

Plackett – Burman 设计和响应面法 优化超声协同酶法提取鸡油菌多糖工艺

孟雅红,李 辉*

(昆明理工大学云南省食品安全研究院,云南昆明 650500)

摘要:为优化超声波协同酶法提取鸡油菌子实体中多糖的工艺条件,在单因素实验的基础上,首先采用 Plackett–Burman 实验设计筛选出影响鸡油菌多糖得率的四个主要因素:酶解 pH、固液比、超声功率和酶解时间。随后以鸡油菌多糖得率为响应值,采用 Box–Behnken 实验设计及响应面分析法优化提取条件,得到最佳提取工艺参数为:酶解 pH5.5、固液比 1:46(g/mL)、超声功率 210 W、酶解时间 68 min。在此条件下多糖理论得率为 12.08%、实际得率为 11.91%、相对误差 1.41%,表明 Plackett–Burman 设计结合响应面分析法可以很好地对鸡油菌多糖超声协同酶法提取工艺进行优化,可为鸡油菌多糖的广泛应用提供一定的技术支持。

关键词:鸡油菌多糖,Plackett–Burman 设计,超声波,纤维素酶

Optimization of ultrasonic–assisted enzymatic extraction of polysaccharides from *Cantharellus cibarius* by Plackett–Burman design and response surface methodology

MENG Ya–hong, LI Hui*

(Kunming University of Science and Technology, Yunnan Province Food Safety Research Institute, Kunming 650500, China)

Abstract: To optimize the ultrasonic–assisted enzymatic extraction of polysaccharides from *Cantharellus cibarius*, on the base of the single factor experiment results, enzymatic hydrolysis pH, solid–liquid ratio, ultrasonic power and enzymatic hydrolysis time were identified as main factors that influence polysaccharides yield with the Plackett–Burman experiment design firstly. Then the Box–Behnken experiment design and response surface analysis were adopted to optimize the extraction conditions with polysaccharides yield as the response value. The optimized technological parameters were as follows: pH5.5, solid–liquid ratio 1:46 (g/mL), ultrasonic power 210 W and enzymatic hydrolysis time 68 min. Under these conditions, the theoretical and actual crude polysaccharides yield were 12.08% and 11.91%, respectively, with a relative error of 1.41%, which indicated that the combination of Plackett–Burman design and response surface analysis can well optimize the extraction technology of polysaccharides from *Cantharellus cibarius* with the ultrasonic–assisted enzymatic extraction method and it can provide certain technical support for the widely used of *Cantharellus cibarius*.

Key words: *Cantharellus cibarius* polysaccharides; Plackett–Burman design; ultrasonic; cellulase

中图分类号:TS201.2

文献标识码:B

文章编号:1002–0306(2015)21–0242–07

doi:10.13386/j.issn1002–0306.2015.21.042

鸡油菌(*Cantharellus cibarius*)是一种外生根真菌,又称为黄丝菌、杏菌、鸡蛋菌,属真菌界(*Kingdom fungi*)、担子菌门(*Basidiomycota*)、同担子菌纲(*homobasidiomycetes*)、鸡油菌目(*Cantharellales*)、鸡油菌科(*Cantharellaceae*)和鸡油菌属(*cantharellus*),在我国主要分布于吉林、甘肃、江苏、广西、西藏、云南、四川等地^[1]。鸡油菌子实体富含碳水化合物、蛋白质、粗脂肪、膳食纤维、维生素及多种矿质元素,不

但味道鲜美,而且还具有和胃、利肺、益肠、清肝、明目、减肥、美容抗衰老等功效^[2]。多糖是鸡油菌的主要活性成分,研究发现鸡油菌多糖具有显著的免疫调节、抗氧化、抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗突变、抗癌、降血压、降血糖等功能^[3–5]。因此研究鸡油菌多糖的提取分离技术,对于进一步开发鸡油菌相关保健食品和指导其精深加工具有重要意义。

关于鸡油菌多糖提取工艺的报道主要集中在热

收稿日期:2015–03–23

作者简介:孟雅红(1989–),女,在读硕士研究生,研究方向:食品化学与生物化学,E-mail:13085390970@163.com。

*通讯作者:李辉(1985–),女,博士,副教授,研究方向:食品化学,E-mail:lihuisct@126.com。

基金项目:云南省科技计划青年项目(2014FD008);云南省省级人培项目(KKSY201305002)。

水浸提法^[3]、微波萃取法^[6]和超声波萃取法^[7]。超声波提取中的次级振动效能加速多糖的扩散释放并充分与溶剂混合,有利于多糖的溶出^[8]。酶处理不仅可以有效破坏细胞壁,使提取传质阻力减小,提高多糖得率,同时还能保持多糖的生物活性^[9]。目前,采用超声波-生物酶协同技术提取鸡油菌多糖的研究则尚未见报道。本实验采用 Plackett-Burman 实验设计和响应面分析法对鸡油菌多糖的超声协同酶法提取工艺进行优化,旨在提高鸡油菌多糖的得率,为鸡油菌资源的开发利用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鸡油菌 购自云南楚雄南华县,野生菌;纤维素酶(酶活力 22 IU/g) 购自百麦绿色生物能源有限公司;葡萄糖、无水乙醇、石油醚、浓硫酸、苯酚、柠檬酸、柠檬酸钠等均为分析纯;实验用水为超纯水。

