

# 响应面法优化黄秋葵多糖超声提取工艺

任丹丹, 陈谷\*

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

**摘要:**目的: 探讨黄秋葵多糖的超声提取工艺。方法: 选定时间、水料比和温度作为影响因素, 以黄秋葵多糖提取率为评价指标。在单因素试验的基础上, 通过3因素3水平Box-Behnken中心组合试验, 建立多糖提取率的二次多项式回归方程, 经响应面回归分析得到优化组合条件。结果: 最佳提取工艺条件为提取时间20min、水料比44:1(mL/g)、提取温度52℃、提取1次时, 多糖提取率达到最大值。该条件下多糖提取率预测值为27.82%, 验证值为27.75%。结论: 为黄秋葵多糖的提取工艺提供参考, 有利于对黄秋葵的进一步开发利用。

**关键词:** 黄秋葵; 多糖; 超声提取工艺; 响应面分析优化

## Optimization of Ultrasound-assisted Extraction of Polysaccharides from Okra by Response Surface Analysis

REN Dan-dan, CHEN Gu\*

(College of Light Industry and Food, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Objective: To optimize the ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from okra by response surface analysis. Methods: On the basis of single-factor experiments, the relationship between the yield of polysaccharides and main extraction conditions including extraction time, liquid/solid ratio and temperature was modeled using a 3-factor, 3-level Box-Behnken experimental design and further, the established model was analyzed by response surface methodology to obtain the optimum extraction conditions. Results: The optimum extraction conditions were obtained as follows: extraction time of 20 min, liquid/solid ratio of 44:1 and temperature of 52 °C. Under these conditions, the estimated and observed values of maximal yield of polysaccharides were 27.82% and 27.75%, respectively. Conclusion: The results provide a reference for extraction of okra polysaccharides, and lay a foundation for future research on okra.

**Key words:** okra; polysaccharides; ultrasound-assisted extraction technology; response surface methodology

中图分类号: TQ929.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)08-0143-04

黄秋葵[*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench], 又名咖啡黄葵、补肾草、洋辣椒、羊角豆等, 为锦葵科秋葵属一年生草本植物, 原产于非洲, 现在我国部分城市有少量栽培。嫩果润滑风味独特, 营养成分丰富, 含蛋白质、脂肪、多糖、维生素、微量元素和黄酮等, 是一种发展潜力巨大的营养保健蔬菜<sup>[1-3]</sup>。黄秋葵的嫩荚果中特有的黏性物质可助消化、防便秘, 长期食用可治疗胃炎、胃溃疡, 并可保护肝脏及增强人体耐力<sup>[4-6]</sup>。其黏液所制得浸膏可作为脂肪替代物, 制作低脂肪巧克力、低脂肪饼干等<sup>[7]</sup>。除此之外, 实验证明黄秋葵具有抗疲劳、减少肺损伤、治疗烧(烫)伤<sup>[8-11]</sup>等功能。任丹丹等<sup>[12]</sup>研究表明: 黄秋葵多糖具有胆酸结合活性的作用。

超声波在天然产物的提取中的应用, 主要是利用超声波的空化效应增大介质分子的运动速度, 使可溶性活

性成分迅速溶出<sup>[13]</sup>。响应面分析(response surface methodology, RSM) 采用多元二次回归方程来拟合影响因素与响应值之间的函数关系, 对回归方程进行分析得到优化的工艺参数。与正交试验设计相比, 能研究几种因素之间的交互作用, 现被越来越广泛地应用于解决多变量问题<sup>[14-15]</sup>。本实验利用响应面分析法对黄秋葵多糖的超声提取工艺进行优化, 为进一步开发利用黄秋葵多糖提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

黄秋葵 广州蔬菜批发市场。将黄秋葵清洗后冷冻干燥, 磨粉过50目筛, 避光密封, -20℃保存备用。无水葡萄糖、无水乙醇、苯酚(重蒸)、浓硫酸等均为国产分析纯试剂。

收稿日期: 2010-05-19

作者简介: 任丹丹(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为糖类物质及其药物的制备与生物利用。E-mail: rendandan619@163.com

