

云南丘北辣椒中辣椒素酶法提取条件的优化

袁 唯, 王 楠, 余亚英

(云南农业大学食品科技学院, 云南昆明, 650201)

摘 要 利用响应面分析法优化了酶法提取辣椒素的条件, 在统计分析后得出了果汁专用复合酶作用于云南丘北辣椒提取辣椒素的酶解方程, 精确地预测了辣椒素的提取率。

关键词 响应面分析法, 辣椒素, 条件优化

辣椒中含有多种有效成分, 可维持人体正常生理机能和增强人体抗性及活力。这些成分均有重要的营养和药用价值。辣椒素内服可以促进胃液分泌, 增进食欲, 缓解胃肠胀气, 改善消化功能和促进血液循环; 外用可以用作治疗牙痛, 肌肉痛, 风湿病和皮肤病等疾病, 对治疗神经痛有显著疗效^[1]。美国药典 24 版已将辣椒素收藏, 美国医学会 (AMA) 主编的《Drug Evaluation》将该产品作为治疗疱疹后遗神经痛、糖尿病性神经痛的首选药物。

酶处理技术是在传统的溶剂提取基础上进行的, 对设备无特殊要求, 具有提取率高、操作简便、成本低廉、并具备大生产的可行性。酶法提取辣椒素在国内外还未见详细报道。

响应面分析法 (Response Surface Methodology, 简称 RSM) 可以用于确定各因素及其交互作用在加工过程中对非独立变量的影响, 精确的表达因素和响应值之间的关系, 是一种优化反应条件的有效方法, 由于其合理的设计和优良的统计方式, 已广泛应用于化学化工、生物工程、食品工程等各方面^[2]。

本研究拟利用响应面分析法, 以部分因子实验 (FFD) 研究了酶解时间、温度、pH 值、料液比和加酶量对提取率影响显著性的基础上, 通过二次回归旋转组合设计, 利用 SAS RESEG (Response Surface Regression) 程序分析, 探讨影响云南丘北辣椒中辣椒素

提取得率的各种因素及其相互作用, 以期为最大程度上提高丘北辣椒中辣椒素提取得率和附加值提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

试验选用云南丘北辣椒为原料, 符合无霉、无腐烂标准。进行预处理, 具体操作方法为: 将干红辣椒去梗除杂后, 在 $\leq 50^{\circ}\text{C}$ 的鼓风干燥箱中干燥到水分含量 $\leq 4\%$, 粉碎至 80~120 目贮存待用。

果汁专用复合酶 (宁夏和氏璧生物技术有限公司), 含有果胶酶、纤维素、半纤维素酶, 这些复合酶系能够协同作用: 酶活构成: 纤维素酶 ≥ 11 万 u/mL; 半纤维素酶 ≥ 150 万 u/mL; 果胶酶 ≥ 6 万 u/mL; β -葡聚糖酶 ≥ 136 万 u/mL。

乙醇、氢氧化钠、醋酸等均为分析纯

自制酶解反应器、真空旋转蒸发器 RE-52A、UV-2000 紫外可见分光光度计 (尤尼柯仪器有限公司 (上海)); pH-HJ90B 型 pH 计等。

1.2 试验方法

1.2.1 提取方法

辣椒粉用一定浓度的酶缓冲液进行酶解反应一定时间后, 加入 70% 的乙醇进行提取, 过滤, 减压浓缩回收乙醇, 得辣椒素粗品。

溶剂回收

辣椒粉 → 酶解 → 乙醇提取 → 减压过滤 → 旋转蒸发浓缩 → 真空浓缩 → 辣椒素粗品

1.2.2 分析方法

精确称取待测液 5 mL 于 50 mL 容量瓶中, 加入 5 mL 钼酸盐磷钼酸显色剂混匀, 加饱和 Na_2CO_3 溶液 40 mL 振荡 30 min 并稀释至刻度, $0.4 \mu\text{m}$ 硝酸纤维素滤膜过滤, 在 760 nm 下, 1 cm 光径比色皿, 测定

吸光度 (A)。在以此谱纯辣椒碱为标准品, 以相同处理途径所绘制标准曲线上查得待测样品的浓度。根据所得提取物的浓度和体积计算提取到辣椒素的质量, 与原料质量之比定义为辣椒素的提取率。

