

响应面分析法优化苦豆子多糖的醇沉工艺

郑夺, 张岩, 王文彤, 陶遵威*

(天津市医药科学研究所, 天津 300020)

[摘要] 目的: 优化苦豆子多糖的醇沉工艺。方法: 在单因素试验基础上, 以多糖提取率为指标, 依据响应面法原理, 使用 Design Expert 软件的中心组合设计建立试验数学模型, 考察醇沉时间、乙醇体积分数及用量对醇沉工艺的影响。采用苯酚-浓硫酸法测定苦豆子多糖含量。结果: 最佳醇沉工艺条件为加 4.3 倍量 97% 乙醇醇沉 26 h, 苦豆子多糖提取率 6.98%, 与预测值(7.03%) 的相对误差 0.71%。结论: 响应面法可有效用于优化苦豆子多糖的醇沉工艺。

[关键词] 苦豆子; 多糖; 醇析工艺; 响应面法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0027-03

[doi] 10.11653/syjf2013160027

Optimization of Alcohol Precipitation Technology of Polysaccharides from *Sophora alopecuroides* by Response Surface Methodology

ZHENG Duo, ZHANG Yan, WANG Wen-tong, TAO Zun-wei*

(Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize alcohol precipitation technology of polysaccharides from *Sophora alopecuroides*. **Method:** Based on single-factor test, with yield of polysaccharides as index, precipitation time, the concentration and adding multiples of ethanol was optimized according to mathematic model built by central composite design in Design Expert software on principle of response surface methodology. The content of polysaccharides from *S. alopecuroides* was determined by phenol-concentrated sulfuric acid method. **Result:** Optimum alcohol precipitation technology was as following: precipitation time of 26 h, the concentration of ethanol 97%, adding multiples of ethanol 4.3 times. Under these conditions, yield polysaccharides from *S. alopecuroides* was 6.98% while the predicted value was 7.03%, their relative error was 0.71%. **Conclusion:** Response surface methodology was effective to optimize alcohol precipitation technology of polysaccharides from *S. alopecuroides*.

[Key words] *Sophora alopecuroides*; polysaccharides; alcohol precipitation technology; response surface methodology

苦豆子又名苦豆草、苦豆根、欧苦参等^[1], 具有较强的耐旱、耐盐碱和抗风沙性能^[2], 同时具备镇

静镇痛、抗心律失常、抗肿瘤、抗炎及免疫调节等药理活性^[3]。苦豆子中主要有效成分包括多糖、生物碱、总黄酮、总氨基酸及粗蛋白等^[4]。多糖类物质可调节免疫功能, 具有降血压、抗肿瘤等功效, 不同浓度醇沉所得多糖具有不同程度的抗氧化活性^[5]。苦豆子多糖主要成分半乳甘露聚糖具有降血糖、降血脂等功效^[6]。响应面分析法^[7]是一种寻找多因素系统中最佳条件的数学统计方法, 具有精度高、预测性好等特点, 可有效降低成本、优化加工条件^[8-9]。本实验在单因素试验基础上, 以多糖提取

[收稿日期] 20130113(009)

[基金项目] 天津市应用基础及前沿技术研究计划项目(10JCZDJC1000)

[第一作者] 郑夺, 学士, 从事药物化学研究, Tel: 022-27236182, E-mail: zhengduo300020@gmail.com

[通讯作者] * 陶遵威, 高级研究员, 从事药物化学、有机化学研究, Tel: 022-27236182, E-mail: taozunweitj@163.com

率为指标,采用响应面分析法优选苦豆子多糖的醇沉工艺,通过苯酚-浓硫酸法^[10-11]测定苦豆子多糖含量,为苦豆子资源的开发与应用提供参考。

1 材料

LXJ-IIIB 型低速大容量多管离心机(北京医用离心机厂),LABCONCO 型真空冷冻干燥仪(日本岛津),AE-240 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),T6 型新世纪紫外分光光度计(北京普析通用)。

苦豆子(购自内蒙古磴口县金豆商贸有限公司,由天津市医药科学研究所天然药化室吴寿金鉴定为豆科槐属植物苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 的种子),葡萄糖对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110833-200503),所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 苦豆子多糖的提取 称取已提取苦参碱、槐定碱等生物碱后的苦豆子药渣 200 g,加 10 倍量水于沸水浴中回流提取 2 次,每次 3 h,趁热用布氏漏斗抽滤,滤液浓缩至 700 mL,备用。