\* 通信作者: 陈谷(1973—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为糖类物质及其药物的制备与生物利用。E-mail: chengu@scut.edu.cn

## 1.2 仪器与设备

电子精密天平 德国 Sartorius 公司; QL-901 型漩涡混合器 江苏其林贝尔仪器公司; KQ5200DE 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; 台式高速离心机 美国贝克曼公司; 冷冻离心机 德国 Eppendorf 公司; UV-2300 紫外-可见分光光度计 上海天美科学仪器有限公司; 冷冻干燥机 美国 Thermo 公司; JYL-380 料理机 济南九阳股份有限公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 黄秋葵多糖的提取工艺流程

黄秋葵嫩果→蒸馏水清洗→冷冻干燥→粉碎过筛→加水浸泡→超声提取→离心→滤液定容→测定多糖含量

### 1.3.2 黄秋葵多糖含量和提取率测定

用苯酚-硫酸法制备葡萄糖标准曲线, 得回归方程:  $y=15.6x-0.0018(R^2=0.9977)$ , 在  $0\sim 40\mu\text{g/mL}$  范围内, 葡萄糖的质量浓度( $x$ )和吸光度( $y$ )有良好的线性关系。经超声处理的黄秋葵水溶液, 离心取  $100\mu\text{L}$  上清液, 用蒸馏水稀释定容至  $5\text{mL}$ 。再取上述稀释液  $100\mu\text{L}$  至具塞试管, 添加  $900\mu\text{L}$  蒸馏水混匀。然后用苯酚-硫酸法测定样品在波长  $490\text{nm}$  处的吸光度, 通过回归方程和稀释倍数计算多糖含量。

$$\text{多糖提取率}/\% = \frac{\text{黄秋葵多糖含量}}{\text{黄秋葵干粉含量}} \times 100$$

### 1.3.3 提取工艺的优化

选取超声时间、水料比、提取温度及提取次数为主要影响因素, 以黄秋葵多糖的提取率为评价指标, 进行单因素试验。在单因素试验的基础上, 采用 Box-Behnken 中心组合试验设计方案, 研究各个因素之间对多糖提取率的影响, 做出响应面图, 对超声法提取黄秋葵多糖工艺进行条件优化。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 超声时间对多糖提取率的影响

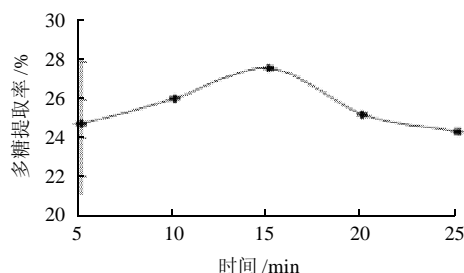


图1 超声时间对黄秋葵多糖提取率的影响

Fig.1 Effect of extraction time on the yield of polysaccharides from okra

固定水料比  $40:1(\text{mL/g})$ 、提取温度  $60^\circ\text{C}$ , 研究不同超声时间对多糖提取率的影响。由图1可知, 多糖提取率在  $15\text{min}$  附近出现最大值。随着超声时间的增加, 提取率呈先上升再下降的趋势。可能是由于多糖超声提取时间过长, 超声波引起产物结构变化降低提取率。因此, 超声时间选在  $15\text{min}$  左右。

#### 2.1.2 水料比对多糖提取率的影响

固定超声时间  $15\text{min}$ 、提取温度  $60^\circ\text{C}$ , 研究不同的水料比对多糖提取率的影响。由图2可知, 随着水料比的增大, 多糖的提取率逐渐的上升。当水料比超过  $40:1$  时, 多糖提取率增幅不明显。因此, 水料比取  $40:1$  左右。

