

响应面法优化浒苔多糖提取工艺的研究

胡章, 李国庆, 林奕武, 叶莲, 刘盈, 范润珍* (广东海洋大学理学院化学系, 广东湛江 524088)

摘要 [目的] 优化浒苔多糖的提取工艺。[方法] 采用水提法考察提取时间、提取温度、液料比 3 个因素对浒苔多糖提取率的影响, 并通过 Box-Behnken 试验设计对试验数据进行二次响应面分析, 优化浒苔多糖提取工艺。[结果] 试验表明, 浒苔多糖提取的最佳工艺条件为: 提取时间 2 h, 提取温度 100 °C, 液料比 47:1 ml/g, 在该条件下浒苔多糖提取率为 12.26%。[结论] 该工艺简便、稳定, 反应条件较为温和, 设备简单易于实现产业化, 同时可为浒苔多糖的进一步开发利用提供参考。

关键词 浒苔; 多糖; 提取; 响应面法

中图分类号 S917.3; Q539 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)15-06872-02

Study on the Optimization of Extraction of Polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* by Response Surface Methodology

HU Zhang et al (Department of Chemistry, College of Science, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088)

Abstract [Objective] To optimize technique of extracting polysaccharides from *Enteromorpha prolifera*. [Method] The effects of three independent variables (extraction temperature, extraction time and the ratio of water to material) on the extraction yield were studied by water bath. And the extraction conditions were further optimized by response surface methodology (RSM), based on a Box-Behnken design. [Result] The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: extraction time 2 h, extraction temperature 100 °C, solid-liquid ratio 47:1 ml/g. Under the optimized conditions, the yield of polysaccharides was 12.26%. [Conclusion] Owing to its simplicity and reliability, the optimized technology is easy to industrialize, which will provide a reference for further development and utilization of polysaccharides from *E. prolifera*.

Key words *Enteromorpha prolifera*; Polysaccharide; Extraction; Response surface methodology

浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 是一类重要的大型经济绿藻, 俗称海苔等, 其野生资源丰富, 在我国黄海、渤海以及东南沿海广泛分布^[1]。浒苔营养丰富, 其中浒苔多糖是其含有的主要活性成分^[2]。研究表明, 浒苔多糖具有抗动脉粥样硬化、抗氧化性、降血脂、抗肿瘤以及免疫调节等功效^[3-6]。如果将其应用于医药或保健品行业, 其提取工艺必将影响多糖的工业化生产, 但目前浒苔多糖的提取工艺研究还未成熟, 有待进一步探究。笔者利用传统的水提法提取浒苔多糖, 其反应条件较为温和、设备简单且易于工业化生产, 通过考察影响浒苔多糖提取率的主要因素, 并应用响应面法获得最佳提取工艺, 以期对浒苔多糖的进一步开发利用提供参考。

1 材料与方

1.1 材料 干燥浒苔粉碎后真空包装, 阴凉干燥处保存备用。无水乙醇、苯酚、浓硫酸、葡萄糖等均为分析纯。

1.2 浒苔多糖含量的测定 以葡萄糖为标准品, 采用苯酚-硫酸法测定总糖含量。测定中, 以糖浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。经回归处理得线性回归方程为: $y = 193.5119x$, $R^2 = 0.9980$ 。通过测定试验样液的吸光度值, 根据葡萄糖标准曲线, 计算出试验样品液的浒苔多糖含量。

1.3 浒苔多糖提取的试验方案 干燥浒苔粉采用热水浸提, 乙醇沉淀浒苔多糖, 减压干燥而得到粗浒苔多糖。在前期单因素试验结果的基础上, 采用响应面分析法, 根据 Box-Behnken 试验设计原理, 选取浸提时间、浸提温度和液料比 3 个因素为自变量, 以浒苔多糖提取率为响应值, 进行试验设计, 优化提取工艺, 试验因素与水平设计见表 1。

表 1 Box-Behnken 试验因素与水平设计

水平	因素		
	提取时间(A)//h	提取温度(B)//°C	液料比(C)//ml/g
-1	2	80	30:1
0	3	90	40:1
1	4	100	50:1

