

响应面分析法 优化楮实多糖提取工艺的研究

舒 适^{1,2}, 杨 娟^{2,*}

(1. 贵州大学生命科学学院, 贵州贵阳 550002;

2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州贵阳 550002)

摘 要:目的: 利用响应面分析法对楮实多糖的提取工艺进行优化。方法: 在单因素实验基础上选取实验因素与水平, 根据中心组合 (Box-Behnken) 实验设计原理采用四因素五水平的响应面分析法, 依据回归分析确定各工艺条件的影响因子, 以楮实多糖提取率为响应值作响应面和等高线, 并分析各个因素的显著性和交互作用。结果: 楮实多糖水提取的最佳工艺条件为: 料液比为 1:5.3, 提取时间为 3h, 提取次数为 4 次, 提取温度为 96.5℃。结论: 在最佳工艺条件下, 楮实多糖的实际提取率为 6.03%。

关键词: 楮实, 多糖, 提取, 响应面分析

Optimization of the technology for extracting polysaccharide from *Broussonetia papyrifera* by response surface methodology (RSM)

SHU Shi^{1,2}, YANG Juan^{2,*}

(1. College of Life of Guizhou University, Guiyang 550002, China; 2. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

Abstract: Objective: The technology for extracting crude *Broussonetia papyrifera* polysaccharide was optimized by response surface methodology (RSM). Methods: On the basis of single factor experiments, the optimum conditions for the extraction of polysaccharide were obtained through Box-Behnken center-united experiment design and response surface methodology with 4 factors and 5 levels. Then the factors influencing the technological parameters were determined by regression analysis. Response surface and contour were finally graphed with the extraction rate as the response value. Results: The optimum conditions of extracting *Broussonetia papyrifera* polysaccharide were as follows: the ratio of material to solvent of 1:5.3 (w/v), extraction time of 3h, 4 times extraction and extraction temperature of 96.5℃. Conclusion: The yield of polysaccharide is 6.03% under the optimum conditions.

Key words: *Broussonetia papyrifera*; polysaccharides; extraction; response surface methodology (RSM)

中图分类号: TS245.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)06-0218-04

构树 (*Broussonetia papyrifera*) 又名楮, 为灌木类桑科构属植物。中医传统理论认为楮实 (构树果实) 具有活血理气、补劳虚、壮筋骨及滋阴补阳等药效^[1,2]。现代医学研究表明, 楮实具有促进学习、改善记忆作用; 抗神经损伤、抗血小板凝聚作用; 抗氧化作用; 抗菌作用; 抑制心房收缩力和钙拮抗等多方面的药理活性^[3,4]。多糖广泛存在于几乎所有的有机体内, 不同植物多糖中组成单糖的结构不同, 糖苷键的连接方式与位置不同、分子量的不同致使其理化性

质和生理功能的不同^[5]。目前还未见从楮实中提取多糖的文献报道。响应面分析 (Response Surface Methodology) 法是采用多元二次回归方法作为函数估计的工具, 将多因子实验中因素与指标的相互关系用多项式近似拟合, 依此可对函数的响应面和等高线进行分析, 研究因子与响应面之间、因子与因子之间的相互关系。本文选用料液比、提取次数、提取时间及提取温度作为考察因素, 采用响应面分析方法优化了楮实多糖的提取, 为进一步开发和利用楮实多糖提供了实验基础和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

楮实 采摘于贵州省贵阳市药用植物园, 经贵阳中医学院老师鉴定为桑科构属植物构树 (*Broussonetia papyrifera* (Linn.) Vent) 果实, 楮实 60℃ 真空干燥后粉碎过 80 目筛, 用 80% 乙醇提取 2h, 提

收稿日期: 2009-02-09 * 通讯联系人

作者简介: 舒适 (1983-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 生物活性物质研究。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30760297); 973 计划前期研究专项 (2007CB516813); 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项 (黔科合农字 (2006) 5041 号)。

