以看出,提取温度从 60℃ 升高到 90℃,提取率有较为显著的提高,这主要是由于温度越高,菊糖的溶解性越好,提取率就越高,而当温度达到 100℃ 时,可能是由于温度过高,导致菊糖出现了分解,使菊糖提取率反而下降,因此提取温度选取 90℃ 比较合适。从图 1B 可以看出,菊糖的提取率随着提取时间先增加后有减少,可能是由于在提取温度 90℃ 情况下,加热时间延长,引起了菊糖的分解。因此提取时间选取 40min 为宜。从图 1C 可以看出,水用量的增加,能使菊糖充分溶解,从而提高提取率,但水用量过大,则提取液中的菊糖质量浓度低,这将给后续的脱色浓缩工序增加困难,因此保持 1:15 的料液比是较为适宜的。

表 2 提取次数对菊糖的提取率的影响

Table 2 Effect of number of repeated extraction on extraction rate of inulin

提取次数	1	2	3
提取率/%	84.77	89.56	90.21

提取次数越多,提取率越高,进行 2 次提取后,提取率已达 89.56%,而 3 次提取后提取率提高并不明显,从节约水和能源考虑,菊芋菊糖的提取次数以 2 次为宜。

### 2.3 超滤法与传统法纯化结果比较

超滤法操作简单,一次操作过 MWCO 为 10kD 的膜,即可得到澄清透明的菊糖溶液,采用传统的石灰乳-磷酸法,需要反复操作,以蛋白去除率、透光率和菊糖得率为指标考察超滤法与传统法,结果见表 3。

表 3 超滤法与传统法纯化结果比较

Table 3 Comparison of ultrafiltration and conventional phosphate-lime milk method for purifying crude inulin extract

纯化方法	蛋白去除率/%	脱色率/%	菊糖得率/%
传统法	68.71	43.55	74.32
超滤法	95.83	52.18	87.73

从表3可以看出,超滤膜法在蛋白去除率及菊糖得率上均远超过传统的石灰乳纯化法,分别提高了27.12%和13.41%,而且操作简单易行,膜虑法可以去除部分大分子的色素,但是脱色并不完全,与传统的石灰乳纯化法优势不明显,因而需要进一步脱色处理。

#### 2.4 菊芋提取液中菊糖聚合度分布及比例

鉴于不同聚合度果糖的不同生理功能,本实验分析该盐碱滩涂菊芋中菊糖的聚合度,将菊芋菊糖提取液依次通过截留分子质量为10000、5000、2500、340D的超滤膜,然后测定每段的菊糖的含量,以初步确定菊糖的聚合度分布。其聚合度分布情况见图2。可知该盐碱滩涂的菊芋中菊糖的聚合度(degree of polymerization, DP)及其比例为:  $DP > 60$  所占比例为8.3%、 $30 < DP < 60$  所占比例为32.4%、 $15 < DP < 30$  所占比例为43.7%、 $DP < 15$  所占比例为15.6%。

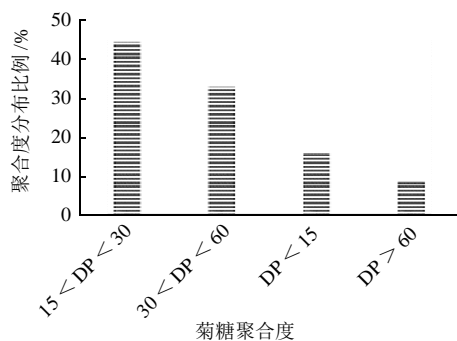


图2 菊糖聚合度分布及比例  
Fig.2 Polymerization degree distribution of inulin

#### 2.5 最佳脱色条件确定

由于菊糖提取液经纯化处理后,颜色并未完全去除掉,需要进一步脱色处理。本实验采取了不同活性炭对菊糖提取液进行脱色,其中采用ZX-3011糖脱色活性炭脱色效果最好,菊糖得率相对较高。由于脱色过程中活性炭用量、脱色时间、脱色温度对脱色效果都有一定的影响,故采用单因素试验研究考察了最佳脱色条件,结果见图3。

从图3A可以看出,脱色率随着活性炭的用量增加而逐渐提高,但同时菊糖得率呈下降趋势,以脱色率和菊糖得率综合考虑,选择活性炭用量为5g/L。从图3B可以看出,温度对脱色率影响不明显,随着温度的升高,菊糖得率有少量降低,只有升温到100℃时菊糖得率会明显降低,可能是高温时菊糖分解的原因,因而选择60℃即可。从图3C可以看出,脱色率随着时间增加而逐渐提高,但20min后,随着时间的增加脱色率提高并不明显,相反菊糖得率随时间呈明显的下降趋势,故选择脱色时间20min。在最佳脱色条件下,脱

色率高达92.87%,菊糖得率也在91.63%。

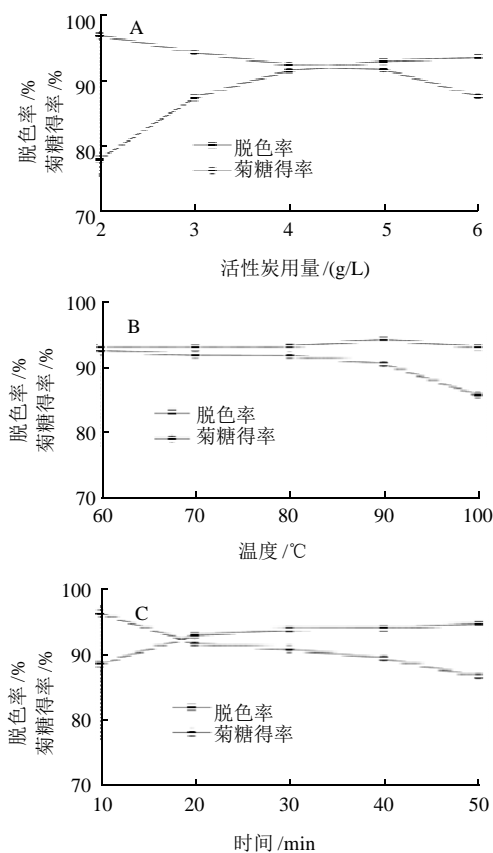


图3 活性炭用量(A)、温度(B)及时间(C)对脱色率和菊糖得率的影响

Fig.3 Effect of activated charcoal dosage, decoloration temperature and time on decoloration efficiency and inulin recovery

