

王文成,林衍生,连建枝,等. 金线莲根茎水提工艺优化研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):287-290.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.098

金线莲根茎水提工艺优化研究

王文成^{1,2},林衍生³,连建枝⁴,张丽红^{1,2}

(1. 农产品深加工及安全福建省高校应用技术工程中心,福建漳州 363000;2. 漳州职业技术学院食品与生物工程系,福建漳州 363000;
3. 福建医科大学附属漳州市医院药学部,福建漳州 363000;4. 儒兰福建生物科技有限公司,福建漳州 363000)

摘要:以金线莲组培苗根茎为研究材料,采用超声波浸提法,选取超声波功率、浸提时间、水提温度为单因素水平,进行多糖、游离氨基酸提取工艺优化研究。结果表明:在超声波功率为 89 W、浸提时间为 68.5 min、水提温度为 79 ℃ 条件下,试验测得多糖 2.45 mg/mL,氨基酸 0.61 mg/mL,综合分值 0.952,综合评价指标最高。

关键词:金线莲;多糖;游离氨基酸;响应面法;提取工艺优化

中图分类号:TS275.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)07-0287-04

金线莲是我国南方名贵的草药,有着“金草”“神药”的美誉。近年来随着组培技术的成熟,试管苗生产得以迅猛发展,目前组培产品已占市场份额的 80% 以上。尽管如此,由于其生长周期较长,金线莲价格依旧居高不下。金线莲采用组培方式生产中,试管苗叶片部分常被加工烘干成产品进行出售,根茎部分往往由于加工后成色不好,被大量丢弃,造成极大浪费。因而非常有必要开展金线莲茎和根进行功能性物质提取研究,以提高试管苗生产效益。目前金线莲功能性物质提取研究已有报道,但多是针对金线莲本身进行单项功能物质优化提取等方面研究^[1-7],针对试管苗根、茎进行复合物质提取鲜有报道。本研究从功能性大众饮料生产角度,采用超声波浸提法对金线莲根茎部分浸提,以粗多糖、游离氨基酸含量作为评价指标,优化前处理加工工艺,为今后综合开发金线莲功能性饮料提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验材料为金线莲组培苗的根、茎。葡萄糖、苯酚、硫酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、茚三酮、谷氨酸均为分析纯。

1.2 试验设备

紫外可见分光光度计 UV-1800PC-DS2(上海美谱达仪器有限公司);恒温水浴锅(常州国华电器有限公司);分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);自动纯水蒸馏器(上海嘉鹏科技有限公司);九阳 JYL-D055 榨汁机(九阳股份有限公司);KQ-100VDE 台式双频数控超声波清洗器(昆山市超声波仪器公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 试液制备 取金线莲组培苗根茎 10 kg,清洗后阴凉处沥水 12 h,以每份 100 g 为 1 组,粉碎研磨后加水定容至 1 500 mL,再进行超声波辅助提取。在不同的超声波功率、提取时间、提取温度条件下,抽取金线莲提取液后进行测定,测定重复 3 次,测量结果取平均值。

1.3.2 多糖测定 采用苯酚-硫酸法^[8]进行葡萄糖测定。

葡萄糖标准曲线绘制:精确吸取 0.10 mg/mL 的葡萄糖工作液 0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL 于 20 mL 具塞试管中,补水至 1.00 mL;各加入 5% 苯酚 0.6 mL、浓硫酸 6 mL,摇匀冷却,室温放置 20 min;以 0 号管为空白参比,于 490 nm

收稿日期:2014-07-26

基金项目:福建省教育厅 A 类课题(编号:JA13385);漳州职业技术学院科研计划资助项目(编号:ZZY1305)。

作者简介:王文成(1982-),男,福建漳州人,硕士,讲师,主要从事功能性产物提取开发的研究。E-mail:75621278@qq.com。

通信作者:张丽红,硕士,副教授,主要从事食品工艺研发与分析的研究。E-mail:zhong1970@163.com。

$0.031\ 532 \times \text{转速} + 5.557\ 27 \times \text{时间} \times \text{转速} + 1.011\ 71 \times \text{时间}^2 + 4.203\ 54 \times \text{转速}^2$ 。本试验研究初步探索了不同因素水平下三七球磨法超微粉碎的粒径与能耗的关系,找出最优组合,但是没有分析出粒径与能耗的确切函数关系,还需要进一步研究。

