

均匀设计优化小米多糖提取工艺

诸爱士,叶金娜,严飞娜

(浙江科技学院 生物与化学工程学院,杭州 310023)

摘要: 为优化小米多糖的提取工艺,研究了颗粒与粉、液料比、提取时间、提取温度、提取次数和搅拌速率 6 个因素对小米中多糖收率的影响,并选取液料比、提取时间、提取温度的 3 因素 12 个水平,用均匀设计法进行试验,用 DPS 进行统计分析并得到最优组合。结果表明,提取温度对多糖的收率有显著影响,液料比和提取时间对多糖的收率影响不显著,水提小米多糖的最佳工艺条件为液料比 21.7 : 1、提取时间 2.19 h、提取温度 72.3 °C,多糖收率为 7.90 mg/g。

关键词: 小米多糖;提取工艺;均匀设计

中图分类号: TS209

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2013)01-0027-06

Optimizing extraction process of polysaccharides from millet by uniform design

ZHU Aishi, YE Jinna, YAN Feina

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

Abstract: To optimize the technology for extracting polysaccharides from millet, the effects of particle or powder, liquid to material ratio, extraction time, extraction temperature, extraction times and stirring rate on the extraction rate were studied with single-factor experiments. Then three factors, liquid to material ratio, extraction time and extraction temperature, were selected for a uniform design experiment with twelve levels. The statistic analysis was made with DPS and the optimal combination was obtained. Temperature show notable effects on the yield of polysaccharides, liquid to material ratio and extraction time have no notable effects on the yield. The established optimum technical conditions are liquid to solid ratio 21.7:1, extraction time 2.19 h, extraction temperature 72.3 °C, the yield of polysaccharides is 7.90 mg/g.

Key words: millet polysaccharide; extraction technology; uniform design

收稿日期: 2012-06-04

基金项目: 浙江省科技计划项目(2007C21063)

作者简介: 诸爱士(1966—),男,浙江省湖州人,副教授,主要从事化工传递与农产品加工的教学与研究。

小米是粟(*Setaria italica*)脱壳制成的粮食,因其粒小,直径 1 mm 左右,故名。目前,中国小米的种植面积和产量均居世界首位,是中国北方地区主要的粮食作物之一,年产量 270~450 万 t,资源丰富。每 100 g 小米含蛋白质 9.7 g,比大米高;脂肪 1.7 g、碳水化合物 76.1 g,都不低于稻、麦。一般粮食中不含有的胡萝卜素,而在小米中含量达 0.12 mg,维生素 B₁ 的含量位居所有粮食之首。因此,对小米资源的开发利用具有非常重要的意义。

有文献报道了小米淀粉^[1]、黄色素^[2]、多酚^[3]、VB₂^[4]、细糠油^[5]等的提取,而活性多糖的提取鲜见报道。从天然产物中提取多糖^[6-10]的报道已有很多,并且证明天然多糖是一种免疫调节剂,它能激活免疫细胞而对正常细胞没有毒副作用^[11]。为研究小米多糖的提取工艺,对颗粒与粉、液料比(去离子水与小米的质量比,g/g,全文同)、提取时间、提取温度、提取次数和搅拌速率 6 个因素影响小米多糖提取效果的情况进行了单因素考察,在此基础上选取液料比、提取时间、提取温度 3 个因素均匀设计试验进行优化,以期工业化应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

小米:市售,内蒙古赤峰产;粉碎,过 20 目筛,在 60 °C 干燥箱中干燥备用。

葡萄糖(分析纯),广东汕头市光华化学厂;苯酚(分析纯),杭州高晶精细化工有限公司;硫酸(分析纯),浙江衢州巨化试剂有限公司。

722E 型可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;DK-S24 电热恒温水浴锅,上海精宏试验设备有限公司;DHG-9123A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海精密试验设备有限公司;800B 离心机,上海安亭科学仪器厂;HL-26 型多功能食品粉碎机,上海海菱电器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 多糖含量的测定

多糖含量的测定采用硫酸-苯酚法,含量以葡萄糖质量浓度计^[6,9]。

经作工作曲线,将吸光度与含量拟合得关系式如下式(1):

$$X = 0.025\ 5Y - 0.000\ 06 \quad (1)$$

式(1)中: X —葡萄糖质量浓度,g/L; Y —485 nm 处的吸光度。

多糖的收率依公式(2)计算:

$$\eta = \frac{X \times V}{M} \times 1\ 000 \quad (2)$$

式(2)中: η —小米多糖的收率,mg/g; V —粗多糖溶解定容后的总体积,L; M —原料小米用量,g。

1.2.2 试验步骤与单因素考察

取 60 °C 下干燥的小米颗粒或粉 5 g 放入三口烧瓶,加入一定比例的水,将烧瓶放入设定温度的恒温水浴中,搅拌浸提一定时间;取出料液用离心机在 4 000 r/min 下离心 15 min,然后取上清液,加 3 倍 95%乙醇进行醇析,再在 4 000 r/min 下将料液离心 15 min,接着进行过滤,得到小米粗多糖;溶解并定容,进行多糖含量测定。

