

朱翠玲,顾正中,沈婷,等. 响应面分析优化小麦麸皮多糖的提取工艺[J]. 江苏农业科学,2017,45(13):169-172.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.13.047

响应面分析优化小麦麸皮多糖的提取工艺

朱翠玲^{1,2,3}, 顾正中⁴, 沈婷^{2,3}, 王新风^{2,3}, 胡卫成^{2,3}, 纪丽莲^{1,2,3}

(1. 扬州大学食品科学与工程学院, 江苏扬州 225127; 2. 淮阴师范学院/江苏省高校区域现代农业与环境保护协同创新中心, 江苏淮安 223300; 3. 淮阴师范学院/江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室, 江苏淮安 223300; 4. 江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所, 江苏淮安 223301)

摘要:为探讨优化麸皮多糖的提取工艺,在单因素试验基础上,用热水浸提法及 Box - Behnken 设计方法,研究水提温度、时间、料液比这 3 个因素以及它们的交互作用对麸皮多糖得率的影响;采用 Box - Behnken 法设计 3 因素 3 水平响应面设计试验,得到回归方程的预测模型和可信度。结果表明:在所设定的各个试验范围内,3 个因素对麸皮多糖得率的影响程度由大到小依次是提取时间、提取温度、料液比,并分析得到了最佳的提取条件:温度 100 ℃,料液比 1 g : 29.95 mL,水提时间 5 h,麸皮多糖得率的预测值为 220.04 mg/g。将上述最佳条件微调后进行验证试验,测得麸皮多糖含量为 222.70 mg/g,高于软件模拟值,能较好地预测麸皮多糖得率,表明提取麸皮多糖条件可行,用响应面法优化提取工艺,提高了提取麸皮多糖的得率。

关键词:小麦麸皮;多糖;热水浸提法;提取工艺;响应面分析;多糖得率

中图分类号: TS245.9; TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)13-0169-04

小麦的营养丰富,是人们日常生活中所必需的主要粮食之一。我国是小麦的生产大国,每年的产量已超过 1 亿 t,小麦面粉厂仅加工出产的副产品麸皮就可达 2 000 万 t^[1]。麸皮是小麦营养特性的主要集中物,含有人体所需的多种营养物质,如酶系、蛋白质、碳水化合物、矿物质和维生素等,主要含有较多的纤维素、半纤维素多糖,且在麸皮细胞壁中,存在半纤维素、阿拉伯木聚糖。此外,小麦麸皮中戊聚糖含量大于 20%,且来源充足,价格低廉,可作为制备多糖的原料,具有很高的经济效益和应用前景^[2]。但是,市场上 85% 的麸皮主要用于酿造工业与饲料工业,很少用于保健产品和功能食品的加工^[3]。

多糖是一类高分子碳水化合物,一般由 10 个以上单糖组成,可由糖苷键合成多聚糖,有降低血糖的作用^[4]。此外,多糖能明显提高肝脏中己糖激酶、葡糖激酶、6-磷酸葡萄糖脱氢酶的活性,最终使血浆甘油三酯、胆固醇降低到正常的水平^[5]。多糖还可以改变食物品质及外观,稳定酸性饮料、抑制脂质氧化等,其中活性多糖可促进生命机体健康,维持其各种生理功能,控制细胞分化,可作为调节细胞生长衰老的非特异性广谱免疫调节剂,增强免疫、抗衰老、抗辐射能力等^[6-7]。研究发现,多糖通过对病原体的选择性黏附,并且阻断吸附靶细胞,最终达到消炎、抗感染的目的,因此,多糖作为第二代抗炎药物可用于医学领域^[8]。

响应面分析法是一种函数估算工具,已经被大量用于各种多糖提取条件的优化,如铁皮石斛多糖、金银花多糖、燕麦麸皮多糖等^[9-14],该方法计算合理、结果准确,已经被越来越多地应用于工艺优化中。到目前为止,还未有响应面优化麸皮多糖提取的研究报道,本研究采用单因素试验、响应面法分析对热水浸提法提取小麦麸皮多糖的工艺条件进行优化筛选,以期对麸皮多糖的市场开发提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

