

莲子低聚糖超声波—微波辅助提取工艺优化

Optimization of ultrasonic microwave-assisted extraction of oligosaccharide from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds using response surface methodology

郭泽钡^{1,2} 陈竟豪^{1,2} 贾祥泽^{1,2} 卢旭^{1,2} 郑宝东^{1,2}

GUO Ze-bin^{1,2} CHEN Jing-hao^{1,2} JIA Xiang-ze^{1,2} LU Xu^{1,2} ZHENG Bao-dong^{1,2}

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福建 福州 350002;

2. 福建省特种淀粉品质科学与加工技术重点实验室, 福建 福州 350002)

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Quality Science and Processing Technology in Special Starch, Fuzhou, Fujian 350002, China)

摘要:采用响应面分析法对超声波—微波辅助提取莲子低聚糖(LOS)工艺参数进行优化。研究超声时间、超声温度、微波功率、微波时间和液料比5个因素对莲子低聚糖得率的影响。结果表明,莲子低聚糖超声波—微波辅助提取的最佳工艺参数为:超声波时间10 min,超声温度45℃,微波功率100 W,微波时间100 min,液料比30:1 (mL/g),该条件下莲子低聚糖得率为(10.525±0.017)%。

关键词: 莲子;低聚糖;超声波;微波

Abstract: Ultrasonic microwave-assisted extraction of oligosaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds (LOS) was investigated. The five parameters, ultrasonic time, ultrasonic temperature, microwave power, microwave time and solid to liquid ratio were optimized using the Box-behnken design with a quadratic regression model built by using Response Surface Methodology (RSM). The highest oligosaccharide yield, (10.525±0.017)%, was obtained under optimal conditions for ultrasonic time, ultrasonic temperature, microwave power, liquid to solid ratio and microwave time at 10 min, 45℃, 100 W, 100 min and 30:1 (mL/g), respectively.

Keywords: lotus seed; oligosaccharides; ultrasonic; microwave

莲(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)广泛分布于中国福建、江苏、湖北、江西等南方各省。有研究^[1]表明,小鼠口服莲子发酵乳后,其结肠运动加快且肠道粪便停留时间减少,表明发

酵乳中含有多种与棉子糖类似的糖类物质。这是由于莲子中富含生物活性低聚糖-莲子低聚糖(Lotus seed oligosaccharides, LOS),其主要成分为二、三、四糖,各单体结构中糖苷键连接方式为Manp-1→Galp-1→α(1→6)-Glc和α(1→6)-Manp。此外,莲子低聚糖还可以促进青春双歧杆菌中乙酸、丙酸、丁酸以及消化酶的产生。功能性低聚糖很早就作为肠道功能调节剂食用^[2],因而莲子低聚糖对于促进肠道健康具有重要意义^[3]。

在食品领域结合现代高新技术进行生物活性物质提取一直为研究热点,其中微波加热提取技术(Microwave-assisted extraction, MAE)已大量应用于药物活性产物萃取研究,在常压条件下,微波技术耗能更低并具有较佳的萃取效果。与微波技术相比超声提取(Ultrasonic-assisted extraction, UAE)更有效率,能提高传质质量和多孔溶剂渗透能力。因此,它可以释放细胞内不溶性物质,减少提取时间,并在较低温度下增加产量^[4]。此外,超声辅助萃取不受溶剂、基质或水分含量的限制,应用性更为广泛^[5]。超声波—微波协同提取(Ultrasonic microwave-assisted extraction, UMAE)技术弥补了前2种技术存在的不足,目前,UMAE已被应用于植物中提取多种活性化合物,如番茄红素^[6]、植物油^[7]和多糖^[8]等,但未见其应用于莲子低聚糖提取的研究报道。

本试验拟应用超声波—微波协同技术从莲子中提取低聚糖,通过响应面试验优化提取工艺参数,并与其他提取方法进行比较,以期保留高得率的同时降低成本,为莲子的综合开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

新鲜的干莲:福建绿田食品有限公司;

基金项目:福建省教育厅资助省属高校专项(JK类)(编号:JK2015012);福建农林大学高水平大学建设项目(编号:612014042)

作者简介:郭泽钡,男,福建农林大学副教授,博士。

通信作者:郑宝东(1967—),男,福建农林大学教授,博士。

E-mail:zbdfst@163.com

收稿日期:2017-11-30

氯仿、异戊醇、硫酸、95%浓度乙醇、苯酚：分析纯，国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

电动匀浆机：DY89-1 型，宁波新芝生物科技股份有限公司；

低速台式离心机：TDL-5 型，上海安亭科学仪器厂；

循环超声波处理机：CTXNW-2B 型，北京弘祥隆生物技术股份有限公司；

紫外可见分光光度计：UV-2550 型，日本岛津技术有限公司；

微波萃取仪：MAS-II 型，上海新仪微波化学科技有限公司；

旋转蒸发器：BUCHI 409 型，美国 Buchi 公司；

冷冻干燥机：MCFD5505 型，美国 SIM 公司；

鼓风干燥箱：DHG-9030 型，北京 Tayasaf 公司；

植物粉碎机：FW-80 型，天津 Taisite 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 莲子低聚糖浸提试验 将速冻鲜莲解冻 1 h 后，在 50 ℃ 干燥箱中干燥，控制含水量 7% 左右。将干燥的莲子用高速粉碎机粉碎，筛分通过 60 目(孔径 0.3 mm)备用。将干莲子粉和去离子水以 1:5 (g/mL)混合。按照 Guo 等^[9]的方法去除莲子中的淀粉，以排除超声降解淀粉对低聚糖产量的影响。处理后样品分别进行超声波和微波处理(超声波处理功率为 300 W)，随后将滤液进行快速真空浓缩，并将 5 倍滤液体积 95%乙醇加入滤液中，在 4 ℃下离心 20 min 后，取上清液冷冻干燥 48 h，收集备用^[10]。