2.2 单因素试验考察

2.2.1 醇沉时间 取多糖提取液 5 份,每份 20 mL,分别加 4 倍量 95% 乙醇醇沉 2,4,8,16,32 h,取沉淀冷冻干燥,测定多糖含量,计算多糖提取率分别为 4.59%,4.60%,5.06%,6.22%,5.80%,故选择醇沉 16 h。

2.2.2 乙醇体积分数 取多糖提取液 5 份,每份 20 mL,分别加 4 倍量体积分数为 75%,80%,85%,90%,95% 的乙醇溶液醇沉 16 h,沉淀冷冻干燥,分别测定多糖含量,计算多糖提取率分别为 5.02%,5.29%,6.08%,6.44%,6.78%,故选择 95% 乙醇。

2.2.3 乙醇用量 取多糖提取液 5 份,每份 20 mL,分别加 1,2,3,4,5 倍量 95% 乙醇醇沉 16 h,取沉淀冷冻干燥,测定多糖含量,计算多糖提取率分别为 4.56%,5.67%,5.77%,7.07%,5.64%,故选择加 4 倍量 95% 乙醇。

2.3 响应面分析试验 在单因素试验基础上,根据 Box-Benhnken 中心组合试验设计原理,选取醇沉时间、乙醇体积分数及乙醇用量为自变量,多糖提取率为响应值,取多糖提取液 15 份,每份 20 mL,采用三因素三水平响应面分析进行试验设计,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

2.3.1 模型的建立与显著性检验 采用 Design Expert 软件对表 2 中数据进行多元回归拟合,选择对响应值显著的因素,得苦豆子多糖提取率对编码自变量的二次多项回归方程为 $Y = 6.798 +$

$$0.675X_1 + 0.389X_2 + 0.751X_3 + 0.032X_1X_2 - 0.599X_1X_3 - 0.573X_2X_3 - 0.686X_1^2 - 0.482X_2^2 - 0.842X_3^2$$

,回归方程显著性检验,方差分析见表 3。

表 1 苦豆子多糖的醇沉工艺响应面试验因素水平

水平	X_1 醇沉时间 /h	X_2 乙醇体积分数/%	X_3 乙醇用量 /倍
-1	8	90	3
0	16	95	4
1	32	100	5

表 2 苦豆子多糖的醇沉工艺响应面试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	多糖提取率/%
1	-1	-1	0	5.09
2	-1	1	0	5.10
3	1	-1	0	5.92
4	1	1	0	6.41
5	0	-1	-1	3.19
6	0	-1	1	5.87
7	0	1	-1	5.62
8	0	1	1	6.01
9	-1	0	-1	2.86
10	1	0	-1	5.81
11	-1	0	1	6.05
12	1	0	1	6.36
13	0	0	0	6.34
14	0	0	0	6.53
15	0	0	0	6.62

表 3 中心组合试验回归方程方差分析

方差来源	f	SS	MS	F	P
X_1	1	3.645	3.645	17.016	0.009 1
X_2	1	1.151	1.151	5.371	0.068 3
X_3	1	4.292	4.292	20.034	0.006 5
X_1X_2	1	0.004	0.004	0.020	0.892 7
X_1X_3	1	1.514	1.514	7.068	0.045 0
X_2X_3	1	1.311	1.311	6.120	0.056 3
X_1^2	1	1.305	1.305	6.093	0.056 6
X_2^2	1	0.858	0.858	4.006	0.101 7
X_3^2	1	2.618	2.618	12.223	0.017 4
模型	9	17.029	1.892	8.833	0.013 7
线性回归	5	1.071	0.214		
失拟项	3	1.030	0.343	16.806	0.056 7
纯误差	2	0.041	0.020		
总和	14	18.100			

由表3可知,因素 X_1, X_3 达极显著水平,交互项中 X_1X_3 达显著水平;二次项中 X_3 达显著水平,表明各因子对响应值的影响不是简单的线性关系。失拟项 $P=0.0567$,无显著性差异,表明数据无异常点,可较好地描述各因素与响应值间真实关系。

2.3.2 响应面图及等值线图分析 等高线的形状可反映出交互效应的强弱,椭圆形表示两因素交互作用显著,而圆形则反之。根据回归分析结果作响应面曲面图及等高线图,以分析醇沉时间,乙醇体积分数及乙醇用量对苦豆子多糖提取率的影响,见图1~3。

