

响应曲面法优化超声-微波协同提取百合渣中总皂苷工艺的研究

潘青友, 童群义*

(江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

摘要:以宜兴百合淀粉生产过程中产生的副产物百合渣为原料,采用超声-微波协同提取工艺提取其中的总皂苷,通过乙醇浓度、液料比、微波功率、提取时间各单因素实验确定各因素对总皂苷得率的影响。在单因素实验的基础上,根据Box-Behnken实验原理,采用了四因素三水平的响应面分析法,以总皂苷的得率作为响应值,根据所得实验结果进行回归分析,优选出提取的最佳工艺为:乙醇浓度77%,液料比11:1(mL/g),微波功率503W,提取时间139s,在此最佳条件下,测得总皂苷的得率为6.59%。该工艺运用了超声与微波的协同效应,集取了超声与微波二者优势,具有提取时间短、效率高的优点。

关键词:百合渣,超声-微波协同提取,响应面设计法,总皂苷

Optimization of ultrasound-microwave synergistic extraction of total saponins from lily residue by response surface methodology

PAN Qing-you, TONG Qun-yi*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract:The residue of the by-products in the starch production process of Yixing lily was analyzed as the extracted material to study the optimum procedures of the ultrasound-microwave synergy extraction method. Effects of ethanol concentration, liquid-solid ratio, microwave power and extraction time on yield of total saponins were determined. Based on the results of single factor test, as well as Box-Behnken experiment principle, the four factors and three levels response surface method(RSM) test was designed and the yield of total saponins was determined as response value. The optimum extracting parameters to achieve the highest total saponins yield of 6.59% was obtained as follows: ethanol concentration(v/v) of 77%, liquid to solid ratio of 11:1(mL/g), microwave power of 503W, and extraction time 139s. The ultrasound-microwave synergy extraction technique combined with the advantages of microwave and ultrasonic was a new method of higher efficiency, lower temperature and less time consumption.

Key words:lily residue; ultrasound-microwave synergy extraction; response surface method; total saponins

中图分类号:TS201.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2012)16-0273-04

百合是国家卫生部首批颁布的“药食兼用”传统资源,其鳞茎性甘微寒,有润肺止咳、清心安神、调理脾胃、补中益气、利尿、增强免疫等功效^[1-3],近几年国内外研究表明百合的保健功效与其所含的皂苷密切相关^[4]。超声-微波协同萃取为近年来发展的一门新技术,把超声-微波协同技术用于百合渣总皂苷的提取,既降低操作费用,又合乎环境保护的要求,是具有良好的发展前景的新工艺^[5-7]。响应曲面法(response surface methodology, RSM)是一种实验优化方法,可以建立连续变量曲面模型,对因子及其交互作用也可以进行评价,确定最佳水平范围^[7]。近年来,百合淀粉的需求量不断攀升,百合生产淀粉过程中产生的

百合渣和上清水往往要废弃,而百合的功效成分正是残留在百合渣及上清水中,本工作拟利用超声-微波协同萃取装置提取百合渣中的总皂苷,应用响应曲面法分析,得出从百合渣中提取总皂苷的最优条件,为百合生产淀粉企业的经济效益最大化提供科学依据和可行性参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

百合 购于江苏无锡菜市场;鳞茎 洗净后用组织捣碎机捣碎,捣碎液经纱布过滤,并用清水冲洗至洗出液澄清,洗出液在常温下静置2h后得沉淀物,即百合淀粉;百合渣 纱布中残渣在50℃烘箱内烘至水分含量低于10%,经万能粉碎机粉碎后过60目筛,得供试样品;乙醇、乙醚、冰乙酸、正丁醇、高氯酸、甲醇、香草醛 均为分析醇;薯蓣皂苷对照品 购于中检所。

收稿日期:2011-11-09 * 通讯联系人

作者简介:潘青友(1987-),男,硕士,研究方向:碳水化合物功能及应用。

UV-2100型紫外分光光度仪 上海龙尼柯仪器有限公司; RE-52AA型旋转蒸发仪 上海申生科技有限公司; CW-2000型超声-微波协同萃取仪 上海新拓微波溶样测试技术有限公司; FW-80-I高速万能粉碎机 天津泰斯特仪器有限公司; DS-200高速组织粉碎机 江苏江阴科研器械厂。

