

# 响应面法优化超声波提取薯蓣皂素工艺研究

韩 枫, 李稳宏, 李 冬, 唐 璇, 崔 易, 陈练洪  
(西北大学化工学院, 陕西省资源化工应用工程技术研究中心, 陕西 西安 710069)

**摘 要:** 以黄姜为原料, 采用磨浆预处理后超声提取的方法从黄姜中提取薯蓣皂甙元, 考察了磨浆时间、超声提取时间、乙醇浓度、料液比和提取次数对皂素收率的影响, 并通过响应面法建立了皂素收率和磨浆时间、超声时间及料液比之间的关系, 得到了提取过程优化的工艺条件: 磨浆时间 5min, 超声时间 48min; 料液比 1:18g/ml, 拟合得到的模型较好的符合实际, 与传统的薯蓣皂素提取方法相比, 收率提高了 19%。该方法具有收率高、产品纯度高、污染小、节约能源的特点。

**关键词:** 黄姜; 磨浆; 超声提取; 薯蓣皂甙元; 响应面法

Optimization for Ultrasonic Wave Extraction of Diosgenin by Response Surface Method

HAN Feng, LI Wen-hong, LI Dong, TANG Xuan, CUI Yi, CHEN Lian-hong  
(Shaanxi Research Center of Chemical Engineering and Technology for Resource Utilization, College of Chemical Engineering, Northwest University, Xi'an 710069, China)

**Abstract:** Diosgenin was extracted by grinding starch pretreatment and ultrasonic extracting method from *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright. The effects of grinding starch time, ultrasonic extraction time, ethanol concentration, ratio of material to solvent and number of extractions times on extraction yield were investigated. By employing response surface methodology, the relationship of grinding starch time, ultrasonic extraction time, ratio of material and solvent and extraction yield was founded. The parameters of extraction process were optimized, so the optimal experiment parameters are: grinding starch time 5 min, ultrasonic extraction time 50 min and the ratio of material and solvent 1:18, extraction yield of ultrasonic wave extraction method increased 19% compared with the traditional method. The method is energy-saving, of low pollution and better efficiency.

**Key words** *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright; grinding starch; ultrasonic extraction; diosgenin; response surface methodology (RSM)

中图分类号: Q946.838.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0096-05

黄姜, 学名盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright), 系薯蓣科薯蓣属植物, 为我国特有的野生植物资源。其根状茎中含有的薯蓣皂甙元(diosgenin), 即皂素, 具有治疗冠心病、调节新陈代谢、抗癌、抗

高血脂等功效, 同时它也是合成多种甾体激素和甾体避孕药理想的前体, 是药品生产中仅次于抗菌素的一个重要领域。由于薯蓣皂素主要来自于黄姜, 所以黄姜也因此拥有药用“黄金”之美誉<sup>[1-2]</sup>。

收稿日期: 2006-07-26

基金项目: 陕西省重点攻关项目(04K09-G15); 陕西省教育厅重大产业化项目(04JC03); 西安市工业攻关项目(GG05083)

作者简介: 韩枫(1979-), 女, 博士研究生, 主要从事天然有机物提取纯化工艺研究。

- [6] 陈红霞, 贾晓斌. 冬虫夏草多糖的药理学研究进展[J]. 江苏大学学报, 2005, 15(1): 74-78.
- [7] 王菊凤, 杨道德, 李鹤鸣, 等. 虫草多糖洋酒进展[J]. 中草药, 2006, 37(5): 附6-附8.
- [8] 刘玲, 安家彦, 金凤燮. 蛹虫草多糖除杂蛋白的方法[J]. 大连轻工业学院学报, 2002, 21(3): 33-37.
- [9] 费荣昌. 试验设计与数据处理[M]. 4版. 无锡: 江南大学出版社, 2001:

59-63.

- [10] 陈建民, 李文魁, 沈一行, 等. 胖大海中多糖的成分分析和含量测定[J]. 中药材, 1994, 17(8): 32-33.
- [11] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1994.
- [12] 王桃梅, 李琳, 郭祀远, 等. 多糖构效关系研究评述[J]. 现代化工, 2002, 22(8): 18-21.