参考文献:

- [1]王泽红,陈炳辰. 球磨机有用功率与其工作参数关系的研究[J]. 中国矿业,2001,10(4):54-57.
- [2]毛益平,陈炳辰,高继森. 球磨机有功功率和磨矿效率影响因素研究[J]. 矿冶工程,2000,12(4):48-50.

- [3]何科. 三七的药理作用研究进展[J]. 中国民族民间医药,2011(6):21-23.
- [4]陈开文,谭涌. 中药超微粉碎应用研究概况[J]. 中国药业,2006,15(2):75-77.
- [5]苏艳丽,傅正义,张金咏,等. 三七的超细粉碎研究[J]. 武汉理工大学学报,2005,27(1):22-24.
- [6]周玉梅,卢伟文,韦鸿钰,等. 三七球磨法超微粉碎工艺研究[J]. 食品科技,2015,40(3):95-99.
- [7]陈魁. 试验设计与分析[M]. 北京:清华大学出版社,2005:78-81.
- [8]陆金. 银杏机械化脱壳的动态能耗试验研究[D]. 广州:仲恺农业工程学院,2013:28-40.

处测定吸光度,每浓度设重复测定3次。以葡萄糖浓度 C (mg/mL) 为横坐标,以吸光度 D 为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程 $D = 6.437C - 0.019$ ($R^2 = 0.991$)。

1.3.3 游离氨基酸测定 参照 GB/T 8314—2002《茶游离氨基酸总量测定》进行金线莲游离氨基酸测定。

氨基酸标准曲线的制作:分别吸取 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 氨基酸工作液于 25 mL 容量瓶中,各加水 4 mL、pH 值 8.0 的磷酸盐缓冲液 0.5 mL 和 2% 的茚三酮溶液 0.5 mL,再沸水浴 15 min,冷却后加水定容至 25 mL,测定吸光度 (D) 并绘制曲线,计算得回归方程 $D = 0.070C - 0.021$ ($R^2 = 0.949$)。

1.3.4 综合指标 以多糖、游离氨基酸含量值为指标,运用隶属度综合评分法对金线莲根茎水浸提工艺进行综合评分。

$$l = \frac{C_i - C_{\min}}{C_{\max} - C_{\min}} \quad (1)$$

式中, C_i 为指标值, C_{\min} 为指标最小值, C_{\max} 为指标最大值。

按式(2)进行加权得干燥工艺的综合分 S 。

$$S = al_1 + bl_2 \quad (2)$$

式中, l_1 为指标 1 的隶属度, l_2 为指标 2 的隶属度, a 为指标 1 的权值, b 为指标 2 的权值。本研究以多糖提取得率为主要指标,游离氨基酸提取得率为次要指标,于是取 $a = 0.6$, $b = 0.4$ 。考虑到检测的差异性,以上指标的检测重复 3 次,测量结果取平均值^[9-10]。

1.4 单因素试验设计

1.4.1 超声波功率对多糖和游离氨基酸含量的浸提影响

将试验条件固定为浸提温度为 65 °C、浸提时间 50 min,分别调节超声波功率为 60、70、80、90、100 W,过滤后测定提取液中多糖和游离氨基酸的含量。

1.4.2 浸提温度对多糖和游离氨基酸含量的浸提影响 将试验条件固定为超声波功率 90 W、浸提时间 50 min,分别测试浸提温度为 60、65、70、75、80 °C,过滤后测定提取液中多糖和游离氨基酸的含量。

1.4.3 浸提时间对多糖和游离氨基酸含量的浸提影响 将试验条件固定为超声波功率 90 W、浸提温度为 75 °C,分别测试浸提时间 40、50、60、70、80 min,过滤后测定提取液中多糖和游离氨基酸的含量。