小麦麸皮(淮麦 33),由江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所提供。

浓硫酸,购自南京化学试剂有限公司;无水乙醇,购自上海久亿化学试剂有限公司;3,5-二硝基水杨酸(DNS)溶液、苯酚,购自西陇化工股份有限公司;亚硫酸钠,购自宜兴市亚盛化工厂;3,5-二硝基水杨酸、氢氧化钠、酒石酸钾钠、葡萄糖,均购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

Centrifuge 5810 R 型台式高速冷冻离心机,德国艾本德公司;TE612-L 电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;Infinite M200 Pro 酶标仪,瑞士 Tecan 公司;HH-8 数显恒温水浴锅等。

1.3 样品溶液的制备

用电子天平精确称取粉碎后的小麦麸皮 2.0 g,放入锥形瓶中,加入一定体积的蒸馏水,用热水浸提法提取总糖,提取后进行抽滤、分离,并将取得的滤液定容至容量瓶中,即得总糖提取液。

1.4 样品总糖含量的测定

1.4.1 标准曲线的绘制 精确称取干燥至恒质量的葡萄糖标准样品 20 mg,用蒸馏水定容至 20 mL,得到浓度为 1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液。分别取 0、10、20、30、40、50、

收稿日期:2016-12-21

基金项目:江苏省自然科学基金(编号:BK20150414);江苏省高校自然科学基金(编号:15KJB550001)。

作者简介:朱翠玲(1990—),女,安徽安庆人,硕士,主要从事食品分子营养学的研究。E-mail:1125168757@qq.com。

通信作者:胡卫成,博士,副教授,研究方向为食品化学,E-mail:hu_weicheng@163.com;纪丽莲,博士,教授,研究方向为微生物与生化药学,E-mail:jil2663@sina.com。

60、70 L 标准溶液于小试管中并依次加蒸馏水至 200 L。各加 5% 苯酚溶液 0.4 mL, 混合均匀, 再滴加 2 mL 浓硫酸, 摇匀后于沸水浴中加热 15 min, 冷却至室温后, 在 490 nm 处用酶标仪测定其吸光度 $D_{490\text{nm}}$ 。以葡萄糖浓度 C_1 (g/mL) 为横坐标, 吸光度 $A(D_{490\text{nm}})$ 为纵坐标, 绘制葡萄糖标准曲线, 得到线性回归方程为 $A = 0.125 C_1 - 0.1077, r^2 = 0.9969$ 。

1.4.2 苯酚硫酸法测定其总糖含量 取麸皮多糖提取液 1.0 mL, 加 5% 苯酚溶液 0.4 mL, 摇匀后滴加浓硫酸 2 mL, 混合均匀, 在沸水浴中加热 15 min, 冷却至室温后, 用酶标仪在 490 nm 下测定吸光度。根据回归方程计算小麦麸皮总糖含量:

$$Y_1 = C_1 \times D \times V \div m。$$

式中: Y_1 为总糖含量, mg/g; C_1 为代入标准曲线中计算出的多糖质量浓度, mg/mL; D 为样品溶液的稀释倍数; V 为待测样液的体积, mL; m 为称取麸皮的质量, g; 下同。

1.5 样品单含量的测定

1.5.1 绘制标准曲线 分别取 1 mg/mL 葡萄糖标准溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 加入小试管中, 并加蒸馏水至 1.0 mL。再在各试管中加 3.0 mL DNS, 摇匀, 在沸水浴中加热 15 min, 冷却后颠倒混匀, 用酶标仪在 550 nm 下测其吸光度 $D_{550\text{nm}}$ 。以葡萄糖浓度 C_2 (mg/mL) 为横坐标, 吸光度 $B(D_{550\text{nm}})$ 为纵坐标, 绘制用 DNS 测定下的葡萄糖标准曲线, 得到线性回归方程为 $B = 2.1272 C_2 - 0.0746, r^2 = 0.9972$ 。