单因素考察颗粒与粉、提取温度、提取时间、液料比、提取次数和搅拌速率 6 个因素对多糖提取收率的影响。

1.2.3 均匀设计试验

根据单因素试验结果,选择影响提取收率明显的 3 个因素进行均匀设计试验,优化提取条件。

1.2.4 统计及分析

采用 DPS v7.05 软件进行分析,用 OriginPro 7.5 软件绘图。

2 结果与讨论

2.1 单因素考察

2.1.1 颗粒与粉对收率的影响

液料比 20:1、70 ℃、50 r/min 搅拌、1 次提取 1.5 h, 对比颗粒与粉对多糖收率的影响,结果如图 1 所示。

由图 1 可见,相同条件下粉状有利于多糖的提取。原因是多糖从颗粒内部扩散至溶液中需要更多的时间,而粉增大了传质的面积,并减小了传递的距离,即减少了传质阻力,故相同的提取时间,粉获取的多糖多于颗粒;但对于颗粒,延长提取时间会提高多糖的收率。当然,颗粒的粒度也会有一定的适宜值,试验没有作进一步的研究,以下试验采用粉状。

2.1.2 液料比对收率的影响

粉状、70 ℃、50 r/min 搅拌、1 次提取 1.5 h,研究液料比对收率的影响,结果见图 2。

图 2 表明,多糖收率先随着液料比的增加而增大,这是因为在传质过程中,随着液料比的增加,溶液中多糖质量浓度被稀释降低,从而增加了固相与液相间多糖的质量浓度差,使传质推动力增加,加快了传递速率;在液料比为 20:1 时收率达到最大,随后收率反而有所减小。液料比增大会带来一系列的影响,如提取剂用量增大、后续分离操作产品损耗增多、设备容积加大、提取与分离操作的能耗增加等,所以在提取多糖时取液料比为 20:1。

2.1.3 提取时间对收率的影响

粉状、液料比 20:1、70 ℃、50 r/min 搅拌、1 次提取,考察提取时间对收率的影响,结果见图 3。

图 3 表明,多糖收率先随提取时间的增加有比较大的增加,后随时间增长有所减少。这是因为小米细胞破壁与多糖从固相传递到液相中需要一定的时间,随着提取时间延长有更多的多糖扩散至溶液中;但是提取时间过长会使已经进入溶液中的多糖因长时间处在较高温度下而导致变性,表现出收率有明显降低,所以确定提取时间为 2.0 h。

2.1.4 提取温度对收率的影响

粉状、液料比 20:1、50 r/min 搅拌、1 次提取 2.0 h,考察提取温度对收率的影响,结果见图 4。

图 4 显示,多糖收率先随提取温度升高而增大,到 70 ℃后,收率随温度升高而变小。热处理是有效降低致密的植物组织连接及破解植物细胞的方法之一,它能有效地破壁,使多糖从细胞中扩散出来变得容易;温度升高一则加快了分子热运动,提高了物质的扩散系数, Fig. 4