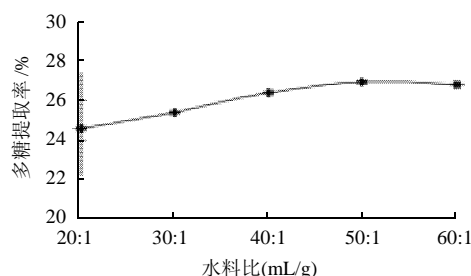


图2 水料比对黄秋葵多糖提取率的影响

Fig.2 Effect of liquid/solid ratio on the yield of polysaccharides from okra

#### 2.1.3 提取温度对多糖提取率的影响

固定提取时间  $15\text{min}$ 、水料比  $40:1$ , 研究不同的超声温度对多糖提取率的影响。由图3可知, 在低于  $60^\circ\text{C}$  时, 随温度的升高多糖提取率逐渐增加; 但当提取温度高于  $60^\circ\text{C}$  时, 提取率明显下降。这是由于提物温度过高会使可溶性多糖的分子结构受到破坏。因此, 提取温度选在  $60^\circ\text{C}$  左右。

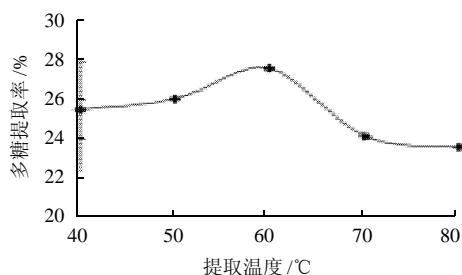


图3 提取温度对黄秋葵多糖提取率的影响

Fig.3 Effect of temperature on the yield of polysaccharides from okra

#### 2.1.4 提取次数对多糖提取率的影响

固定提取时间  $15\text{min}$ 、水料比  $40:1$ , 提取温度  $60^\circ\text{C}$ , 研究不同的超声次数对多糖提取率的影响。由图4可

知,黄秋葵经过1次超声提取可以达到较好的效果。因此,选择提取次数为1次。

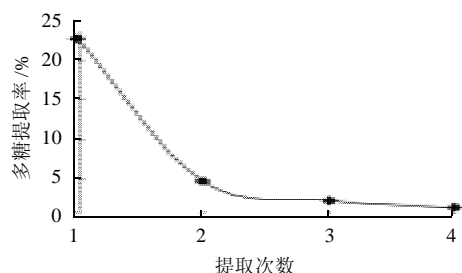


图4 提取次数对黄秋葵多糖提取率的影响

Fig.4 Effect of extraction number on the yield of polysaccharides from okra

## 2.2 响应面分析及黄秋葵多糖提取工艺的优化

以单因素试验结果为基础,根据Box-Behnken中心组合试验设计原则,选超声时间、水料比、提取温度3个对多糖提取率影响显著的因素,采用3因素3水平的响应面分析方法对工艺参数进行优化。试验因素与水平设计见表1。

表1 响应面分析因素与水平  
Table 1 Factors and levels in response surface design

因素	水平		
	-1	0	1
A 超声时间/min	10	15	20
B 水料比(mL/g)	30:1	40:1	50:1
C 提取温度/℃	50	60	70

表2 响应面分析方案及结果

Table 2 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	A	B	C	多糖提取率/%
1	-1	-1	0	26.36
2	1	-1	0	27.48
3	-1	1	0	27.53
4	1	1	0	27.00
5	-1	0	-1	26.30
6	1	0	-1	27.62
7	-1	0	1	27.45
8	1	0	1	26.81
9	0	-1	-1	25.04
10	0	1	-1	27.69
11	0	-1	1	27.54
12	0	1	1	26.04
13	0	0	0	27.45
14	0	0	0	27.45
15	0	0	0	27.32
16	0	0	0	27.67
17	0	0	0	27.41

响应面分析方案和实验结果见表2。其中,试验号

1~12是析因试验,而13~17是中心试验,用来估计试验误差。

由Design-Expert 8.0.2.0软件处理数据,采用二次型进行变异分析(analysis of variance, ANOVA),其方差分析结果见表3。对响应值与各个因素进行回归拟合,该模型对应的回归方程:

$$Y = 27.46 + 0.16A + 0.23B + 0.15C - 0.41AB - 0.49AC - 1.04BC + 0.05A^2 - 0.42B^2 - 0.46C^2 \quad (1)$$