1.3.2 莲子低聚糖组分分析 将 1.3.2 中获取的粉末与纯水混合后使用容量瓶定容至 100 mL；取 1 mL 样品使用微孔膜过滤(0.22 μm)，自动进样至高效液相色谱(Agilent 1200)定量分析。色谱参数为：20 μL 样品量，Agilent Hi-plex Na (Octo) 高效液相色谱柱(300 mm×7.7 mm，填料粒径 8 μm)，流动相为屈臣氏蒸馏水，柱温 85 ℃，流速 0.6 mL/min。

1.3.3 响应面试验设计 综合前期单因素预试验的结果，选取超声波时间、超声温度、微波功率、微波时间和液料比 5 个因素为自变量，因变量为莲子低聚糖得率，根据中心组合设计原理选用 N=46 的 Box-behnken 为试验次数，其中因素水平编码见表 1。

1.3.4 低聚糖得率测定 采用苯酚硫酸法^[11]。以葡萄糖溶液浓度 C (μg/mL)为横坐标，葡萄糖吸光度 A 为纵坐标，葡

萄糖标准曲线： $A = 0.007\ 2C - 0.003\ 3$ ， $R^2 = 0.998\ 4$ 。低聚糖得率按式(1)计算：

$$Z = \frac{C \times N}{m} \times 100\ % , \tag{1}$$

式中：

Z——莲子低聚糖得率，%；

C——换算的葡萄糖溶液浓度，μg/mL；

N——测量时稀释倍数；

m——莲子干重质量，g。

1.3.5 浸取前后莲子粉末形态观察 分别取不同提取方法提取后的莲子粉末样品适量，使样品牢固地附着于样品台上，置于真空镀膜仪，在样品表面镀导电层铂，厚度 10 nm，采用扫描电镜观察，电子枪加速电压为 5 keV。

1.3.6 统计分析 所有试验均设置平行样品并重复 3 次，结果用平均值表示；采用 SAS (version 9.1, SAS Institute., Cary, NC, USA)进行试验设计和数据分析。

2 结果与分析

2.1 模型构建及参数分析

提取莲子低聚糖的 Box-behnken 试验设计方法及结果见表 2。利用 SAS 软件对试验测试结果进行多元回归拟合，可得各个单因素对莲子低聚糖得率的二元多项式回归模型方程为：

$$\begin{aligned} Y = & 3.28 - 0.771X_1 - 0.952X_2 + 0.079X_3 + 0.733X_4 - \\ & 0.101X_5 + 0.895X_1X_2 + 0.258X_1X_3 - 0.28X_1X_4 + \\ & 0.298X_1X_5 + 0.193X_2X_3 - 0.07X_2X_4 - 0.215X_2X_5 + \\ & 0.033X_3X_4 - 0.095X_3X_5 - 0.218X_4X_5 + 3.82X_1^2 + 0.311X_2^2 + \\ & 0.22X_3^2 - 0.098X_4^2 + 0.112X_5^2. \end{aligned} \tag{2}$$

对上述模型系数进行显著性检验并进行方差分析。由模型方差分析结果(表 3)可知， $F = 27.947\ 225\ 79$ ($P < 0.000\ 1$)，表明本试验所选用的二次多项式模型具有高度的显著性；失拟项 $P = 0.155\ 5 > 0.05$ ，不显著；同时，模型的 $R = 0.838\ 663$ 、 $R^2 = 0.957\ 188$ 、 $R_{adj}^2 = 0.922\ 938$ ，皆接近于 1，表明测试结果与所得模型拟合性较好^[12]，上述模型能预测微波—超声波提取时的实际提取得率。模型的 $R^2 > 0.98$ ，表明模型的预测值与测试值呈现出高度的相关性，而且模型的 R_{adj}^2 略小于 R^2 (两者间的差异 ≤ 0.04)，表明它们处于合理的波动范围^[13]。

由表 4 可知，超声的时间 (X_1)、温度 (X_2) 与微波时间 (X_4)对莲子中低聚糖得率的影响皆极显著 ($P < 0.01$)，可能与处理的先后顺序有关，超声波对莲子植物细胞的影响强于微波效应；微波功率 (X_3)与液料比 (X_5)对其得率的影响皆不显著 ($P > 0.05$)，表明微波功率作用可能对最终得率的影响不大。

超声波时间与温度间的交互作用 (X_1X_2)对低聚糖得率影响显著 ($P < 0.05$)，其他各因素的两两交互作用对低聚糖得率影响均不显著 ($P > 0.05$)；超声波处理时间的曲面效应 (X_1^2)对莲子低聚糖的得率影响极显著 ($P < 0.000\ 1$)，超声波温度、微波的功率与时间、液料比的曲面响应 (X_2^2 ， X_3^2 ， X_4^2 ，