2 结果与分析

2.1 试验设计方案及结果 采用响应面法的 Box-Behnken 试验设计方法, 对提取时间(A)、提取温度(B)和液料比(C)各水平进行如下编码: $X_1 = (A - 3)$, $X_2 = (B - 90)/10$, $X_3 = (C - 40)/10$ 。试验方案及结果见表 2。试验号 1~12 为析因试验, 用于分析自变量与因变量之间的关系; 13~17 为中心试验, 重复 5 次, 用以估计试验误差。

表 2 响应面试验设计及结果

试验号	因素编码			多糖提取率//%
	X_1	X_2	X_3	
1	-1	-1	0	5.28
2	1	-1	0	8.56
3	-1	1	0	12.67
4	1	1	0	8.65
5	-1	0	-1	6.32
6	1	0	-1	8.61
7	-1	0	1	7.29
8	1	0	1	8.72
9	0	-1	-1	6.89
10	0	1	-1	8.31
11	0	-1	1	4.64
12	0	1	1	9.08
13	0	0	0	7.44
14	0	0	0	7.41
15	0	0	0	8.15
16	0	0	0	7.38
17	0	0	0	7.35

基金项目 广东海洋大学大学生创新实验项目(CXXL12060)。

作者简介 胡章(1976-), 男, 湖北随州人, 副教授, 博士, 从事海洋资源利用化学和药物化学研究, E-mail: huzhearrot@163.com。
* 通讯作者, E-mail: huzhearrot@163.com。

收稿日期 2013-04-20

2.2 预测模型的建立 通过统计分析软件 SAS 9.1 进行数据分析,建立二次响应面回归模型如下: $Y = 7.55 + 0.37X_1 + 1.67X_2 - 0.05X_3 - 1.83X_1X_2 - 0.21X_1X_3 + 0.75X_2X_3 + 0.87X_1^2 + 0.37X_2^2 - 0.69X_3^2$ 。通过模型的建立,可以预测所选 3 个因素对多糖提取率的影响情况。

由回归分析与方差分析结果(表 3)可知,浒苔多糖提取

表 3 回归方程方差分析

因素	F 值	P
模型	8.50	0.005 0
X_1	1.90	0.210 7
X_2	38.03	0.000 5
X_3	0.034	0.858 5
X_1X_2	22.78	0.002 0
X_1X_3	0.32	0.591 5
X_2X_3	3.90	0.088 9
X_1^2	5.51	0.051 4
X_2^2	0.98	0.354 5
X_3^2	3.38	0.108 5
失拟	10.52	0.022 8

