

山药多糖提取工艺响应面法优化

诸爱士,成 忠

(浙江科技学院 生物与化学工程学院,杭州 310023)

摘 要: 为优化山药多糖提取工艺,以山药多糖得率为指标,在单因素考察基础上,根据 Box-Behnken 中心组合方法进行三因素(提取温度、提取时间、水物质量比)三水平的试验设计,以得率为响应值,进行响应面(RSM)分析。得到的优化工艺参数为:提取温度为 71.1 °C,提取时间为 4.12 h,水物比为 23.3。在此条件下,山药多糖的理论得率为 6.846%,实际得率为 6.75%。

关键词: 山药多糖;提取工艺;响应面分析

中图分类号: R284.1, R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2011)01-0015-05

Optimization for extraction process of yam polysaccharide by using response surface methodology

ZHU Ai-shi, CHENG Zhong

(School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology,
Hangzhou 310023, China)

Abstract: The optimization experiment of active polysaccharide extraction of Chinese yam was carried out, in which yam polysaccharide yield was taken as an index. Based on the single factor experiments, a three-factor (extraction temperature, extraction time, material-water mass ratio)-three-level experiment design has been developed by Box-Behnken central composite design method. The yield of yam polysaccharide was used as the responsive values. The response surface method was employed to analyze the results of experiments. Consequently, the optimized processing parameters were determined, including extraction temperature of 71.1 °C, extraction time of 4.12 h and material-water mass ratio of 23.3. The theoretical yield of the yam polysaccharide can reach 6.846% and practical yield is 6.75% under optimized conditions.

Key words: yam polysaccharide; extraction process; response surface methodology

收稿日期: 2010-08-05

基金项目: 浙江省科技计划项目(2007C21063)

作者简介: 诸爱士(1966—),男,浙江湖州人,副教授,主要从事单元操作教学与应用研究。

山药多糖是目前公认的山药重要活性成分之一,其具有许多优越的生理功能^[1-3],如免疫调节、增强免疫功能、抗肿瘤、调节血糖、抗细菌、降血脂和抗氧化等。

王刚等^[4]采用水提法、许本波等^[5]采用微波辅助水提法、李金忠等^[6]采用超声辅助水提法、张元等^[7]采用酶法等确定了山药多糖提取的最佳工艺条件。但均未考虑预处理时间对得率的影响,也没有考虑溶剂回收。因此,笔者在前文^[8]考察了提取过程的温度、时间、水物比(去离子水与预处理过的山药质量比,全文同)、提取次数等因素及预处理时间、溶剂回收再利用等对得率影响的基础上,将响应面法应用于提取山药多糖的优化工艺中,建立多糖提取条件与得率之间的模型,以期获得最优的工艺参数,提高多糖的得率。

1 材料与方法

1.1 主要原料、试剂及仪器

1.1.1 实验原料

山药饮片,产地河南,安徽德昌药业饮片有限公司生产。

1.1.2 实验试剂

无水乙醇、无水乙醚、丙酮、甲醇、正丁醇、硫酸、苯酚、三氯甲烷、葡萄糖,均为 AR。

1.1.3 实验仪器

722E 型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司),DK-S24 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司),BS124S 型电子天平(北京塞多利斯仪器系统有限公司),RE52CS 旋转蒸发仪(上海亚龙生化仪器厂),800B 离心机(上海安亭科学仪器厂),DHG-9123A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精密实验设备有限公司)。

1.2 实验步骤

1.2.1 山药饮片的预处理

使用前恒温 50 ℃ 烘干 4 h,再粉碎至粉末干燥待用。

1.2.2 山药多糖的提取

山药的预处理和水提方法同文献^[9]。

1.2.3 葡萄糖质量浓度测定及提取得率计算

含量测定采用苯酚-硫酸法。经作工作曲线,将吸光度与质量浓度拟合得关系式如下:

$$X=0.025\ 5Y-0.000\ 06$$

其中: X —葡萄糖质量浓度,g/L; Y —485 nm 处的吸光度;山药多糖的质量浓度以葡萄糖计^[9],山药多糖的得率按以下公式计算:

$$\eta=\frac{10mX}{M}\times 100\%$$

其中: η —山药多糖的得率,%; m —提取出的山药多糖的质量,g; X —由吸光光度法测得的山药多糖的质量浓度,g/L; M —原料山药质量,g。

2 结果与分析

单因素考察实验结果表明,提取温度、提取时间和水物比三因素对多糖的提取得率影响较大,其较佳值分别为 60 ℃、2 h、20。现采用 Box-Behnken 设计^[10],以山药多糖得率为目标,乙醇预处理(2+2)h,提取 1 次,以提取温度、提取时间和水物比分别对应独立变量 X_1 、 X_2 和 X_3 。试验因素与水平编码见表 1,模型选用二次方程:

$$Y=\beta_0+\beta_1 X_1+\beta_2 X_2+\beta_3 X_3+\beta_{12} X_1 X_2+\beta_{13} X_1 X_3+\beta_{23} X_2 X_3+\beta_{11} X_1^2+\beta_{22} X_2^2+\beta_{33} X_3^2 \quad (1)$$

