

魔芋葡甘露聚糖的微波辅助纯化及其性能研究

李小菊, 张越非, 钟 玲, 王存文, 赵慧平, 池汝安*
(武汉工程大学 绿色化工过程教育部重点实验室, 湖北 武汉 430073)

摘 要: 应用微波辅助提取技术, 优化魔芋葡甘露聚糖提取、纯化的工艺。通过单因素和正交试验考察提取温度、微波功率、固液比和提取时间对魔芋葡甘露聚糖含量的影响。结果表明: 提取工艺条件为温度90℃、微波功率700W、固液比1:160、提取时间60min, 该条件下葡甘露聚糖的含量为70.75%。在4个因素中, 温度对葡甘露聚糖的影响具有显著性意义。优化后的工艺稳定, 微波辅助提取魔芋葡甘露聚糖的含量高、时间短, 且有高的抗菌能力。通过红外和扫描电镜验证了微波提取方法的合理性。

关键词: 微波辅助提取; 魔芋; 葡甘露聚糖

Microwave-Assisted Extraction and Characterization of Konjac Glucomannan from Konjac Flour

LI Xiao-ju, ZHANG Yue-fei, ZHONG Ling, WANG Cun-wen, ZHAO Hui-ping, CHI Ru-an*
(Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430073, China)

Abstract: The microwave-assisted extraction of konjac glucomannan (KGM) from konjac flour was studied. The influence of extraction parameters including extraction temperature, microwave power and solid/liquid ratio on KGM content was examined by one-factor-at-a-time and orthogonal array design. The optimal process conditions for KGM extraction were found to be extraction at 90 °C and a microwave power of 700 W for 60 min with a solid-to-liquid ratio of 1:160. The KGM content of crude extracts under the optimized conditions was 70.75%. Temperature significantly affected the extraction of KGM. The optimized extraction process provided a stable extraction technique which had the advantages of high KGM content, short extraction time and high antibacterial activity of konjac flour extracts. The superiority of the microwave-assisted extraction method has been verified by infrared and scanning electron microscopy (SEM).

Key words: microwave-assisted extraction; konjac; konjac glucomannan

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)12-0022-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201312005

魔芋(*Amorphophallus konjac*)为天南星科, 多年生宿根性块茎草本植物, 雌雄同株, 全世界约有170种, 在我国至少有21种, 种植上大致分为白魔芋和花魔芋两大类^[1]。魔芋中的主要成分为魔芋葡甘露聚糖(konjac glucomannan, KGM)。是一种优良的低热量、低脂肪、高纤维素的水溶性膳食纤维, 对营养不平衡有重要调节作用, 且具有通便、减肥^[2]、抗癌^[3]、增强免疫功能^[4]、抗衰老等医疗功效和保健作用。KGM溶于水可形成高黏度溶液, 是目前所发现植物类水溶性食用胶中黏度最高的一种, 具有高吸水性、高膨胀性、高黏度^[5]。它有优良的黏结性、成膜性、可溶性、增稠性和保水性等特点,

因此可广泛应用于食品、医药、印染、建筑、涂料、纺织和造纸等领域, 具有极大的市场应用价值。图1是KGM的可能结构^[6]。

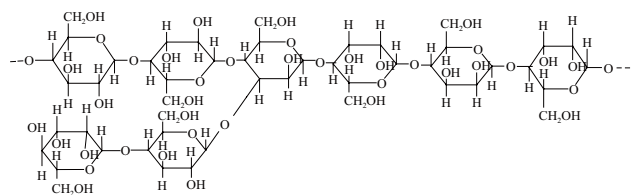


图1 KGM的分子结构图

Fig.1 Molecular structure of KGM

收稿日期: 2012-05-27

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(21006075); 武汉市青年科技晨光计划项目(201271031400);

湖北省教育厅重大项目(CXY2009A009); 湖北省自然科学基金重点项目(2008CDA060)

作者简介: 李小菊(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物提取分离。E-mail: mmlxiaoju@163.com

