

响应面法优化刺五加中多糖的超声提取工艺

陈金娥¹, 王庆红¹, 魏增云², 张海容¹

(1. 山西省忻州师范学院 生化分析技术研究所, 山西 忻州 034000; 2. 山西省忻州职业技术学院, 山西 忻州 034000)

摘要:以刺五加为试材,利用超声辅助提取技术对刺五加多糖的提取工艺进行研究。在单因素试验的基础上,选择超声温度、时间、液固比、功率4个因素,通过Box-Behnken中心组合设计试验和响应面分析法,模拟得到二次多项式回归方程的预测模型。结果表明:超声功率90 W,提取温度为57℃,液固比40:1 mL/g,提取时间42 min是刺五加多糖的最佳超声提取工艺。验证性试验表明,刺五加多糖得率为3.86%,与理论预测值3.88%相符。用超声法对比研究了传统水煮法提取刺五加多糖的优劣,超声法不仅能耗低、产率高,且提取时间缩短11倍。

关键词:响应面分析法;刺五加;超声辅助萃取

中图分类号:TS 201.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)07-0123-05

刺五加(*Manryprickle acathopanax*)属五加科五加属,其根和根状茎是多年生落叶木本植物;广泛分布于全国各省。刺五加自古即被视为具有添精补髓及抗衰老

老作用的良药,在《神农本草经》和《本草纲目》中均有详细记载。刺五加中含有多种活性成分,如多糖、紫丁香苷、刺五加苷E和异秦皮啶、黄酮等。医学试验证明^[1],刺五加多糖具有抗衰老、抗肿瘤、增强特异性和非特异性免疫调节功能的作用。但采用响应面法优化刺五加中多糖电磁强化分离提取工艺的研究尚鲜见报道。该试验采用响应面法优化超声提取刺五加多糖,利用硫酸-苯酚法对刺五加中的多糖含量进行了测定,方法简便、样品溶液显色稳定、重现性较好;同时与传统热水提取法作了对比试验,体现了超声辅助萃取工艺的优越性。通过响应面法对影响因素进行进一步优化^[2],从而确定最佳提取工艺,为工业生产提供理论与试验指导。

第一作者简介:陈金城(1957-),女,本科,高级实验师,研究方向为天然植物分离及分析。

责任作者:张海容(1957-),男,博士,教授,研究方向为天然植物分离及分析。E-mail:hairong1015@163.com.

基金项目:山西省教育厅重点建设学科资助项目(20141010);山西省教育厅国际交流资助项目(2011-63);山西省高等学校教学改革资助项目(2014-38);忻州师范学院应用化学创新实践基地资助项目(2013-31)。

收稿日期:2014-11-18

Analysis on the Contents of Nitrate and Nitrite of MA Packed Vegetable During Storage

MA Chao, PENG Li, WANG Tian-wen
(Guizhou Horticultural Institute, Guiyang, Guizhou 550006)

Abstract: Taking tomato, cabbage and radish as test materials, the changes of contents of nitrate and nitrite of tomato, cabbage, radish in the process of the three kinds of storage were analyzed. The results showed that the contents of nitrate and nitrite of the unpacked vegetable increased gradually with the extension of storage time, and nitrate and nitrite change trend of modified atmosphere packaging vegetables appeared fluctuating with the extension of storage time. In the storage process of three kinds of vegetable, nitrite content of tomato was the minimum, the second was cabbage, the maximum was radish, and nitrate content of tomato was the minimum, that of carrot was near to cabbage which was 100 times of tomato. In three storage mode, the minimum content of nitrite was packed vegetables in low temperature storage; the second was that of packed vegetables in room temperature storage, the maximum was nitrite content of no-packed vegetables. Nitrate content of no-packed cabbage was significantly higher than that of packed cabbage in storage, but nitrate of tomato and carrot had no apparently different among three storage methods.