取至提取液颜色变为淡黄色为止,抽滤得固体粉末,再经 60℃ 真空干燥制备楮实粉备用;苯酚、浓硫酸、葡萄糖、无水乙醇、丙酮等 均为分析纯。

BUCHI - R 210 旋转蒸发器 Switzerland;
HP-8453 紫外可见分光光度仪 惠普公司;
DZF-6021 真空干燥箱 上海精宏实验设备有限公司;
TDL-40C 低速台式离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 多糖提取方法 准确称量 20g 楮实粉置于圆底烧瓶中,蒸馏水提取,提取条件参见表 2。将提取液冷却至室温,经 4000r/min 离心 15min,上清液减压浓缩至一定体积后,加入 95% 乙醇进行醇沉,终浓度不低于 80%。所得沉淀依次用无水乙醇、丙酮洗涤,真空干燥得粗多糖。

1.2.2 多糖含量测定 采用苯酚-硫酸法测定多糖含量^[6]。

1.2.3 多糖得率计算 计算公式如下:

多糖得率 = $\frac{\text{粗多糖质量} \times \text{多糖含量}}{\text{原料质量}} \times 100\%$

2 结果与讨论

根据 Box-Behnken 模型的中心组合设计实验原理^[7-9],选取料液比、提取次数、提取时间、提取温度 4 个因素为自变量,分别表示为 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 ,并以 +2、+1、0、-1、-2 分别代表自变量的各个水平,按方程 $x_i = (X_i - X_0) / \Delta X$ 对自变量进行编码,该模型通过最小二乘法拟合的二次多项式方程可表达为:

$$Y = A_0 + \sum_{i=1}^4 A_i X_i + \sum_{i=1}^4 A_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 A_{ij} X_i X_j$$

其中:Y 为响应值(楮实多糖提取率); A_0 、 A_i 、 A_{ii} 、 A_{ij} 为方程系数; X_i 、 X_j ($i \neq j$)为自变量编码值,运用 Design-Expert 6.0 对实验数据进行回归分析,确定楮实多糖的最佳提取条件及多糖的最大得率,响应面分析因素水平表见表 1。

表 1 响应面分析因素水平表

因素	编号	水平				
		-2	-1	0	+1	+2
料液比(g/mL)	X_1	1:3	1:4	1:5	1:6	1:7
提取次数(n)	X_2	1	2	3	4	5
提取时间(h)	X_3	1	2	3	4	5
提取温度(℃)	X_4	70	80	90	100	110

利用 Design Expert 6.0 软件,对表 2 实验数据进行二次多项式回归拟合,得到二次多元回归方程:

$$Y = 6.11 + 0.21X_1 + 0.91X_2 + 0.03X_3 + 0.31X_4 - 0.37X_1X_1 - 0.28X_2X_2 - 0.31X_3X_3 - 0.24X_4X_4 - 0.01X_1X_2 - 0.053X_1X_3 - 0.0062X_1X_4 + 0.05X_2X_3 + 0.0033X_2X_4 - 0.0079X_3X_4$$

表 3 为响应面的回归分析结果,回归方程中各变量对响应值(多糖提取率)影响的显著性,由 F 检验来判定,概率 P 的值越小,则相应变量的显著程度越高。回归方差显著性检验表明模型回归显著, $R^2 = 30.4714 / 32.2733 = 0.9442$,说明模型与实际实验拟合较好,自变量与响应值间的线性关系显著。失拟项 P 值为 0.547,说明检验结果与模型计算结果没

有显著差异。方程中 X_1 、 X_2 、 X_4 、 X_1X_1 、 X_2X_2 、 X_3X_3 、 X_4X_4 对响应值的影响非常显著,因素间交互影响相对较小。

