

# 盾叶薯蓣提取薯蓣皂甙元后废料发酵制取酒精的研究

华怀杰<sup>1</sup>, 钟世安<sup>1,\*</sup>, 何 艳<sup>2</sup>, 乔 蓉<sup>1</sup>, 李 维<sup>1</sup>

(1. 中南大学化学化工学院, 湖南 长沙

410083 2. 深圳信立泰药业有限公司, 广东 深圳

518040)

**摘 要:** 为研究盾叶薯蓣提取薯蓣皂甙元后废料发酵制取酒精的最佳实验条件, 以酒精产量为评价参数, 采用五因素四水平的正交试验, 用可见分光光度法对 16 种制取方法所得到的酒精进行比较分析。结果表明, 酒精与重铬酸钾溶液经加热显色后, 在 585 nm 波长有最大吸收波长, 酒精体积百分比浓度在 0.028%~0.24% 范围内线性关系良好( $r=0.9998$ ); 发酵时间对于酒精产量影响最大, 在实验室条件下, 采用 50g 原料使用 7U/g 原料淀粉酶、110U/g 原料纤维素酶、110U/g 原料糖化酶、0.04g/g 原料酵母发酵 4d, 可使酒精产量达到最大。

**关键词:** 盾叶薯蓣; 酒精; 发酵

Research on Fermentation Conditions for Alcohol Production by Residue from Diosgenin Processing

HUA Huai-jie<sup>1</sup>, ZHONG Shi-an<sup>1,\*</sup>, HE Yan<sup>2</sup>, QIAO Rong<sup>1</sup>, LI Wei<sup>1</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China;

2. Shenzhen Salubris Pharmaceuticals Co. Ltd., Shenzhen 518040, China)

**Abstract:** To research the optimum fermentation conditions for alcohol production by residue from diosgenin processing, several important factors were analyzed in the orthogonal test of five factors and four levels. The content of alcohol was valued as an evaluation index using spectrophotometry. The results indicated that the linear range of calibration curve was 0.028%~0.24% ( $r=0.9998$ ) after color reaction, and optimal fermentation conditions were determined as follows: the use level of  $\alpha$ -amylase as 7 U/g, cellulase 110 U/g, glucoamylase 110 U/g, yeast 0.04 g/g, and 4 days fermentation time.

**Key words** *Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright; alcohol; fermentation

中图分类号: 0657.32

文献标识码 A

文章编号: 1002-6630(2008)02-0196-03

盾叶薯蓣, 又名黄姜, 是薯蓣科植物盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright)的根茎, 其主要活性成分为薯蓣皂甙元(diosgenin)<sup>[1]</sup>。薯蓣皂甙元是合成多种甾体激素类药物的重要原料, 如双烯醇酮醋酸酯、黄体酮、强的松、可的松系列以及催产素、避孕药等<sup>[2-4]</sup>。

薯蓣皂甙元的提取方法有常规酸水解法<sup>[5-6]</sup>、自然发酵法<sup>[7]</sup>、酶解发酵法<sup>[8]</sup>和超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术<sup>[9]</sup>。本实验采用以甲醇为提取剂使用索氏提取器先从盾叶薯蓣中回流提取总皂甙, 再经酸水解, 最后用溶剂汽油在索氏提取器中回流提取薯蓣皂甙元, 该法具有酸水用量大为减少, 而盾叶薯蓣中的淀粉未进入酸水解阶段, 能较好地保留提取后的废料等优点。淀粉原料发酵制取酒精

的工艺比较成熟, 本实验在参考木薯等原料发酵制取酒精<sup>[10]</sup>的基础上, 通过正交试验研究盾叶薯蓣提取薯蓣皂甙元后废料发酵制取酒精的工艺。根据酒精与重铬酸钾的显色反应<sup>[11]</sup>, 改进酒精定量分析方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

新鲜盾叶薯蓣 浏阳金宇科技发展有限公司。

无水乙醇(分析纯) 天津市大茂化学试剂厂; 重铬酸钾(分析纯) 天津市大茂化学试剂厂; 浓硫酸(分析纯) 湖南省石英化玻有限责任公司; 耐高温  $\alpha$ -淀粉酶(20000U/mL) 湖南津市新型发酵有限责任公司; 糖化酶(50000U/g) 湖南鸿鹰翔生物工程股份有限公司; 纤维

收稿日期: 2006-12-25

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目(04JJ3080)

作者简介: 华怀杰(1982-), 男, 硕士研究生, 主要从事植物活性成分的提取与分离研究。E-mail: huahuaijie@163.com

\* 通讯作者: 钟世安(1972-), 男, 副教授, 博士, 主要从事药物提取与分离研究。E-mail: zhongshian@sohu.com

素酶(800U/g) 北京东华强盛生物技术有限公司; 高活性干酵母 安琪酵母股份有限公司; 硫酸铵 天津市大茂化学试剂厂; 氨苄青霉素钠 上海生工生物工程技术服务有限公司; 蒸馏水自制。