*通信作者: 池汝安(1959—), 男, 教授, 博士, 研究方向为分离工程。E-mail: rac@mail.wit.edu.cn

文献报道水溶性KGM的制备方法主要有：吴贤聪等^[7]采取引入重金属离子纯化的方法；施航等^[8]采用盐酸水解的方法；莫湘涛等^[9]应用生物酶法提取KGM，上述方法各有优缺点，如采取引入重金属离子的方法可引入有毒的 Pb^{2+} ，对环境有污染，限制了魔芋可食性膜的应用；用酸水解，会将原料中多糖水解成单糖，破坏了多糖结构的稳定性；而生物酶法，虽然可将魔芋中主要杂质淀粉降解除去，但它的选择降解不够理想，会降解多糖。而微波辅助提取法作为一种新的提取手段，在提取植物多糖上较其他方法具有提取快速、溶剂用量少、提取率高、成本低、质量好等优点，是天然产物提取中一种非常有发展潜力的新技术^[10]。刘恒宇等^[11]将微波法应用于龙胆多糖提取工艺中，得出微波法在短时间内能够得到更好的提取效果。本实验将微波法应用于魔芋葡甘露聚糖提取中，采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定KGM的含量，结合单因素和正交试验，重点考察了提取温度、微波功率、固液比、提取时间对KGM含量的影响，最后通过正交试验确立微波法提取KGM的最佳工艺，优化后的工艺稳定，微波辅助提取魔芋葡甘露聚糖的含量高、时间短。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

魔芋粉购于湖北恩施；氢氧化钠、盐酸等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

DZF-6020真空干燥箱 天津市泰斯特仪器有限公司；AL104电子分析天平 梅特勒-托利多上海仪器有限公司；XMTB数显恒温水浴锅 武汉市琴台医疗器械；KQ-250DB型数控超声清洗器 昆山市超声仪器有限公司；Anke-1000高速离心机 上海安亭科学仪器厂；XH-100A微波催化合成/萃取仪 北京祥鹤科技发展有限公司；UV-7504紫外-可见分光光度计 上海欣茂仪器有限公司；Nicolet-6700傅里叶变换红外光谱仪 美国Nicolet公司；SEM-JSM-5510LVA扫描电镜 东莞市台准电子科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 KGM的提取

脱脂：精确称取魔芋粉20g放入三颈烧瓶中，加入100mL石油醚，在60℃条件下微波加热回流0.5h，过滤回收石油醚；脱除游离还原糖：在脱脂后的魔芋精粉中加入100mL 90%乙醇在微波70℃条件下加热回流0.5h，过滤回收乙醇。在60℃真空干燥箱干燥即得粗处理过的魔芋粉^[12]。称取0.5g处理过的魔芋粉，以水为提取剂，按一定的固液比在特定功率和温度下辐射提取一定时间，4000r/min离心20min，吸取上清液^[13]。

1.3.2 KGM的含量测定

准确移取制得的KGM上清液2.0mL于25mL比色管中，加入1mL 3mol/L的硫酸，在沸水浴中水解1.5h，立即冷却后再加入1.0mL 6mol/L的NaOH溶液中和至中性，定容至25mL，再取水解液2mL，加入DNS溶液2mL，在沸水浴中加热5min，冷却后用蒸馏水定容至25mL，采用3,5-二硝基水杨酸比色法^[14]在波长483nm处测定吸光度(Y)。以葡萄糖为标准品，所得的糖质量浓度(X, mg/mL)标准曲线方程为： $Y=0.91361X-0.0635771$ ， $R=0.99856$ 。KGM含量按下式计算：

$$KGM/\% = \frac{25\varepsilon TV}{4m} \times 100$$

式中： ε 为葡甘聚糖中葡萄糖和甘露糖残基分子质量与其水解后生成的葡萄糖和甘露糖分子质量之比， $\varepsilon=0.9$ 为多糖的校正系数； V 为定容的体积/mL； T 为葡甘聚糖水溶液比色法测定查标准回归曲线糖的质量浓度/(mg/mL)； m 为魔芋粉质量/g。