1.3 试验设计

在部分因子试验 (FFD) 研究了酶解时间、温度、pH 值、料液比和加酶量对提取率影响显著性的基础

第一作者: 硕士, 教授。

收稿日期: 2007-06-29

上,确立了以酶解温度、pH 值和加酶量为自变量,以提取率为响应值,进行二次回归旋转组合设计。试验因素与水平见表 1。共设立了 23 个处理组,其中零

水平有 9 个处理组不设重复,上下水平处理组每组设 5 个重复,其余处理组每组设 3 个重复。

表 1 试验因素与水平

因素	上水平 (+1)	下水平 (-1)	零水平 (0)	变换区间	上星号臂 (Y=+1.682)	下星号臂 (Y=-1.682)
温度 X ₁ /℃	45	35	40	5	48.41	31.59
pH 值 X ₂	5.0	3.0	4.0	1	5.682	2.318
加酶量 X ₃ /mg·mL ⁻¹	12	8.0	10	2	13.36	6.64

1.4 统计分析

试验数据采用 SAS V9.0 统计软件的 RSREG 程序分析,利用 Design-expert6.0.5 进行图形优化处理,绘制响应曲面图和等高线图。

2 结果与讨论

2.1 回归方程的建立与显著性分析

根据二次回归旋转组合试验设计,共设立了 23 个处理,实验结果见表 2。

表 2 各处理组的提取率试验结果

处理组	X ₁	X ₂	X ₃	提取率/%
1	1	1	1	0.263
2	1	1	-1	0.255
3	1	-1	1	0.277
4	1	-1	-1	0.313
5	-1	1	1	0.333
6	-1	1	-1	0.325
7	-1	-1	1	0.317
8	-1	-1	-1	0.289
9	-1.682	0	0	0.323
10	1.682	0	0	0.253
11	0	-1.682	0	0.285
12	0	1.682	0	0.327
13	0	0	-1.682	0.297
14	0	0	1.682	0.331
15	0	0	0	0.356
16	0	0	0	0.346
17	0	0	0	0.357
18	0	0	0	0.348
19	0	0	0	0.364
20	0	0	0	0.361
21	0	0	0	0.365
22	0	0	0	0.369
23	0	0	0	0.358

表 2 的实验结果经 SASV9.0 进行统计分析,以 95%为显著水平,可以得到相关回归方程为:

$$Y = 0.36 - 0.020X_1 + 0.003708X_2 + 0.004773X_3 - 0.025X_1^2 - 0.019X_2^2 - 0.015X_1X_2 +$$

$$0.003X_2X_3 - 0.008X_1X_3 - 0.016X_3^2, R^2 = 0.933$$
 (1)

对回归方程进行分析,其显著性结果见表 3。

表 3 试验结果方差分析表

来 源	平方和	自由度 (DF)	F 值	Prob > F
模 型	0.028	9	20.27	<0.000 1
X ₁	5.486E-3	1	35.21	<0.000 1
X ₂	1.877E-4	1	1.20	0.292 2
X ₃	3.111E-4	1	2.00	0.181 1
X ₁ ²	0.010	1	65.83	<0.000 1
X ₂ ²	5.762E-3	1	36.98	<0.000 1
X ₃ ²	4.178E-3	1	26.81	0.000 2
X ₁ X ₂	1.922E-3	1	12.34	0.003 8
X ₁ X ₃	5.120E-4	1	3.29	0.093 0
X ₂ X ₃	7.200E-5	1	0.46	0.508 6
残 差	2.025E-3	13		
吻合差	1.562E-3	5	5.39	0.018 3
误 差	4.636E-4	8		
总 和	0.030	22		

此回归模型的 F 值为 20.27 说明模型具有显著性意义,只有 0.01%的可能性会因干扰而大于此模型 F 值。“Prob > F”小于 0.0500 表示模型因子是有显著意义的,因此,在此回归模型中 X₁,X₁²,X₂²,X₃²,X₁X₂ 是显著性因子,当此值大于 0.1000 时,说明此模型因子不具有显著性,若模型中的不显著因子较多,可以通过缩减不显著因子而提高回归模型的显著性水平。分析结果的“Lack of Fit F-value”为 5.39,说明此模型具有缩减不显著因子提高显著性的必要。

表 4 回归模型的统计结果

标准偏差	0.012	R ²	0.9335
均值	0.32	信噪比	12.827

信噪比值大于 4 为理想值,本模型的信噪比为 12.827,说明比值理想,模型方程可以被用来解释设计方案。以下是 95%显著水平上剔除不显著因子项后简化的回归方程:

$$Y = 0.36 - 0.020X_1 - 0.025X_1^2 - 0.019X_2^2 - 0.015X_1X_2 - 0.016X_3^2 \quad (2)$$

