

山药皮中皂甙的提取工艺优化研究

张金凤*, 郭 丽, 柴云雷

(绥化学院食品与制药工程学院, 绥化 152061)

摘 要: **目的** 提取、分离山药皮中皂甙成分。**方法** 以山药皮为原料, 结合单因素实验和正交实验, 以皂甙元提取率为评价指标, 确定超声波回流乙醇提取山药皮皂甙的最佳工艺参数条件。**结果** 温度 70 ℃, 乙醇浓度 85%, 时间 6 h, 料液比 1:20。在此条件下, 皂甙提取率可达到 0.139%。**结论** 本实验采用超声波回流乙醇提取山药皮皂甙, 测定方法简便、快速, 稳定性及重现性好, 可实现资源利用最大化, 提高山药的经济价值。
关键词: 山药皮; 皂甙提取; 超声波

Study on extraction technology of saponins from Chinese yam skin

ZHANG Jin-Feng*, GUO LI, CHAI Yun-Lei

(The Food and Pharmaceutical Engineering Institute, Suihua College, Suihua 152061, China)

ABSTRACT: **Objective** To extract and separate the saponins from Chinese yam skin. **Methods** Yam skin as raw materials combined with the single factor experiment and orthogonal experiment and optimum process parameters of saponins from yam skin were confirmed by the ultrasonic reflux ethanol extraction with tigogenin extraction yield as evaluation indicators. **Results** The experimental results showed that under the condition of the temperature of 70 ℃, 85% ethanol concentration, time of 6 h, and material liquid than 1:20, the saponins extraction rate could reach 0.139%. **Conclusion** In this study, yam skin saponin was extracted by ultrasonic reflux ethanol. It was simple, fast, and had a good stability and a good reproducibility to maximize the resource utilization and improve economic value of yam.

KEY WORDS: Chinese yam skin; extraction of saponins; ultrasound

1 引 言

山药又称薯蓣、土薯、山薯蓣, 一年或多年生蔓生草本植物, 为我国传统药食两用的重要原料之一。除含淀粉、黏液多糖、皂苷、黄酮、色素多酚类物质、植酸、山药碱、8 大必需氨基酸等成分外, 还含有铁、磷、钙等多种无机元素^[1]。山药皂甙属于甙体皂甙, 由甙体母核和二个鼠李糖、一个葡萄糖结合在一起, 在酸、加热或酶解的条件下可水解成山药皂甙元^[2]。现

有研究结果表明, 山药甙体皂甙元具有多种生理活性功能, 包括降血脂、改善心肌缺血^[3]、抗衰老^[4]、抗肿瘤^[5]等作用。于海荣等^[6]通过血清药理学实验, 证明穿山龙总皂苷可抑制 T 淋巴细胞增殖。赵云茜等^[7]通过探讨薯蓣皂苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用, 结果发现薯蓣皂甙高、低剂量组能显著改善大鼠血流动力学参数, 缩小心肌梗死面积, 明显改善心肌细胞肿胀、细胞核碎裂、炎性细胞浸润等损害。对于山药提取皂甙的研究, 陈希佳^[8]利用铁棍山

基金项目: 绥化学院应用技术研究项目(Y1502001)

Fund: Supported by Applied Technology Research Projects of Suihua College (Y1502001)

*通讯作者: 张金凤, 硕士, 主要研究方向为食品生物技术与食物营养。E-mail: zhangfeng_1105@126.com

*Corresponding author: ZHANG Jin-Feng, the Food and Pharmaceutical Engineering Institute, Suihua College, Suihua 152061, China. E-mail: zhangfeng_1105@126.com

