

# 响应面法优化微波辅助提取芦荟凝胶多糖工艺

谭启明<sup>1</sup>, 付瑞敏<sup>2</sup>, 李景原<sup>1</sup>, 王太霞<sup>1</sup>

(1. 河南师范大学 生命科学院, 河南 新乡 453007; 2. 河南教育学院, 河南 郑州 450046)

**摘要:**以库拉索芦荟为试材, 在单因素试验的基础上, 选择微波时间、微波功率、液料比 3 个因素, 利用 Box-Behnken 中心组合试验和响应面分析法, 对数据进行回归分析, 优化微波辅助提取库拉索芦荟中的多糖提取工艺。结果表明: 芦荟多糖微波辅助提取的优化工艺条件为微波时间 2 min, 微波功率 800 W, 液料比 39 : 1 mL/g, 在此工艺条件下, 芦荟多糖的提取率可以达到 6.03%。

**关键词:**库拉索芦荟; 多糖; 微波辅助提取; 响应面法

**中图分类号:**S 567.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0133-04

芦荟属百合科芦荟属多年生常绿肉质草本植物。食用品种主要是库拉索芦荟, 其主要活性成分是多糖,

芦荟多糖具有免疫调节、抗病毒、抗氧化、抗菌等多种功效<sup>[1]</sup>。传统提取多糖的方法是热水提取法, 但是该方法得率较低, 耗时长且较为耗能。采用微波法辅助提取芦荟多糖, 具有操作步骤简单、节省溶剂、产物收率高、处理时间短等优点。当前, 已有文献报道应用微波辅助方法提取植物多糖<sup>[2-4]</sup>。

响应面法是数学方法与统计方法相结合的产物, 它采用多元二次回归方法, 进行函数估计, 并用多项式模拟多因子试验中各个因素与相应指标间的相互关系。

**第一作者简介:**谭启明(1982-), 男, 河南郑州人, 硕士研究生, 现主要从事植物产品开发和利用等研究工作。

**责任作者:**李景原(1963-), 男, 河南新乡人, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事植物产品开发和利用等研究工作。

**基金项目:**国家“十一五”科技支撑计划子课题资助项目(2006BRI06R12-06); 河南省重点科技攻关资助项目(122102310283)。

**收稿日期:**2014-03-13

[10] 辛建刚, 芮汉明. 酶法澄清西蕃莲果汁的工艺研究[J]. 饮料工业, 2005, 8(4): 22-40.

[11] 姜守军, 周广麒. 果胶酶澄清葡萄汁的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(4): 1109-1110.

[12] 钦传光, 丹娃伦亭娜, 丁诺, 等. 果胶酶高产菌种的筛选[J]. 中国酿造, 2000, 3(4): 32-34.

[13] Paul K B, Christopher D, Simon P R. Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape

berries and the implications for pathway regulation[J]. Plant Physiol, 1996, 111: 1059-1066.

[14] 赵权. 脱落酸对长白忍冬果实和叶绿素含量的影响[J]. 北方园艺, 2011(22): 22-24.

[15] 赵权. 山葡萄生长过程中不同组织部位白藜芦醇含量的变化[J]. 北方园艺, 2012(2): 17-18.

[16] 徐渊金, 杜琪珍. 花色苷分离鉴定方法及其生物活性[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(3): 67-72.

## Effect of Enzyme on the Phenolic Substances Leaching Rate in *Vitis amurens* Brewing Process

ZHAO Quan

(Traditional Chinese Medicine Department, Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

**Abstract:** Taking *Vitis amurens* ‘Zuoyouhong’ as experimental material, by means of HPLC techniques, the effect of snail enzyme, cellulase enzyme and pectinase enzyme on the phenolic substances leaching rate in *Vitis amurens* brewing process was studied. The results showed that the effect of enzyme on the leaching rate of total anthocyanins of *Vitis amurens* was not significant; cellulase treatment on the leaching rate of chlorogenic acid had the best effect, increased by 7.8 percentage point than CK; the leaching of resveratrol of snail enzyme treatment was the best, increased by 4.3 percentage point than CK.

