

均匀设计超声波循环提取豆粕异黄酮的研究^{*}

王万能¹ 全学军¹ 陆天健^{1, 2}

(1 重庆工学院生物工程学院, 重庆 400050; 2 重庆市中药研究院 400065)

摘要 采用均匀设计试验优化技术方法, 进行超声波循环提取豆粕异黄酮的多因素复杂试验, 通过应用统计分析软件 SPSS 处理试验数据, 得出多因素回归方程, 求出最佳试验因素条件组合, 并通过进一步试验得到验证。

关键词 异黄酮; 均匀设计; 超声波

中图分类号 S 565. 1 **文献标识码** A **文章编号** 1000—9841(2005)01—0075—03

大豆异黄酮具有抗癌、防骨质疏松、改善妇女更年期症状、防止心血管疾病、防止脂质过氧化、预防糖尿病、抗菌等多方面的生理功能。大豆豆粕中异黄酮含量高, 关于提取豆粕中异黄酮的报道很多, 大多是传统的提取方法, 配合单因素试验, 或正交设计法进行优化, 得出结论, 难以对最佳试验条件进行量化。均匀设计作为一种以少量试验处理多因素多水平的试验方法, 近年来广泛用于科学研究, 而进行超声波提取豆粕异黄酮的研究尚未见报道。

本文用均匀设计法选取超声波循环提取的温度、转速、功率和时间 4 个因素进行试验, 通过方程求出最优条件, 并对其进行验证。

1 材料与方法

1.1 材料

豆粕购自重庆市新涪食品有限公司; 葛根素(Puerarin)标准品购自中国药品生物制品检定所; 酒精, 化学纯。HF—2. 5B 超声波循环提取机, AL204 电子天平, TU—1901 紫外可见分光光度计, SHZ—D(III)循环水式真空泵, 真空恒温干燥箱, 恒温水浴锅, 植物粉碎机, 托盘天平, 分样筛, SPSS 软件。

1.2 方法

1.2.1 标准曲线的建立及样品测定

称取干燥恒重葛根素标样 5. 3mg, 溶于蒸馏水中, 定容至 100mL, 即为浓度为 $53\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备溶液。分别吸取 0. 20mL、0. 40mL、0. 60mL、0. 80mL、1. 00mL 的标准储备溶液, 再用蒸馏水定容至 10mL, 配制成不同浓度的标准溶液。

将葛根素标准溶液和提取样品液分别在 TU—1901 紫外可见分光光度计上紫外区 (190 ~ 400nm) 扫描, 扫描参数设置如下: 起始波长为 400nm, 结束波长为 190nm, 扫描速度为中速, 纵坐标范围为 0. 000—1. 000, 光度方式为 Abs, 重复扫描次数为 1 次, 采样间隔为 1nm。在两者的共同吸收峰 250nm 处测葛根素不同浓度的吸光度。用 SPSS 软件建立回归方程。

样品测定方法如建立葛根素标准曲线方法, 据标准曲线计算出豆粕总异黄酮含量。

1.2.2 均匀设计试验表

根据单因素试验及相关资料, 本实验选取温度、转速、功率和时间 4 个因素 6 个水平进行试验, 拟用 U6(64)表设计, 因素和水平见表 1。

试验在 HF—2. 5B 超声波循环提取机中进行, 称取 20—60 目豆粕粉 160g, 加入 2. 4L70%酒精, 其余提取技术参数按均匀设计表中方案进行试验, 每个试验方案重复三次。每次试验测定提取液异黄酮浓度, 计算出豆粕异黄酮的提取量。最后汇总试验数据, 形成均匀设计试验结果表。

^{*} 收稿日期: 2004—08—02

基金项目: 重庆市科委自然科学基金项目, 编号: 7855。

作者简介: 王万能(1973—), 男, 在读博士, 主要从事生物工程和有益微生物方面的研究。

致谢: 重庆工学院生物工程学院 2002 级陈祥新、赵锴、方俊、李伟及 2003 级郭志龙等同学参加了部分实验工作, 在此表示感谢!