药提取活性成分研究皂甙提取率较少, 而吴祥庭^[9]用超声法提取山药皂甙, 并对山药皂甙进行体外抗氧化作用研究, 结果表明山药皂甙是一个天然、安全的抗氧化剂。山药活性成分研究和相关食品(山药粉、山药片、山药饮品)研制的同时, 大量山药皮产生, 只有少部分作为饲料添加成分, 其余大部分都被作为废料丢弃, 不仅带来环境污染, 而且造成资源的极大浪费。本文以山药皮为原料提取总甙体皂甙元, 整合资源限度的最大利用, 提高山药本身经济价值, 为其综合利用提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 材料与设备

山药: 绥化市售; 薯蓣皂甙元标准品: 中国药品生物制品检定所; 其他试剂均为国产分析纯。

UV-721 型分光光度计, 上海元析仪器有限责任公司; SZCL 型磁力搅拌器, 金坛市医疗仪器厂; HH-S 型电热恒温水浴锅, 江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司; HSCOL-4 型数显鼓风干燥箱, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; DTS 型超声波仪, 昆山市超声仪器有限公司; FS180-4 型万能粉碎机, 天津市泰斯乐仪器有限公司

2.2 实验方法

2.2.1 山药皮中皂甙的提取

称取一定量的山药, 洗净, 剔取山药皮, 剪成长宽均等的碎片, 在干燥箱中 60 ℃干燥 5 h, 待冷却, 用万能粉碎机粉碎干燥的山药碎片过 100 目筛。准确称取 5 g 山药皮粉末, 在蒸馏水中超声处理, 抽滤; 超声波处理后, 用乙醇提取, 提取液抽滤得清液, 即为山药皮皂甙提取液, 再进行浓缩、室温放置至结晶析出, 最后洗涤、干燥得总甙体皂甙元样品^[10]。

2.2.2 薯蓣皂甙标准曲线制作

分别吸取薯蓣皂甙对照液 0.0 mL、0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、2.5 mL 置于比色管内, 挥干溶剂。各个比色管中均加入体积分数为 5% 的香草醛冰醋酸溶液 0.2 mL, 高氯酸 0.8 mL, 混匀盖塞, 置

60 ℃恒温水浴锅中显色 15 min, 取出后冰水冷却 5 min, 加入冰醋酸 5.0 mL, 摇匀, 静置 10 min, 以试剂空白为参比, 用 721 型分光光度计在 544 nm 波长处测其吸光度(A)。以薯蓣皂甙浓度为横坐标, 以吸光度(A)为纵坐标, 绘制标准曲线^[11]。

2.2.3 样品溶液配制及其含量测定

(1) 样液的配制

按 2.2.1 方法制得的总甙体皂甙元样品, 用 10 mL 乙醇充分溶解, 吸取 1 mL 溶解液定容到 100 mL 容量瓶中, 待测。

(2) 含量的测定

取待测样液 1 mL 按 2.2.2 方法测定吸光度, 并通过标准曲线回归方程得出样品液浓度, 计算提取率(以山药皮质量计)。

总甙体皂甙元提取率= $\frac{C \times N \times V}{M} \times 100\%$

式中: C 为样品液浓度, 单位 g×mL⁻¹;

N 为稀释倍数;

V 为提取液体积, 单位 mL;

