

响应面法优化黑果枸杞酒渣多糖精制工艺

马玉婷, 李 进*, 张志怡, 伍秀瑜

(1.新疆师范大学生命科学与化学学院, 新疆 乌鲁木齐 830054;

2.新疆师范大学 新疆珍稀濒危物种保护生物学实验室, 新疆 乌鲁木齐 830054)

摘 要:在单因素试验基础上, 利用响应面法的 BBD 组合设计, 对大孔树脂精制黑果枸杞酒渣多糖工艺参数进行优化分析。结果显示: AB-8 树脂具有较好的吸附能力, 最佳吸附条件为上样液 pH9、质量浓度 1g/L、流速 1mL/min、树脂径高比 1:15, 在此条件下吸附率为 92.87%; 最佳解吸条件为洗脱液 NaCl 溶液 pH9、浓度 0.25mol/L、流速 1mL/min、用量 5BV。将洗脱液浓缩, 真空干燥即得黑果枸杞酒渣精制多糖, 多糖含量为 67.13%。

关键词:黑果枸杞酒渣; 多糖; 响应面法; 精制工艺

Optimization of Purification Process for Crude Polysaccharides Extracted from *Lycium ruthenicum* Murr. Wine Lees by Response Surface Methodology

MA Yu-ting, LI Jin*, ZHANG Zhi-yi, WU Xiu-yu

(1. College of Life Sciences and Chemistry, Xinjiang Normal University, Ürümqi 830054, China; 2. Key Laboratory of Rare and Endangered Species Conservation Biology in Xinjiang, Xinjiang Normal University, Ürümqi 830054, China)

Abstract On the basis of one-factor-at-a-time experiments, Box-Behnken experimental design and response surface methodology were used to optimize process parameters for the crude polysaccharides extracted from *Lycium ruthenicum* Murr. wine lees by macroporous resin adsorption. The results indicated that AB-8 resin was the best adsorbent for polysaccharide adsorption among 5 types of macroporous tested. The optimal adsorption conditions, resulting in the highest adsorption rate of 92.87%, were pH 9, sample concentration 1 g/L, sample loading flow rate 1 mL/min, and resin diameter-to-height ratio 1:15. The optimal desorption conditions were 0.25 mol/L NaCl solution at pH 9 as desorption solvent at a flow rate of 1 mL/min and a dose of 5 BV. After the pooled eluate was condensed and vacuum dried, a purified product containing 67.13% polysaccharides was obtained.

Key words: *Lycium ruthenicum* Murr. wine lees; polysaccharide; response surface methodology (RSM); purification

中图分类号: Q946.8

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)06-0037-07

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr.)为茄科(Solanaceae)枸杞属(*Lycium* L.)的多年生灌木植物, 浆果球形, 成熟后成紫黑色, 顶端略凹陷, 花果期 7~9 月^[1]。黑果枸杞与宁夏枸杞有着相同的有效成分。经测定表明, 黑果枸杞果实含一定量的人体必需脂肪酸、生物碱、酚类、蛋白质、VB₁、VB₂和 VC, 并含有 18 种人体必需的氨基酸, 其中天冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸和脯氨酸的含量较高, 但多数呈游离状态, 约占氨基酸总量的 50%, 有利于人体直接吸收^[2]。同时果实中所含的微量元素也很丰富, 除常量元素 Na、K、Mg、Ca、Fe 之外, 还含有一定量的微量元素 Mn、Sr、Se、Zn、

Cr、Cu 等。最有意义的是黑果枸杞含有较多的还原糖和色素, 经测定其糖含量为 6.9%, 高于宁夏枸杞, 具有深远的开发潜力^[3-4]。

近些年来发现多糖具有较高的药用价值, 具有多种生物活性, 是理想的免疫增强剂, 能激活免疫细胞、提高免疫功能, 还能够促进 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、LAK 细胞、TD 细胞等免疫细胞的功能。作为非细胞毒物质, 多糖对正常细胞无毒副作用。在抗肿瘤、抗病毒、抗衰老等药物研究中, 多糖类药物的研制已成为当今世界新药研究的热点^[5-10]。

目前, 对黑果枸杞果酒研究较多, 但对其酒渣分

收稿日期: 2011-03-18

基金项目: 新疆维吾尔自治区科技支疆项目(200991240)

