

响应面法优化羟丙基-β-环糊精制备工艺

袁超, 金征宇

(江南大学 食品科学与安全教育部重点实验室, 江苏 无锡 214036)

摘要: 对β-环糊精碱性条件下与环氧丙烷反应制备羟丙基-β-环糊精的工艺进行了优化。通过单因素试验确定了反应温度、反应时间和透析时间三个试验因素的取值范围, 并用响应面分析法确定了最佳工艺参数: 反应时间16.05h, 反应温度31.06℃, 透析时间7.41h。据此工艺参数制得羟丙基-β-环糊精的取代度达到4.10, 得率61.80%。
关键词: 羟丙基-β-环糊精; 响应面分析法; 优化

Optimization of Hydroxypropyl-β-cyclodextrin Preparation Process by Response Surface Method

YUAN Chao, JIN Zheng-yu

(Key Laboratory of Food Science and Safety, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The parameters of preparing hydroxypropyl-β-cyclodextrin were optimized. The ranges of reaction temperature, reaction time and dialysis time were confirmed through single factor experiment, then a response surface method was conducted to get the following optimal parameters: reaction time 16.05h, reaction temperature 31.06℃ and dialysis time 7.41h. The degree of substitution (DS) and recovery prepared under optimal parameters respectively are 4.10 and 61.80%.

Key words hydroxypropyl-β-cyclodextrin; response surface method; optimization

中图分类号: TS236.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)03-0147-05

响应面分析法(response surface method, RSM)是由 Box 等人^[1]于二十世纪五十年代提出的一套统计方法, 其基本思想是通过近似构造一个具有明确表达形式的多项式来表达隐式功能函数, 寻找考虑了输入变量值的变异或不确定性之后的响应最佳值。它是一种优化反应条件和加工工艺参数的有效方法, 目前已广泛应用于化学

化工、生物工程、食品工程等方面^[2]。

环糊精(cyclodextrin, CD)是一种由数个葡萄糖残基通过α-1, 4-糖苷键连接的环式低聚糖。由淀粉、糖原或麦芽低聚糖等经过环糊精糖基转移酶(cyclomaltdextrin glucanotransferase)作用而得到。CD具有“内疏水、外亲水”的特殊立体环状结构(图1), 能与很多种化合

收稿日期: 2006-03-24

作者简介: 袁超(1979-), 男, 博士研究生, 主要从事碳水化合物研究。

of 90.56% for triterpene glucoside from *Siraitia grosvenorii*. The extraction rate of triterpene glucoside from *Siraitia grosvenorii* can be increased with the increase of grinding degree.

Compared with extraction at room temperature, heat reflux extraction and Soxhlet, MAE of triterpene glucoside from *Siraitia grosvenorii* is a better method. The extractive time used in MAE is much shorter than that of other methods, while higher extraction rate can be got with MAE than that of the other methods.

References:

- [1] GANZLER K, SALGO A, VALKO K. Microwave extraction-a novel sample preparation method for chromatography[J]. Journal of Chromatography, 1986, 371: 299-306.
- [2] PARE J R J, SIGOMIN M, LAPOINTE J. Microwave-assisted natural products extraction: US, 5002: 784[P]. 1991.
- [3] VIOR L, YANG R. Microwave-assisted extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments[J]. Anal Chem, 1994, 66: 1097-1106.
- [4] RODRIGUEZ L, SANTAMARINA M, BOLLAIN M H, et al. Speciation of organotin compounds in marine biomaterials after basic leaching in a non-focused microwave extractor equipped with pressurized vessels [J]. J Chromatogr, 1997, 774: 379-387.
- [5] LI Hai-bin, LI Lin, GUO Si-yuan, et al. Extraction technology of effective ingredients in medicinal plants[J]. Modern Chemical Industry, 2002, 22 (5): 59-62.

