

菜籽饼粕中多糖的酸提取工艺优化

刘贝贝, 李小定, 谭正林, 吴谋成*

(华中农业大学食品科技学院, 武汉 430070)

摘要: 采用五因子二次正交旋转设计, 研究酸浓度、料液比、提取时间、提取温度、提取次数等 5 个因素对酸提取菜籽饼粕中多糖的得率的影响, 用 SAS8.0 中响应面分析程序 RSREG 建立并分析了 5 个因素对得率的函数模型。结果表明, 所得回归方程达显著水平, 拟合情况良好; 5 个因素对得率的影响大小依次为提取温度> 提取次数> 提取时间> 酸浓度> 料液比, 最佳提取温度为 100℃, 提取次数 4~5 次, 提取时间(每次) 1.4~1.8 h, 酸浓度 0.10~0.14 mol/L, 料液比 1:18~1:22, 菜籽饼粕多糖得率在 3.1% 以上。

关键词: 菜籽饼粕多糖; 酸提取; 正交旋转设计; 数学模型; 得率效应分析

中图分类号: TS229

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2006)11-0213-04

刘贝贝, 李小定, 谭正林, 等. 菜籽饼粕中多糖的酸提取工艺优化[J]. 农业工程学报, 2006, 22(11): 213-216.

Liu Beibei, Li Xiaoding, Tan Zhenglin, et al. Optimization of acid extraction of polysaccharides from rapeseed meal[J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(11): 213-216. (in Chinese with English abstract)

0 引言

对菜籽饼粕进行综合利用可显著提高油菜籽生产的经济效益。菜籽饼粕中可利用的主要成分除蛋白质、多酚、植酸等外, 还有多糖。但迄今为止国内外有关菜籽饼粕多糖研究方面的报道还很少见, 对菜籽饼粕多糖的系统研究更尚属起步阶段。本实验室在进行菜籽多酚分离的过程中发现菜籽饼粕中含有丰富的非淀粉多糖成分, 并且证明了水提菜籽饼粕多糖在体内及体外均具有良好的抗氧化活性^[1], 为菜籽饼粕多糖的进一步研究提供了可靠依据。

近来许多研究证明, 酸提植物多糖亦具有较高的生理活性, 且其中一些功能非水提植物多糖所能取代^[2,3]。酸提菜籽饼粕多糖的开发利用有望为人们提供一种益于健康且原料来源丰富的功能性成份, 同时可大大提高菜籽饼粕的综合利用率。目前关于酸提菜籽饼粕多糖研究的报道尚属空白。本试验以盐酸溶液为提取液, 以酸浓度、料液比、提取时间、提取温度、提取次数为试验因素^[2-6], 利用五元二次正交旋转组合设计, 探讨其对得率的影响, 并确立这五个因素的最佳组合。旨在优化菜籽饼粕中多糖的酸提取条件, 亦为后续酸提菜籽饼粕多糖的纯化及结构功能研究, 开发菜籽饼粕综合利用的新途径提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

脱壳冷榨双低油菜籽饼粕(40~60 目)。

分析天平(台湾 Mettler Toledo 公司); UV-256FW 型紫外可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司); DL-5M 型离心机(湖南新科科学仪器有限公司); SHZ-C 型真空泵(河南巩县英峪仪器厂)。

石油醚、乙醇、盐酸、硫酸、苯酚等试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 技术路线^[2-7]

菜籽饼粕→石油醚回流→80%乙醇回流→残渣→盐酸溶液浸提→合并提取液, 浓缩→95%乙醇沉淀→沉淀复溶并用蒸馏水定容→采取苯酚-硫酸法^[8]测定多糖含量。

1.2.2 统计方法及所用软件^[9-12]

统计方法: 采用五元二次正交旋转设计。

所用软件: SAS8.0 中响应面分析程序 RSREG。

1.2.3 试验方案^[9,10]