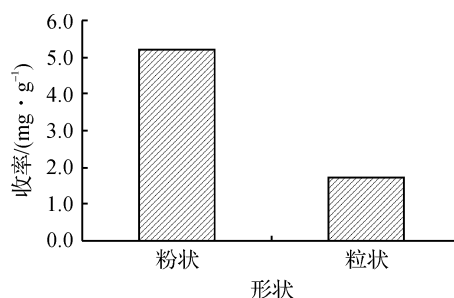


图 1 颗粒或粉对收率的影响

Fig. 1 Effects of particle or powder on extraction yield

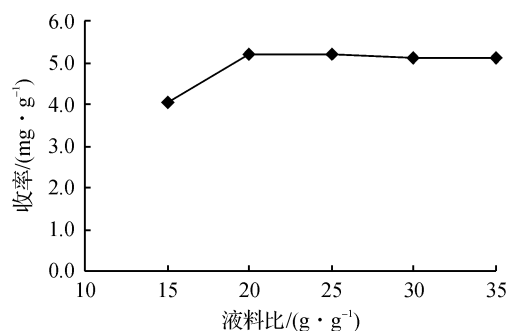


图 2 液料比对收率的影响

Fig. 2 Effects of liquid-solid ratio on extraction yield

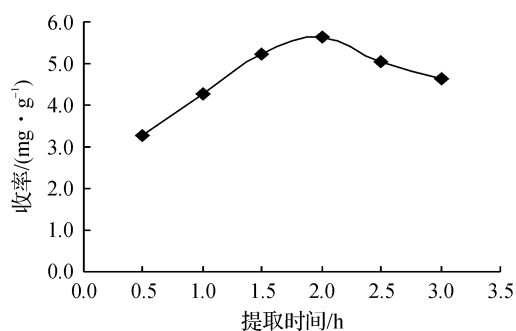


图 3 提取时间对收率的影响

Fig. 3 Effects of extraction time on extraction yield

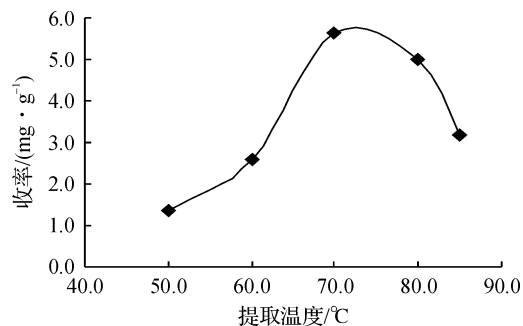


图 4 提取温度对收率的影响

Fig. 4 Effects of extraction temperature on extraction yield

同时降低了溶液的黏度,减少了传质的阻力,进而加快了传质速率,在相同的提取时间里增加了多糖的提取量;但过高的温度会使多糖分解变性而降低收率,因此,确定多糖提取温度为 70 ℃。

2.1.5 提取次数对收率的影响

粉状、液料比 20:1、70 ℃、50 r/min 搅拌、提取 2.0 h,考察提取次数对收率的影响。分别水提 1、2、3 次,各次的多糖收率见图 5。

由图 5 可知,增加提取次数会提高多糖收率。2 次提取,多糖总收率增幅为 6.9%;3 次提取,多糖总收率增幅为 2 次的 2.6%,增幅不大。而增加提取次数会使操作成本成倍增加,故多次提取所带来的收益可能弥补不了费用的增大,故以下试验选提取次数为 1 次。

2.1.6 搅拌速率对收率的影响

粉状、液料比 20:1、70 ℃、1 次提取 2.0 h,考察搅拌速率对收率的影响,结果见图 6。

图 6 显示,收率先随搅拌速率增大而增大,到 150 r/min 后,收率基本不变。其原因是搅拌加快了物质的传递和扩散,而搅拌速率达到一定值后,其强化作用已完全发挥而不再使收率增大,因此 150 r/min 的搅拌速率比较适宜。

2.2 均匀设计优化

2.2.1 试验结果与分析

在单因素试验结果的基础上,采用粉状小米、150 r/min 搅拌、1 次提取,选择影响提取收率明显的液料比、提取时间、提取温度 3 因素为考察因素,再根据单因素考察结果,以液料比 20:1、提取时间 2.0 h、提取温度 70 ℃为水平中心,以多糖收率为评价指标,用 $U_{12}(12^3)$ 均匀设计表^[12]设计试验,对提取工艺进行优化。所选因素水平见表 1,均匀试验方案及试验结果见表 2。

表 1 试验因素水平表

Table 1 Experimental factors and levels

水平	液料比 (X_1)/(g·g ⁻¹)	提取时间 (X_2)/h	提取温度 (X_3)/℃
1	15	1.25	65
2	16	1.40	66
3	17	1.55	67
4	18	1.70	68
5	19	1.85	69
6	20	2.00	70
7	21	2.15	71
8	22	2.30	72
9	23	2.45	73
10	24	2.60	74
11	25	2.75	75
12	26	2.90	76

表 2 试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results

试验号	X_1 /(g·g ⁻¹)	X_2 /h	X_3 /℃	收率 Y /(mg·g ⁻¹)
1	15	2.00	74	6.11
2	16	2.90	71	5.42
3	17	1.85	68	7.02
4	18	2.75	65	4.76
5	19	1.70	75	7.57
6	20	2.60	72	7.39
7	21	1.55	71	7.20
8	22	2.45	66	6.19
9	23	1.40	76	6.38
10	24	2.30	73	7.70
11	25	1.25	70	5.28
12	26	2.15	67	6.00

