

超声波协同复合酶法提取南瓜多糖工艺优化

刁文超, 王 然, 王凤舞, 王成荣*

(青岛农业大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266109)

摘 要: 利用超声波协同复合酶法以南瓜为材料提取多糖, 将超声波提取与复合酶法提取两种独立的提取方法进行协同作用, 结果如下: 在酶解的同时辅助超声波提取为最佳协同方式; 适宜酶的比例分别为果胶酶 42U/g、木瓜蛋白酶 200U/g、纤维素酶 40U/g; 响应面法优化超声波协同复合酶法提取南瓜多糖最佳工艺技术参数为温度 51.5℃、功率 440W、液料比 7:1(mL/g)、pH4.4, 在此条件下, 南瓜多糖的得率为 4.39%。

关键词: 超声波; 复合酶; 南瓜多糖; 提取率

Optimization of the Extraction of Pumpkin Polysaccharides by Combined Ultrasonic Treatment and Multi-Enzyme Hydrolysis

DIAO Wen-chao, WANG Ran, WANG Feng-wu, WANG Cheng-rong*

(College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: The effects of different sequential combinations of ultrasonic treatment and single-stage multi-enzyme hydrolysis on the extraction yield of pumpkin polysaccharides were explored in this study. The best combination for extraction of pumpkin polysaccharides was simultaneous treatment. The best dosages of pectin, papain and cellulase were 42, 200 U/g and 40 U/g, respectively. The best extraction conditions for pumpkin polysaccharides were determined by response surface methodology to be simultaneous hydrolysis at 51.5 °C, a liquid-to-material ratio of 7:1 and initial pH 4.4 and ultrasonic treatment at 400 W. Under these conditions, the extraction yield of pumpkin polysaccharides was 4.39%.

Key words: ultrasonic; multi-enzyme complex; pumpkin polysaccharide; extraction yield

中图分类号: TS255.36; Q539

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)18-0014-07

南瓜又叫番瓜、倭瓜、金瓜等, 系葫芦科南瓜属中一年生蔓性草本植物^[1], 其味甘、性温, 具有补中益气 and 润肺益心的功能, 能防治多种疾病^[2]。现代医学研究发现南瓜营养丰富全面, 富含果胶、戊聚糖、甘露醇、多种氨基酸、维生素(VC、VE、VB等)、矿物质(Fe、P、Se等)、生物碱、南瓜子碱、葫芦巴碱、可溶性纤维素、胡萝卜素、叶黄素等多种生理活性物质^[3], 具有很高的药用价值^[4]; 南瓜多糖因具有增强机体免疫的能力南瓜多糖的提取、抗感染、抗凝血、降血糖、降血脂等作用, 被誉为南瓜中重要的活性组分^[5-8], 一直成为人们研究的热点。我国具有悠久的南瓜栽培历史, 资源极其丰富, 因此对南瓜多糖提取技术的研究具有重要的意义。

目前, 南瓜多糖的提取方法多为传统的热水浸提法, 此法操作简单, 但提取时间长, 提取率低。酶

具有水解纤维素、原果胶和糖蛋白的作用^[9], 酶的高效性能节约提取能源与时间, 酶的专一性使得到的产物稳定, 纯度、活性高^[10]; 超声波是一种弹性波, 能够产生并传递强大的能量, 能使物质中分子加速运动^[11], 有利于植物细胞中的有效成分转移、扩散及提取^[12], 本实验采用超声波协同复合酶法提取南瓜多糖以达到提高多糖提取率的目的。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

东升南瓜(市售); 果胶酶(30000U/g)、木瓜蛋白酶(200000U/g)、纤维素酶(40000U/g) 天津利华酶制剂技术有限公司; 葡萄糖、苯酚、硫酸、柠檬酸、磷酸氢二钠、3,5-二硝基水杨酸、氢氧化钠、丙三醇、无水乙醇均为分析纯。

收稿日期: 2011-07-13

基金项目: 山东省现代蔬菜产业技术体系项目

作者简介: 刁文超(1985—), 女, 硕士研究生, 研究方向为果蔬深加工。E-mail: wenchaoandwenjiao@163.com

* 通信作者: 王成荣(1958—), 男, 教授, 研究方向为果蔬深加工。E-mail: qauwcr@126.com

1.2 仪器与设备

SY-1000E 多用途恒温超声提取仪 北京弘祥隆生物技术开发有限公司; 745 型紫外-可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; TDL-5000B 型离心机 上海安亭科学仪器厂; RE-52AA 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器有限公司; SHB-III 循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司; 电热恒温水浴锅 龙口市先科仪器公司; DHG-9036A 电热恒温鼓风干燥箱 上海市精宏实验仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 南瓜多糖含量的测定