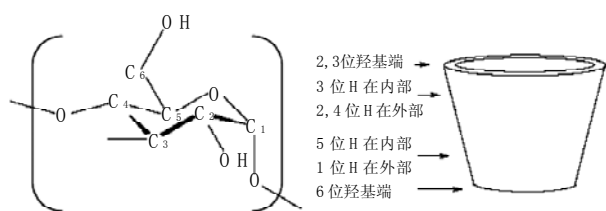


图1 环糊精分子结构示意图

Fig.1 Sketch of cyclodextrin configuration

物形成包合物,从而提高客体分子的水溶性、稳定性和抗氧化、光分解能力,或达到缓释和立体分离效果。因此,近年来CD在食品、医药、化妆品、农业和分析化学等领域广泛应用^[3-4]。其中应用最多的是含有七个葡萄糖残基的 β -CD。但是 β -CD在C₂、C₃羟基之间形成分子内氢键,导致在水中溶解度较低(1.85g/100ml, 20℃),限制了其应用^[5]。研究者通过化学修饰的方法,在碱性条件下使 β -CD与环氧丙烷反应,将羟丙基引入 β -CD分子的C₂、C₃或C₆位,制得羟丙基- β -环糊精(hydroxypropyl- β -cyclodextrin, HP- β -CD),打开了 β -CD的分子内氢键,水溶性大大提高(>50%),并且HP- β -CD具有更高的安全性,被认为是很有潜力的药物辅料和食品添加剂^[6-8]。

关于HP- β -CD的制备,国内外有一些相关报道,但大都是沿用最早的方法或根据实验情况进行了部分改进。传统的制备方法得率较低,耗时,影响了制备效率。本文通过单因素试验和响应面法对HP- β -CD的制备工艺进行优化,找到最佳工艺参数,提高制备效率。

1 材料与方法

1.1 材料

美国Microdialysis Chambers公司透析袋(截留分子量500); β -环糊精,环氧丙烷、氢氧化钠、浓盐酸、95%乙醇为分析纯;薄层层析硅胶GF254为化学纯。

1.2 仪器

RE-52AA型旋转蒸发仪;立式冷冻干燥机 美国Labconco公司;UV-2100型分光光度计 美国UNICO公司;HH-2型恒温水浴锅;FA1604型电子天平。

1.3 方法

1.3.1 HP- β -CD的制备

把75ml浓度18%的NaOH溶液加热到60℃,边搅拌边缓慢加入50g β -CD,继续搅拌直到 β -CD完全溶解,冷却到室温,然后在冰浴下边搅拌边3h内均匀滴加环氧丙烷25ml,调整到一定温度继续搅拌,反应一段时间后用HCl中合到pH7以中止反应,反应液减压蒸馏,得到浆状物用95%乙醇溶解,搅拌使NaCl沉淀,过滤,滤液减压蒸馏得浓浆,用水溶解后流水透析数小时后再

次减压蒸馏,得到浓浆冷冻干燥得产品。

1.3.2 取代度测定及得率计算

取代度用D. P. Johnson^[9]的方法用分光光度计在595nm下进行测定。

$$\text{得率}(\%) = \frac{\text{冻干产品重量}}{\beta\text{-CD重量}} \times 100$$

1.3.3 单因素试验

选取反应温度、反应时间、透析时间三个可能对HP- β -CD产生影响的因素做单因素试验,以确定各因素的合适范围。

1.3.4 响应面试验

根据单因素试验选择反应温度、反应时间、透析时间三个因素三水平共15个点(4个中心点)的响应面试验,以取代度和得率为响应值,用软件Design Expert 6.0进行试验设计和结果分析。

1.3.5 薄层色谱定性分析

采用C. Trinadha Rao等人^[7]的方法对产品进行定性分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 反应温度对取代度和得率的影响

