

文章编号:1673-1689(2009)01-0053-04

响应面法优化酸浆果多糖的提取工艺

李蕾¹, 岳喜华¹, 于欢¹, 张鹏¹, 王殿臣², 程瑛琨^{*1}

(1. 吉林大学生命科学学院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林石化农药公司, 吉林 长春 132021)

摘要: 将响应面分析法(RSA)应用于酸浆果多糖(PAP)提取工艺的优化, 对关键影响因子的最佳水平范围进行研究, 依据回归分析确定最佳工艺条件为: 提取温度: 92 ℃、料液质量比: 1 g : 21 g、浸提时间: 4.95 h。

关键词: 多糖; 提取; 响应面

中图分类号: Q 539

文献标识码: A

Optimization of the Extraction of Polysaccharide (PAP) by Response Surface Analysis

LI Lei¹, YUE Xi-hua¹, YU Huan¹, ZHANG Peng¹, WANG Dian-chen², CHENG Ying-kun^{*1}

(1. College of Life Science, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Jilin Petrochemical Pesticide Company, Changchun 130021, China)

Abstract: In this manuscript, response surface analysis was applied in *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino polysaccharide (PAP) extraction. The optimal range of key factors was carefully studied, by regression analysis, the optimum condition were achieved and shown as follow: extraction temperature of 92 ℃, water to material ratio at 1 : 21, extraction time of 4.95 h. By optimum conditions, 3.34% PAP was actained.

Key words: polysaccharide, extraction, response surface analysis

酸浆 (*Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino), 属茄科, 为多年生草本植物。产地遍及中国、日本、朝鲜等东亚地区, 我国野生资源非常丰富。酸浆全草、宿萼及根均可入药。

多糖是一类具有广泛生物活性的生物大分子物质, 是维持生命活动正常运转的基本物质之一。研究表明: 多糖具有抗辐射、抗肿瘤、抗凝血、抗氧化和抗病毒等多种生物活性, 还具有降血脂、降血糖、免疫调节等作用^[1]。

目前, 人们对酸浆的研究主要集中在甙体上, 而对酸浆多糖的研究非常少见。作者以酸浆果实为原料, 将响应面分析法用于酸浆果多糖的提取工艺, 为酸浆果多糖开发利用提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

酸浆果: 取材于吉林长春地区; 化学试剂: 均为国产分析纯试剂。

收稿日期: 2008-01-15

基金项目: 吉林大学生命科学与技术大学生创新实践基地科技创新实验基金项目(JDCX2006010)。

* 通讯作者: 程瑛琨(1962-), 女, 吉林长春人, 研究员, 主要从事天然食品与药物研究。Email: chengyk@jlu.edu.cn

1.2 实验仪器

Ultro 4300pro 型可见分光光度计;安玛西亚公司产品;5810R 型大容量冷冻离心机;德国 Eppendorf 公司产品;BP 221S 型电子天平;德国赛多利斯公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 工艺流程 酸浆果→洗净→烘干→过 40 目筛→水提→提取液离心、过滤→4 ℃ 醇沉过夜

1.3.2 多糖含量的测定^[2] 采用苯酚-硫酸比色定糖法和二硝基水杨酸(DNS)比色定糖法测定总糖和还原糖的含量,多糖含量=总糖含量-还原糖含量,并考虑酸浆果多糖与葡萄糖的换算因素。

1.3.3 多糖提取率 多糖提取率=(多糖质量浓度(mg/mL)×体积(mL)/原料质量(g)×1 000)×100%。

1.3.4 酸浆果多糖提取工艺的单因子实验 根据酸浆果多糖的提取过程,分别以提取温度、料液质量比、提取时间、提取次数 4 个单因子,考察其对多糖提取率的影响。

1.3.5 响应面法优化酸浆果多糖提取工艺 综合单因子影响试验结果,根据 Central-composite 的中心组合实验设计原理,采用响应面法在三因子三水平上对酸浆果多糖的提取条件进行优化。试验因子和水平见表 1。

表 1 响应面因素水平表

Tab.1 Factors and levels of RSA

因素	水平		
	-1	0	1
温度 Z_1 /℃	80	90	100
料液质量比 Z_2 /(g:g)	1:10	1:20	1:30
时间 Z_3 /h	3	5	7

2 结果与讨论

2.1 酸浆果多糖提取过程中的单因子影响

影响酸浆果粗多糖提取率的因素,如:提取温度、提取时间、料液质量比,通过实验来确定最优值。

2.1.1 提取温度 由图 1 可知,随着提取温度的升高,多糖提取率也在升高,当温度达到 90 ℃ 时,提取率最高,因此在摸索料液质量比对多糖提取的影响时,将 90 ℃ 定为最佳提取温度。