总糖含量: 苯酚-硫酸法^[13]; 还原糖含量: 3,5-二硝基水杨酸比色法^[14]; 多糖含量 = 总糖含量 - 还原糖含量^[15]。

1.3.2 超声波辅助复合酶法提取南瓜多糖工艺流程

南瓜→洗净、去瓤→切块、加入适量水打浆→按液料比补足水→超声波辅助复合酶法提取南瓜多糖→灭酶→过滤→4000r/min 离心 15min→50℃浓缩→Sevag 脱蛋白^[16]→乙醇沉淀→依次用质量分数为 95% 乙醇、丙酮和无水乙醇洗涤沉淀→真空干燥→南瓜粗多糖

1.3.3 协同方式的确定

在超声功率 600W、温度 50℃、pH6.5, 复合酶用量(果胶酶用量 30U/g、木瓜蛋白酶用量 200U/g、纤维素酶用量 40U/g)的条件下研究 4 种协同方式对南瓜多糖提取率的影响。

1) 方式 A: 南瓜打浆加入复合酶(果胶酶、木瓜蛋白酶、纤维素酶)后超声波处理 20min, 之后酶解 2h, 90℃、30s 灭酶, 测多糖提取率。

2) 方式 B: 南瓜打浆加入复合酶超声波处理 20min, 90℃、30s 灭酶, 测多糖提取率。

3) 方式 C: 南瓜打浆加入复合酶酶解 2h, 90℃、30s 灭酶, 之后进行超声波处理 20min, 测多糖提取率。

4) 方式 D: 南瓜打浆加入复合酶酶解 2h, 之后超声波处理 20min, 90℃、30s 灭酶, 测多糖提取率。

1.3.4 复合酶配比的确定

1.3.4.1 单因素试验

取 100g 鲜南瓜分别添加不同量的果胶酶(18、24、30、36、42、48U/g)、纤维素酶(24、30、36、42、48、54U/g)、木瓜蛋白酶(120、160、200、240、280U/g), 在其他条件相同的前提下, 研究果胶酶用量、纤维素酶用量、木瓜蛋白酶用量对南瓜多糖提取率的影响。

1.3.4.2 复合酶配比正交试验优化

在上述单因素试验基础上, 选取果胶酶用量(A)、木瓜蛋白酶用量(B)、纤维素酶用量(C)三因素, 采用 $L_9(3^3)$

正交表设计正交试验, 以南瓜多糖提取率为指标, 确定复合酶的最佳配比。

1.3.5 超声波协同复合酶法提取条件的确定

1.3.5.1 单因素试验

在其他条件相同的前提下分别研究提取温度(30、40、50、60、70℃)、超声波功率(300、400、500、600、700W)、pH 值(2.5、3.5、4.5、5.5、6.5)、液料比(4:1、6:1、8:1、10:1、12:1)对南瓜多糖提取率的影响。

1.3.5.2 响应面分析

应用 Design-Expert 7.0 软件, 采用中心组合试验, 在单因素试验的基础上, 选取温度、功率、液料比、pH 值 4 个对多糖提取率影响显著的因素进行编码, 以南瓜多糖提取率为响应值, 进行响应面分析, 因素水平见表 1。

表 1 超声波协同复合酶法提取南瓜多糖工艺优化
中心组合试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of central composite design (CCD)

因素	水平				
	-2	-1	0	1	2
A 温度/℃	30	40	50	60	70
B 功率/W	200	300	400	500	600
C pH	2.5	3.5	4.5	5.5	6.5
D 液料比(mL/g)	2:1	4:1	6:1	8:1	10:1

1.3.6 提取时间对南瓜多糖提取率的影响

其他条件相同前提下, 进一步研究提取时间对南瓜多糖提取率的影响。

1.3.7 南瓜多糖初步纯化

对超声波辅助复合酶法提取的多糖提取液进行灭酶后离心, 得上清液, 进行浓缩, Sevag 法脱蛋白, 用 95% 乙醇沉淀, 静置过夜后抽滤得沉淀, 依次用 95% 乙醇、丙酮和无水乙醇洗涤沉淀^[17], 将沉淀真空干燥, 得南瓜粗多糖。

2 结果与分析

2.1 协同方式的确定

按 1.3.3 节中 4 种不同协同方式提取南瓜多糖, 计算其得率, 结果见表 2。

表 2 超声波辅助复合酶法对不同协同方式对南瓜多糖得率的影响
Table 2 Effects of different sequential combinations of ultrasonic treatment and single-stage multi-enzyme hydrolysis on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

