

响应面法优化白背三七多糖的提取工艺

朱亚松^{1,2,3,4}, 许伟^{2,3}, 邵荣^{2,3}, 朱跃钊¹, 程德林⁴, 廖传华^{1*}

(¹南京工业大学机械与动力工程学院,南京 211816; ²盐城工学院化学化工学院,盐城 224051; ³江苏省海洋滩涂生物化学与生物技术重点建设实验室,盐城 224051; ⁴盐城康林达生物科技有限公司,盐城 224051)

摘要 以白背三七为原料,采用微波辅助法提取白背三七多糖。在单因素实验的基础上,采用响应面法优化白背三七多糖的提取工艺。实验结果表明,影响微波辅助提取白背三七多糖的主要因素依次为:液料比、微波时间、微波功率,其中料液比对提取率的影响达到了极其显著水平。白背三七多糖提取的最佳工艺参数为:液料比 45:1 (mL/g)、微波功率 390 W、微波时间 22 min。在此条件下,白背三七多糖的提取率为 15.36%,与模型预测值接近。因此,采用响应曲面法优化得到的工艺条件具有一定的实际应用价值。

关键词 白背三七;多糖;微波;响应面

中图分类号 Q539; Q503 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2016)03-0359-04

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160319

引用本文 朱亚松,许伟,邵荣,等. 响应面法优化白背三七多糖的提取工艺[J]. 中国药科大学学报,2016,47(3):359-362.

Cite this article as: ZHU Yasong, XU Wei, SHAO Rong, et al. Optimization of microwave extraction condition of *Gynura divaricata* polysaccharide by response surface analysis[J]. *J China Pharm Univ*, 2016, 47(3):359-362.

Optimization of microwave extraction condition of *Gynura divaricata* polysaccharide by response surface analysis

ZHU Yasong^{1,2,3,4}, XU Wei^{2,3}, SHAO Rong^{2,3}, ZHU Yuezhao¹, Cheng Delin⁴, LIAO Chuanhua^{1*}

¹School of Mechanical and Power Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816; ²School of Chemistry and Chemical Engineering, Yancheng Institute of Technology, Yancheng 224051; ³Jiangsu Key Laboratory of Biochemistry and Biotechnology of Marine Wetland, Yancheng 224051; ⁴Yancheng Kanglinda Biotechnology Co., Ltd., Yancheng 224051, China

Abstract *Gynura divaricata* polysaccharide was extracted from *Gynura divaricata* with the method of microwave-assisted extraction. Based on the results of single factor experiments, the extraction process was optimized by response surface analysis. The results indicated that the influencing factors during extraction were: liquid-solid ratio, microwave time, and microwave power, among which the influence of liquid-solid ratio was the most significant. The optimal conditions were as follows: liquid-solid ratio of 45:1 (mL/g), microwave power of 390 W, microwave time of 22 min. Under optimal extraction conditions, the extraction rate of *Gynura divaricata* polysaccharide was 15.36%, which was pretty close to the predicted result. The optimized response surface methodology had some practical value for the process.

Key words *Gynura divaricata*; polysaccharide; microwave; response surface

This study was supported by the Industry-University Prospective Joint Research Project of Jiangsu Province (No. BY2015057-29); and the National Spark Program of China (No. 2015GA690049)

白背三七, *Gynura divaricata* (L.) DC, 又称明目草,《中华本草》收录的中草药之一^[1],是一种生

长在台湾至华南地带的菊科三七草属植物。白背三七可药食两用,民间人们常将白背三七作为降血

糖药物进行食用,能有效地起到降血糖的效果。白背三七多糖,白背三七中主要活性成分之一,其提取工艺及降糖机制受到许多相关学者的关注。姜曼花等^[2]首次对白背三七多糖的提取进行了研究,并用正交实验对其工艺进行了优化,以小白鼠为对象验证了其降糖效果;刘薇薇等^[3]通过考察不同提取因素对白背三七多糖提取率的影响,得出在最优工艺条件下,粗多糖提取率为9.01%。常规的水提法提取多糖,存在提取率低、提取时间长等一系列的缺点^[4-5]。而利用微波辅助提取法可以有效地提高多糖的提取率,并且大大缩短提取时间,高效快速地提取多糖^[6]。

