

酸性乙醇法纯化魔芋葡甘聚糖的研究

唐贵丹, 杜小兵*, 张兴国, 钟耕
(西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

摘要: 本研究建立了酸性乙醇纯化魔芋微粉中葡甘聚糖的方法。实验结果表明, 酸性乙醇洗脱能显著提高魔芋微粉的葡甘聚糖纯度; 采用 pH4.5、60% 的乙醇洗脱魔芋微粉 60min, 魔芋葡甘聚糖含量可达到 98% 以上。

关键词: 魔芋微粉; 葡甘聚糖; 酸性乙醇; 纯化

Study on Purification of Konjac Glucomannan (KGM) with Acid Alcohol

TANG Gui-dan, DU Xiao-bing*, ZHANG Xing-guo, ZHONG Geng
(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: A purification method of glucomannan from konjac microflour with acid alcohol was established. The results showed that acid alcohol could improve greatly the purity of glucomannan from konjac microflour. The content of konjac gluco-mannan is over 98% when the konjac microflour is extracted with 60% of alcohol at pH 4.5 for 60 minutes.

Key words: konjac microflour; glucomannan; acid alcohol; purification

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)12-0308-04

魔芋为天南星科魔芋属多年生草本植物, 富含葡甘聚糖^[1]。魔芋葡甘聚糖(konjac glucomannan, KGM)是一种高分子流体半纤维素, 由分子比 1:1.5~1:1.6(花魔芋, *Amorphophallus konjac*)或 1:1.69(白魔芋, *A. albus*)的葡萄糖和甘露糖残基通过 β -1,4 糖苷键聚合而成, 具有水溶性、成膜性、增稠性等优良理化性质和多种食用保健功能, 已在食品、医药、化工、环保和油气钻探等方面得到广泛应用, 国际需求量日益增大^[2-5]。

市售魔芋粉或微粉是由魔芋块茎粉碎加工而来, 含有大量的杂质, 限定了其应用范围和水平^[6-7]。除去魔芋粉或微粉中的杂质, 分离纯化其中的葡甘聚糖, 是拓展魔芋葡甘聚糖用途的重要措施。目前已有多种纯化魔芋葡甘聚糖的方法, 但多数方法复杂而难应用于实际大生产, 而且由于 KGM 的大分子内部包裹有盐类, 常规的乙醇多次洗脱法很难将其充分去除^[8-12]。本研究采用酸性乙醇法纯化魔芋微粉, 得到了较高纯度的魔芋葡甘聚糖, 而且方法简单、实用。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

魔芋微粉 重庆酉阳县天一魔芋科技有限公司; 乙

醇、硫酸、酒石酸钾钠(分析纯) 重庆川东化工(集团)有限公司; 3,5-二硝基水杨酸、氢氧化钠 成都科龙化工试剂厂。

1.2 仪器与设备

紫外可见分光光度计 上海棱光技术有限公司; DZF 型真空干燥箱 上海精宏试验设备有限公司; HH-S 型数显恒温水浴锅 巩义市英峪予华仪器厂; TGL-16G 高速台式离心机 上海安亭科学仪器厂; DJ 型电动搅拌机 金坛市大地自动化仪器厂; 哈纳酸度离子计 北京哈纳科仪科技有限公司; 不锈钢电热自控蒸馏水器 上海申安医疗器械厂; FA2004A 电子天平 上海精天电子仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 魔芋微粉中 KGM 的含量测定

参照欧阳华学等的方法^[13], 用浓硫酸将魔芋微粉中的葡甘聚糖完全水解成葡萄糖和甘露糖, 与 3,5-二硝基水杨酸试剂进行显色反应, 在 200~800nm 波长下扫描以获取最大吸收峰。然后, 在最大吸收峰的波长测定, 绘制葡萄糖标准曲线, 用于测定 KGM 的含量。计算公式为:

收稿日期: 2007-10-08

基金项目: 重庆市科技攻关项目(8757)

作者简介: 唐贵丹(1982-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品工程。E-mail: tangguidan@163.com

* 通讯作者: 杜小兵(1966-), 女, 副教授, 研究方向为食品工程。E-mail: duxb163@163.com

$$\text{魔芋粉中葡甘聚糖含量}(\%, \text{以干基计}) = \frac{\epsilon \times (5T - T_0) \times 50}{m \times (1 - w) \times 1000} \times 100$$