表 1 Box-behnken 试验因素及编码水平表

Table 1 The levels of variables employed in the present study for the construction of the Box-behnken Design

编码水平	X ₁ 超声时间/min	X ₂ 超声温度/℃	X ₃ 微波功率/W	X ₄ 微波时间/min	X ₅ 液料比(mL/g)
—1	10	45	100	60	30
0	20	55	200	80	55
1	30	65	300	100	80

表 2 Box-behnken 试验设计及低聚糖得率实测值
Table 2 Box-behnken Design and actual values of LOS yield

试验组别	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	低聚糖得率/%	试验组别	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	低聚糖得率/%
1	-1	-1	0	0	0	8.25	24	0	1	1	0	0	3.04
2	-1	1	0	0	0	4.45	25	0	0	-1	0	-1	3.55
3	-1	0	-1	0	0	7.92	26	0	0	1	0	-1	3.24
4	-1	0	1	0	0	7.69	27	0	0	-1	0	1	3.32
5	-1	0	0	-1	0	6.16	28	0	0	1	0	1	2.65
6	-1	0	0	1	0	8.70	29	0	-1	0	-1	0	3.24
7	-1	0	0	0	-1	8.02	30	0	1	0	-1	0	1.85
8	-1	0	0	0	1	7.06	31	0	-1	0	1	0	4.98
9	0	0	-1	-1	0	2.21	32	0	1	0	1	0	3.35
10	0	0	1	-1	0	2.70	33	0	0	0	0	0	3.36
11	0	0	-1	1	0	3.02	34	0	0	0	0	0	2.82
12	0	0	1	1	0	3.63	35	0	0	0	0	0	2.73
13	0	-1	0	0	-1	4.10	36	0	0	0	0	0	2.85
14	0	1	0	0	-1	2.79	37	0	0	0	0	0	3.48
15	0	-1	0	0	1	4.69	38	0	0	0	0	0	2.65
16	0	1	0	0	1	2.60	39	1	-1	0	0	0	6.61
17	0	0	0	-1	-1	2.35	40	1	1	0	0	0	6.07
18	0	0	0	1	-1	3.55	41	1	0	-1	0	0	5.67
19	0	0	0	-1	1	2.63	42	1	0	1	0	0	6.38
20	0	0	0	1	1	3.05	43	1	0	0	-1	0	4.79
21	0	-1	-1	0	0	4.31	44	1	0	0	1	0	6.31
22	0	1	-1	0	0	2.41	45	1	0	0	0	-1	5.54
23	0	-1	1	0	0	4.24	46	1	0	0	0	1	5.66

表 3 回归模型的方差分析
Table 3 Analysis of variance (ANOVA) testing the fitness of the regression equation

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	185.176 8	20	9.258 8	27.947 2	<0.000 1
残差	8.282 4	25	0.331 3		
失拟项	7.533 4	20	0.376 7	2.514 2	0.155 5
误差	0.749 1	5	0.149 8		
总和	193.459 3	45			

X₅)对其得率影响极不显著(P>0.000 1)。对照表 4 的 F 值得,各因素对莲子低聚糖得率影响主次为:超声波温度(X₂)>超声波时间(X₁)>微波时间(X₄)>液料比(X₅)>微波功率(X₃)。

2.2 响应面分析

由图 1(a)与图 2(a)可得,当超声温度固定时,低聚糖得率随超声时间的延长表现为先减小再增大的趋势;当超声时间水平固定时,低聚糖得率随超声波温度的增加呈减小的趋势。由此可得,在超声波温度为 45~50 ℃,超声波时间为 10~12 min 时低聚糖得率有极大值。

由图 1(b)与图 2(b)可得,当超声时间固定时,低聚糖得率随微波功率的增大无明显变化;当微波功率水平固定时,

低聚糖得率随超声波时间的延长表现为先增加后降低的趋势。由此可得,当微波功率为 100~150 W,超声波时间为 10~11 min 时低聚糖得率有极大值。这可能与微波能量对植物材料的离子传导和偶极旋转效应有关。

由图 1(c)与图 2(c)可得,当超声时间固定时,低聚糖得率随超声时间的延长表现为逐渐增加的趋势;当微波时间水平固定时,低聚糖得率随超声波时间的延长表现为先增加后下降再增加的趋势。由此可得,当超声波时间为 10~11 min,微波时间为 95~100 min 时低聚糖得率有极大值。提取时间是影响产量的重要因素,初始阶段溶剂在提取初期吸收微波能量,提高溶剂温度。这种变化加速了低聚糖在植物细胞中的溶解,促进了其进入溶剂。随着提取时间的延长,较高的温度将加速分子运动,改变提取溶剂和植物的电导率^[14]。另一方面溶剂温度提高了超声波的空化效应,促进了空化细胞核的形成,导致植物细胞表面受损,从而促进溶剂渗入植物细胞^[15]。这 2 种效应加速了低聚糖在萃取溶剂中的扩散,提高得率。

由图 1(d)与图 2(d)可得,当超声时间固定时,低聚糖得率随液料比增大并无明显变化;当液料比水平固定时,低聚糖得率随超声波时间的延长表现为先增加后降低再上升的趋势。由此可得,当超声波时间为 10~11 min,液料比为 30.00~40.00 (mL/g)时低聚糖得率有极大值。