表 2 响应面法设计与实验结果

实验号	X_1	X_2	X_3	X_4	多糖提取率(%)		
					实际值	预测值	相差值
1	-1	-1	-1	-1	3.6255	3.4285	0.1970
2	1	-1	-1	-1	3.9289	3.9800	-0.0511
3	-1	1	-1	-1	5.3120	5.1578	0.1542
4	1	1	-1	-1	5.7506	5.6676	0.0830
5	-1	-1	1	-1	3.7518	3.5087	0.2431
6	1	-1	1	-1	3.8846	3.8502	0.0344
7	-1	1	1	-1	5.5861	5.4382	0.1479
8	1	1	1	-1	5.7465	5.7381	0.0084
9	-1	-1	-1	1	4.2795	4.0712	0.2083
10	1	-1	-1	1	4.7461	4.5980	0.1481
11	-1	1	-1	1	6.0753	5.8138	0.2615
12	1	1	-1	1	6.2727	6.2990	-0.0263
13	-1	-1	1	1	4.3329	4.1199	0.2130
14	1	-1	1	1	4.4992	4.4367	0.0625
15	-1	1	1	1	6.3305	6.0627	0.2678
16	1	1	1	1	6.4369	6.3380	0.0989
17	-2	0	0	0	3.6054	4.1955	-0.5901
18	2	0	0	0	5.0996	5.0222	0.0774
19	0	-2	0	0	2.9118	3.1831	-0.2713
20	0	2	0	0	6.5722	6.8136	-0.2414
21	0	0	-2	0	4.5634	4.7945	-0.2311
22	0	0	2	0	4.6320	4.9137	-0.2817
23	0	0	0	-2	4.3922	4.5444	-0.1522
24	0	0	0	2	5.4266	5.7871	-0.3605
25	0	0	0	0	6.3449	6.1071	0.2378
26	0	0	0	0	5.7290	6.1071	-0.3781
27	0	0	0	0	5.7956	6.1071	-0.3115
28	0	0	0	0	5.9838	6.1071	-0.1233
29	0	0	0	0	6.1366	6.1071	0.0295
30	0	0	0	0	6.6529	6.1071	0.5458

表 3 回归分析表

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型 Model	30.4714	14	2.17653	18.1178	<0.0001	**
X_1	1.02519	1	1.02519	8.5339	0.0105	**
X_2	19.7706	1	19.7706	164.575	<0.0001	**
X_3	0.02131	1	0.02131	0.17736	0.6796	
X_4	2.31627	1	2.31627	19.2811	0.0005	**
X_1X_1	3.84826	1	3.84826	32.0336	<0.0001	**
X_2X_2	2.10750	1	2.10747	17.5432	0.0008	**
X_3X_3	2.69175	1	2.69175	22.4067	0.0003	**
X_4X_4	1.51916	1	1.51916	12.6458	0.0029	**
X_1X_2	0.00173	1	0.00173	0.01439	0.9061	
X_1X_3	0.04411	1	0.04411	0.36719	0.5536	
X_1X_4	0.00061	1	0.00061	0.00505	0.9443	
X_2X_3	0.04009	1	0.04009	0.33372	0.572	
X_2X_4	0.00018	1	0.00018	0.00148	0.9698	
X_3X_4	0.00099	1	0.00099	0.00827	0.9287	
残差	1.80198	15	0.12013			
失拟项	1.19146	10	0.11915	0.97579	0.547	
纯误差	0.61051	5	0.12210			
总离差	32.2733	29				

注:“*”为显著($P < 0.05$);“**”为极显著($P < 0.01$)。

图 1~图 6 分别为料液比、提取次数、提取时间、

提取温度四因素影响多糖提取率的响应面及等高线分析图。极值条件应该在等高线的圆心处。由几组图可以看出,影响栲实多糖提取率最显著的因素为提取次数(X_2),其次是提取温度(X_4),表现为响应面变化弧度较大。料液比(X_1)和提取时间(X_3)响应面弧度变化平缓,说明对响应值影响相对较小。