**Key words:** *Vitis amurens* wine; snail enzyme; cellulase; pectinase; phenolic substances

在此基础上,通过分析函数响应面,研究响应面和因子及因子相互之间的关系,该设计极其合理,结果相当优良,所以被广大生物、食品行业人员所采用<sup>[5]</sup>。因此,该试验将响应面法应用于芦荟多糖的微波辅助提取工艺优化,采用 Box-Behnken 设计方案,对影响微波辅助提取芦荟多糖的因素-微波时间、微波功率和液料比做进一步探索,旨在为芦荟多糖的提取工艺提供有益参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试芦荟品种为“库拉索芦荟”。

供试试剂:无水乙醇、蒽酮、浓硫酸、丙酮、乙醚、D-甘露糖等,均为国产分析纯试剂。

供试仪器:UV-2000 紫外分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司);H2050R-1 高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);DZF-6020B 真空干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司);PL203 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);SENCO R 系列旋转蒸发器(上海申生科技有限公司);微波炉(佛山市顺德区格兰仕微波炉有限公司)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 芦荟的前处理及多糖提取工艺 取新鲜芦荟叶洗净去刺,剥皮,刮下叶内胶体部分,将芦荟凝胶打浆,称取 20 g 凝胶原液微波辅助提取,真空抽滤,取滤液,旋转蒸发器浓缩至 10 mL,加入 4 倍体积的无水乙醇,置于 4℃ 冰箱中过夜,再依次用无水乙醇、丙酮和乙醚洗涤沉淀,于 2 500 r/min 低温离心 10 min,真空冷冻干燥至白色粉末,将粉末定容于 100 mL 的容量瓶中待测定。

1.2.2 芦荟多糖含量的测定 芦荟多糖含量的测定采用蒽酮-硫酸法<sup>[6]</sup>,库拉索芦荟凝胶中多糖的提取率  $\eta = M_{\text{多糖}}/M_{\text{凝胶}}$ 。

1.2.3 单因素试验 液料比对芦荟凝胶多糖提取率的影响:称取 1.0 g 芦荟干粉 6 份,在微波时间 2 min,微波功率 700 W,液料比分别为 10:1、20:1、30:1、40:1、50:1、60:1 mL/g 的条件下,考察液料比对芦荟凝胶多糖提取率的影响。微波时间对芦荟多糖提取率的影响:称取 1.0 g 芦荟干粉 6 份,在液料比为 30:1 mL/g,微波功率 700 W,微波时间分别为 1、2、3、4、5、6 min 的条件下,考察微波时间对芦荟凝胶多糖提取率的影响。微波功率对芦荟多糖提取率的影响:称取 1.0 g 芦荟干粉 6 份,在液料比为 30:1 mL/g,微波处理时间 2 min,微波功率分别为 400、500、600、700、800、900 W 的条件下,考察微波功率对芦荟凝胶多糖提取率的影响。

1.2.4 响应面试验 基于单因素试验结果,采用 Box-Behnken 设计方案,利用 Design-Expert 软件,以液料比、微波时间和微波功率为自变量,以芦荟多糖的提取率为响应值,进行 3 因素 3 水平响应面分析试验,优化其提取

表 1 响应面试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of experiment of response surface analysis

因素 Factor	水平 Level		
	-1	0	1
A 液料比 Ratio of liquid to material/mL · g <sup>-1</sup>	20	30	40
B 微波时间 Microwave time/min	1	2	3
C 微波功率 Microwave power/W	600	700	800

工艺条件。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素对芦荟多糖提取的影响

2.1.1 液料比对芦荟凝胶多糖提取率的影响 由图 1 可知,随着液料比增加,芦荟多糖提取率也随之增大,其原因是液料比增加可提高多糖的溶出率。其中,当液料比低于 30:1 mL/g 时,各处理提取率差异显著,当液料比高于 30:1 mL/g 时,液料比的调整对多糖提取率的影响相对较小,考虑到液料比过高会增加后期浓缩成本及时间,因此将液料比定在 30:1 mL/g。

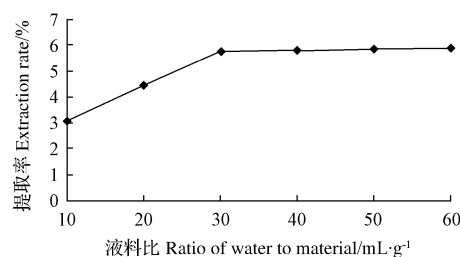


图 1 液料比对芦荟多糖提取率的影响

注:ABMP 为“库拉索芦荟”多糖。

Fig. 1 Effect of ratio of liquid to material on the extraction rate of ABMP

Note: ABMP was *Aloe barbadensis* Miller polysaccharides.