率 Y 与 3 个提取因素之间的线性关系明显。回归模型的相关系数 R^2 为 0.916,模型 $P = 0.005$,表明回归模型显著度高。

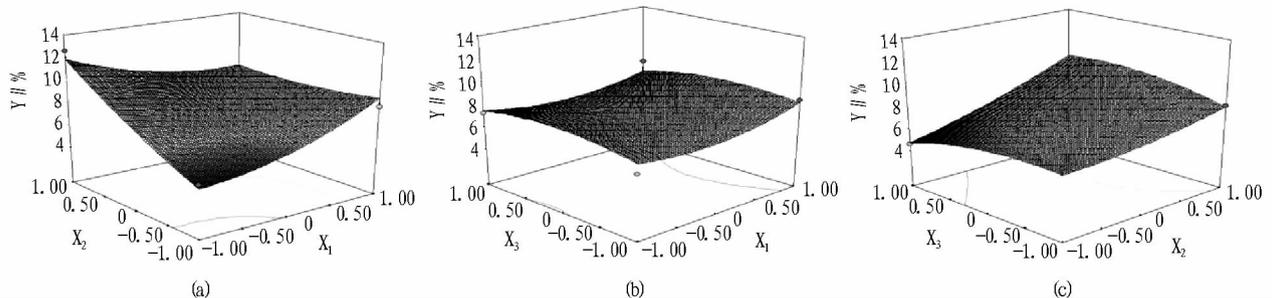


图 1 各自变量之间相互作用的响应曲面

2.4 验证试验 利用软件的数值优化功能预测响应值最大值,试验条件分别为提取时间 2 h、提取温度 100 ℃、液料比 46.7:1 ml/g,得到浒苔多糖最高提取率为 12.22%。为检验响应面法优化浒苔多糖提取工艺的可靠性,进行验证试验。结合实际操作,将优化后的工艺参数调整为提取时间 2 h、温度 100 ℃、液料比 47:1 ml/g,进行 3 次平行试验,多糖的平均提取率为 12.26%,相对误差为 0.33%。浒苔多糖提取率的试验值与回归模型预测值吻合良好,说明该模型能够较好地预测实际浒苔多糖提取情况,具有实际应用价值。

3 结论

在前期单因素试验的基础上,该研究通过 Box-Behnken 试验设计,建立了影响浒苔多糖提取率的模型回归方程: $Y = 7.55 + 0.37X_1 + 1.67X_2 - 0.05X_3 - 1.83X_1X_2 - 0.21X_1X_3 + 0.75X_2X_3 + 0.87X_1^2 + 0.37X_2^2 - 0.69X_3^2$ 。方差分析表明,该回归模型高度显著,能较好地预测试验中浒苔多糖提取率。应

回归方程的失拟项较小,说明模型的拟合度很好。因此,可用此回归模型代替真实的试验点进行分析,预测浒苔多糖提取率。由 F 检验值可以得出 3 个影响因素对多糖提取率的影响程度大小依次为:提取温度 > 提取时间 > 液料比。关于 3 个影响因素的相互作用,由方差分析可知只有 X_1X_2 间相互作用显著($P = 0.002$),即提取时间和提取温度的相互作用对浒苔多糖的提取率有显著影响。

2.3 响应面分析 根据回归分析做出各影响因素之间相互作用的响应面 3D 图(图 1),以确认提取时间(X_1)、提取温度(X_2)和液料比(X_3) 3 个因素对浒苔多糖提取率(Y)的影响。从图 1a 可以看出, X_1 与 X_2 之间有显著的相互作用,在试验范围内, X_1 取不同的值时,对浒苔多糖提取率的影响 X_2 表现出不同的规律:当 X_1 取较短时间时,随着 X_2 的增加,浒苔多糖提取率 Y 值以上升趋势呈现;而当 X_1 为长时间时,随着 X_2 的增加,浒苔多糖提取率 Y 值趋向平衡;类似的特征呈现,在试验范围内, X_2 取不同的温度值时,对浒苔多糖提取率的影响 X_1 也表现出不同的规律。图 1b 和图 1c 分别表明, X_1 与 X_3 、 X_2 与 X_3 之间的相互作用并不显著,它们对 Y 值的影响并不会随着另一因素的改变而有明显变化。这与前面回归分析结果相吻合。

用响应面分析法优化得到浒苔多糖最佳提取工艺条件为:提取时间 2 h,提取温度 100 ℃,液料比 47:1 ml/g。在此条件下,实际提取率 12.26%,与模型预测值(12.22%)的相对误差为 0.33%。该工艺稳定可行,易于实现产业化。

参考文献

- [1] 高福成. 新型海洋食品[M]. 北京:轻工业出版社,1999.
- [2] 徐大伦,黄晓春,杨文鸽,等. 浒苔营养成分分析[J]. 浙江海洋学院学报,2003,22(4):318-320.
- [3] 许晶晶,唐志红,王景玉,等. 浒苔营养多糖的纯化及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2009,30(10):134-137.
- [4] KIYOKA H O,SHUZO O,YASUJI O. Potent suppressive effect of a Japanese edible seaweed,Enteromorpha prolifera(Sujiao-nori) on initiation and promotion phases of chemically induced mouse skin tumorigenesis [J]. Cancer Lett,1999,140:21-25.
- [5] JIAO L,LI X,LI T, et al. Characterization and anti-tumor activity of alkali-extracted polysaccharide from Enteromorpha intestinalis [J]. Int Immunopharmacology,2009,9:324-329.
- [6] XU D L,HUANG X C,OU C R, et al. In vitro study on polysaccharides in Enteromorpha with non-specific immunity [J]. Food Science,2005,26:232-235.