1.5 响应面试验设计

综合单因素试验结果,根据 Box - Benhnken 中心组合试验设计原理,选取超声波功率 (x_1)、浸提时间 (x_2) 和水提温度 (x_3) 为试验因素,以综合评分为响应值,进行 3 因素 3 水平响应面分析试验,优化金线莲根茎水提工艺条件。试验因素和水平见表 1。

表 1 响应面分析因子及水平

编码水平	因子		
	x_1 : 超声波功率 (W)	x_2 : 浸提时间 (min)	x_3 : 水提温度 (°C)
-1	80	50	70
0	90	60	75
1	100	70	80

1.6 数据处理方法

采用 Design - Expert. V 8.0.5 软件对试验数据进行回归

分析,多项式模型方程拟合的性质由决定系数 R^2 表达,统计学的显著性用 F 值检验。

2 结果与分析

2.1 单因素结果分析

2.1.1 超声波功率对多糖和游离氨基酸含量的浸提影响

从图 1 可以看出,随着超声功率的升高,多糖和游离氨基酸的提取均呈现先增大后减小趋势,当超声比功率为 90 W 时,二者的提取得率均达到最高值,而功率达 100 W 时,提取效率又略有降低。这是由于在超声波产生的两大效应:空穴效应和热效应中,当超声强度较小时,热效应可以忽略不计,此时超声波功率越高,能量越大,产生的空化气泡越大,细胞壁就被破坏得越完全,相应的细胞内多糖及游离氨基酸的提取得率增大;但随着超声强度的增加,产生的大量无用气泡,增加了声波散射衰减,空化效应削弱,热效应此时起主要作用,这就可能造成细胞内多糖及游离氨基酸的提取得率的降低^[11-12]。综合考虑,超声波功率取 90 W 左右为宜。

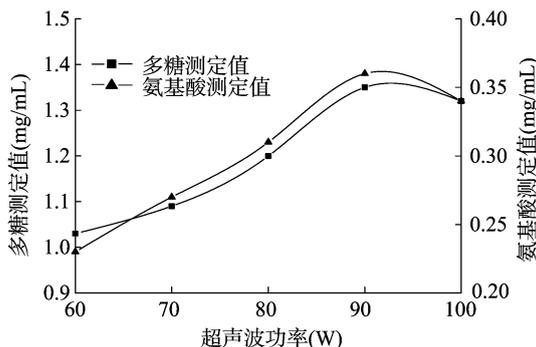


图 1 超声波功率对多糖及游离氨基酸提取得率的影响

2.1.2 水提温度对多糖和游离氨基酸含量的浸提影响 从图 2 可以看出,在 60~75 °C 范围内,随着水提温度的升高,多糖、游离氨基酸提取得率不断升高,并于 75 °C 时达到最高值,随后微有下降;多糖在 75 °C 过后下降的趋势要比游离氨基酸明显。说明水提温度过高可能导致多糖降解,从而引起提取得率下降,所以浸提温度不宜过高,而游离氨基酸则相对耐受温度要高一些。综合考虑取浸提温度 75 °C 左右为宜。

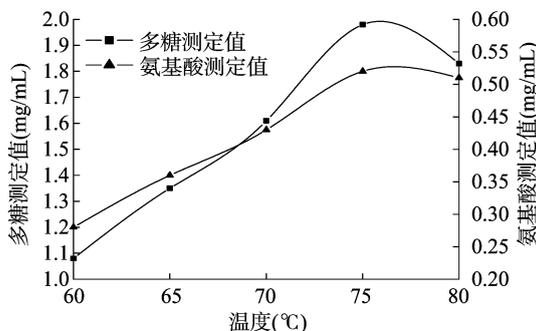


图 2 水提温度对多糖及游离氨基酸提取得率的影响

2.1.3 浸提时间对多糖和游离氨基酸含量的浸提影响 从图 3 可以看出,在浸提时间为 40~60 min 范围内,随着浸提时间的延长,多糖、游离氨基酸提取得率随着时间的延长而增加。60 min 以后,多糖、游离氨基酸先后出现提取得率降低的趋势。这是由于在 60 min 之前,由于时间较短,多糖、游离氨