作者简介: 马玉婷(1985—), 女, 硕士研究生, 主要从事植物资源研究。E-mail: mayuting1109@sina.cn

* 通信作者: 李进(1969—), 男, 副教授, 博士, 主要从事植物生理生态和资源利用研究。E-mail: xjcjlj4@yahoo.com.cn

离纯化多糖研究尚未见文献。资料显示,新疆黑果枸杞将投入生产制酒,根据经验,大多数酒厂是将枸杞发酵后的酒渣做为动物的饲料,有的甚至当作废品扔掉,没有充分利用。而果渣中存在大量的果皮残渣(含有大量的多糖),如能将酒厂中黑果枸杞发酵后的酒渣回收再利用,从简便、易行的方法中提取多糖,用于食品、化妆品、医药等领域,不仅能提高枸杞酒渣的利用价值,变废为宝,还能为工厂、企业节省成本。

本实验主要研究大孔吸附树脂对黑果枸杞酒渣多糖的精制工艺条件,利用响应面法的BBD试验组合设计,考察影响多糖精制的因素,筛选出一条纯化黑果枸杞酒渣多糖的最优技术路线。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黑果枸杞酒发酵结束后分离的黑果枸杞酒渣,并已提取过花色苷。低温干燥,置干燥器中备用。黑果枸杞成熟果实采于新疆博湖开都河流域。NKA-9、D3520、AB-8、X-5、S-8大孔吸附树脂 南开大学化工厂。所用试剂均为分析纯。

UV-2800型紫外-可见分光光度计 上海龙尼柯仪器有限公司; ZK-82A型真空干燥箱 上海实验仪器总厂; SHZ-III循环水真空泵 上海市沪西仪器厂; RE-52型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; DSZH-300恒温振荡器 江苏太仓实验设备厂; FA1104N电子天平 上海精密科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 黑果枸杞酒渣粗多糖的制备

取已提取过花色苷的黑果枸杞酒渣,以蒸馏水为浸提剂,料液比1:20,于90℃提取60min,提取3次,合并提取液,减压浓缩,双氧水氧化法脱色,Sevag法除蛋白质,乙醇沉淀离心,乙醇洗3次、丙酮洗3次,干燥得粗多糖,备用^[11]。

1.2.2 多糖含量测定

使用苯酚-硫酸法^[4]。

标准曲线制作:分别取100μg/mL的葡萄糖标准溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL,各用蒸馏水补至1.0mL,然后加入6%苯酚1.0mL,浓H₂SO₄ 5.0mL,摇匀静置10min,在25~30℃水浴中放置20min,于490nm波长处测吸光度,以同样处理的蒸馏水为空白,进行比色,横坐标为葡萄糖含量、纵坐标为吸光度,得标准曲线: $Y = 0.0521X - 0.0062$, $R^2 = 0.9989$ 。

样品含量的测定:准确称取5mg干燥的样品多糖定容至100mL容量瓶中,配成50μg/mL的糖溶液。按标准曲线制作的操作方法显色,测吸光度,根据标准曲

线计算含量。

1.2.3 大孔树脂的预处理

树脂用95%乙醇充分浸泡24h,然后用无水乙醇洗涤树脂至添加水无白色浑浊,再用蒸馏水洗至无醇味。最后转入酸碱处理,即用一定量的5% HCl溶液浸泡3h后用蒸馏水洗至pH值为中性,接着用相同量的5% NaOH溶液浸泡3h后用蒸馏水洗至中性^[12]。

1.2.4 树脂的选择

通过测定静态时大孔树脂对黑果枸杞酒渣多糖的吸附率,来考察树脂对多糖的吸附容量,从而选择合适的树脂纯化多糖。选用了5种不同的树脂,即D3520、NKA-9、X-5、S-8和AB-8树脂,分别置于多糖原液中,恒温37℃,振荡24h,利用分光光度计分别测定吸附前后样品多糖的吸光度,计算各树脂的静态吸附率。

1.2.5 大孔树脂对黑果枸杞酒渣多糖的动态吸附、解吸附实验

由于静态吸附、解吸附与实际树脂精制有一定的差异,实际树脂精制是一个动态过程,所以有必要进行动态吸附、解吸附考察。对通过静态试验筛选出的理想树脂湿法装柱。分别对影响吸附效果的上样液pH值、质量浓度、流速及树脂径高比进行单因素试验,收集流出液,测定吸光度,计算吸附率,确定最佳工艺条件。在单因素考察基础上,利用响应面法确定影响水平^[13-15],根据Box-Behnken的中心组合试验设计,采用三因素三水平进行试验,优化黑果枸杞酒渣多糖精制的最佳吸附条件。动态吸附响应面试验因素、水平见表1。