表 4 回归方程系数的显著性检验
Table 4 Testing of the significance of the regression coefficients

模型项	回归系数	自由度	标准误差	95%置信限		F 值	P 值
				低	高		
常数项	3.278 3	1	0.235 0	2.794 4	3.762 3	27.947 2	<0.000 1
X ₁	-0.771 3	1	0.143 9	-1.067 6	-0.474 9	28.727 1	<0.000 1
X ₂	-0.951 9	1	0.143 9	-1.248 2	-0.655 5	43.758 4	<0.000 1
X ₃	0.079 4	1	0.143 9	-0.217 0	0.375 7	0.304 3	0.586 1
X ₄	0.732 5	1	0.143 9	0.436 1	1.028 9	25.913 0	<0.000 1
X ₅	-0.101 3	1	0.143 9	-0.397 6	0.195 1	0.495 1	0.488 2
X ₁ X ₂	0.895 0	1	0.287 8	0.302 3	1.487 7	9.671 4	0.004 6
X ₁ X ₃	0.257 5	1	0.287 8	-0.335 2	0.850 2	0.800 6	0.379 5
X ₁ X ₄	-0.280 0	1	0.287 8	-0.872 7	0.312 7	0.946 6	0.339 9
X ₁ X ₅	0.297 5	1	0.287 8	-0.295 2	0.890 2	1.068 6	0.311 2
X ₂ X ₃	0.192 5	1	0.287 8	-0.400 2	0.785 2	0.447 4	0.509 7
X ₂ X ₄	-0.070 0	1	0.287 8	-0.662 7	0.522 7	0.059 2	0.809 8
X ₂ X ₅	-0.215 0	1	0.287 8	-0.807 7	0.377 7	0.558 1	0.462 0
X ₃ X ₄	0.032 5	1	0.287 8	-0.560 2	0.625 2	0.012 8	0.911 0
X ₃ X ₅	-0.095 0	1	0.287 8	-0.687 7	0.497 7	0.109 0	0.744 1
X ₄ X ₅	-0.217 5	1	0.287 8	-0.810 2	0.375 2	0.571 2	0.456 9
X ₁ ²	3.824 0	1	0.194 8	3.422 7	4.225 2	385.200 6	<0.000 1
X ₂ ²	0.311 5	1	0.194 8	-0.089 8	0.712 7	2.555 4	0.122 5
X ₃ ²	0.219 8	1	0.194 8	-0.181 5	0.621 1	1.272 6	0.270 0
X ₄ ²	-0.097 7	1	0.194 8	-0.499 0	0.303 6	0.251 5	0.620 4
X ₅ ²	0.112 3	1	0.194 8	-0.289 0	0.513 6	0.332 2	0.569 5

由图 1(e)与图 2(e)可得,当超声温度固定时,低聚糖得率会随着微波功率增大表现为先增加后减小的趋势;当微波功率水平固定时,低聚糖得率随超声波温度的增大表现为逐渐减小的趋势。由此可得,当超声波温度为 45~47 ℃,微波功率为 100~300 W 时低聚糖得率有极大值。

由图 1(f)与图 2(f)可得,当超声温度固定时,低聚糖得率随微波时间的延长表现为逐渐增加的趋势;当微波时间水平固定时,低聚糖得率随超声波温度的增大表现为逐渐减小的趋势。由此可得,当超声波温度为 45~50 ℃,微波时间为 76~100 min 时低聚糖得率有极大值。

由图 1(g)与图 2(g)可得,当超声温度固定时,低聚糖得率随液料比增大表现为轻微增加随后减小的趋势;当液料比水平固定时,低聚糖得率随超声波温度的增大表现为逐渐减小的趋势。由此可得,当超声波温度为 45~47 ℃,液料比为 30.00~80.00 (mL/g)时低聚糖得率有极大值。

由图 1(h)与图 2(h)可得,当微波功率固定时,低聚糖得率随微波时间的延长表现为轻微增加的趋势;当微波时间水平固定时,低聚糖得率随微波功率的增大并无明显变化。由此可得,当微波功率为 100~300 W,微波时间为 92~100 min 时低聚糖得率有极大值。

由图 1(i)与图 2(i)可得,当微波功率固定时,低聚糖得率随液料比的增大表现为先减小后增加的趋势;当液料比水

平固定时,低聚糖得率随微波功率的增大表现为轻微的先减小后增加的趋势。由此可得,当微波功率为 250~300 W,液料比为 30.00~35.00 (mL/g)时低聚糖得率有极大值。

由图 1(j)与图 2(j)可得,当微波时间固定时,低聚糖得率随液料比的增大表现为逐渐减小的趋势;当液料比水平固定时,低聚糖得率随微波时间的延长表现为逐渐增加的趋势。由此可得,当微波时间为 92~100 min,液料比为 75~80 (mL/g) 时低聚糖得率有极大值。