采用五元二次正交旋转组合设计(1/2 实施)。以酸浓度(X_1)、料液比(X_2)、提取时间(X_3)、提取温度(X_4)、提取次数(X_5) 为决策变量, 以多糖得率为目标函数。每个变量均设 5 个水平, 各因子水平编码列于表 1。试验按五因素五水平 1/2 实施, 共 36 个处理组合, 其中正交点 $M_c = 16$, 星号点 $2\rho = 10$, 中心点 $M_o = 10$, 臂长 $\gamma = 2$ 。

表 1 因素及水平编码

Table 1 Factors and levels of experiment

编码值	X_1 /mol·L ⁻¹	X_2 /g·mL ⁻¹	X_3 /h	X_4 /℃	X_5 /次
-2	0.1	1:5	1	20	1
-1	0.2	1:10	1.5	40	2
0	0.3	1:15	2	60	3
1	0.4	1:20	2.5	80	4
2	0.5	1:25	3	100	5

收稿日期: 2006-01-10 修订日期: 2006-06-08

基金项目: 国家“十五”重大科技专项(2001BA 501A 20)

作者简介: 刘贝贝(1981-), 女, 主要从事农产品贮藏与加工研究。
武汉 华中农业大学食品科技学院, 430070。Email: lbbmoofy@yahoo.com.cn

*通讯作者: 吴谋成(1940-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事农产品加工与储藏工程研究。武汉 华中农业大学食品科技学院, 430070。Email: wumch98@mail.hzau.edu.cn

2 结果与分析

2.1 回归方程的建立与检验

试验结构矩阵及产量结果列于表 2。应用二次通用旋转组合设计的统计分析方法,对表 2 数据进行整理运算,求得多糖得率与各因子之间的回归方程为:

$$Y = 1.331477 + 0.026250X_1 + 0.063750X_2 + 0.017083X_3 + 0.552917X_4 + 0.093750X_5 - 0.007727X_1^2 - 0.055625X_1X_2 - 0.075625X_1X_3 - 0.066875X_1X_4 - 0.055625X_1X_5 - 0.042727X_2^2 - 0.011875X_2X_3 + 0.021875X_2X_4 - 0.061875X_2X_5 - 0.062727X_3^2 - 0.060625X_3X_4 - 0.081875X_3X_5 + 0.069773X_4^2 + 0.059375X_4X_5 - 0.085227X_5^2$$

通过对回归方程的方差分析, $R = 0.9152$, $F = (R^2/20)/(1 - R^2)/11 = 2.84$, $P = 0.0395$, 回归方程达显著水平, 拟合情况良好。对偏回归系数进行的显著性测验的结果如表 3 所示。

表 2 实验结构矩阵及得率结果

Table 2 Structured matrices and experiment results

编号	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	$Y/\%$
1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.64
2	1.000	1.000	1.000	-1.000	-1.000	0.69
3	1.000	1.000	-1.000	1.000	-1.000	1.89
4	1.000	1.000	-1.000	-1.000	1.000	0.51
5	1.000	-1.000	1.000	1.000	-1.000	1.64
6	1.000	-1.000	1.000	-1.000	1.000	0.51
7	1.000	-1.000	-1.000	1.000	1.000	2.58
8	1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	0.46
9	-1.000	1.000	1.000	1.000	-1.000	2.14
10	-1.000	1.000	1.000	-1.000	1.000	0.63
11	-1.000	1.000	-1.000	1.000	1.000	2.17
12	-1.000	1.000	-1.000	-1.000	-1.000	0.35
13	-1.000	-1.000	1.000	1.000	1.000	2.11
14	-1.000	-1.000	1.000	-1.000	-1.000	0.51
15	-1.000	-1.000	-1.000	1.000	-1.000	1.54
16	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	1.000	0.45
17	2.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.57
18	-2.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.95
19	0.000	2.000	0.000	0.000	0.000	1.29
20	0.000	-2.000	0.000	0.000	0.000	0.95
21	0.000	0.000	2.000	0.000	0.000	1.10
22	0.000	0.000	-2.000	0.000	0.000	0.98
23	0.000	0.000	0.000	2.000	0.000	2.05
24	0.000	0.000	0.000	-2.000	0.000	1.09
25	0.000	0.000	0.000	0.000	2.000	1.23
26	0.000	0.000	0.000	0.000	-2.000	0.67
27	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.39
28	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.51
29	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.50
30	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.36
31	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.62
32	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.36
33	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.14
34	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.04
35	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.48
36	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.26