1.3.3 单因素与正交试验

称取0.5g处理过的干燥魔芋粉，设置提取温度90℃、微波功率500W、固液比1:160、提取时间60min，固定其他条件，分别考察固液比(1:120~1:200)、提取时间(30~90min)、微波功率(300~700W)、提取温度(30~90℃)对KGM含量的影响。

根据单因素试验结果，选取A提取时间、B提取温度、C固液比、D微波功率为考察因素，设计 $L_9(3^4)$ 正交试验因素表，以KGM的含量为考察指标，优化微波辅助提取KGM的工艺条件。

1.3.4 KGM的回收

称取5g处理过的魔芋粉，以水为提取剂，在最优化条件下微波辐射提取，4000r/min离心20min，吸取上清液，再用95%乙醇做沉淀剂，分批加入浓缩的KGM溶胶中，不停搅拌，逐渐有白色絮状沉淀产生，继续加入乙醇溶液直至不再产生沉淀为止，用玻棒小心将此白色沉淀转移至烧杯中，再用无水乙醇洗2次，最后将此产品转移至表面皿中，置于烘箱中烘干至产品质量恒定，将其在研钵中研磨成细粉，做外观性能及黏度比较、红外和扫描电镜分析：将魔芋粉与微波最佳条件下提纯所得的KGM，分别配制成质量分数0.5%的溶胶，微波辐射下完全溶胀静置，使其稳定后观察其外观性能并测定其水溶胶黏度；用KBr压片法对微波最优条件下制得的KGM做红外谱图；将磁力搅拌4h制得的KGM^[12]与微波最优条件下制得的KGM做扫描电镜分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 固液比对KGM含量的影响

由图2可知，KGM的含量随着提取剂用量的增大而

增加,这是因为溶剂用量增大,KGM从原料内部向外部的扩散加快,浸出增加,当固液比达到1:160后,KGM提取率趋于平衡,且KGM是分子质量很高的网状大分子若加入的水量过少,不能使所有分子均达到完全溶胀状态,这会导致在抽滤过程中损失部分产品,溶胀过程加入水量过多则会导致溶液浓度较低同时KGM颗粒内包裹的水量增大,在用乙醇沉淀此产品时可能导致KGM分子内包裹的水分子不能完全除去致使产率降低并会消耗大量乙醇。考虑生产成本即后续工艺等因素,采用固液比为1:160即可。

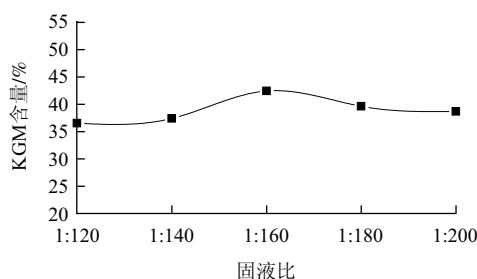


图2 固液比对KGM含量的影响

Fig.2 Effect of solid/liquid ratio on the KGM content

2.1.2 提取时间对KGM含量的影响

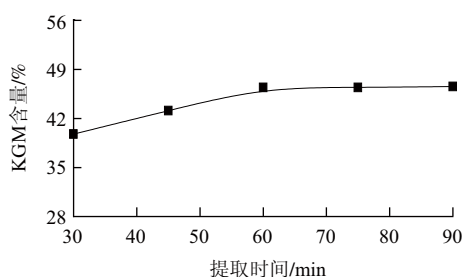


图3 提取时间对KGM含量的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the KGM content

由图3可知,KGM的含量随着提取时间的延长,先增加较快,后趋于平缓。这是因为KGM随着提取时间的增加逐渐向溶剂中扩散,当提取时间达到60min后,魔芋细胞内外的溶剂浓度逐渐达到平衡,KGM的浸出量也几乎达到了饱和,继续提取,KGM的含量没有明显增加,综合考虑经济成本及能耗等因素,选择提取时间为60min即可。