实验序号	A	B	C	D
多糖提取率/%	3.518 ± 0.008 ^a	3.477 ± 0.012 ^a	3.208 ± 0.056 ^b	3.533 ± 0.009 ^a

由表2可以看出: A、B、D三种处理方式所得南瓜多糖提取率显著高于C, 说明超声波与复合酶协同处理能够显著地提高南瓜多糖提取率; A、B、D三种处理方式之间无显著差异, 说明在复合酶超声波处理20min之前或之后额外增加酶解时间不能显著提高南瓜多糖提取率, 所以采用B方式进行后续的实验。

2.2 复合酶配比的确定

2.2.1 单因素试验结果与分析

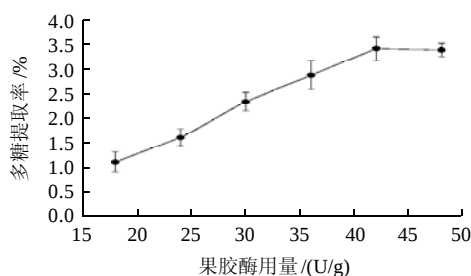


图1 果胶酶用量对南瓜多糖提取率的影响

Fig.1 Effect of pectinase amount on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

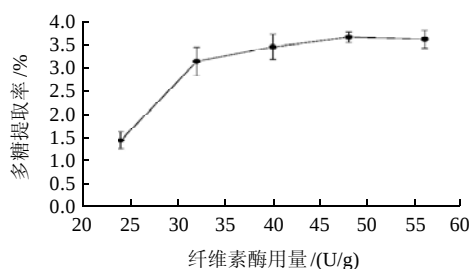


图2 纤维素酶用量对南瓜多糖提取率的影响

Fig.2 Effect of cellulase amount on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

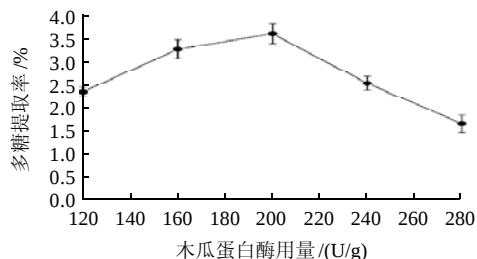


图3 木瓜蛋白酶用量对南瓜多糖提取率的影响

Fig.3 Effect of papain amount on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

图1表明, 南瓜多糖的提取率随果胶酶用量增加而升高, 当果胶酶用量为42U/g时达到最高, 因此, 果

胶酶用量选择36~48U/g; 图2表明随纤维素酶用量的增加, 多糖提取率呈现升高的趋势, 当用量达到48U/g时提取率达到最高, 所以纤维素酶用量选择42~54U/g; 图3表明随木瓜蛋白酶用量的增加, 提取率呈现先升高后下降的趋势, 当酶量小于200U/g时, 木瓜蛋白酶在分解细胞结构的同时有利于多糖的浸出, 当酶量大于200U/g, 多糖提取率反而下降, 可能是由于木瓜蛋白酶在分解蛋白类物质的同时产生的小分子物质对多糖有一定的包埋作用, 影响了多糖的浸出。

2.2.2 复合酶配比正交试验结果与分析

表3 复合酶配比正交试验设计结果
Table 3 Orthogonal array design and corresponding results for optimization of enzyme doses

试验号	因素			多糖提取率/%
	A 果胶酶用量	B 木瓜蛋白酶用量	C 纤维素酶用量	
1	1(36U/g)	1(200U/g)	1(40U/g)	3.532
2	1	2(240U/g)	2(48U/g)	2.660
3	1	3(280U/g)	3(56U/g)	2.095
4	2(42U/g)	1	2	2.358
5	2	2	3	2.816
6	2	3	1	4.044
7	3(48U/g)	1	3	3.868
8	3	2	1	1.704
9	3	3	2	1.109
K ₁	8.287	9.758	9.290	
K ₂	9.218	7.180	6.127	
K ₃	6.681	7.248	8.779	
k ₁	2.762	3.253	3.093	
k ₂	3.073	2.393	2.042	
k ₃	2.227	2.416	2.926	
R	0.846	0.860	1.051	

从正交试验结果(表3)得出, 三因素影响多糖提取率的大小分别为C > B > A, 即纤维素酶 > 木瓜蛋白酶 > 果胶酶, 最佳配比组合为: A₂B₁C₁, 即果胶酶42U/g, 木瓜蛋白酶200U/g, 纤维素酶40U/g, 经验证实验得南瓜多糖提取率为4.217%。