表1 大孔树脂对黑果枸杞酒渣多糖动态吸附响应面试验因素水平
Table 1 Factors and their levels tested in the response surface analysis for optimizing polysaccharide dynamic adsorption

因素	编码	水平		
		-1	0	1
上样液质量浓度/(g/L)	X ₁	1	2	3
上样液流速/(mL/min)	X ₂	1	3	5
径高比	X ₃	1:10	1:12.5	1:15

利用所选最佳吸附条件,使树脂吸附多糖,再用乙醇做洗脱剂进行解吸附试验,测定吸光度,进行洗脱液pH值、浓度、流速、用量等单因素试验。在单因素考察基础上,利用响应面法确定影响水平,根据Box-Behnken中心组合试验设计,采用三因素三水平进行响应面试验,筛选黑果枸杞酒渣多糖精制的最佳解吸附条件。解吸附响应面试验设计见表2。

各试验重复3次,取平均值。采用SPSS 17.0软件进行数据处理。

表2 大孔树脂对黑果枸杞酒渣多糖的动态解吸附
响应面试验因素水平

Table 2 Factors and their levels tested in the response surface analysis for optimizing polysaccharide dynamic desorption

因素	编码	水平		
		-1	0	1
洗脱液浓度/(mol/L)	X_1	1	3	5
洗脱液用量/BV	X_2	3	4	5
洗脱液流速/(mL/min)	X_3	0.15	0.2	0.25

2 结果与分析

2.1 树脂的选择

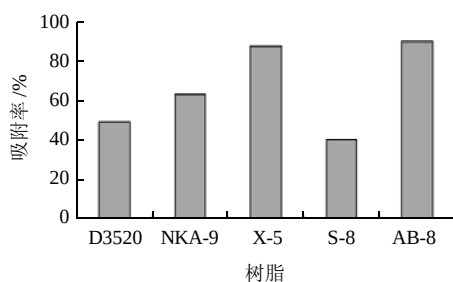


图1 不同树脂对多糖的吸附能力

Fig.1 Comparison of adsorption capacity of different resins towards polysaccharides

由图1可知, AB-8和X-5对黑果枸杞酒渣多糖的吸附率较高, 即对多糖的吸附能力较强, 其中AB-8的吸附效果最佳。

2.2 AB-8大孔树脂对黑果枸杞酒渣多糖的动态吸附条件

2.2.1 上样液pH值的选择

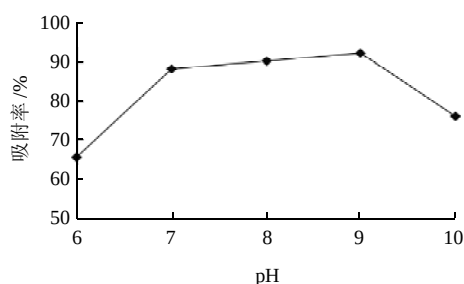


图2 上样液pH值对吸附率的影响

Fig.2 Effect of sample pH on the adsorption rate of polysaccharides

配制pH值分别为6、7、8、9、10, 质量浓度均为0.1g/L的黑果枸杞酒渣多糖溶液, 固定树脂径高比, 并控制一定流速。由图2可以看出, 随着pH值的升高, 其吸附率也升高, 到pH9时, 吸附率最大。pH10时吸附率开始下降, 这是由于树脂本身工作性质决定的。因此选择pH9为最佳吸附pH值。

2.2.2 上样液质量浓度的选择

配制质量浓度为0.5、1.0、2.0、3.0g/L的黑果枸杞酒渣多糖溶液, 固定pH值、树脂径高比, 并控制一定流速。由图3可以看出, 随着质量浓度的增加, 多糖吸附率也增加, 上样液质量浓度为1g/L时树脂吸附率最大。但质量浓度过大, 会堵塞树脂, 影响吸附, 所以确定1g/L为上样液合适质量浓度。