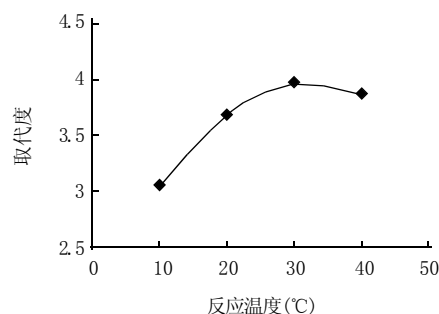


图2 反应温度对取代度的影响

Fig.2 Effects of reaction temperature on DS

分别选取10、20、30和40℃进行试验,其它反应条件为反应时间15h,透析时间8h。从图2可以看出,取代度在反应温度为30℃左右时达到最大,温度继续上升,取代度降低。这可能跟环氧丙烷的挥发有关。反应温度对得率影响不大,四个实验的得率都在56.7%~59.3%之间。

2.1.2 反应时间对取代度和得率的影响

分别选取5、10、15和20h进行试验,其它反应条件为反应温度30℃,透析时间8h,结果见图3。可以看出,随反应时间的延长,取代度增加,15h后增幅减缓,可能反应器中的环氧丙烷已大部分消耗,反应趋于停顿。反应时间对得率的影响较小,四个试验

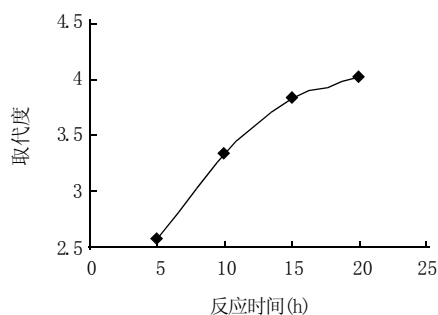


图3 反应时间对取代度的影响
Fig.3 Effects of reaction time on DS

的得率分别为 55.2%、57.2%、55.7% 和 58.9%。

2.1.3 透析时间对取代度的影响

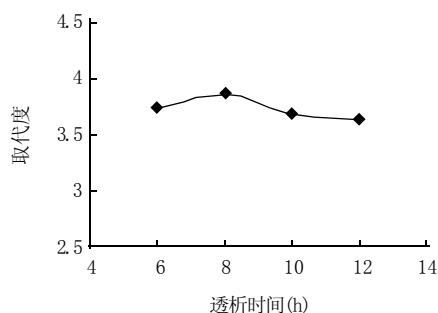


图4 透析时间对取代度的影响
Fig.4 Effects of dialysis time on DS

透析时间选取 6、8、10 和 12h，其它反应条件为反应温度 30℃，反应时间 15h。由图 4 可知，透析时间对取代度的影响不是很大，在 8h 左右时取代度最高。但是，透析时间对得率影响很大，随着透析时间增长，得率急剧下降(图 5)。

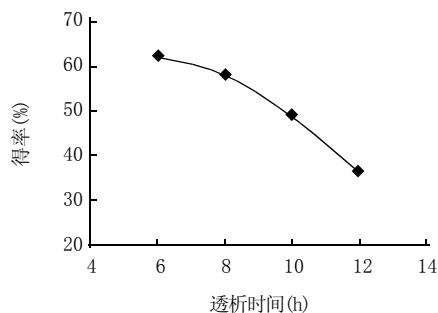


图5 透析时间对得率的影响
Fig.5 Effects of dialysis time on recovery

2.2 响应面试验

根据单因素试验结果，设定反应时间范围在 10~20h 之间，反应温度在 20~40℃ 之间，透析时间范围在 6~10h 之间。经软件 Design Expert6.0 设计出响应面分析试验，结果见表 1。