M 为山药皮质量, g。

2.2.4 单因素实验

以总甙体皂甙元提取率为指标, 分别选取提取温度、乙醇的浓度、提取时间、固液比作为单因素, 进行实验。从中选取适宜的条件, 进行下一步正交实验。

2.2.5 正交实验

通过单因素实验选取提取温度、乙醇的浓度、提取时间、固液比四个因素适宜水平进行四因素三水平正交实验。设计的因素水平表, 如表 1 所示。

3 结果与分析

3.1 标准曲线的绘制

根据方法 2.2.2 测定吸光值, 绘制标准曲线, 见图 1。

3.2 浸提温度对皂甙提取率的影响

85% 的乙醇 100 mL, 摇匀, 分别在 30、50、70、90、100 ℃下回流浸泡 6 h。不同浸提温度下的山药皮皂甙提取率见图 2。

表 1 正交实验因素水平表
Table 1 Factor level table of orthogonal test

水平	A 温度/℃	B 乙醇浓度/%	C 时间/h	D 固液比
1	30	65	4	1:10
2	50	75	6	1:15
3	70	85	8	1:20

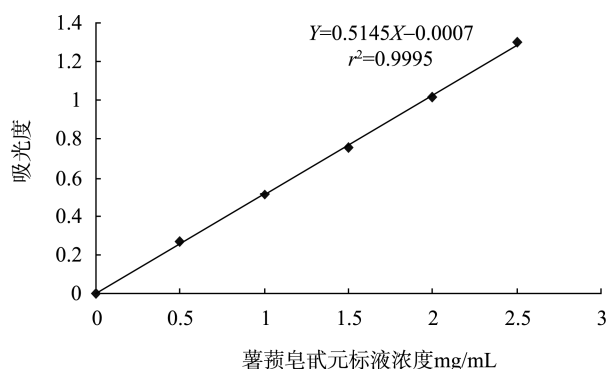


图1 薯蓣皂甙标准曲线

Fig. 1 Standard curve of Dioscin

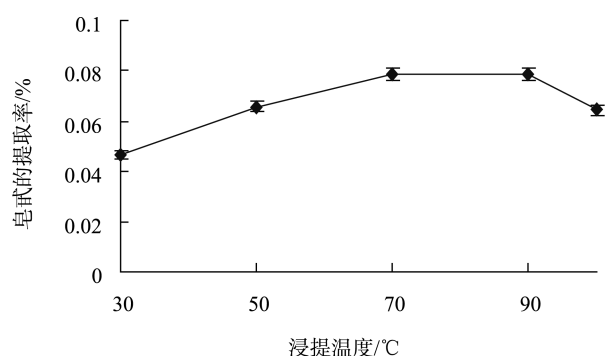


图2 温度对皂甙提取率的影响

Fig. 2 Effect of temperature on the rate of saponin

由图2可知,随着浸提温度的升高,提取率呈先上升后下降的趋势,温度在70℃后皂甙的提取率反而随着温度的升高反而下降,主要是皂甙类生物活性物质被破坏,乙醇在高温下挥发,造成浸提溶剂缺失^[12],所以由图2综合分析,选择70℃较适宜。

3.3 溶剂浓度对皂甙提取率的影响

分别加入55、65、75、85、95%的乙醇100 mL,摇匀,70℃回流浸泡6 h。不同溶剂浓度下的山药皮皂甙提取率见图3。

由图3可以看出,在55~65%上升幅度较小,原因是用乙醇浸提皂甙时,起初一些亲水性物质如蛋白质、淀粉多糖和其他水溶性杂质就会溶出,对提取率造成影响^[13],后随之影响减少,但当乙醇浓度分数大到一定程度时,会间接阻碍乙醇向山药细胞的渗入,所以从图3中可以看出,75~85%较适宜。