2.1.3 微波功率对KGM含量的影响

由图4可知,在微波功率低时对细胞的破坏作用比较小,溶出物较少,提取率低,随着微波功率的不断增大,体系中分子运动加剧,细胞膜和细胞壁的破坏程度增大,KGM的含量也随着增大,大于500W时KGM的含量不再变化。这是因为当微波功率过大时,浸取体系的温度迅速升高,达到设定温度后即停止辐射,因此KGM的含量不再变化,故选择微波功率为500W即可。

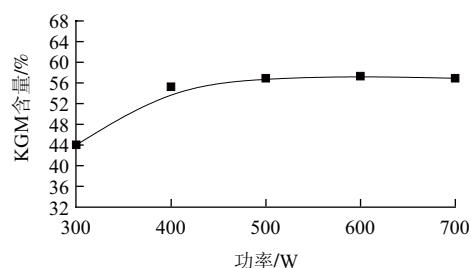


图4 微波功率对KGM含量的影响

Fig.4 Effect of microwave power on the KGM content

2.1.4 提取温度对KGM含量的影响

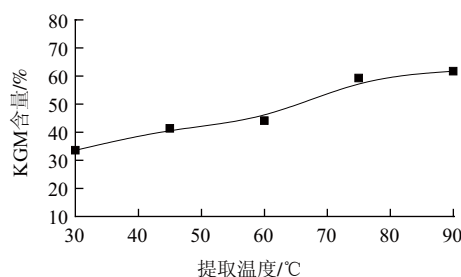


图5 提取温度对KGM含量的影响

Fig.5 Effect of extraction temperature on the KGM content

由图5可知,温度在30~90℃范围内,KGM的含量随温度的上升而增加较快,这是因为提取温度越高,体系中分子运动越剧烈,扩散加快,有利于细胞KGM的浸出与释放,KGM含量也随之提高。且KGM是多糖大分子,继续升温KGM含量会继续增加,然而在实际实验过程中,当提取温度达到90℃时,整个体系已处于微沸状态,若将温度继续上升,则溶液容易从回流管中溢出不易控制回流量,且高温可能使部分多糖降解,综合考虑能量消耗及成本等因素,因此选择提取温度为90℃较适宜。

2.2 微波辅助提取KGM的正交试验

表1 正交试验因素水平及结果

Table 1 Orthogonal array design and results

试验号	A提取时间/min	B提取温度/°C	C固液比	D功率/W	KGM含量/%
1	1(30)	1(30)	1(1:120)	1(700)	24.00
2	1	2(60)	2(1:160)	2(500)	34.49
3	1	3(90)	3(1:200)	3(300)	51.25
4	2(45)	1	2	3	29.27
5	2	2	3	1	33.95
6	2	3	1	2	59.02
7	3(60)	1	3	2	35.00
8	3	2	1	3	27.76
9	3	3	2	1	70.75
K_1	110.139	88.671	111.18	129.099	
K_2	122.241	96.201	134.511	128.511	
K_3	133.509	181.02	120.201	108.279	
k_1	36.713	29.557	37.060	43.033	
k_2	40.747	32.067	44.837	42.837	
k_3	44.503	60.340	40.067	36.093	
R	7.7900	30.783	7.777	6.940	

由表1可知, 因素A水平K值最大的是A₃, 因素B各水平K值最大的是B₃, 因素C各水平K值最大的是C₂, 因素D各水平K值最大的是D₁, 由直观的极差分析初步认为, 优化工艺条件是A₃B₃C₂D₁, 即提取温度90℃、微波功率700W、固液比1:160、提取时间60min。

表2 方差分析结果
Table 2 Results of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	均方差	F _比	F _{临界值}	显著性
时间	91.064	2	30.355	0.993	6.940	
温度	1753.295	2	584.43	19.127	6.940	*
固液比	92.269	2	30.756	1.007	6.940	
功率	93.675	2	31.225	1.022	6.940	
误差	183.33	4				

注: *. 差异显著 ($P < 0.05$)。

由方差分析结果可知, 各因素对KGM含量影响的大小顺序为: $B > D > C > A$ 。即提取温度 > 微波功率 > 固液比 > 提取时间, 其中B、D对KGM含量的影响明显, C和A对KGM含量的影响较小。B的影响最大, A的影响最小。且 $F_B > 6.94$, 表示B因素的影响有显著性意义, D、C、A因素都没有显著性意义, 最佳条件下KGM的含量为70.75%。