2.3 超声波协同复合酶法提取条件的确定

2.3.1 单因素试验结果与分析

由图4可以看出, 当温度大于50℃时, 随着提取温度的升高, 多糖提取率逐渐增大, 说明适当地提高温度可以提高酶的活性, 促进酶对植物细胞壁的分解, 有利于多糖向提取溶剂中释放, 从而提高多糖提取率; 当温度大于50℃时, 随着温度的升高南瓜多糖提取率逐渐降低, 这可能是由于超过一定温度时, 温度的升高会导致酶活性的降低或酶部分失活所导致的, 温度为50℃时, 南瓜多糖的提取率最大; 由图5可以看出, 当液料比小于6:1时, 随液料比的

升高, 南瓜多糖提取率快速增加, 说明适当的提高液料比可以促进提取过程中提取液的流动翻滚从而促进多糖物质向提取液中释放, 提高南瓜多糖提取率, 当液料比大于 6:1 时, 液料比的升高反而会使南瓜多糖提取率降低, 而且提取液体积的过量增加会导致后续浓缩工序的负担过重, 选择液料比为 6:1 为较适宜液料比; 由图 6 可以看出, 当 pH 小于 4.5 时, 南瓜多糖提取率随着 pH 值的升高而增大, 说明适当地提高提取液的 pH 值可以提高酶的活性, 促进酶对植物细胞壁的分解, 有利于多糖向提取溶剂中释放, 提高多糖提取率, 当 pH 大于 4.5 时, 南瓜多糖提取率随着 pH 值的升高而降低, 这可能是由于超过了酶的最适宜 pH 值而导致酶活性的降低所造成的; 由图 7 可以看出, 随功率的升高, 提取率呈现先升高后下降的趋势, 当超声功率小于 400 W 时, 南瓜多糖提取率随超声功率的升高而增大, 说明适当的升高超声功率可以增强超声波所产生的空穴力, 并且可能会一定程度的增强酶的活力, 从而促进提取过程中对南瓜细胞壁的破坏作用, 使南瓜多糖提取率升高; 但当超声功率大于 400 W 时, 超声功率的升高反而会使南瓜多糖提取率一定程度的降低。

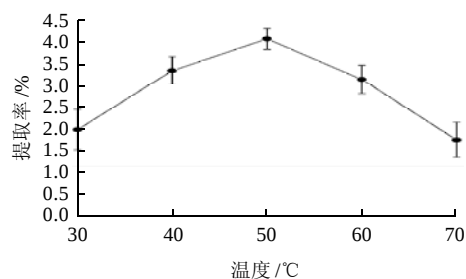


图 4 温度对南瓜多糖提取率的影响

Fig.4 Effect of hydrolysis temperature on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

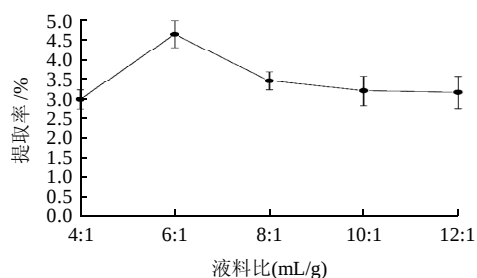


图 5 液料比对南瓜多糖提取率的影响

Fig.5 Effect of material-to-liquid ratio on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

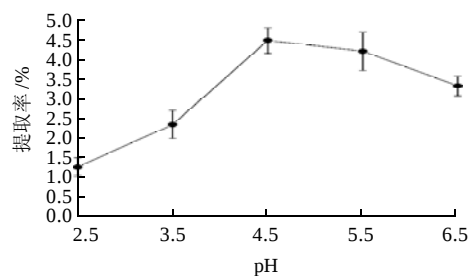


图 6 pH 值对南瓜多糖提取率的影响

Fig.6 Effect of hydrolysis pH on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

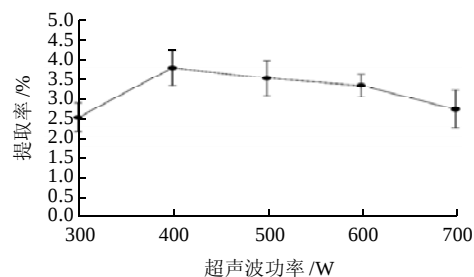


图 7 超声波功率对南瓜多糖提取率的影响

Fig.7 Effect of ultrasonic power on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