氨基酸溶解不充分,故浸提时间与浸提得率呈正相关,而在60 min之后,多糖、游离氨基酸在75℃温度下长时间浸提出现部分降解,该趋势随着时间的推移对提取得率的负面效应要大于正面效应,因而提取得率不再随浸提时间的延长而显著增加。此外,亦有文献指出长时间的超声波萃取会对提取效果产生不利的影响^[12]。单从各指标的提取得率上看,多糖较好的提取时间是在60 min左右,而游离氨基酸则为70 min左右。考虑到本试验中多糖的权重要大于游离氨基酸。因此,综合考虑浸提时间设在60 min左右为宜。

2.2 响应面法优化试验结果

在单因素试验的基础上,固定超声波功率90 W、浸提时间60 min、水提温度75℃等参数,对金线莲根茎水提工艺进行响应面法优化。

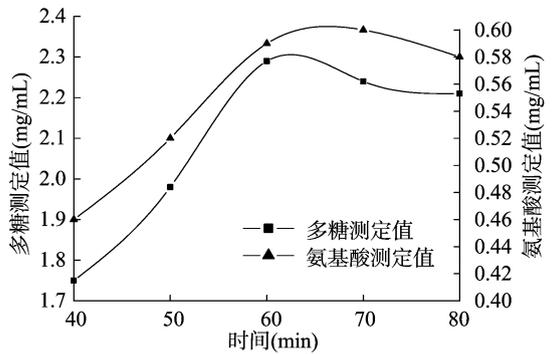


图3 浸提时间对多糖及游离氨基酸提取得率的影响

2.2.1 试验结果数据 响应面法试验方案及试验结果见表2。

表2 试验设计及其结果

试验号	因素水平编码			响应值				综合分S
	超声波功率 x_1	浸提时间 x_2	水提温度 x_3	多糖测定值 (mg/mL)	氨基酸测定值 (mg/mL)	多糖测定值隶属度	氨基酸测定值隶属度	
1	-1	0	1	2.17	0.52	0.708	0.520	0.633
2	0	0	0	2.23	0.57	0.771	0.720	0.751
3	0	1	-1	1.84	0.53	0.365	0.560	0.443
4	-1	-1	0	1.52	0.39	0.031	0.000	0.019
5	1	0	-1	2.15	0.45	0.688	0.240	0.509
6	0	0	0	2.45	0.61	1.000	0.880	0.952
7	-1	0	-1	1.49	0.43	0.000	0.160	0.064
8	0	-1	1	2.18	0.47	0.719	0.320	0.559
9	0	0	0	2.09	0.57	0.625	0.720	0.663
10	0	0	0	2.29	0.59	0.833	0.800	0.820
11	-1	1	0	2.17	0.58	0.708	0.760	0.729
12	0	1	1	2.32	0.64	0.865	1.000	0.919
13	1	-1	0	2.23	0.54	0.771	0.600	0.703
14	1	1	0	2.01	0.48	0.542	0.360	0.469
15	1	0	1	2.19	0.53	0.729	0.560	0.662
16	0	-1	-1	2.01	0.51	0.542	0.480	0.517
17	0	0	0	2.38	0.6	0.927	0.840	0.892

2.2.2 响应曲面分析 利用 Design - Expert. V 8.0.5 软件对试验数据进行回归分析,得回归方程:

$$S = 0.82 + 0.11x_1 + 0.095x_2 + 0.16x_3 - 0.24x_1x_2 - 0.10x_1x_3 + 0.11x_2x_3 - 0.24x_1^2 - 0.097x_2^2 - 0.11x_3^2$$

