

超声波辅助提取胖大海多糖工艺优化

刘 强¹, 吴 艳^{2,*}, 吴金鸿², 艾维娜³

(1.杭州娃哈哈集团有限公司, 浙江 杭州 310016;

2.上海交通大学农业与生物学院, 陆伯勋食品安全研究中心, 上海 200240;

3.江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 研究超声波辅助提取胖大海多糖的最佳工艺条件。采用响应面分析法, 以超声波功率、超声提取时间及料水比为自变量, 多糖得率为响应值, 做三因素三水平响应面回归分析。胖大海多糖超声波辅助提取的最佳工艺条件为超声波功率210W、超声提取时间28min、料水比1:63(g/mL), 在此条件下多糖得率28.45%, 多糖含量60.02%。超声波辅助法提取胖大海多糖的最佳条件稳定可行, 与微波辅助提取胖大海多糖相比, 可缩短提取时间, 减少料水比, 提高多糖得率和多糖含量。

关键词: 胖大海; 多糖; 超声波提取; 得率; 响应面分析

Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Polysaccharides from Boat-Fruited Sterculia Seeds

LIU Qiang¹, WU Yan^{2,*}, WU Jin-hong², AI Wei-na³

(1. Hangzhou Wahaha Group Co. Ltd., Hangzhou 310016, China;

2. Bor S. Luh Food Safety Research Center, School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China;

3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214036, China)

Abstract: To find optimal conditions for the ultrasonic-assisted extraction from polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds, ultrasonic power and extraction time and solid/solvent ratio were used as independent variables and polysaccharide yield was used as response function in a three-variable, three-level regression analysis. The optimum conditions for the extraction of polysaccharides were 210 W, 28 min and 1:63 (g/mL). Under these conditions, the yield and purity of crude extract were 28.45% and 60.02%, respectively. This ultrasonic-assisted extraction procedure was stable and applicable for the extraction of polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds. Compared with microwave-assisted extraction, this procedure required shorter time, saved water and provided increased crude extract yield and content.

Key words: boat-fruited sterculia seeds; polysaccharides; ultrasonic-assisted extraction; yield; response surface analysis

中图分类号: TQ929.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)20-099-05

胖大海(*Semen Sterculia lychnophora*)又名大海子、通大海、胡大海、大洞果、蓬大海等, 为梧桐科苹婆属植物(*Sterculia lychnophora* Hance)的干燥成熟种子, 是一种传统的清咽润喉的中药材, 也是卫生部公布第三批药食两宜的资源^[1]。由于受生长地域环境和气候的限制, 胖大海主要产于东南亚的热带地区, 以越南产的品质最佳, 我国不产, 故国内胖大海资源主要依靠从东南亚国家进口^[2]。胖大海始载于《本草纲目拾遗》, 性微寒、味甘淡。具有清热、润肺、利咽、解毒、润肠通便之功效。临床上应用较普遍, 主要用于治疗肺热声哑、干咳无痰、咽喉肿痛、慢性咽炎、头痛目赤及热结便秘等症^[3]。现代药理研究表

明, 胖大海的水浸液具有促进小肠蠕动、对细菌性痢疾的抑杀、抗炎及抑制草酸钙的结晶形成等功能^[4-6], 其中胖大海水溶性多糖是主要的活性成分之一。目前国内外对胖大海的研究较少, 仅限于做茶饮、甜点和含片等清咽润喉的保健品, 开发利用程度较低, 缺乏对其活性成分的系统研究和利用, 因此, 对胖大海多糖的研究势在必行, 本实验主要研究胖大海多糖的提取工艺。

近年来, 超声波辅助提取植物多糖技术因具有很多优点而得到广泛应用^[7-8], 如能明显降低提取温度、缩短提取时间、节约溶剂、提高多糖产率、便于产品纯化、对提取产物的结构和理化性质影响较少。目前采用

收稿日期: 2011-08-18

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(30900998)