2.3 参数优化及模型验证

采用响应曲面拟合并在单因素最优范围内以莲子低聚糖得率最大为优化目的,对试验数据进行分析,得到超声波微波联合提取的最佳条件为:超声波时间 10.16 min、超声温度 45 ℃、微波功率 100.1 W、微波时间 100 min、液料比 30.00:1 (mL/g),此条件下预测低聚糖得率为 10.749 3%。为充分考虑实际试验仪器操作的可行性和所得模型对应预测结果的准确性,将实际操作参数修正为:超声波时间 10 min、超声温度 45 ℃、微波功率 100 W、微波时间 100 min、液料比 30.00:1 (mL/g),以此条件进行实际参数的验证实验,经 3 次平行实验后可得莲子低聚糖得率为 (10.525±0.017)%,预测值与实际值偏差不大,由此表明响应面回归方程能较好地模拟试验过程和预测莲子低聚糖得率,并真实地反映超声微波联合提取对低聚糖得率的影响。

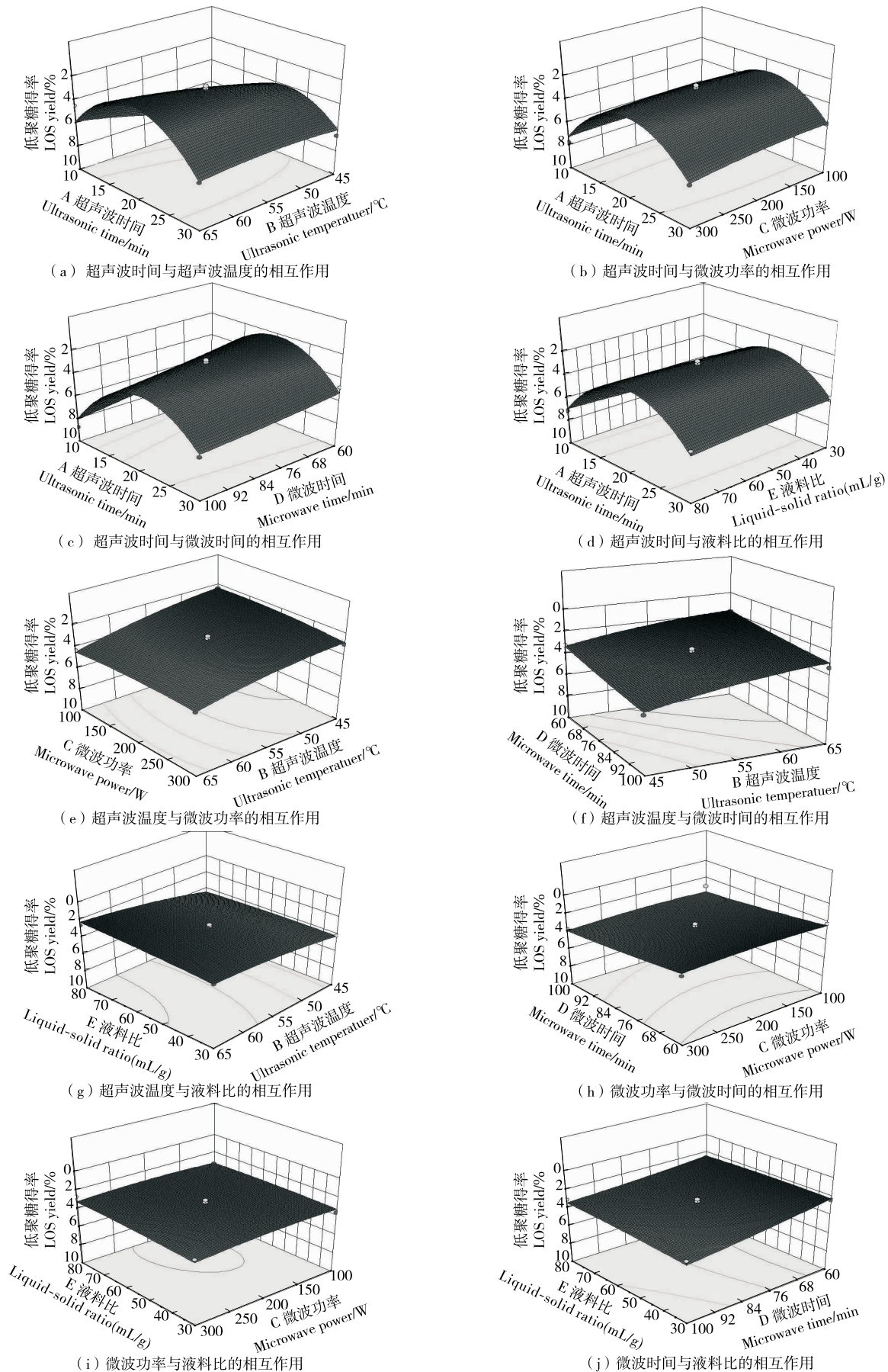


图 1 交互作用对低聚糖得率影响的响应面图

Figure 1 Response surface diagram of the effect of interactions on LSO yield