薯蓣皂素的提取方法有直接酸水解法、酶解—酸水解法、预分离淀粉法及超临界萃取法等<sup>[3-4]</sup>, 目前尚未见采用超声法提取薯蓣皂素的研究报道。据笔者调研, 大部分生产企业目前都采用传统的提取方法——直接酸水解法, 该法不仅能耗大, 收率较低, 而且废水废渣多, 造成环境污染严重。超声波作为一种高效节能的新兴应用技术, 近年来在植物化学领域得到了广泛应用。利用超声波在溶剂中传播产生的高压作用下使植物细胞壁破裂, 从而有效地加快了萃取速率和产品收率。同时, 由于传统的单因素和正交考察已不能满足实验要求, 与实际误差较大, 响应面法系数学与统计学的结合, 它有助于快速建模、缩短优化时间和提高工程应用可信度<sup>[5]</sup>。

本研究采用对黄姜磨浆预处理, 再进行超声提取的方法制备提取皂素, 并通过响应面法考察各实验条件对皂素收率的影响, 并确定了最佳工艺参数。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

黄姜 陕西省旬阳神宝生物科技有限公司; 所用试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器

SN-2000 直插式超声波发生器(压电陶瓷换能器、输入功率 2kW、频率 20kHz、探头直径 20mm) 广州辛诺科超声设备公司; UV-265 紫外分光光度计 日本岛津公司; X-4 数字显示显微熔点测定仪 北京泰克仪器公司; 磨浆机 自制; 高压釜 自制。

### 1.3 方法

从微观的角度来看, 新鲜黄姜中薯蓣皂甙以小液滴的形式存在于薄壁细胞中, 并且有小型维管束分布的基本组织中薯蓣皂甙的积累与分布最丰富<sup>[6-7]</sup>。因此, 鲜黄姜经过磨浆将植物组织打碎, 使富集皂甙的细小纤维等组分释放出来, 有利于薯蓣皂素的提取分离。然后利用超声波在溶剂中传播发生的“空化效应”, 产生连续不断的高压冲击植物颗粒表面, 使植物细胞壁破裂而将目标产物释放到提取液中<sup>[8-9]</sup>。本研究正是根据上述原理设计了该实验方案。

称量粉碎的黄姜 100g, 加水磨浆一定时间, 然后加入定量一定浓度的乙醇进行超声处理, 提取数次, 合并滤液并浓缩至 50ml, 然后加入 10ml 浓盐酸, 于 100℃水浴中水解 4h, 加入氢氧化钠调节 pH 值至中性, 过滤并将滤渣在 80℃下烘干, 然后加入石油醚萃取, 取 5ml 提取液定容至 50ml 后待测, 剩余提取液经活性炭吸附去色素后, 用甲醇反复重结晶得薯蓣皂素。

#### 1.3.1 薯蓣皂素提取的单因素试验

试验对磨浆时间、超声提取时间、乙醇浓度、料液比和提取次数进行单因素探索, 分别考察这五个因素对皂素收率的影响。

#### 1.3.2 响应面法优化薯蓣皂素提取工艺条件——Box-Behnken 设计

试验在单因素试验结果的基础上固定乙醇浓度为 50%, 提取次数为三次, 采用 Box-Behnken 设计, 以皂素收率为考察目标, 分别以磨浆时间、超声提取时间和料液比对应三个独立变量  $x_1$ 、 $x_2$ 、 $x_3$ , 中心点处处理五次, 其他处理一次。模型选用二次方程:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 \quad (1)$$

#### 1.4 测定方法

实验中采用紫外分光光度法测定提取液中薯蓣皂素含量。已见报道的对薯蓣皂素的定量分析方法均存在局限性, 分析结果误差较大。本研究采用改良的 Liebermann 试剂法进行定量分析。改良 Liebermann 试剂的配制: 30ml 冰醋酸、60ml 醋酸酐、10ml 浓硫酸, 冰水中混匀后加入 2g 无水硫酸钠。标准曲线的绘制: 取薯蓣皂素标准品 10mg 用石油醚定容至 50ml, 分别量取 0.50、1.00、2.00、3.00、4.00ml 溶液蒸干, 各加入改良的 Liebermann 试剂 5ml, 在 70℃水浴中加热 4min, 冰水中冷却 1min, 在 480nm 处测定吸收度, 根据数据结果绘制标准曲线(见图 1)。