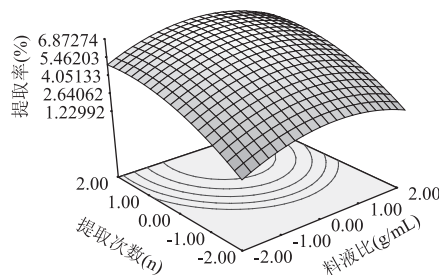


图1 料液比和提取次数对多糖提取率影响的响应面及等高线

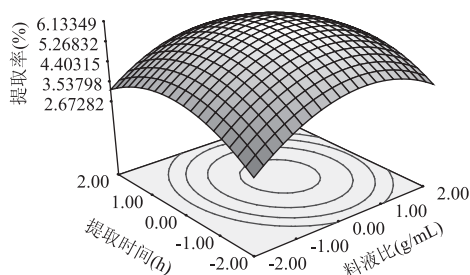


图2 料液比和提取时间对多糖提取率影响的响应面及等高线

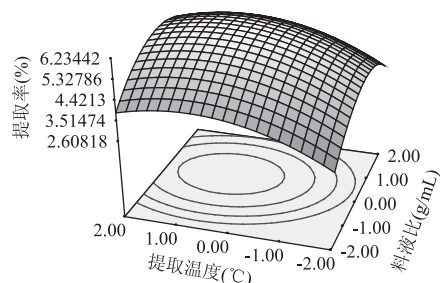


图3 料液比和提取温度对多糖提取率影响的响应面及等高线

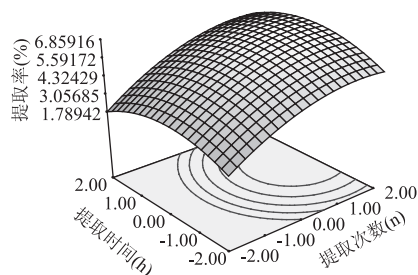


图4 提取次数和提取时间对多糖提取率影响的响应面及等高线

由图1~图6可以看出,随着提取次数的增多,多糖的提取率呈上升趋势后趋于平缓(图1所示)。而料液比、提取时间和提取温度在所选范围内都存在一个极值。随着提取水量的增加,提取时间的延长,提取温度的升高,栲实多糖的提取率先随之增大,之后逐渐降低。分析原因可能是由于开始增大提取水量,延长提取时间,升高提取温度会使栲实多糖的浸出更加完全,但过多水量会使后续处理比较麻烦;过

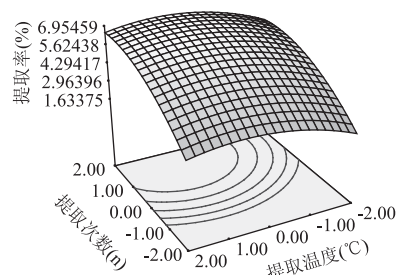


图5 提取次数和提取温度对多糖提取率影响的响应面及等高线

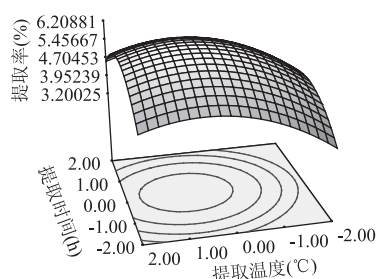


图6 提取时间和提取温度对多糖提取率影响的响应面及等高线

长时间的加热可能会有一些阻碍多糖浸出的新物质产生;温度过高会使得提取的多糖降解从而降低提取率。

依据回归模型的数学分析并综合响应图(图1、图4、图5),确定栲实多糖提取的最佳工艺参数为:料液比1:5.3,提取次数4次,提取时间3h,提取温度96.5℃。按照最佳条件进行验证实验测得最佳栲实多糖提取率为6.03%,达到了回归模型预测的提取率理论值(6.11%)的98.7%,说明得到的最佳提取条件可靠。

3 结论

通过 Design Expert 6.0 软件采用了 Box-Behnken 实验设计法对栲实多糖的提取工艺进行了优化。研究表明,料液比、提取次数、提取时间和提取温度对栲实多糖提取率的影响均显著,但4因素之间交互作用不显著。优化得到的提取条件为:料液比为1:5.3,提取次数为4次,提取时间为3h,提取温度为96.5℃,此条件下得多糖提取率为6.03%,达到了理论值的98.7%,说明应用响应面法优化栲实多糖水提取工艺条件具有实际应用价值。

参考文献

- [1] Lee D, Bhat K P L, Fong H H S, et al. Aromatase inhibitors from *Broussonetia papyrifera* [J]. *Journal of Natural Products*, 2001, 64: 1286~1293.
- [2] Feng W S, Li H W, Zheng X K. Two new megastigmane O-glucopyranosides from the leaves of *Broussonetia papyrifera* [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2007, 18: 1518~1520.
- [3] 黄宝康, 秦路平, 郑汉臣, 等. 栲实子的临床应用研究 [J]. *时珍国医国药*, 2002, 13(7): 434~435.
- [4] 戴新民, 张尊样, 付中先. 栲实对小鼠学习和记忆的促进作用 [J]. *中药药理与临床*, 1997, 13(5): 27~29.
- [5] 阳佛送, 李雪华. 多糖结构研究的方法和进展 [J]. *食品*