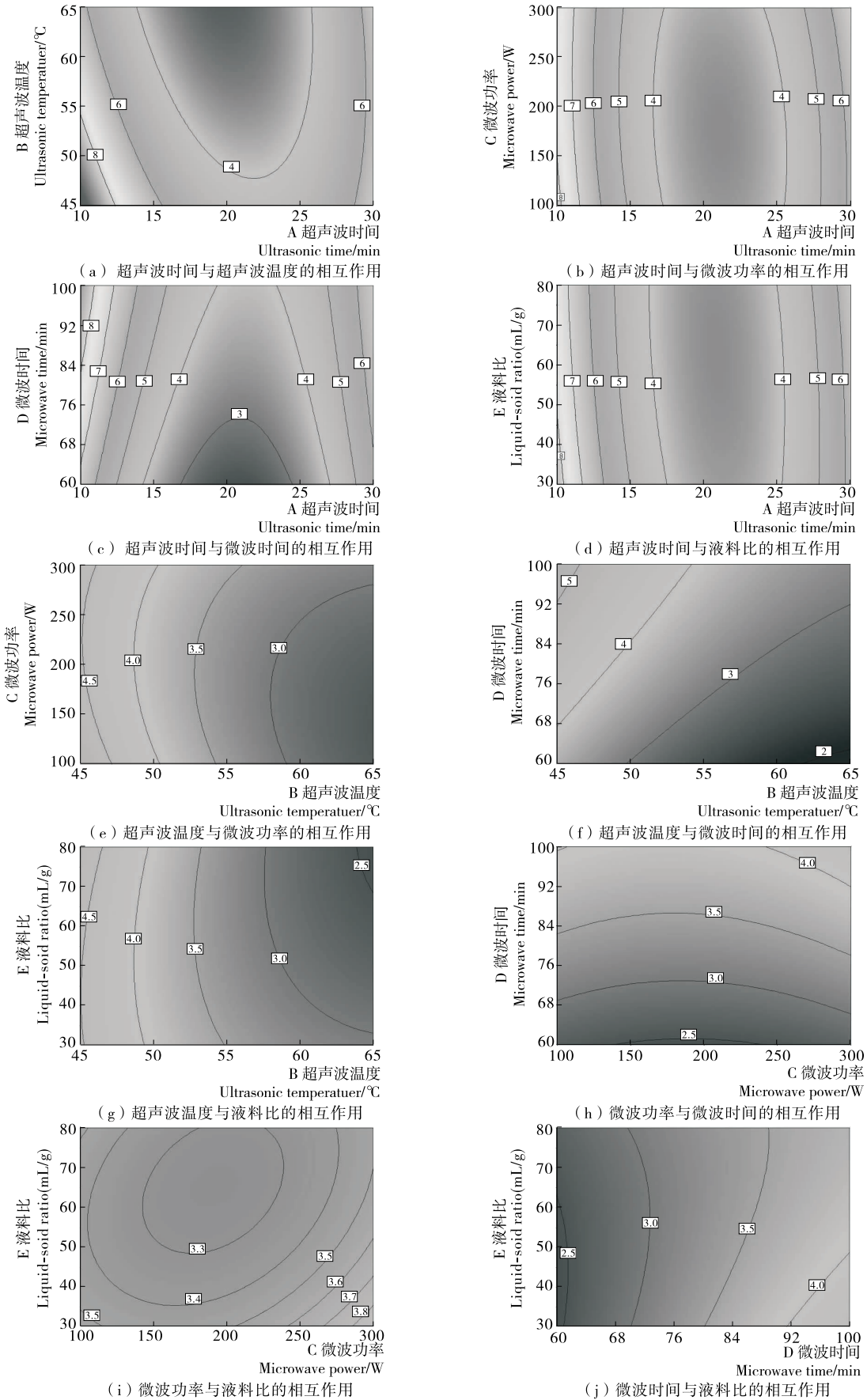
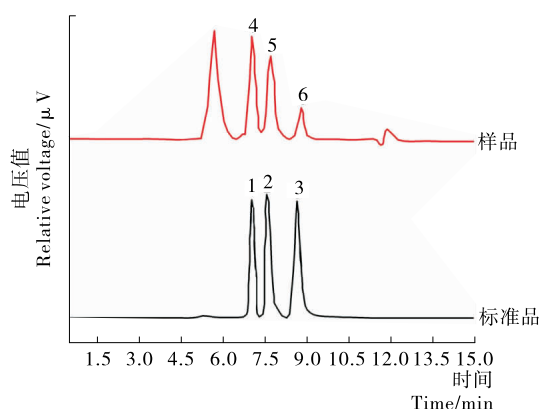


图 2 交互作用对低聚糖得率影响的等高线图

Figure 2 Contour plots of the effect of interactions on LSO yield

2.4 莲子低聚糖组分分析

由图3对照可知,经过超声波-微波协同提取的莲子低聚糖由3个组分 LSO1、LSO2 和 LSO3 组成,各组分分离度良好,其保留时间分别为 7.019, 7.672, 8.885 min,而水苏糖、棉籽糖、蔗糖保留时间分别为 7.054, 7.636, 8.654 min。LSO1、LSO2 和 LSO3 与水苏糖、棉籽糖、蔗糖保留时间几乎相同,由此可知,LSO1 到 LSO3 分子质量依次减小,各组分聚合度为 2~4。



1. 水苏糖 2. 棉籽糖 3. 蔗糖 4. LSO1 5. LSO2 6. LSO3

图3 标准品与莲子低聚糖高效液相色谱图

Figure 3 High performance liquid chromatography of standard and lotus seed oligosaccharides

