

文章编号: 1000-5013(2008)01-0076-04

RSM 优化巴戟天多糖的超声波辅助提取工艺

陈素艳, 彭爱红, 吴升山, 黄志勇

(集美大学 生物工程学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 利用响应面分析法(RSM), 对超声波水提巴戟天多糖的工艺进行优化. 在单因素实验的基础上, 根据 Box-Behnken 中心组合设计原理, 采用 3 因素 3 水平的响应面分析法, 运用 SAS 8.2 和 Design-Expert 7.1.1 分析软件对实验数据进行二次响应面分析. 获得巴戟天多糖的最佳提取条件: 料液比(原料质量与提取液体积的比, g: mL)为 1: 13, 超声波提取时间为 30 min, 提取次数为 2 次. 在此最优工艺条件下, 测得巴戟天多糖质量比为 $35.93 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

关键词: 巴戟天; 多糖; 超声波; 辅助提取; 响应面分析法

中图分类号: Q 539.03; O 644.3

文献标识码: A

巴戟天(*Radix morindae* Officinalis)又名鸡肠风、鸡眼藤、三角藤等, 系茜草科巴戟天属, 是我国四大南药之一^[1]. 巴戟天主要分布在广东、广西、福建、江西等省, 海南省也有部分分布, 福建省南靖县和溪镇出产的巴戟天为道地药材. 巴戟天中含有蒽醌、氨基酸、多糖、脂类、有机酸、生物碱、黄酮等 11 类化合物及 24 种无机元素^[2]. 巴戟天多糖有明显的免疫增强作用^[3], 有关巴戟天多糖的提取纯化已经成为当前巴戟天活性成分研究的热点^[4-5]. 研究表明, 巴戟天中多糖质量比较高^[1, 6-7], 因此对巴戟天中的多糖物质进行系统研究, 阐明其生物活性, 对开发高技术含量的巴戟天多糖保健食品具有重要意义. 本文采用超声波水提法提取巴戟天多糖, 并通过响应面设计对其提取条件进行优化.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

(1) 材料. 南靖巴戟天(福建南靖县宇虹天然食品厂). 烘干至恒重, 粉碎, 过 80 目筛, 粉末再于 60 °C 烘箱烘干至恒重, 于聚酯(PET)瓶中密封保存备用. 葡萄糖, 无水乙醇, 氯仿, 正丁醇, 丙酮, 乙醚, 浓硫酸, 苯酚, 均为国产分析纯; 实验用水为二次蒸馏水. (2) 仪器. FW100 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司), CARY50 型紫外-可见分光光度计(美国瓦里安公司), SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂), pH211C 型酸度计(北京哈纳科仪科技有限公司), KQ-500DA 型数控超声波清洗器(江苏昆山市超声仪器有限公司).

1.2 实验方法

1.2.1 巴戟天多糖的提取^[1] 精确称取 2 g 的巴戟天粉末置平底烧瓶中, 加 80 mL 体积分数为 80% 的乙醇, 于 90 °C 下回流提取 1 h, 趁热过滤, 残渣用 80% 热乙醇洗涤 3 次, 每次 10 mL. 挥发干乙醇后, 于 60 °C 烘干, 按照料液比(原料质量与提取液体积的比, g: mL)加入一定量的蒸馏水, 置于超声波提取器中(超声波功率 100%, 500 W)提取一定时间后, 于 $4\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心机中离心 10 min, 抽滤除渣. 将滤液用蒸馏水定容至 100 mL, 摇匀, 再稀释 50 倍, 即为巴戟天多糖提取液.

收稿日期: 2007-10-15

作者简介: 陈素艳(1971-), 女, 实验师; 通讯作者: 黄志勇(1963-), 男, 教授, 博士, 主要从事有机物超声波提取的研究. E-mail: zhyhuang@jmu.edu.cn.

基金项目: 福建省自然科学基金计划资助项目(D0610016); 福建省科技重点项目(2007Y0028); 集美大学创新团队科研基金资助项目(2006A003)

1.2.2 巴戟天多糖的测定^[1] 将上述巴戟天多糖提取液经适当稀释后,取稀释液 1.00 mL 于 10 mL 比色管中,加入 1.00 mL,5% 的苯酚溶液,摇匀,再迅速加入浓硫酸 5.00 mL,室温放置 5 min,沸水浴加热 15 min. 取出冷却至室温,测定其最大吸收波长(490 nm)处的吸光度值. 实验以葡萄糖作为对照品,建立糖质量比与吸光度值的线性方程为 $Y = 111.06X + 0.9516$. 其中, Y 为葡萄糖质量浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), X 为吸光度值. $r > 0.999$. 由此线性方程可获得提取液中多糖的质量比.