为了最大限度地提取白背三七多糖,本文将采取微波辅助水溶剂提取方法,通过单因素实验确定最优工艺参数范围,并采用响应面法对其进行工艺优化,为白背三七多糖的进一步开发提供研究基础。

1 材料

1.1 药材和试剂

白背三七(广东草本植物种植场);所用试剂均为市售分析纯;去离子水(实验室自制)。

1.2 仪器

XO-SM50 超声波微波组合反应系统(南京先欧生物科技有限公司);752 紫外可见分光光度计(上海佑科仪器有限公司);DFY-500 摆摆式药材粉碎机(江阴市丫匀机械制造有限公司);AUY220 电子天平(日本岛津公司)。

2 方法

2.1 多糖标准曲线的绘制

称取葡萄糖标准品10 mg于100 mL量瓶中,加去离子水稀释至刻度线,摇匀,即得到浓度为0.1 mg/mL的葡萄糖标准溶液。吸取配置好的葡萄糖标准溶液0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 mL,再全部加去离子水至2 mL,加入5%苯酚溶液1 mL,摇匀,用移液管向每支试管中加入浓硫酸5 mL显色,振荡5 min,放置15 min后,在40 °C的水浴中加热10 min,再冰水浴中冷却30 min后,于490 nm^[7]处测其吸收度。以纯水2 mL按照同样的条件作为空白对照,横坐标X为多糖的质量浓度(mg/mL),纵坐标Y为吸收度,得到标准曲线

回归方程: $Y = 16.1929X + 0.00586$, $r = 0.9990$ 。

2.2 白背三七多糖提取工艺

将白背三七粉碎并过100目筛,在一定工艺条件下进行微波辅助提取操作,冷却至室温后,真空抽滤,收集并准确测量滤液体积,取1 mL滤液并稀释至100 mL,采用苯酚-硫酸法计算溶液多糖浓度值。

2.3 单因素实验

精确称取过100目的白背三七2.5 g,分别研究不同液料比、微波功率和微波时间对白背三七多糖提取率的影响。各单因素水平为:液料比20:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1 (mL/g);微波功率200, 300, 400, 500, 600 W;微波时间10, 15, 20, 25, 30 min。每个处理平行测定3次,取多糖浓度的平均值。

2.4 响应面法优化实验设计

在单因素实验的基础上,从每个因素中选取3个水平进行响应面实验方案设计。根据Box-Behnken实验设计原理,以白背三七多糖提取率(Y, %)为响应值,设计三因素三水平的研究(见表1),来优化微波辅助水提取白背三七多糖的工艺,以得到最大的多糖提取率。

Table 1 Factors and levels of response surface methodology

Factors	Level		
	-1	0	1
X_1 /(mL/g)	30:1	40:1	50:1
X_2 /W	300	400	500
X_3 /min	15	20	25

X_1 : Liquid-solid ratio; X_2 : Power; X_3 : Time

3 结果与讨论

3.1 微波辅助水提取白背三七多糖的单因素实验结果

随着液料比的增加,多糖的提取率也相应增加,这和陈毅挺等^[8]采用微波辅助水提取翻白草工艺的液料比增长趋势相似,说明较多的水溶剂有利于白背三七中多糖的析出,当液料比大于40:1 (mL/g)时,提取率的增长趋势趋于平缓,考虑到生产成本等因素,选择液料比40:1 (mL/g)为最佳的提取水平。

白背三七多糖的提取率随着功率的增加呈先增加后减小的趋势,这可能是由于功率的增加导致细胞壁破坏程度加剧,加快了多糖的析出速率,且微波可使溶剂的温度升高,对多糖的溶解率增加,

在一定程度上提高了多糖的提取率, 这与 Thirugnanasambandham 等^[9]利用微波辅助提取桑叶多糖中功率对提取率影响相一致。当微波功率超过 400 W 时, 多糖的提取率则随着功率的增大而减少。这可能是微波功率过大时, 导致多糖的变性, 且功率过高会造成提取液局部温度过高, 导致多糖的分解, 从而使多糖的提取率降低。综合考虑, 最佳的提取功率为 400 W。