### 3 结论

选用江苏盐城盐碱滩涂地区的菊芋,分析该地区菊芋干片的成分,发现盐碱滩涂地区的菊芋中灰分含量明显较其他地区的菊芋高;通过单因素试验确定最佳提取条件:提取温度90℃,提取时间40min、料液比1:15,提取两次后提取率达89.56%;比较了超滤分离与传统的磷酸-石灰乳法对菊糖提取液纯化的效果,采用MWCO为10kD的膜件可去除大分子蛋白质及果胶,与传统方法相比大大减少了提纯工序,同时蛋白质去除率及菊糖得率分别提高了27.12%和13.41%;对菊糖溶液进行聚合度分析,得不同聚合度比例如下:  $DP > 60$  所占比例为8.3%、 $30 < DP < 60$  所占比例为32.4%、 $15 < DP < 30$  所占比例为43.7%、 $DP < 15$  所占比例为15.6%;确定了活性炭脱色的最佳条件为活性炭用量5g/L,60℃脱色20min,脱色率达92.87%,菊糖得率也在91.63%;最后冷冻干燥得到白色的菊糖。

## 参考文献:

- [1] 曹力强. 菊芋的特征特性及栽培[J]. 农业科技与信息, 2008(11): 57.
- [2] 殷洪, 林学进. 菊粉、低聚果糖的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2008(3): 97-101.
- [3] ROBINSON R K. The potential of inulin as a functional ingredient[J]. British Food Journal, 1995, 97(4): 30-32.
- [4] NAIR K K, KHARB S, THOMPSON D K. Inulin dietary fiber with functional and health attributes a review[J]. Food Reviews International, 2010, 26(2): 189-203.
- [5] BONNEMA A L, KOLBERG L W, TSHOMA W, et al. Gastrointestinal tolerance of chicory inulin products[J]. Journal of the American Dietetic Association, 2010, 110(6): 865-868.
- [6] 侯东军, 曾凡坤. 菊粉低聚糖生产的研究进展[J]. 广州食品工业科技, 2002, 19(1): 41-43.
- [7] KIKUCHI H, INOUE M, SAITO H, et al. Industrial production of difructose anhydride III (DFA III) from crude inulin extracted from chicory roots using *Arthrobacter* sp. H65-7 fructosyltransferase[J]. Journal of the Bioscience and Bioengineering, 2009, 107(3): 262-265.
- [8] 胡娟, 金征宇. 菊糖作为脂肪替代品在植脂奶油中的应用[J]. 食品工业科技, 2007, 28(9): 61-63.
- [9] 严慧如, 黄绍华, 余迎利. 菊糖的提取及纯化[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 14(1): 65-69.
- [10] ZHAO Zhi, ZHU Hongji, YU Jinjin, et al. Impurity removal from inulin extract of *Jerusalem artichoke* Tubers by Carbonation[J]. Food Science, 2009, 30(14): 67-71.
- [11] 熊善柏, 赵山, 李云捷, 等. 菊糖的提取与精制[J]. 冷饮与速冻食品工业, 2001, 7(4): 1-3.
- [12] LI Haizhou, PORDESIMO L, WEISS J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans[J]. Food Research International, 2004, 37(7): 737-738.
- [13] 胡建锋, 邱树毅, 周剑丽. 超声波辅助提取菊芋中菊粉的工艺研究[J]. 广西轻化工, 2009, 125(4): 6-8.
- [14] 王启为, 张境, 张霞, 等. 用微波法提取菊芋中的菊糖[J]. 宁夏大学学报: 自然科学版, 2002, 23(4): 350-351.
- [15] WEI Lingyun, WANG Jianhua, ZHENG Xiaodong, et al. Studies on the extracting technical conditions of inulin from *Jerusalem artichoke* Tubers[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79(3): 1087-1093.
- [16] 高健, 彭斌, 徐红. 菊芋中菊糖的提取分离研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(1): 184-185.
- [17] 霍汉镇. 膜分离技术及其在制糖工业中的应用[J]. 甘蔗糖业, 2001(6): 30-36.
- [18] 赵永良, 韩骁, 刘景彬, 等. 膜分离技术在甜菊糖甙提取分离中的应用研究[J]. 化学与生物工程, 2010, 27(1): 84-85.
- [19] FRANK T M, MARINELLA B V L, JAN A D. Enrichment of higher molecular weight fractions in inulin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(12): 3780-3783.
- [20] KAMADA T, NAKAJIMA M, NABETANI H, et al. Availability of membrane technology for purifying and concentrating oligosaccharides[J]. European Food Research and Technology, 2002, 214(5): 435-440.
- [21] 郑文竹, 姚炳新, 魏文铃, 等. 从菊芋制备菊粉糖液的方法和菊芋干片成分分析[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 1996, 35(1): 112-115.
- [22] 胡娟. 菊芋菊糖的纯化及在植脂奶油中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2007.
- [23] 杨君, 姜吉禹. 海水灌溉条件下菊芋种植密度对土壤无机盐及产量的影响[J]. 吉林师范大学学报: 自然科学版, 2009(2): 17-18.