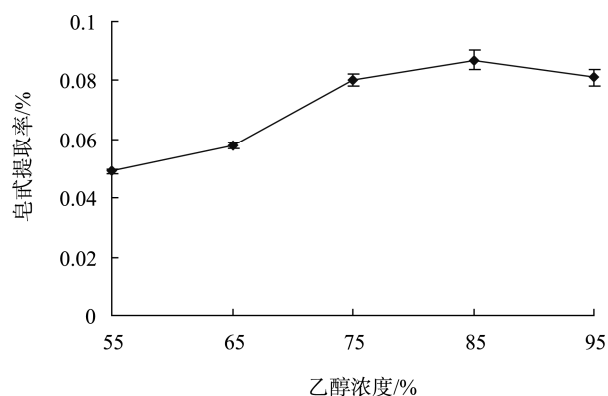


图3 乙醇浓度对皂甙提取率的影响

Fig. 3 Effect of ethanol concentration on the rate of saponin

3.4 浸提时间对皂甙提取率的影响

85%的乙醇100 mL,摇匀,70℃分别回流浸提2、4、6、8、10 h。不同浸提时间下的山药皮皂甙提取率见图4。

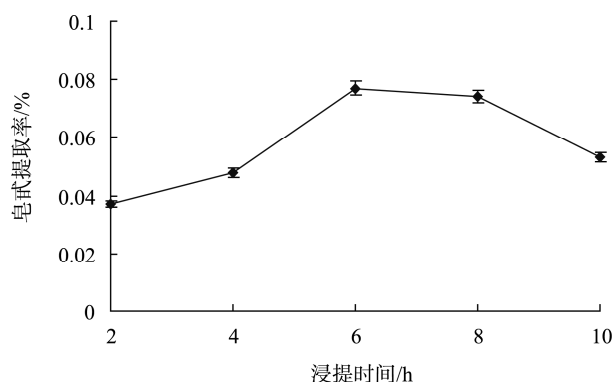


图4 浸提时间对皂甙提取率的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on the extraction rate of saponin

由图4可以看出,在6~7 h提取率达到最大值,主要是在回流浸提时间足够,固液充分接触,皂苷从山药皮粉中较好的渗入乙醇中,但回流时间过长(8 h后)皂甙类已经不再溶出,所有由图4可知浸提时间在6~8 h较为适宜。

3.5 料液比对皂甙提取率的影响

85%的乙醇25、50、75、100、125 mL,摇匀,70℃分别回流浸提6 h。不同料液比下的山药皮皂甙提取率见图5。

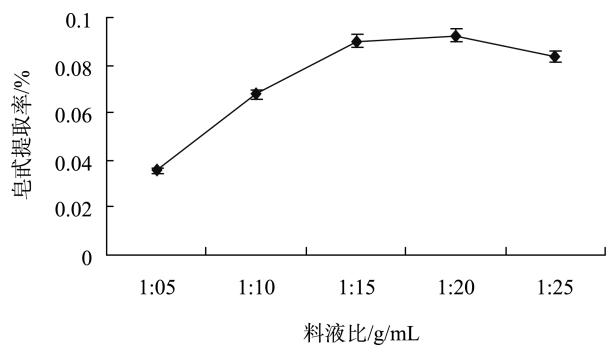


图 5 料液比对皂甙提取率的影响

Fig. 5 Effect of Ratio of solid on extraction rate of saponin

由图5可知料液比的增加,皂甙提取率呈先增高后平缓下降的趋势,即在 1:20 后继续增大料液比提取率有所降低。所以从提取效果、后续蒸发浓缩工序以及溶剂使用成本等多角度综合考虑料液比在 1:20 为宜。

3.6 正交实验结果分析

在上面单因素的基础上,根据表1以皂甙提取率为考察指标,采用三水平四因素正交重复实验 $L_9(3^4)$

来确定超声回流辅助乙醇提取皂甙的最佳工艺参数。

3.6.1 极差分析

采用直观的极差分析法(如表 2),根据各因素的 K 、 k 、 r 值的大小,对正交实验结果进行分析。比较表中四个因素中 r 值的大小可以看出:料液比的 $r=0.086$,最大。由此可判断出各因素对皂甙提取率的影响主次顺序为:料液比>乙醇浓度>浸提时间>浸提温度。

3.6.2 因素指标关系分析

根据指标 k 的大小可以判断优水平和优组合,由图 6 可见:浸提温度、乙醇浓度、浸提时间、料液比的优水平分别为 A_3 、 B_3 、 C_2 、 D_3 。优组合即为 $A_3B_3C_2D_3$ 。

从表 3 我们可以得知,在 0.05 显著水平上,乙醇浓度和料液比两个因素对山药皮中皂甙提取率的影响显著,而在 0.01 显著水平上,同样是乙醇浓度和料液比两个因素对山药皮中皂甙提取率的影响显著,综合表 2 及图 6 指标与因素关系可以确定的最有组合为 $A_3B_3C_2D_3$ 即温度 70 ℃,乙醇浓度 85%,时间 6 h,料液比 1:20 作为皂甙提取的最佳工艺参数。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交实验结果及极差分析