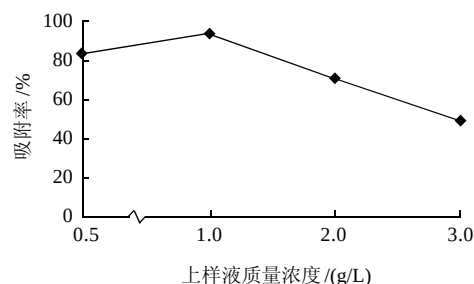


图3 上样液质量浓度对吸附率的影响

Fig.3 Effect of sample concentration on the adsorption rate of polysaccharides

2.2.3 流速的选择

取一定pH值和质量浓度的黑果枸杞酒渣多糖溶液上柱, 控制流速分别为1.0、3.0、5.0、7.0mL/min, 收集流出液, 测定吸光度, 计算吸附率。由图4可知, 上样液流速1.0mL/min时, 树脂的吸附率最大。随着流速的增加, 多糖的泄漏量增加, 所以确定1.0mL/min为上样液合适流速。

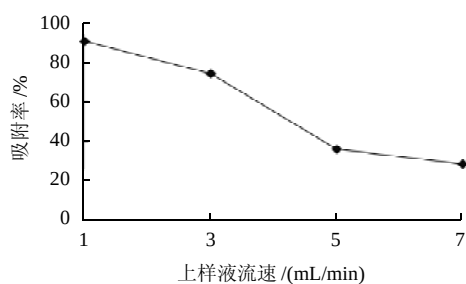


图4 上样液流速对吸附率的影响

Fig.4 Effect of sampling flow rate on the adsorption rate of polysaccharides

2.2.4 树脂径高比的选择

取一定pH值和质量浓度的黑果枸杞酒渣多糖溶液分别流经径高比为1:5、1:8、1:10、1:13、1:15的大孔树脂, 控制流速, 收集流出液, 测定吸光度, 计算吸附率。由图5可知, 树脂径高比和吸附率呈良好的线性关系, 随着径高比的增加, 吸附率也不断增大。从节省成本和吸附率角度考虑, 确定1:13为合适树脂径高比。

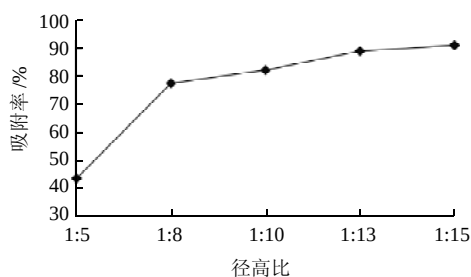


图5 径高比对吸附的影响

Fig.5 Effect of column diameter-to-height ratio on the adsorption rate of polysaccharides

2.2.5 响应面法优化黑果枸杞酒渣多糖吸附工艺条件

根据吸附单因素试验, 固定上样液 pH9, 考察上样液质量浓度、流速树脂径高比对黑果枸杞酒渣多糖吸附效果的综合影响。试验结果见表 3、4。

表3 黑果枸杞酒渣多糖吸附响应面试验设计与结果

Table 3 Experimental design and results for the response surface analysis for optimizing polysaccharide dynamic adsorption

试验号	X_1	X_2	X_3	吸附率/%
1	0	0	0	87.85
2	0	-1	1	59.39
3	-1	0	-1	35.72
4	0	0	0	78.32
5	1	0	-1	62.71
6	-1	-1	0	55.64
7	0	1	-1	71.72
8	-1	1	0	87.2
9	1	-1	0	58.25
10	-1	0	1	51.83
11	0	0	0	55.68
12	0	1	1	60.75
13	0	-1	-1	90.07
14	0	0	0	49.54
15	1	1	0	57.75

由表 3、4 可知, 多糖吸附率对上样液质量浓度、流速和树脂径高比的二次多项回归方程为:

$$Y = 57.36 + 5.98X_1 - 10.5X_2 + 9.89X_3 + 5.18X_1X_2 - 0.95X_1X_3 - 4.79X_2X_3 + 5.10X_1^2 + 15.45X_2^2 - 7.79X_3^2$$

经方差分析可知, 该模型显著, 决定系数 $R^2 = 0.9880\%$, 表明响应值多糖吸附率实际值与预测值之间具有良好的拟合度, 因此该模型可用于预测响应值多糖吸附率的实际情况, 可利用该方程确定黑果枸杞酒渣多糖吸附的最佳条件。各试验因素对响应值的影响不是呈简单的线性关系, 因素 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_2^2 、 X_3^2 对多糖吸附率有显著影响, 因素 X_1X_2 对黑果枸杞酒渣多糖吸附率的交互影响显著。