作者简介: 刘强(1979—), 女, 工程师, 学士, 主要从事食品工程技术的应用研究。E-mail: pylq723@sohu.com

*通信作者: 吴艳(1977—), 女, 副研究员, 博士, 主要从事天然产物功能因子研究。E-mail: wuy@sjtu.edu.cn

超声波技术辅助提取胖大海多糖的研究尚鲜见报道,为保证胖大海多糖原有的结构和功能活性,本研究采用超声波辅助提取胖大海多糖的工艺,通过响应面分析优化确定最佳提取工艺参数,并与微波辅助提取工艺作比较,旨在为胖大海多糖的深度开发及应用提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

胖大海 江苏省无锡山禾药业股份有限公司;无水乙醇、浓硫酸、苯酚和葡萄糖等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SF-2000高速粉碎机 上海中药机械厂;KQ-250DE型台式数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;WFJ-2000型可见分光光度计 尤尼柯(上海)仪器有限公司;RE-52B旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;KLG-IV冷冻干燥机 中国科学院上海分院仪器厂;AB204-S电子分析天平 瑞士Mettler Toledo公司;85L型离心机 上海市实验仪器总厂。

1.3 方法

1.3.1 胖大海多糖的提取工艺

工艺流程:干燥胖大海→粉碎→脱脂→80%乙醇溶液浸提→超声波辅助水提取→离心→减压浓缩→乙醇沉淀→水溶→冷冻干燥→胖大海粗多糖。

胖大海预处理粉的制备:干燥胖大海粉碎成粒径约4目,采用索氏抽提法用乙醚对胖大海粉进行脱脂处理,然后将粉末晾干,用80%乙醇溶液浸提除去料粉中的单糖、低聚糖、多酚和甙类等小分子杂质,将料粉晾干待用。

准确称取20g预处理粉,水作溶剂,按照不同的超声波提取功率、不同超声提取时间以及不同料液比进行超声波辅助提取,将提取液离心,其残渣按照同样的超声提取条件重复提取1次,合并提取液,用旋转蒸发器真空浓缩,加多糖溶液体积4倍的95%乙醇沉淀出多糖,用无水乙醇、丙酮多次洗涤后,多糖再复溶入水,冷冻干燥即得胖大海粗多糖。

1.3.2 胖大海多糖得率和含量的测定

$$\text{粗多糖得率/\%} = \frac{\text{粗多糖的质量}}{\text{胖大海粉的质量}} \times 100$$

采用改良的苯酚-硫酸比色法测定多糖的含量^[9]。以葡萄糖为标准品制作标准曲线,其回归方程为葡萄糖质量浓度 $C/(\mu\text{g/mL}) = 210.21A_{490} - 0.85$, $R^2 = 0.9943$,称取一定量的粗多糖,加水定容,作为测试粗多糖中多糖含量的样品液。

1.3.3 胖大海多糖超声波辅助提取工艺的单因素试验

本研究以超声波提取功率、超声提取时间和料液比为因素,胖大海多糖得率为指标进行单因素试验。

1.3.4 胖大海多糖超声提取工艺响应面试验优化

在单因素试验的基础上,选取超声波提取功率、超声提取时间、料水比三因素作为自变量,以多糖得率(Y)为指标,采用SAS系统V8.0程序进行响应面分析^[10-14],对胖大海多糖的超声辅助水提工艺参数进行优化,依据单因素试验结果以及从节约资源和成本、保证多糖分子原有的结构和生物活性方面考虑,确定响应面试验因素水平见表1。

表1 胖大海多糖超声提取工艺优化响应面分析试验因素水平表
Table 1 Independent variables and their coded values tested in response surface analysis

水平	因素		
	x_1 超声功率/W	x_2 超声提取时间/min	x_3 料水比(g/mL)
-1	180	20	1:50
0	200	25	1:60
1	220	30	1:70