表 1 试验因素水平编码  
Table 1 Test range and levels of three independent variables in terms of actual factors

编码值	磨浆时间(min) $x_1$	超声时间(min) $x_2$	料液比(g/ml) $x_3$
-1	3	35	1:12
0	5	50	1:15
1	7	65	1:18

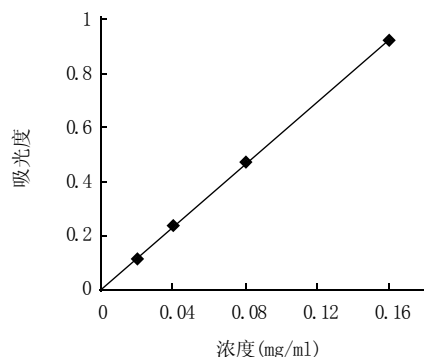


图 1 薯蓣皂甙元吸收度标准曲线图  
Fig.1 Standard curve of diosgenin

以吸收度对浓度进行回归, 其回归方程为:  
 $C = 0.173A - 0.00168$  ( $r = 0.9999$ )。由标准曲线可知, 浓度

在 0.02~0.16mg/ml 范围内时,吸光度与薯蓣皂素的含量呈线性关系,故可根据测得的吸光度通过标准曲线计算出待测液浓度值,经换算可得产品收率。

$$\text{产品收率} = \frac{\text{薯蓣皂素量}}{\text{黄姜干重}} \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 磨浆时间对收率的影响

以 50% 乙醇为提取溶剂,超声提取两次,每次 30min,溶剂用量分别为 450、300ml,考察不同磨浆时间对皂素收率的影响,结果见表 2。确定最佳磨浆时间为 5min。

表 2 磨浆时间对收率的影响

Table 2 Effects of grinding starch time on extraction yield

磨浆时间(min)	0	1	2	3	5	7
皂素收率(%)	1.20	2.04	2.02	2.32	3.06	2.92

#### 2.1.2 超声时间对收率的影响

磨浆 3min,以 50% 乙醇为溶剂提取两次,溶剂用量分别为 450、300ml,考察超声提取时间对收率的影响,结果见表 3。考虑到多次提取,每次时间不宜过长,选超声时间为 50min。

表 3 超声时间对收率的影响

Table 3 Effects of ultrasonic extraction time on extraction yield

超声时间(min)	10	30	50	70
皂素收率(%)	1.46	2.30	2.90	2.92

#### 2.1.3 乙醇浓度对收率的影响

磨浆 5min,超声提取两次,每次 30min,溶剂用量分别为 450、300ml,考察乙醇浓度对收率的影响,结果见表 4。确定最佳乙醇浓度为 50%。

表 4 乙醇浓度对收率的影响

Table 4 Effects of ethanol concentration on extraction yield

乙醇浓度(%)	30	50	70	90
皂素收率(%)	2.03	3.06	3.01	3.11

#### 2.1.4 料液比对收率的影响

磨浆 3min,超声提取两次,每次 30min,以 50% 乙醇为提取溶剂,两次用量相同。原料以干重 40g 计,考察料液比对收率的影响,结果见表 5。为节约成本,选取 1:15 为最适宜料液比。

#### 2.1.5 提取次数的选择

磨浆 3min,以 50% 乙醇为提取溶剂,用量分别为 450、300ml,超声提取 30min,考察提取次数对收率影

表 5 料液比对收率的影响

Table 5 Effects of ratio of material and solvent on extraction yield

料液比(g/ml)	1:8	1:10	1:12	1:15	1:18
皂素收率(%)	1.82	2.35	2.68	2.85	2.96

表 6 提取次数对收率的影响

Table 6 Effects of extractions times on extraction yield

提取次数	1	2	3	4
皂素收率(%)	0.88	2.28	2.62	2.71

响,结果见表 6。最优提取次数为三次。

### 2.2 响应面法确立最佳工艺条件

#### 2.2.1 响应值结果及其拟合模型

1~12 号是析因试验,13~17 号是中心试验。17 个试验点分为析因点和零点,其中析因点为自变量取值在  $x_1$ 、 $x_2$ 、 $x_3$  所构成的三维顶点;零点为区域的中心点,零点试验重复 5 次,用以估计试验误差。由 Box-Behnken 设计方案所得结果如表 7,采用高斯-牛顿法将表 2 的结果对模型(1)进行了拟合,得到了拟合模型(2)。