表4 回归方程的方差分析

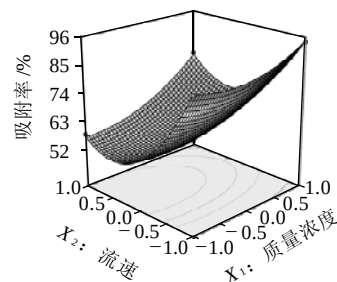
Table 4 Analysis of variance for the fitted regression equation for the adsorption rate of polysaccharides

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	3411.09	9	379.01	45.59	0.0003	*
X_1	286.32	1	286.32	34.44	0.002	*
X_2	881.37	1	881.37	106.02	0.001	*
X_3	782.69	1	782.69	94.15	0.0002	*
X_1X_2	107.33	1	107.33	12.91	0.0157	
X_1X_3	3.57	1	3.57	0.43	0.5411	
X_2X_3	91.68	1	91.68	11.03	0.210	
X_1^2	95.96	1	95.96	11.54	0.193	
X_2^2	881.41	1	881.41	106.03	0.0001	*
X_3^2	224.04	1	224.04	26.95	0.0035	*
残差	41.57	5	8.31	0.94		
失拟	24.29	3	8.10		0.5532	
纯误差	17.27	2	8.64			
总和	3452.65	14				

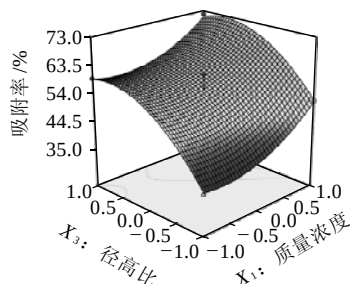
注: *, 影响显著, $P < 0.05$; **, 影响极显著, $P < 0.0001$ 。表 6 同。

2.2.6 吸附各因素间的交互作用

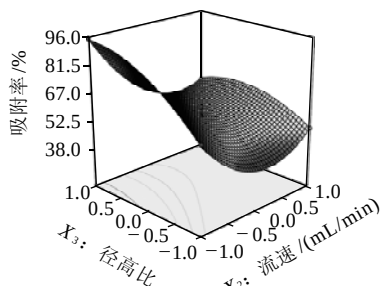
根据以上回归方程, 利用 Design-Expert 软件作不同吸附因素的响应面分析图。



a. 上样液质量浓度和上样液流速



b. 上样液质量浓度和树脂径高比



c. 上样液流速和树脂径高比

固定水平: 上样液质量浓度 2g/L; 上样液流速 3mL/min; 径高比 1:12.5。

图6 各两因素交互作用对吸附影响的响应面图

Fig.6 Response surface plots for the effects of three operating parameters on the adsorption rate of polysaccharides

从图6可以直观看出,各因素交互作用对响应值的影响,以确定最佳因素水平范围。根据以上Box-Behnken的中心组合试验,对回归模型取一阶偏导数等于零,可以得到曲面的最大点,求导方程,对应真实值为 $X_1 = 1\text{g/L}$ 、 $X_2 = 1\text{mL/min}$ 、 $X_3 = 1:14.99$ 。考虑到实际操作的便利,将黑果枸杞酒渣多糖吸附的最佳工艺条件修正为上样液质量浓度 1g/L 、流速 1mL/min 、树脂径高比 $1:15$,此条件下多糖的吸附率为 95.43% 。

2.3 AB-8大孔树脂对黑果枸杞酒渣多糖的动态解吸附条件

用上述确定的上样液条件,使其流经大孔树脂柱,让大孔树脂吸附多糖,分别考察洗脱液浓度、pH值、流速、用量对黑果枸杞酒渣多糖解吸附的影响。

2.3.1 洗脱液pH值的选择

用pH值分别为6、7、8、9、10的 0.2mol/L NaCl溶液4倍柱床体积进行洗脱,控制流速 3.0mL/min 。由图7可以看出,随着pH的增大,吸光度也随之增高,pH9时,多糖收集液的吸光度最高,因此选择pH9为洗脱液的最佳pH值。