2.2 显著交互作用对酶法提取辣椒素提取率的影响

从表3可以看出,温度和pH值具有显著的交互作用,显著水平达到($P < 0.05$)。利用Design-expert6.0.5软件进行优化处理可见,当将 X_3 固定在零水平,即加酶量为10 mg/mL时,温度和PH值交互作用下的提取率有最大响应值,将方程(1)转化为:

$$Y = 0.36 - 0.020X_1 + 0.003708X_2 - 0.025X_1^2 - 0.019X_2^2 - 0.015X_1X_2 \quad (3)$$

此时理论预测的提取率响应值为0.36%(图1)。

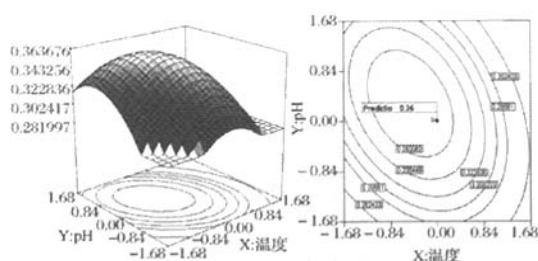


图1 $Y(\%) = f(\text{温度}, \text{pH})$ 响应曲面图及其等高线

2.3 理论预测结果的实验验证

在设定提取率 $Y = 0.36\%$ 的条件下,通过数学模型对酶解条件进行优化和预测,在 X_1 、 X_2 和 X_3 分别为0.65、-0.17和-0.03时,理论预测值为0.356%,此时温度为36.75℃,pH值为3.83,加酶量为9.94 mg/g。在此预测条件下重复实验5次,实际提取率为 $0.363 \pm 0.012\%$,与预测结果相当吻合。说明利用响应面分析法优化发酵条件是可信的。

3 结论

酶水解体系是非常复杂的,影响因素很多,通过二次回归旋转组合设计,利用响应面分析法进行条件优化,可以充分观察不同因子间相互作用情况。本试验在统计分析后得出了果汁专用复合酶作用于云南丘北辣椒,提取辣椒素的酶解方程,精确的预测了辣椒素的提取率,为云南丘北辣椒的辣椒素产业化生产提供了可行可信的数据支持。

参考文献

- 1 王剑平,张建国,王爱军.辣椒碱及其工业生产方法[J].食品工业科技,1996,(6):65~67
- 2 Giovimni M. Response Surface Methodology and product optimization[J]. J Food Technology, 1983, 37(11):41~52

Study on the Optimazition Conditions of Enzymatic Method on Capsaicin of Yunnan Qiubei Capsicum By Response Surface Methodology

Yuan Wei, Wang Nan, Yu Yaying

(Yuannan Agriculture University, Kunming 650201, China)

ABSTRACT This paper presents the optimized distilling conditions by response surface methodology. We also have obtained the enzymatic equation of special syrup enzyme on capsicum of Yunnan Qiubei and could accurately predict the distilling rate of capsacin.

Key words Response Surface Methodology, capsaicin, optimazition conditions

行业动态

琅琊台集团万吨衣康酸竣工

2008年12月,琅琊台集团万吨衣康酸、5万吨葡萄糖酸钠项目竣工达产揭幕暨2000t D-核糖项目奠基典礼仪式在琅琊台集团科海工业园隆重举行。琅琊台集团正在形成一个完整的生物产业链,并成为该集团生物产业新的经济增长点。

D-核糖是生物体内核糖核酸(RNA),脱氧核糖核酸(DNA)以及若干辅酶、维生素及核苷酸的组成成份,在医药、医疗、食品、饲料等领域用途广泛。特别是在抗病毒、抗肿瘤方面的独特作用,D-核糖作为各种核酸药物的起始原料,具有很大的潜在市场。此外,D-核糖还具有医疗保健作用,在临床上D-核糖还可用来治疗心肌局部缺血、肌肉疼痛、糖尿病等病症,目前它作为一种新型的运动营养保健品已风行欧美,具有广阔的市场前景及显著的经济效益。

目前该项目已被列入省重点科技攻关项目“发酵法生产D-核糖技术”的研究,在菌种选育方法、发酵残糖控制技术、高纯度产品分离提取技术等方面均居国际领先水平。该项目将于2008年6月份竣工,预计第1批年产量为500t,实现税前经济效益预计将达到5000万元。