表 7 试验方案及结果分析

Table 7 Design and results of tests

试验编号	$x_1$	$x_2$	$x_3$	响应值
1	-1	-1	0	2.34
2	1	-1	0	2.91
3	-1	1	0	2.41
4	1	1	0	2.53
5	-1	0	-1	2.38
6	1	0	-1	2.36
7	-1	0	1	2.98
8	1	0	1	2.82
9	0	-1	-1	2.79
10	0	1	-1	2.47
11	0	-1	1	3.14
12	0	1	1	3.07
13	0	0	0	2.90
14	0	0	0	3.06
15	0	0	0	3.15
16	0	0	0	3.11
17	0	0	0	3.10

$$y = 3.06 + 0.064x_1 - 0.088x_2 + 0.25x_3 - 0.11x_1x_2 - 0.035x_1x_3 + 0.062x_2x_3 - 0.37x_1^2 - 0.14x_2^2 - 0.054x_3^2 \quad (2)$$

试验的方差分析见表 8。

从表 3 可知,方程的 F 值为 8.09,  $F > f_{0.01}(9, 7) = 6.71$ ,说明用上述回归方程描述各因素与响应值之间的关系时,其因变量和全体自变量之间的线性关系显著,即这种试验方法是可靠的。从回归方程各项方差的进一步检验也可看出,  $x_3$ 、 $x_1^2$  对结果影响显著( $p < 0.05$ ),因此各具体试验因子对响应值的影响不是简单的线性关系。回归方程各项的方差分析结果还可以看出方

表8 回归模型方差分析  
Table 8 ANOVA (analysis of variance) of items of regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方和	F 值	Pr > F
X <sub>1</sub>	0.033	1	0.033	1.69	0.2347
X <sub>2</sub>	0.061	1	0.061	3.18	0.1175
X <sub>3</sub>	0.51	1	0.51	26.25	0.0014
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.051	1	0.051	2.63	0.1488
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	4.900E-003	1	4.900E-003	0.25	0.6293
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.016	1	0.016	0.81	0.3974
X <sub>1</sub> X <sub>1</sub>	0.59	1	0.59	30.70	0.0009
X <sub>2</sub> X <sub>2</sub>	0.085	1	0.085	4.41	0.0738
X <sub>3</sub> X <sub>3</sub>	0.013	1	0.013	0.65	0.4466
失拟项	0.097	3	0.032	3.43	0.1326
误差	0.038	4	9.430E-003		
模型	1.40	9	0.16	8.09	0.0058
残差	0.13	7	0.019		
总离差	1.53	16			

注：“Pr > F”值如果小于0.05，说明对应的因素响应值影响显著。

程的失拟项很小，表明该方程对试验拟合情况好，试验误差小，因此可用该回归方程代替试验真实点对实验结果进行分析和预测。

回归模型预测的薯蓣皂素提取的最佳工艺条件为：磨浆时间5.11min，超声提取时间48.36min，料液比1:18(g/ml)，在此条件下，薯蓣皂素收率理论上可达3.263%。

## 2.2.2 等高线图和响应面图分析

RSM 方法的图形是特定的响应面  $y$  对应的因素  $x_1$ 、 $x_2$ 、 $x_3$  构成的一个三维空间在二维平面上的等高图，可以直观地反映各因素对响应值的影响，从实验所得的响应面分析图上可以找到它们在反应过程中的相互作用。回归优化响应面曲面图及等高线图见图2。