2.5 低聚糖提取方法对比试验

本试验利用超声波—微波提取低聚糖得到低聚糖实际得率为 $(10.525 \pm 0.017)\%$,与热水浸提低聚糖得率 8.09% ^[16]以及超声波辅助提取低聚糖实际得率为 $(1.13 \pm 0.026)\%$ ^[11]相比,超声波—微波联合提取低聚糖能显著提高莲子低聚糖的得率。宋春丽等^[17]的研究同样认为超声波—微波辅助提取低聚糖具有很好的效果,这是由于在处理样品时,超声波首先对莲子内细胞质产生机械振动作用,破坏了细胞壁的稳定结构。而微波处理更容易使微波能量穿透细胞壁从而为莲子细胞内极性溶液吸收并由内部首先产生热效应,导致胞内压力增大,细胞壁破裂,使低聚糖溶出,2种处理的协同作用极大地提升了莲子低聚糖的提取效率^[18-19]。综上所述,超声波—微波辅助提取法不仅可提高低聚糖得率和提取效率、实现低温提取并达到能耗减少的环保效果,其对所提取的生物活性物质的结构和功能影响较小,产物具有较高的生物活性^[20]。

2.6 电镜分析

在图4(a)中可以观测到一些粒径在 $10 \sim 20 \mu\text{m}$ 的椭球状颗粒物质,为细胞破坏后残余的莲子淀粉颗粒。体系中同时存在着大量无规则的膜状物质,很可能是莲子细胞在处理过程中破碎,细胞液流失后残存下的细胞壁、膜、器膜等物质。说明不同提取方法都对莲子细胞产生了破坏作用。

由图4可以看出,超声波—微波辅助提取法对莲子细胞的破坏程度最大,细胞壁等膜状结构破损程度更高,产生了较多细小的碎片。出现该现象可能是在超声波—微波联合

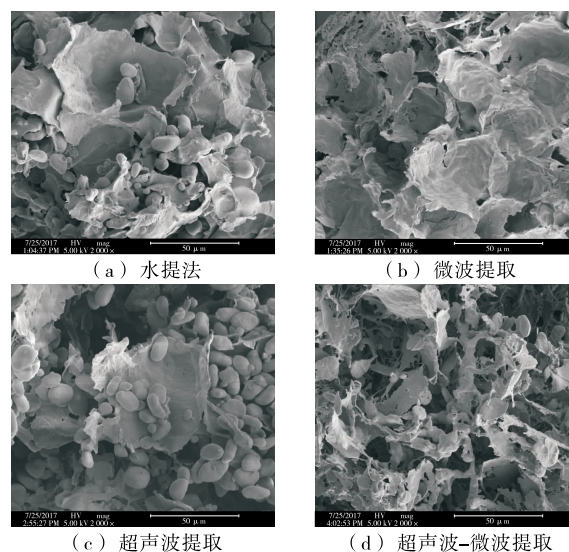


图4 不同方法提取后莲子粉末的环境扫描电镜图

Figure 4 The micrographs of samples (after different extractions) by environmental scanning electron microscopy

提取法提取时,细胞内液由于微波作用产生热效应引起细胞膨胀,导致细胞涨破后其中的内容物被释放出来。此外超声波对莲子细胞液产生了较强的机械振动作用,破坏了细胞壁的稳定结构,加速了膜结构的分解^[21]。另一方面,水分子可以有效吸收微波能量,有效地加热样品^[22]。因此通过微波超声波使莲子细胞获得了剧烈的膨胀和细胞壁的破裂,允许化合物释放到溶剂中。这些结果与以往研究结果一致^[23],SEM分析提供了微波超声波作用下高低聚糖提取效率的有力证据。

3 结论

本研究采用响应面分析并结合中心组合试验设计法优化了莲子低聚糖超声波—微波联合提取工艺参数,构建超声时间与温度、微波时间与温度和液料比对低聚糖得率的二次多项式回归模型。确定最优的提取工艺参数为:超声波时间10 min、超声温度 45°C 、微波功率100 W、微波时间100 min、液料比 $30:1 (\text{mL/g})$,在该条件下低聚糖得率为 10.525% 。超声波—微波协同提取的莲子低聚糖由 LSO1、LSO2 和 LSO3 组成,LSO1 到 LSO3 分子质量依次减小,各组分聚合度为 2~4。超声波—微波联合提取相比单独热水和超声波提取能显著提高莲子低聚糖的得率,这与两者作用加速细胞膜结构的分解和水分子可以有效吸收微波能量有关。该技术可用于莲子低聚糖的高效提取,可作为功能食品等增值产品的新型原料。后期将从益菌和结构角度对提取的莲子低聚糖进行深入分析。

参考文献

- [1] 吴小南, 陈洁, 汪家梨, 等. 发酵莲子乳对小鼠胃肠道运动, 吸收功能的调节作用[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(21): 2 535-2 539.
- [2] JOVANOVIĆ-MALINOVSKA R, KUZMANOVA S, WINK-