Q-250B3 型高速多功能粉碎机 上海冰都电器有限公司;SJIA-10N 型真空冷冻干燥机 宁波市鄞州双嘉仪器有限公司;AL204 型电子分析天平 梅特勒-托利多仪器有限公司;AS-10200BT 型超声波清洗仪 天津奥特赛恩斯仪器有限公司;UV-1800PC 型紫外-可见分光光度计 上海美普达仪器有限公司;TGL-16G 型台式离心机 上海安亭科学仪器厂;DK-8D 超级恒温水浴槽 上海博讯实业有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 鸡油菌多糖的提取工艺流程 鸡油菌子实体→挑选,清洗→干燥→粉碎→石油醚脱脂→乙醇除低聚糖→纤维素酶酶解→超声波提取→90℃灭酶 30 min→离心(5000 r/min, 10 min)→取上清液→定容→稀释→测量吸光度→计算鸡油菌多糖得率

1.2.2 鸡油菌多糖的测定

1.2.2.1 标准曲线的制备 采用苯酚-硫酸法^[10]。以葡萄糖(0.1 mg/mL)作为标准品绘制标准曲线(该实验测定时的最大吸收波长为 490 nm,标准曲线方程: $A = 10.861C - 0.0091$,式中 C 为葡萄糖浓度, A 为吸光度, $R^2 = 0.9972$,即葡萄糖含量在 0.02~0.08 mg/mL 范围内与吸光度呈现良好的线性关系)。

1.2.2.2 样品多糖含量的测定 吸取稀释后的样品 1 mL 于比色管中,以空白液作为对照,用苯酚-硫酸法于波长为 490 nm 处测定吸光度,根据标准曲线方程计算多糖含量,从而得各实验组鸡油菌多糖得率。

$$W(\%) = \frac{C \times V \times N \times 10^{-3}}{M} \times 100$$

式中, W : 多糖得率(%); C : 多糖浓度(mg/mL); V : 定容体积(mL); N : 稀释倍数; M : 样品质量(g); 10^{-3} : 换算单位。

1.2.3 实验设计

1.2.3.1 单因素实验 准确称取一定量预处理后的鸡油菌子实体粉末,设定固液比 1:40 (g/mL)、酶用量 7.5 IU/g、酶解 pH4.8、酶解温度 50℃、酶解时间 60 min、超声温度 50℃、超声功率 240 W、超声时间 20 min,固定其中 7 个条件,以鸡油菌多糖得率为响

应值,分别考察不同固液比(1:20、1:30、1:40、1:50、1:60 g/mL)、酶用量(2.5、5、7.5、10、12.5 IU/g)、酶解 pH(3.2、4.0、4.8、5.6、6.4)、酶解温度(30、40、50、60、70℃)、酶解时间(20、40、60、80、100 min)、超声功率(60、120、180、240、300 W)、超声温度(30、40、50、60、70℃)和超声时间(10、20、30、40、50 min)对鸡油菌多糖提取效果的影响。

1.2.3.2 Plackett-Burman 实验 Plackett-Burman 设计是一种两水平的实验设计方法,它基于非完全平衡块原理,可以用最少实验次数估计出因素的主效应,适用于从众多的考察因素中快速有效地筛选出最为重要的几个因素^[11-12]。在单因素实验的基础上,以鸡油菌多糖得率作为响应值,对 8 个影响因素进行评价,筛选出主效应因子,每个因素选两个水平,共 12 组实验。实验因素及水平取值见表 1。

表 1 Plackett-Burman 实验因素及水平
Table 1 Plackett-Burman experimental factor and level

因素	水平	
	-1	1
A 固液比(g/mL)	1:30	1:50
B 酶用量(IU/g)	5	10
C 酶解时间(min)	40	80
D 酶解温度(℃)	40	60
E 酶解 pH	4.8	6.4
F 超声功率(W)	180	300
G 超声时间(min)	20	40
H 超声温度(℃)	40	60

1.2.3.3 响应面实验设计 依据 Plackett-Burman 实验结果,选取固液比、酶解 pH、超声功率和酶解时间作为响应面设计的 4 个因素,运用响应面分析法对鸡油菌多糖提取条件进行优化。实验因素及水平编码如表 2 所示。

表 2 响应面设计的因素和水平
Table 2 Range of different factor invested RSM

因素	水平		
	-1	0	1
X_1 固液比(g/mL)	1:30	1:40	1:50
X_2 酶解 pH	4.8	5.6	6.4
X_3 超声功率(W)	180	240	300
X_4 酶解时间(min)	40	60	80

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 固液比对多糖得率的影响 如图 1 所示,多糖得率随着提取液用量的增加而增加。当固液比小于 1:40 (g/mL) 时,多糖得率增加速度较快,而超过 1:40 (g/mL) 时,多糖得率的变化较小,基本呈持平趋势。这可能是当固液比较小时,物料粘度过大,多糖不能充分溶出,当达到适当的固液比时,多糖几乎完全溶出,因而继续增加固液比,得率增加不明显。因此,兼顾多糖得率、试剂消耗量及后续处理,选择 1:40 (g/mL) 为最佳固液比。

