

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80308

超声辅助离子液体和酶解法提取鸡枞菌多酚及其抗氧化性研究

贾庆超

(郑州科技学院食品科学与工程学院, 河南 郑州 450000)

摘要: [目的] 以黑皮鸡枞菌为原料, 研究多酚提取工艺及抗氧化活性。[方法] 采用超声辅助离子液体法(Q法)和纤维素酶解法(S法)提取鸡枞菌多酚, 以提取率为指标, 运用单因素试验和响应面优化法研究其最优提取工艺, 并进行抗氧化性研究。[结果] 离子液体C为Q法提取剂, 最优提取工艺为: 料液比1:17 (g/mL)、离子液体体积2.5 mL、超声时间13 min、乙醇体积分数66%, 多酚提取率为 (19.93 ± 0.12) mg/g; S法提取工艺为: 料液比1:26 (g/mL)、纤维素酶添加量15 mg/g、水浴酶解时间42 min、超声时间18 min, 多酚提取率为 (11.42 ± 0.16) mg/g。在不同质量浓度下(1.0~5.0 mg/mL), 鸡枞菌多酚和 V_c 对DPPH·和·OH清除率大小顺序均为: $V_c > Q$ 法提取的多酚 $> S$ 法提取的多酚, 当质量浓度为5.0 mg/mL时, Q法提取的多酚对DPPH·和·OH清除率均达到最大, 分别为87.27%, 77.21%。[结论] Q法可节约提取原料和时间, 适宜提取鸡枞菌多酚; 鸡枞菌多酚具有良好的抗氧化性。

关键词: 鸡枞菌; 多酚; 超声辅助离子液体法; 纤维素酶解法; 抗氧化性

Study on ultrasound assisted ionic liquid and cellulolytic enzyme extraction of collybia albuminosa polyphenols and its antioxidant activity

JIA Qingchao

(School of Food Science and Engineering, Zhengzhou University of Science and Technology, Zhengzhou, Henan 450000, China)

Abstract: [Objective] This study investigated the extraction technology and antioxidant activity of polyphenols using collybia albuminosa as raw material. [Methods] Two methods, ultrasonic-assisted ionic liquid extraction (Q method) and cellulolytic enzymatic extraction (S method), were employed to extract the polyphenols from collybia albuminosa. Using polyphenol extraction yield as the evaluation index, single factor test and response surface optimization method were applied to determine the optimal extraction conditions. The antioxidant activity of the extracted polyphenols was also analyzed. [Results] The optimal extraction process for the Q method involved a solid-liquid ratio 1:17 (g/mL), ionic liquid volume 2.5 mL, ultrasonic time of 13 min, and an ethanol volume fraction of 66%, achieving a polyphenol extraction rate of (19.93 ± 0.12) mg/g. For the S method, the optimal conditions included a solid-liquid ratio of 1:26 (g/mL), cellulase dosage of 15 mg/g, water bath enzymatic hydrolysis time of 42 min, and ultrasonic time 18 min, with a polyphenol extraction rate of (11.42 ± 0.16) mg/g. Therefore, the extraction rate of Q method was 1.74 times that of S method, the ratio of solid to liquid was 1.53 times that of S method, the ultrasonic time was 0.72 times that of S method. The antioxidant results showed that under different mass concentrations, the DPPH· and ·OH clearance rates of polyphenols and V_c were in the following order: $V_c >$ polyphenols extracted by Q method $>$ polyphenols extracted by S method, when the mass concentration was 5.0 mg/mL, the clearance rates of DPPH· and ·OH extracted by Q method reached the maximum, which were 87.27% and 77.21%, respectively, indicating that the polyphenols of collybia albuminosa had good antioxidant properties. [Conclusion] The Q method is a time-efficient and material-saving approach for extracting polyphenols from collybia albuminosa, offering significant application potential. The polyphenols from collybia albuminosa exhibit excellent antioxidant activity, suggesting their value in food and health applications.

