

响应面分析法优化野木瓜多糖的提取工艺研究

付瑞敏^{1,2}, 韩鸿鹏¹, 郑珂², 张丽琴¹, 常慧萍¹, 陈五岭²

(1. 河南教育学院 生命科学系, 河南 郑州 450046; 2. 西北大学, 陕西 西安 710069)

摘要:以野木瓜为试材,在单因素试验的基础上,选择温度、水料比、时间 3 个因素,利用 Box-Behnken 中心组合试验和响应面分析法,模拟了二次多项式回归方程的预测模型,研究了各自变量交互作用对野木瓜多糖提取率的影响。结果表明:提取温度 83℃,提取时间 2.7 h,水料比为 30:1 mL/g 是野木瓜多糖最佳提取工艺。在此条件下,野木瓜多糖提取率达到 11.03%。

关键词:野木瓜;多糖;工艺条件;响应面分析

中图分类号:TQ 461 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)18-0121-04

野木瓜(*Stauntonia chinensis* DC.)属蔷薇科贴梗海棠灌木丛植物,能够舒筋活络、祛风除湿,具有很高的药用价值。王文平等^[1]发现,野木瓜中除含有大量的果胶以及有机酸和多种氨基酸外,还含有多糖和皂苷等活性成分。

响应面分析(RSA)法是采用多元二次回归方法进行函数估计,并用多项式近似多因子试验中各个因素与相应指标间的相互关系。在此基础上,通过分析函数的响应面,研究响应面和因子及因子相互之间的关系,该方法因其设计合理,结果优良,被广大生物、食品行业人员所采用^[2]。

第一作者简介:付瑞敏(1981-),女,河南郑州人,博士研究生,讲师,现主要从事农业及食品微生物等研究工作。

责任作者:陈五岭(1954-),男,陕西西安人,硕士,教授,博士生导师,现主要从事农业环境及食品微生物等研究工作。

基金项目:河南省教育学院青年科研课题资助项目(20100103);河南省科技攻关重点资助项目(122102310171)。

收稿日期:2013-04-15

该试验研究了野木瓜多糖的提取工艺,并在野木瓜多糖的提取工艺优化中采用了响应面分析法,以期为指导野木瓜的进一步开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

野木瓜购自遵义天楼木瓜责任有限公司。无水乙醇、葡萄糖、苯酚、浓盐酸和浓硫酸,均为分析纯。

DK-98-II A 电热恒温水浴锅;LD4-2A 离心机;2K-82A 真空干燥箱;DWF-180 型电动植物粉碎机;SL 2000 电子天平;UV2550 紫外可见分光光度计;SBXZ-1 真空旋转蒸发器;280S 高压蒸汽灭菌锅。

1.2 试验方法

1.2.1 野木瓜多糖的提取工艺流程 将新鲜野木瓜去籽切片烘干,粉碎后置于棕色磨口瓶中备用。称量样品 25 g,将其放在容量为 500 mL 的圆底烧瓶中,量取 250 mL 的石油醚,将其加入烧瓶中,回流 2 h,使表面的脂肪层脱离。然后将所得样品置于恒温水浴锅中浸提

Effect of Different Concentrations Calcium Treatments on the Quality of Plum at Storage Period

WU Xia^{1,2}, LIU Fang¹, CAI Li-li¹

(1. Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319; 2. Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: Taking 'Suli No. 3' as test material, the effect of different concentrations of calcium treatments on the quality of plum at storage period was studied, and the correlation between each index was analyzed. The results showed that 3% calcium treatment delayed respiratory peak, slowed down titratable acids content, soluble solids content and fruit hardness decreased rapidly, and reduced the rotten fruit rate. The results of correlation analysis showed that after storage, the rotten fruit rate showed significant negative correlation with fruit titratable acid content and fruit hardness and fruit soluble solid content were negatively related.