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线的制作^① 准确称取薯蓣皂苷对照品5mg, 置于50mL容量瓶中, 加适量甲醇溶解后定容, 准确移取薯蓣皂苷对照液0.4、0.8、1.2、1.6、2.0mL置于具塞试管内并挥干溶剂, 分别加5%香草醛-冰醋酸溶液0.2mL和高氯酸0.8mL, 混匀、密塞、置于60℃恒温水浴中加热15min后, 取出后立即以冰水冷却5min, 各加入冰醋酸5.0mL, 摇匀, 静置10min, 对照组为试剂空白, 于540nm处测其吸光度。并以样品取样量为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。

1.2.2 样品中总皂苷的提取及测定 按2.00g/份取样, 样品在相应浓度的乙醇中浸泡充分, 再用不同浓度、不同体积的乙醇在不同微波功率下进行超声-微波协同提取不同时间, 真空过滤后旋蒸回收乙醇。残渣加水使之溶解, 乙醚萃取至醚层无色, 弃醚液, 水层用水饱和的正丁醇萃取水层至正丁醇层无色, 回收正丁醇。所得溶液用甲醇溶解定容至100mL, 吸取百合渣总皂苷提取液1.0mL置于具塞试管内。按标准曲线测定方法, 测定其吸光度。根据标准曲线计算总皂苷含量并按公式转换成总皂苷得率。

转换公式: 总皂苷得率(%) = 总皂苷测得量 \times 100/2 = 50X

1.2.3 单因素实验 以百合总皂苷得率为响应指标, 研究乙醇浓度、液料比、微波功率、微波时间各个因素对百合总皂苷得率的影响规律。

1.2.4 响应曲面优化实验 在单因素实验结果基础上, 选取A乙醇浓度(%), B液料比(mL/g), C微波功率(W), D提取时间(s)四个主要因素, 采用中心组合实验Box-Behnken设计方案进行组合实验。实验因素与水平见表1。

表1 总皂苷超声-微波提取实验的因素与水平

水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 液料比 (mL/g)	C 微波功率 (W)	D 提取时间 (s)
1	65	5:1	400	90
0	75	10:1	500	135
-1	85	15:1	600	180

注: $x_1 = (A-75)/5$; $x_2 = (B-10)/5$; $x_3 = (C-500)/100$; $x_4 = (D-135)/45$ 。

2 结果与分析

2.1 单因素实验分析

2.1.1 乙醇浓度对总皂苷得率的影响 选择液料比10:1(mL/g)、微波功率500W、微波时间135s, 以总皂苷得率为评价指标, 考察乙醇浓度对百合渣总皂苷得率的影响。由图1可知, 百合皂苷得率在乙醇浓度为80%时得率最高。乙醇浓度小于80%时总皂苷

得率随浓度的升高而升高, 在60%后上升加快; 这是因为高浓度乙醇有利于醇溶性的皂苷类物质溶出。乙醇浓度超过80%后总皂苷得率随乙醇浓度的升高反而降低; 这可能是因为过高浓度的乙醇不利于水溶性较大的皂苷类物质溶出; 另外一个因素可能是由于高浓度乙醇溶出较多醇溶性杂质, 这些成分阻碍了皂苷类化合物的溶出。

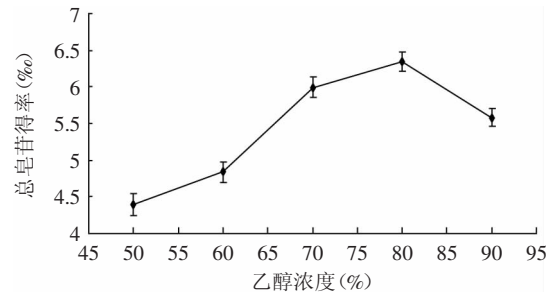


图1 乙醇浓度对总皂苷得率的影响

Fig.1 Effect of ethanol concentration on yield of total saponins

2.1.2 液料比对总皂苷得率的影响 选择乙醇浓度80%, 微波功率500W、微波时间135s, 以总皂苷得率为评价指标, 考察液料比对百合渣总皂苷得率的影响。由图2可知, 液料比12:1之前, 总皂苷得率随着液料比的增加而增加; 这是因为随着溶剂量的变大总皂苷溶出量增加。液料比超过12:1之后, 总皂苷得率随着液料比的增加而略有下降; 这可能是因为溶剂量大时微波和超声的能量过多作用于溶剂, 物料吸收的能量反而变少, 从而导致总皂苷的溶出量下降。