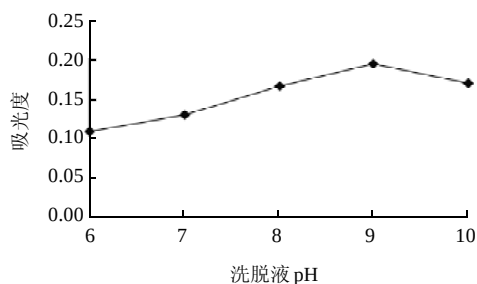


图7 洗脱液pH值对洗脱的影响

Fig.7 Effect of eluent pH on the desorption rate of polysaccharides

2.3.2 洗脱液流速的选择

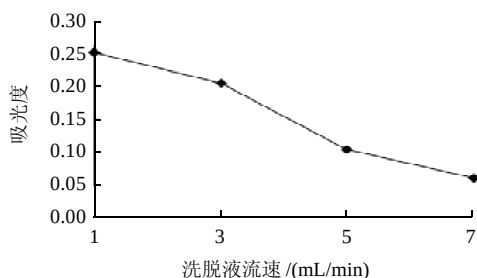


图8 洗脱液流速对洗脱的影响

Fig.8 Effect of eluent flow rate on the desorption rate of polysaccharides

用pH9的4倍体积 0.2mol/L NaCl溶液进行洗脱,控制流速分别为 1.0 、 3.0 、 5.0 、 7.0mL/min 。由图8可以

看出,随着流速的增加,多糖的流出量逐渐降低,流速过快时,洗脱液与多糖的接触机会变小,所以造成流速增加但多糖的量减少,在洗脱液流速为 1.0mL/min 时,多糖的吸光度最高,所以确定此流速为洗脱液的合适流速。

2.3.3 洗脱液浓度的选择

用pH9的4倍体积 0 、 0.1 、 0.15 、 0.2 、 0.25 、 0.3mol/L 的NaCl溶液进行洗脱,控制流速为 3.0mL/min 。由图9可以看出,以蒸馏水为洗脱剂时,解吸效果不如NaCl溶液。在NaCl浓度为 0.2mol/L 时,洗脱效果最好,多糖的吸光度最高,过高的盐浓度,会降低树脂的吸附率。所以确定 0.2mol/L 为洗脱液的合适浓度。

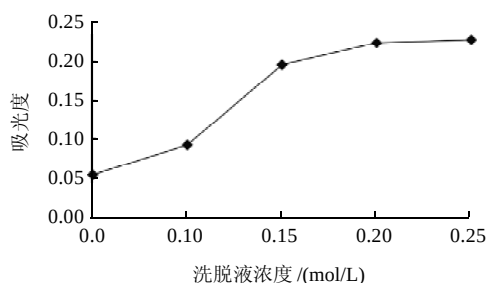


图9 不同洗脱液浓度对洗脱的影响

Fig.9 Effect of eluent concentration on the desorption rate of polysaccharides

2.3.4 洗脱液用量的选择

用 1 、 3 、 5 、 7BV (倍柱床体积)pH9的 0.2mol/L NaCl溶液进行洗脱,控制流速 3.0mL/min ,收集流出液,测定吸光度。由图10可以看出,随着NaCl用量的增加,吸光度增加幅度不大。综合考虑,在充分洗脱掉所吸附物质的前提下,尽量节省洗脱剂的用量,选用 $3 \sim 5\text{BV}$ 的NaCl溶液洗脱。

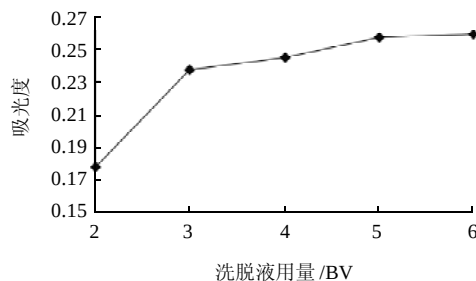


图10 洗脱液用量对洗脱的影响

Fig.10 Effect of eluent amount on the desorption rate of polysaccharides

2.3.5 响应面法优化黑果枸杞酒渣多糖解吸附工艺条件
根据解吸附单因素试验结果,固定洗脱液pH9,采

用响应面法试验考察洗脱液浓度、流速及用量对黑果枸杞酒渣多糖解吸效果的综合影响。试验结果见表5、6。

表5 黑果枸杞酒渣多糖解吸响应面法试验设计与结果

Table 5 Experimental design and results for the response surface analysis for optimizing polysaccharide dynamic desorption