Keywords: collybia albuminosa; polyphenols; ultrasound assisted ionic liquid method; cellulolytic enzyme; antioxidant activity

基金项目: 河南省教育厅重点研究项目(编号:24B550021); 郑州科技学院研究项目(编号:XJKY08); 郑州科技学院大学创新训练项目(编号:DC202356)

通信作者: 贾庆超(1981—), 男, 郑州科技学院副教授, 硕士。E-mail:someone0803@163.com

收稿日期: 2024-04-03 改回日期: 2024-10-10

鸡枞菌属于白蘑科^[1],是野生食用菌中的优品,含有丰富的蛋白质、脂肪、氨基酸等人体生长所必需的营养物质,具有降低血糖、降低血脂、抵抗癌症等生物活性^[2]。多酚是鸡枞菌中含量丰富的活性物质,具有预防肿瘤、心脑血管疾病、消炎、降低血糖以及益气生津、抗衰老等多种药理作用^[1-4]。目前,多酚的提取方法有水提法、有机溶剂抽提法、超声波辅助法、生物酶解法等^[5-9],水提法所需时长,提取率较低;有机溶剂提取法为目前采用较多的多酚提取法,此法虽然提取效果较好,但操作复杂,且所需设备投入较大,对环境易造成一定的污染;超临界萃取法提取率高,应用范围广,但设备投资和维护费用高,萃取剂的选择受限制。超声辅助法是利用超声波的机械破碎作用和空化作用,加快多酚的溶出,节约提取时间。离子液体是一种可设计性强、提取率高的提取剂,无味、无污染,无需与提取物分离,具有良好的热稳定性和化学稳定性,被越来越多地应用于天然产物的提取中^[10-11]。酶解法是利用酶的特性对植物细胞壁进行降解,使多酚从细胞壁中释放出来,从而提升提取率^[12-13]。目前鸡枞菌多酚的提取方法主要是水提法和醇提法,但二者提取率均较低,而关于超声、离子液体及酶解辅助提取却鲜有报道。研究拟采用超声辅助离子液体法(Q法)和纤维素酶解法(S法)提取鸡枞菌多酚,对两种方法的提取率、提取参数进行分析,并对其提取的多酚进行抗氧化性研究,以期为鸡枞菌多酚的提取提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

黑皮鸡枞菌:福建省莆田市仙游县,2022年9月采摘;
没食子酸:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;
福林酚:1 mol/L,飞净生物科技有限公司;
1-乙基-3-甲基咪唑溴盐(A)、溴化1-辛基-3-甲基咪唑(B)、1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐(C)、1-丁基-3-甲基咪唑氢溴酸盐(D)4种离子液体:分析纯,浙江蓝德能源科技发展有限公司;

纤维素酶:10万U/g,山东隆科特酶制剂有限公司;
无水乙醇:分析纯,天津市风船化学试剂有限公司;
无水碳酸钠:分析纯,锦耀化工有限公司;
水杨酸:分析纯,江苏奥夫生物科技有限公司;
硫酸亚铁:分析纯,廊坊亚太龙兴化工有限公司;
30%过氧化氢:佛山市华希盛化工有限公司;
2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH):分析纯,上海捷世凯凯生物科技有限公司;

抗坏血酸(V_C)、邻菲罗啉:分析纯,天津市大茂化学试剂厂;

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠:郑州市派尼化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

电子天平:FA214A型,上海豪晟科学仪器有限公司;
试样粉碎机:JC-FW-100型,青岛聚创环保集团有限公司;
电热恒温水浴箱:W21-600-S型,上海博泰仪器有限公司;

公司;

超声波清洗仪器:KQ-5200B型,昆山市超声仪器有限公司;

台式离心机:YLXJ-5C型,常州润华电器有限公司;

紫外可见分光光度计:HD-UV90型,霍尔德电子科技有限公司;