通过软件分析，可以得到优化后的响应值的动态参

表1 响应面试验设计及结果
Table 1 RSM project and results

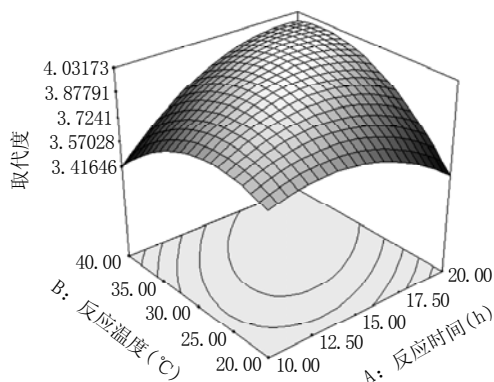
序号	A 反应时间 (h)	B 反应温度 (℃)	C 透析时间 (h)	取代度	得率(%)
1	10.00	20.00	6.00	3.42	56.40
2	15.00	30.00	8.00	3.96	63.20
3	22.07	30.00	8.00	3.86	53.10
4	7.93	30.00	8.00	3.65	49.60
5	20.00	20.00	10.00	3.22	38.60
6	20.00	40.00	6.00	3.85	50.10
7	15.00	30.00	10.83	3.77	49.00
8	15.00	30.00	8.00	4.02	62.70
9	15.00	30.00	5.17	3.85	60.10
10	15.00	44.14	8.00	3.78	47.50
11	10.00	40.00	10.00	3.12	35.10
12	15.00	30.00	8.00	4.00	60.40
13	15.00	30.00	8.00	3.91	59.20
14	15.00	30.00	8.00	3.95	58.90
15	15.00	15.86	8.00	3.61	50.70

数方程：

$$\text{取代度} = -1.0131 + 0.1138A + 0.0878B + 0.6754C - 0.0068A^2 - 0.0020B^2 - 0.0355C^2 + 0.0041AB - 0.0022AC - 0.0029BC$$

$$\text{得率} = -10.1426 + 2.9706A + 1.6759B + 7.8981C - 0.2114A^2 - 0.0641B^2 - 0.9215C^2 + 0.0855AB + 0.1317AC + 0.0969BC$$

由回归方程经处理得到反应中的反应时间、温度和透析时间之间的交互作用对取代度和得率的影响的响应面见图 5、6。响应曲面图是响应值在各试验因子交互作用下得到的结果构成的一个三维空间曲面。通过响应面分析可以找出最佳试验参数。从图中可以看出，各交互因素的最佳作用点基本都落在试验范围之内，经过软件 Design Expert6.0 的优化，取得最大取代度和得率时的最佳试验参数为：反应时间 16.05h，反应温度 31.06℃，透析时间 7.41h。此时取代度为 4.02，得率 61.80%。经实验验证，在以上最优条件下，所得产品的取代度为 4.10，得率 60.23%，与软件优化结果基本相符。



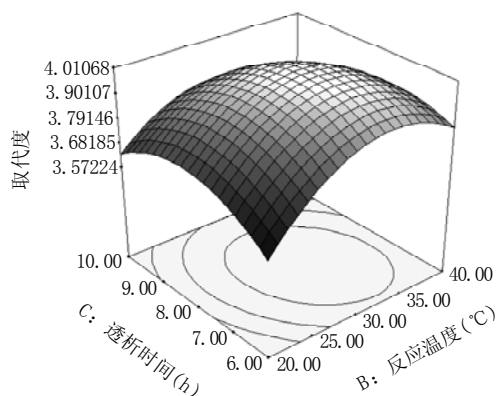
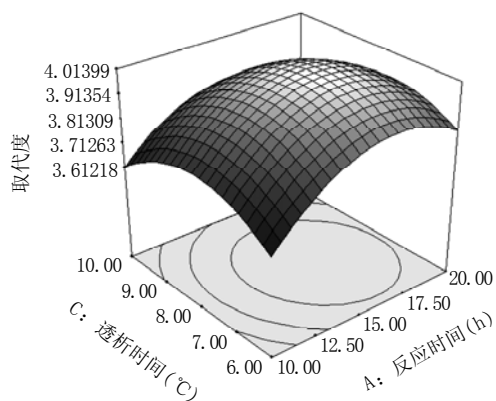