表3 方差分析

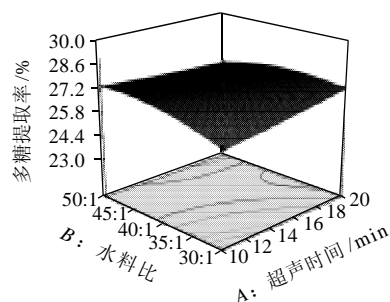
Table 3 Variance analysis for the yield of polysaccharides with various extraction conditions

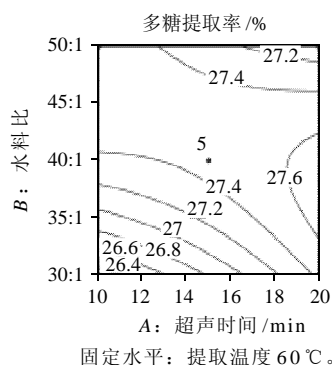
方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	8.48	9	0.94	44.92	< 0.0001**
A	0.20	1	0.20	2.32	0.0124*
B	0.42	1	0.42	29.58	0.0019**
C	0.18	1	0.18	16.98	0.0166*
AB	0.68	1	0.68	31.29	0.0005**
AC	0.96	1	0.96	67.50	0.0002**
BC	4.31	1	4.31	187.50	< 0.0001**
A <sup>2</sup>	0.011	1	0.011	15.62	0.4701
B <sup>2</sup>	0.73	1	0.73	33.56	0.0004**
C <sup>2</sup>	0.91	1	0.91	21.13	0.0002**
残差	0.13	7	0.018		
失拟项	0.060	3	0.020	1.20	0.4254
纯误差	0.066	4	0.017		
总误差	8.61	16			

注: \*.P < 0.05, 差异显著; \*\*.P < 0.01, 差异极显著。

对二次回归方程(1)进行方差分析,模型P < 0.01,此时回归方差模型极显著,该试验方法可靠。方程失拟项不显著,该回归模型与实测值能较好的拟合。回归系数R<sup>2</sup>=0.9853 > 0.9,表明该模型相关度好。回归方程各项的方差分析表明:B、AB、AC、BC、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup>均达到极显著水平。选定的因素对多糖提取率的影响大小依次为水料比、时间和温度。

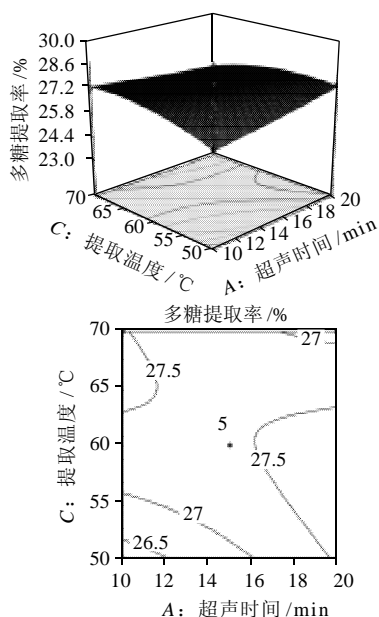
响应面Y对于因素A、B、C值构成的三维空间在二维平面上的等高图,可直观地反映各因素之间的相互作用。Design-Expert 8.0.2.0软件处理得到响应面分析结果见图5~7。





固定水平: 提取温度 60℃。

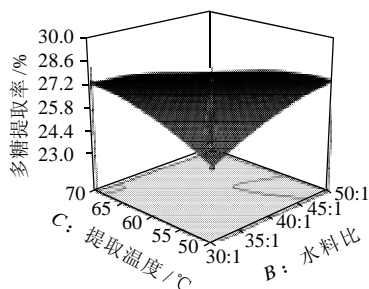
图5 超声时间与水料比对多糖提取率影响的响应面和等高线图  
Fig.5 Response surface and contour plots showing the interactive effects of extraction time and liquid/solid ratio on yield of polysaccharides