2.3.2 响应面结果及分析

表 4 超声波协同复合酶法提取南瓜多糖工艺优化

中心组合试验设计及结果

Table 4 CCD and corresponding results for response surface analysis

试验号	A	B	C	D	南瓜多糖提取率 / %
1	0	0	0	0	4.277
2	-1	1	1	1	3.850
3	0	0	2	0	4.220
4	-1	1	-1	1	3.855
5	0	-2	0	0	3.812
6	-1	1	-1	-1	4.123
7	-1	1	1	-1	4.252
8	0	0	-2	0	3.864
9	0	0	0	2	3.515
10	0	0	0	0	4.462
11	1	1	1	-1	3.968
12	0	0	0	0	4.422
13	0	0	0	-2	3.771
14	1	-1	-1	1	3.618
15	-2	0	0	0	3.766
16	1	-1	1	1	3.988
17	0	0	0	0	4.422
18	1	1	-1	-1	3.972
19	1	1	-1	1	3.782
20	-1	-1	-1	1	3.648
21	-1	-1	1	1	3.550
22	0	2	0	0	4.159
23	2	0	0	0	3.952
24	1	-1	1	-1	4.041
25	-1	-1	-1	-1	3.792
26	-1	-1	1	-1	3.782
27	1	-1	-1	-1	3.844
28	0	0	0	0	4.468
29	0	0	0	0	4.412
30	1	1	1	1	4.276

采用 Design-Expert 7.1 软件对响应值与各因素进行回归拟合后, 得到回归方程:

$$Y = 4.4105 + 0.042041667A + 0.104541667B + 0.074375C - 0.071625D - 0.0500625AB + 0.0650625AC + 0.0553125AD + 0.0096875BC + 0.0064375BD + 0.0280625CD - 0.135552083A^2 - 0.103927083B^2 - 0.089802083C^2$$

表5 回归分析结果

Table 5 Analysis of variance for the fitted quadric regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
A	0.042420042	1	0.04242	4.838668	0.0439	*
B	0.262295042	1	0.262295	29.91885	< 0.0001	***
C	0.132759375	1	0.132759	15.14328	0.0014	**
D	0.123123375	1	0.123123	14.04414	0.0019	**
AB	0.040100063	1	0.0401	4.574039	0.0493	*
AC	0.067730063	1	0.06773	7.725672	0.0140	*
AD	0.048951563	1	0.048952	5.58369	0.0321	*
BC	0.001501563	1	0.001502	0.171277	0.6848	
BD	0.000663063	1	0.000663	0.075633	0.7871	
CD	0.012600063	1	0.0126	1.437234	0.2492	
A ²	0.503982646	1	0.503983	57.48709	< 0.0001	***
B ²	0.296251574	1	0.296252	33.79212	< 0.0001	***
C ²	0.22119536	1	0.221195	25.23079	0.0002	***
D ²	0.98550836	1	0.985508	112.4126	< 0.0001	***
模型	2.212170117	14	0.158012	18.02375	< 0.0001	
失拟项	0.13150325	15	0.008767			
残差	0.10745575	10	0.010746	2.23424	0.1940	
纯误差	0.0240475	5	0.00481			
总误差	2.343673367	29				

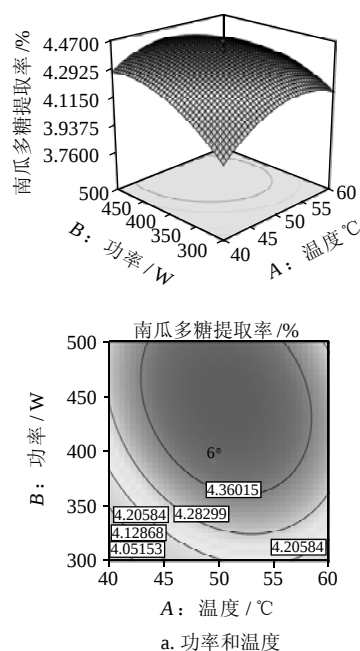
注: *. $P < 0.05$, 差异显著; **. $P < 0.01$, 差异高度显著; ***. $P < 0.001$, 差异极显著。