1.5.2 DNS 法测定其总单糖含量 取麸皮多糖提取液 1.0 mL, 加 3 mL DNS, 摇匀后在沸水浴中加热 15 min, 冷却至室温后, 用酶标仪在 550 nm 下测定吸光度 $D_{550\text{nm}}$ 。根据回归方程计算小麦麸皮单糖含量:

$$Y_2 = C_2 \times D \times V \div m。$$

式中: Y_2 为单糖含量, mg/g; C_2 为代入标准曲线中计算出的多糖质量浓度, mg/mL。

1.6 麸皮中多糖含量的计算

麸皮粗多糖样品液中含有大量单糖, 要测得其中多糖含量就要用总糖减去单糖的量。苯酚溶液可测总糖含量, DNS 溶液可测单糖含量, 将 2 个得到的结果相减就是所需的多糖含量 Y , 即:

$$Y = Y_1 - Y_2。$$

1.7 单因素试验

1.7.1 提取温度对多糖提取率的影响 准确称取麸皮 2.0 g, 预设料液比为 1 g : 20 mL, 提取时间为 4 h, 分别在 60、70、80、90、100 °C 下用热水浸提法提取小麦麸皮多糖, 以确定提取温度对多糖提取率的影响。

1.7.2 提取时间对多糖提取率的影响 准确称取麸皮 2.0 g, 预设温度为 100 °C, 料液比为 1 g : 20 mL, 提取时间分别选择 1、2、3、4、5 h, 用热水提取法来提取麸皮多糖, 研究提取时间对麸皮多糖提取率的影响。

1.7.3 料液比对多糖提取率的影响 准确称取麸皮 2.0 g, 预设提取温度为 100 °C, 提取时间为 4 h, 分别在 1 g : 10 mL、1 g : 15 mL、1 g : 20 mL、1 g : 25 mL、1 g : 30 mL 的料液比下, 用热水浸提法提取麸皮多糖, 研究料液比对麸皮多糖提取率的影响。

1.8 响应面法优化提取工艺

用 Box - Behnken 响应面法对麸皮多糖的提取工艺优化条件进行研究。在单因素试验后, 以多糖提取率为指标, 以多糖的提取温度、时间、液料比为影响因素, 设计 3 因素 3 水平的试验, 以确定麸皮多糖的最优提取工艺条件。试验因素和水平设计见表 1。

表 1 响应面法试验的因素水平编码

水平	因素		
	A: 提取温度 (°C)	B: 提取时间 (h)	C: 提取料液比 (g : mL)
-1	80	3	1 : 20
0	90	4	1 : 25
1	100	5	1 : 30

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 温度对多糖提取率的影响 由图 1 可知, 多糖提取率会随着温度的升高而提高, 在温度达到 100 °C 时, 提取率为 21.2 (即多糖含量 212 mg/g, 以此类推), 只是随着温度的升高, 多糖得率的增速变得缓慢。

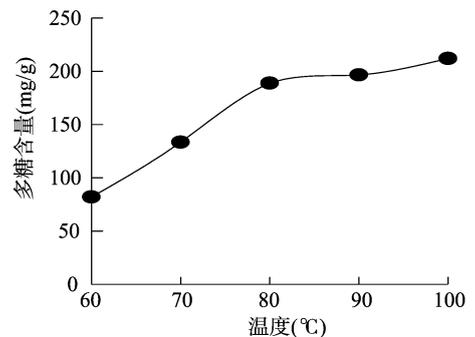


图 1 温度对多糖提取率(含量)的影响

2.1.2 时间对多糖提取率的影响 由图 2 可知, 随着提取时间的延长, 多糖的提取率先逐渐提高, 当提取时间为 4 h 时, 提取率达到最大值, 为 17.95%; 随着提取时间的继续增加, 提取率有所下降, 这可能是由于长时间在高温条件下, 有其他杂质不断地从麸皮中溶出, 使多糖提取率下降。因此可知, 最佳提取时间为 4 h。

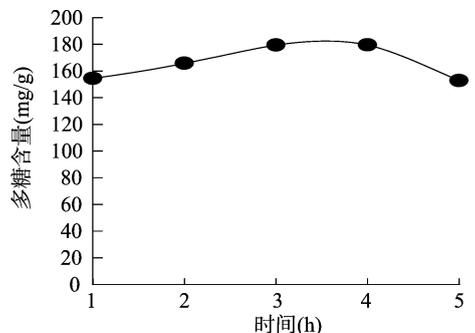


图 2 时间对多糖提取率(含量)的影响

2.1.3 料液比对多糖提取率的影响 由图 3 可知, 麸皮多糖的得率会随着料液比的提高而增大, 当料液比为 1 g : 25 mL 时, 多糖得率达到最大值, 为 22.3%; 随着料液比进一步提高, 多糖得率有所下降。这可能是溶剂过多造成细胞破碎, 导