1.3.5 超声波辅助提取与微波辅助提取胖大海多糖的方法比较

按实验确定的超声波辅助提取优化条件进行胖大海多糖的提取,与文献[15]微波辅助提取胖大海多糖的实验结果进行比较。

2 结果与分析

2.1 胖大海多糖超声提取的单因素试验

2.1.1 超声波功率对胖大海多糖得率的影响

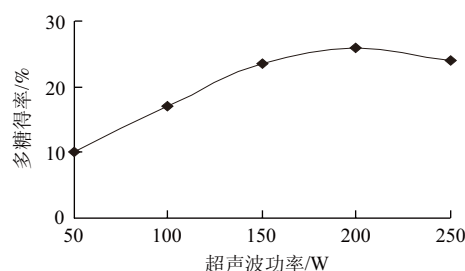


图1 超声波功率对胖大海多糖得率的影响
Fig.1 Effect of ultrasonic power on the extraction yield of polysaccharides

将胖大海预处理粉加水(料水比1:60),预热至50℃,分别在超声波功率为50、100、150、200、250W条件下提取25min,其他操作同1.3.1节,测定多糖得率,结果如图1所示。当超声波功率小于200W时多糖得率随着超声功率的增加而明显提高,原因可能是随着超声功率的增加,超声空化效应、高速射流以及机械剪切的搅拌作用等加强,有效地减少了水与粉末间的阻滞,细胞得到更加充分地破裂,加速了细胞中多糖分子在水中的溶出^[16];当超声

波功率大于200W时多糖得率略有下降,分析原因可能是功率过大引起局部溶液瞬时升温过热造成部分多糖分子链的断裂而降解。由此可确定多糖的超声波提取功率在200W较好。

2.1.2 超声提取时间对胖大海多糖得率的影响

将预处理过胖大海粉加水(料水比1:60),预热至50℃,在超声波功率为200W条件下分别提取5、15、25、35、45min,其他操作同1.3.1节,测定多糖得率,结果如图2所示。随着超声提取时间增加,多糖得率明显提高,说明超声波能在较短时间内破碎细胞,使位于细胞间和细胞壁的多糖释放出来。当超声提取时间超过25min后多糖得率反而略有下降。分析原因可能是超声波强有力的机械剪切长时间的作用使植物组织中大量的细胞进一步破裂,细胞内大量不溶物及黏性物质等混入提取液中,使溶液中杂质增多,黏度增大,从而增大了传质阻力,影响了多糖成分的溶出;另一方面可能是随着超声提取时间的延长,超声波较强的空化和机械振动使部分多糖大分子链断裂,其小分子的糖在醇沉处理过程中损失掉,从而降低了多糖的得率^[17]。由此可确定多糖的超声提取时间在25min为佳。

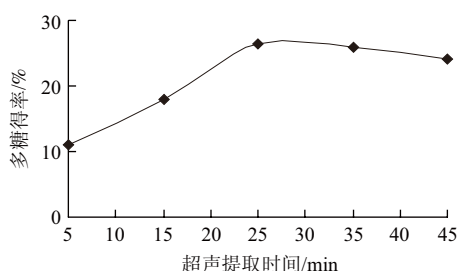


图2 超声提取时间对胖大海多糖得率的影响

Fig.2 Effect of extraction time on the extraction yield of polysaccharides

2.1.3 料水比对胖大海多糖得率的影响

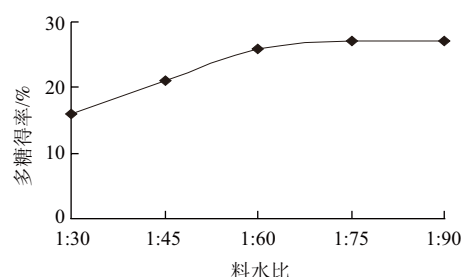


图3 料水比对胖大海多糖得率的影响

Fig.3 Effect of solid/solvent ratio on the extraction yield of polysaccharides

将预处理过胖大海粉按1:30、1:45、1:60、1:75、1:90(g/mL)比例加水,预热至50℃,在超声波功率200W条件下提取25min,其他操作同1.3.1节,测定多糖得率,结果如图3所示。随着溶剂体积的不断增大,多糖得率提

高,原因可能是超声波将坚硬的细胞壁有效破碎,在溶出有效成分的同时,溶出一些其他液质,而增加溶剂的比例,可有效降低溶液的黏度,有利于多糖分子的传质扩散。当溶剂体积大于1:60时,多糖得率增加不明显,趋向平缓,考虑到实际操作中溶液体积过大不利于后续的浓缩和醇沉,并且成本增加。由此可确定多糖的超声提取的料水比1:60为好。