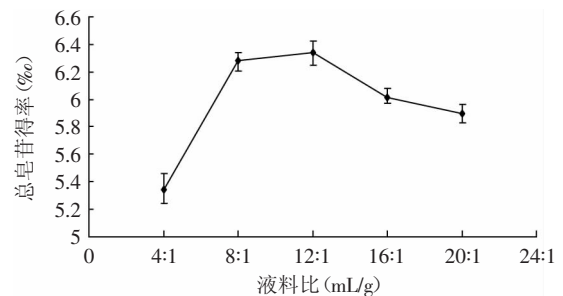


图2 液料比对总皂苷得率的影响

Fig.2 Effect of liquid-solid ratio on yield of total saponins

2.1.3 微波功率对总皂苷得率的影响 选择乙醇浓度80%、液料比10:1(mL/g)、微波时间为135s, 以总皂苷得率为评价指标, 考察微波功率对百合渣总皂苷得率的影响。由图3可知, 在微波功率低于500W时总皂苷得率随着微波功率的增强而增加; 这是因为随

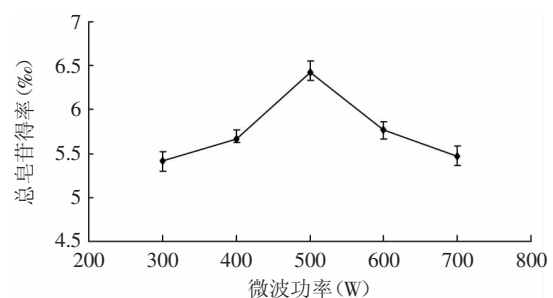


图3 微波功率对总皂苷得率的影响

Fig.3 Effect of microwave power on yield of total saponins

随着微波功率的提高,被提取物吸收的微波能量增多,物系的温度上升加快,分子的扩散速度加快,从而总皂苷得率有所上升。超过500W之后,微波的热效应可能使局部温度升高过快,部分皂苷分解,导致总皂苷得率有所下降。

2.1.4 提取时间对总皂苷得率的影响 选择乙醇浓度80%、液料比10:1 (mL/g)、微波功率为500W,以总皂苷得率为评价指标,考察提取时间对百合渣总皂苷得率的影响。由图4可知,提取时间小于135s时,总皂苷得率随着时间的增加而增加。超过135s后,总皂苷得率随着时间的增加略有下降,这可能是因为在长时间微波辐射后局部高温致其分解。达到180s后,总皂苷得率随着时间的增加变化很小,这说明不耐热的皂苷基本分解完全,而且总皂苷的提取已接近完全。

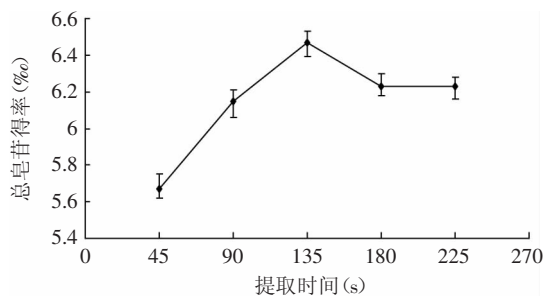


图4 提取时间对总皂苷得率的影响

Fig.4 Effect of extraction time on yield of total saponins

2.2 百合生产淀粉废渣总皂苷提取工艺的响应面分析^[9-10]

在单因素实验基础上,根据Box—Benhnken中心组合实验设计原理,以总皂苷得率为响应值,设计四因素三水平响应面分析实验,利用Design—Expert软件对所得数据进行分析。

2.1.1 微波—超声协同提取百合生产淀粉废渣总皂苷实验方案与结果 Box—Benhnken中心组合实验设计方案与结果见表2。

2.1.2 模型建立及显著性分析 利用Design Expert软件进行多元回归拟合,建立总皂苷得率与乙醇浓度、液料比、微波功率、提取时间四因素的数学回归模型。由F值可知,各因素对总皂苷得率的影响程度大小顺序依次为:乙醇浓度>液料比>提取时间>微波功率。去掉不显著项,得到二次回归方程为:

$$Y=6.51+0.4x_1+0.11x_2+0.33x_2x_4-0.097x_1x_4-1.12x_1^2-0.56x_2^2-0.31x_3^2-0.29x_4^2$$

该方程的相关系数 $R^2=0.9908$,模型拟合程度良好,可用该模型对未知条件下总皂苷得率进行预测。由表3可知,整体模型达极显著水平($p<0.01$),表明该二次方程模型极显著,不同处理间的差异高度显著。失拟项不显著($p=0.9927$),表明模型选择合适。