Keywords: vegetable; storage; nitrate; nitrite

1 材料与方法

1.1 试验材料

刺五加产地东北(购自忻州本地药店);无水葡萄糖(北京化学试剂公司),分析纯;苯酚,分析纯(天津市风船化学试剂有限责任公司);98%的浓硫酸,分析纯(天津市耀华化学试剂有限责任公司)。

AL204 型电子天平(梅特勒-托利多(上海)有限公司);723 型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市予华有限责任公司);KQ-3200 DV 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司);旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 试验方法

1.2.1 工作曲线 用移液管准确移取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8 mL 100 $\mu\text{g/mL}$ 的葡萄糖标准液于 9 支比色管中,用二次蒸馏水补充至 2 mL,加 5% 的苯酚溶液各 1 mL,再加 98% 的浓硫酸各 5 mL,静置 0.5 h、冷却至室温,在最大吸收波长 490 nm 处,以试剂空白作参比,测定吸光度值 A,并以吸光度 A 为纵坐标,浓度 C($\mu\text{g/mL}$)为横坐标绘出工作曲线,求得回归方程 $A=0.0491C+0.0122(R^2=0.9982)^{[3]}$ 。

1.2.2 样品的制备 刺五加处理:用医用粉碎机将从药店购买的刺五加药品磨碎,并用 60 目筛过筛,将处理好的刺五加药品装入配有塞的洁净磨口瓶中,以防药品受潮。

1.2.3 试验方法 准确称取刺五加样品 0.2000 g 于干燥试管中,加一定体积的二次水,按一定的超声条件提取刺五加多糖,抽滤、收集滤液,定容于 100 mL 容量瓶中。在分光光度计中测量吸光度 A,代入葡萄糖的回归方程求得浓度 C($\mu\text{g/mL}$),计算刺五加多糖的提取率。多糖提取率 $Y(\%)=(\text{浓度}(\mu\text{g/mL}) \times \text{稀释倍数} \times \text{提取液体积}(\text{mL})) / (\text{原料干重} \times 10^6) \times 100\%$ 。

1.2.4 单因素试验 超声功率对多糖提取率的影响:选定温度为 55℃、液固比 30:1 mL/g、时间 30 min,设定超声功率 60、90、120、150 W。超声温度对多糖提取率的影响:选定超声功率为 90 W、液固比 30:1 mL/g、时间 30 min,设定超声温度 35、45、55、65、75℃。液固比对多糖提取率的影响:选定温度为 55℃、功率 90 W、时间 30 min,设定液固比为 20:1、30:1、40:1、50:1、60:1 mL/g。超声时间对多糖提取率的影响:在选定上述优化条件下,设定超声时间为 10、20、30、40、50 min。提取次数对多糖提取率的影响:选定温度为 45℃、功率 90 W、液固比 40:1 mL/g,时间 40 min,设定提取次数为 1、2、3 次。

1.2.5 响应面分析因素水平的选取 综合单因素试验结果,选取超声功率(A)、超声温度(B)、液固比(C)、超声时

间(D)4 个单因素进行中心组合设计,利用 Design Expert 7.0 软件进行数据拟合,以+1、0、-1 分别代表自变量的高、中、低水平。因子编码见表 1。

表 1 正交实验因素水平及编码

Table 1 Factors level and coding of orthogonal

水平 Level	A 超声功率 Ultrasonic power/W	B 超声温度 Ultrasonic temperature/℃	C 液固比 Liquid-solid ratio/(mL · g ⁻¹)	D 超声时间 Ultrasonic time/min
-1	60	45	30	30
0	80	55	40	40
+1	120	65	50	50

1.2.6 超声提取法与常规水煮提取法的对比 准确称取 10.0000 g 的刺五加样品,加入二次蒸馏水 400 mL,在电热恒温水浴锅煮 8 h,然后抽滤,收集滤液,用旋转蒸发器浓缩,定容于 100 mL 容量瓶中,测多糖浓度。与前述优化条件超声萃取结果对比。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 超声功率对多糖提取率的影响 由图 1 可知,超声功率在 60~90 W 随功率的增加,提取率显著增加,超过 90 W 以后提取率随功率增加反而减小,初步选定 90 W 为最佳超声功率。

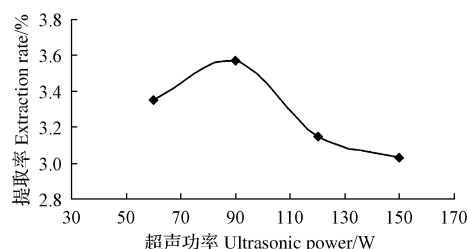


图 1 超声功率对多糖提取率的影响

Fig. 1 The influence of ultrasonic power on polysaccharide extraction rate

2.1.2 超声温度对多糖提取率的影响 由图 2 可知,温度在 35~55℃,提取率随温度的增加而增加,55℃后随温度增加提取率反而减小,初步选定最佳提取温度为 55℃。