2.2 胖大海多糖超声提取的响应面分析

2.2.1 响应面分析试验结果

表2 胖大海多糖超声提取工艺优化响应面分析试验设计及结果
Table 2 Experimental design and corresponding results for response surface analysis

试验号	X_1	X_2	X_3	Y 得率/%
1	1	-1	0	22.81
2	1	0	-1	21.56
3	1	0	1	25.21
4	1	1	0	27.10
5	0	-1	-1	17.25
6	0	-1	1	19.97
7	0	1	-1	21.11
8	0	1	1	26.55
9	-1	1	0	18.21
10	-1	0	1	17.78
11	-1	0	-1	13.33
12	-1	-1	0	16.03
13	0	0	0	26.68
14	0	0	0	27.10
15	0	0	0	26.91

注: $X_1 = (x_1 - 200)/20$; $X_2 = (x_2 - 25)/5$; $X_3 = (x_3 - 60)/10$ 。

根据Box-Behnken试验设计,共有15个试验点可分为两类:试验1~12是析因点,为自变量取值在各因素所构成的三维顶点;试验13~15是零点,为区域的中心点,中心试验重复3次,用以估计试验误差。以多糖的得率为响应值,通过对数据的二次多项回归拟合,获得各试验因素对响应值影响的回归方程如下:

$$Y = 26.90 + 3.92X_1 + 2.11X_2 + 2.03X_3 - 3.80X_1^2 + 0.53X_1X_2 - 2.05X_2^2 - 0.20X_1X_3 + 0.68X_2X_3 - 3.62X_3^2$$

表3 响应面回归方程的方差分析
Table 3 Analysis of variance for the fitted regression model

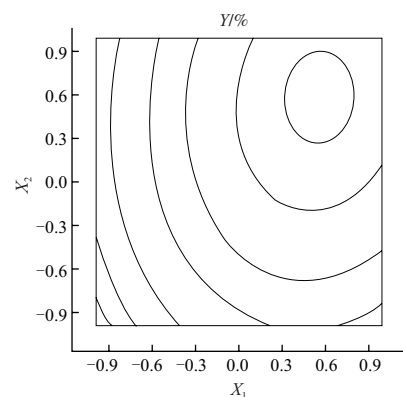
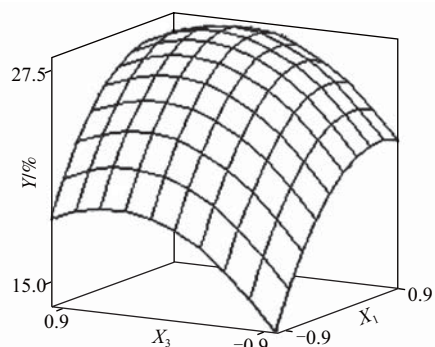
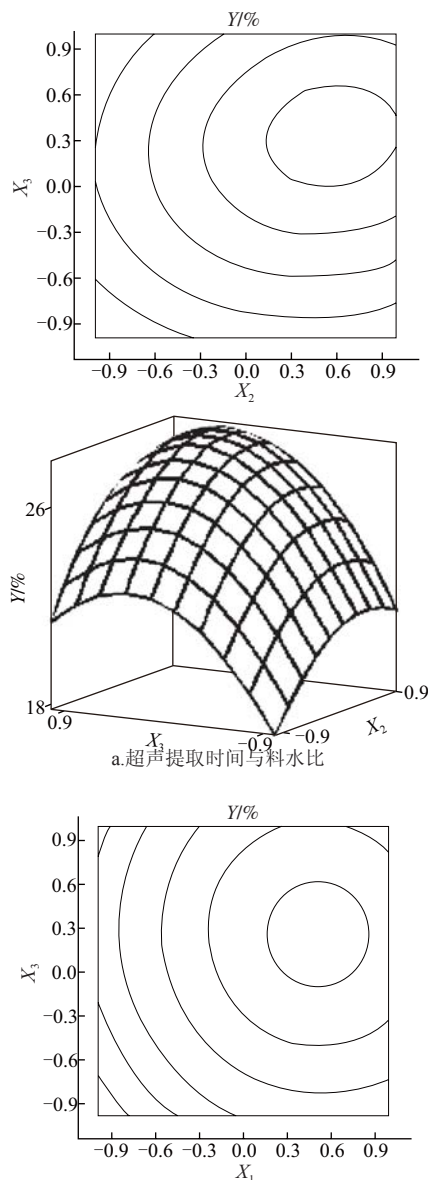
方差来源	自由度	平均平方和	F值	显著性
回归模型	9	0.9931	80.38	***
总误差项	5	0.0002		
一次项	3	0.638	155.00	**
二次项	3	0.344	83.61	*
交互项	3	0.010	2.53	
失拟项	3	0.657	14.85	
误差	2	0.044		