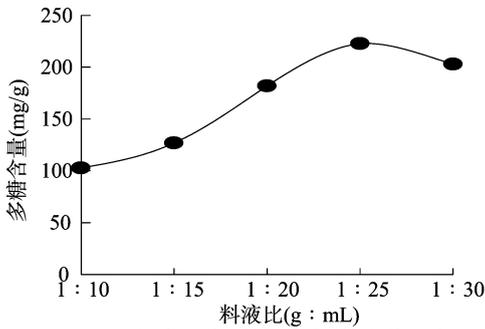


图3 料液比对多糖提取率(含量)的影响

致得率下降,因此麸皮多糖的最佳料液比为 1 g : 25 mL。

2.2 响应面试验结果

根据 Design Expert 8.0.5b 统计分析软件的试验设计功能可知,17 组中心组合设计试验中的 5 组是中心点试验,用来评估整个优化试验中出现的误差,剩下的 12 组是析因试验。以提取时间 A(h)、提取温度 B(°C)、料液比 C(g : mL) 为自变量,以多糖提取率为响应值,试验结果如表 2 所示。用 Design Expert 8.0.5b 软件对优化试验得到的结果进行分析,按各因素对试验结果的影响进行拟合得到二次方程式:

$$Y = 143.46 + 14.86A + 1.71B + 17.51C + 14.67AB + 6.87AC + 6.05BC + 32.63A^2 - 2.37B^2 - 15.35C^2。$$

由表 3 可以看出,整体模型的 F 值是 5.43,并且 $P < 0.05$,说明响应面法拟合得到的试验模型显著性极高; $r^2 = 0.8747$,表明模拟与实际试验拟合得较好。各单因素中对麸皮多糖提取的结果都有显著影响,其影响大小依次是提取时间、提取温度、料液比。

由图 4、图 5、图 6 可以看出,提取温度和提取时间、提取温度和料液比、提取时间和料液比对麸皮多糖提取率的影响表现为明显的二次抛物线,呈交互作用。从响应面的最高点和等值线可以看出,选择范围内的极值,就是响应面的最高点,也是等值线最小椭圆的中心点。

通过软件分析,预测的热水浸提法提取麸皮多糖的最佳工艺条件:提取温度 100 °C,提取时间 5 h,料液比 1 g : 29.95 mL。在此条件下麸皮多糖含量是 220.04 mg/g。因实际操作需要,调整为提取温度 100 °C,提取时间 5 h,料液比 1 g : 30 mL,同时测得麸皮多糖含量为 222.70 mg/g。结果表明,响应面优化得到的提取工艺条件可信。

表 2 响应面分析方案及结果

试验号	因素			多糖含量 (mg/g)
	A:温度 (°C)	B:时间 (h)	C:料液比 (g : mL)	
1	80	3	1 : 25	159.92
2	100	3	1 : 25	171.50
3	80	5	1 : 25	146.60
4	100	5	1 : 25	216.87
5	80	4	1 : 20	150.28
6	100	4	1 : 20	155.06
7	80	4	1 : 30	152.69
8	100	4	1 : 30	184.93
9	90	3	1 : 20	109.41
10	90	5	1 : 20	88.15
11	90	3	1 : 30	151.23
12	90	5	1 : 30	154.16
13	90	4	1 : 25	135.85
14	90	4	1 : 25	142.97
15	90	4	1 : 25	135.53
16	90	4	1 : 25	150.10
17	90	4	1 : 25	152.86

表 3 方差分析结果

来源	平方和	df	均方	F 值	P 值
模型	10 716.80	9	1 190.76	5.43	0.018 2*
A	1 766.73	1	1 766.73	8.05	0.025 1*
B	23.51	1	23.51	0.11	0.012 3*
C	2 454.14	1	2 454.14	11.19	0.075 3
AB	860.58	1	860.58	3.92	0.088 1
AC	188.64	1	188.64	0.86	0.384 6
BC	146.32	1	146.32	0.67	0.441
A ²	4 483.38	1	4 483.38	20.44	0.002 7**
B ²	23.69	1	23.69	0.11	0.071
C ²	992.50	1	992.50	4.52	0.752 1
残差	1 535.10	7	219.36		
失拟项	253.41	3	427.37	6.75	0.048 2*
纯误差	12 252.30	4	63.35		
总离差		16			