表 1 试验因素与水平编码

Table 1 Codes and levels of factors chosen

| 编码值 | 提取温度/℃ | 提取时间/h | 水物比 |
|-----|--------|--------|-------|
| | X_1 | X_2 | X_3 |
| -1 | 55 | 1.5 | 15 |
| 0 | 60 | 2.0 | 20 |
| 1 | 65 | 2.5 | 25 |

2.1 响应值结果及其拟合模型

由 Box-Behnken 设计方案所得结果见表 2。

通过试验设计软件 Design-Expert^[11]将表 2 的结果对模型(1)进行了拟合,得到了拟合方程:

$$Y = -41.648\ 00 + 1.420\ 60X_1 - 1.003\ 00X_2 + 5.700\ 00 \times 10^{-3}X_3 + 0.066\ 000X_1X_2 - 2.600\ 00 \times 10^{-3}X_1X_3 - 0.028\ 000X_2X_3 - 0.011\ 480X_1^2 - 0.368\ 00X_2^2 + 6.320\ 00 \times 10^{-3}X_3^2 \quad (2)$$

试验的方差分析见表 3。

表 2 试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results

| 试验编号 | X_1 | X_2 | X_3 | 响应值 $Y/\%$ |
|------|-------|-------|-------|------------|
| 1 | -1 | -1 | 0 | 3.86 |
| 2 | 1 | -1 | 0 | 4.84 |
| 3 | -1 | 1 | 0 | 4.28 |
| 4 | 1 | 1 | 0 | 5.92 |
| 5 | -1 | 0 | -1 | 4.04 |
| 6 | 1 | 0 | -1 | 5.32 |
| 7 | -1 | 0 | 1 | 4.76 |
| 8 | 1 | 0 | 1 | 5.78 |
| 9 | 0 | -1 | -1 | 4.38 |
| 10 | 0 | 1 | -1 | 5.62 |
| 11 | 0 | -1 | 1 | 4.86 |
| 12 | 0 | 1 | 1 | 5.82 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | 5.20 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 4.98 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 5.11 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 5.10 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 5.13 |

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for regression equation

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方和 | F 值 | $Pr>F$ |
|----------|-------|-----|------------------------|--------|----------|
| X_1 | 3.03 | 1 | 3.03 | 162.15 | <0.000 1 |
| X_2 | 1.71 | 1 | 1.71 | 91.71 | <0.000 1 |
| X_3 | 0.43 | 1 | 0.43 | 23.18 | 0.001 9 |
| X_1X_2 | 0.11 | 1 | 0.11 | 5.84 | 0.046 4 |
| X_1X_3 | 0.017 | 1 | 0.017 | 0.91 | 0.373 0 |
| X_2X_3 | 0.020 | 1 | 0.020 | 1.05 | 0.339 5 |
| X_1X_1 | 0.35 | 1 | 0.35 | 18.59 | 0.003 5 |
| X_2X_2 | 0.036 | 1 | 0.036 | 1.91 | 0.209 5 |
| X_3X_3 | 0.11 | 1 | 0.11 | 5.63 | 0.049 4 |
| 失拟项 | 0.11 | 3 | 0.035 | 5.55 | 0.065 7 |
| 误差 | 0.13 | 7 | 0.019 | | |
| 模型 | 5.79 | 9 | 0.64 | 34.47 | <0.000 1 |
| 残差 | 0.025 | 4 | 6.330×10^{-3} | | |
| 总离差 | 5.92 | 16 | | | |

注: $Pr>F$ 值如果小于 0.05,说明对应的因素响应值影响显著。

表 3 显示,模型的 F 值为 34.47, $F > f_{0.01}(9,4) = 14.66$,说明因变量和自变量之间的线性关系显著;各试验因子对响应值的影响不是简单的线性关系;模型的失拟项很小,表明该模型对试验拟合情况好。

将回归模型通过 SAS 软件岭脊分析^[12]预测得到山药多糖提取的最佳工艺条件为:提取温度 71.1 °C,提取时间 4.12 h,水物比 23.3,在此条件下,山药多糖理论得率 6.846%。