式中, ϵ 为葡甘聚糖中葡萄糖和甘露糖残基分子量与其水解后生成的葡萄糖和甘露糖分子量之比, $\epsilon = 0.9$; T 为在标准曲线上查出的葡甘聚糖水溶液葡萄糖毫克数(mg); T_0 为在标准曲线上查出的葡甘聚糖提取液葡萄糖毫克数(mg); m 为魔芋微粉样品质量(g); w 为样品含水量(%)。

1.3.2 乙醇浸提料液比的确

采用不同的料液比洗脱魔芋微粉, 观察制品的颜色、颗粒形态等感官性状, 并通过 KI 法检验淀粉的去除效果, 确定适宜的料液比。

1.3.3 乙醇洗脱浓度的筛选

采用不同浓度的乙醇对魔芋微粉洗脱相同时间, 筛选不使魔芋微粉发生溶胀的乙醇洗脱浓度。然后, 将魔芋微粉加在避免溶胀的不同浓度的乙醇中, 用磁力搅拌器搅拌相同时间, 洗脱纯化后用分光光度法测定 KGM 的含量, 确定最佳乙醇工作浓度。

1.3.4 pH 值对 KGM 纯度的影响

将 50% 乙醇的 pH 值调至 0~7, 经相同时间洗脱, 比较处理间 KGM 纯度的差异, 筛选适宜的洗脱酸度。

1.3.5 洗脱时间的确定

取 50g 魔芋微粉, 在 50% 乙醇和最适 pH 值条件下洗脱不同的时间, 用分光光度法测定 KGM 的含量, 确定适宜的洗脱时间。

1.3.6 乙醇浓度、pH 值和洗脱时间的综合选择

在单因素试验的基础上, 对乙醇浓度(50%、60%、70%, 分别为 A₁、A₂、A₃)、pH 值(4、4.5、5, 分别为 B₁、B₂、B₃)和洗脱时间(30、60、90min, 分别为 C₁、C₂、C₃)进行正交试验, 解析主效因素, 确定最适因素组合。

2 结果与分析

2.1 魔芋微粉试样的 KGM 含量

将魔芋微粉中的魔芋葡甘聚糖完全水解、显色反应后, 测得最大吸收峰波长为 497 ± 2nm(图 1)。在此波长下制得葡萄糖标准曲线(图 2)。测定未纯化魔芋微粉的 KGM 含量为 73.98%(表 1), 表明试样中含有较多的杂质。

表 1 魔芋微粉中的 KGM 含量
Table 1 Content of KGM in konjac microflour

	重复 I	重复 II	重复 III	平均值
水解液吸光度	0.246	0.244	0.248	0.246
提取液吸光度	-0.314	-0.311	-0.312	-0.312
KGM 含量(%)	74.22	73.70	74.01	73.98

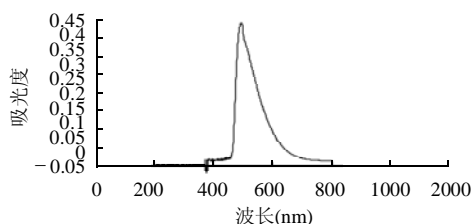


图 1 魔芋微粉水解液显色反应后的最大吸收峰

Fig.1 Absorption spectrum of konjac microflour hydrolysate after color reaction

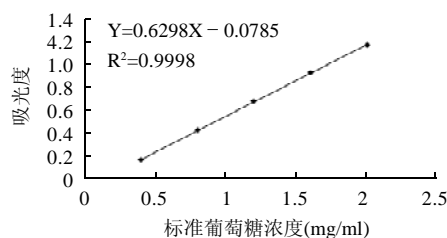


图 2 葡萄糖标准曲线

Fig.2 Standard curve of glucose

2.2 适宜的料液比

1:10 的料液比制备的产品较 1:5 的颜色更白, 而 1:15 料液比洗脱制品的感官颜色与 1:10 的相差不大(表 2)。因此, 从成本角度考虑, 选择 1:10 料液比为最佳, 且仅局部 KI 检测呈现蓝色, 表明葡甘聚糖中的淀粉基本被洗掉。

表 2 不同料液比对魔芋微粉提取效果的影响

Table 2 Effects of ratio of material to solvent on extraction of konjac microflour