2.1.2 料液质量比 由图 2 可知,随着料液质量比的增大,提取率也在升高,当料液质量比达到 1 g

:20 g 时,再加大料液质量比,提取率增高得不显著,因此考虑到节约成本,选取 1 g:20 g 为最佳料液质量比。

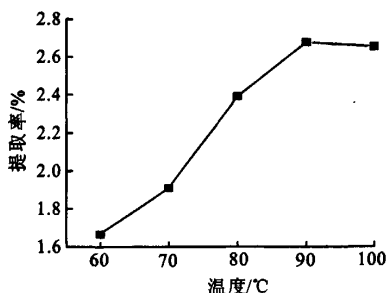


图 1 提取温度对提取率的影响

Fig.1 Effect of extraction temperature on the extraction rate

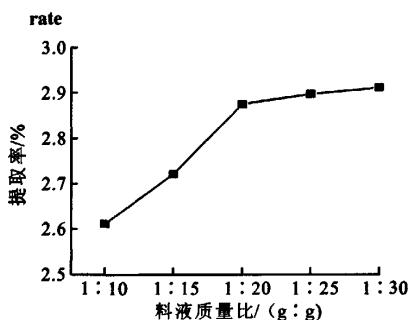


图 2 料液质量比对提取率的影响

Fig.2 Effect of the ratio of material to extraction solvent on the extraction rate

2.1.3 提取时间 由图 3 可知,提取时间从 0~2 h,随着时间增加多糖提取率呈明显上升趋势,说明提取初期随着提取时间的延长,提取溶剂中多糖浓度逐渐增加,当提取时间超过 5 h,提取率反而有所下降,说明时间过长还会造成多糖分解^[3]。

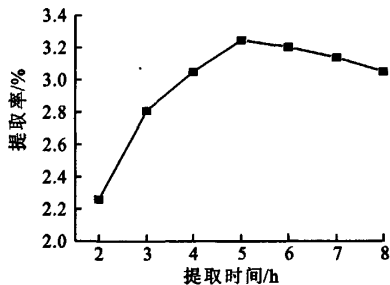


图 3 提取时间对提取率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the extraction rate

2.2 响应面法对粗多糖提取工艺进行优化

对表 1 所列的提取温度 Z_1 、料液质量比 Z_2 、浸提时间 Z_3 作变换如下: $X_1 = (Z_1 - 90)/10$, $X_2 = (Z_2 - 20)/10$, $X_3 = (Z_3 - 5)/2$ 。以 X_1, X_2, X_3 为自变量,以粗多糖提取率为响应值(Y),实验方案及结果见表 2。

表 2 响应面试验方案及结果
Tab. 2 Experiment design and results of RSA

序号	X_1	X_2	X_3	提取率/%
1	-1	-1	0	2.11
2	-1	1	0	2.04
3	1	-1	0	2.63
4	1	1	0	2.77
5	0	-1	-1	2.46
6	0	-1	1	2.57
7	0	1	-1	2.44
8	0	1	1	2.33
9	-1	0	-1	1.69
10	1	0	-1	2.20
11	-1	0	1	2.28
12	1	0	1	2.72
13	0	0	0	3.29
14	0	0	0	3.34
15	0	0	0	3.27

试验 1—12 是析因试验,13—15 是中心试验。15 个试验点分为析因点和零点,其中析因点为自变量取值在 X_1 、 X_2 、 X_3 所构成的三维顶点,零点为区域的中心点。对表 2 中数据进行回归分析,获得酸浆果多糖得率对编码自变量提取温度、料液质量比、浸提时间的二次多项回归方程: $Y=3.299\ 817+0.274\ 375X_1-0.024\ 694X_2+0.139\ 931X_3-0.568\ 87X_1^2+0.0493\ 88X_1X_2-0.016\ 462X_1X_3-0.343\ 883X_2^2-0.054\ 875X_2X_3-0.508\ 508X_3^2$

回归分析结果见表 3,并作出响应面图,分别见图 4—6。

表 3 回归分析结果
Tab. 3 Results of Regression analysis

来源	DF	SS	MS	F	Pr>F
X_1	1	0.602 25	0.602 25	16.343 43	0.009 90
X_2	1	0.004 88	0.004 88	0.132 38	0.730 85
X_3	1	0.156 65	0.156 65	4.250 93	0.094 22
$X_1\times X_1$	1	1.194 88	1.194 88	32.425 70	0.002 33
$X_1\times X_2$	1	0.009 76	0.009 76	0.264 76	0.628 80
$X_1\times X_3$	1	0.001 08	0.001 08	0.029 42	0.870 54
$X_2\times X_2$	1	0.436 64	0.436 64	11.849 07	0.018 39
$X_2\times X_3$	1	0.012 05	0.012 05	0.326 87	0.592 25
$X_3\times X_3$	1	0.954 76	0.954 76	25.909 45	0.003 80

续表 3

来源	DF	SS	MS	F	Pr>F
回归	9	3.049 80	0.338 87	9.195 88	0.012 49
线性	3	0.763 78	0.254 59	6.908 91	0.031 47
平方	3	2.263 14	0.754 38	20.471 71	0.003 08
交互	3	0.022 89	0.007 63	0.207 02	0.887 46
残差	5	0.184 25	0.036 85		
失拟项	3	0.182 00	0.060 67	53.964 29	0.018 25
纯误差	2	0.002 25	0.001 12		
总离差	14	3.234 05			

