

超声辅助提取大蒜多糖工艺研究

宋照风*

佛山科学技术学院化学工程系, 佛山 528000

摘要: 用大蒜用超声辅助提取大蒜多糖的工艺, 以单因素实验的结果为基础, 进行正交试验, 并以大蒜多糖的提取率作为评定指标, 确定提取大蒜多糖的最佳工艺条件。实验结果表明, 最佳工艺条件为: 脱脂液固比为 3:1; 料液比为 1:6; 超声提取温度为 85 °C; 超声提取时间为 45 min。根据最佳工艺条件进行平行实验, 得到大蒜多糖的平均提取率为 24.9%, 且测得多糖的平均含量为 68.1%。

关键词: 大蒜多糖; 超声辅助提取; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.S.029

Ultrasonic-assisted Extraction of Garlic Polysaccharide

SONG Zhao-feng*

Chemical Engineering Department of Science school, Foshan University, Foshan Guangdong, 528000, China

Abstract: This paper used the garlic as the experimental material and adopted the technology of ultrasonic-assisted extraction of garlic polysaccharide. On the basis of the result of single factor experiment and using the extraction of garlic polysaccharide as evaluation indicators, the orthogonal experiment was carried out to determine the optimal conditions of extraction of garlic polysaccharide. The results made clear that the optimal conditions by orthogonal test as following: The liquid-solid ratio of degreasing was 3:1; the ratio of material to water was 1:6, ultrasonic extraction temperature was 85 °C; time of ultrasonic extraction was 45 min. According to the optimal conditions, the parallel experiment was carried out and the result showed that the average extraction of garlic polysaccharide was 24.9%, the average content of polysaccharide was 68.1%.

Key words: polysaccharide of garlic; ultrasonic-assisted; orthogonal experimental design

大蒜, 多年生草本, 是百合科葱属的植物^[1]。大蒜味道辛辣, 在日常生活中可以食用, 或者作为调味品起去腥提味的作用, 还可以用来入药。新鲜大蒜的营养成分(每百克中的含量): 水分 66.6 g、蛋白质 4.5 g、脂肪 0.2 g、膳食纤维 1.1 g、碳水化合物 26.5 g 等^[2]。大蒜除了被市民用作日常生活中的香辛蔬菜以及不可或缺的调味品来食用外, 加上大蒜具有防病治病的保健功能及药用价值^[3,4]。经研究发现大蒜对机体无副作用、没有毒性、没有过敏反应, 是区别于其他药物的一大优势^[5]。有研究证明: 大蒜可以降低血脂、预防动脉硬化、防治冠心病、脑血栓, 在消炎杀菌、抑制肿瘤的生长增强机体免疫力、延缓衰老以及保护肝脏方面都有很好的药理功效^[6]。经研究表明大蒜中主要起药理学功效的化学

成分是有有机锗、硒、大蒜素以及超氧化物歧化酶^[7,8]。大蒜中富含的硒也具有强大的抗癌效应^[9,10]; 减少得心血管疾病的危险^[11]; 大蒜也含有极其丰富的超氧化物歧化酶(SOD), 而 SOD 则能够清除机体代谢过程中产生的过多的氧自由基, 可以达到预防疾病、延缓衰老的作用^[12]。

多糖又称多聚糖, 其聚合度一般超过 10 以上, 是由糖甙键连接起来的醛糖或酮糖组成的大分子^[13], 其分子量极大。多糖是来自于高等植物、动物细胞膜和微生物的细胞壁中的天然大分子物质, 是所有生命有机体的重要组成成分和维持生命所必需的结构材料^[14]。常用的提取方法有水提醇沉法、超声辅助提取法、微波辅助提取法、酸提取法、碱提取法、酶解法等。

本文采用超声辅助提取法。近年来越来越多植物有效成分的提取都会采用超声波技术, 因为其具有成本低、安全、操作简单、无污染等一系列优点^[15]。超声波产生的强烈振动能够破坏细胞壁, 去

掉细胞壁的阻隔,从而让溶剂能直接进入细胞内进行有效浸提多糖,加速了多糖提取的进程,大大提高了多糖产率,是改善提取效果的一种新方法^[16]。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