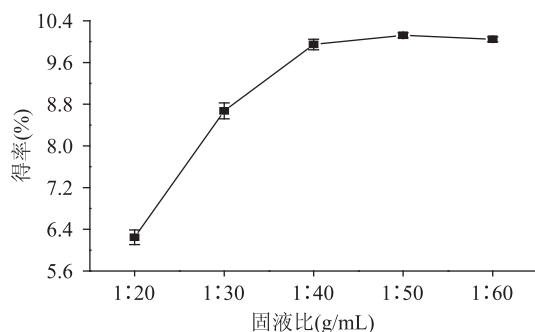


图1 固液比对鸡油菌多糖得率的影响

Fig.1 Effect of solid-liquid ratio on yield of polysaccharides

2.1.2 酶用量对多糖得率的影响 如图2所示,多糖得率随着酶用量的增大而不断增加。当酶用量从2.5 IU/g增至7.5 IU/g时,多糖得率显著增加,此后再增加酶用量,多糖得率增幅不明显。这是因为随着酶用量的增大,酶与底物接触的机会增加,同一时间内水解破坏含纤维质细胞壁的比例增加,致使多糖更多溶解出来,当酶用量从7.5 IU/g增至12.5 IU/g时,酶分子趋于饱和,一部分酶分子没有机会与底物结合,因此尽管酶用量增加,但得率增加并不明显,还造成了纤维素酶的浪费。因此选择7.5 IU/g为最佳酶用量。

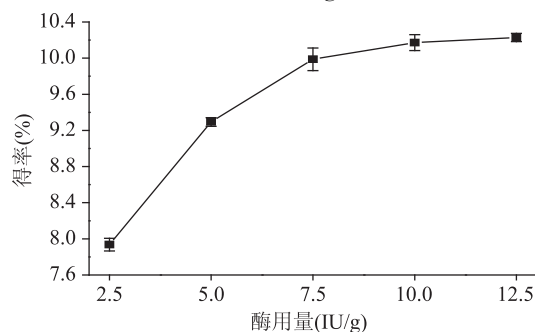


图2 酶用量对鸡油菌多糖得率的影响

Fig.2 Effect of enzyme dosage on yield of polysaccharides

2.1.3 酶解 pH 对多糖得率的影响 如图3所示,多糖得率随 pH 的增加先升高后下降。在 pH 为 5.6 时,多糖得率达到最大值。这是因为纤维素酶的最佳作用 pH 为 3.0~6.0,在此范围内纤维素具有较佳的活力,可加速鸡油菌细胞壁中纤维素的降解,使多糖得率增加。因此选择 5.6 为最适酶解 pH。

2.1.4 酶解温度对多糖得率的影响 如图4所示,在一定温度范围内(30~50℃),随着温度的升高,鸡油菌多糖得率也随之增加,这是因为温度的升高使纤维素酶活力增强,提高了酶解反应速度,加快了细胞壁中纤维素的降解,使多糖得以更快更多溶出。当温度超过 50℃时,多糖得率开始下降。这可能是因为过高的温度会导致部分酶的活力丧失。因此选择 50℃为最适酶解温度。

2.1.5 酶解时间对多糖得率的影响 如图5所示,随酶解时间的增加,多糖得率先增加后略有降低。这可能是因为酶解时间过长会导致多糖分解或结构发生变化。酶解 60 min 时多糖得率达最大值。因此选择 60 min 为最佳酶解时间。

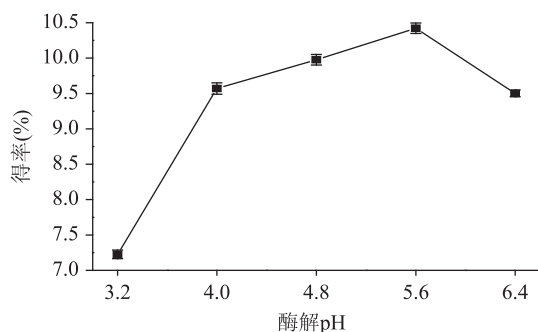


图3 酶解 pH 对鸡油菌多糖得率的影响

Fig.3 Effect of enzymatic hydrolysis pH on yield of polysaccharides

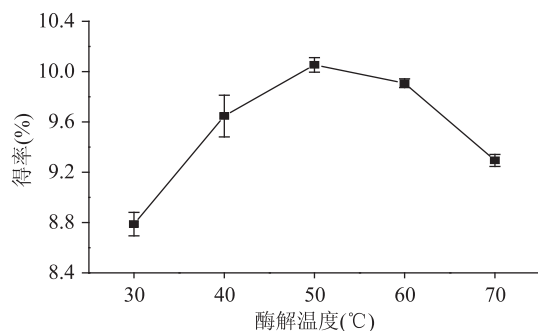


图4 酶解温度对鸡油菌多糖得率的影响

Fig.4 Effect of enzymatic hydrolysis temperature on yield of polysaccharides

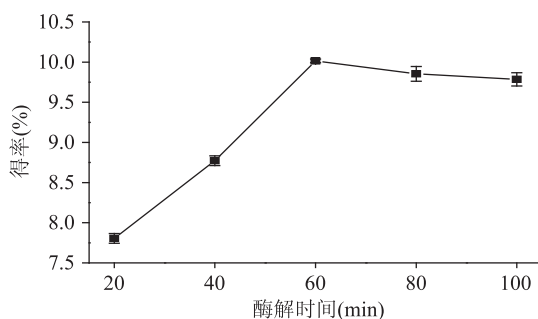


图5 酶解时间对鸡油菌多糖得率的影响

Fig.5 Effect of enzymatic hydrolysis time on yield of polysaccharides

2.1.6 超声温度对多糖得率的影响 如图6所示,当温度为 50℃时,多糖得率达到最大值。当温度大于 50℃时,多糖得率反而下降,这可能是因为温度过高导致多糖被降解或破坏,造成得率的降低。因此选择 50℃为最佳超声温度。