2.1.2 微波时间对芦荟多糖提取率的影响 由图 2 可知,微波时间在 3 min 内,芦荟多糖的提取率随着微波时间的延长而显著增大,这可能是因为通过微波的作用,可使芦荟叶的腺胞系统中的水分吸收微波而产生气化,气化产生的压力迫使细胞膜破裂、收缩,从而使提取溶剂更容易进入细胞内;此外,微波产生的电磁场也可加速多糖扩散的速率,使提取过程缩短,当微波时间超过 3 min,多糖提取率开始下降,考虑可能是水分子在微波产生的电磁场作用下高速转动导致液体温度过度上升,温度过高导致多糖结构遭到了破坏,活性丧失,故将微波时间定在 2 min 左右。

2.1.3 微波功率对芦荟多糖提取率的影响 由图 3 可知,微波功率低于 700 W 时,芦荟多糖的提取率随着微波功率的增加而显著增大,微波功率高于 700 W 时,芦荟多糖提取率增加幅度较为微小,为节省能耗,考虑将微波功率定在 700 W。

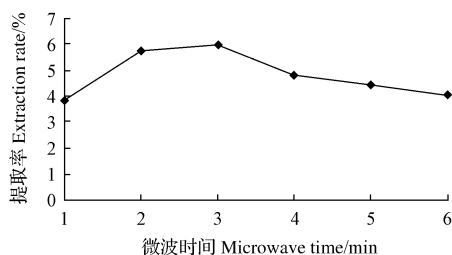


图2 微波时间对芦荟多糖提取率的影响

Fig. 2 Effect of microwave time on the extraction rate of ABMP

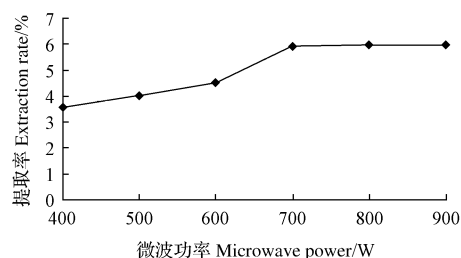


图3 微波功率对芦荟多糖提取率的影响

Fig. 3 Effect of microwave power on the extraction rate of ABMP

## 2.2 响应面试验结果

以液料比、微波时间和微波功率为自变量,以芦荟多糖提取率为响应值进行响应面分析。由表2可知,液料比为40:1 mL/g,微波时间为2 min,微波功率为800 W时,多糖得率最高,为6.01%。

表2 响应面分析方案及试验结果

Table 2 Program and experimental results of response surface analysis

试验号 No.	A 液料比 Ratio of liquid to material/mL · g <sup>-1</sup>	B 微波时间 Microwave time/min	C 微波功率 Microwave power/W	多糖提取率 Polysaccharides extraction rate/%
1	20:1	1	700	4.09
2	40:1	1	700	4.81
3	20:1	3	700	4.92
4	40:1	3	700	4.60
5	20:1	2	600	2.99
6	40:1	2	600	4.04
7	20:1	2	800	5.48
8	40:1	2	800	6.01
9	30:1	1	600	3.51
10	30:1	3	600	3.87
11	30:1	1	800	3.99
12	30:1	3	800	5.51
13	30:1	2	700	5.94
14	30:1	2	700	5.89
15	30:1	2	700	5.78