2.2 等高线图和响应曲面图分析

保持其他因素不变,可获得某两个因素及其交互作用对得率影响的二元二次方程如下:

$$Y = -37.608\ 95 + 1.328\ 68X_1 - 1.696\ 05X_2 + 0.066\ 000X_1X_2 - 0.011\ 147X_1^2 - 0.334\ 74X_2^2 \quad (3a)$$

$$Y = -45.939\ 47 + 1.575\ 84X_1 - 0.042\ 553X_3 - 2.600\ 00 \times 10^{-3}X_1X_3 - 0.011\ 674X_1^2 + 6.126\ 32 \times 10^{-3}X_3^2 \quad (3b)$$

$$Y = +1.655\ 79 + 3.198\ 68X_2 - 0.126\ 13X_3 - 0.028\ 000X_2X_3 - 0.428\ 42X_2^2 + 5.715\ 79 \times 10^{-3}X_3^2 \quad (3c)$$

由此就可以得到一组响应曲面图及其等高线图,从而可观察某两个因素及其交互作用同时对得率的影响,并为因素的最佳水平确定给出了范围。

回归优化响应面曲面图及等高线图见图 1。

由图 1a 可知,在水物比 20 固定时,由提取温度 55~65 °C、提取时间 1.5~2.5 h 所形成的区域中,随

着提取温度的升高与提取时间的增加,得率有所增加,但其增幅有减缓的趋势;当提取温度 65°C 、提取时间 2.5 h 时,提取得率最大。

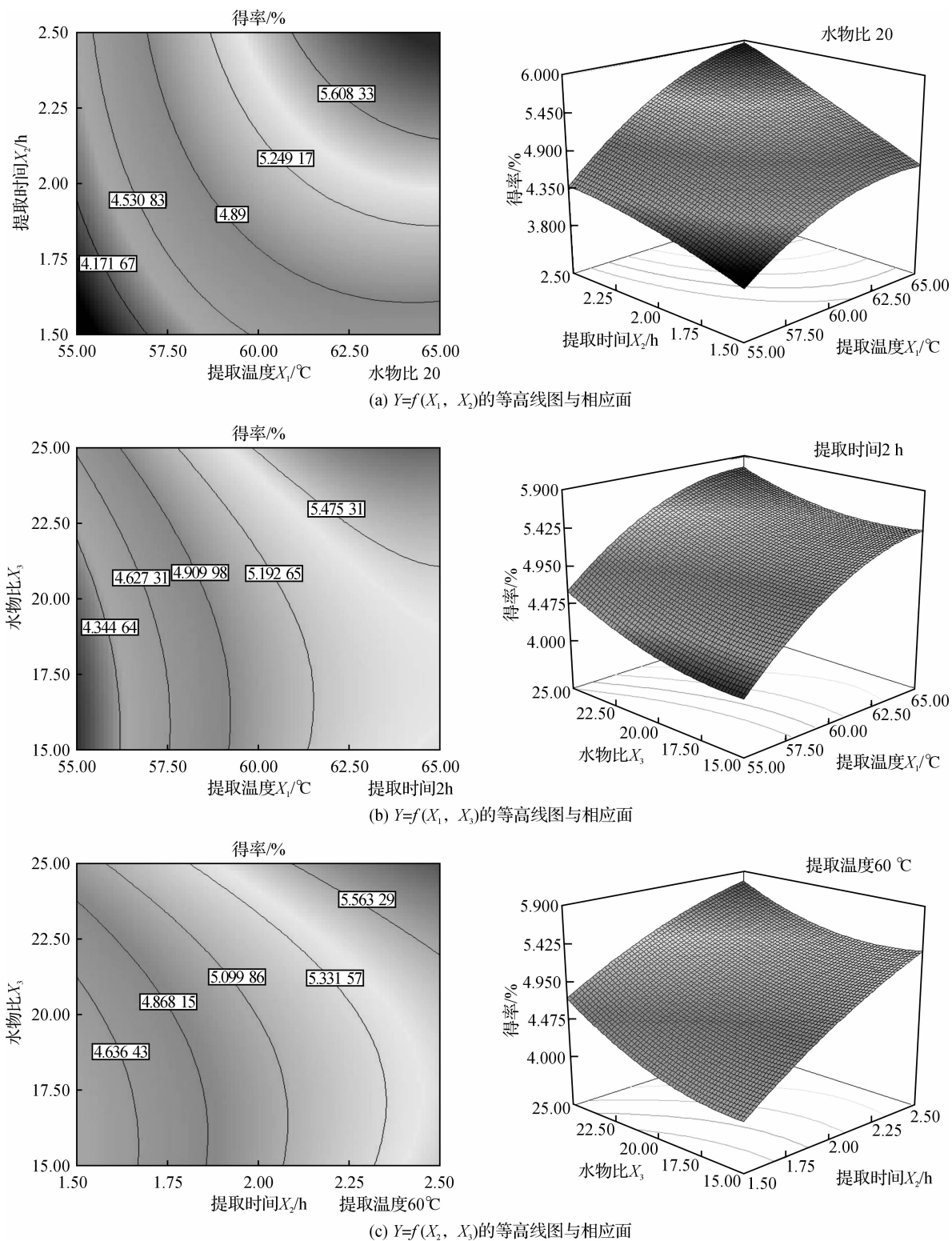


图 1 不同因素组合影响多糖得率的曲面图及其等高线

Fig. 1 Response surface plots and contour plots of yield of yam polysaccharide as function of different conditions

由图 1b 可知,在提取时间 2 h 固定时,由提取温度 55~65 ℃、水物比 15~25 所形成的区域中,随着提取温度的升高与物水比的增加,得率有所增加,但其增幅同样有减缓的趋势;当提取温度 65 ℃、水物比 25 时,提取得率最大。

由图 1c 可知,在提取温度 60 ℃时,由提取时间 1.5~2.5 h、水物比 15~25 所形成的区域中,随着提取时间的增加与物水比的增加,得率有所增加,但其增幅依然有减缓的趋势;当提取时间 2.5 h、水物比 25 时,提取得率最大。

2.3 模型的验证

为检验 RSM 法的可靠性,采用最优提取条件进行山药多糖的提取实验,在提取温度 71.1 ℃、提取时间 4.12 h、水物比 23.3、提取次数 1 次条件下进行 3 次平行实验,实际测得的多糖得率平均值为 6.75%,与理论预测值的相对误差为 1.40%。

3 结 语

应用响应面分析法优化得到的山药多糖提取最优条件为:提取温度 71.1 ℃,提取时间 4.12 h,水物比 23.3,山药多糖得率理论值 6.846%,验证实验实际得率为 6.75%,误差为 1.40%。该法直观有效,并可减少工艺条件选择的盲目性。

山药多糖提取条件优化的回归模型为:

$$Y = -41.648\ 00 + 1.420\ 60X_1 - 1.003\ 00X_2 + 5.700\ 00 \times 10^{-3}X_3 + 0.066\ 000X_1X_2 - 2.600\ 00 \times 10^{-3}X_1X_3 - 0.0280\ 00X_2X_3 - 0.011\ 480X_1^2 - 0.368\ 00X_2^2 + 6.320\ 00 \times 10^{-3}X_3^2$$

参考文献:

- [1] SAUTOUR M, MITAINE-OFFER A C, MIYAMOTO T, et al. A new phenanthrene glycoside and other constituents from dioscorea opposita[J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52(10): 1235-1237.
- [2] 赵国华,李志孝,陈宗道,等. 山药多糖的免疫调节作用[J]. 营养学报, 2002, 24(2): 187-188.
- [3] IWU M M, OKUNJI C O, AKAH P, et al. Dioscoretine: the hypoglycemic principle of dioscorea dumetorum[J]. Planta Med, 1990, 56(1): 119-120.
- [4] 王刚,杜士明,肖淼生,等. 山药多糖的提取分离及山药总多糖的含量测定[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(10): 1414-1416.
- [5] 许本波,张世俊,江洪波. 微波辅助法提取山药多糖的研究[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(12): 34-35, 60.
- [6] 李金忠,马海乐,吴沿友. 山药多糖的超声辅助提取技术研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(4): 72-75.
- [7] 张元,林强,魏静娜,等. 酶法提取山药中多糖的工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 374-377.
- [8] 周垠辉,诸爱士,冯晟. 山药多糖提取工艺研究[J]. 浙江科技学院学报, 2009, 21(4): 323-326.
- [9] 梁亦龙,阎光凡,舒坤贤,等. 山药水溶性多糖的提取及抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(11): 1-3.
- [10] 王章存,王雷,董吉林,等. 酶法预处理对花生蛋白提取效果的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(3): 287-290.
- [11] 李大婧,宋江峰,刘春泉,等. 超声波辅助提取黑豆皮色素工艺优化[J]. 农业工程学报, 2009, 25(2): 273-279.
- [12] 黄燕,吴平. SAS 统计分析及应用[M]. 北京:机械工业出版社, 2006: 255-258.