2.1.7 超声功率对多糖得率的影响 如图7所示,随着超声功率(60~240 W)的增大多糖得率增加,当超声功率高于 240 W 时,多糖得率反而下降,这可能是由于大功率的超声波物理剪切作用使多糖的糖苷键被打断,多糖结构被破坏,造成多糖得率降低^[13]。因此,选择 240 W 为最佳超声功率。

2.1.8 超声时间对多糖得率的影响 如图8所示,鸡油菌多糖得率随着超声时间的延长而增加,当超声时间大于 30 min 时,多糖得率的增加趋于平缓。这说明多糖提取过程与超声波处理时间密切相关,超

表3 Plackett-Burman 实验设计及结果
Table 3 Plackett-Burman experimental design and results

实验号	A 固液比 (g/mL)	B 酶用量 (IU/g)	C 酶解时间 (min)	D 酶解温度 (°C)	E 酶解 pH	F 超声功率 (W)	G 超声时间 (min)	H 超声温度 (°C)	Y 得率 (%)
1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	10.43
2	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	9.97
3	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	9.85
4	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	9.21
5	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	10.87
6	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	10.15
7	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	9.90
8	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	9.81
9	1	1	1	-1	1	1	-1	1	9.95
10	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	10.41
11	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	10.31
12	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	10.29

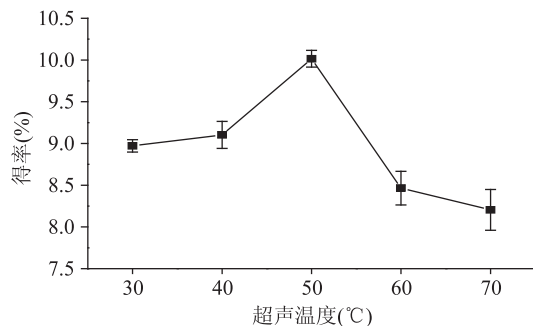


图6 超声温度对鸡油菌多糖得率的影响

Fig.6 Effect of ultrasonic temperature on yield of polysaccharides

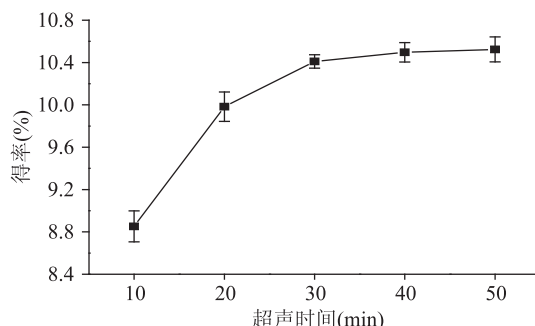


图8 超声时间对鸡油菌多糖得率的影响

Fig.8 Effect of ultrasonic time on yield of polysaccharides

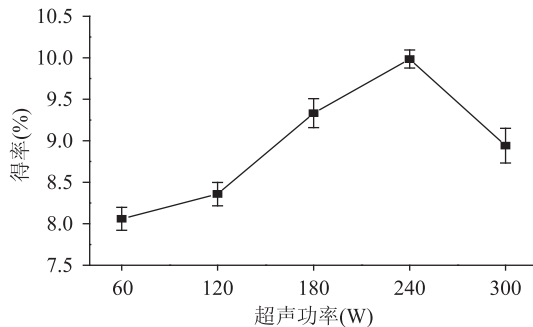


图7 超声功率对鸡油菌多糖得率的影响

Fig.7 Effect of ultrasonic power on yield of polysaccharides

声波处理时间短,多糖溶出的不充分;随着超声时间的增长,由于超声波的空化效应作用力有所减少,从而造成多糖得率增加趋于平缓。因此,选择 30 min 为最佳超声时间。

2.2 Plackett-Burman 实验

本实验选用 $n = 12$ 的 PB 实验设计模块,对固液比(A)、酶用量(B)、酶解 pH(C)、酶解温度(D)、酶解时间(E)、超声功率(F)、超声温度(G)、超声时间(H)这 8 个待选因素进行评价,筛选出对鸡油菌多糖得率影响较为显著的几个因素。实验设计及结果见表 3,经 Minitab15 软件处理得到显著性检验结果见

表 4。可以看出,酶解 pH、固液比、超声功率 3 个因素为极显著影响因素 ($p < 0.01$),酶解时间 ($p = 0.014$)对多糖得率的影响也显著,故选取 8 个因素中 T 值绝对值较大的 4 个因素作为主效应因素进行后续的响应面优化;对于其余的因素,在后续实验中均选择单因素实验中的最优水平,具体取值为:酶用量 7.5 IU/g、酶解温度 50 °C、超声时间 30 min、超声温度 50 °C。

表4 Plackett-Burman 实验统计分析

Table 4 Statistical analysis of the Plackett-Burman experimental results

项目	效应	系数	系数标准误差	T 值	p 值
模型		10.0958	0.02262	446.26	0.000
A	0.4483	0.2242	0.02262	9.91	0.002
B	0.0150	0.0075	0.02262	0.33	0.762
C	0.2317	0.1158	0.02262	5.12	0.014
D	-0.0083	-0.0042	0.02262	-0.18	0.866
E	-0.4817	-0.2408	0.02262	-10.65	0.002
F	-0.2850	-0.1425	0.02262	-6.30	0.008
G	0.2050	0.1025	0.02262	4.53	0.020
H	-0.1283	-0.0642	0.02262	-2.84	0.066