运用二次模型进行变异分析(Analysis of variance, ANOVA),结果表明,响应值总皂苷得率(Y)模型极显著。由表3可知,一次项乙醇浓度(A)、液料比(B)极显著,微波功率(C)、提取时间(D)不显著。二次项均达到极显著水平。交互项BD极显著,AD显著,其余

表2 实验方案与结果

Table 2 Test designs and extraction results

实验号	A	B	C	D	Y 总皂苷得率 (%)
1	-1	-1	0	0	4.20
2	1	-1	0	0	5.22
3	-1	1	0	0	4.61
4	1	1	0	0	5.25
5	0	0	-1	-1	5.96
6	0	0	1	-1	5.73
7	0	0	-1	1	5.92
8	0	0	1	1	5.99
9	-1	0	0	-1	4.62
10	1	0	0	-1	5.54
11	-1	0	0	1	4.83
12	1	0	0	1	5.36
13	0	-1	-1	0	5.49
14	0	1	-1	0	5.73
15	0	-1	1	0	5.55
16	0	1	1	0	5.75
17	-1	0	-1	0	4.65
18	1	0	-1	0	5.43
19	-1	0	1	0	4.68
20	1	0	1	0	5.59
21	0	-1	0	-1	5.85
22	0	1	0	-1	5.42
23	0	-1	0	1	5.26
24	0	1	0	1	6.15
25	0	0	0	0	6.45
26	0	0	0	0	6.37
27	0	0	0	0	6.67

表3 回归模型系数的显著性检验结果

Table 3 Results of significance test of regression coefficient

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	p值
回归模型	12.14	14	0.87	107.18	<0.0001
A	1.92	1	1.92	237.31	<0.0001
B	0.15	1	0.15	18.49	0.0007
C	0.00101	1	0.00101	0.12	0.7293
D	0.013	1	0.013	1.57	0.2312
A ²	8.57	1	8.57	1059.03	<0.0001
B ²	2.23	1	2.23	276.09	<0.0001
C ²	0.74	1	0.74	91.64	<0.0001
D ²	0.66	1	0.66	81.11	<0.0001
AB	0.036	1	0.036	4.46	0.0531
AC	0.00423	1	0.00423	0.52	0.4818
AD	0.038	1	0.038	4.7	0.0479
BC	0.004	1	0.0004	0.049	0.8273
BD	0.44	1	0.44	53.84	<0.0001
CD	0.023	1	0.023	2.78	0.1176
残差	0.11	14	0.00809		
失拟项	0.031	10	0.00312	0.15	0.9927
纯误差	0.082	4	0.021		
总误差	12.25	28			

交互项不显著。

2.1.3 各因素对总皂苷得率的交互影响 由图5可知,乙醇浓度对总皂苷得率影响极显著。微波功率和提取时间在零水平时,在一定的液料比下,总皂苷得率随乙醇浓度的变化先快速上升(<75%)后缓慢下

降(>75%),在乙醇浓度为75%左右的时候,总皂苷得率达到最大值;随着液料比的由小变大,乙醇浓度与总皂苷得率相关曲线呈现由平缓到明显然后又趋于平缓的状态。液料比对总皂苷得率影响显著。总皂苷得率随液料比的变化呈现先快速上升后略有下降的趋势;但这一相关曲线受乙醇浓度变化的影响不大。通过图5及方差分析中的F值可以得出乙醇浓度对总皂苷得率的影响大于液料比对总皂苷得率的影响。

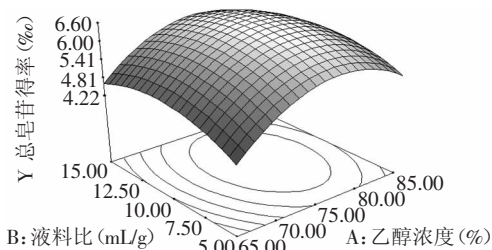


图5 Y=f(A, B)的响应曲面

Fig.5 Response surface plot of Y=f(A, B)

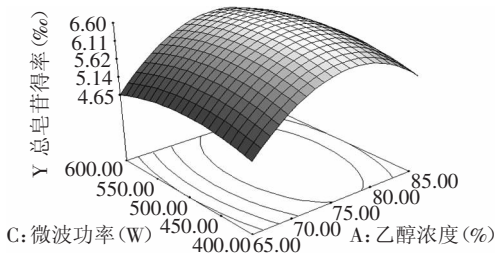


图6 Y=f(A, C)的响应曲面

Fig.6 Response surface plot of Y=f(A, C)

