

均匀设计和球面对称设计在螺旋藻多糖最佳工艺研究中的应用比较

高向东 盛海林¹ 潘秋文² 吴梧桐 张丽君 丁时禹

(中国药科大学生物制药教研室,¹数学教研室,南京 210009;²杭州市卫生防疫站,310006)

摘要 通过均匀设计和球面对称设计方法考察螺旋藻多糖提取过程中,提取温度、提取时间、提取溶液的 pH 三个因素对多糖分离的影响,以期获得最佳的提取工艺。通过球面对称设计回归方程得出的优化条件是:提取温度 96.42°C,提取时间 7.77 h,溶液 pH 8.21,多糖得率为 5.13%;通过均匀设计得出的优化条件是提取温度 77.3°C,时间 6.99 h,溶液 pH 10.85,多糖得率为 4.21%。球面对称设计优化条件的可信度高于均匀设计。

关键词 均匀设计; 球面对称设计; 螺旋藻; 多糖

均匀设计是我国著名数学家方开泰和王元将数论与多元统计相结合创造的一种新的实验设计方法,它适用于多因素、多水平的实验设计^[1]。球面对称设计就是以球面设计为基础,以试验所考察的因素的个数为空间维数,因素个数的平方根为球半径的一种设计方法。球面对称设计的特点是实验次数较少,实验精度较高,并适用于多因素、多水平的试验,从而试验成本较低^[2]。与正交设计相比,均匀设计和球面对称设计均舍弃了正交设计的“整齐可比”的特性,而让试验点在试验范围内充分“均匀分散”,试验次数与水平相当(正交设计试验次数是水平数平方的整数倍),这就大大减少了实验次数。

螺旋藻是 70 年代世界各国争相开发的一种单细胞绿色的水生植物,特别是其含有的水溶性多糖(下简称 SP),具有广泛的生物

活性,从而更引起了人们的重视^[3],我们的研究发现,螺旋藻中含有的 SP 为酸性多糖,为了有效地提取出这种多糖,需考虑提取的温度、时间、溶液的 pH 等几个因素对多糖得率的影响,按常规的正交设计,则实验次数多,且有时结果并不能说明问题,因此,我们首次将均匀设计和球面对称设计应用到 SP 提取工艺的研究中,以期得到最佳的试验条件。

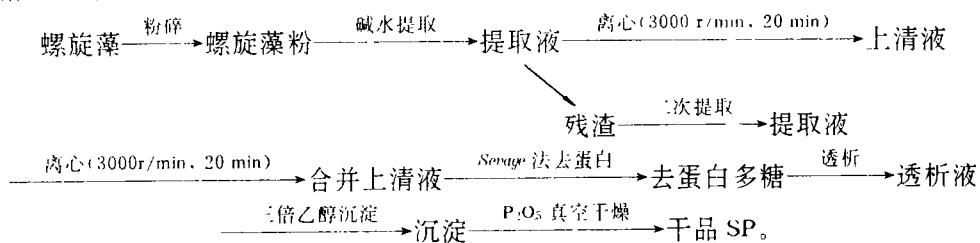
1 仪器与试药

螺旋藻粉:购自江苏省农科院;蒽酮:上海化学试剂一厂;其他试剂均为分析纯或生化试剂。

721 分光光度计:上海第三分析仪器厂。

2 方法与结果

2.1 SP 提取的工艺



收稿日期 1996.11.11

2.2 多糖含量测定

采用硫酸蒽酮法^[3],以葡萄糖为标准品,样品溶液的制备方法为:取SP干品10 mg,用蒸馏水溶解,置透析袋中,对流动的蒸馏水透析24 h,透析完毕,取出,用蒸馏水定容至100 ml,作为待测定溶液。

2.3 优化条件的考察

选择提取温度(x_1),提取时间(x_2),提取时溶液pH(x_3)这三个因素对提取多糖含量的影响,球面对称设计和均匀设计方案及结果分别见表1和表2。

将实验数值用计算机进行多元处理,得回归方程为:

$$\begin{aligned}y = & 28.6990 + 1.4145x_1 + 0.9815x_2 + \\& 5.0231x_3 - 2.5810x_1^2 - 7.8231x_1x_2 - \\& 4.5815x_1x_3 + 1.4360x_2^2 + 3.1355x_2x_3 + \\& 1.5360x_3^2\end{aligned}$$

$$s=4.3011, r=0.9620, F=28.9614$$

根据上述回归方程,计算出优化条件:

$$x_1=77.3\text{ C}, x_2=6.99\text{ h}, x_3=10.85(\text{pH})。$$

理论上按此条件提取SP,得率应为:5.91%。将优化条件进行三次实验,实际所得SP平均得率为5.13%。

Tab 1. Spherical symmetric design and results

NO.	Extraction tempe. C	Extraction time, h	pH	Yield	Extraction			
					x_1	x_2	x_3	%
1	76	3.3	10.4	2.28				
2	94	3.3	8.6	3.75				
3	76	6.7	8.6	2.12				
4	94	6.7	10.4	2.47				
5	70	5.0	9.5	2.02				
6	100	5.0	9.5	2.51				
7	85	2.0	9.5	2.30				
8	85	8.0	9.5	3.64				
9	85	5.0	8.0	2.63				
10	85	5.0	11.0	4.37				
11	85	5.0	9.5	2.87				