注: $R^2 = 0.9903$; $R^2_{adj} = 0.9644$ 。

2.3 响应面法分析

2.3.1 回归模型的建立及方差分析 根据单因素实验和 Plackett-Burman 实验结果,选取固液比(X_1)、酶解 pH(X_2)、超声功率(X_3)和酶解时间(X_4)为自变量,以多糖得率(Y)为响应值,利用 Minitab15 软件根据 Box-Behnken 原理进行响应面设计,优化鸡油菌多糖提取工艺,以 1、0、-1 分别代表自变量的三个水平,实验设计方案及结果见表 5。

表 5 Box-Behnken 响应面实验设计

Table 5 Box-Behnken design and response value

实验号	X_1 固液比 (g/mL)	X_2 酶解 pH	X_3 超声 功率 (W)	X_4 酶解 时间 (min)	Y 得率 (%)
1	0	-1	-1	0	10.75
2	0	-1	0	1	10.44
3	-1	0	-1	0	10.91
4	0	0	1	1	10.81
5	1	0	-1	1	11.66
6	-1	0	0	-1	10.77
7	1	0	0	-1	10.71
8	1	-1	0	0	10.94
9	1	0	1	0	11.05
10	0	0	-1	1	11.60
11	1	0	0	1	11.70
12	-1	0	1	0	11.00
13	0	0	-1	-1	10.75
14	-1	0	0	1	10.31
15	0	1	0	-1	10.03
16	-1	-1	0	0	10.18
17	0	1	0	1	10.27
18	0	-1	1	0	10.50
19	0	1	-1	0	10.60
20	0	0	1	-1	11.04
21	-1	1	0	0	10.35
22	0	-1	0	-1	10.22
23	0	1	1	0	11.38
24	1	1	0	0	10.61
25	0	0	0	0	11.94
26	0	0	0	0	11.93
27	0	0	0	0	11.95

运用 Minitab15 数据统计分析软件使用未编码单位对实验结果进行多元回归拟合,回归模型系数及显著性检验结果见表 6。可以看出,4 个因素对多糖得率影响大小的排序为: $X_1 > X_4 > X_3 > X_2$; X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2 、 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_1X_4 、 X_3X_4 极显著地影响多糖得率($p < 0.01$); X_2 (酶解 pH) 对得率有显著影响($p < 0.05$), 而 X_2X_3 和 X_2X_4 的影响不显著($p > 0.05$)。由此可知,各影响因素对于多糖得率的影响不是简单的线性关系。

采用逐步回归得到 X_1 (固液比)、 X_2 (酶解 pH)、 X_3 (超声功率)和 X_4 (酶解时间)与 Y (鸡油菌多糖得率)之间的二次多项回归方程: $Y = 11.94 + 0.264X_1 - 0.067X_2 - 0.128X_3 + 0.133X_4 - 0.427X_1^2 - 1.046X_2^2 - 0.325X_3^2 - 0.621X_4^2 - 0.123X_1X_2 - 0.178X_1X_3 + 0.363X_1X_4 + 0.01X_2X_3 + 0.003X_2X_4 - 0.27X_3X_4$

表 6 回归方程偏回归系数估计值

Table 6 Estimated values of the partial regression coefficients of the regression model

项目	系数	系数标准 误差	T	p	显著性
模型	11.9400	0.04533	263.428	<0.001	**
X_1	0.2642	0.02266	11.656	<0.001	**
X_2	-0.0667	0.02266	-2.942	0.012	*
X_3	-0.1275	0.02266	-5.626	<0.001	**
X_4	0.1333	0.02266	5.883	<0.001	**
X_1^2	-0.4271	0.03399	-12.563	<0.001	**
X_2^2	-1.0458	0.03399	-30.765	<0.001	**
X_3^2	-0.3246	0.03399	-9.548	<0.001	**
X_4^2	-0.6208	0.03399	-18.263	<0.001	**
X_1X_2	-0.1225	0.03925	-3.121	0.009	**
X_1X_3	-0.1775	0.03925	-4.522	0.001	**
X_1X_4	0.3625	0.03925	9.235	<0.001	**
X_2X_3	0.0100	0.03925	0.255	0.803	
X_2X_4	0.0025	0.03925	0.064	0.950	
X_3X_4	-0.2700	0.03925	-6.878	<0.001	**

注: * 在 0.05 水平显著; ** 在 0.01 水平显著。

回归模型方差分析结果见表 7。可以看出,所建模型极显著($p < 0.0001$),模型失拟项不显著($p = 0.053 > 0.05$);回归方程总决定系数 $R^2 = 0.9915$,调整

表 7 回归模型方差分析

Table 7 Variance analysis for the regression model

方差来源	自由度	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
回归模型	14	8.6407	8.6407	0.6172	100.14	0.000
线性	4	1.2992	1.2992	0.3250	52.70	0.000
平方	4	6.3379	6.3379	1.5845	257.09	0.000
交互作用	6	1.0037	1.0037	0.1673	27.14	0.000
残差误差	12	0.0740	0.0740	0.0062		
失拟	10	0.0732	0.0732	0.0073	18.29	0.053
纯误差	2	0.0008	0.0008	0.0004		
合计	26	8.7147				