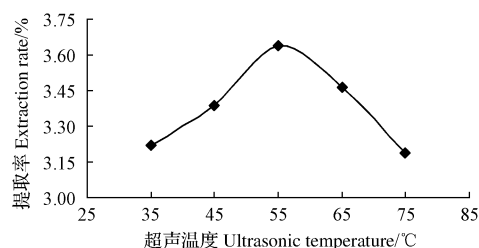


图 2 超声温度对多糖提取率的影响

Fig. 2 The influence of ultrasonic temperature on polysaccharide extraction rate

2.1.3 液固比对多糖提取率的影响 由图 3 可知,液固比在(20:1)~(40:1) mL/g,提取率随着液固比的增加而增大,超过 40:1 mL/g 以后,随着液固比的增加提取率开始减小,初步选定最佳液固比为 40:1 mL/g。

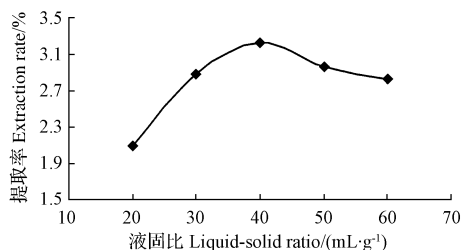


图 3 液固比对多糖提取率的影响

Fig. 3 The influence of liquid-solid ratio on polysaccharide extraction rate

2.1.4 超声时间对多糖提取率的影响 由图 4 可知,提取率随超声时间的增加而增加,40 min 后随超声时间增加反而减小,故初步选定最佳超声时间为 40 min。

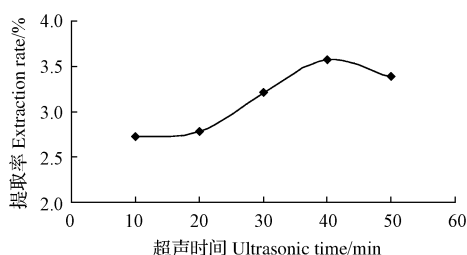


图 4 超声时间对多糖提取率的影响

Fig. 4 The influence of ultrasonic time on polysaccharide extraction rate

2.1.5 提取次数对多糖提取率的影响 由图 5 可知,经过第 1 次提取,刺五加中的多糖大部分被提取出来,增加提取次数,多糖的提取率并不会显著增加,考虑到增加提取次数,会增加生产成本,故初步选定提取次数为 2 次。

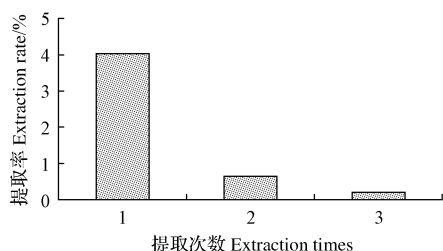


图 5 提取次数对多糖提取率的影响

Fig. 5 The influence of extraction times on polysaccharide extraction rate

2.2 响应面分析法优化提取工艺

2.2.1 响应面分析法试验方案 以 $A=(a-90)/30$, $B=(b-55)/10$, $C=(c-40)/10$, $D=(d-40)/10$ 为自变量,以

多糖提取率为响应值 P ,进行响应面分析试验(表 2)。对试验数据进行多项拟合回归^[4-5],建立回归方程 $P=3.86-0.072A+0.11B+3.33\times 10^{-3}C+0.11D-2.500\times 10^{-3}AB+0.047AC+0.070AD-0.10BC-0.010BD+0.11CD-0.31A^2-0.25B^2-0.24C^2-0.27D^2$ 对模型进行方差分析^[6]。由表 3 可知,试验所选模型不同处理间差异显著, $P<0.05$ 时说明回归方程描述各因子与响应值之间的关系时,其应变量和全体自变量之间的线性关系是显著的,而该试验 $P=0.0015<0.05$,证明了该试验方法是可靠的;变异系数(4.37%)较低,说明试验有良好的稳定性;模型的相关系数 $R^2=0.8456$,说明该模型的可靠性较好。

