

中心组合设计优化超声辅助酶法 提取玉米须皂甙工艺研究

关海宁, 刁小琴

(绥化学院食品与制药工程学院, 黑龙江绥化 152061)

摘要: 为研究玉米须皂甙的超声辅助酶提取工艺, 应用中心组合试验设计, 采用 DPS 软件进行二次多项式逐步回归分析, 对提取工艺条件进行优化, 确定玉米须皂甙的超声辅助酶提取的最佳条件: 超声作用温度 50 ℃、乙醇浓度 90%、纤维素酶添加量 1.62%、超声作用时间 30min, 在此条件下玉米须皂甙提取率达 2.24%。

关键词: 玉米须; 皂甙; 超声波; 酶

文章编号: 1673-9078(2012)10-1383-1385

Optimization of Ultrasonic-assisted Enzyme Extraction of Saponins by Central Composite Design from Corn Silk

GUAN Hai-ning, DIAO Xiao-qin

(Department of Food and Pharmaceutical Engineering, Suihua University, Suihua 152061, China)

Abstract: To optimize the extraction process of saponins from corn silk, Central composite design combining quadratic polynomial stepwise regression analysis were applied to optimize extraction conditions. The optimal technological conditions can be concluded as follows: ultrasonic extraction temperature 50 ℃, ethanol concentration 90%, cellulase dosage 1.62% and ultrasonic extraction time 30 min. On these conditions, the yield of corn silk saponins was up to 2.24%.

Key words: corn silk; saponins; ultrasonic wave; enzymes

玉米须(*Stigma maydis*)为禾本科一年生草本植物玉蜀黍(*Zea mays L.*)的花柱及柱头, 其性味甘、平、无毒, 具有利尿消肿、降压等功效。现代药理研究也证实玉米须有利尿、降血压、降血糖、抗癌、抑菌、增强免疫功能等作用^[1-2]。有效成分玉米须皂甙有一定的预防和治疗糖尿病的作用, 降糖作用可靠, 效果明显^[3-4]。我国玉米种植面积大, 玉米须资源丰富, 但大部分玉米食品加工企业将玉米须作为废弃物, 因此开发利用玉米须具有广阔的发展前景。本文采用超声辅助酶法提取玉米须皂甙, 对工艺条件进行了优化, 旨在为玉米须皂甙进一步的开发利用提供理论依据, 并且使这种农业副产品得到更有效的利用, 以繁荣农村经济。

1 材料与设备

1.1 材料与试剂

收稿日期: 212-06-20

基金项目: 绥化学院科学技术研究项目 [KQ1201002]

作者简介: 关海宁 (1980-), 男, 硕士, 讲师, 绥化学院生物与食品工程系教师, 主要从事食品营养与分析检测方向的教学与研究工作

玉米须, 绥化市农田采集, 自然晾干, 粉碎。

标准齐墩果酸 (纯度 98.38%) 陕西慧科植物开发有限公司; 纤维素酶 10 U/mg 黑龙江肇东日成酶制剂有限公司。

无水乙醇、正丁醇、甲醇、丙酮等均为分析纯。

1.2 试验设备

KQ-200VDE 型双频数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; 台式离心机, 湖南星科科学仪器有限公司; 电子分析天平, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; 旋转蒸发器, 循环水真空泵, 海亚荣生化仪器厂。

2 试验方法

2.1 玉米须皂甙提取工艺

将玉米须粉碎过 60 目筛, 置于锥形瓶中, 加入一定量一定浓度的乙醇溶液, 超声提取一段时间后在转速为 4000 r/min 条件下离心分离 20 min, 将上清液浓缩至原体积的七分之一, 用等体积饱和的正丁醇溶液萃取过夜, 取正丁醇相浓缩至呈褐色粘稠状时冷却, 加入尽可能少的甲醇溶解, 再加入十倍体积丙酮充分