Key words: plum; calcium treatment; storage; quality

2 h, 1 000 r/min 离心 2 min, 取上清液将其置于真空旋转蒸发器中, 真空浓缩至原体积的 1/4, 在浓缩后的溶液中加入 3 倍体积的无水乙醇, 4℃ 过夜, 经抽滤、真空干燥后得到粗多糖。将粗多糖再次溶解, 加入 Sevag 试剂(氯仿: 正丁醇=5:1)去除蛋白, 重复多次直至完全脱除蛋白^[3]。在所获溶液中加入 3 倍体积的无水乙醇, 4℃ 下放置 12 h, 使用乙醇、丙酮及乙醚反复洗涤所获沉淀, 而后抽滤、干燥, 最终得到精多糖。

1.2.2 野木瓜多糖含量及提取率测定^[4] 总糖含量的测定采用经典方法, 多糖含量的测定采用苯酚-硫酸法, 还原糖含量的测定采用 DNS 法。多糖含量及提取率分别按照以下公式计算: 多糖含量=总糖含量-还原糖含量; 多糖提取率(%)=多糖干品质量/野木瓜干物质质量×100%。

1.2.3 标准曲线的制作^[5] 将葡萄糖置于 105℃ 干燥至恒重, 精确称取 20 mg 溶于 500 mL 蒸馏水中, 分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL 的葡萄糖标准液, 置于 10 mL 试管中, 分别加水至 2 mL 后各加入 1 mL 6% 苯酚, 摇匀后迅速加入 5 mL 浓硫酸, 室温放置 5 min, 100℃ 加热 20 min 后迅速冷却至室温, 在 490 nm 处测量其 OD 值, 以蒸馏水为空白, 以葡萄糖浓度为横坐标、吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。

1.2.4 单因素试验 提取温度对野木瓜多糖提取率的影响: 分别精确称取 0.2 g 野木瓜粉末 6 份, 加入蒸馏水中, 水料比为 25:1 mL/g, 提取时间为 2 h, 分别置于 50、60、70、80、90、100℃ 恒温水浴中; 水料比对多糖提取率的影响: 分别精确称取 0.2 g 野木瓜粉末 6 份, 设水料比分别为 10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1 mL/g, 在 80℃ 浸提 2 h 后, 过滤去上清液测多糖浓度; 提取时间对多糖提取率的影响: 精确称 0.2 g 野木瓜粉末 6 份, 水料比为 25:1 mL/g, 在 80℃ 恒温水浴, 分别处理 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 h, 将处理后产品过滤, 取滤液测多糖, 研究不同时间下野木瓜多糖提取率的变化。

1.2.5 RSA 法优化野木瓜多糖提取工艺 以单因素试验结果为依据, 根据 Box-Behnken 的中心组合实验设计原理^[6], 以提取时间, 水料比和温度作为显著影响野木瓜多糖提取率的因素, 并采用三因素三水平的 RSA 法, 试验因素与水平设计见表 1。

表 1 响应面试验因素与水平

Table 1 Factors and the levels of response surface experiment

水平	因素		
	A 温度/℃	B 提取时间/h	C 水料比/mL·g ⁻¹
-1	70	2.0	20:1
0	80	2.5	25:1
1	90	3.0	30:1

2 结果与分析

2.1 单因素对野木瓜多糖提取率的影响

2.1.1 提取温度对野木瓜多糖提取率的影响 从图 1 可以看出, 在温度 50~90℃ 时, 多糖提取率随着温度的升高而增加, 在 80℃ 之前变化显著, 增势较陡, 温度高于 80℃ 之后, 增势较为平缓, 温度在 90~100℃ 范围内有了下降趋势, 且随着温度的升高, 得到的干品颜色加深, 黏度增大, 原因可能是温度过高, 多糖的结构遭到了破坏, 活性丧失, 故将 80~90℃ 作为多糖提取的最适温度范围。