大蒜(市购)、无水乙醇、乙醚、丙酮、石油醚、正丁醇、氯仿、硫酸、苯酚、葡萄糖、JYL-CO51 型料理机、TKD-1006A 单槽式超声波清洗机、722 s 可见分光光度计。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程

大蒜去皮→粉碎→脱脂→洗涤→过滤→脱脂泥→超声辅助提取→过滤→除蛋白→离心、分离→浓缩→醇析→洗涤→干燥得大蒜多糖。

1.2.2 实验步骤

大蒜脱脂:把大蒜去皮后称取 50 g 大蒜,并加入 70 mL 蒸馏水打浆,之后用无水乙醇回流两次,每次 1 h,过滤,把滤渣依次用乙醚、丙酮、石油醚进行洗涤,然后再进行抽滤,最终得到的滤渣也就是脱脂后的大蒜泥。

大蒜多糖的超声波提取:称量 10 g 的脱脂大蒜泥置于 150 mL 的洁净烧杯中,加入一定量的蒸馏水后,将其放置在设置好一定温度的单槽式超声波清洗机中,进行超声波提取。提取一定的时间后将料液进行抽滤,得到的即为提取液。

除蛋白:利用 Sevage 的方法进行除蛋白,即把提取液、氯仿、正丁醇按照体积比 20:4:1 的比例混合在一起,之后利用搅拌器进行充分搅拌 30 min,将游离蛋白变性成为不溶性物质,故可看到烧杯内有白色的沉淀析出。将杯内液体倒入分液漏斗中,下层的为析出的蛋白,上层的是提取液。之后将提取液在 3000 rpm 的条件下进行离心 10 min,收集液体得到离心液。

浓缩:将离心液进行水蒸气浓缩,直到浓缩至原溶液体积的四分之一。

醇沉:往浓缩液中加入为其 3 倍体积的无水乙醇,再将其置于冰箱中静置 24 h,之后去掉乙醇,得到的粉黄色粘稠状沉淀依次用乙醇和丙酮进行反复洗涤。

干燥:洗涤后的沉淀进行水蒸气蒸发干燥,最后得到淡黄色的粉末即为大蒜多糖。

1.3 多糖含量的测定

1.3.1 标准曲线的绘制

用分析天平精确称取 20 mg 已恒重的葡萄糖样品,将其放进 100 mL 容量瓶中,而后用蒸馏水将其配制成 0.2 mg/mL 的标准液。然后用吸量管依次准确量取标准溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 分别置于 6 支试管中,再往每支试管中加入蒸馏水使其最终体积为 2.0 mL,各试管再加入 1.0 mL 6% 苯酚溶液,混匀后迅速加入 5.0 mL 浓硫酸,摇匀,静置 5 min 后,放入沸水中加热 20 min,取出,冷却至室温。在波长为 490 nm 处以试剂空白为参比测定其吸光度,以葡萄糖浓度(mg/mL)为横坐标,以吸光度(A)为纵坐标,绘制标准曲线^[17]。

1.3.2 多糖得率及其含量的测定

本文用苯酚-硫酸法测定多糖的含量^[18,19]。

$$\text{多糖提取率} = \frac{M2}{M1} \times 100\%$$

$$\text{多糖含量} = \frac{C \cdot F \cdot D}{M3} \times 100\%$$

其中:M1:大蒜的质量(g);M2:提取出的粗多糖的质量(g);C:葡萄糖的浓度(g/mL);F:换算因子;D:样品溶液的稀释倍数;M3:大蒜多糖样品的质量。

2 结果与分析

2.1 葡萄糖标准曲线

葡萄糖标准曲线线性回归方程为 $A = 52.51429C + 0.1919$, $r = 0.9995$,线性范围:0.000 ~ 0.025 mg/mL。A:吸光度,C:浓度(mg/mL)。

2.2 单因素实验

2.2.1 脱脂液固比对大蒜多糖提取率的影响

在回流脱脂的过程中,脱脂液固比分别为 1.5:1、2:1、2.5:1、3:1、4:1 的条件下回流 2 h,经处理后分别准确称取 10 g 脱脂后大蒜泥五等份,之后保持浸提温度 75 ℃、超声提取时间 40 min、料液比为 1:6 不变的条件下提取大蒜多糖,结果可见图 1。