2.3 魔芋粉与提纯KGM水溶胶表现性能及黏度比较

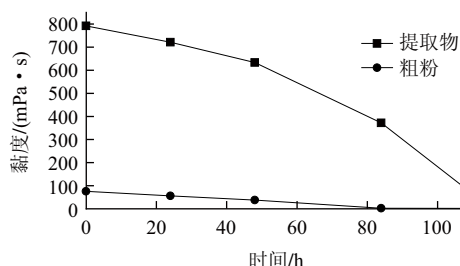


图6 魔芋粉与提纯的KGM黏度比较

Fig.6 Viscosity-time plots showing the stability of konjac flour and purified KGM

表3 魔芋粉与提纯KGM抗菌性能比较

Table 3 Antibacterial properties of konjac flour and purified KGM

存放时间/h	比较项目	魔芋粉	纯化KGM
0	颜色	无色	无色
	质地	均一	均一透明
	气味	鱼腥味	无味
24	颜色	无色	无色
	质地	均一	均一透明
	气味	轻微的酸臭味	无味
48	颜色	无色	无色
	质地	变稀	均一透明
	气味	轻微的酸臭味	无味
84	颜色	黄色	无色
	质地	水液	均一透明
	气味	恶酸臭味	较淡无味
108	颜色	黄色	无色
	质地	产生菌落	水液混浊
	气味	恶酸臭味	较淡无味

从图6和表3可知, 提纯后的魔芋葡甘露聚糖由于纯度增加, 故黏度增高很多, 但是由于水溶液中葡甘露聚糖分子链的运动, 会造成其黏度不稳定, 随着时间的延长, 黏度下降较快, 而魔芋粉由于存在纤维等杂质的支撑作用, 因此黏度不会随时间变化很大, 但总体黏度并不高; 另外, 相比于未提纯的魔芋粗粉, 抗菌性能也明显增强, 魔芋粉水溶胶存放84h后有酸臭味, 且基本上失去黏性, 而提纯后的KGM水溶胶仍呈现均一透明的状态, 放置7d后, 魔芋粉溶胶的表面长出菌落, 而提纯的KGM水溶胶仍具有一定黏性。

2.4 KGM的红外光谱分析

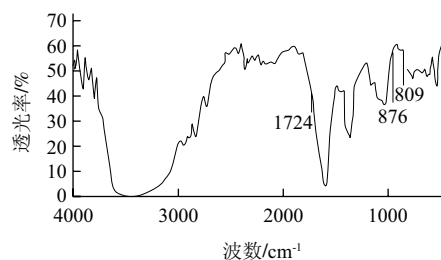


图7 KGM的红外谱图分析

Fig.7 IR spectrum of KGM

魔芋粉中除了葡甘聚糖还含有少量蛋白质、食物纤维、淀粉、氨基酸及微量无机盐等, 因此它是典型的混合物, 在红外光谱仪下观察无明显的特征峰且谱图不清晰, 而对于精制的KGM则呈现明显清晰的红外特征图谱, 实验所得KGM的IR谱图(图7)与文献[15]中所报道的红外谱图基本一致, 证实了本实验设计的提纯方法的合理性。在876cm⁻¹和809cm⁻¹处出现了甘露糖的特征峰, 在1724cm⁻¹处呈现弱的C=O 伸缩振动, 表明KGM中存在少量乙酰基团进一步证实了Maeda等^[15]所确认的KGM中存在少量乙酰基的实验结果。

2.5 扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)分析

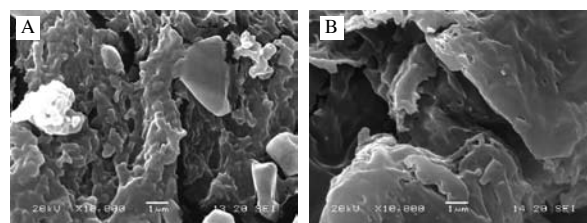


图8 磁力搅拌提取(A)与微波提取(B)KGM的扫描电镜图

Fig.8 SEM micrographs of KGM obtained from magnetic stirring or microwave treatment