表 2 响应面分析方案及试验结果

Table 2 Experiment design and results of response surface methodology

序号 No.	A 功率 Power /W	B 温度 Temperature /℃	C 液固比 Solid-liquid ratio (mL·g ⁻¹)	D 时间 Time /min	实测值 Actual value /%	预测值 Predicted value /%
1	60	45	40	40	3.36	3.25
2	120	45	40	40	3.21	3.11
3	60	65	40	40	3.45	3.48
4	120	65	40	40	3.29	3.33
5	90	55	30	30	3.27	3.34
6	90	55	50	30	3.27	3.13
7	90	55	30	50	3.27	3.34
8	90	55	40	50	3.71	3.57
9	60	55	40	30	3.22	3.31
10	120	55	40	30	2.85	3.03
11	60	55	40	50	3.40	3.39
12	120	55	40	50	3.31	3.39
13	90	45	30	40	3.09	3.14
14	90	65	30	40	3.62	3.57
15	90	45	50	40	3.13	3.35
16	90	65	50	40	3.25	3.37
17	60	55	30	40	3.44	3.42
18	120	55	30	40	3.30	3.18
19	60	55	50	40	3.31	3.33
20	120	55	50	40	3.36	3.28
21	90	45	40	30	3.17	3.10
22	90	65	40	30	3.47	3.35
23	90	45	40	50	3.32	3.34
24	90	65	40	50	3.58	3.55
25	90	55	40	40	3.90	3.86
26	90	55	40	40	3.75	3.86
27	90	55	40	40	3.99	3.86
28	90	55	40	40	3.67	3.86
29	90	55	40	40	3.97	3.86

2.2.2 响应面图分析 对表 2 数据进行二次多元回归拟合,所得到的二次回归方程的响应面图。由图 6~11 可知,6 个响应曲面均呈现凸球形曲面,说明二因素间交互作用非常显著。同时,其投影等高线最小椭圆的中心全部落在所选的-1~1 范围内,响应值(刺五加多糖)在 4 个因子设计的范围内呈现极大值。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Regression model analysis of variance

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
Source	Sum of square	df	Mean square	F value	P value
模型	1.70	14	0.12	5.48	0.0015
A 功率	0.062	1	0.062	2.77	0.1180
B 温度	0.16	1	0.16	7.14	0.0182
C 液固比	0.00013333	1	0.00013333	0.006003	0.9393
D 时间	0.15	1	0.15	6.74	0.0212
AB	0.000025	1	0.000025	0.00126	0.9737
AC	0.009025	1	0.009025	0.41	0.5341
AD	0.020	1	0.020	0.88	0.3635
BC	0.042	1	0.042	1.89	0.1906
BD	0.0004	1	0.0004	0.018	0.8592
CD	0.048	1	0.048	2.18	0.1620
A ²	0.62	1	0.62	27.93	0.0001
B ²	0.42	1	0.42	18.88	0.0007
C ²	0.39	1	0.39	17.42	0.0009
D ²	0.46	1	0.46	20.78	0.0004
残差	0.31	14	0.022		
失拟	0.23	10	0.023	1.18	0.4735
纯误差	0.079	4	0.020		
总回归	2.01	28			
R ²	0.8456				
变异系数 CV%	4.37				
调整 R ²	0.6913				

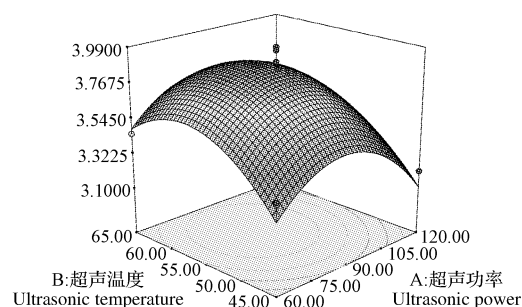


图 6 超声温度和超声功率对多糖提取率的响应面图

Fig. 6 The influence of ultrasonic temperature and ultrasonic power on polysaccharide extraction rate response surface figure