由图 1 的结果分析,从研究的范围看,脱脂时的液固比越大,大蒜多糖的提取率就越高,但是其增幅却并非越来越大,而是呈现出先大幅度增加后渐渐趋于平缓的趋势。液固比大,即无水乙醇的量越多,这样可以越充分地把大蒜中的脂肪除去,有利于后续步骤多糖的提取。但是当无水乙醇达到充分脱脂的量后,继续增加乙醇也不会对多糖的提取率产生太大的影响。图中显示,在脱脂液固比为 2.5:1 与

3:1 之间多糖得率出现升幅较大的现象,而后增长趋势就较为平缓,因此,选择脱脂液固比为 2:1、2.5:1、3:1、3.5:1 四个水平进行正交试验。

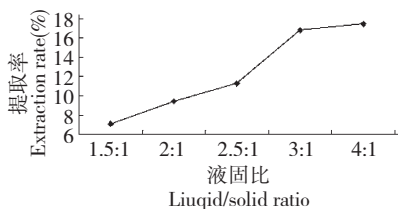


图1 脱脂液固比对多糖提取率的影响

Fig. 1 The effect of liquid/solid ratio on extraction rate of polysaccharide

2.2.2 料液比对大蒜多糖提取率的影响

保持脱脂液固比为 2.5:1 的条件下进行回流脱脂,分别准确称取 10 g 脱脂后大蒜泥五等份,并保持超声提取温度为 75 °C、超声提取时间 40 min 不变,分别在料液比为 1:4、1:5、1:6、1:7、1:8 的条件下提取大蒜多糖,结果可见图 2。

由图 2 看出随着料液比的改变,提取溶剂就逐渐增多,多糖的得率呈现出先上升后缓慢然后再下降的趋势。在料液比在 1:4 和 1:5 之间多糖提取率的升幅较为明显,在 1:7 的时候多糖提取率达到最大值,即大部分的多糖都已被提取出来。因此,可以选择料液比 1:5、1:6、1:7、1:8 四个水平进行正交试验。

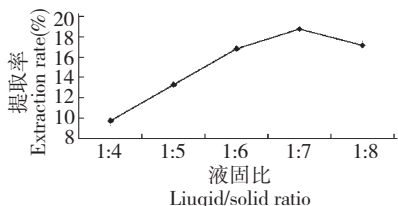


图2 料液比对多糖提取率的影响

Fig. 2 The effect of solid/liquid ratio on extraction rate of polysaccharide

2.2.3 超声提取温度对大蒜多糖提取率的影响

保持脱脂液固比为 2.5:1 的条件下进行回流脱脂,分别准确称取 10 g 脱脂后大蒜泥五等份,并保持料液比为 1:6、超声提取时间 40 min 不变,分别在提取温度为 60、70、80、90、100 °C 的条件下提取大蒜多糖,结果可见图 3。

由图 3 可知,随着超声提取温度的不断升高,大蒜多糖的提取率也逐渐增加,并在 90 °C 时达到了最大值。在 80 °C 之前,提取率增加得较为明显,但是

温度的升高也会加剧水分的蒸发,从而造成大蒜多糖的损失,使得提取率上升的趋势趋于缓慢甚至下降。考虑到温度升高而使得能耗增大,再加上温度过高可能会影响到多糖的结构和活性,因此选择提取温度为 75、80、85、90 °C 进行正交试验。

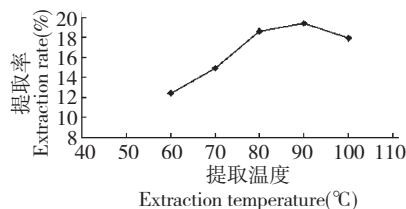


图3 超声提取温度对多糖提取率的影响

Fig. 3 The effect of extraction temperature on extraction rate polysaccharide

2.2.4 超声提取时间对大蒜多糖提取率的影响

保持脱脂液固比为 2.5:1 的条件下进行回流脱脂,分别准确称取 10 g 脱脂后的大蒜泥五等份,并保持料液比 1:6、超声提取温度 75 °C 不变,分别在提取时间为 20、30、40、50、60 min 的条件下提取大蒜多糖,结果可见图 4。