## 2.3 回归分析

运用 Design expert 8.0 软件对试验点的响应值(表2)进行二次回归响应面分析,建立多元二次响应面回归模型: $Y = 5.87 + 0.025A + 0.31B + 0.82C - 0.26AB -$

$$0.13AC + 0.29BC - 0.43A^2 - 0.84B^2 - 0.81C^2。$$

从表3可以看出,模型的  $P$  值为 0.0301,小于 0.05,说明该模型回归显著,可用于微波辅助提取芦荟多糖的试验设计。回归模型的决定系数为  $A$ (液料比)、 $B$ (微波时间)、 $C$ (微波功率)、 $AB$ (液料比与微波时间的交互作用)、 $AC$ (液料比与微波功率的交互作用)、 $BC$ (微波时间与微波功率的交互作用),  $P$  值分别为 0.1907、0.1143、0.0040、0.3121、0.5984、0.2654。这表明回归方程模型的拟合度较好,失拟小,可用该模型对微波辅助提取芦荟多糖的工艺进行准确的预测和分析。

表3 回归分析结果

Table 3 Analyze of regression analysis

方差来源 Sources of variance	平方和 Sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean squares	F 值 F value	P
Model	12.38	9	1.38	6.43	0.0271
A-A	0.49	1	0.49	2.29	0.1907
B-B	0.78	1	0.78	3.65	0.1143
C-C	5.41	1	5.41	25.28	0.0040
AB	0.27	1	0.27	1.26	0.3121
AC	0.068	1	0.068	0.32	0.5984
BC	0.34	1	0.34	1.57	0.2654
A <sup>2</sup>	0.67	1	0.67	3.15	0.1360
B <sup>2</sup>	2.59	1	2.59	12.10	0.0177
C <sup>2</sup>	2.44	1	2.44	11.39	0.0198
残差 Residual	1.07	5	0.21		
失拟项 Loss of quasi item	1.06	3	0.35	52.58	0.0187
纯误差 Pure error	0.013	2	6.700E-003		
总偏差 Total deviation	13.45	14			

根据回归方程,获得液料比,微波时间与微波功率两两交互对芦荟多糖提取率的影响,图4~6为相应的响应面曲面图,其中,微波功率( $C$ )对响应值的影响最为显著,表现为响应面曲线较陡,而微波时间( $B$ )和液料比( $A$ )对芦荟多糖提取率的影响相对较弱,表现为曲线较为平缓。

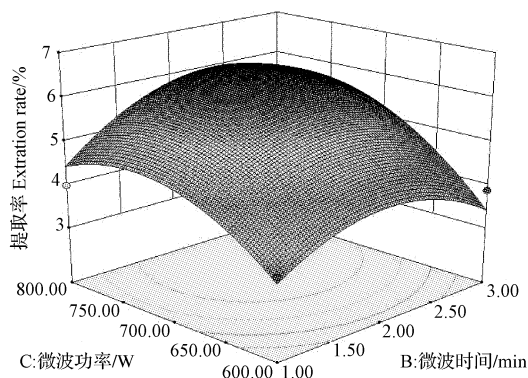


图4 微波功率与微波时间交互作用对芦荟多糖提取率影响响应面

Fig. 4 Response surface of interrelated influence of microwave power and microwave time on extraction rate of ABMP

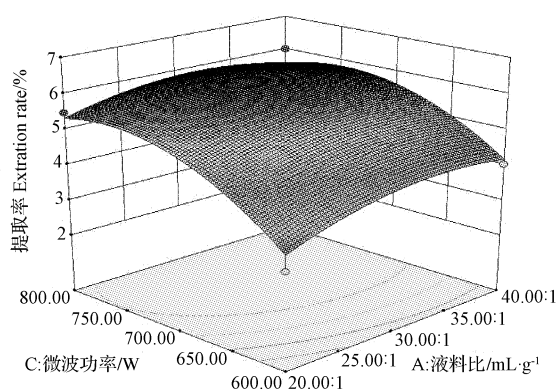


图5 液料比与微波功率交互作用对芦荟多糖提取率影响响应面

Fig. 5 Response surface of interrelated influence of ratio of liquid to material and microwave power on extraction rate of ABMP