其中S为金线莲根茎水提工艺综合评分响应值, x_1 、 x_2 、 x_3 为超声波功率、浸提时间、水提温度编码值。

由方差分析结果(表3)可知,模型项P值等于0.001,表明该模型高度显著,失拟度0.853 > 0.01,说明该模型可信度高,试验数据与模型不相符合的情况不显著,而且调整确定系数与预测确定系数之差($Adj - R^2 - Pre - R^2$) < 0.2,说明模型的试验值与预测值相关性较高,模型准确^[11,1]。回归方程的 $R^2 = 0.9437$ 与校正 $R^2 = 0.8714$ 相近,表明金线莲根茎水提工艺综合评分试验值和预测值有较好的拟合度,可用于试验结果的预测^[13-16]。从数据上看 x_3 、 x_1x_2 对金线莲根茎水提工艺综合评分曲面效应影响极其显著, x_1 、 x_2 影响显著,而 x_2x_3 、 x_1x_3 影响不显著,影响金线莲根茎水提工艺的3个影响因素的主次顺序为 $x_3 > x_1 > x_2$,即水提温度 > 超声波功率 > 浸提时间。

表3 回归模型方差分析

变异源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型项	1.040	9	0.12	13.05	0.001	**
x_1	0.100	1	0.10	11.39	0.012	*
x_2	0.073	1	0.073	8.20	0.024	*
x_3	0.190	1	0.19	21.72	0.002	**
x_1x_2	0.220	1	0.22	25.17	0.002	**
x_1x_3	0.043	1	0.043	4.89	0.063	
x_2x_3	0.047	1	0.047	5.32	0.054	
x_1^2	0.240	1	0.24	27.19	0.001	**
x_2^2	0.039	1	0.039	4.44	0.073	
x_3^2	0.051	1	0.051	5.71	0.048	*
残差	0.062	7	0.009			
失拟度	0.010	3	0.003	0.26	0.853	
纯误差	0.052	4	0.013			
总变异	1.100	16				

注: $R^2 = 0.9437$, $R_{adj}^2 = 0.8714$, $R_{pred}^2 = 0.7806$ 。

图4直观地反映了当水提温度固定时,超声波功率和浸提时间的交互作用。在选定的条件范围内,响应面等高线相

对较为密集,坡度较为陡峭,表明响应值(金线莲根茎水提工艺综合评分)对超声波功率和浸提时间交互作用的改变较为敏感,金线莲根茎水提工艺综合评分较高值落在两坐标编码值的中间偏上区域。随着超声波功率的变大或变小,和浸提时间的变长或变短,金线莲根茎水提工艺综合评分值都下降。

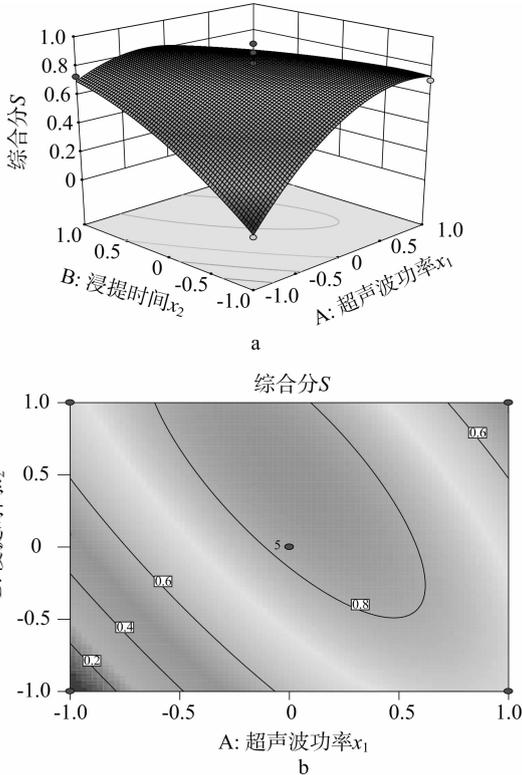


图4 超声波功率和浸提时间对水提工艺综合评分 S 的影响

2.2.3 水提工艺参数优化 以综合评分为响应值,利用软件对试验数据进行最优化分析,得到当 $x_1 = -0.11$, $x_2 = 0.85$, $x_3 = 0.70$,即超声波功率为 88.9 W,浸提时间为 68.5 min,水提温度为 78.5 °C时,综合评分最高,达 0.961。考虑到实际操作的方便,取超声波功率为 89 W、浸提时间为 68.5 min、水提温度为 79 °C时,进行验证性试验测得多糖 2.45 mg/mL,游离氨基酸 0.61 mg/mL,综合分值 0.952,试验值与预测值接近,验证了该模型的可靠性。