图 4 的结果显示,大蒜多糖的提取率与超声提取时间并没有直接的线性关系,超声提取时间并非越长,大蒜多糖的提取率就会越高,而是呈现出了先大幅上升后逐渐下降的趋势,在时间为 40 min 时提取率出现了最大值。在超过了最佳提取时间后,时间的延长可能引起了多糖的水解,所以造成了多糖的损失,因此选择超声提取时间为 35、40、45、50 min 进行正交试验。

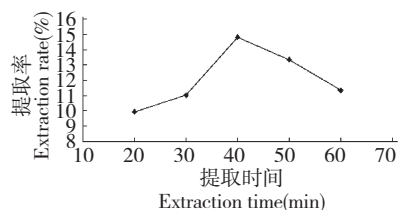


图4 超声提取时间对多糖提取率的影响

Fig. 4 The effect of extraction time on extraction rate polysaccharide

2.3 正交试验优化大蒜多糖提取工艺条件

2.3.1 正交试验设计

通过单因素实验得到了一系列结果,以大蒜多糖的提取率作为评定指标,选择脱脂液固比(即乙醇的体积与大蒜的质量比)、料液比、超声提取温度、超声提取时间四个因素来进行考察,每个因素设

计四个水平,选择 $L_{16}(4^4)$ 正交表,其正交试验设计 如下。

表1 因素水平表

Table 1 Orthogonal design

水平 Level	A(脱脂时液固比) liquid/solid ratio	B(料液比) solid/liquid ratio	(C)超声提取温度 Extraction temperature	(D)超声提取时间 Extraction time
1	2:1	1:5	75	35
2	2.5:1	1:6	80	40
3	3:1	1:7	85	45
4	3.5:1	1:8	90	50

2.3.2 正交试验结果

根据表2中的极差可以直接看出,各因素对大蒜多糖提取率的影响程度是不一样的,极差越大其影响程度就越大。四个因素的影响次序为脱脂液固比(A) > 超声提取温度(C) > 超声提取时间(D) > 料液比(B)。表3的方差分析结果表明,在A、B、C、D四个因素中,因素A的影响具有比较显著的意

义,即脱脂液固比的比例较大,也就是乙醇的体积多而使得脱脂更加完全,从而影响后续步骤,使得多糖提取更加充分。试验得出的最佳水平为 $A_3B_2C_3D_3$,也就是脱脂液固比为3:1,超声提取时的料液比时间为1:6,超声提取温度为85℃,超声提取时间为45 min。为进一步验证正交试验结果的可靠性与重现性,按正交试验得到的最佳工艺条件进行3次平

表2 正交试验结果

Table 2 The results of orthogonal experiment

试验号 No.	A(脱脂液固比) Liquid/solid ratio	B(料液比) Solid/liquid ratio	C(提取温度) Extraction temperature	D(提取时间) Extraction time	多糖提取率 Extraction rate (%)
1	1	1	1	1	8.42
2	1	2	2	2	10.68
3	1	3	3	3	11.97
4	1	4	4	4	13.25
5	2	1	2	3	12.63
6	2	2	1	4	11.21
7	2	3	4	1	14.78
8	2	4	3	2	14.06
9	3	1	3	4	19.62
10	3	2	4	3	21.56
11	3	3	1	2	16.24
12	3	4	2	1	17.93
13	4	1	4	2	19.75
14	4	2	3	1	18.60
15	4	3	2	4	16.96
16	4	4	1	3	15.58
K1	11.080	15.105	12.863	14.908	
K2	13.170	15.513	14.525	15.183	
K3	18.813	14.987	16.063	15.435	
K4	17.723	15.180	17.335	15.260	
R	7.733	0.526	4.472	0.527	

表3 方差分析

Table 3 variance analysis

方差来源 Source of variance	偏差平方和 Sum of squares	自由度 Freedom	F 比 F ratio	F 临界值 F critical value	显著性 Significance
脱脂液固比 Liquid/solid ratio	212.447	3	3.379	3.290	*
料液比 Solid/liquid ratio	1.277	3	0.020	3.290	
提取温度 Extraction temperature (°C)	99.941	3	1.590	3.290	
提取时间 Extraction time (min)	0.458	3	0.007	3.290	