表 3 偏回归系数显著性测验的结果

Table 3 Analyze of partial regression coefficient significance

因素	自由度 DF	估计值 E	标准误差	t 值	F 值
	1	1.26716	0.08382	15.12	< 0.0001
x_1	1	0.02625	0.08025	0.33	0.7497
x_2	1	0.06375	0.08025	0.79	0.4438
x_3	1	0.01708	0.08025	0.21	0.8353
x_4	1	0.55292	0.08025	6.89	< 0.0001
x_5	1	0.09375	0.08025	1.17	0.2674
x_{11}	1	-0.00773	0.07259	-0.11	0.9171
x_{12}	1	-0.05563	0.09829	-0.57	0.5828
x_{13}	1	-0.07563	0.09829	-0.77	0.4579
x_{14}	1	-0.06688	0.09829	-0.68	0.5103
x_{15}	1	-0.05562	0.09829	-0.57	0.5828
x_{22}	1	-0.04273	0.07259	-0.59	0.5680
x_{23}	1	-0.01187	0.09829	-0.12	0.9060
x_{24}	1	0.02188	0.09829	0.22	0.8280
x_{25}	1	-0.06188	0.09829	-0.63	0.5419
x_{33}	1	-0.06273	0.07259	-0.86	0.4060
x_{34}	1	-0.06063	0.09829	-0.62	0.5499
x_{35}	1	-0.08187	0.09829	-0.83	0.4226
x_{44}	1	0.06977	0.07259	0.96	0.3571
x_{45}	1	0.05938	0.09829	0.60	0.5580
x_{55}	1	-0.08523	0.07259	-1.17	0.2652

表 3 结果表明, 提取温度(X_4)与多糖得率呈极显著的正相关。提取次数(X_5)、提取时间(X_3)与多糖得率呈正相关。从交互项看出, 提取温度(X_4)与料液比(X_2)、提取温度(X_4)与提取次数(X_5)呈正相关, 其余均为负相关, 但不显著, 二次项除提取温度(X_4)外均与多糖得率为负相关, 其中提取温度达极显著水平。以上结果说明, 在本试验条件下, 提取温度在整个试验中对多糖得率起着重要作用。

在进行正交试验前已做了大量、系统的预试验, 预试验结果表明: 酸浓度为 0.05~0.15 mol/L 时, 多糖得率随酸浓度增加显著提高, 酸浓度继续增加多糖得率增加趋势变平缓, 酸浓度增加到 0.3 mol/L 后多糖得率反而随酸浓度的增加而下降; 料液比取值从 1:5~1:30, 随着浸提液用量的增加, 菜籽饼粕多糖的得率均有不同程度的增加, 当料液比达到 1:15 时增加趋势变平缓; 单次提取时间取值从 0.5~3.5 h, 随着浸提时间的延长, 菜籽饼粕多糖的得率均有所增加, 但时间超过 2 h 后, 增加趋势变平缓; 提取温度取值从 20~100℃, 菜籽饼粕多糖的得率随温度的增加而显著增加; 提取次数取值从 1~6 次, 原料经 5 次浸提后, 多糖已基本全部浸出。鉴于以上结果, 选择了正交试验各因素的 5 个水平。因此, 虽统计结果显示除温度外的其他 4 个因素均不显著, 但这 5 个因素的最佳取值均已包含在了各自的水平范围中, 后续模拟寻优结果也再次验证了这一点。