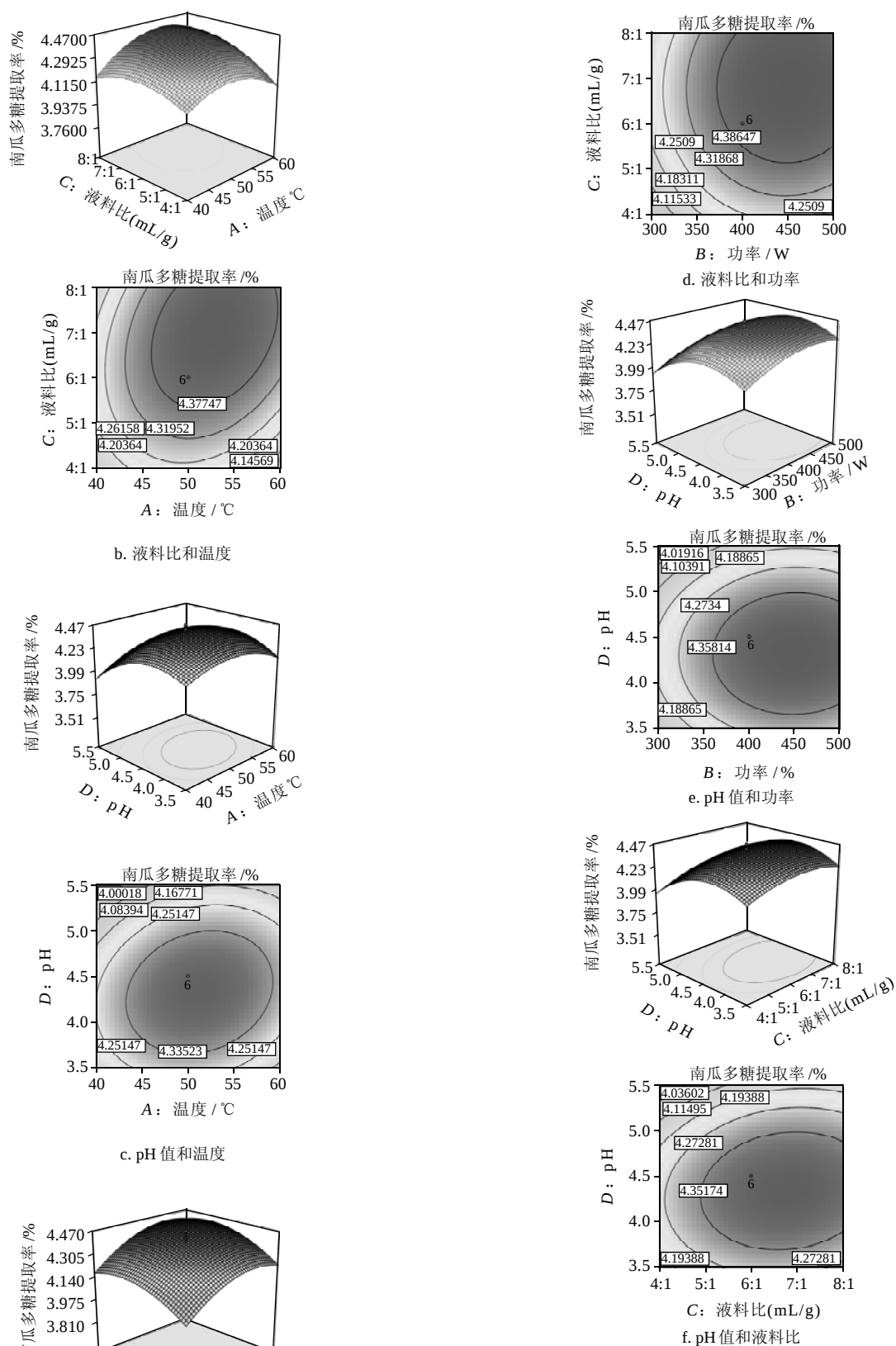
表5为回归分析结果。该模型 $R^2 = 0.9439$, 表明该模型与实际拟合较好, 自变量(温度、功率、pH值和液料比)与响应值(南瓜多糖提取率)之间线性关系显著。回归方程各项的方差分析结果还表明, 温度的二次项、功率的二次项、液料比的二次项、pH值的二次项和功率的一次项均达到极显著水平($P < 0.001$); 另外, 液料比的一次项和pH值的一次项均达到高度显著水平显著($P < 0.01$); 此外, 温度的一次项、温度和功率的交互项、温度和液料比的交互项、温度和pH值的交互项也达到显著水平($P < 0.05$)。

通过响应面三维图可直观地反映各因素的交互作用对响应值的影响^[18-20], 从而确定最佳工艺范围, 根据拟合模型绘制多糖提取率三维响应面图见图8。比较响应面三维图可知, 在所选范围内存在极值, 即响应面最高点。