固定水平: 水料比 40:1。

图6 超声时间与提取温度对多糖提取率影响的响应面和等高线图  
Fig.6 Response surface and contour plots showing the interactive effects of extraction time and temperature on yield of polysaccharides

根据所得到的模型, 预测最优工艺条件: 超声时间 19.77min、水料比 44.20:1(mL/g)、提取温度 52.35℃, 在此条件下多糖的提取率理论上可达到 27.82%。但考虑到实际情况将最佳工艺修正为超声时间 20min、水料比 44:1(mL/g)、提取温度 52℃。在修正条件下, 实际的提取率为 27.75%。与理论值较为接近, 因此, 采用 RSM 法优化得到的提取条件参数可靠。



固定水平: 超声时间 15min。

图7 水料比与提取温度对多糖提取率影响的响应面和等高线图  
Fig.7 Response surface and contour plots showing the interactive effects of liquid/solid ratio and temperature on yield of polysaccharides

### 3 结论

本实验使用超声法从黄秋葵中提取分离多糖物质, 对提升黄秋葵的利用价值具有较大的现实意义。通过响应面分析对其提取工艺进行优化, 超声提取的最佳工艺条件: 超声时间 20min、水料比 44:1(mL/g)、提取温度 52℃、提取 1 次, 在此条件下多糖的实际提取率为 27.75%。本研究为黄秋葵多糖的提取工艺提供了参考, 有利于对黄秋葵的进一步开发利用。

### 参考文献:

- [1] 覃世成. 药食兼用保健蔬菜: 黄秋葵[J]. 农业新技术, 2003, 4(4): 195.
- [2] SAVELLO P A, MARTINS F, HULL W. Nutrition composition of okra seed meals[J]. Journals of Agricultural and Food Chemistry, 1980, 28 (6): 1163-1166.
- [3] 钟惠宏, 郑向红, 李振山. 秋葵属的种及其资源的搜集研究和利用[J]. 中国蔬菜, 1996(2): 49-51.
- [4] 高振茂, 高冠亚, 杜丽红. 天然佳蔬黄秋葵的营养与食用方法[J]. 上海蔬菜, 2005(2): 76-77.
- [5] 孙元琳, 汤坚. 果胶类多糖的研究进展[J]. 食品与机械, 2004, 20(6): 60-63.
- [6] 林蒲田. 保健蔬菜: 黄秋葵[J]. 湖南农业, 2005(11): 9.
- [7] OMANCHIK-CERPOVICE J E, TILMON R W, BALDREE K A. Moisture retention and consumer acceptability of chocolate bar cookies prepared with okra gum as a fat ingredient substitute[J]. Journal of the American Dietetic Association, 2002, 102(9): 1301-1303.
- [8] 李建华, 陈珊. 黄秋葵水提液抗疲劳的药效学观察[J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23(2): 196-197.
- [9] 王君耀, 周峻, 汤谷平. 黄秋葵抗疲劳作用的研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2003, 20(4): 316-317.
- [10] 吕美云, 郭孟萍. 食用秋葵 6 种微量元素测定及药用价值初探[J]. 微量元素与健康研究, 2000, 17(1): 46-47.
- [11] 张忠堤. 秋葵用湿润暴露疗法治疗烧(烫)伤 73 例报告[J]. 现代医药卫生, 1995, 11(增刊 1): 75-76.
- [12] 任丹丹, 陈谷. 黄秋葵多糖的提取、分离及其体外结合胆酸盐能力的分析[J]. 食品科学, 2010, 31(13): 110-113.
- [13] 王锋, 李稳宏, 李多伟, 等. 超声萃取-溶剂纯化银杏外种皮活性成分新工艺[J]. 化学工程, 2004, 15(12): 861-862.
- [14] 王鸿, 邓泽元, 刘蓉, 等. 响应曲面法优化山落菜根多糖的提取工艺[J]. 食品科学, 2010, 30(2): 46-50.
- [15] 慕运动. 响应面方法及其在食品工业中的应用[J]. 郑州工程学院学报, 2001, 22(3): 91-94.