1.2.3 响应面 试验设计 根据 Box-Behnken 中心组合设计原理,在单因素试验的基础,以影响巴戟天多糖提取的料液比(X_1)、提取时间(X_2)和提取次数(X_3)3 个因素为自变量,以提取液中多糖质量比(Y)为响应值,作 3 因素 3 水平的响应面分析试验,共 15 个试验点. 其中,12 个为析因子,3 个点为中心试验,用以估计误差^[8]. 响应面 试验设计安排如表 1 所示.

表 1 RSM 试验的因素水平表
Tab. 1 Factors and levels
of RSM experiments

水平	$X_1/\text{g}:\text{mL}$	X_2/min	$X_3/\text{次}$
-1	1:5	15	1
0	1:10	20	2
1	1:15	25	3

2 结果与讨论

2.1 RSM 响应面 试验结果

以料液比、超声时间和提取次数为参数,以巴戟天多糖质量比为响应值,按照 SAS 8.2 分析软件中的 Box-Behnken 中心组合设计法^[9],得到的响应面实验结果如表 2 所示. 对巴戟天多糖质量比,通过 SAS 8.2 软件并结合 Design-Expert 7.1.1 对数据进行分析,得到响应面回归方程,进一步寻找最优结

表 2 RSM 试验的因素与水平组合和响应值

Tab. 2 Factor-levels and response values of RSM experiments

试验号	X_1	X_2/min	$X_3/\text{次}$	$Y/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	试验号	X_1	X_2/min	$X_3/\text{次}$	$Y/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1	-1(1:5)	-1(15)	0(2)	22.5952	9	1(1:15)	-1(15)	0(2)	34.8916
2	-1(1:5)	0(20)	-1(1)	23.1537	10	1(1:15)	0(20)	-1(1)	34.2798
3	-1(1:5)	0(20)	1(3)	23.4835	11	1(1:15)	0(20)	1(3)	35.2613
4	-1(1:5)	1(25)	0(2)	24.5898	12	1(1:15)	1(25)	0(2)	35.8742
5	0(1:10)	-1(15)	-1(1)	32.5420	13	0(1:10)	0(20)	0(2)	34.9387
6	0(1:10)	-1(15)	1(3)	34.3105	14	0(1:10)	0(20)	0(2)	34.3037
7	0(1:10)	1(25)	-1(1)	33.7036	15	0(1:10)	0(20)	0(2)	34.0277
8	0(1:10)	1(25)	1(3)	34.5875					

响应因子的水平,果如表 3,4 所示. 表 3,4 中,“*”和“**”分别代表 0.05 和 0.01 显著水平,参数估计为非标准化系数. 由方差分析结果可知,响应面设计试验所建立的模型是极其显著的($P < 0.01$). 其中,一次项和二次项也是极其显著的($P < 0.01$). X_1, X_2, X_3 和 X_1X_1 各项对多糖质量比有显著影响($P < 0.05$),3 个因素对巴戟天多糖质量比的影响的主次顺序为 $X_1 > X_2 > X_3$. 另外,失拟项的 P 值为 0.5699(大于 0.5),影响不显著,对模型是有利的,无失拟因素存在. 相应的 Y 与 X_1, X_2, X_3 函数关系的等高线图及响应面图,如图 1,2,3 所示. 图 1 的 $X_3 = 2$,图 2 的 $X_2 = 20 \text{ min}$,图 3 的 $X_1 = 1:10$

表 3 RSM 试验的方差分析结果

Tab. 3 Variance analysis of RSM experiments

方差来源	自由度	平方和	均方和	F 值	P 值	方差来源	自由度	平方和	均方和	F 值	P 值
X_1	1	270.10	270.10	331.29	$< 0.0001^{**}$	X_2	1	2.44	2.44	12.01	0.0179*
X_3	1	1.96	1.96	9.68	0.0265*	X_1X_2	1	0.26	0.26	1.26	0.3123
X_1X_3	1	0.11	0.11	0.52	0.5018	X_2X_3	1	0.20	0.20	0.96	0.3712
X_1X_1	1	86.44	86.44	426.05	$< 0.0001^{**}$	X_2X_2	1	0.035	0.035	0.17	0.6957
X_3X_3	1	1.08	1.08	5.31	0.0693	一次项	3	274.50	91.50	450.99	$< 0.0001^{**}$
二次项	3	86.85	28.95	142.69	$< 0.0001^{**}$	交互项	3	0.57	0.19	0.92	0.4963
模型	9	361.92	40.21	198.20	$< 0.0001^{**}$	残差	5	1.01	0.20	-	-
失拟检验	3	0.58	0.19	0.88	0.5699	纯误差	2	0.44	0.22	-	-

由表 4 得到的回归方程为: $Y = -6.6080 + 5.1701X_1 + 0.4555X_2 + 3.2154X_3 - 0.1935X_1^2 - 0.0101X_1X_2 + 0.0326X_1X_3 - 0.0039X_2^2 - 0.0442X_2X_3 - 0.5403X_3^2$, 复数相关系数为 $r = 0.9961$.