由图8a可知, 响应曲面的坡度相对较为陡峭, 表明响应值(南瓜多糖提取率)对温度和功率改变较为敏感。

当温度在 $43 \sim 58^\circ\text{C}$ 之间, 功率在 $370 \sim 500\text{W}$ 时对南瓜多糖提取率最有利, 从等高线可直观看出两因素的交互作用较强, 影响显著。由图8b可以看出: 随着温度的升高, 南瓜多糖提取率呈现先上升后下降的趋势; 随着液料比的升高, 南瓜多糖提取率也呈先上升后缓慢下降的趋势。在温度的变化范围处于 $45.5 \sim 60^\circ\text{C}$ 、液料比 $5:1 \sim 8:1$ 时, 南瓜多糖提取率较高, 从等高线可直观看出两因素的交互作用较强, 影响显著。由图8c可以看出, 响应曲面的坡度相对较为陡峭, 表明响应值(南瓜多糖提取率)对温度和功率改变较为敏感, 在温度的变化范围处于 $43 \sim 60^\circ\text{C}$ 、pH $3.5 \sim 5$ 时, 南瓜多糖提取率产达到最大值, 从等高线可直观看出两因素的交互作用较强, 影响显著。由图8d可以看出, 响应曲面的坡度较为陡峭, 表明响应值(南瓜多糖提取率)对液料比和功率改变较为敏感, 在功率的变化范围处于 $370 \sim 500\text{W}$, 液料比 $5:1 \sim 8:1$ 时, 南瓜多糖提取率产达到最大值, 从等高线可直观看出两因素的交互作用较弱, 影响不显著。由图8e可以看出, 随着功率的升高和pH值的增大, 南瓜多糖提取率均呈现先上升后下降的趋势。功率处于 $370 \sim 500\text{W}$ 、pH $3.5 \sim 5.0$ 时, 南瓜多糖提取率最高, 从等高线可直观看出两因素的交互作用较弱, 影响不显著。由图8f可知, 随着液料比和pH值的增大, 南瓜多糖提取率先升高后降低, 当液料比在 $5:1 \sim 8:1$ 之间, pH $3.5 \sim 5$ 时, 响应值能够达到最大, 从等高线可直观看出两因素的交互作用较弱, 影响不显著。





固定水平: 温度 50℃; 功率 400W; pH 4.5; 液料比 6:1(mL/g)。

图 8 各两因素交互作用对南瓜多糖提取率影响的曲面和等高线图
Fig.8 Response surface and contour plots showing the effects of four variables on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

2.4 超声波协同复合酶法提取南瓜多糖提取时间的优化

在南瓜多糖提取工艺的优化过程中未对提取时间进行优化,而只是选取了一个相对较适宜的提取时间(20min),但是,由于酶能够促进多糖向溶液中浸出^[21],同时超声波作用又能够促进酶法提取过程的进行,因而有必要对超声波协同复合酶法提取南瓜多糖的物质传递过程进行研究,从而选择较适宜的提取时间以避免提取时间的延长所造成的能源损失。

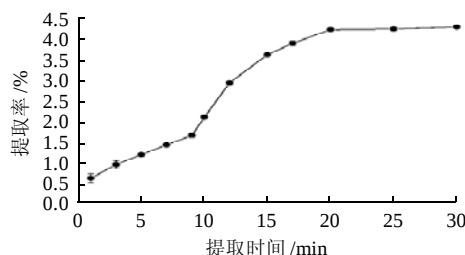


图9 提取时间对南瓜多糖提取率的影响

Fig.9 Effect of extraction time on the extraction yield of pumpkin polysaccharides

由图9可以看出,超声波协同复合酶法提取南瓜多糖的过程可以分为三段:(I)从1min到9min,在这段时间内,多糖的提取率随着提取时间的延长而较缓慢的升高,在溶剂的作用下,一部分结合微弱的多糖释放出来,在此过程中释放的多糖为提取多糖总量的45.48%;(II)从9min到20min,在这个阶段中,南瓜多糖提取速率明显加快,但呈现指数型衰减曲线,呈现此规律的原因可能是复合酶在这段时间内充分作用使细胞壁完全破坏^[22-23],从而使多糖充分浸出,多糖提取率的不断升高导致多糖提取速率不断下降;(III)提取时间超过20min之后,南瓜多糖提取率呈现平缓趋势不再升高,为了获得较高的南瓜多糖提取率并且避免不必要的能源损失,选择20min为较适宜的提取时间。

2.5 最优工艺参数的确定及验证实验

分别对模型的A、B、C、D求一阶偏导,利用Design-Expert 7.0对得到的3个方程求解,得到南瓜多糖提取的最优组合为温度51.5479℃、功率448.327W、液料比6.95242:1、pH4.3766,得到的南瓜多糖提取率为4.46121%。修正后的最佳工艺条件为温度51.5℃、功率440W、液料比7:1(mL/g)、pH4.4,进行验证实验,3次重复,得到南瓜多糖提取率平均为4.39%,验证实验值与模型预测值基本一致,表明预测值和真实值之间有很好的拟合性,进一步验证了模型的可靠性。