注:“*”“**”分别表示有显著($P < 0.05$)、极显著影响($P < 0.01$)。

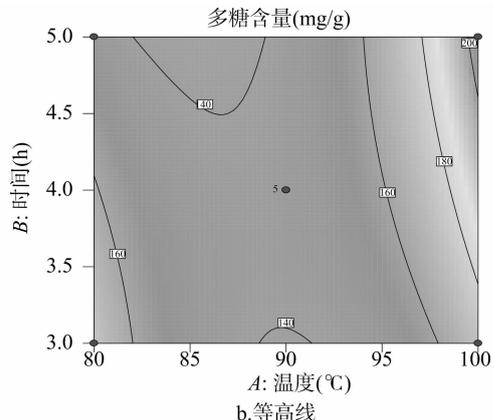
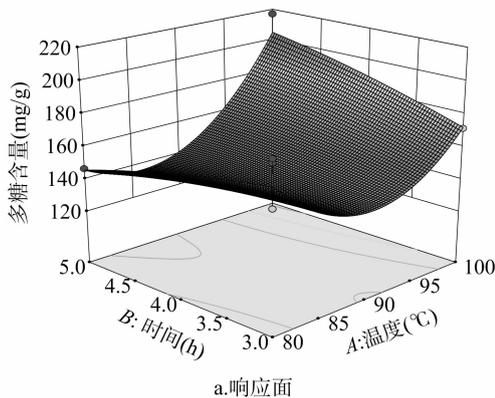