表 1 豆粕异黄酮提取均匀设计的因素及水平

Table 1 The factors and levels of uniform design for extracting soy residue isoflavones

水平 Level	1	2	3	4	5	6
温度 Temperature(℃)	25	30	35	40	45	50
转速 Rotate speed (X100r/ min)	12	16	20	10	14	
18 功率 Power (X100W)	7	10	6	9	5	8
时间 Time(min)	45	40	35	30	25	20

1.2.3 最优试验方案确定及验证

对试验数据进行回归分析, 建立回归方程, 通过方程推导出最优理论试验条件及豆粕异黄酮提取量。进行优化因素条件组合试验, 方法操作如前, 计算豆粕异黄酮的提取量, 并与预测理论值比较。

2 试验结果

2.1 标准曲线建立

葛根素标准溶液的最大吸收波长在 250nm 处, 提取样品液的最大吸收波长在 259nm 处, 与标准溶液的最大吸收波长略有偏差, 由于定量分析建立在标准曲线方程的基础上, 故在 250nm 处测定葛根素标准溶液的吸光度和样品溶液的吸光度。

将制备的一系列葛根素标准溶液在 TU—1901

紫外可见分光光度计上于 250nm 下比色, 得到葛根素标准溶液的工作曲线, 用 SPSS 软件进行线性回归, 得到葛根素溶液浓度 y 与吸光度值 x 关系曲线的回归方程:

$y=19.3000x-0.1896$, 相关系数 $R^2=0.996$, y 表示浓度, x 表示吸光度。

在 250nm 处葛根素溶液的浓度和吸光度之间具有良好的线性关系, 遵从朗伯—比尔定律, 该回归方程用于以后的样品分析中。

2.2 均匀设计试验结果

按照均匀设计表试验方案条件进行试验, 结果见表 2。处理数据, 建立方程可以采用传统方法, 也可自编计算程序进行分析。SPSS 软件是一个集数据处理和分析为一体的软件包, 广泛用于自然科学和社会科学研究中。

表 2 超声循环提取豆粕异黄酮均匀设计的试验结果

Table 2 Experiment result of uniform design ofr extracting circularly of soy residue isoflavones

实验号 Number	温度(℃) Temperature	转速(X100r/ min) Rotate speed	功率(X100W) Power	时间(min) Time	提取量(mg/g) Extraction rate
1	25	12	7	45	5.90
2	30	16	10	40	6.08
3	35	20	6	35	6.13
4	40	10	9	30	5.97
5	45	14	5	25	6.03
6	50	18	8	20	6.18

用 SPSS 软件对表 2 中的数据进行回归分析, 首先进行多元直线回归分析, 采用逐步法, 得直线方程:

$Y=5.686+0.024r$, $R=0.873$, Y 代表提取量, r 代表转速。

通过分析, 此方程与实际情况明显不符合, 相关性低, 温度、功率等重要因素都未在方程中出现, 此方程显然不可信, 由此分析, 线形模型不一定符合实际情况, 于是进行二次曲线模型回归, 经运用统计软件 SPSS 分析, 剔除对方程影响不显著的项, 经回归计算, 得二次回归模型方程:

$Y=5.77-1.14\times 10^{-4}t^2+4.16\times 10^{-4}wt+$

$5.87\times 10^{-5}cw+0.023r-5.33\times 10^{-5}ct$, $R^2=0.953$, Y 代表提取量, c 为温度, r 代表转速, w 为功率, t 为时间。此方程相关性较高, 而且包含了整体因素。用此多元回归方程推导各实验因素的理论最优水平, 采用多元微分法和替换法。考虑此方程在该试验水平范围内成立, 以及实验设备参数条件和节约能耗等因素, 转速和功率本还可以取更大的值, 在分析中我们取了本试验中的最大水平值。结果如表 3。

在最优理论试验方案验证试验中, 豆粕异黄酮提取量为 6.255mg/g, 比较接近理论值 6.262mg/g, 而且高于前面的所有试验方案, 均匀设计试验方案

表 3 超声循环提取豆粕异黄酮的理论优化条件及结果

Table 3 Theoretical optimum conditions and result for extracting circularly of soy residue isoflavones