Explorer-11140 型电子天平 瑞士 OHAUS 公司; 756MC 型紫外可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司; KDM 型电热套 山东华鲁电热仪器有限公司; 101-3型电热鼓风恒温干燥箱 上海光地仪器设备有限公司; R-201 型旋转蒸发仪 上海申科机械研究所。

## 1.2 分析方法的建立

### 1.2.1 最大吸收波长的确定

酒精与重铬酸钾溶液经加热后, 可使溶液由橙黄色变为墨绿色, 本实验采用稀释后的硫酸和重铬酸钾溶液(5%, m/V) 对酒精进行显色。实验证明, 50% 的硫酸溶液能较好地显色, 而且没有剧烈的散热, 减少酒精因蒸发的损失。用 756MC 型紫外可见分光光度计对经显色后的酒精对照品溶液在 400~800nm 波长范围内进行扫描, 再进行波峰扫描, 得知在 585nm 波长处有明显的吸收峰, 如图 1 所示。

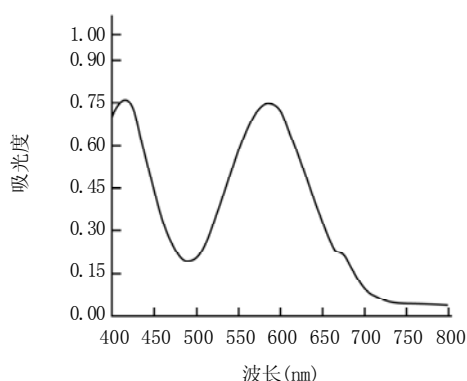


图1 显色后酒精的可见吸收光谱图

Fig.1 Visible absorption spectrum of alcohol after color reaction

### 1.2.2 校准曲线的建立

分别移取稀释后的酒精对照品溶液(0.4%, V/V) 0.7、1、2、3、4、5 和 6ml 于 25ml 具塞试管中, 分别滴加重铬酸钾溶液(5%, m/V) 2ml 和硫酸溶液(50%, V/V) 2ml, 用蒸馏水定容至 10ml, 于沸水浴中加热 20min 后, 取出冷却。以空白试剂作参比, 用 1cm 比色皿在 585nm 波长处测定上述溶液的吸光度。用最小二乘法进行线性回归, 得到吸光度(A) 和酒精对照品溶液(C, V/V) 的线性方程为:  $A=3.8078C+0.0154$ , 相关系数  $r=0.9998$ , 表明此方法体积百分比浓度在 0.028%~0.24% 范围内, 显色后的酒精溶液与其吸光度值线性关系良好, 可以作为酒精含量的检测方法, 校准曲线如图 2 所示。

## 1.3 发酵制取酒精的最优工艺条件研究

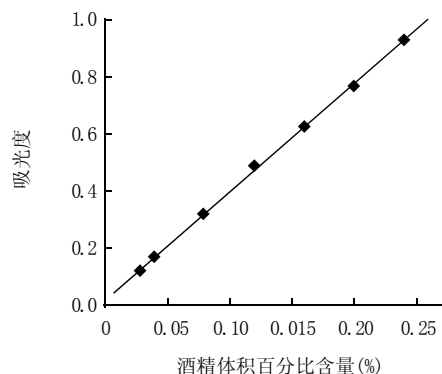


图2 校准曲线

Fig.2 Calibration curve

### 1.3.1 制取方法

取经甲醇提取薯蓣皂甙后的新鲜盾叶薯蓣, 按 1:2 加水后调 pH 值至 5.0, 置于 500ml 烧瓶中, 回流加热至 60℃, 加入不同单位的耐高温  $\alpha$ -淀粉酶, 保持温度 20min, 继续加热至沸腾, 持续沸腾 2h, 降温至 60℃ 后, 加入经化开不同单位的糖化酶和纤维素酶, 保持温度 40min, 冷却至 39℃ 时, 加入经 39℃ 水活化不同质量的高活性干酵母, 同时加入 0.11g 硫酸铵和 0.2% 的氨苄青霉素钠溶液 5ml。将烧瓶置于 39℃ 环境中发酵, 经过不同时间发酵后的烧瓶, 用旋转蒸发仪回收酒精, 用蒸馏水定容至 100ml, 备用。

### 1.3.2 正交试验的设计

本研究选定淀粉酶用量、纤维素酶用量、糖化酶用量、酵母用量和发酵时间作为考察因素, 以酒精产量作为评价因素, 应用  $L_{16}(4^5)$  正交表安排试验。因素水平如表 1 所示。原料重量以未提取薯蓣皂甙前的新鲜盾叶薯蓣初始重量为准, 本方法采用 50g 原料安排正交试验。