$R^2 = 0.9915$; $R^2_{Adj} = 0.9816$

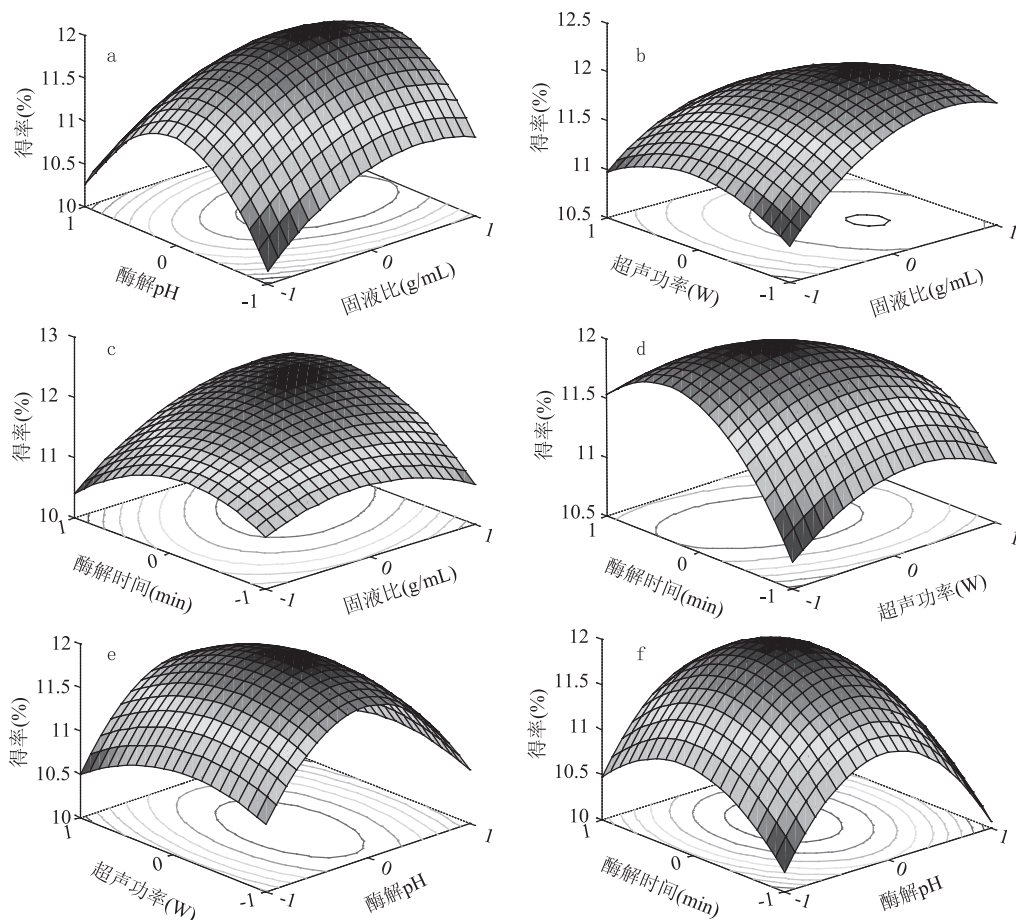


图9 两因素交互作用对多糖得率的响应曲面图

Fig.9 Response surface plots for operating parameters on yield of polysaccharides

决定系数 $R_{adj}^2 = 0.9816$, 表明该模型对实验拟合度较好, 可用该模型对实验结果进行预测。

2.3.2 响应曲面分析 图9直观地给出了各个因子交互作用的响应面和等高线分析图。从响应面中可以确定最佳因素的水平范围, 而等高线的形状反映出交互作用影响效应的强弱与大小, 椭圆形表示两种因素的交互作用影响显著, 而圆形则表示两种因素的交互作用影响不显著。

由图9a、图9b、图9c可以看出, 随着固液比的增加, 多糖得率先增大后减小, 在固液比约为1:40~1:50(g/mL)时, 得率较高。固液比对得率的影响较大, 溶剂量少时, 物料粘度大, 扩散速度慢, 难以保证物料中大部分多糖成分溶到提取液中, 使提取不完全; 溶剂量过大, 溶液中多糖浓度低, 处理操作过程中易丢失多糖物质, 因此会减少多糖得率。

由图9c、图9d、图9f可知, 酶解时间对得率的影响也较大, 酶解时间过短或过长, 均使多糖得率降低, 这是由于酶解时间短影响多糖溶出量, 酶解时间长杂质溶出量增多、多糖分解, 因此本实验选择其最有效酶解时间为50~70 min。

由图9b、图9d、图9e可以看出, 随着超声功率增大, 多糖得率逐渐提高, 但太大的超声功率也会降低多糖得率, 因此超声功率需控制在合适的范围内。超声波对多糖提取的影响非常显著, 超声波可产生横向振动和纵向振动, 随着超声功率增大, 振动程

度、空化现象较剧烈, 破坏了细胞壁的组织 and 细胞, 胞内多糖不断溶出, 利于多糖的提取^[14]; 当超声功率增大到一定程度后, 多糖得率反而降低, 这可能是由于超声功率过大时, 多糖结构被破坏。

由图9a、图9e、图9f可知, 多糖得率随酶解pH的增大而提高, 当pH约为4.0~5.6时, 得率提高的速率较快, 当酶解pH超过5.6后, 得率开始下降, 可能是由于pH的升高影响了酶与底物的亲和力, 破坏了酶的活性^[15], 因此酶解pH需控制在合适的范围内。