图6 交互作用对取代度的影响
Fig.6 Effects of interaction on DS

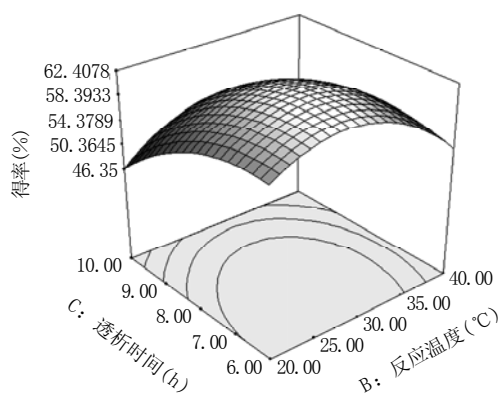
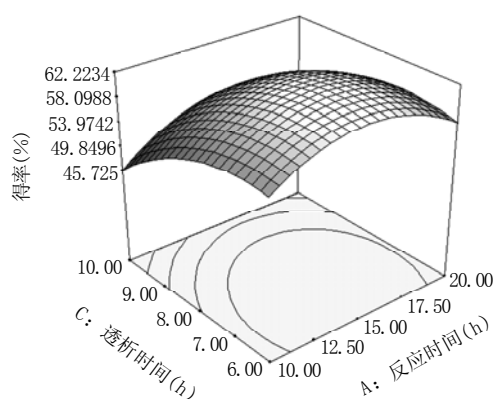
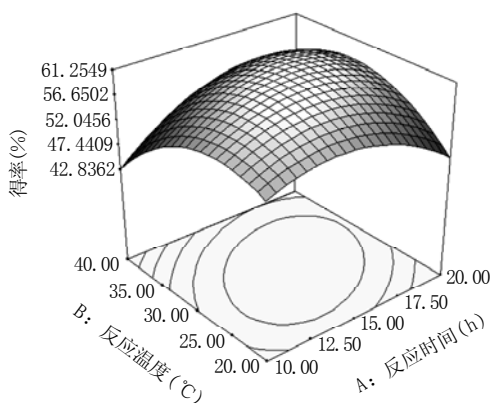


图7 交互作用对得率的影响
Fig.7 Effects of interaction on recovery

2.3 薄层色谱定性分析

通过薄层色谱方法对制得样品进行了定性分析, 结果见图8。图中左边为 β -CD, 右边为制得的HP- β -CD。根据文献报道, 此工艺制得的HP- β -CD是由含不同数量取代基的HP- β -CD组成的, 这正是HP- β -CD具有高水溶性和分散性的原因。图8中HP- β -CD经薄层色谱分离出 β -CD、一取代、二取代和多取代HP- β -CD, 结果与文献相符, 并且与C. Trinadha Rao等人^[7]做的HP- β -CD薄层色谱结果符合, 可以判定此工艺切实可行。



图8 β -CD和HP- β -CD的薄层色谱图
Fig.8 Thin-layer chromatogram of β -CD and HP- β -CD

3 结论

通过单因素试验确定了反应温度、反应时间和透析时间三个试验因素的取值范围。用Design Expert6.0软件做响应面分析, 确定了制备HP- β -CD的最佳工艺参数: 反应时间16.05h, 反应温度31.06 $^{\circ}$ C, 透析时间7.41h。据此工艺参数制得HP- β -CD的取代度达到4.10, 得率61.80%。薄层色谱分析证明此HP- β -CD制备工艺切实可行。

参考文献:

- [1] BOX G. Some new three lever designs for the study of quantitative variables[J]. Technometrics, 1960(2): 455-476.