## 2.3 模型的验证以及与传统提取方法实验结果的比较

为检验 RSM 法的可靠性，采用上述最优提取条件

进行薯蓣皂素的提取实验，考虑到实际操作的便利，将最佳工艺条件修正为：磨浆时间5min，超声提取时间48min，料液比1:18(g/ml)，在此条件下进行三次平行实验。同时为了验证磨浆预处理超声提取法的优劣，在传统的薯蓣皂素提取工艺条件下进行三次实验，取粉碎的黄姜100g，加入180ml 2.5%的盐酸，置于高压釜中，于130℃、0.25MPa下水解80min，然后抽滤并水洗滤渣至中性，滤渣于80℃条件下烘干后，加入一定量石油醚，于索氏提取器中提取6h，分析及提纯过程同1.3。实验结果分析与比较见表9。

表9 两种提取法的实验结果对照表  
Table 9 Comparison of the two extracting methods

提取方法	收率(%)				熔点(℃)
	1	2	3	平均值	
超声法	3.183	3.258	3.129	3.190	203~205
传统提取法	2.534	2.783	2.691	2.673	195~201

注：薯蓣皂甙元的熔点为204~207℃，薯蓣皂甙元工业品标准：初熔点199~209℃以内，熔程10℃以内为合格产品。

实际测得的皂素收率平均为3.19%，与理论预测值相比相对误差在2.3%左右，符合一般的工程要求，因此，采用RSM法优化得到的工艺条件参数准确可靠，具有实用价值；同时，该方法与传统提取方法相比较，收率提高了19%，提取物纯度高。

## 3 结论

3.1 首次以超声波法提取黄姜中的薯蓣皂素，并借助于响应面分析法(RSM)得到了与实际拟和程度较高的模型以及优化的工艺条件：磨浆时间5min，超声提取时间48min，料液比1:18(g/ml)，薯蓣皂素收率达到3.19%，该方法比传统的薯蓣皂素提取方法收率提高了19%，产品纯度提高，并大大降低了提取过程中盐酸用量。

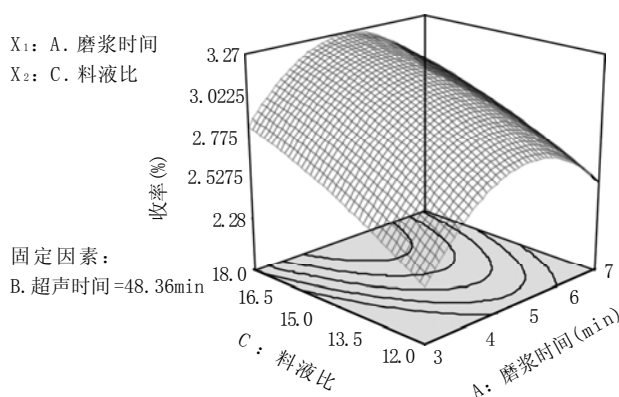
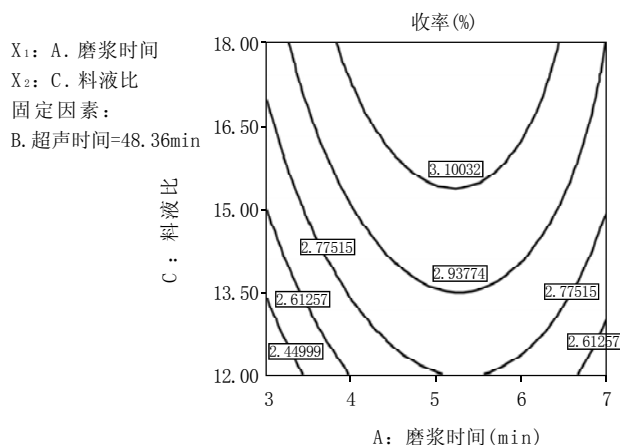


图2  $y=f(x_1, x_2)$  的响应面与等高线图  
Fig.2 Responsive surfaces and contours of  $y=f(x_1, x_2)$

# 雾化喷淋冷却对猪半胴体干耗及品质的影响

张向前, 李虹敏, 徐幸莲\*, 周光宏

(南京农业大学 教育部肉品加工与质量控制重点实验室, 江苏 南京

210095)