将上述实验结果进行计算机多元处理,采用逐步回归方法,得:

第一次回归:

$$\begin{aligned}y_1 = & 27.8627 - 0.0711x_1 - 1.3086x_2 - \\& 1.8690x_3 - 0.0034x_1^2 + 0.1003x_1x_2 + \\& 0.0619x_1x_3 + 1.1804x_2^2 - 1.8491x_2x_3 + \\& 0.2694x_3^2\end{aligned}$$

$$s_{\text{余}}=7.9961, r=0.9280, F=2.0692。$$

第二次回归:

$$\begin{aligned}y_2 = & 27.8627 - 0.0735x_1 - 1.3087x_2 - \\& 1.8693x_3 + 0.0882x_1x_2 + 0.0394x_1x_3 + \\& 1.1796x_2^2 - 1.8504x_2x_3 + 0.2690x_3^2\end{aligned}$$

$$s=8.7972, r=0.9205, F=1.8504$$

根据回归方程,计算得优化条件: $x_1=96.42\text{ C}$, $x_2=7.77\text{ h}$, $x_3=8.24(\text{pH})$ 。

理论上按此条件提取SP,得率应为:6.36%,以此条件作三次实验,实际测得SP平均得率为4.21%。

Tab 2. Uniform design and results

No.	Extraction tempe. C	Extraction time, h	pH	Yield	Extraction			
					x_1	x_2	x_3	%
1	70	3.3	9.5	2.02				
2	76	6.7	8.0	3.57				
3	85	2.0	10.4	4.49				
4	94	5.0	8.6	3.57				
5	100	8.0	11.0	5.22				

3 讨论

1)通过对球面对称设计和均匀设计的两种方法所得出的最佳条件比较:球面对称设计SP含量的计算值为5.99%,而实验平均值为5.13%;均匀设计SP得率的计算值为6.36%,实验平均值为4.21%。另外,也进行了正交设计试验,得最佳提取条件为:提取温度为80 C,时间为9 h, pH为9.0,多糖得率平均为3.68%。球面对称设计比均匀设计的理论值与实验值更接近,优化条件可信度高,说明球面对称设计比较适合类似SP提取这样的工艺设计。均匀设计可能由于实验次数太少而使得处理结果不精确。但均匀设计方案大大减少了实验次数,从而在相同的条件下减少了实验研究的成本。而正交设计在三

个设计中,得率是最低的,说明传统的试验设计方法受到挑战,这是由于其水平的选择须经多次摸索才得能出较好的结果,一次试验的偶然性很大,误差也随之增大。

2)从最佳工艺选择中可证实,螺旋藻中含有的SP为酸性多糖,因此溶液的碱性提高会增加其提取得率。但如果碱性太高,则会加大提取液中和的难度,从而也增加提取的成本。

3)一般水溶性多糖提取均采用温水(95~100℃)提取,而从最佳工艺条件选择中看到,SP提取过程中,温度增加并不能完全增加多糖的提取得率,其原因还有待于进一步研究。

4)均匀设计采用逐步回归目的是提高回归的精确度,第一次回归寻找出主要因素,第二次回归是对主要因素的回归。

参考文献

- 1 王 鹏. 均匀设计及其在药学上的应用. 沈阳药学院学报, 1989, 6(4): 297
- 2 盛海林. 球面对称设计在药剂学上的应用. 中国药科大学学报, 1996, 27(2): 211
- 3 Ciferrio. The biochemistry and industrial potential of Spirulina. Ann Rev Microbiol, 1985, 39: 503
- 4 高向东, 姚文兵, 李 鸿等. 宁夏枸杞新品种: 宁杞1号”干果中总糖及多糖类物质的系统分析. 药物生物技术, 1994, 1(2): 40

Comparative of Uniform Design with Spherical Symmetric Design in the Study of Extraction Conditions for the Polysaccharide from *Spirulina platensis* (SP)

Gao Xiangdong, Sheng Hailin¹, Pan Qiuwen², Wu Wutong, Zhang Lijun, Ding Shiyu

Department of Biochemistry, ¹Department of Mathematics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, ²Hangzhou Health and Epidemic Prevention Station, 310006

Abstract This paper deals with the use of uniform design and spherical symmetric in the study of optimum extraction conditions for the polysaccharide from *Spirulina platensis* (SP). The result, showed that in the uniform, and spherical symmetric design, the optimum extraction rates of SP were 5.13% and 4.21% with the extraction temperature being 96.42℃ and 77.3℃, extraction time being 7.77 h and 6.99 h, and the pH of soultion being 8.24 and 10.85 respectively. The results suggested that the confidence rate in spherical symmetric design was higher than this in uniform design.

Key words Uniform design; Spherical symmetric design; *Spirulina platensis*; Polysaccharide