温度(℃) Temperature	转速(X100r/min) Rotate speed	功率(X100W) Power	时间(min) Time	提取量(mg/g) Extraction rate
31	20	10	11	6.262

中豆粕异黄酮提取量最大值为 6.18mg/g。

3 分析与讨论

如何合理安排试验,通过尽量少的试验,达到较好的试验效果,是科学研究中不断探索的问题。关于用正交设计法来研究豆粕异黄酮提取的报道很多,试验结论不尽一致,而且只是优化出一个接近最优理论值的结果。均匀设计方法是通过提高试验点“均匀分散”的程度,使试验点具有更好的代表性,使得能用较少的试验获得较多的信息,结果更为准确。

超声波热学机理、超声波机械机制和空化作用是超声技术协助提取植物有效成份的三个理论依据。超声波提取活性物质效率高,时间短,杂质少,而且常温常压下不会使提取物质失去生物活性。以前对超声波静态提取植物活性成分有一些研究,但是对超声波循环提取天然活性成分多因素整体试验条件优化尚未见报道,本试验采用均匀设计法对超声波循环提取异黄酮的温度、转速、时间和功率等几个重要参数进行优化,在试验次数较少的情况下得到了试验因素最优理论值,并通过验证试验,与理论值比较接近,说明使用均匀设计方法得到的结果比较可靠。

本试验中除均匀设计方案主要侧重对超声波循环提取参数进行优化,故试验中设定的温度、转速、时间和功率因素外,其余因素均按单因素试验结果

及相关资料的优化条件设定,溶剂为 70%酒精,物料比为 1:15,在此条件下,均匀设计法优化的温度、转速、时间和功率因素条件应是最佳的。通过均匀设计法优化的最佳因素条件为实际超声波循环提取豆粕异黄酮提供了理论和试验依据。

参 考 文 献

1 方开泰,王元. 数论方法在统计中的应用[M]. 北京:科学出版社,1996. 5—38

2 方开泰. 均匀设计与均匀设计表[M]. 北京:科学出版社,1994. 1—30

3 赵兵,王玉春,吴江,等. 超声波用于强化石油醚提取青蒿素实验[J]. 化工冶金,2000, 21(3): 310—313

4 张玉梅,孙学斌,高旭年,等. 紫外分光光度法测定大豆异黄酮的含量[J]. 中国食品卫生杂志,2000, 12(4): 7—9

5 忻耀年. 大豆异黄酮的功用和制备工艺[J]. 中国油脂,2003, 28(10): 60—63

6 Eldridge A, Kwolek W. F. Soybean isoflavone; effect of environment and variety on composition[J]. J. Agric. Food Chem., 1983, 31: 397—396

7 殷丽君,李里特,李再贵,等. 大豆异黄酮的研究近况与展望[J]. 食品科学,2002, 23(4):

8 AO Chong, TAI YijiN, WEI—Fang jin. ModUlation of Isoflavones on Bone—nodule Formation in Rat Calvaria Osteoblasts in vitro[J]. Biomedical and Environmental Science, 2003 (16): 83—89

9 卢纹岱. SPSS for window[M]. 北京:电子工业出版社,1999 年第一版.

SRUDY ON EXTRACTING ISOFLAVONES CIRCULARLY FROM SOY
RESIDUE WITH UNIFORM DESIGN

Wang Wanneng¹ Quan Xuejun¹ Lu Tianjian^{1,2}

(1. College of Bioengineering, Chongqing Institute of Technology, Chongqing 400050;
2 Chongqing Academy of Chinese Materia Medics, Chongqing 400065)

Abstract Uniform design and four factors were studied in extracting circularly isoflavones from soy residue. The nolinear formula model of four factors was established with SPSS software in computer, the best factor conditions in details were computed from the model, which was confirmed by experiment.

Key words Isoflavones; Supersonic; Uniform design

©1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>