Table 2 Orthogonal test $L_9(3^4)$ results and range analysis

实验号	A 温度/	B 乙醇浓度/%	C 时间/h	D 固液比	皂甙提取率/(%)		
1	1	1	1	1	0.051	0.061	0.053
2	1	2	2	2	0.037	0.042	0.035
3	1	3	3	3	0.150	0.146	0.145
4	2	1	2	3	0.112	0.115	0.097
5	2	2	3	1	0.069	0.059	0.064
6	2	3	1	2	0.060	0.056	0.052
7	3	1	3	2	0.032	0.027	0.028
8	3	2	1	3	0.130	0.121	0.124
9	3	3	2	1	0.140	0.136	0.135
K_1	0.24	0.192	0.236	0.256	T=0.759		
K_2	0.228	0.227	0.283	0.123			
K_3	0.291	0.34	0.24	0.38			
$\bar{K}_1$	0.08	0.064	0.079	0.085			
$\bar{K}_2$	0.076	0.076	0.094	0.041			
$\bar{K}_3$	0.097	0.113	0.08	0.127			
极差 r	0.021	0.049	0.015	0.086			

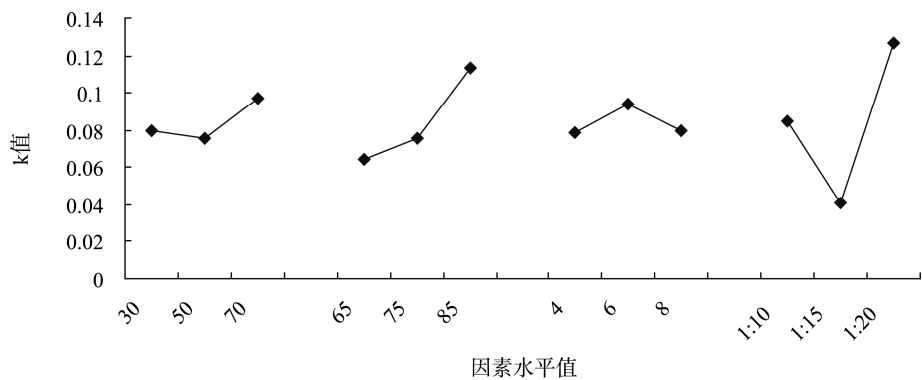


图 6 因素与实验指标的关系
Fig. 6 Factors and test indicators

表 3 方差分析表
Table 3 Anova table

误差来源	SS	df	MS	F 值	F 临界值	显著性
温度	0.001	2	0.0005	5	$F_{0.01(2,2)}=99.01$	
乙醇浓度	0.004	2	0.002	20	$F_{0.05(2,2)}=19$	*
时间	0.0004	2	0.0002	2		
料液比	0.161	2	0.0805	805		*
误差	0.0002	2	0.0001			
总和	0.1666	10				

3.7 最优条件下的验证性实验

在温度 70 ℃，乙醇浓度 85%，时间 6 h，料液比 1:20 参数条件下，进行山药皮中皂甙的提取实验。做 3 次重复实验。结果表明：在这种条件下，提取率可达到 0.139%。

4 结 论

(1)通过实验的极差和方差分析研究确定影响皂甙提取率的因素主次顺序，其中料液比>乙醇浓度>浸提温度>浸提时间。

(2)通过单因素和正交实验研究料液比、乙醇浓度、浸提温度、浸提时间对山药皮中皂甙提取的不同程度影响，确定提取最佳工艺参数：温度 70 ℃，乙醇浓度 85%，时间 6 h，料液比 1:20。在此条件下，皂甙提取率可达到 0.139%。

参考文献

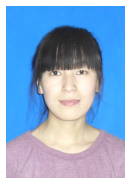
[1] 赵一霖. 原生贡寮山药多酚提取物抗氧化性质的研究 [D].