乳酸发酵猕猴桃汁的研究

王晓晴¹, 王榆元², 曾晓雄¹

(1. 南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京

210095 2. 南华大学化学化工学院, 湖南 衡阳

421001)

摘 要:以猕猴桃为主要原料, 白砂糖、稳定剂为辅助原料, 采用驯化的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌进行发酵, 通过正交试验, 得到产品的最佳配方: 接种量 4%, 猕猴桃汁: 脱脂乳 1:12, 糖 10%, 明胶 0.25%, 采用 0.20% 抗坏血酸护色, 83℃, 30min 杀菌条件, 于 42℃ 发酵 6h。

关键词: 乳酸发酵; 猕猴桃汁; 正交试验

Lactic Fermentation Study on *Actinidia planch* Juice

WANG Xiao-qing¹, WANG Yu-yuan², ZENG Xiao-xiong¹

(1. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing

210095, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Nanhua University, Hengyang

421001, China)

Abstract: The *Lactobacillus-bulgaricus* and *Lactobacillus-thermophilus* (the ratio is 1:1) has been used to ferment the *Actinidia planch* juice. The fermentation factors have been studied: the ratio of sucrose to additives and the amount of the bacterium and skim milk. After the experiments the optimal fermentation conditions have been obtained by way of orthogonal test: inoculate 4%, sugar 10%, *Actinidia planch* juice: skim milk=1:12, gelatin 0.25% and color fixative 0.20% ascorbic acid. Sterilized at 83℃, 30min and fermented at 42℃ 6h.

Key words Lactic acid fermentation, *Actinidia planch* juice, orthogonal test

中图分类号: TS255.44

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)03-0151-04

猕猴桃(*Actinidia chinensis*)是一种落叶性藤本植物。其果实中含有 17 种氨基酸, 并含有葡萄糖, 果糖和酸性物质: 柠檬酸, 苹果酸和酒石酸。另外果实中富含 K、Ca、Mg、Fe 等微量元素以及肌醇、谷胱甘肽和 VA、VB₁、VC、VB₂ 等维生素类物质^[1]。

乳酸菌饮料是最近发展起来的一种新型饮料, 它以牛乳或乳制品为原料, 加入特定的微生物发酵剂制成。该饮料不仅含有蛋白质、碳水化合物, 还含有丰富的矿物质, 维生素等营养成分, 营养价值高, 引用酸奶

可提高机体对磷钙, 铁的吸收, 防止婴儿佝偻病, 防治老人骨质疏松病。同时, 酸奶还具有缓解乳糖不耐症、整肠、抗菌、抗衰老等作用, 另外, 由于乳酸菌的发酵作用, 使该饮料具有调整人体胃肠的功能, 酸甜适口, 风味独特。本实验以猕猴桃为原料, 选用优良菌种进行乳酸发酵, 以期制出既有猕猴桃原品风味, 又有发酵香味的果汁饮料^[2-3]。

1 材料与方法

收稿日期: 2006-02-09

作者简介: 王晓晴(1973-), 女, 硕士, 研究方向为微生物发酵。

- [2] GIOVINNI M. Response surface methodology and product optimization [J]. Food Technology, 1982, 37: 41-45.
- [3] SZEJTLI J. Introduction and general overview of cyclodextrin [J]. Chem Rev, 1998, 98: 1743-1753.
- [4] 童林芸. 环糊精化学[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 10-30.
- [5] SZEJTLI J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry [J]. Chem Rev, 1998, 98: 1743-1753.
- [6] DUCHENE D, WOUESSIDJEW D. Pharmaceutical uses of cyclodextrins and derivatives[J]. Drug Dev Ind Pharm, 1990, 16: 2487-

2499.

- [7] RAO C T, FALES H M, PITHA J. Pharmaceutical usefulness of hydroxypropylcyclodextrins: 'e pluribus unum' is an essential feature [J]. Pharm Res, 1990, 7(6): 612-615.
- [8] STELLA V J, RAJEWSKI R A. Cyclodextrins: their future in drug formulation and delivery[J]. Pharm Res, 1997, 14: 5560-5567.
- [9] JOHNSON D P. Spectrophotometric determination of the hydroxypropyl group in starch ethers[J]. Analytical Chemistry, 1969, 41(6): 859-860.