搅拌使之产生沉淀,离心分离后,将沉淀烘干称重即得玉米须皂甙。

2.2 玉米须皂甙提取率的计算

$$\text{玉米须皂甙的提取率}(\%) = \frac{\text{皂甙的质量}(g)}{\text{原料的质量}(g)} \times 100\%$$

2.3 皂甙提取的单因素试验

以超声波作用时间、作用温度、纤维素酶添加量和乙醇浓度为影响因素,研究不同水平下各因素对玉米须皂甙提取率的影响。

2.4 响应面优化提取工艺的试验设计

在单因素试验的基础上,确定中心组合设计的自变量,以玉米须皂甙提取率为考察值,通过二次多项式回归分析优化提取条件。

3 结果与讨论

3.1 单因素试验结果与分析

3.1.1 超声作用温度对皂甙提取率的影响

在乙醇浓度 70%,料液比 (g:mL) 1:10,超声作用时间 30 min 的条件下,研究不同的超声作用温度对皂甙提取率的影响,结果如图 1 所示。

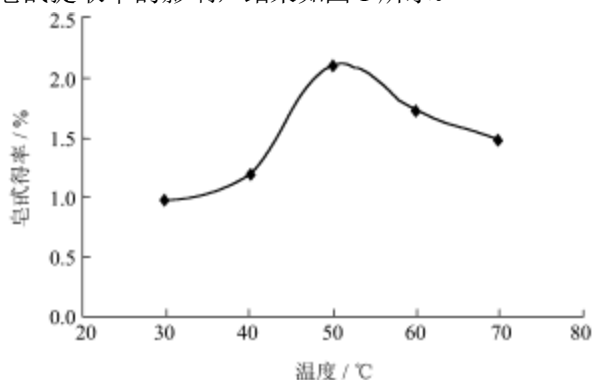


图 1 超声作用温度对皂甙提取率的影响

Fig.1 Effect of ultrasonication temperature on extraction yield

由图 1 看出,升高温度对玉米须皂甙的提取是有利的。这是因为随着温度的提高,溶剂分子和溶质分子的运动加剧,促进了扩散作用,从而有利于细胞内容物逐渐溶出,进而使提取量提高。但当温度超过 50 °C,提取量反而下降,这可能是由于温度过高,乙醇挥发再加上超声波的物理作用导致皂甙成分改变了原有的结构,进而影响了提取率,因此超声温度选择 50 °C 为宜。

3.1.2 超声波作用时间对皂甙提取率的影响

在乙醇浓度 70%,料液比 (g:mL) 1:10,超声作用温度 50 °C 的条件下,研究不同的超声作用时间对皂甙提取率的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 看出,皂甙提取率随着超声波作用时间的增加而增加,这是因为超声波的空化和振荡作用有利

于细胞内物质的溶出^[5]。当作用时间超过 30 min 时,皂甙提取率呈下降趋势,这可能因为待皂甙完全溶出后,随着超声时间的延长,皂甙可能发生了某种化学变化,进而影响其提取率,因此超声作用时间选择 30 min 为宜。

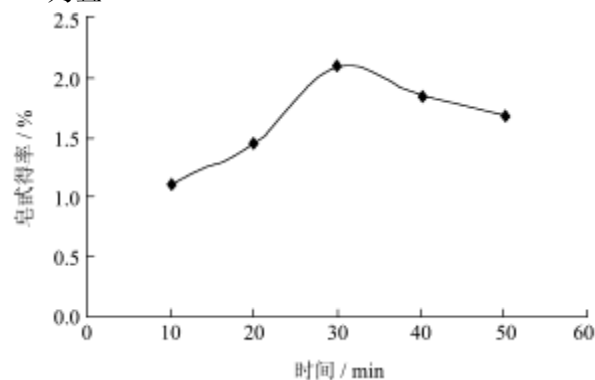


图 2 超声作用时间对皂甙提取率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonication time on extraction yield

3.1.3 纤维素酶添加量对皂甙提取率的影响

在乙醇浓度 70%,料液比 (g:mL) 1:10,超声作用时间 30 min,超声温度 50 °C 的条件下,研究不同的纤维素酶添加量对皂甙提取率的影响,结果如图 3 所示。