电热鼓风干燥箱:DHG-100型,上海一恒科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品预处理 挑选出无霉变、色变、腐烂的黑皮鸡枞菌,50℃烘干,于样品粉碎机内粉碎,过40目(0.63 mm)筛^[14],得鸡枞菌粉末,备用。

1.3.2 多酚提取 Q、S法提取多酚分别参照陈洪玉等^[15]和孟永海等^[16]的方法得到多酚样液,没食子酸溶液标准曲线方程为 $y=47.2821x-0.10101$, $R^2=0.9978$ 。

1.3.3 单因素试验

(1) Q法:根据预试验,在料液比1:20(g/mL)、离子液体体积1.5 mL(浓度为0.16 mol/L)、超声时间10 min、乙醇体积分数为50%的基础上进行单因素试验,首先考察各离子液体和水对多酚提取率的影响,最终选择离子液体C。其余各单因素水平为:料液比1:10,1:15,1:20,1:25,1:30(g/mL);离子液体体积0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL;超声时间5,10,15,20,25 min;乙醇体积分数为40%,50%,60%,70%,80%。

(2) S法:根据预试验,在料液比1:20(g/mL)、纤维素酶添加量15 mg/g(每克鸡枞菌粉末添加纤维素酶的量)、超声时间40 min、水浴酶解时间30 min(pH 5)的基础上进行单因素试验。各因素单因素水平为:料液比1:15,1:20,1:25,1:30,1:35(g/mL);超声时间10,20,30,40,50 min,纤维素酶添加量5,10,15,20,25 mg/g;水浴酶解时间20,30,40,50,60 min。

1.3.4 响应面试验 根据单因素试验结果,以多酚提取率为响应值,采用Design-Expert V.10.01软件、Box-Behnken设计原理,Q、S法均采用4因素3水平响应面优化试验,Q法优化的因素为料液比、离子液体体积、超声时间、乙醇体积分数;S法优化的因素为料液比、纤维素酶添加量、水浴酶解时间、超声时间。

1.3.5 抗氧化活性测定 将提取的鸡枞菌多酚溶液于50℃干燥箱内干燥至恒重^[17],研磨成粉末。分别配制质量浓度为1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mg/mL的鸡枞菌多酚及 V_C 溶液,备用。参照范三红等^[18]的方法测定其清除DPPH·和·OH能力。

1.4 数据处理

采用Origin 2010软件进行数据方差分析和绘图,每个试验点进行3次平行试验,显著性水平检验 P 为0.05。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 Q法 由图1(a)可知,A、B、C、D 4种离子液体的

多酚提取率均大于相同条件下水的,其中离子液体C的多酚提取率大于其他3种离子液体的($P < 0.05$),所以Q法提取采用离子液体C。

由图1(b)可知,多酚提取率随料液比的增加呈先上升后下降趋势,料液比为1:20(g/mL)时,提取率达到最大,为15.492 mg/g。溶剂较少时,增加溶剂会造成鸡枞菌

的细胞内外多酚浓度差变大,多酚的溶解平衡向细胞外移动,多酚更容易从细胞中溶出,提取率不断增大;而较多的溶剂会使鸡枞菌内其他溶质或杂质溶解出来,反而对鸡枞菌多酚的提取起到了抑制作用^[19]。因此,料液比选择1:15,1:20,1:25(g/mL)3个水平进行响应面试验。