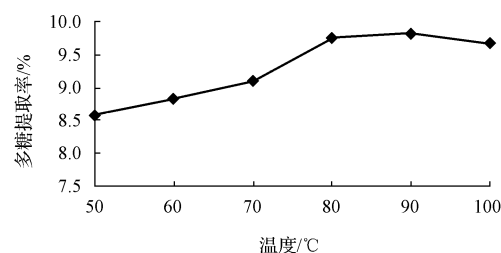


图 1 温度对野木瓜多糖提取率的影响

Fig. 1 Effect of extraction temperature on the extraction rate of SCP

2.1.2 水料比对野木瓜多糖提取率的影响 由图 2 可知, 水料比的增大对野木瓜多糖的提取率影响显著, 当水料比小于 25:1 mL/g 时, 每调整一次水料比, 其提取率差异极其显著; 当水料比大于 25:1 mL/g 时, 随着水料比的调整, 多糖提取率的变化幅度极微小。由于浸提液在后续工序中需进一步浓缩, 如果初期加水过多会导致后续工作能耗增加, 基于此, 考虑将水料比定在 25:1 mL/g 左右。

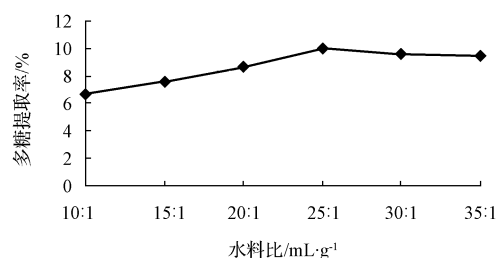


图 2 水料比对野木瓜多糖提取率的影响

Fig. 2 The ratio of water to material on the extraction rate of SCP

2.1.3 提取时间对野木瓜多糖提取率的影响 如图 3 所示, 多糖提取率随提取时间的延长而增加, 在处理时间少于 2.0 h 时变化显著, 在 2 h 后随提取时间延长变化平缓, 为缩短工时, 减少能耗, 选择最佳提取时间为 2.0~3.0 h。

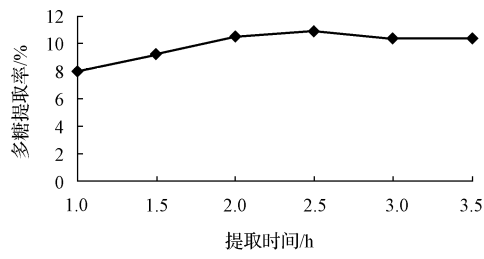


图3 提取时间对野木瓜多糖提取率的影响

Fig. 3 Effect of extraction time on the extraction rate of SCP

2.2 RSA 法优化野木瓜多糖提取工艺

2.2.1 RSA 方案及结果 以温度 A、提取时间 B、水料比 C 为自变量,以野木瓜多糖提取率为响应值进行 RSA 实验,试验方案及试验结果见表 2。由表 2 可知,提取温度为 90℃,提取时间 2.5 h,水料比为 30 : 1 mL/g 时,多糖得率最高,为 11.01%。

表 2 响应面分析方案及试验结果

Table 2 Program and experimental results of response surface analysis

试验号	因素			多糖提取率/%
	A/℃	B/h	C/mL · g ⁻¹	
1	70	2.0	25 : 1	9.09
2	90	2.0	25 : 1	9.81
3	70	3.0	25 : 1	9.92
4	90	3.0	25 : 1	9.61
5	70	2.5	20 : 1	7.99
6	90	2.5	20 : 1	9.04
7	70	2.5	30 : 1	10.48
8	90	2.5	30 : 1	11.01
9	80	2.0	20 : 1	8.61
10	80	3.0	20 : 1	8.87
11	80	2.0	30 : 1	8.99
12	80	3.0	30 : 1	10.51
13	80	2.5	25 : 1	10.94
14	80	2.5	25 : 1	10.78
15	80	2.5	25 : 1	10.88