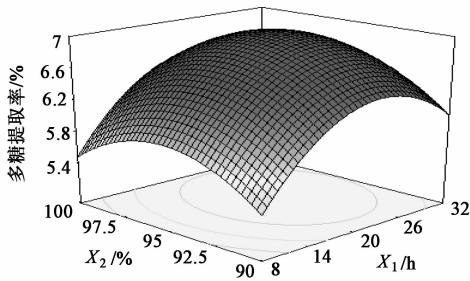


图1 醇沉时间与乙醇体积分数对苦豆子多糖提取率影响的响应面

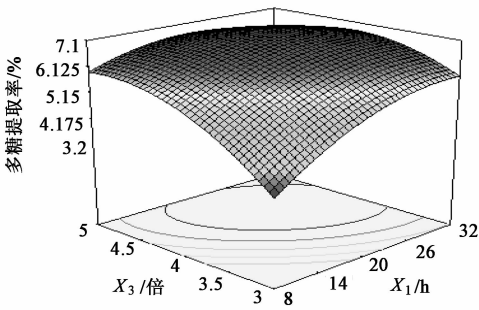


图2 醇沉时间与乙醇用量对苦豆子多糖提取率影响的响应面

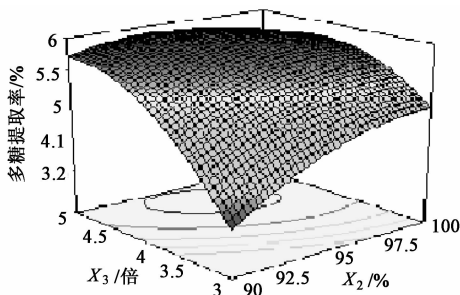


图3 乙醇体积分数与乙醇用量对苦豆子多糖提取率影响的响应面

通过分析计算,最佳醇沉工艺条件为醇沉时间26.11 h,乙醇体积分数96.81%,乙醇用量4.32倍,

苦豆子多糖的理论提取率7.03%。结合实际操作和方差分析结果,确定最佳醇沉工艺为醇沉时间26 h,乙醇体积分数97%,乙醇用量4.3倍。

2.3.3 验证试验 取多糖提取液3份,按优化的醇沉工艺进行3次验证试验,结果苦豆子多糖平均提取率6.98%,与理论提取率的相对误差0.71%,表明优选的醇沉工艺参数准确可靠。

3 讨论

结合单因素试验与响应面试验对各因素的最佳水平范围及交互作用进行探讨发现,加入的乙醇体积分数越高,带入的水分越少,更能充分沉淀多糖;醇沉时间过长,可能会导致乙醇终体积分数的变化,从而影响多糖提取率;加4倍量乙醇时已能充分满足沉淀多糖的需要,乙醇用量增大的同时会增加总水含量,可能会在一定程度上导致多糖提取率的下降。

[参考文献]

- [1] 祁燕蓉,何生虎,史光亮.苦豆子的研究进展[J].甘肃畜牧兽医,2008,38(6):36.
- [2] 单晓菊,邸明磊,陶遵威.苦豆子化学成分及药理研究进展[J].中国中医药信息杂志,2011,18(3):105.
- [3] 杨巧丽,顾正一,黄华.中药苦豆子的研究进展[J].西北药学杂志,2011,26(3):232.
- [4] 朱金霞.不同产地苦豆子中主要有效成分的比较研究[J].时珍国医国药,2012,23(2):335.
- [5] 魏秀娟,向发椿,崔明筠,等.铁苋菜多糖体外抗氧化研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(3):197.
- [6] 艾连中.响应面分析法优化苦豆子多糖提取工艺[J].食品科学,2010,31(12):141.
- [7] 张秀红,孙静超,李琪.响应面法优化茉莉花茶茶多糖提取工艺[J].基因组学与应用生物学,2010,29(3):603.
- [8] 金慧,刘荣厚,沈飞,等.甜高粱茎汁固定化酵母乙醇发酵工艺优化试验的研究[J].农业工程学报,2008,24(4):194.
- [9] 李瑾,侯淑珍,王景媛,等.响应面分析法优化牛蒡根多糖提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(11):21.
- [10] 邸明磊,单晓菊,马丽娜,等.苯酚-硫酸法测定苦豆子多糖含量[J].现代中药研究与实践,2012,26(1):59.
- [11] 吕洁丽,陈红丽,段金殿,等.不同加工方法对当归多糖的影响[J].中国中药杂志,2011,36(7):846.

[责任编辑 仝燕]