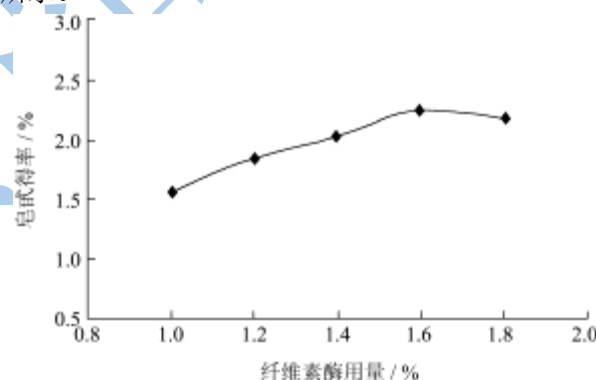


图 3 纤维素酶添加量对皂甙提取率的影响

Fig.3 Effect of cellulase dosage on extraction yield

由图 3 看出,随着纤维素酶添加量的增大,皂甙的提取率不断增加,当纤维素酶添加量达到 1.6% 时,皂甙的提取率最大,随后开始下降。这可能因为随着酶添加量的增加,酶与底物的接触机会增加,同一时间内水解的分子数不断增加,致使皂甙更快地分离出来。当酶添加量增加到一定程度,酶分子已经饱和,一部分酶分子没有机会与底物结合,底物被水解的速度降低^[6],因而影响皂甙的提取率。因此纤维素酶添加量 1.6% 为宜。

3.1.4 乙醇浓度对皂甙提取率的影响

料液比 (g:mL) 1:10,超声作用时间 30 min,超声温度 50 °C 的条件下,研究不同的乙醇浓度对皂甙提取率的影响,结果如图 4 所示。

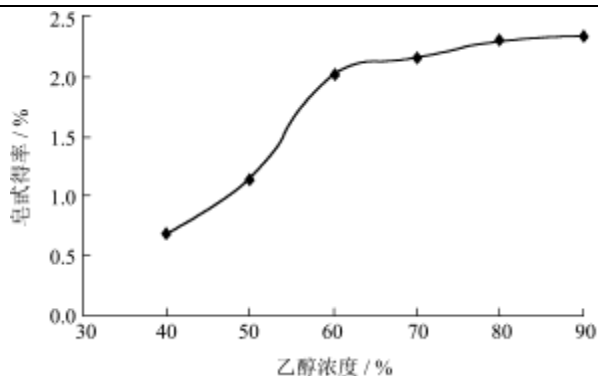


图4 乙醇浓度对皂甙提取率的影响

Fig.4 Effect of ethanol concentration on extraction yield

图4看出,随着乙醇浓度的升高皂甙的提取率呈逐渐上升的趋势,这可能是玉米须皂甙分子易溶于极性溶液,在乙醇浓度较低时,极性较低,随着浓度的增大极性也增加^[7],当乙醇浓度超过80%时,皂甙提取率增加缓慢,从经济角度考虑乙醇浓度80%为宜。

3.2 中心组合设计优化超声辅助酶法提取玉米须皂甙的工艺条件

3.2.1 中心组合设计因素水平的选取

根据中心组合试验设计原理,结合单因素试验的影响结果,以超声作用温度(X_1)、乙醇浓度(X_2)、纤维素酶添加量(X_3)3个因素为自变量,以皂甙提取率为考察值,试验因素与水平见表1,试验结果见表2。

表1 试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of central composite design test

水平	X_1 (超声温度/ $^{\circ}C$)	X_2 (乙醇浓度/ $\%$)	X_3 (纤维素酶用量/ $\%$)
-1	40	70	1.4
0	50	80	1.6
1	60	90	1.8

3.2.2 中心组合试验设计与结果

利用中心组合试验设计,确定3因素3水平,共15个试验。其中12个析因点,3个0点。中心点重复试验用来估计试验误差,以玉米须皂甙提取率为考察做中心组合试验。

由DPS数据处理系统软件做二次多项式逐步回归分析,拟合得出如下回归方程,同时由SAS软件做方差分析,结果见表3。

$$Y = -11.10375000 + 0.2495000000X_1 - 0.1286250000X_2 + 12.306250000X_3 - 0.001312500000X_1 * X_1 + 0.001712500000X_2 * X_2 - 2.3437500000X_3 * X_3 - 0.000950000000X_1 * X_2 - 0.020000000000X_1 * X_3 - 0.041250000000X_2 * X_3$$