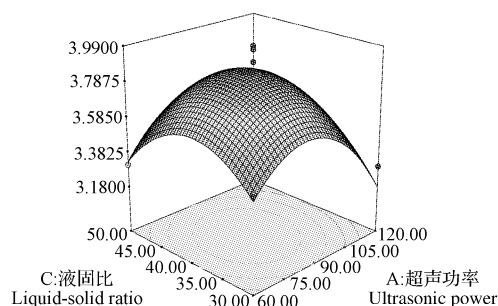


图 7 液固比和超声功率对多糖提取率的响应面图

Fig. 7 The influence of liquid-solid ratio and ultrasonic power on polysaccharide extraction rate response surface figure

2.2.3 最佳工艺条件的求取 为了进一步确证最佳点的值,对回归方程取一阶偏导等于零,变量为 A、B、C、D,

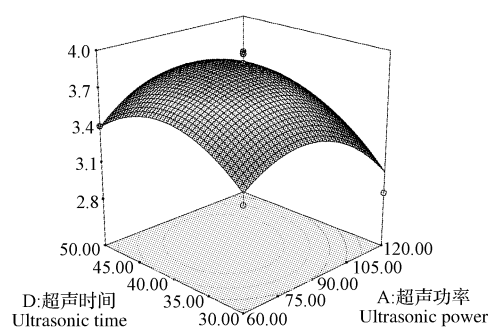


图 8 超声时间和超声功率对多糖提取率的响应面图

Fig. 8 The influence of ultrasonic time and ultrasonic power on polysaccharide extraction rate response surface figure

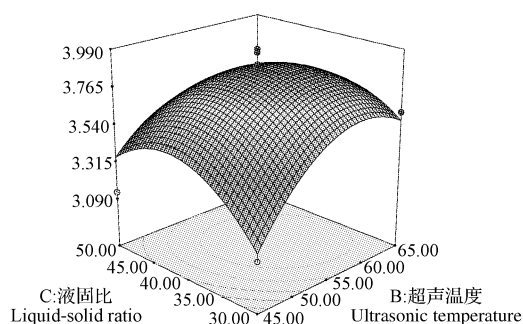


图 9 液固比和超声温度对多糖提取率的响应面图

Fig. 9 The influence of liquid-solid ratio and ultrasonic temperature on polysaccharide extraction rate response surface figure

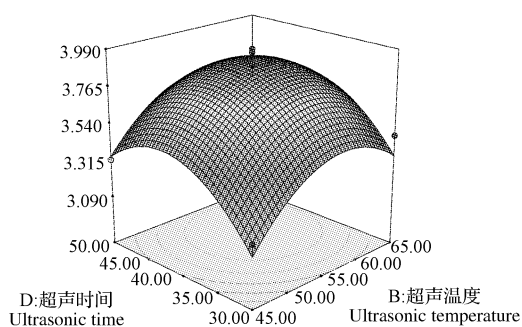


图 10 超声时间和超声温度对多糖提取率的响应面图

Fig. 10 The influence of ultrasonic time and ultrasonic temperature on polysaccharide extraction rate response surface figure

可以求得曲面的最大点^[7], $P = 3.86 - 0.072A + 0.11B + 3.33 \times 10^{-3}C + 0.11D - 2.500 \times 10^{-3}AB + 0.047AC + 0.070AD - 0.10BC - 0.010BD + 0.11CD - 0.31A^2 - 0.25B^2 - 0.24C^2 - 0.27D^2$ 求解方程组的: $A = -0.0963903$; $B = 0.217908$; $C = -5.219549609 \times 10^{-3}$; $D = 0.186112022$ 。经过中心组合设计优化提取条件,最佳的提取工艺参数为超声功率为 87.13 W、超声温度为 57.25℃、液固比为

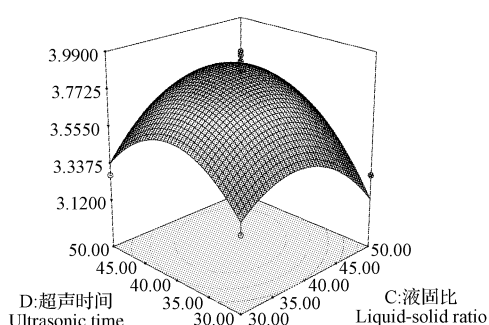


图 11 超声时间和液固比对多糖提取率的响应面图

Fig. 11 Ultrasonic time and liquid-solid ratio on polysaccharide extraction rate response surface figure