2.2 回归模型的解析与分析

2.2.1 主因子效应与分析

回归方程及回归系数的检验结果表明, 在本试验条件下, 酸浓度、料液比、提取时间、提取温度、提取次数 5

因素对多糖得率影响大小依次为: 提取温度(X_4) > 提取次数(X_5) > 提取时间(X_3) > 酸浓度(X_1) > 料液比(X_2)。因此, 在后续试验中采取煮沸提取, 在保证提取次数的基础上尽可能降低料液比。

2.2.2 单因子效应分析

对二次回归模型采用“降维法”^[9], 得出单因子对产量的效应方程:

$$Y_1 = 1.331477 + 0.026250X_1 - 0.007727X_1^2$$

$$Y_2 = 1.331477 + 0.063750X_2 - 0.042727X_2^2$$

$$Y_3 = 1.331477 + 0.017083X_3 - 0.062727X_3^2$$

$$Y_4 = 1.331477 + 0.552917X_4 + 0.069773X_4^2$$

$$Y_5 = 1.331477 + 0.093750X_5 - 0.085227X_5^2$$

把 5 个因子的取值范围固定在 -2、-1、0、1、2 水平时, 据上述 5 个方程, 分别计算出各因子 5 个不同水平

的多糖得率估计值(表 4)。从表 4 可以看出: 1) 酸浓度对多糖得率的影响较大。本实验中, 在其它提取条件相同的情况下与水($\text{pH}=7$)提取结果对比, 酸提取多糖得率比水提取高出 1~1.5 个百分点^[1]。但当酸浓度过高时出现负效应, 酸浓度应控制在 0.15 mol/L 以下。2) 提取次数对得率有较大影响, 应提取 3 次以上。3) 料液比是 5 个控制因子中对得率影响最小的因素, 由于过大的料液比会加大产品回收的难度, 所以应在最适范围内尽可能减小料液比。4) 在这 5 个控制因子中提取温度对得率的影响最大, 通常认为酸性条件下多糖受热易分解, 在用酸溶液提取多糖时都会选择较低的温度条件^[2-5], 在本实验中所用酸浓度条件下温度升高到 80℃以上直至 100℃都未出现负效应。5) 提取时间对得率的影响较大, 时间过短提取会不充分, 过长又可能导致多糖分解。

表 4 5 个因子不同水平的得率估计值及效应值

Table 4 Estimated yield values and effect sizes of five factors and levels

因子	-2	-1	0	1	2	极值
Y_1	1.2481	1.2975	1.3315	1.3500	1.3531	$MAX(X_1 = -1.5790) = 1.2708$
Y_2	1.0331	1.2250	1.3315	1.3525	1.2881	$MAX(X_1 = 1.4203) = 1.3358$
Y_3	1.0464	1.2517	1.3315	1.2858	1.1147	$MAX(X_1 = -0.4147) = 1.2984$
Y_4	0.5047	0.8483	1.3314	1.9542	2.7164	$MAX(X_1 = 2) = 2.7164$
Y_5	0.8031	1.1525	1.3315	1.3400	1.1781	$MAX(X_1 = -1.7114) = 1.2423$

2.2.3 回归方程的模拟寻优

根据取得的回归方程, 通过计算机模拟寻优^[9-12], 得到 28 个组合(结果略), 对 28 个组合进行频数分析表明, 欲达到 3.1% 以上的得率, 最佳提取温度为 100℃, 提取次数 4~5 次, 提取时间(每次) 1.4~1.8 h, 酸浓度 0.10~0.14 mol/L, 料液比 1:18~1:20。

2.2.4 验证试验

从优化提取参数范围内随机选择 5 个组合进行验证试验, 结果如表 5 所示。

表 5 验证试验结果

Table 5 Results of validation experiment

	酸浓度 /mol·L ⁻¹	料液比 /g·mL ⁻¹	提取时间 /h	提取温度 /℃	提取次数 /次	得率 /%
1	0.10	1:20	1.8	100	4	3.24
2	0.10	1:20	1.5	100	5	3.32
3	0.12	1:18	1.8	100	5	3.20
4	0.14	1:18	1.5	100	5	3.12
5	0.14	1:20	1.5	100	4	3.17