3 结 论

3.1 本实验确定在酶解的同时辅助超声波提取为最佳协同方式;利用正交试验优化了复合酶较适宜用量为果胶

酶42U/g、木瓜蛋白酶200U/g、纤维素酶40U/g。

3.2 利用响应面设计优化了超声波辅助复合酶法提取南瓜多糖提取率的最佳工艺条件,建立了南瓜多糖提取的数学模型,较适宜工艺条件为温度51.5℃、超声波功率440W、液料比7:1、pH4.4,此模型的较适宜提取时间为20min。验证实验南瓜多糖提取率平均值为4.39%,与模型预测值基本一致,模型的可靠性得以验证。

参考文献:

- [1] 贡汉坤. 南瓜多糖的提取工艺及其分离纯化[J]. 食品与机械, 2008, 24(6): 68-70.
- [2] 范文秀, 李新峥. 南瓜营养成分分析及功能特性的研究[J]. 广东微量元素科学, 2005, 12(2): 38-41.
- [3] 张拥军, 姚惠源. 南瓜多糖的分离纯化及其降血糖作用[J]. 中国粮油学报, 2002, 17(4): 59-61.
- [4] 张凡华, 石宝霞. 低分子量南瓜多糖的提取纯化及结构的初步研究[J]. 食品工业科技, 2009, 29(3): 93-95.
- [5] 凌庆枝, 李晓, 魏兆军, 等. 桑叶多糖超高压提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2008(2): 50-52.
- [6] 卢颖, 永勤, 任智捷. 南瓜功能成分研究的进展及在医药领域中的应用[J]. 食品与药品, 2005, 7(7): 29-32.
- [7] 张芳, 蒋作明, 张恩明. 南瓜的功能特性及其在食品工业中的应用[J]. 食品工业科技, 2000, 21(6): 62-64.
- [8] 张拥军, 徐晓晖. 活性南瓜多糖的提取与分析[J]. 食品工业科技, 2002, 23(11): 19-21.
- [9] 王洪伟, 崔崇士. 南瓜多糖复合酶法提取及纯化的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 247-249.
- [10] 肖麟, 万会师. 酶在植物有效成分提取中的应用[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(8): 1551-1552.
- [11] ZHANG Ying, WANG Zhenyu, CHEN Xiaoqiang. Ultrasound associated extraction of seed oil of Korean pine[J]. Journal of Forestry Research, 2005, 16(2): 140-142.
- [12] 赵玉红, 王静, 金秀明. 超声波辅助酶法提取榛子壳色素工艺条件的研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(4): 110-114.
- [13] 王明艳, 张小杰. 响应面法优化香椿叶多糖的提取条件[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 106-110.
- [14] 李宏高, 魏利军. 南瓜中多糖测定方法的探讨[J]. 陕西科技大学学报, 2010, 28(12): 59-61.
- [15] HAYAT K, HUSSAIN S, ABBAS S, et al. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity *in vitro*[J]. Separation and Purification Technology, 2009, 70(1): 63-70.
- [16] 李志军. 关于多糖脱蛋白质方法的比较[J]. 工作研究, 2009(2): 24-25.
- [17] 李小平, 陈锦屏. 红枣多糖沉淀特性及抗氧化作用[J]. 食品科学, 2005, 26(10): 214-216.
- [18] 王明艳, 鲁加峰. 响应面法优化天冬多糖的提取条件[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 91-95.
- [19] 王鸿, 邓泽元. 响应面法优化山萮菜根多糖的提取工艺[J]. 食品科学, 2010, 31(2): 46-50.
- [20] 孟宪军, 李冬男. 响应曲面法优化五味子多糖的提取工艺[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 111-115.
- [21] DUCASSE M A, CANAL-LLAUBERES R M, de LUMLEY M, et al. Effect of macerating enzyme treatment on the polyphenol and polysaccharide composition of red wines[J]. Food Chemistry, 2010, 118(2): 369-376.
- [22] PINELO M, ZORNOZA B, MEYER A S. Selective release of phenols from apple skin: mass transfer kinetics during solvent and enzyme-assisted extraction[J]. Separation and Purification Technology, 2008, 63(3): 620-627.
- [23] YANG Yuchun, LI Ji, ZU Yuangang, et al. Optimisation of microwave-assisted enzymatic extraction of corilagin and geraniin from *Geranium sibiricum* Linne and evaluation of antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2010, 122(1): 373-380.