料液比	1:5	1:10	1:15	对照(原样)
颜色呈微黄, 颗粒蓬松呈絮状, 白, KI 滴定呈一定蓝色	颜色比原样品稍白, 颗粒细小, KI 滴定局部呈蓝色	与 1:10 的结果相似	颜色淡黄色, KI 滴定呈明显的蓝色	

2.3 不同浓度乙醇洗脱对魔芋微粉溶胀度的影响

KGM 溶于水而不溶于乙醇。当乙醇浓度过低时, KGM 会发生不可逆溶胀, 既影响魔芋微粉的颗粒结构, 也不利于后期的干燥和粉碎。由表 3 可知, 用 50% 以上的乙醇洗脱魔芋微粉时基本不会发生溶胀, 因此, 适宜的乙醇工作浓度应在 50% 以上。

表 3 不同浓度乙醇对魔芋微粉溶胀度的影响

Table 3 Effects of concentration of alcohol on solubility of konjac micro-flour

乙醇浓度(%)	10	30	50	70	95
魔芋微粉的生溶胀, 有溶胀程度	魔芋微粉发	魔芋微粉部	魔芋微粉几乎不溶, 仅玻璃器皿四周略有棉絮状物, 用 KI 滴定会	魔芋微粉不溶, 与液体明显分层	魔芋微粉不溶, 与液体明显分层

2.4 不同浓度乙醇洗脱对 KGM 含量的影响

分别以高于 50% 的不同浓度的乙醇对魔芋微粉进行洗脱, 以及用从低至高浓度的乙醇依次对同一样品梯度洗脱, 测定其中的 KGM 含量。由表 4 可知, 魔芋微粉经 50% 的乙醇洗脱, 颜色呈白色, 且测得 KGM 含量较其他处理的高, 因此, 确定其为适宜的乙醇工作浓度。

表 4 不同浓度乙醇对 KGM 含量的影响

Table 4 Effects of concentration of alcohol on content of KGM

乙醇浓度(%)	50	60	70	80	95	梯度洗脱
KGM 含量(%)	82.42	78.85	76.64	76.60	72.03	78.96
颜色	白色	微黄	黄色	淡黄	黄色	白色

2.5 酸性乙醇有助于魔芋微粉纯化

采用不同 pH 值的 50% 的酸性乙醇对魔芋微粉进行洗脱, 由图 3 可知, pH 值的变化对葡甘聚糖的纯化有很大影响。经重复实验, 当 pH 值为 4.5 左右时, 葡甘聚糖纯度达到最大。酸性条件有利于葡甘聚糖纯化的原因可能在于促进了 KGM 大分子结构打开和加速了盐等杂质溶解。

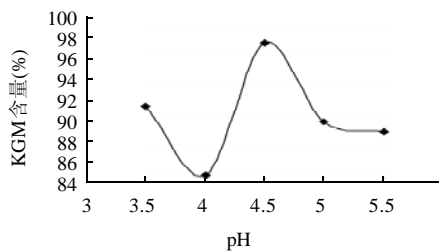


图 3 pH 值对 KGM 含量的影响

Fig.3 Effects of pH value on content of KGM

2.6 适宜的洗脱时间

在 pH4.5 和 50% 乙醇的条件下, 采用不同的时间对魔芋微粉进行洗脱。由图 4 可知, 洗脱时间为 60min 时 KGM 含量最高, 可达 97%。

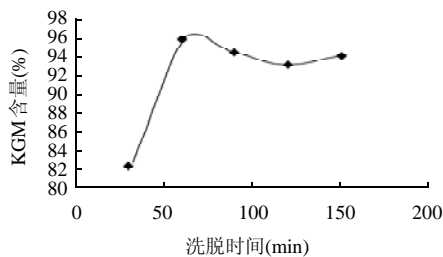


图 4 洗脱时间对 KGM 含量的影响

Fig.4 Effects of washing time on content of KGM

2.7 主效因子和最适因子组合

由表 5 的正交试验结果可以得出正交试验的因素影

响关系图(图 5)。由表 5 和图 5 可以看出, 对魔芋微粉中葡甘聚糖纯化影响较大的因素是 pH 值, 其次是洗脱时间, 较小的因素是乙醇浓度。酸性乙醇纯化魔芋葡甘聚糖最佳工艺条件为 $A_2B_2C_2$, 即 60% 的乙醇浓度、pH 值 4.5 和洗脱时间 60min。