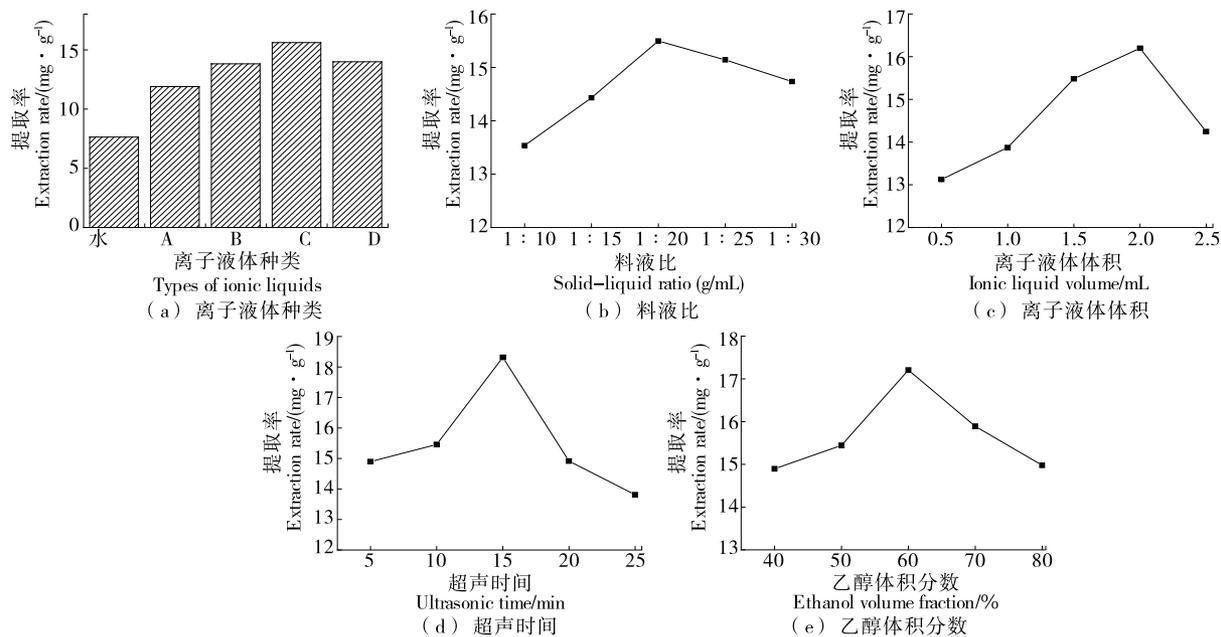


图1 Q法单因素试验结果

Figure 1 Q method single factor test results

由图1(c)可知,多酚提取率随着离子液体体积的增加呈先上升后下降趋势,体积为2.0 mL时,提取率达到最大,为16.193 mg/g。当离子液体体积低于2.0 mL时,提取溶剂的黏度较小,溶液的扩散能力强,能够轻松渗透到鸡枞菌细胞内,使得离子液体对鸡枞菌中多酚溶解出的能力增强^[20];当离子液体体积高于2.0 mL时,提取液黏度增大,导致溶液渗透到鸡枞菌细胞内的能力减弱,削弱了离子液体对鸡枞菌多酚的溶解能力,抑制了多酚的提取。因此,离子液体体积选择1.5,2.0,2.5 mL 3个水平进行响应面试验。

由图1(d)可知,多酚提取率随超声处理时间的增加呈先上升后下降趋势。在超声时间为15 min时,提取率达到最大,为18.31 mg/g。当超声时间低于15 min时,超声波对鸡枞菌多酚类物质的溶出起到了机械的辅助作用,提高了鸡枞菌多酚类物质的溶出量;当超声时间高于15 min时,由于多酚是一种由两个以上的羟基直接连接到一个芳环上而形成的具有一般结构特点的化合物,极易因氧化而失活,同时又由于超声波的空化作用产生的羟自由基会加速多酚的氧化^[21-22],导致多酚提取率降低。因此,超声时间选择10,15,20 min 3个水平进行响应面试验。

由图1(e)可知,多酚提取率随着乙醇体积分数的增加呈先上升后下降趋势,乙醇体积分数为60%时达到最大,为17.22 mg/g。由于乙醇的极性小于水的极性,在体积分数为40%时乙醇水溶剂极性较大,但多酚不易溶于强极性溶剂,导致鸡枞菌多酚提取率较低^[23],随着乙醇体积分数的逐渐增大,乙醇水溶液的极性逐渐减小,多酚提取率逐渐增大;当乙醇体积分数超过60%时,鸡枞菌中脂溶性物质和醇溶性物质溶出量增加,使多酚与乙醇—水分子结合量减少,导致多酚提取率降低^[24]。因此,乙醇体积分数选择50%,60%,70% 3个水平进行响应面试验。