由等高线图可知, 固液比与酶解pH、固液比与超声功率、固液比与酶解时间、超声功率与酶解时间的等高线趋于椭圆形, 表示交互作用显著; 而酶解pH与超声功率、酶解pH与酶解时间的等高线趋于圆形, 表示交互作用不显著。

2.3.3 确定最优值和回归模型的验证实验 对回归方程中四个因素分别求偏导, 并令等式为零, 解方程可得到四个因素的最佳水平值, 分别为: $X_1 = 0.59$ 、 $X_2 = -0.07$ 、 $X_3 = -0.53$ 、 $X_4 = 0.40$, 提取的最佳条件为: 固液比1:45.9(g/mL)、酶解pH5.54、超声功率208.2 W、酶解时间68 min、此时鸡油菌多糖得率为12.08%。与靳文娟^[16]等报道的超声波法提取鸡油菌多糖(得率为4.72%)相比, 超声协同酶法显著地提高了鸡油菌多糖的得率。考虑到实际操作的限制性, 同时达到节省时间、提取效果好的目的, 将鸡油菌多糖的浸提工艺条件修正为: 固液比1:46(g/mL)、酶解

pH5.5、超声功率 210 W、酶解时间 68 min。在此条件下,鸡油菌多糖得率为 11.91%,表明响应面分析的优化结果与实际值相吻合,具有一定的实用价值。

3 结论

通过单因素实验、Plackett-Burman 实验设计以及在此基础上四因素三水平响应面法实验,建立了响应值与各因素之间的数学模型,依此模型预测了鸡油菌多糖的理论得率,并结合实际操作,确定鸡油菌多糖提取的最佳工艺参数:固液比 1:46 (g/mL)、酶解 pH5.5、超声功率 210 W、酶解时间 68 min、酶用量 7.5 IU/g、酶解温度 50 °C、超声时间 30 min、超声温度 50 °C,鸡油菌多糖理论得率可达 12.08%,实际测定值为 11.91%,相对误差 1.41%,表明 Plackett-Burman 设计与响应面分析方法(RSM)相结合可以快速、有效地从众多影响鸡油菌多糖得率的因素中筛选出比较重要的影响因素并实现其水平优化,优化结果与实际多糖得率吻合较好。同时也表明超声波辅助纤维素酶提取方法简单、效率高,可作为鸡油菌多糖的提取工艺。