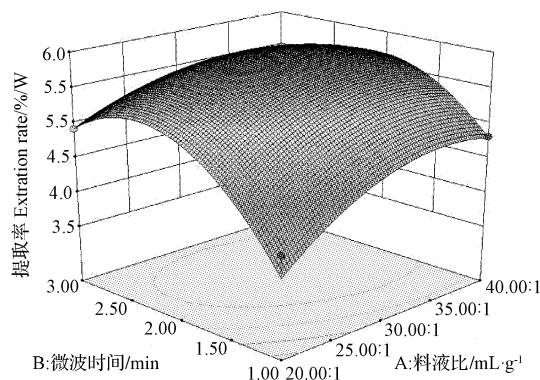


图6 液料比与微波时间交互作用对芦荟多糖提取率影响响应面

Fig. 6 Response surface of interrelated influence of ratio of liquid to material and microwave time on extraction rate of ABMP

## 2.4 模型的验证性试验

通过对芦荟多糖提取率的二次多项数学模型解逆矩阵,得出微波辅助提取芦荟多糖的最佳工艺为:微波功率(C)在 799.52 W,液料比(A)为 38.57 : 1 mL/g,微波时间(B)为 1.96 min 时,芦荟多糖提取率预测值为 6.04%,为便于操作,将最优条件适度调整为微波功率 800 W,操作时间为 2 min,液料比为 39 : 1 mL/g 时,测得的实际值为 6.03%,与理论预测值接近,故采用响应面法优化提取参数准确可靠,具有实际应用价值。

## 3 结论

微波辅助芦荟多糖的提取可缩短提取时间,提高提取率,采用响应面法分析提取工艺,既可以优化工艺参数,也可预测响应值,从而获得最优的工艺参数。该试验采用响应面法分析优化芦荟多糖的提取工艺,得到最佳工艺参数为液料比为 39 : 1 mL/g,微波功率为 800 W,操作时间为 2 min,该工艺条件下,芦荟多糖提取率达到 6.03%。

## 参考文献

- [1] Liu C H, Wang C H, Xu Z L, et al. Isolation chemical characterization and antioxidant activities of two polysaccharides from the gel and the skin of *Aloe barbadensis* Miller irrigated with sea water[J]. Process Biochemistry, 2007, 42(6): 961-970.
- [2] 杨宇博,夏红梅,袁恒翼,等. 植物多糖及其提取方法[J]. 中国甜菜糖业, 2008, 6(2): 34-37.
- [3] 王莉,陈正行,张潇艳. 微波辅助提取米糠多糖的工艺[J]. 江苏大学学报(自然科学版), 2007, 8(3): 193-196.
- [4] 许晓敏,闻建平. 微波协助萃取技术在现代化中草药生产中的应用[J]. 中草药, 2002, 33(12): 1141-1143.
- [5] 付瑞敏,韩鸿鹏,郑珂,等. 响应面分析法优化野木瓜多糖的提取工艺[J]. 北方园艺, 2013(18): 121-124.
- [6] 陈伟,林新华,黄丽英,等. 蒽酮-硫酸法测定库拉索芦荟多糖含量[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(8): 460-462.

# Optimization of Microwave-assisted Extraction Process of *Aloe barbadensis* Miller Polysaccharies by Response Surface Method

TAN Qi-ming<sup>1</sup>, FU Rui-min<sup>2</sup>, LI Jing-yuan<sup>1</sup>, WANG Tai-xia<sup>1</sup>

(1. School of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007; 2. Henan Institute of Education, Zhengzhou, Henan 450046)

**Abstract:** Based on the single factor experiment, with *Aloe barbadensis* Miller as test material, microwave time, microwave power and ratio of liquid to material were selected, by using Box-Behnken central composite and response surface method, the data was regression-analyzed to optimize the microwave-assisted extraction conditions of *Aloe barbadensis* Miller polysaccharides (ABMP). The results showed that the optimum extraction conditions of the ABMP were microwave time 2 min, microwave power 800 W, ratio of liquid to material 39 : 1 mL/g. Under these conditions, extraction rate reached 6.03%.

**Key words:** *Aloe barbadensis* Miller; polysaccharides; microwave-assisted extraction; response surface method