2.1.2 S法 由图2(a)可知,多酚提取率随提取溶剂的增加呈先上升后下降趋势,当料液比达到1:25(g/mL)时,多酚提取率达到最大值,为9.57 mg/g。溶剂较少时,鸡枞菌中的酚类物质没有完全溶解,提取率随着溶剂增加而增大;而较多的溶剂会导致酚类物质与纤维素酶所处的空间扩大,使两者接触概率降低,还会使纤维素酶被稀释,导致酶的作用减弱,鸡枞菌多酚的提取率减少^[25]。因此,料液比选择1:20,1:25,1:30(g/mL)3个水平进行响应面试验。

由图2(b)可知,多酚提取率随着纤维素酶添加量的增加呈先上升再下降趋势,当纤维素酶添加量达到

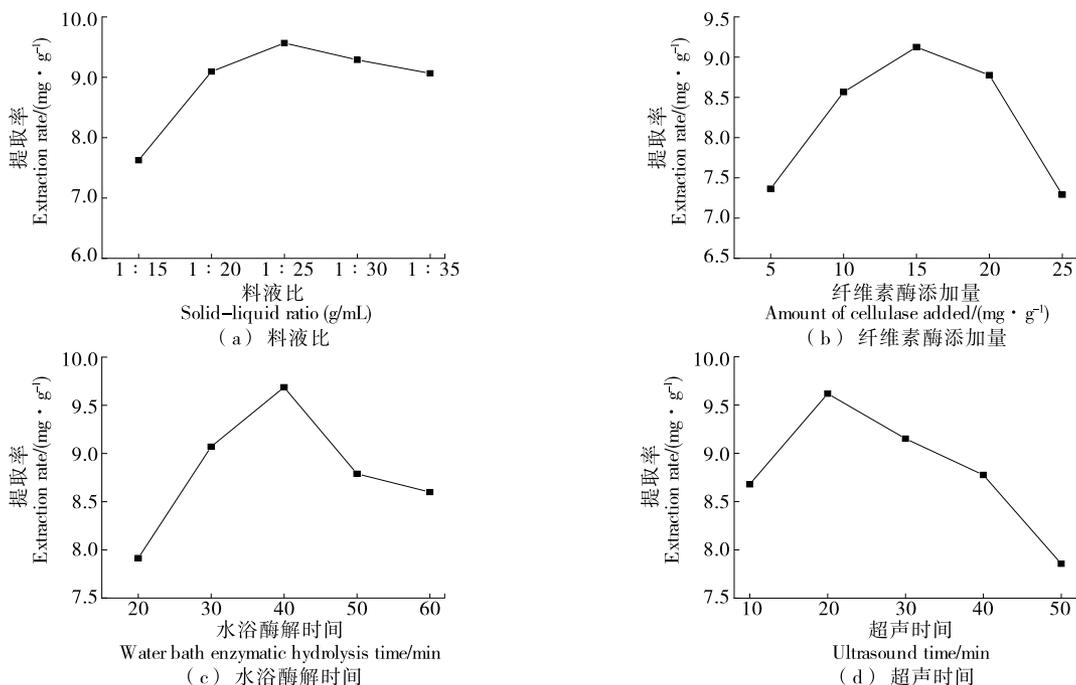


图 2 S 法单因素试验结果

Figure 2 S method single factor test results

15 mg/g 时,鸡枞菌多酚提取率达到最大值,为 9.13 mg/g。当纤维素酶添加量低于 15 mg/g 时,纤维素酶能够破坏鸡枞菌的细胞壁结构,使多酚逐渐溶出^[25],因此多酚提取率逐渐增大;当纤维素酶添加量超过 15 mg/g 时,由于纤维素酶本身是一种蛋白质,而多酚易与蛋白质形成复合物,因此过量的纤维素酶会与多酚结合,导致多酚提取率下降^[21]。因此,纤维素酶添加量选择 10, 15, 20 mg/g 3 个水平进行响应面试验。