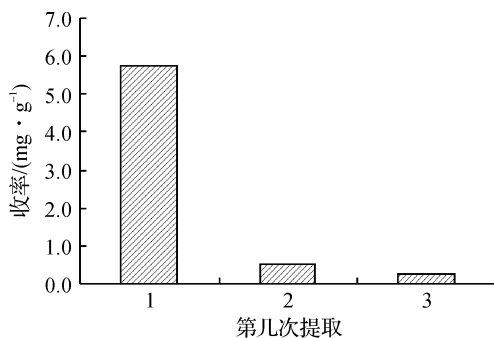


图 5 提取次数对收率的影响

Fig. 5 Effects of extraction times on extraction yield

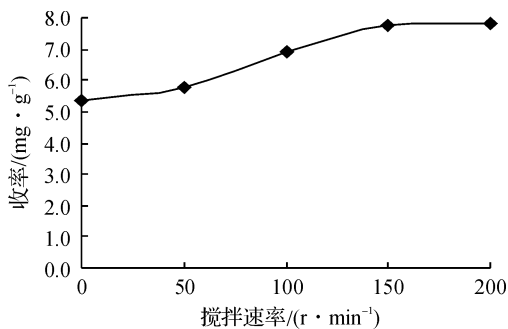


图 6 搅拌速率对收率的影响

Fig. 6 Effects of stirring rate on extraction yield

将表 2 试验结果经 DPS 软件进行二次多项式逐步回归分析,得到回归方程为:

$$Y = -191.229 + 5.512X_3 - 0.036X_1^2 - 1.211X_2^2 - 0.040X_3^2 + 0.245X_1X_2 + 0.014X_1X_3$$

相关系数 $R = 0.988\ 1$, 调整后的相关系数 $R_a = 0.973\ 7$, 决定系数 $R^2 = 0.976\ 36$; $F = 34.418\ 7 > F_{0.01}(6,5) = 10.67$; 显著水平 $p = 0.000\ 7$; 剩余标准差 $S = 0.220\ 2$; Durbin-Watson 统计量 $d = 2.440\ 112\ 78$, 说明该方程能很好地拟合热水法提取小米多糖的过程, 具体的拟合误差见表 3。

表 3 多糖实测值与拟合值对比

Table 3 Actual and theory yields of polysaccharides

试验号	观测值/ (mg · g ⁻¹)	拟合值/ (mg · g ⁻¹)	拟合误差/ (mg · g ⁻¹)	试验号	观测值/ (mg · g ⁻¹)	拟合值/ (mg · g ⁻¹)	拟合误差/ (mg · g ⁻¹)
1	6.11	6.34	-0.23	7	7.20	7.14	0.06
2	5.42	5.24	0.18	8	6.19	6.28	-0.09
3	7.02	6.96	0.06	9	6.38	6.38	-0.00
4	4.76	4.83	-0.07	10	7.70	7.81	-0.11
5	7.57	7.32	0.25	11	5.28	5.41	-0.13
6	7.39	7.48	-0.09	12	6.00	5.81	0.19

各因素之间的交互作用及各因素对试验结果影响程度见表 4, 比较 t 值和 p 值的绝对值, 可以看出, 表 4 中所列各项对多糖提取影响均达到极显著水平 ($p < 0.01$); 由 3 个因素的平方项、因素间的组合项对提取有影响可以看出, 均匀设计优化优于单因素考察选择条件。两因素间的交互作用见图 7, 由图 7 可以看出, 两因素对多糖收率的作用不是简单的拮抗或叠加作用, 在操作范围内多糖收率均能获得极值。

表 4 回归系数对收率的影响

Table 4 Significance of regression coefficient for yield

因数	偏相关	t 检验值	显著水平 p
X_3	0.941 4	6.242 5	0.000 8
X_1^2	-0.961 6	7.830 2	0.000 2
X_2^2	-0.978 3	10.557 6	0.000 1
X_3^2	-0.943 0	6.333 8	0.000 7
X_1X_2	0.978 6	10.622 4	0.000 1
X_1X_3	0.923 4	5.378 0	0.001 7