39.93 : 1 mL/g、超声时间为 42 min,此时多糖的最大提取率为 3.88%,按实际试验条件修正后选取超声功率为 90 W,液固比为 40 : 1 mL/g,超声时间 42 min、温度 57℃,验证性试验测定提取率为 3.86%,与理论预测值 3.88%相符。因此,采用响应面法得到的提取条件参数可靠,科学可行。

2.3 超声提取法与常规水煮提取法的对比试验

由图 12 可知,超声法提取刺五加多糖,不仅能耗低、产率高,且提取时间缩短 11 倍^[6-7]。

3 结论

通过响应面分析法研究刺五加多糖的超声提取过程所得优化工艺条件为:超声功率 90 W、超声温度为 57℃、超声时间 42 min,液固比为 40 : 1 mL/g,按照最优条件提取得到的多糖产率为 3.86%,与理论产率 3.88%

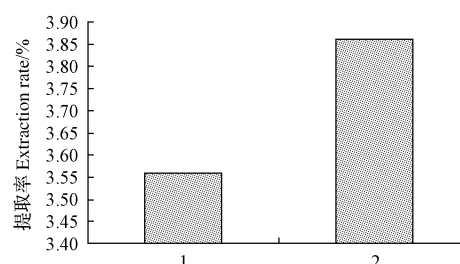


图 12 超声提取法与常规热水法提取法多糖产率对比

Fig. 12 Polysaccharides rate with ultrasonic extraction method compared with conventional water extraction

接近。因此,用响应面法优化得到最佳工艺条件科学可靠。与传统水煮法相比,超声提取工艺具耗能少、节约时间、提取率高等优点。

参考文献

- [1] 孟繁磊,陈瑞战,张敏,等.刺五加多糖的提取工艺及抗氧化活性研究[J].食品科学,2010,31(10):168-171,173.
- [2] 张海容,刘露琛.超声提取青蒿多糖的工艺优化[J].食品研究与开发,2006,27(5):47.
- [3] 张海容,韩伟珍.微波法与传统热水法提取香菇多糖的比较研究[J].食品研究与开发,2005,26(5):69-70.
- [4] 杨念,芮汉明.响应面法优化金针菇抗氧化物质的超声波辅助提取工艺[J].食品科学,2011,32(4):126-130.
- [5] 于立梅,陈毅,于新,等.响应面优化野生山毛豆多糖提取工艺的研究[J].食品与机械,2010,26(4):1-3.
- [6] 崔大明,张益波,付璐,等.响应面法优化超声法提取枸杞中总黄酮工艺[J].食品研究与开发,2011,32(3):57-58.
- [7] 童洋,肖国民,潘晓梅.响应面优化螺旋藻中叶绿素的超声提取工艺[J].化工学报,2009,60(11):2816-2818.

Optimization of Ultrasound-assisted Extraction of *Manyprickle acathopanax* Root Polysaccharides Using Response Surface Methodology

CHEN Jin-e¹, WANG Qing-hong¹, WEI Zeng-yun², ZHANG Hai-rong¹

(1. Institute of Biochemical Analysis, Xinzhou Teachers' University, Xinzhou, Shanxi 034000; 2. College of Xinzhou Occupation Technology, Xinzhou, Shanxi 034000)

Abstract: Taking *Manyprickle acathopanax* as test material, the polysaccharides was extracted by ultrasound-assisted extraction technology. The quadratic polynomial regression equation prediction model was obtained by using the Box-behnken central composite test and response surface analysis based on the single factor experiments, such as ultrasound power (A), temperature (B), liquid-solid ratio (C), and the ultrasound (D). The results showed that the optimal conditions of ultrasound-assisted extraction of *Manyprickle acathopanax* polysaccharides were as follows, ultrasound power of 90 W, extraction temperature of 57℃, 40 : 1 mL/g of the ratio of liquid to solid and time of 42 minutes. Under these conditions, the experimental yield of *Manyprickle acathopanax* polysaccharides was 3.86%, which was well matched with the value predicted (3.88%) by the model. Ultrasonic extraction method was not only low energy consumption, high yield, and the extraction time was shortened by 11 times compared with the traditional water-boiling method.

Keywords: response surface analysis; *Manyprickle acathopanax*; ultrasound-assisted extraction