由图 2(c)可知,多酚取率随着水浴酶解时间的增加呈先上升后下降趋势。当酶解时间为 20~40 min 时,鸡枞菌细胞壁和排列在细胞层内的纤维素的隔层被有效破坏^[18],多酚轻易地从鸡枞菌细胞内渗透出来,因此多酚的提取率随着酶解时间增加而增多;当酶解时间为 40 min 时,多酚提取率达到最大值,为 9.68 mg/g。当酶解时间高于 40 min 后,因提取时间较长,导致提取出的多酚与空气接触而被氧化,多酚提取率降低。因此,水浴酶解时间选择 30, 40, 50 min 3 个水平进行响应面试验。

由图 2(d)可知,多酚提取率随超声时间的增加呈先上升后下降趋势,当超声时间为 20 min 时,鸡枞菌多酚提取率达到最大值,为 9.59 mg/g。由于超声波可促使多酚从鸡枞菌细胞壁中溶解出来^[21],多酚提取率逐渐增大,但超声时间超过 20 min 后,超声波的空化作用促使多酚羟自由基氧化,同时超声时间过长会使提取体系温度升高^[21-22],导致多酚稳定性差,易被氧化,从而降低多酚提取率。因此,超声时间选择 10, 20, 30 min 3 个水平进行响应面试验。

2.2 响应面优化试验

Q、S 法响应面试验因素与水平分别见表 1~表 2, 试验设计及结果分别见表 3~表 4, 方差分析分别见表 5~表 6。

表 1 Q 法响应面因素与水平

Table 1 Q method response surface factors and levels

水平	A 料液比 (g/mL)	B 离子液体 体积/mL	C 超声时 间/min	D 乙醇体 积分数/%
-1	1:15	1.5	10	50
0	1:20	2.0	15	60
1	1:25	2.5	20	70

表 2 S 法响应面水因素与水平

Table 2 S method response surface factors and levels

水平	E 料液比 (g/mL)	G 纤维素酶添 加量/(mg · g ⁻¹)	H 水浴酶解 时间/min	I 超声时 间/min
-1	1:20	10	30	10
0	1:25	15	40	20
1	1:30	20	50	30

对表 3 中的数据进行拟合分析,得到回归方程:

$$R = 19.2 + 1.21A + 0.390 8B - 0.186 7C + 0.316 7D + 0.145AB - 0.262 5AC - 0.14D - 0.32BC + 1.13BD - 0.292 5CD - 1.82A^2 - 0.510 2B^2 - 0.966 4C^2 - 1.2D^2. \quad (1)$$

对表 4 中的数据进行拟合分析,回归方程:

表3 Q法响应面试验设计与结果

Table 3 Q method response surface experimental design and results

试验号	A	B	C	D	多酚提取率/(mg·g ⁻¹)
1	-1	-1	0	0	15.43
2	1	-1	0	0	17.24
3	-1	1	0	0	16.07
4	1	1	0	0	18.46
5	0	0	-1	-1	16.11
6	0	0	1	-1	17.13
7	0	0	-1	1	17.37
8	0	0	1	1	17.22
9	-1	0	0	-1	14.46
10	1	0	0	-1	17.49
11	-1	0	0	1	15.54
12	1	0	0	1	18.17
13	0	-1	-1	0	17.19
14	0	1	-1	0	19.17
15	0	-1	1	0	17.39
16	0	1	1	0	18.09
17	-1	0	-1	0	15.39
18	1	0	-1	0	18.24
19	-1	0	1	0	14.80
20	1	0	1	0	16.60
21	0	-1	0	-1	18.25
22	0	1	0	-1	16.06
23	0	-1	0	1	16.33
24	0	1	0	1	18.67
25	0	0	0	0	18.74
26	0	0	0	0	19.43
27	0	0	0	0	19.09
28	0	0	0	0	19.39
29	0	0	0	0	19.36