当微波时间小于 20 min 时, 多糖的提取率随时间的增加逐渐增加, 但微波 20 min 以后, 多糖的提取率不再继续增加, 可能是随着微波时间的增加, 多糖的浸出程度虽然有所增加, 但也会造成多糖的变性, 同时也会使提取液的温度增加, 从而造成多糖的水解程度加大, 综合而言, 多糖的提取率呈平稳趋势, 这与程振宇等^[10]微波辅助提取北五味子多糖中时间对提取率的影响相一致。考虑到生产成本等因素, 最佳的提取时间为 20 min。

3.2 响应面优化实验的结果

对液料比(X_1)、微波功率(X_2)和微波时间

(X_3)3 个因素进行响应面设计, 优化白背三七多糖的提取工艺, 结果分析见表 2 和表 3。

Table 2 Results of response surface experiment

Run	X_1	X_2	X_3	$Y/\%$
1	-1	-1	0	11.38
2	1	-1	0	13.83
3	1	1	0	10.71
4	-1	1	0	13.16
5	-1	0	-1	11.59
6	1	0	-1	14.05
7	-1	0	1	12.58
8	1	0	1	14.99
9	0	-1	-1	12.45
10	0	1	-1	12.09
11	0	-1	1	13.57
12	0	1	1	12.89
13	0	0	0	14.68
14	0	0	0	14.93
15	0	0	0	15.07
16	0	0	0	15.18
17	0	0	0	15.29

Table 3 Variance analysis of regression model

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	P	Significant
Model	34.61	9	3.85	114.28	<0.0001	**
X_1	11.93	1	11.93	354.54	<0.0001	**
X_2	0.71	1	0.71	21.04	0.0025	*
X_3	1.85	1	1.85	55.06	0.0001	*
$X_1 X_2$	0.000	1	0.000	0.000	1.000	-
$X_1 X_3$	0.000625	1	0.000625	0.019	0.8954	-
$X_2 X_3$	0.026	1	0.026	0.76	0.4120	-
X_1^2	5.13	1	5.13	152.42	<0.0001	**
X_2^2	11.55	1	11.55	343.21	<0.0001	**
X_3^2	1.64	1	1.64	48.68	0.0002	*
Residual	0.24	7	0.034	-	-	-
Lack of Fit	0.011	3	0.003792	0.068	0.9742	-
Pure Error	0.22	4	0.056	-	-	-
Cor Total	34.85	16	-	-	-	-

** $P < 0.0001$; * $P < 0.05$

由表 3 可知, 该模型极其显著($P < 0.0001$), $R^2 = 0.9932$, 表明该模型白背三七多糖得率的拟合值和实验值之间具有很好的拟合度。该模型的失拟项 $P > 0.10$, 表明二次模型是合适的。

对模型系数显著性分析可知, X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对白背三七多糖的提取率影响显著, 其中因

素 X_1 、 X_1^2 、 X_2^2 对多糖提取率影响极其显著。一次项中各因素对白背三七多糖提取率的影响显著性由大到小依次为: 液料比(X_1)、微波时间(X_3)、微波功率(X_2)。拟合后得到关于液料比、微波功率、微波时间和白背三七多糖提取率(Y)的二次多项式回归模型为:

$$Y(\%) = 15.03 + 1.22X_1 - 0.03X_2 + 0.48X_3 + 0.00X_1X_2 - 0.013X_1X_3 - 0.08X_2X_3 - 1.10X_1^2 - 1.66X_2^2 - 0.62X_3^2$$