图4 温度与时间对多糖提取率(含量)的交互影响

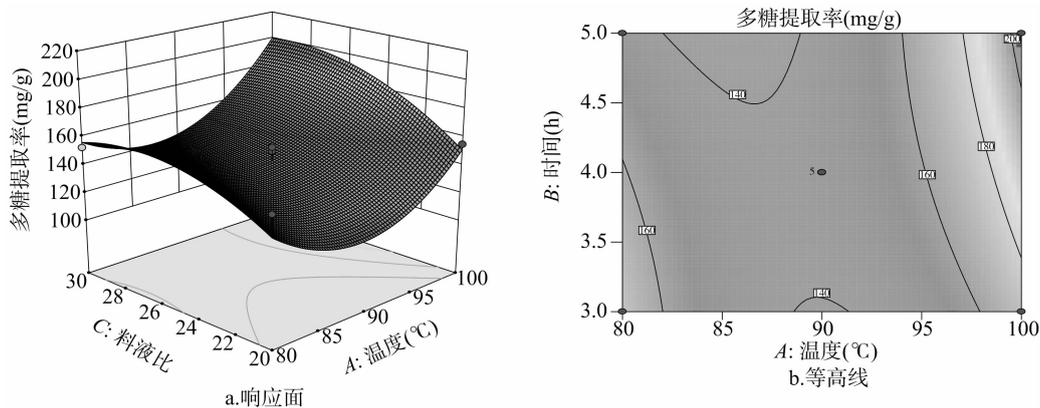


图5 温度与料液比对多糖提取率(含量)的交互影响

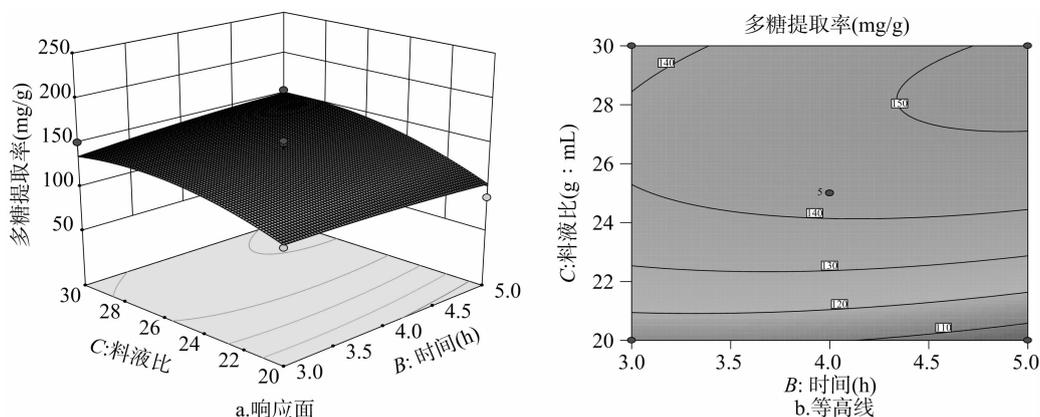


图6 时间与料液比对多糖提取率(含量)的交互影响

本试验所得麸皮多糖得率相关报道^[15-16]较少,主要原因是由于在测量多糖时,文献中并未把单糖含量去掉,苯酚-硫酸法测定的含量即为多糖含量,缺少一定的科学性。本试验采用DNS法测定麸皮中单糖的含量,再以总糖含量减去单糖含量,即为多糖含量,从多角度考虑试验中存在的误差。

3 结论

本试验在单因子试验的基础上,利用Box-Behnken响应面法对麸皮多糖的提取工艺进行研究,得到热水浸提法提取麸皮多糖的最佳条件:提取温度100℃,提取时间5h,料液比1g:30mL,在这样的工艺条件下,麸皮多糖得率为22.27%。与正交设计相比,正交设计只能从预先设计的几个水平中优化组合,所得最佳条件只是理想条件,因此用响应面法得到的条件更具有实用价值。

参考文献:

[1] 林琳. 小麦麸皮的营养成分及其开发利用[J]. 农业科技与装备, 2010, 198(3): 41-42.
 [2] 马亚团, 周文明, 田鹏, 等. 小麦麸皮多糖提取工艺研究[J]. 西北农业学报, 2006, 15(3): 197-200.
 [3] 朱小乔, 刘通讯. 小麦麸皮的功能组分及其在食品中的开发应用[J]. 粮油食品科技, 2000, 8(6): 18-21.
 [4] 马红樱, 张德禄, 胡春香, 等. 植物活性多糖的研究进展[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2004, 40(3): 112-117.

[5] 谢明勇, 聂少平. 天然产物活性多糖结构与功能研究进展[J]. 中国食品学报, 2010, 10(2): 1-11.
 [6] Matsumura Y, Egami M, Satake C, et al. Inhibitory effects of peptide-bound polysaccharides on lipid oxidation in emulsions [J]. Food Chemistry, 2003, 83(1): 107-119.
 [7] 王军, 王忠合, 章斌, 等. 麦麸多糖理化特性与抗氧化性分析[J]. 食品研究与开发, 2015(7): 18-22.
 [8] 王希. 大麦多糖的提取及其生物活性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2008.
 [9] 黄晓君, 聂少平, 王玉婷, 等. 铁石石斛多糖提取工艺优化及其成分分析[J]. 食品科学, 2013, 34(22): 21-26.
 [10] 赵慧霞, 刘昆, 赵泽龙, 等. 响应面法优化磁化水提取燕麦麸皮多糖工艺[J]. 食品科学, 2015, 36(8): 37-43.
 [11] 赵鹏, 张婷婷. 响应面法优化金银花多糖羧甲基化工艺及抗氧化性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015(1): 114-119.
 [12] 高丽萍, 郑光耀, 闫树林, 等. 响应面法优化亚临界水提取银耳多糖工艺研究[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(7): 339-342.
 [13] 俞娟, 刘劲松, 王刚, 等. 响应面法优化马兰多糖提取工艺研究[J]. 中成药, 2015, 37(1): 222-225.
 [14] 沙日娜. 香菇菌糠多糖的提取、组成及抗氧化活性分析[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(12): 325-328.
 [15] 康波, 班金, 刘志雄. 麦麸多糖的提取工艺研究[J]. 粮食加工, 2009, 34(3): 58-60.
 [16] 王吉中, 冯昕, 冯永强, 等. 麦麸多糖提取工艺及其抑菌活性的研究[J]. 食品工业, 2011(11): 1-4.