表4 S法响应面试验设计与结果

Table 4 S method response surface experimental design and results

试验号	E	G	H	I	多酚提取率/(mg·g ⁻¹)
1	-1	-1	0	0	9.83
2	1	-1	0	0	10.12
3	-1	1	0	0	9.82
4	1	1	0	0	9.35
5	0	0	-1	-1	9.78
6	0	0	1	-1	10.17
7	0	0	-1	1	9.55
8	0	0	1	1	9.85
9	-1	0	0	-1	10.25
10	1	0	0	-1	9.99
11	-1	0	0	1	9.68
12	1	0	0	1	9.75
13	0	-1	-1	0	9.26
14	0	1	-1	0	9.53
15	0	-1	1	0	10.72
16	0	1	1	0	9.51
17	-1	0	-1	0	9.49
18	1	0	-1	0	9.01
19	-1	0	1	0	9.95
20	1	0	1	0	9.96
21	0	-1	0	-1	10.59
22	0	1	0	-1	10.51
23	0	-1	0	1	10.49
24	0	1	0	1	9.73
25	0	0	0	0	11.28
26	0	0	0	0	11.36
27	0	0	0	0	11.15
28	0	0	0	0	11.22
29	0	0	0	0	11.19

$$R=11.24-0.086E-0.18G+0.26H-0.19I-0.19EG+0.22EH-0.084EI-0.42GH-0.17GI-0.023HI-0.91E^2-0.48G^2-0.89H^2-0.45I^2. \quad (2)$$

由表5~表6可知,Q、S法模型的 $P<0.0001$,极显著。失拟项 P 均大于0.05,模型均具有较高的可靠性^[24]。决定系数(R^2)为0.9406,0.9834,表明两种模型可信度较高,方程拟合度较好。调整决定系数(R_{adj}^2)分别为0.8812,0.9667,说明两种模型与实际情况符合良好。变异系数(CV)分别为2.88%,1.20%,均较小,方程模型重现性良好。根据 F 值,Q法4个因素对试验结果影响的先后次序为 $A>B>D>C$;S法4个因素对试验结果影响的先后顺序为 $H>I>G>E$ 。

由图3~图4可知,响应面图的曲线均呈先上升后下

降的趋势,表明响应面图中均存在一个最大值,说明Q、S法4个因素的3个水平选择合理,所得的最优工艺参数均在所选的水平范围内。

运用Design-Expert V.10.01对两种方法提取鸡枞菌多酚的最优工艺参数进行优化,结果如下:

Q法:料液比1:17.44(g/mL)、离子液体体积2.5 mL、超声时间12.95 min、乙醇体积分数66.37%,此时多酚提取率为19.91 mg/g。考虑实际操作的局限性,试验最优工艺优化为料液比1:17(g/mL)、离子液体体积2.5 mL、超声时间13 min、乙醇体积分数66%。在此条件下做3组平行验证实验,测得多酚提取率的平均值为(19.93±0.12) mg/g,与预测值相差较小,证明此工艺参数具有可行性。

S法:料液比1:25.54(g/mL)、纤维素酶添加量

表 5 Q 法响应面模型方差分析[†]