从表 3 中可以看出,用上面的方程描述因子回归的 $P<0.05$,方程回归显著,同时相关系数 $R^2=0.943\ 0$,说明这种试验方法是可靠的,能够很好地描述实验结果,使用该方程代替真实的实验点进行分析是可行的。方差分析结果中, X_1 项 $P\leq 0.05$ 说明提取温度影响显著, X_1X_1 、 X_2X_2 、 X_3X_3 项 $P\leq 0.05$,说明单因素影响比较显著,而交互作用的影响不是很显著。

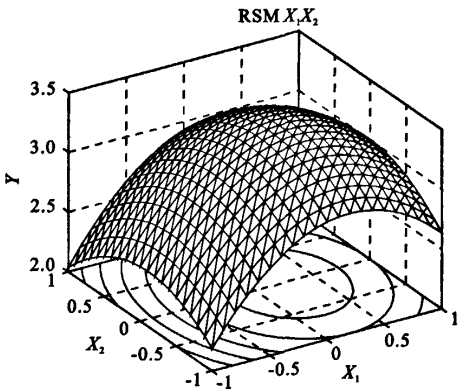


图 4 $Y=f(X_1,X_2)$ 的响应面和等值线图
Fig. 4 Responsive surfaces and contours of $Y=f(X_1,X_2)$

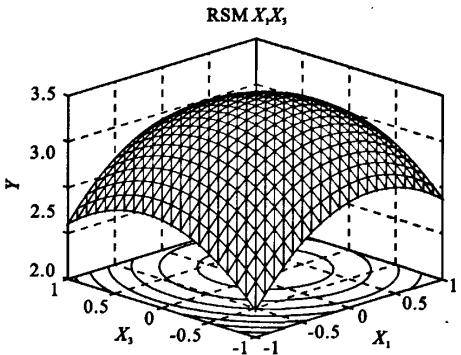


图 5 $Y=f(X_2,X_3)$ 的响应面和等值线图
Fig. 5 Responsive surfaces and contours of $Y=f(X_2,X_3)$

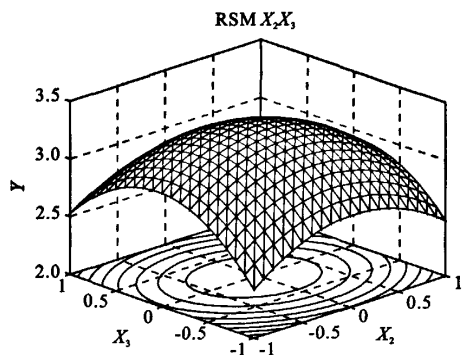


图6 $Y=f(X_1, X_2)$ 的响应面和等值线图

Fig. 6 Responsive surfaces and contours of $Y=f(X_1, X_2)$

图4~6直观地给出了各个因子交互作用的响应面的3D图和等值线图。从响应面的最高点和等值线可以看出,在所选的范围内存在极值,即是响应面的最高点。

由SAS分析得到最大响应值(Y)时 X_1, X_2, X_3 对应的编码值分别为 $X_1=0.238, X_2=-0.030, X_3=0.135$ 。与其相对应的酸浆果多糖的最佳提取条件为:提取温度为 92.38°C , 液料质量比($\text{g}:\text{g}$)为 $1:21.35$, 提取时间为 4.95 h , 理论最佳提取率为 3.34% 。

3 结 语

采用得到的最佳提取条件进行酸浆果多糖提取的验证实验,同时考虑到实际操作的便利性,采用提取温度为 92°C , 液料质量比为 $1\text{ g}:\text{21 g}$, 提取时间为 4.95 h 。3次平行实验得到的实际平均提取率为 3.29% , 实际值与理论最佳提取率相对误差 1.50% 。因此,响应面法优化得到酸浆果多糖提取条件的参数准确可靠,具有实际应用参考价值^[4-6]。

参考文献(References):

- [1] YANG Xiao-ping, GUO Da-yong, ZHANG Jin-ming, et al. Characterization and antitumor activity of pollen polysaccharide [J]. *International Immunopharmacology*, 2007, 7 (4): 427-434.
- [2] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术 [M]. 浙江: 浙江大学出版社, 2003: 10-12.
- [3] Box G E P, Hunter W G. Statistics for Experiments: An Introduction to Design, Data Analysis and Model Building [M]. New Nork: Wiley, 1990.
- [4] Yamazaki, Kushida N, Oguchi A, et al. Response Surface Design and Analyses [M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1987.
- [5] 田洛, 宣依昉, 范荣军. 醇碱提取法提取黄芪多糖[J]. 吉林大学学报:理学版, 2006, 44(4): 652-657.
TIAN Luo, XUAN Yi-fang, FAN Rong-jun. Ethanol-alkali extraction method of astragalus polysaccharides[J]. *Journal of Jilin University (Science edition)*, 2006, 44(4): 652-657. (in Chinese)
- [6] 许晖, 孙兰萍. 羊肚菌培养条件响应面法优化[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(5): 92-98.
XU Hui, SUN Lan-ping. Optimization of culture conditions for extracellular polysaccharide and mycelium biomass by *morchella esculenta* As51620[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2007, 26(5): 92-98. (in Chinese)

(责任编辑:朱明)