行试验,得到大蒜多糖的平均提取率为 24.84%,平均多糖含量为 68.05%。

3 结论

采用超声辅助提取大蒜多糖的最佳工艺条件为:脱脂液固比为 3:1;料液比为 1:6;超声提取温度为 85 °C;超声提取时间为 45 min,此时多糖提取率为 21.6%。其中四个提取的影响因素中为脱脂液固比影响显著,而超声提取温度、超声提取时间、料液比对大蒜多糖的提取影响较小。

参考文献

- 1 Wang WL(王文玲),Huang XS(黄雪松),Zeng LS(曾莉莎). Advance on the polysaccharide of garlic. *Guangzhou Food Sci Tech*(广州食品工业科技),2004,20:144-146.
- 2 Wang GP(王光平). Food Composition Table(食物成分表). Beijing:People's Health Publishing House,1998. 127-128.
- 3 Qian XZ(钱信忠). The Color of Chinese Volume I[中国本草彩色图鉴(上卷)]. Beijing:People's Health Publishing House,1996. 69-70.
- 4 Zang ZQ(臧至清),Zhou RM(周瑞美). Comprehensive development of medicinal and health care value of garlic. *Food Res Dev*(食品研究与开发),1999,20(2):25-28.
- 5 Wang YJ(王彦军). Research progress of Polysaccharide from traditional Chinese medicine. *J Med The and Pra*(医学理论与实践),2009,22:279-281.
- 6 Chen NY(陈能煜),Wu R(伍睿). Recent progress in the research of Garlic. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2000,12:67-74.
- 7 Lou HX(娄红祥). Research progress on chemical constituents of garlic. *Foreign Med Sci,Plant Med Branch*(国外医学,植物药分册),1991,6(2):55.
- 8 Han YS(韩雅珊). The Food Chemistry Laboratory Second Edition(食品化学实验指导). Beijing:China Agricultural University Publishing House,1996. 97-99.

- 9 Ding H(丁虹). Effect of selenium and Allitridi on the diabetic rats. *Acta Nut Sin*(营养学报),1997,19:384-387.
- 10 Yang M(杨铭),Wang MY(王明一),Hu QY(胡齐悦). Inhibition of lens damages induced by UV irradiation by Selenium-containing Garlic Polysaccharide. *China Illum Eng J*(照明工程学报),1995,6(4):21-24.
- 11 Matsuura H. Saponins in garlic as modifiers of the risk of cardiovascular disease. *J Nutr*,2001,131:1000-1005.
- 12 Jiang QY(蒋秋燕). Extraction purification and property of neutral polysaccharide in garlic (*Allium sativum* L). Jinan: Shandong Agricultural University(山东农业大学),MSc. 2003.
- 13 Yao Y(姚逸). Research on the development and utilization of garlic. *Pri J Chin Mater Med*(基层中药杂志),2000,6:47-48.
- 14 Zhou SW(周世文),Xu CF(徐传福). Immunopharmacological action of polysaccharides. *Chin J Biol Pharm*(中国生化药物杂志),1994,15:143-147.
- 15 Nie SP(聂少平),Xie MY(谢明勇),Luo Z(罗珍). Extraction of tea polysaccharides by microwave technique. *Food Sci*(食品科学),2005,26:103-106.
- 16 Guo XW(郭孝武). Ultrasonic extraction and its application(超声提取及其应用). Xi'an:Shanxi Normal University Press,2003. 51-53.
- 17 Xu XH(徐秀卉),Yang B(杨波). Study on extraction techniques of polysaccharides from *Auricularia auricu* Lajuda Ultrasonic Wave. *Pharm Clin Res*(药学与临床研究),2011,19:189.
- 18 Saha SK, Brewer CF. Determination of the concentration of oligosaccharides, complex type carbohydrate, and glycoproteins using the phenol-sulfuric acid method. *Carbohydr Res*, 1994,254:157-167.
- 19 Gong MY(龚敏阳),Wen J(文隽),Wu XY(伍小燕), et al. Content determination of total polysaccharide in Plus capsule. *J Guangxi Uni Chia Med*(广西中医学院学报). 2005,8(4):61.