宁波: 宁波大学, 2014.
Zhao YL. Research of native gong lao yam polyphenols extract antioxidant properties [D]. Ningbo: Ningbo University, 2014.
[2] 吴祥庭, 朱涛, 郑巧敏, 等. 响应面法优化山药皮中皂苷提取的研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26: 92–96.
Wu XT, Zhu T, zheng QM, *et al.* study of yam skin of saponins by the response surface method optimization [J]. J China Grain Oil, 2011, 26: 92–96.
[3] Kar1 L. Use of diosgenin in compositions with cosmetic or dermopharmaceutical use: FR, 2819409 [P]. 2002-07-19.
[4] Farombi EO, Britton G, Emerole GO. Evaluation of the antioxidant activity and partial characterisation of extracts from browned yam flour diet [J]. Food Res Int, 2000, 33(6): 493–499.
[5] Wang Z, Zhou JB, Ju Y, *et al.* Effects of two saponins extracted from the polygonatum zanlanscianse on the human leukemia (HL- 60) cells [J]. Biol Pharm Bull, 2001, 24(2): 159–162.
[6] 于海荣, 王济兴, 张凤英, 等. 穿山龙总皂苷对大鼠 T 淋巴细胞功能影响的血清药理学研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(9): 1653–1654.

- Yu HR, Wang JX Zhang FY, *et al.* Yam total saponins effect on function of T lymphocytes in rats serum pharmacology study [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2006, 17(9): 1653–1654.
- [7] 赵云茜, 康毅, 高卫真, 等. 薯蓣甙苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国心血管杂志, 2008, 13(6): 434–437.
- Zhao YQ, Kang Y, Gao WZ, *et al.* Yam glucoside glycosides on the protective effects of myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Chin J Cardiovascular, 2008, 13(6): 434–437.
- [8] 陈希佳. 铁棍山药有效成分提取分离及其活性研究 [D]. 西安: 西北大学, 2011.
- Chen XJ. Iron yam extraction and separation of effective components and its active research [D]. Xi'an: Northwest University, 2011.
- [9] 吴祥庭, 董新姣, 杨海龙, 等. 山药皂甙均匀设计法优化提取及其体外抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2013, 2(6): 91–95.
- Wu XT, Dong XJ, Yang HL, *et al.* Mountain soap glucoside uniform design method to optimize the extraction and their antioxidant activity in vitro studies [J]. J Chin Food, 2013, 2(6): 91–95.
- [10] 黄桂东, 钟先锋, 吴龙奇. 山药总皂甙的提取研究 [J]. 农产品加工, 2006, 11(4): 42–45.
- Huang GD, Zhong XF, Wu LQ. Yam the extraction of total saponins research [J]. J Agric Prod Process, 2006, 11(4): 42–45.
- [11] 洪艳平, 尹忠平. 山药皮总甙体皂甙元提取与测定 [J]. 中国食品学报, 2008, 4(8): 47–51.
- Hong YP, Yin ZP. Yam skin extraction and determination of total steroidal saponins yuan [J]. J Chin Food, 2008, 4(8): 47–51.
- [12] Choi EM, Hwang JK. Enhancement of oxidative response and cytokine production by yam mucopolysaccharide in murine peritoneal macrophage [J]. Fitoterapia, 2002, 73(7): 629–637.
- [13] 许晶, 张永忠, 江连洲, 等. 超声波法提取大豆糖蜜中大豆皂苷的研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(9): 23–26.
- Xu J, Zhang YZ, Jiang LZ, *et al.* The ultrasonic method to extract soybean molasses in soybean saponins research [J]. Chin J Grain Oil, 2009, 24(9): 23–26.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



张金凤, 硕士研究生, 主要研究方向为食品生物技术与食物营养。
E-mail: zhangfeng_1105@126.com