参考文献

- [1] 卫亚丽,王茂盛,连宾.鸡油菌研究进展[J].食用菌,2006,28(2):1-3.
- [2] 黄年来.中国食用菌百科[M].北京:中国农业出版社,1997.
- [3] 罗成,周达,鲁晓翔,等.鸡油菌多糖的提取及其抗氧化研究[J].食品研究与开发,2010,31(7):155-159.
- [4] Mdachi SJM, Nkunya MHH, Nyigo VA, et al. Amino acid composition of some Tanzanian wild mushrooms [J]. Food Chemistry, 2004, 86(2):179-182.
- [5] 罗成,鲁晓翔,周达.鸡油菌多糖降血糖作用研究[J].食品工业科技,2010,31(12):333-334.
- [6] 史碧波.微波辅助提取鸡油菌多糖的工艺研究[J].安徽农业科学,2011,39(30):18533-18535.
- [7] 史碧波,王学雪,罗晓妙.超声波辅助提取鸡油菌多糖的研究[J].食品与机械,2012,28(2):152-155.
- [8] 史碧波,罗晓妙,刘满.超声波在鸡油菌多糖提取中的应用研究[J].现代食品科技,2008,24(1):64-66.
- [9] 魏凤玉,康家胜,张宇.纤维素酶法提取黄芪多糖的动力学[J].过程工程学报,2012,12(4):839-843.
- [10] 李顺峰,刘兴华.真姬菇子实体多糖的提取工艺优化[J].农业工程学报,2008,24(2):281-284.
- [11] Zhou JY, Yu XJ, Ding C, et al. Optimization of phenol degradation by *Candida tropicalis* Z-04 using Plackett-Burman design and response surface methodology [J]. Journal of Environmental Sciences, 2011, 23(1):22-30.
- [12] 潘春梅,王辉,任敏.响应面法优化 L-谷氨酰胺发酵培养基的研究[J].生物技术通讯,2013,19(4):528-531.
- [13] 李康,徐涛,王平.响应面设计法优化超声波辅助提取金针菇多糖的研究[J].安徽农学通报,2010,16(23):23-26.
- [14] 刘航,国旭丹,马雨洁,等.超声辅助提取苦荞麦多糖工艺优化及其体外抗氧化研究[J].食品科学,2013,34(14):45-50.
- [15] 程伟,秦俊哲,杜军国,等.桑黄多糖超声波协同纤维素酶法提取的工艺研究[J].现代食品科技,2012,28(6):662-666.
- [16] 靳文娟,鲁晓翔.超声波法提取鸡油菌多糖及其抗氧化性研究[J].安徽农业科学,2011,39(27):16545-16547.
- [17] 卫亚丽,王茂盛,连宾.鸡油菌研究进展[J].食用菌,2006,28(2):1-3.
- [18] 黄年来.中国食用菌百科[M].北京:中国农业出版社,1997.
- [19] 罗成,周达,鲁晓翔,等.鸡油菌多糖的提取及其抗氧化研究[J].食品研究与开发,2010,31(7):155-159.
- [20] Mdachi SJM, Nkunya MHH, Nyigo VA, et al. Amino acid composition of some Tanzanian wild mushrooms [J]. Food Chemistry, 2004, 86(2):179-182.
- [21] 罗成,鲁晓翔,周达.鸡油菌多糖降血糖作用研究[J].食品工业科技,2010,31(12):333-334.
- [22] 史碧波.微波辅助提取鸡油菌多糖的工艺研究[J].安徽农业科学,2011,39(30):18533-18535.
- [23] 史碧波,王学雪,罗晓妙.超声波辅助提取鸡油菌多糖的研究[J].食品与机械,2012,28(2):152-155.
- [24] 史碧波,罗晓妙,刘满.超声波在鸡油菌多糖提取中的应用研究[J].现代食品科技,2008,24(1):64-66.
- [25] 魏凤玉,康家胜,张宇.纤维素酶法提取黄芪多糖的动力学[J].过程工程学报,2012,12(4):839-843.
- [26] 李顺峰,刘兴华.真姬菇子实体多糖的提取工艺优化[J].农业工程学报,2008,24(2):281-284.
- [27] Zhou JY, Yu XJ, Ding C, et al. Optimization of phenol degradation by *Candida tropicalis* Z-04 using Plackett-Burman design and response surface methodology [J]. Journal of Environmental Sciences, 2011, 23(1):22-30.
- [28] 潘春梅,王辉,任敏.响应面法优化 L-谷氨酰胺发酵培养基的研究[J].生物技术通讯,2013,19(4):528-531.
- [29] 李康,徐涛,王平.响应面设计法优化超声波辅助提取金针菇多糖的研究[J].安徽农学通报,2010,16(23):23-26.
- [30] 刘航,国旭丹,马雨洁,等.超声辅助提取苦荞麦多糖工艺优化及其体外抗氧化研究[J].食品科学,2013,34(14):45-50.
- [31] 程伟,秦俊哲,杜军国,等.桑黄多糖超声波协同纤维素酶法提取的工艺研究[J].现代食品科技,2012,28(6):662-666.
- [32] 靳文娟,鲁晓翔.超声波法提取鸡油菌多糖及其抗氧化性研究[J].安徽农业科学,2011,39(27):16545-16547.
- [33] vacuuum-dried persimmon powder [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2011, 35(4):423-431.
- [34] Du J, Ge ZZ, Xu Z, et al. 2014. Comparison of the Efficiency of Five Different Drying Carriers on the Spray Drying of Persimmon Pulp Powders [J]. Drying Technology, 2014, 32(10):1157-1166.
- [35] 毕金峰,陈芹芹,刘璇,等.果蔬粉:农产品加工业的新宠[J].农产品加工,2013,(6):4-5.
- [36] Ferrari CC, Germer SPM, de Aguirre JM. Effects of Spray-Drying Conditions on the Physicochemical Properties of Blackberry Powder [J]. Drying Technology, 2011, 30(2):154-163.
- [37] Yousefi S, Emam-Djomeh Z, Mousavi SM. Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica Granatum* L.) [J]. J Food Sci Technol, 2011, 48(6):677-684.
- [38] Roustapour OR, Hosseinalipour M, Ghobadian B. An experimental investigation of lime juice drying in a pilot plant spray dryer [J]. Drying Technology, 2006, 24(2):181-188.
- [39] Kuriakose R, Anandharamakrishnan C. Computational fluid dynamics (CFD) applications in spray drying of food products [J]. Trends in Food Science & Technology, 2010, 21(8):383-398.
- [40] Mezhericher M, Levy A, Borde I. Spray drying modelling based on advanced droplet drying kinetics [J]. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2010, 49(11):1205-1213.
- [41] 马景林,韩志萍,叶剑芝,等.蜂蜜喷雾干燥过程的模拟与仿真[J].安徽农业科学,2011,(2):849-860.
- [42] 魏新利,张海红,王定标.旋风分离器流场的数值计算方法研究[J].郑州大学学报:工学版,2005,(1):57-60.
- [43] 弓志青,祝清俊,王文亮,等.计算流体力学在喷雾干燥中的应用研究进展[J].粮油食品科技,2012,20(1):19-21.
- [44] 杨嘉宁,赵立杰,王俊杰,等.计算流体力学在喷雾干燥中的应用[J].中国医药工业杂志,2013,44(7):729-733.
- [45] 王福军.计算流体力学分析[M].北京:清华大学出版社,2004.
- [46] 孙化鹏.旋风分离器的数值模拟及结构优化研究[D].长沙:长沙理工大学,2013.
- [47] 吴望一.流体力学[M].北京:北京大学出版社,1982.
- [48] 张丽丽,周慎杰,陈举华.气流式喷嘴流体雾化干燥过程的 CFD 分析[J].计算机仿真,2008,(12):329-341.
- [49] 陈有庆,胡志超,胡良龙,等.喷雾干燥过程的数值模拟[J].农机化研究,2008,(10):37-43.
- [50] Woo MW, Daud WRW, Mujumdar AS, et al. Comparative study of droplet drying models for CFD modelling [J]. Chemical Engineering Research and Design, 2008, 86(9):1038-1048.
- [51] Goula AM, Adamopoulos KG. 2010. A new technique for spray drying orange juice concentrate [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2010, 11(2):342-351.

(上接第 241 页)