表 5 正交试验结果

Table 5 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	KGM 含量(%)
1	1	1	1	76.43
2	1	2	2	89.64
3	1	3	3	83.52
4	2	1	2	88.29
5	2	2	3	92.12
6	2	3	1	73.02
7	3	1	3	72.23
8	3	2	1	98.50
9	3	3	2	81.51
K_1	83.20	78.98	82.65	
K_2	84.48	93.42	86.48	
K_3	84.08	79.35	82.62	
R	0.40	14.44	3.86	

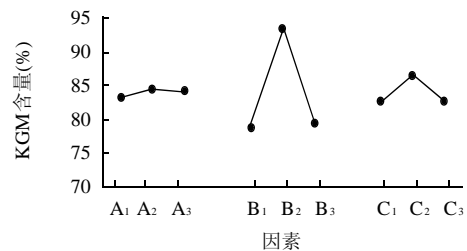


图 5 不同洗脱因素对 KGM 含量的影响

Fig.5 Effects of extraction factors on content of KGM

2.8 酸性乙醇纯化魔芋葡甘聚糖的分子结构

分别对魔芋微粉原样和酸性乙醇纯化产物进行红外光谱扫描。结果显示, 经酸性乙醇纯化的魔芋葡甘聚糖的分子结构未发生变化(图 6), 表明该方法可以用于 KGM 的纯化。

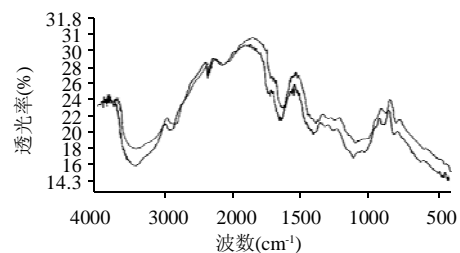


图 6 魔芋微粉纯化样品与原样的红外光谱扫描图比较

Fig.6 Comparison of infrared spectra between purified konjac microflour and control sample

3 结 论

3.1 采用酸性乙醇法纯化魔芋微粉, 可以将 KGM 的含量从 60%~70% 有效提高到 98% 以上。

3.2 酸性乙醇法中 pH 值是影响 KGM 含量的最重要因素。酸性乙醇纯化魔芋葡甘聚糖最佳工艺条件为乙醇浓度 60%、pH4.5 和洗脱时间 60min。

3.3 酸性乙醇法不改变魔芋微粉中 KGM 的分子结构。

参考文献:

- [1] 吴绍艳, 张升辉. 魔芋葡甘聚糖在食品中的应用[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(1): 7-10.
- [2] 孙远明, 吴青. 魔芋葡甘聚糖的结构、食品学性质及保健功能[J]. 食品与发酵工业, 1999, 25(5): 48-50.
- [3] 谢建华, 庞杰, 朱国辉, 等. 魔芋葡甘聚糖功能研究进展[J]. 食品工业科技, 2005, 26(12): 180-183.
- [4] 胡明一. 魔芋葡甘聚糖的提取和药用价值[J]. 创新指南, 2001, 10(1): 15-16.
- [5] 庞杰, 刘佩琪. 魔芋精粉的性质、功用及其在食品中的应用[J]. 长江蔬菜, 2000, 4(1): 39-40.
- [6] 张升晖, 吴绍艳, 颜益智, 等. 魔芋葡甘聚糖纯化及性能研究[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 275-277.
- [7] 胡敏, 李波, 龙萌, 等. 魔芋葡甘聚糖的提纯方法比较[J]. 食品科技, 1999(1): 31-33.
- [8] 孙远明. 魔芋葡甘聚糖分离纯化方法综述[J]. 江西农业大学学报, 2000, 22(3): 469-471.
- [9] 刘廷国, 王洋, 夏俊, 等. 纯化方法对魔芋葡甘聚糖的结构及性能的影响[J]. 林产化学与工业, 2005, 25(3): 71-72.
- [10] 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, 1987(3): 20-22.
- [11] 宫晓梅, 严睿文, 徐洪耀, 等. 魔芋葡甘聚糖的提纯及性能研究[J]. 精细化工, 2002, 19(8): 486-487.
- [12] 阎华, 汪志强, 刘慧宏. 三种魔芋精粉提纯方法的比较[J]. 湖北农业科学, 2006, 25(3): 365-369.
- [13] 欧阳华学, 韩梅, 刘佩英, 等. 分光光度法测定魔芋葡甘聚糖[J]. 西南农业学报, 2002, 15(1): 109-111.