- ELHAUSEN E. Application of ultrasound for enhanced extraction of prebiotic oligosaccharides from selected fruits and vegetables[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2015, 22: 446-453.
- [3] LU Xu, ZHANG Yi, WU Xiao-ting, et al. Effect of specific structure of lotus seed oligosaccharides on the production of short-chain fatty acids by *Bifidobacterium adolescentis*[J]. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2015, 34(4): 510-522.
- [4] AWAD T, MOHARRAM H, SHALTOUT O, et al. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review[J]. Food Research International, 2012, 48(2): 410-427.
- [5] LUQUE-GARCIA J, DE CASTRO M L. Ultrasound: a powerful tool for leaching[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2003, 22(1): 41-47.
- [6] ZHANG Bin, YANG Rui-yuan, LIU Chun-Zhao. Microwave-assisted extraction of chlorogenic acid from flower buds of *Lonicera japonica* Thunb[J]. Separation and Purification Technology, 2008, 62(2): 480-483.
- [7] CRAVOTTO G, BOFFA L, MANTEGNA S, et al. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2008, 15(5): 898-902.
- [8] CHEN Yi-yong, GU Xiao-hong, HUANG Sheng-quan, et al. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 46(4): 429-435.
- [9] GUO Ze-bin, ZENG Shao-xiao, ZHANG Yi, et al. The effects of ultra-high pressure on the structural, rheological and retrogradation properties of lotus seed starch [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 44: 285-291.
- [10] MACHADO M T, EÇA K S, VIEIRA G S, et al. Prebiotic oligosaccharides from artichoke industrial waste: evaluation of different extraction methods[J]. Industrial Crops and Products, 2015, 76: 141-148.
- [11] 田玉庭, 卢旭, 郑宝东. 响应面法优化莲子低聚糖超声波辅助提取工艺[J]. 北京工商大学学报: 自然科学版, 2012, 30(2): 17-21.
- [12] WU Yan, CUI Steve, TANG Jian, et al. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds by response surface methodology[J]. Food Chemistry, 2007, 105(4): 1 599-1 605.
- [13] MARAN J P, SIVAKUMAR V, SRIDHAR R, et al. Development of model for barrier and optical properties of tapioca starch based edible films[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(2): 1 335-1 347.
- [14] KRATCHANOVA M, PAVLOVA E, PANCHEV I. The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin[J]. Carbohydrate polymers, 2004, 56(2): 181-185.
- [15] TOMA M, VINATORU M, PANIWNKY L, et al. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2001, 8(2): 137-142.
- [16] 卢旭, 张帅, 林姗, 等. 莲子低聚糖提取工艺优化及其组分分析[J]. 热带作物学报, 2015, 36(4): 813-820.
- [17] 宋春丽, 王文侠, 曾凤彩, 等. 超声波和微波辅助提取大豆低聚糖的工艺比较[J]. 食品与机械, 2011, 27(2): 47-50.
- [18] QUAN Can, SUN Yong-yue, QU Jia. Ultrasonic extraction of ferulic acid from *Angelica sinensis*[J]. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 2009, 87(4): 562-567.
- [19] SANTOS H, CAPELO J. Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment[J]. Talanta, 2007, 73(5): 795-802.
- [20] KNORR D, ADE-OMOWAYE B, HEINZ V. Nutritional improvement of plant foods by non-thermal processing[J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2002, 61(2): 311-318.
- [21] YANG Li, CAO Ya-lan, JIANG Guo-jiang, et al. Response surface optimization of ultrasound-assisted flavonoids extraction from the flower of *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl[J]. Journal of Separation Science, 2010, 33(9): 1 349-1 355.
- [22] YAN Ming-ming, LIU Wei, FU Yu-jie, et al. Optimisation of the microwave-assisted extraction process for four main astragalosides in *Radix Astragali*[J]. Food Chemistry, 2010, 119(4): 1 663-1 670.
- [23] YING Zhi, HAN Xiao-xiang, LI Jian-rong. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves[J]. Food Chemistry, 2011, 127(3): 1 273-1 279.
- (上接第 130 页)
- [9] 付湘晋, 冉晓敏, 张慧, 等. 大孔树脂 AB-8 对樟树叶多酚的静态吸附与解析特性研究[J]. 福建农林大学学报, 2013, 42(2): 1-4.
- [10] 周海旭, 李忠海, 张慧, 等. 微波法提取樟树多酚的工艺优化[J]. 食品与机械, 2013, 29(5): 161-163.
- [11] 刘文朵, 于新, 刘淑宇, 等. 马尾松针系统溶剂提取物的抑菌活性比较研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(9): 133-138.
- [12] 蓝蔚青, 谢晶. 壳聚糖复合生物保鲜剂对冷藏带鱼保鲜效果的优化配比[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2011, 40(3): 311-317.
- [13] 潘子强, 张玉山, 贾冠聪, 等. 脆肉鲩鱼在冷藏条件下的特定腐败菌分析[J]. 食品科技, 2011, 36(9): 36-40.
- [14] 王建辉, 杨晶, 刘永乐, 等. 基于 PCR-DGGE 技术对冷藏过程中草鱼肌肉的细菌群落结构分析[J]. 中国食品学报, 2014, 14(9): 216-223.
- [15] FAN Wen-jiao, CHI Yuan-long, ZHANG Shuo. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice[J]. Food Chemistry, 2008, 108(1): 148-153.
- [16] 杨辉, 杨福馨, 欧丽娟, 等. 植物精油-EVOH 活性包装膜对草鱼鱼肉保鲜效果的研究[J]. 食品科学, 2014, 35(22): 320-324.
- [17] 周然, 刘源, 谢晶, 等. 电解水对冷藏河豚鱼肉质构及品质变化的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(10): 365-369.