表 4 回归方程中各系数的估计值

Tab.4 Estimated values of parameter in regression equation

参数	参数估计	标准误差	t 值	P 值	参数	参数估计	标准误差	t 值	P 值
X_1	5.170 1	0.277 0	18.66	< 0.000 1* *	X_2	0.455 5	0.397 4	1.15	0.303 5
X_3	3.215 4	1.385 3	2.32	0.068 0	X_1X_2	- 0.010 1	0.009 0	- 1.12	0.312 3
X_1X_3	0.032 6	0.045 0	0.72	0.501 8	X_2X_3	- 0.044 2	0.045 0	- 0.98	0.371 2
X_1X_1	- 0.193 5	0.009 4	- 20.64	< 0.000 1* *	X_2X_2	- 0.003 9	0.009 4	- 0.41	0.695 7
X_3X_3	- 0.540 3	0.234 4	- 2.30	0.069 3	常数项	- 6.608 0	4.837 3	- 1.37	0.230 2
R^2	0.997 2	R_{adj}^2	0.992 2						

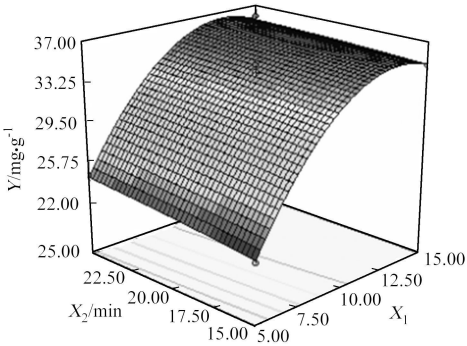
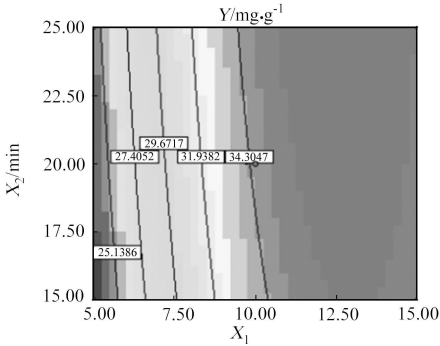


图 1 $Y = f_1(X_1, X_2)$ 等高线图及响应面图

Fig.1 Contour plot and response surface plot of $Y = f_1(X_1, X_2)$

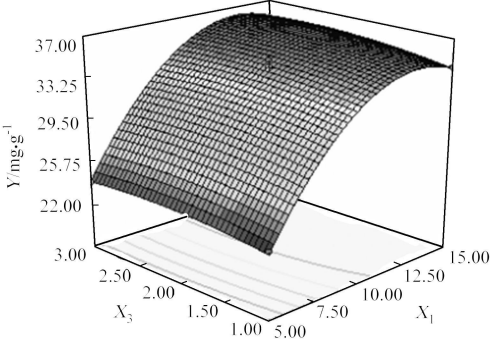
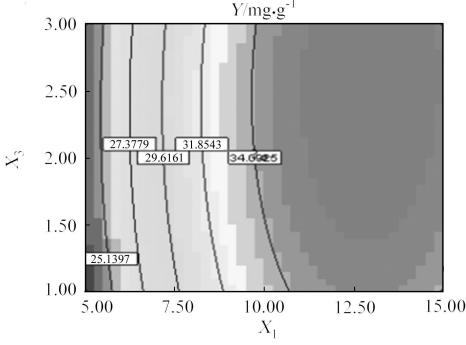