由图6可知,总皂苷得率随乙醇浓度的变化呈先快速上升后缓慢下降的曲线关系,但微波功率的变化对这一曲线影响不大。总皂苷得率随着微波功率的变化不明显,只是略有一个先上升后下降的趋势。通过图6及方差分析中的F值可以得出乙醇浓度对总皂苷得率的影响大于微波功率对总皂苷得率的影响。

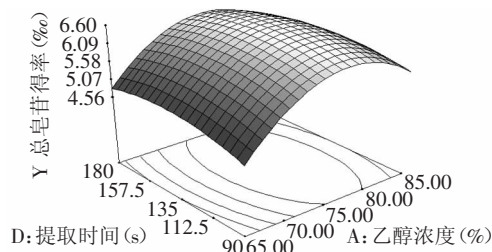


图7 Y=f(A, D)的响应曲面

Fig.7 Response surface plot of Y=f(A, D)

由图7可知,乙醇浓度和提取时间交互作用显著。在一定的提取时间下,总皂苷得率随乙醇浓度的变化总体呈现先快速上升后缓慢下降的曲线关系。随着提取时间由小到大,总皂苷得率与乙醇浓度相关曲线呈现由平缓到明显然后又趋于平缓的状态。总皂苷得率随着提取时间的变化不明显。通过图7及

方差分析中的F值可以得出乙醇浓度对总皂苷得率的影响大于提取时间对总皂苷得率的影响。

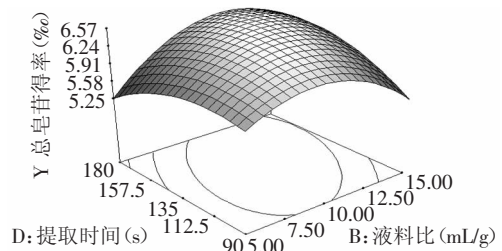


图8 Y=f(B, D)的响应曲面

Fig.8 Response surface plot of Y=f(B, D)

由图8可以看出,提取时间和液料比的交互作用极显著。在较短的提取时间下,总皂苷得率随液料比的变化呈现先上升后缓慢下降的曲线关系;而在较长的提取时间下,曲线的最高点右移,总皂苷得率随液料比的变化在图中呈现上升趋势。在较小的液料比下,总皂苷得率随提取时间的变化呈现先上升后缓慢下降的曲线关系;而在较大的液料比下,曲线的最高点向大数值方向移动,总皂苷得率随提取时间的变化在图中呈现上升趋势。

3 结论

用超声-微波协同萃取手段提取百合渣中总皂苷,利用曲面响应探索最优条件,得出:在实验的参数范围内,各因素对总皂苷得率的影响大小顺序为:乙醇浓度>液料比>提取时间>微波功率。通过对总皂苷得率工艺进行的优化,得到的优化条件为:77%的乙醇,液料比11:1 (mL/g),微波功率503W,提取时间139s条件下,测得总皂苷的得率为6.59%。

参考文献

- [1] 胡文权, 经虹. 药食滋补的佳蔬—百合蔬菜[J]. 中国农学通报, 2000(11):36.
- [2] 吴雪辉, 黄永芳, 谢治芳, 等. 百合淀粉颗粒结构与性质研究[J]. 食品科学, 2004, 25(2):43-45.
- [3] 何纯莲, 雷嘲红, 凌晓. 百合提取液对羟自由基的清除作用[J]. 光谱实验室, 2003, 20(1):102-104.
- [4] 李林, 张志杰, 蔡宝昌, 等. 中药百合有效部位的药效学筛选[J]. 南京中医药大学学报, 2005, 21(3):47-48.
- [5] 潘学军, 刘会洲, 徐永源. 微波辅助提取MAE研究进展[J]. 化学通报, 1999(5):7-12.
- [6] 邓斌, 王存嫦, 徐安武. 微波辅助提取花生壳黄酮类化合物及其抗氧化性研究[J]. 冲国油脂, 2009, 34(3):54-57.
- [7] 刘志祥, 韩磊. 响应面法优化微波提取苦丁茶总黄酮的工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5):1122-1124.
- [8] 吴晓斌, 任凤莲, 邱昌桂, 等. 百合皂苷的提取、纯化及其鉴定[J]. 广州化学, 2005, 30(2):36-40.
- [9] 刘魁英. 食品研究与数据分析[M]. 北京:轻工业出版社, 1999:10-156.
- [10] 温志英, 刘焕云, 贝文敬, 等. 响应面中心组合设计优化花生壳黄酮微波提取工艺[J]. 中国农学通报, 2011, 27(7):472-477.