2.2.2 多元二次响应面回归模型的建立与分析 将表 2 试验结果通过 RSA 软件进行二次回归响应面分析,建立多元二次响应面回归模型: $Y=10.87+0.25A+0.30B+0.81C-0.26AB-0.13AC+0.31BC-0.44A^2-0.82B^2-0.80C^2$,各个因素的方差分析结果见表 3。从表 3 可以看出,模型的 P 值为 0.0298,小于 0.05,说明该模型是显著的。回归模型的决定系数为 A(温度)、B(提

取时间)、C(水料比)、A-B(温度与提取时间的交互作用)、A-C(温度与水料比的交互作用)、B-C(提取时间与水料比的交互作用),P 值分别为 0.1928、0.1281、0.0045、0.3210、0.6022、0.2358。由此可见,该试验设计对野木瓜多糖提取率影响显著,说明该模型的拟合度较好。影响野木瓜多糖提取率的各个因素按照从大到小排序依次为 C(水料比)、B(提取时间)、A(温度),其中,C(水料比)的 P 值小于 0.05,说明 C(水料比)对野木瓜多糖提取率的影响达到显著水平。

表 3 回归分析结果

Table 3 Analyze of regression analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P
Model	12.09	9	1.34	6.14	0.0298
A-A	0.50	1	0.50	2.26	0.1928
B-B	0.73	1	0.73	3.32	0.1281
C-C	5.25	1	5.25	24	0.0045
A×B	0.27	1	0.27	1.21	0.3210
A×C	0.068	1	0.068	0.31	0.6022
B×C	0.40	1	0.40	1.81	0.2358
A ²	0.71	1	0.71	3.22	0.1325
B ²	2.50	1	2.50	11.41	0.0197
C ²	2.36	1	2.36	10.79	0.0218
残差	1.09	5	0.22		
失拟项	1.08	3	0.36	55.13	0.0179
纯误差	0.013	2	6.533E-003		
总离差	13.19	14			

由图 4~6 可知,水料比(C)对响应值的影响最为显著,表现为曲线较陡,而提取时间(B)和温度(A)对野木瓜多糖的提取率影响相对较弱,表现为曲线较为平缓,而且随着 A、B 数值的变化,响应值变化较小。

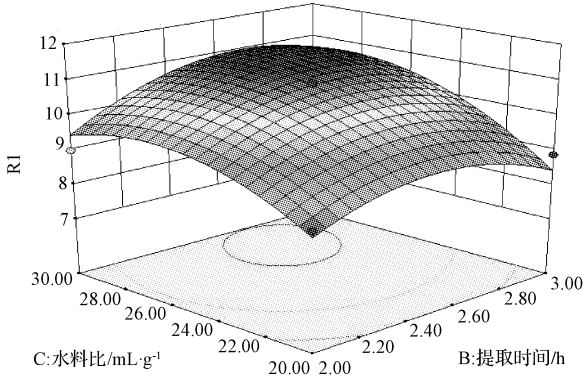


图 4 水料比与提取时间交互作用对野木瓜多糖提取率影响响应面

Fig. 4 Response surface of interrelated influence of ratio of water to material and time on SCP extraction rate

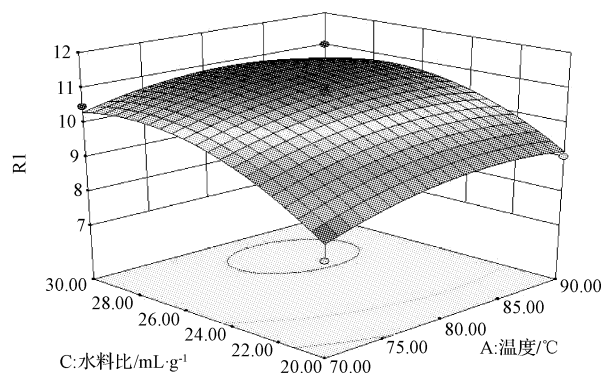


图5 水料比与温度交互作用对野木瓜多糖提取率影响响应面

Fig. 5 Response surface of interrelated influence of ratio of water to material and temperature on SCP extraction rate