注:***. $P < 0.001$, 影响极显著性; **. $P < 0.01$, 影响高度显著性; *. $P < 0.05$, 影响显著。

由表3可知, 对于 $P=0.001$, 模型 F 值 $=80.38 > F_{0.001(9,5)}=27.24$, 表明在 $P=0.001$ 水平上, 方程的回归效果是极显著的, 其响应值与各试验因素之间存在显著的线性相关性。另外, 方程的多重相关系数 $R^2=0.9931$, 此值越接近1, 表明理论回归方程模型对实际条件拟合越好, 越适合用来分析胖大海多糖的超声波辅助水提取工艺。

对于 $P=0.01$, 回归方程一次项的 F 值 $=155.00 > F_{0.01(3,2)}=99.17$, 表明在 $P=0.01$ 的水平上, 一次项具有高度显著性, 二次项的 F 值 $=83.61 > F_{0.05(3,2)}=19.16$, 表明在 $P=0.05$ 水平上, 二次项具有显著性, 回归方程的交互项的 F 值 $=2.53$ 较小, 不具有显著性。这些充分表明响应值的变化相当复杂, 各个具体的试验因子对响应值多糖得率的影响不是简单的线性关系, 而是二次关系; 失拟项 F 值较小, 表明用该方程拟合3个参数与多糖得率之间的关系是可行的; 实验误差小, 故可用该回归方程代替实验真实点对实验结果进行分析。

2.2.2 各因素交互作用的响应面分析



固定水平: 超声功率200W; 超声提取时间25min; 料水比1:60(g/mL)。

图4 各两因素交互作用对多糖得率影响的响应面及等高线图
Fig.4 Contour plots and response surfaces showing the effects of every two independent variables on the extraction yield of polysaccharides

通过响应面分析图可以找到最佳参数以及各参数之间的相互作用, 其等值线图 and 响应面图见图4所示。

由图4可知, 等高线存在极值的条件在圆心处。比较3组响应面图可知, 三因素对胖大海多糖得率都有显著影响, 超声波功率(X_1)和超声提取时间(X_2)对指标的影响都高度显著, 表现为等高线更为陡峭; 料水比(X_3)次之, 表现为等高曲线较平滑, 说明后者对响应值影响较小。

2.2.3 最佳工艺条件的确定及验证实验

通过上述多元回归方程优化得出Box-Behnken试验的编码值分别为 $X_1=0.550$, $X_2=0.639$, $X_3=0.325$, 对应的胖大海多糖理论最佳提取条件为超声波功率211.0W、超声提取时间28.2min、料水比1:63.3, 在此条件下, 胖大海多糖超声波提取得率最高可达28.98%。考虑到实际可操

作性,将优化参数修正为:超声波功率210W、超声提取时间28min、料水比1:63。

为检验响应面分析方法的可靠性,采用上述优化参数做胖大海多糖的提取实验,测得3次试验结果平均值为28.45%,与理论提取率接近,并且高于15个试验中的所有试验点,充分表明采用响应面分析方法优化得到的提取工艺参数准确可靠,具有实用性。

2.3 超声波提取法与微波辅助提取法比较

表4 超声波辅助提取和微波辅助提取胖大海多糖结果比较
Table 4 Comparison between ultrasonic-assisted extraction and microwave-assisted extraction