将磁力搅拌4h条件下制得的KGM^[12]与微波最优条件下制得的KGM做扫描电镜。从图8可知, 微波提取的葡甘露聚糖表面更光滑, 无明显的棱角和大的沟壑, 这是因为微波提取时间较短, 不易造成KGM的水解, KGM的

纯度更高,糖链之间的交联作用更强,整个颗粒结构更加牢固;而磁力搅拌下制得的颗粒表面有棱有角,凹凸不平,整体性不明显,这是因为磁力搅拌提取的时间更长,容易造成KGM大分子水解成小分子,所以其颗粒表面便形成了很不规则的形状。

3 结 论

本实验微波辅助方法纯化KGM,原料仅用水,成本低,无污染,且节省时间。提取魔芋葡甘露聚糖的优化工艺条件为:温度90℃、微波功率700W、固液比1:160、提取时间60min,得到KGM的含量为70.75%。在4个因素中,温度对葡甘露聚糖的影响具有显著性意义。而磁力搅拌4h的KGM含量仅为60%,可见微波法明显优于传统磁力搅拌法。对魔芋粗粉与提取后的KGM产品进行了各项性能上的比较,结果表明经微波提纯得到的KGM产品,其水溶胶的黏度及稳定性比提纯前有明显提高,并具有一定的抗菌能力,通过对红外谱图进行分析,揭示了KGM的结构特点,并用扫描电镜验证了微波提取方法的合理性。

参考文献:

- [1] 陈运忠,侯章成.魔芋胶在食品添加剂工业中的应用机理和实践[J].食品工业科技,2006(1): 155-157.
- [2] 杨湘庆,沈悦玉.魔芋胶的理化性、功能性、流变性及其在食品中的应用[J].冷饮与速冻食品工业,2002,8(4): 29-33.
- [3] 庞杰,张盛林,刘佩琪,等.中国魔芋资源的研究[J].资源科学,2001,23(5): 87-89.
- [4] 刘红.魔芋的药用研究进展[J].湖北民族学院学报:医学版,2002,19(3): 35-37.
- [5] 许时婴,钱和.魔芋葡甘露聚糖的化学结构与流变性质[J].无锡轻工业学院学报,1991,10(1): 1-12.
- [6] 陈秀敏,傅德贤,欧阳藩.魔芋葡甘露聚糖化学结构及改性研究进展[J].天然产物研究与开发,2001,14(2): 65-68.
- [7] 吴贤聪,梁存均,郭森炎.魔芋甘露聚糖的提取、鉴定及其应用的研究[J].食品科学,1988,9(3): 20-22.
- [8] 施航,于敏星,王三玲.从魔芋中提取葡甘露聚糖的研究[J].食品研究与开发,1998(4): 20-23.
- [9] 莫湘涛,张梅芬.生物法提取魔芋中葡甘露聚糖[J].湖南师范大学自然科学学报,1998,21(1): 85-88.
- [10] 张自萍.微波辅助提取技术在多糖研究中的应用[J].中草药,2006,37(4): 630-632.
- [11] 刘恒宇,袁金田,孙国锋,等.微波法提取龙胆多糖的工艺研究[J].中药材,2007,30(12): 1605-1607.
- [12] 袁忠海,吴道澄,李晓晔,等.超声波对提取魔芋葡甘露聚糖的影响[J].第四军医大学学报,2003,24(3): 238-241.
- [13] 张升晖,吴绍艳,颜益智,等.魔芋葡甘露聚糖纯化及性能研究[J].食品科学,2005,26(9): 275-277.
- [14] 喻玲玲,邹坤.鄂产魔芋中葡甘露聚糖的含量测定[J].时珍国医国药,2008,19(3): 680-682.
- [15] MAEDA M, SHIMAHARA H, SUGIYAMA N. Detailed examination of the branched structure of konjac glucomannan[J]. Agric Biol Chem, 1980, 44(2): 245-252.