茶籽油精炼过程中理化指标的变化及精炼条件选择

郭 华¹, 周建平¹, 何 伟¹, 刘东敏²

(1. 湖南农业大学食品科技学院, 湖南长沙 410128;

2. 南昌大学食品科学国家重点实验室, 江西南昌 330047)

摘 要:对茶籽油在各精炼阶段中主要理化指标的变化及精炼条件进行了研究, 结果表明, 脱色工序使油中过氧化值下降, 脱臭工序中油脂的酸值与色泽变化较大, 碱炼与冬化两个工序对茶籽油的脂肪酸组成影响比较大, 碱炼茶籽油中硬脂酸含量稍有降低, 而冬化油中棕榈酸下降幅度较大。茶籽油精炼较佳工艺条件为: 碱炼油温 30℃, 碱液浓度 18°B'e, 超量碱 0.2%, 脱色温度 100~110℃, 活性白土用量 2.5%~3.0%, 时间 25min, 脱臭温度 180℃, 时间 1h; 冬化温度 6~8℃, 结晶时间为 8h。

关键词:茶叶籽, 过氧化值, 脂肪酸, 气相色谱分析

Study on physicochemical property changes of tea seed oil during refining process and selecting the refining conditions

GUO Hua¹, ZHOU Jian-ping¹, HE Wei¹, LIU Dong-min²

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. State Key Laboratory of Food Science, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: This paper reported the selected refining conditions of tea seed oil and the main physicochemical property changed during refining process. The results showed that peroxide value decreased in decoloring process. The color and acid value changed during deodorization process. Components of the fatty acid were measured by gas chromatography, and it showed that two refining process, caustic refining and defatting, it had impacts on the fatty acid components in tea seed oil. Stearic acid decreased slightly in content after caustic refining, while palmitic acid content got remarkably decreasing in winterized oil. The optimum conditions for caustic refining were as follows: the temperature at 30℃ and the concentrations of 18°B'e caustic soda and 0.2% extra caustic soda. The optimal condition for bleaching were as follows: the temperature at 100~110℃ for 25 minutes and the dose of bleaching clay 2.5%~3.0%. The deodorization temperature was suitable at 180℃, 1h. Winterizing time requires at least 8h with temperature maintained within 6~8℃ for lipid crystallite forming.

Key words: tea seed; peroxide value; fatty acids; GC determination

中图分类号: TS225.1⁺4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)06-0221-05

茶籽是山茶科山茶属植物茶 (*Camellia Sinensis*

(L.) Kuntze) 的种子。茶籽仁中含有 18%~32% 的脂肪。茶籽油的脂肪酸组成测定结果表明, 茶籽油是一种以单不饱和脂肪酸 (MUFA) 油酸为主要成分、油酸与亚油酸比例约 2:1 的植物油脂, 性质类似于油茶籽油, 是一种潜在的保健食用油脂。但由于茶籽油中脂肪酸不饱和程度较高, 因而在贮藏与运输期间

收稿日期: 2008-09-01

作者简介: 郭华 (1956-), 女, 博士, 教授, 主要从事粮油加工和食品分析方面的研究工作。

基金项目: 湖南省科技厅 2007 攻关项目 (2007NK3083)。

科技, 2008(3): 200.

[6] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术 [M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999. 11~12.

[7] Liu J, Guan X, Zhu D Q, et al. Optimization of the enzymatic pretreatment in oat bran protein extraction by particle swarm optimization algorithms for response surface modeling [J]. LWT -

Food Science and Technology, 2008, 13(2): 1~6.

[8] Liang R J. Optimization of extraction process of Glycyrrhiza glabra polysaccharides by response surface methodology [J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 74: 858~861.

[9] 费荣昌. 实验设计与数据处理 [M]. 无锡: 江南大学出版社, 2001. 59~63.