3 结论

在本试验中根据响应面中心组合设计理论得出:在设定考察的 3 个因素及考量的区域中水提温度对产品的综合提取效果影响最大,超声波功率次之,浸提时间最小。

建立了金线莲根茎水提工艺的综合分与水提温度、超声波功率、浸提时间的二次多项式回归模型,得到最佳工艺参数。经试验验证,超声波功率为 89 W、浸提时间为 68.5 min、水提温度为 79 °C时,验证性试验测得多糖 2.45 mg/mL,游离

氨基酸 0.61 mg/mL,综合分值 0.952,相对误差为 0.93%。试验值与理论值是吻合的,证明了该模型的合理可靠性。

响应面法直观地分析了因素交互项的影响,得出了超声波功率和浸提时间的交互作用对综合分指标影响显著,而其他因素交互作用不显著。

参考文献:

- [1] 赵保发,张志信,张仕秀,等. 正交试验法优选金线莲总黄酮的提取工艺[J]. 保山师专学报,2008,27(5):59-60.
- [2] 林丽清,黄丽英,钟添华,等. 金线莲多糖的分离纯化与含量测定[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(8):1037-1039.
- [3] 张茶妹,周文富. 正交优选超声波辅助提取三明药用植物金线莲中总氨基酸的工艺研究[J]. 化学与生物工程,2013,30(2):78-82.
- [4] 余杰,崔仕超,张晓辉,等. 响应面分析法优化金线莲多糖提取过程的研究[J]. 汕头大学学报:自然科学版,2009,24(4):55-60.
- [5] 王文成,林衍生,陈建福. 金线莲保健型红茶饮品开发工艺研究[J]. 食品工业,2013(10):148-151.
- [6] 关璟,王春兰,郭顺星,等. 福建金线莲总黄酮提取工艺的研究[J]. 中国药学杂志,2008,43(21):1615-1617.
- [7] 张秀才,吴岩斌,吴锦玉,等. 金线莲总黄酮回流提取工艺研究[J]. 福建中医药,2013,44(4):53-55.
- [8] Cuesta G, Suarez N, Bessio M I, et al. Quantitative determination of pneumococcal capsular polysaccharide serotype 14 using a modification of phenol-sulfuric acid method[J]. Journal of Microbiological Methods,2003,52(1):69-73.
- [9] 张黎骅,张文,吕珍珍,等. 响应面法优化酒精微波间歇干燥工艺[J]. 农业工程学报,2011,27(3):369-374.
- [10] 李云雁,胡传荣. 试验设计与数据处理[M]. 北京:化学工业出版社,2005:134-136.
- [11] 朱俊向,吴昊,杨绍兰,等. 超声辅助提取冻干番茄粉番茄红素的工艺优化[J]. 农业工程学报,2013,29(18):284-291.
- [12] Kumcuoglu S, Yilmaz T, Tavman S. Ultrasound assisted extraction of lycopene from tomato processing wastes[J]. Journal of Food Science and Technology,2014,51(12):4102-4107.
- [13] Konwarh R, Pramanik S, Kalita D, et al. Ultrasonication—a complementary 'green chemistry' tool to biocatalysis: a laboratory-scale study of lycopene extraction[J]. Ultrasonics Sonochemistry,2012,19(2):292-299.
- [14] Li Y, Fabiano-Tixier A S, Tomao V, et al. Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids based on the bio-refinery concept using sunflower oil as an alternative solvent[J]. Ultrasonics Sonochemistry,2013,20(1):12-18.
- [15] 陈君琛,周学划,赖谱富,等. 大球盖菇漂烫液喷雾干燥制营养精粉工艺优化[J]. 农业工程学报,2012,28(21):272-279.
- [16] 牟建楼,王颀. 响应面法优化灵芝枣饮料工艺及其抗氧化性研究[J]. 中国食品学报,2013,13(11):21-27.