验证试验结果表明, 采用本试验的工艺路线, 在上述优化提取参数下生产酸提水溶性菜籽多糖, 可获得 3.1% 以上的多糖得率。

3 结 论

1) 5 个因素对菜籽饼粕多糖得率的影响次序为: 提取温度 > 提取次数 > 提取时间 > 酸浓度 > 料液比。

2) 优化的提取参数是: 提取温度 100℃, 提取次数 4~5 次, 提取时间(每次) 1.4~1.8 h, 酸浓度 0.10~0.14 mol/L, 料液比 1:18~1:20。在此条件下, 菜籽

饼粕多糖的得率在 3.1% 以上。

致谢: 本文的数据分析得到余家林教授的指导, 在此表示感谢。

[参 考 文 献]

- [1] 严奉伟, 吴谋成, 江 洪, 等. 菜籽粕综合提取工艺研究[J]. 农业工程学报, 2004, 3(2): 209-212.
- [2] 董洪新, 吕作舟. 阿魏侧耳酸提水溶性多糖的研究[J]. 微生物学报, 2004, 44(4): 101-103.
- [3] 林玉满, 鄢春生, 余 萍. 短裙竹荪子实体酸提水溶性多糖的研究——Dd-2DE 的分离纯化和组成鉴定[J]. 福建师范大学学报, 1998, 14(2): 62-66.
- [4] 张丽萍, 李 森, 黄丽萍. 金顶侧耳酸提水溶性多糖的研究——PC-3 的分离、纯化与结构确定[J]. 真菌学报, 1993, 12(2): 158-162.
- [5] Robert J. Redgwell, Carl E. Hansen. Isolation and characterization of Cell Wall polysaccharides from cocoa beans[J]. Planta, 2000, 210(5): 823-830.
- [6] Ruan Zheng, Su Jie, Dai H C, et al. Characterization and immunomodulating activities of polysaccharide from *Lentinus deodes* [J]. International Immunopharmacology, 2005, 5: 811-820.
- [7] 郑晓东, 周昱, 傅承新. 薏米多糖提取工艺的优化[J]. 农业工程学报, 2000, 15(5): 19-22.
- [8] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 浙江大学出版社, 1994: 11-12.
- [9] 余家林. 农业多元试验统计[M]. 北京农业大学出版社, 1993: 109-123.
- [10] 杨爱梅, 雷红霞. 豫薯 10 号优化栽培数学模型的研究[J].

- 华北农学报, 1998, 13(4): 70–73.
- [11] 蒋秋燕, 乔旭光, 张振华. 影响大蒜多糖提取的因素及其条件优化[J]. 中国食品学报, 2005, 12(4): 101–105.
- [12] 曾健智, 张厚瑞, 方宏, 等. 正交旋转回归试验优化木糖醇发酵培养基[J]. 食品与发酵工业, 2002, 03: 14–16.

Optimization of acid extraction of polysaccharides from rapeseed meal

Liu Beibei, Li Xiaoding, Tan Zhenglin, Wu Moucheng^{*}

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The quadratic orthogonal rotation design with five factors was used to study the effect of acid concentration, the ratio of liquid to solid, time, temperature and extracting times on the yield of polysaccharides by acid extraction from rapeseed meal. Functional models of yield to five factors were established by RSREG software in SAS8.0. Results show that the regression equation is significant, and the mathematical model for the simulation is presented; the effect order of five factors on yield is as follows: temperature > extracting times > time > the ratio of liquid to solid > acid concentration. The optimum technical conditions are as follows: rapeseed meal is marinated with 18~22 times of 0.10~0.14 mol/L HCl at 100°C for 1.4~1.8 h, extracting times are 4~5. The yield of soluble polysaccharides by acid extraction from rapeseed meal is over 3.1% under these conditions.

Key words: rapeseed meal polysaccharides; acid extraction; orthogonal rotation design; mathematical model; yield efficiency analysis