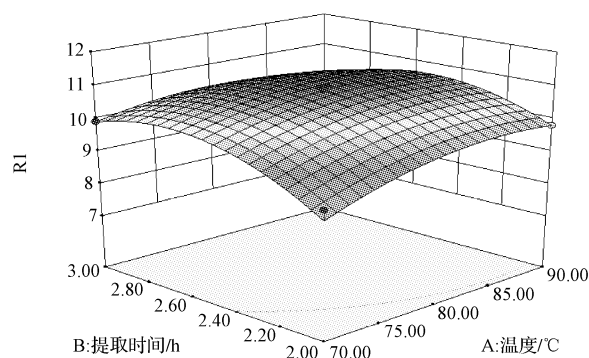


图6 提取时间与温度交互作用对野木瓜多糖提取率影响响应面

Fig. 6 Response surface of interrelated influence of time and temperature on SCP extraction rate

2.2.3 模型的验证性试验 通过对野木瓜多糖提取率的二次多项数学模型解逆矩阵,得出在温度为 83.32℃,提取时间为 2.7 h,水料比为 29.21 : 1 mL/g 的工艺条件下,野木瓜多糖提取率预测值为 11.04%。为检验可靠性,采用上述所得最优条件进行提取,为便于操作,将最优条件适度调整为温度 83℃,时间 2.7 h,水料比 30 : 1 mL/g,测得的实际值为 11.03%,与理论预测值相差很小,由此可得,采用响应面分析法优化出的提取条件参数可靠,具有实际应用价值。正交设计只能处理离散的水平值,而无法找出各因素的最佳组合和响应值的最优值,而响应面分析法克服了这一缺点。

3 结论

该试验用 RSA 法优化野木瓜多糖的提取工艺,从而得到最佳工艺条件为:提取温度 83℃,提取时间 2.7 h,水料比为 30 : 1 mL/g,该工艺条件下野木瓜多糖提取率达到 11.03%。

参考文献

- [1] 王文平,郭祀远,李琳,等. 野木瓜中多糖提取工艺研究[J]. 食品科技,2007(1):99-101.
- [2] 慕运动. 响应面方法及其在食品工业中的应用[J]. 郑州工程学院学报,2001,22(3):91-94.
- [3] 郭辉,李善玲,张红旭,等. 红毛五加粗多糖脱蛋白工艺比较[J]. 现代中药研究与实践,2004,18(6):53-55.
- [4] 谢清若,郑立文,凌新龙,等. 响应面法优化提取南方红豆杉枝多糖工艺条件[J]. 时珍国医国药,2011,22(5):1073-1075.
- [5] 高丽君,王汉忠,崔建华,等. 苯酚-硫酸法测定白首乌中多糖含量[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2004,35(2):295-297.
- [6] 刘军海,黄宝旭,蒋德超. 响应面分析法优化艾叶多糖提取工艺研究[J]. 食品科学,2009,30(2):114-118.

Study on the Optimization of the Extraction Technique of *Stauntonia chinensis* Polysaccharide via Response Surface Analysis

FU Rui-min^{1,2}, HAN Hong-peng¹, ZHENG Ke², ZHANG Li-qin¹, CHANG Hui-ping¹, CHEN Wu-ling²

(1. College of Life Science, Henan Institute of Education, Zhengzhou, Henan 450046; 2. Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069)

Abstract: With wild *Stauntonia chinensis* as test material, based on the single factor experiment, selecting temperature, the ratio of water to material, time, using Box-Behnken central composite and response surface methodology to simulate the quadratic polynomial regression equation prediction model, the interaction of each variable on wild *S. chinensis* polysaccharide extraction rate were studied. The results showed that *S. chinensis* optimum extraction conditions were extraction temperature 83℃, extraction time 2.7 h, water to material ratio 30 : 1 mL/g. Under these conditions, extraction rate reached 11.03%.

Key words: *Stauntonia chinensis*; polysaccharide; extraction technique; response surface analysis