## 2 结果与分析

取按 1.3.1 方法和 1.3.2 正交设计试验制备的样品溶液, 将其稀释至 0.028%~0.24% 范围内, 根据 1.2 建立的分析方法分别测定吸光度, 最后按线性回归方程  $A=3.8078C+0.0154$  进行计算, 从而可以得到不同提取条件下酒精的产量, 实验结果如表 2 所示。因素的极差 R 越大则对试验结果影响越大, 由正交试验结果分析, 可知因素的主次关系为发酵时间(E) > 糖化酶用量(C) > 淀粉酶用量(A) > 酵母用量(D) > 纤维素酶用量(B), 即发酵时间的变化对实验结果影响最大。从实验结果要求而言, 酒精产量越大越好, 即指标值越大越好, 从 k 值可以看出  $A_3B_1C_3D_1E_3$  为最优条件, 即得到较好的实验条件: A: 7U/g 原料, B: 110U/g 原料, C: 110U/g 原料, D: 2g/50g 原料, E: 4d。分析的得到的最优条件未

表1 正交试验因素水平表  
Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素				
	A淀粉酶用量(U/g 原料)	B纤维素酶用量(U/g 原料)	C糖化酶用量(U/g 原料)	D酵母用量(g/50g原料)	E发酵时间(d)
1	5	110	90	2	2
2	6	120	100	2.5	3
3	7	130	110	3	4
4	8	140	120	3.5	5

表2 L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>)正交试验结果  
Table 2 Results of L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>) orthogonal test

试验号	列号					产量(ml)
	A	B	C	D	E	
1	1	1	1	1	1	1.02
2	1	2	2	2	2	0.68
3	1	3	3	3	3	2.84
4	1	4	4	4	4	1.38
5	2	1	2	3	4	1.72
6	2	2	1	4	3	1.97
7	2	3	4	1	2	1.68
8	2	4	3	2	1	0.92
9	3	1	3	4	2	2.68
10	3	2	4	3	1	1.62
11	3	3	1	2	4	1.72
12	3	4	2	1	3	4.31
13	4	1	4	2	3	3.82
14	4	2	3	1	4	3.51
15	4	3	2	4	1	0.92
16	4	4	1	3	2	0.78
k <sub>1</sub>	1.480	2.310	1.373	2.630	1.120	
k <sub>2</sub>	1.573	1.945	1.907	1.785	1.455	
k <sub>3</sub>	2.583	1.790	2.487	1.740	3.235	
k <sub>4</sub>	2.257	1.847	2.125	1.737	2.082	
R	1.103	0.520	1.114	0.893	2.115	

在正交试验中出现,按1.3.1方法以最优条件安排补充实验进行验证,进行三次重复试验,酒精平均产量为4.43ml/50g原料,较正交试验中最高产量的12号试验高,实验条件也能较好实现,故通过正交试验得到最优条件为:A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>E<sub>3</sub>。

### 3 结 论

结果表明,由提取薯蓣皂甙元后的盾叶薯蓣废料制取酒精,发酵时间对于酒精产量影响最大。在实验条

件下,最优实验条件为:淀粉酶用量7U/g原料,纤维素酶用量110U/g原料,糖化酶用量110U/g原料,酵母用量2/50g原料,发酵时间4d。此方法对于薯蓣皂甙元提取工业化生产的废料处理具有一定的指导意义,很好地减少了环境污染。本研究所建立的酒精含量可见分光光度分析法具有准确可靠、灵敏度高等特点,较之以往文献报道的方法更具可操作性。

### 参考文献:

- [1] 黄近,张肇煜,李林,等.黄姜提取薯蓣皂甙元及葡萄糖的工艺研究[J].农业工程学报,2001,17(6):120-122.
- [2] DJERASSI C. Steroid research at syntex: "the pill" and cortisone[J]. Steroids, 1992, 57(12): 631-641.
- [3] ARADHANA, RAO A R, KALE R K. Diosgenin—a growth stimulator of mammary gland of ovariectomized mouse[J]. Indian J Exp Biol, 1992, 30(5): 367-370.
- [4] YAMAGUCHI A, TAZUMA S, OCHI H, et al. Choleretic action of diosgenin is based upon the increases in canalicular membrane fluidity and transporter activity mediating bile acid independent bile flow[J]. Hepatology Research, 2003, 25: 287-295.
- [5] 郭文松,刘达雯,周训清,等.薯蓣皂甙元的研制[J].贵州化工,1996,21(2):14-17.
- [6] 湛芳.苦良姜中薯蓣皂甙元的提取及应用[J].云南化工,2000,27(5):17-18.
- [7] 王元兰,李水芳,杨志,盾叶薯蓣皂甙元提取工艺研究[J].经济林研究,2002,20(2):67-68.
- [8] 佟玲,张胜科,李锦,等.酶解法提取薯蓣皂素的工艺研究[J].陕西师范大学报:自然科学版,2003,31(2):81-83.
- [9] 葛发欢,史庆龙,林香仙,等.超临界CO<sub>2</sub>从黄山药中萃取薯蓣皂素的工艺研究[J].中草药,2000,31(3):181-183.
- [10] 李志平,庞宗文.生木薯淀粉直接发酵生产酒精的发酵条件研究[J].酿酒科技,2005,138(12):57-59.
- [11] 天津轻工业学院,等.工业发酵分析[M].北京:中国轻工业出版社,1989.