提取方法	超声波或微波功率/W	提取总时间/min	料水比(g/mL)	多糖得率/%	多糖含量/%
超声波辅助提取	210	28	1:63	28.45	60.02
微波辅助提取	510	30	1:71	22.19	58.65

由表4可以看出,超声波辅助提取与微波辅助提取法相比,最明显的优势是多糖得率明显提高,并且多糖的含量也提高了1.37%,充分说明从物料中提取的纯多糖质量增大。另外,提取时间略有缩短,而且减少了料水比,节约后处理的操作成本。从实验结果来看,超声波对胖大海多糖的提取比微波辅助提取更有效,这可能因为超声波提取是强有力的效应促进并加速多糖分子的扩散,使得多糖分子不断向溶解方向进行难以达到溶解平衡,而微波提取主要是水分通过破壁进入细胞内部进行溶解,多糖分子溶解进行到一定程度达到平衡,阻碍了多糖分子溶出。

3 结 论

通过二次响应面分析^[18],获得胖大海多糖超声波辅助提取的最优条件为:超声波功率210W、超声提取时间28min、料水比1:63(g/mL),在此条件下的多糖得率为28.45%,多糖含量60.02%。超声波提取与微波辅助提取相比,胖大海多糖的得率提高和含量增加,同时缩短了提取时间,减少了料水比,节约成本,提高经济效益。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 第一卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 216-217.
- [2] WANG Rufeng, YANG Xiuwei, MA Chaomei, et al. Alkaloids from the seeds of *Sterculia lychnophora* (Pangdahai)[J]. *Phytochemistry*, 2003, 63(4): 475-478.
- [3] 肖培根. 新编中药志: 第一卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 517-521.
- [4] 余传星, 朱玲. 胖大海治疗菌痢的试验研究[J]. *中医药研究*, 1997(1): 46-48.
- [5] 杜力军, 孙绍美, 於兰, 等. 国产与进口胖大海对小鼠抗炎和小肠推进作用比较[J]. *中药材*, 1995, 18(8): 409-411.
- [6] 张石生, 刘国栋. 胖大海抑制草酸钙结晶形成的实验结果与临床观察[J]. *中华泌尿外科杂志*, 1991, 67(1): 51-53.
- [7] 王桓, 潘杨, 敬思群. 超声强化提取喀什大枣多糖的工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(11): 40-43.
- [8] 朱杰, 李琳, 何元哲, 等. 超声强化提取啤酒糟水溶性多糖的工艺研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(24): 47-50.
- [9] 董群, 郑丽伊, 方积年. 改良的苯酚-硫酸法测定多糖和寡糖含量的研究[J]. *中国医学杂志*, 1996(9): 550-553.
- [10] MURALIDHAR R V, CHIRUMAMIL R R, MARCHANT R, et al. A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindracea* using two different carbon sources[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2001, 9(1): 17-23.
- [11] WU Yan, CUI S W, TANG Jian, et al. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited *sterculia* seeds by response surface methodology[J]. *Food chemistry*, 2007, 105(4): 1599-1605.
- [12] 吴有炜. 试验设计与数据处理[M]. 苏州: 苏州大学出版社, 2002: 115-154.
- [13] LEE W C, YUSOF S, HAMID N S A, et al. Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM)[J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 73(1): 55-63.
- [14] SHI X Q, CHANG K C, SCHWARZ J G, et al. Optimizing pectin extraction from sunflower heads by alkaline washing[J]. *Bioresour Technol*, 1996, 58(3): 291-297.
- [15] 吴艳, 艾连中, CUI S W, 等. 微波辅助提取胖大海多糖的工艺研究[J]. *食品工业*, 2007(1): 4-6.
- [16] 张桂, 赵国群. 超声波萃取植物多糖的研究[J]. *食品科学*, 2005, 26(9): 302-306.
- [17] 王永良, 范贤, 李玉兰, 等. 超声辅助提取异枝麒麟菜硫酸酯多糖的工艺优化[J]. *食品科学*, 2010, 31(6): 6-10.
- [18] 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.