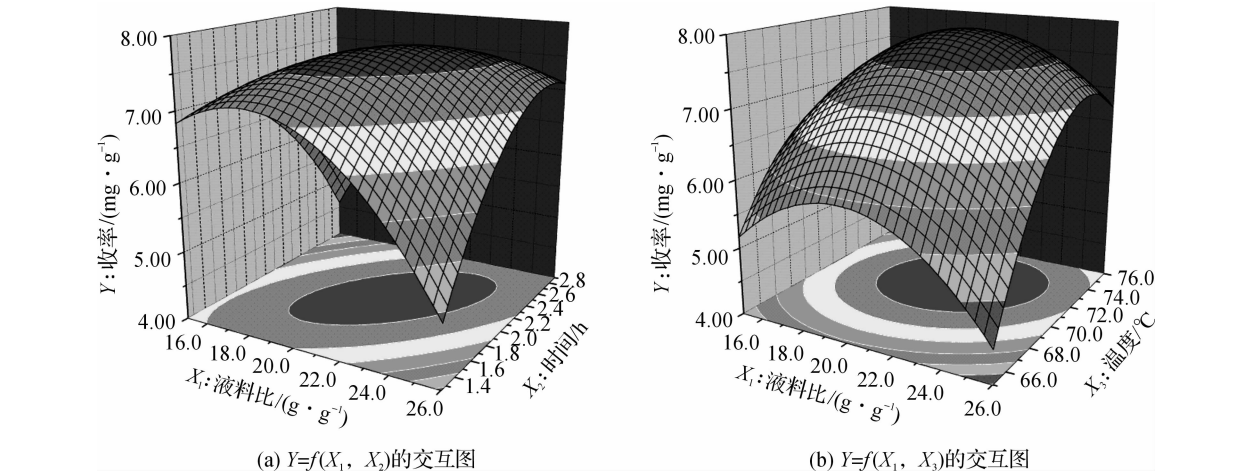


图 7 不同因素组合的交互作用图

Fig. 7 Chart of interactive effect as function of different conditions

2.2.2 极 值

由 DPS 可得多糖收率最高指标时各个因素组合: 液料比 $X_1 = 21.71 : 1$, 提取时间 $X_2 = 2.19\text{ h}$, 提取温度 $X_3 = 72.27\text{ }^\circ\text{C}$, 此时多糖收率为 7.95 mg/g 。

2.2.3 验证试验

为验证方程的准确程度, 采用以上获得最高收率时的因素条件, 进行 3 次重复提取试验。考虑指

标控制和方便操作,取液料比 21.7 : 1、提取时间 2.19 h、提取温度 72.3 °C,得到平均收率为 7.90 mg/g。与理论值基本相等,说明拟合得到的最优条件和提取操作可靠、稳定。

3 结 语

研究小米多糖提取中采用单因素考察结合均匀设计试验,分别研究了颗粒与粉、提取温度、提取时间、液料比、提取次数和搅拌速率对小米多糖收率的影响,进而选择液料比、提取时间、提取温度 3 个因素进行了 $U_{12}(12^3)$ 均匀设计试验,研究了多糖提取条件的优化,获得了优化提取条件,即液料比 21.7 : 1(g/g)、提取时间 2.19 h、提取温度 72.3 °C,在此优化条件下小米多糖收率为 7.90 mg/g。

参考文献:

- [1] 郭晓冬,李颖. 小米淀粉提取方法的比较[J]. 中国粮油学报,2011,26(5):26-29.
- [2] 王海棠,田子俊,阳勇,等. 小米黄色素的研究 II:提取工艺及稳定性[J]. 中国粮油学报,2005,20(5):40-45.
- [3] 薛月圆,林勤保. 小米中总酚提取条件的优化[J]. 农产品加工(学刊),2007(4):24-26.
- [4] 董永刚,王玲,刘立丹,等. 小米中 VB₂ 提取方法研究及其含量测定[J]. 食品科学,2010,31(24):341-344.
- [5] 李艳福,赵文杰,冯光柱,等. 小米细糠油的提取与分析[J]. 粮油加工,2009(7):49-50.
- [6] 程仕伟,陈超男,冯志彬,等. 海带岩藻多糖的水提制备及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学,2010,31(6):101-104.
- [7] 黄婧,张名位,辛修锋,等. 苦瓜粗多糖提取工艺的优化[J]. 农业机械学报,2007,38(6):112-116.
- [8] 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.
- [9] Liu J, Li J W, Tang J. Ultrasonically assisted extraction of total carbohydrates from stevia rebaudiana bertonii and identification of extracts[J]. Food and Bioprocess Technology,2010,88(2/3):215-221.
- [10] Yoshida, T, Tsubaki S, Teramoto Y, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of carbohydrates from industrial waste of corn starch production using response surface methodology[J]. Bioresource Technology,2010,20(101):7820-7826.
- [11] 高宪军,王承明,吴媛瑾. 酸提棉籽粕多糖工艺研究[J]. 中国粮油学报,2010,25(9):41-44.
- [12] 李云雁,胡传荣. 试验设计与数据处理[M]. 2 版,北京:化学工业出版社,2008:236.