试验号	X_1	X_2	X_3	吸光度
1	-1	-1	0	0.243
2	0	1	-1	0.253
3	0	0	0	0.203
4	0	0	0	0.208
5	0	0	0	0.204
6	0	1	1	0.209
7	0	-1	1	0.224
8	1	1	0	0.404
9	-1	0	-1	0.119
10	1	0	-1	0.443
11	0	-1	-1	0.242
12	1	-1	1	0.129
13	-1	1	0	0.443
14	-1	-1	0	0.253
15	1	1	-1	0.282

表6 回归方程的方差分析

Table 6 Analysis of variance for the fitted regression equation for the desorption rate of polysaccharides

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	0.1	9	0.11	130.36	< 0.0001	**
X_1	0.056	1	0.056	638.13	< 0.0001	**
X_2	2.000×10^{-6}	1	2.000×10^{-6}	0.023	0.886	
X_3	9.245×10^{-4}	1	9.245×10^{-4}	10.51	0.02229	*
X_1X_2	0.014	1	0.014	158.35	< 0.0001	**
X_1X_3	0.021	1	0.021	242.41	< 0.0001	**
X_2X_3	1.690×10^{-4}	1	1.690×10^{-4}	1.92	0.2243	
X_1^2	9.825×10^{-3}	1	9.825×10^{-3}	111.73	0.0001	*
X_2^2	2.720×10^{-4}	1	2.720×10^{-4}	3.09	0.1389	
X_3^2	1.345×10^{-3}	1	1.345×10^{-3}	15.29	0.0113	*
残差	4.397×10^{-4}	5	4.397×10^{-4}			
失拟	4.190×10^{-4}	3	4.190×10^{-4}	13.52	0.0697	
纯误差	2.067×10^{-5}	4	2.067×10^{-5}			
总和	0.10	14				

由表5、6可知, 多糖解吸吸光度对洗脱液浓度、流速和用量的二次多项回归方程:

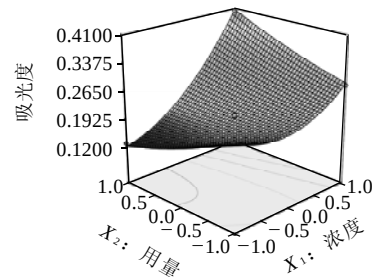
$$Y = 0.2 + 0.084X_1 + 0.005X_2 - 0.011X_3 + 0.059X_1X_2 - 0.073X_1X_3 - 0.0065X_2X_3 + 0.052X_1^2 + 0.0086X_2^2 + 0.019X_3^2$$

经方差分析可知, 该模型显著, 决定系数 $R^2 = 0.9958$, 表明响应值多糖吸光度实际值与预测值之间具有良好的拟合度, 因此该模型可用于预测响应值多糖解吸光度的实际情况, 可利用该方程确定黑果枸杞酒渣多糖解吸的最佳条件。各试验因素对响应值的影响不是呈简单的线性关系, 因素 X_1 、 X_1X_3 、 X_1X_2 对多糖解吸吸光度

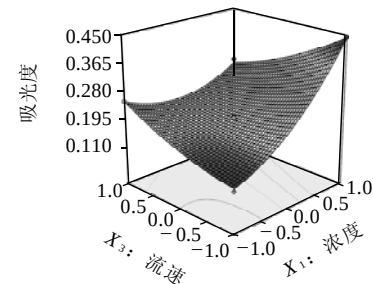
有极显著影响, 因素 X_3 、 X_1^2 、 X_3^2 对多糖解吸吸光度有显著影响。

2.3.6 解吸附各因素间的交互作用

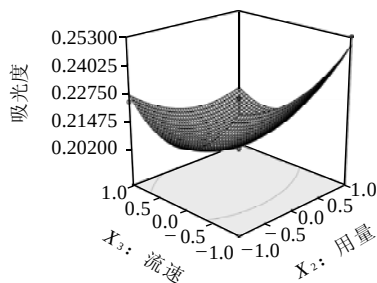
根据以上回归方程, 利用 Design-Expert 软件做不同因素的响应面分析图。



a. 洗脱液浓度和洗脱液用量



b. 洗脱液浓度和洗脱液流速



c. 洗脱液用量和洗脱液流速

固定水平: 洗脱液流速 3 mL/min; 洗脱液用量 4 BV; 洗脱液浓度 0.2 mol/L。

图11 各两因素交互作用对解吸附影响的响应面图

Fig.11 Response surface plots for the effects of three operating parameters on the desorption rate of polysaccharides