图 2 $Y = f_2(X_1, X_3)$ 等高线图及响应面图

Fig.2 Contour plot and response surface plot of $Y = f_2(X_1, X_3)$

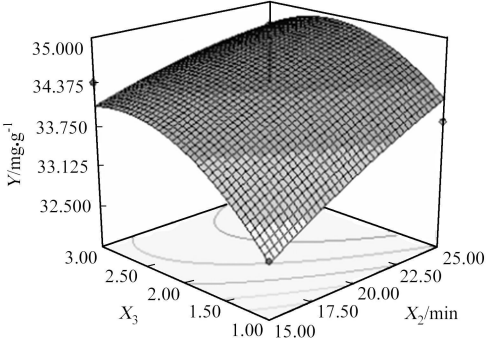
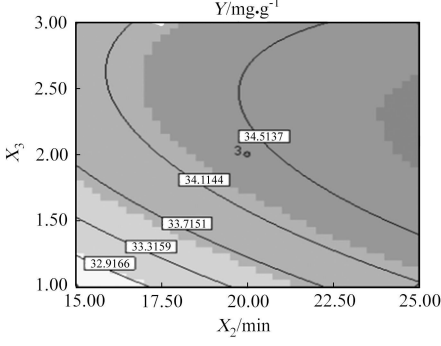


图 3 $Y = f_3(X_2, X_3)$ 等高线图及响应面图

Fig.3 Contour plot and response surface plot of $Y = f_3(X_2, X_3)$

由 SAS 8.2 分析得出的巴戟天多糖提取的最优条件为料液比 1: 12.76, 超声提取时间为 29.82 min, 超声提取次数为 2.14 次. 预期巴戟天多糖质量比最大值为 $36.602 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

2.3 响应面最优条件的验证实验

考虑到实际操作的便利, 将巴戟天多糖的超声提取条件修正为: 料液比为 1: 13, 超声提取时间为 30 min, 提取次数为 2 次. 结果表明, 在此条件下测得多糖的质量比为 $35.93 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 与 SAS 8.2 计算

得到的理论值 $36.60\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 非常接近. 可见, 采用响应面分析法优化的得到的超声提取工艺条件准确可靠, 具有实用价值.

3 结束语

本实验采用超声波水提法提取巴戟天多糖, 通过苯酚-硫酸分光光度法来测定其质量比, 并通过响应面设计对其提取条件进行优化. 实验旨在为更好地开发、利用巴戟天多糖提供实验基础.

参考文献:

[1] 郭素华, 王和鸣, 黄 涛. 南靖巴戟天多糖的含量测定[J]. 福建中医学院学报, 2006, 16(1): 32-33.

[2] 王卫平. 巴戟天化学成分和药理作用研究概况[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(7): 665.

[3] 陈小娟, 李爱华, 陈再智. 巴戟天多糖免疫药理研究[J]. 实用医学杂志, 1995, 11(9): 348-349.

[4] 陈 忠, 刘琳玲, 何猛雄, 等. 南药巴戟天多糖提取方法的比较研究[J]. 科技通报, 2004, 20(6): 546-548.

[5] 何传波, 陈 玲, 李 琳, 等. 巴戟天多糖的分级纯化及结构分析[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2005, 33(12): 29-51.

[6] 陈红红, 黄丽玫. 德庆等地巴戟天中蒽醌及多糖的含量测定[J]. 广东药学院学报, 2002, 18(2): 103-105.

[7] 陈 忠, 邓慧臻, 莫启林, 等. 不同产地巴戟天主要有效成分含量的测定及其护肝作用的研究[J]. 海南师范学院学报: 自然科学版, 2003, 16(4): 64-67.

[8] 彭爱红, 叶 鹏, 陈素艳, 等. 食用仙人掌黄酮的超声提取条件及其抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 527-530.

[9] LEE W C, YUSOF S, HAMID N S A, et al. Optimizing conditions for hot water extraction of banana juice using response surface methodology (SRM) [J]. Journal of Food Engineering, 2006, 75 (4): 473-479.

Optimizing Ultrasound-Assisted Extraction Conditions by Response Surface Method for Extracting Polysaccharides of Radix Morindae Officinalis

CHEN Su-yan, PENG Ai-hong,
WU Sheng-shan, HUANG Zhi-yong

(College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The optimization of ultrasound-assisted extraction conditions by response surface method for extracting Polysaccharides of radix morindae officinalis was investigated. Based on the Box-Behnken central composite design principles, the method of response surface with three factors and three levels was adopted. The experimental data were analyzed by the RSM softwares of SAS 8.2 and Design-Expert 7.1.1. It was found that the optimum extraction conditions were 1: 13 (g: mL) of the solid to liquid ratio and two times of the ultrasonic extraction with each of 30 min. Under the optimum conditions, the content of the polysaccharides of radix morindae officinalis was $35.93\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

Keywords: radix morindae officinalis; polysaccharides; ultrasound-assisted extraction; response surface method

(责任编辑: 黄仲一)