**摘 要:** 为了解决实际生产中猪半胴体在冷却过程中干耗较严重的问题, 选取宰后 45min 内的猪半胴体, 研究了不同持续时间(4、8、12、16h)的雾化喷淋冷却处理对猪半胴体干耗及各项品质指标的影响。结果表明: 雾化喷淋冷却能显著降低胴体 24h 冷却干耗, 半胴体表面微生物数量稍有上升, 喷淋对背最长肌货架期的影响并不显著。随着喷淋持续时间的延长, 肌肉保水性降低, 但对背最长肌 L\*、a\*、b\* 值影响不大, 脂肪 L\* 值略有上升, 且喷淋时间超过 12h 后脂肪颜色变亮、变灰。各处理组间半胴体冷却速率基本没有差异( $p > 0.05$ ), 16h 喷淋组在冷却结束时 pH 偏低。

**关键词:** 雾化喷淋冷却; 猪胴体; 干耗; 胴体品质

## Effects of Spray-chilling on Carcass Shrinkage and Pork Quality

ZHANG Xiang-qian, LI Hong-min, XU Xing-lian\*, ZHOU Guang-hong

(Key Laboratory of Meat Processing and Quality Control, Ministry of Education, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** In conventional chilling, carcass shrinkage was so serious that caused considerable economic losses. To solve this problem, spray-chill system was introduced during the cooling period. In this study, effects of different spray-chilling durations (4, 8, 12 and 16h) were compared with conventional chilling on carcass shrinkage and pork quality during chilling. It indicated that spray-chilling significantly reduced carcass shrinkage at 24h postmortem, slightly increased bacterial counts, but had little effect on retail life of *M. Longissimus*. Regarding WHC (water-holding capacity) of muscle, drip loss was higher with the prolonging of spray-chill treatment time, while colour of carcass showed only a little change except for a slight increase on the value of CIE L\* of fat. Fat color tended to brighten and turned gray as spray duration extended up to 12 h. The rate of chilling was similar for all treatments ( $p > 0.05$ ), while pH of carcasses by 16 h treatment turned lower than others at the end of chilling.

收稿日期 2006-08-06

\*通讯作者

基金项目: 江苏省科技厅成果转化资金项目(BA2005009)

作者简介: 张向前(1981-), 男, 硕士, 研究方向为肉品加工与质量控制。

3.2 以磨浆预处理后超声波提取的方法从黄姜中提取薯蓣皂素, 同传统方法相比具有提取率高、节约能耗、减少环境污染等优点, 因此具有良好的应用前景。

### 参考文献:

- [1] 秦松云, 丁季春, 舒抒, 等. 中国盾叶薯蓣资源现状及保护对策[J]. 资源开发与市场, 2004, 20(4): 263-265.
- [2] 黄诗铨, 张希. 中国黄姜生产的现状与对策[J]. 世界农业, 2003(9): 49-50.
- [3] 林向阳. 盾叶薯蓣中薯蓣皂素的提取研究进展[J]. 河北科技师范学院学报, 2005, 19(3): 72-75.
- [4] 高国新, 郑锁键, 刘艺, 等. 黄姜根中薯蓣皂素的提取及研究[J]. 陕西农业科学, 2005(1): 22-24; 91.
- [5] VOHRA A, SATYANARAYANA T. Statistical optimization of the medium components by response surface methodology to enhance phytase production by *pichia anomala*[J]. Process Biochemistry, 2002, 37(9): 999-1004.
- [6] EDWARDS A L. Presence of diosgenin in *Dioscorea batatas* (*Dioscoreaceae*) [J]. Economic Botany, 2002, 56(2): 204-206.
- [7] 曹玉芳, 王太霞, 胡正海. 盾叶薯蓣根状茎不同部位和不同生长期薯蓣皂苷元含量的差异性研究[J]. 中草药, 2004, 35(5): 562-566.
- [8] 陈国钧. 超声技术在中草药有效成分提取中的应用[J]. 机电信息, 2005, 18: 56-58.
- [9] HROMADKOVA Z, EBRINGEROVA A. Ultrasonic extraction of plant materials—investigation of hemicellulose release from buckwheat hulls [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2003(10): 127-133.