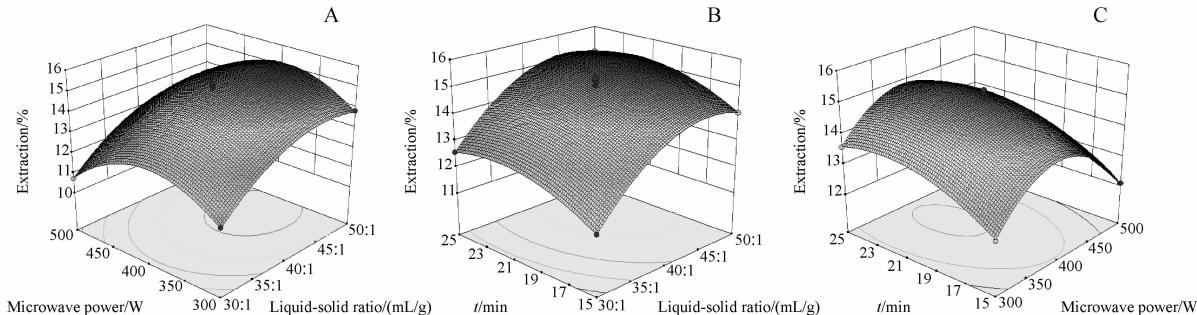


Figure 1 Response surface plot on the rate of polysaccharide extraction

从图 1-A 可以看出,当微波时间处于最佳值时,液料比对多糖的提取率影响较明显,随着液料比和微波功率的增大,多糖的提取率呈先快速增加后趋缓的趋势;从图 1-B 可以看出,当微波功率处于最佳值时,多糖的提取率随着随着微波时间和液料比的增加呈先升高再略有下降的趋势;从图 1-C 可以看出,当液料比在最佳值时,随着微波功率和微波时间的增加,多糖的提取率呈先升高后降低的趋势。这是由于微波功率过大以及微波时间过长会使提取液的温度增加,导致多糖的变性和水解程度变大,从而降低了多糖的提取率。

综上所述,液料比是影响白背三七多糖提取率的主要因素,时间是影响多糖提取率的次要因素,微波功率对提取率影响较小。响应面优化结果表明微波辅助水提取白背三七多糖的最优工艺参数为:液料比 45.51:1 (mL/g),微波功率 390.09 W,时间 21.93 min。在此工艺条件下产物中白背三七多糖的理论提取率可达到 15.47%。

3.4 回归模型验证

考虑到实际操作及实验的可行性,将微波辅助水提白背三七多糖的最优工艺参数设定为:液料比 45:1 (mL/g)、微波功率 390 W、微波时间 22 min。在此提取条件下,白背三七多糖的提取率为 15.36%,相对偏差为 0.11%,证明该模型是合理有效的。微波辅助水提白背三七多糖比传统水提法提高了 6% 左右^[11],大大提高了多糖的提取率,为其大规模生产及工业化提供了理论基础。

3.3 响应面曲面的数据分析

响应面优化多糖提取实验中两因素间交互作用影响见图 1。

参 考 文 献

- [1] Hu XM, Zhang WK, Zhu QS. *Chinese Materia Medica* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House, 1999; 43 - 44.
- [2] Liu L, Jia J, Zeng G, et al. Studies on immunoregulatory and anti-tumor activities of a polysaccharide from *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 92(1): 479 - 483.
- [3] Jiang MH, Hu JZ, Qiu WG, et al. Hypoglycemic and anti-anoxia effect of polysaccharide and flavonoids in *Gynura divaricata* (L.) DC. [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2009, 13(29): 1074 - 1076.
- [4] Liu WW, Liu X, Cao XL. Separation and purification of polysaccharides from leaves of *Gynura divaricata* (L.) DC. [J]. *Food Sci* (食品科学), 2012, 32(23): 58 - 63.
- [5] Zhao CH, Liu JF, Feng MY, et al. Effect of different extraction methods on the properties of longan polysaccharides [J]. *Mod Food Sci Tech* (现代食品科技), 2012, 10(28): 1298 - 1305.
- [6] Yu KC, Yang XJ, Li N, et al. Optimization of the extraction process of polysaccharide from *Platycodon grandiflorum* [J]. *J Sci Teach Coll Univ* (高师理科学刊), 2014, 3(34): 71 - 73.
- [7] Chen HS, Gao JS, Po S, et al. Study on extraction process of the head polysaccharides by homogeneous design optimization [J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2015, 4(36): 65 - 68.
- [8] Chen YT, Li YX, Huang L, et al. Extraction of polysaccharides in *Potentilla discolor* by microwave extraction [J]. *Anal Test Tech Inst* (分析测试技术与仪器), 2014, 4(20): 191 - 196.
- [9] Thirugnanasambandham K, Sivakumar V, Maran JP. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 1 - 5.
- [10] Cheng ZY, Yang YJ, Liu ZG. Research on microwave-assisted extraction of polysaccharide from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill [J]. *J Jilin Inst Chem Tech* (吉林化工学院学报), 2014, 31(3): 18 - 22.