由图11a可知, 当洗脱液浓度 0.25 mol/L、洗脱液用量 5 BV、洗脱液流速 3 mL/min 时, 吸光度最高。由图11b可知, 洗脱液浓度 0.25 mol/L、用量 4 BV、流速 1 mL/min 时, 多糖解吸吸光度表现出最高值。由图11c可知, 吸光度在洗脱液浓度 0.2 mol/L、用量 5 BV、流速为 1 mL/min 时达到最大。

根据以上 Box-Behnken 的中心组合试验, 对回归模型取一阶偏导数等于零, 可以得到曲面的最大点, 求导方程, 对应真实值为 $X_1 = 0.25 \text{ mol/L}$ 、 $X_2 = 5 \text{ BV}$ 、 $X_3 =$

1 mL/min。因此,黑果枸杞酒渣多糖解吸附的最佳工艺条件为洗脱液浓度 0.25 mol/L、洗脱液用量 5BV、洗脱液流速 1 mL/min,此条件下黑果枸杞酒渣多糖解吸附的吸光度为 0.517。

2.4 验证实验

进行 3 次验证实验,实验所得黑果枸杞酒渣多糖的吸附率平均值为 92.87%,解吸附吸光度为 0.502,分别与预测值 95.43%、0.517 非常接近,说明采用响应面法优化得到的工艺条件可靠。制得黑果枸杞酒渣多糖含量达 67.13%。

3 结 论

应用响应面分析法优化了黑果枸杞酒渣多糖的精制工艺,AB-8 树脂具有较好的吸附能力,最佳吸附条件为上样液 pH9、质量浓度 1 g/L、流速 1 mL/min、树脂径高比 1:15,在此条件下,吸附率为 92.87%;最佳解吸附条件为洗脱液 NaCl 溶液 pH9、浓度 0.25 mol/L、流速 1 mL/min、用量 5BV,多糖含量为 67.13%。

参考文献:

- [1] 白红进,汪河滨,褚志强,等.不同方法提取黑果枸杞多糖的研究[J].食品工业科技,2007,28(3): 145-146.
- [2] 甘青梅,骆桂法,李普衍,等.藏药黑果枸杞开发利用的研究[J].青海科技,1997,4(1): 17-19.
- [3] 甘青梅,左振常,昌也平,等.藏药“旁玛”的考证及生药学研究[J].中国民族民间医药杂志,1995(12): 31-33.
- [4] 甘青梅.浅述藏药的研究[J].中草药,2001,32(4): 371-373.
- [5] 徐世忱,李广全,孙莹.北五味子粗多糖的提取与成分分析[J].吉林医药工业,1992(4): 15-18.
- [6] 李晓光,高勤,翁文,等.五味子多糖的研究概况[J].时珍国医国药,2006(6): 931-932.
- [7] 孟宪军,秦琴,高晓旭.五味子多糖的分离纯化及清除自由基研究[J].食品科学,2008,29(1): 91-94.
- [8] 陈文静,季宇彬.五味子多糖药理作用的研究进展[J].食品与药品,2007,9(12): 66-67.
- [9] 王克夷.糖类研究的进展和前沿[J].生命的化学,1994,14(5): 4-8.
- [10] 方一苇.具有药理活性多糖的研究现状[J].分析化学,1994,22(9): 955-960.
- [11] 汪建红,陈晓琴,张蔚佼.黑果枸杞果实多糖降血糖生物功效及其机制研究[J].食品科学,2009,30(5): 244-248.
- [12] 刘清.大麦多酚化合物的提取、纯化及功能性质研究[D].无锡:江南大学,2007.
- [13] 王明艳,杨凡,李艳,等.响应面法优化百部多糖提取条件研究[J].食品科学,2009,30(6): 80-83.
- [14] GUO Lei, CHEN Yu. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* by response surface methodology[J]. Food Science, 2010, 31(16): 117-121.
- [15] 李先佳.大孔吸附树脂纯化无花果总多糖工艺[J].食品研究与开发,2010,31(5): 65-67.