表2 中心组合试验设计及结果

Table 2 Central composite design test design and results

序号	X_1	X_2	X_3	提取率 $Y/\%$
1	-1	-1	0	1.32
2	-1	1	0	2.13
3	1	-1	0	1.68
4	1	1	0	2.11
5	0	-1	-1	1.22
6	0	-1	1	1.82
7	0	1	-1	2.04
8	0	1	1	2.31
9	-1	0	-1	1.40
10	1	0	-1	1.72
11	-1	0	1	1.45
12	1	0	1	1.61
13	0	0	0	1.77
14	0	0	0	1.76
15	0	0	0	1.78

表3 方差分析表

Table 3 Variance analysis of the results

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	显著水平 P	显著性
X_1	0.08405	1	0.08405	3.773288	0.10972	
X_2	0.812813	1	0.812813	36.4899	0.001791	**
X_3	0.082013	1	0.082013	3.681818	0.113102	
$X_1 X_1$	0.063606	1	0.063606	2.855478	0.151858	
$X_1 X_2$	0.0361	1	0.0361	1.620651	0.258978	
$X_1 X_3$	0.0064	1	0.0064	0.287318	0.614922	
$X_2 X_2$	0.108283	1	0.108283	4.861176	0.078617	
$X_2 X_3$	0.027225	1	0.027225	1.222222	0.319261	
$X_3 X_3$	0.032452	1	0.032452	1.456876	0.28141	
回归	1.269198	9	0.141022	6.330956	0.028013	*
残差	0.111375	5	0.022275			
失拟	0.111175	3	0.037058	370.5833	0.002692	
纯误差	0.0002	2	0.0001			
总误差	1.380573	14				

注：“*”表示在0.05水平显著；“**”表示在0.01水平显著。

表3看出,乙醇浓度(X_2)对玉米须皂甙的提取影响是极显著的($P < 0.01$),各个因素对玉米须皂甙提取效果的影响大小顺序是乙醇浓度(X_2) > 超声温度(X_1) > 纤维素酶用量(X_3)。同时由DPS拟合得回归模型方程($P = 0.028 < 0.05$)检验显著,并且该模型的相关系数 $R = 95.881\% > 90\%$,说明回归模型拟合良好,可以用该模型拟合玉米须皂甙的提取过程。最终由回归方程得出最高指标时各个因素组合: $Y = 2.26096$;

$X_1=50.13598$; $X_2=90.000$; $X_3=1.61914$, 即超声作用温度为 50℃、乙醇浓度为 90%、纤维素酶添加量 1.62%, 在此条件下玉米须皂甙的得率为 2.26%。

为检验预测结果的可靠性, 采用上述最优提取条件即超声作用温度 50℃、乙醇浓度 90%、纤维素酶添加量 1.62%、超声作用时间 30 min, 进行玉米须皂甙提取实验, 3 次平行实验得到的实际提取率为 2.24%, 与最优理论值相近。

4 结论

超声辅助酶法提取玉米须皂甙的最佳条件为超声作用温度 50℃、乙醇浓度 90%、纤维素酶添加量 1.62%、超声作用时间 30 min, 按此工艺, 玉米须皂甙提取率达 2.24%。该方法具有提取率高, 工艺简单等优点, 可为皂甙的工业化生产提供理论基础。

参考文献

[1] 吕冬霞, 王晓丽, 魏风香, 等. 玉米须多糖诱导人肝癌 SMMC-

7721 细胞凋亡的研究[J]. 黑龙江医药科学, 2006, 29(4): 28-29

[2] 杜娟, 许启泰. 玉米须多糖的清热利胆作用及急性毒性研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 75-77

[3] 苗明三, 孙艳红. 玉米须总皂苷降糖作用研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 7: 105-106

[4] 瞿颖, 蒋立琴, 李喜, 等. 玉米须保健袋泡茶的研制[J]. 现代食品科技, 2010, 27(7): 831-834

[5] 吕帮玉, 徐东生, 田春元, 等. 超声波法提取黄芪多糖的工艺研究[J]. 中国饲料, 2009, 9: 37-39

[6] 何际婵. 浅谈酶法在中草药提取中的应用[J]. 中医药学刊, 2005, 23(9): 1713-1714

[7] 田力东, 张名位, 郭祀远, 等. 苦瓜皂甙的提取工艺优化[J]. 现代食品科技, 2007(1): 47-51