Table 5 Q method response surface model variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	55.330 0	14	3.950 0	15.830 0	<0.000 1	**
A	17.550 0	1	17.550 0	70.290 0	<0.000 1	**
B	1.830 0	1	1.830 0	7.340 0	0.016 9	*
C	0.418 1	1	0.418 1	1.680 0	0.216 5	
D	1.200 0	1	1.200 0	4.820 0	0.045 5	*
AB	0.084 1	1	0.084 1	0.336 9	0.570 8	
AC	0.275 6	1	0.275 6	1.100 0	0.311 2	
AD	0.040 0	1	0.040 0	0.160 2	0.695 0	
BC	0.409 6	1	0.409 6	1.640 0	0.221 0	
BD	5.130 0	1	5.130 0	20.550 0	0.000 5	**
CD	0.342 2	1	0.342 2	1.370 0	0.261 2	
A ²	21.430 0	1	21.430 0	85.850 0	<0.000 1	**
B ²	1.690 0	1	1.690 0	6.760 0	0.021 0	*
C ²	6.060 0	1	6.060 0	24.270 0	0.000 2	**
D ²	9.400 0	1	9.400 0	37.660 0	<0.000 1	**
残差	3.490 0	14	0.249 6			
失拟性	3.160 0	10	0.315 6	3.730 0	0.108 0	不显著
纯误差	0.338 3	4	0.084 6			
总差	58.820 0	28				

† “*”表示影响显著($P<0.05$),“**”表示影响极显著($P<0.01$); $R^2=0.940 6$; $R^2_{Adj}=0.881 2$; $CV=2.88\%$ 。

13.75 mg/g、水浴酶解时间 42.25 min, 超声时间 17.77 min, 此时多酚提取率为 11.31 mg/g。考虑实际操作的局限性, 试验参数优化为料液比 1:26 (g/mL)、纤维素酶添加量 15 mg/g、水浴酶解时间 42 min、超声时间 18 min。在此条件下做 3 组平行验证实验, 测得多酚提取率的平均值为 (11.42 ± 0.16) mg/g, 与预测值相差较小, 证明此工艺参数具有可行性。

由以上结果可知, Q 法提取率是 S 法的 1.74 倍, 料液比是 S 法的 1.53 倍, 超声时间是 S 法的 0.72 倍, 说明 Q 法所用提取溶液较少, 所需时间更低, 节约提取物料和时间成本。卢彩会等^[7]采用水直提法和乙醇直提法提取鸡枞菌多酚, 得到水直提法的多酚提取率为 6.25 mg/g, 乙醇直提法的多酚提取率为 5.50 mg/g, 由此可得试验采用的两种方法均明显优于水提和醇提法, 且更节约原材料和试验时间。

2.3 鸡枞菌多酚抗氧化活性

由图 5 可知, 随着多酚质量浓度的增大, V_c 、Q 法提取的多酚和 S 法提取的多酚对 DPPH· 和 ·OH 清除率均逐渐升高, 与浓度呈正相关, 在每个质量浓度下, 清除率大小顺序均为: $V_c > Q$ 法提取的多酚 $> S$ 法提取的多酚。在质

表 6 S 法响应面模型方差分析[†]

Table 6 S method response surface model variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	12.220	14	0.870	59.12	<0.000 1	**
E	0.089	1	0.089	6.05	0.098 2	*
G	0.390	1	0.390	26.34	<0.000 1	**
H	0.820	1	0.820	55.67	<0.000 1	**
I	0.420	1	0.420	28.20	0.000 1	**
EG	0.140	1	0.140	9.78	0.007 4	**
EH	0.200	1	0.200	13.42	0.002 6	**
EI	0.028	1	0.028	1.90	0.189 6	
GH	0.710	1	0.710	47.81	<0.000 1	**
GI	0.120	1	0.120	7.83	0.014 2	*
HI	2.025E-003	1	2.025E-003	0.14	0.716 6	
E ²	5.430	1	5.430	367.94	<0.000 1	**
G ²	1.510	1	1.510	102.58	<0.000 1	**
H ²	5.170	1	5.170	350.56	<0.000 1	**
I ²	1.300	1	1.300	88.01	<0.000 1	**
残差	0.210	14	0.015			
失拟性	0.180	10	0.018	2.66	0.1021	不显著
纯误差	0.027	4	6.750E-003			
总差	12.420	28				

† “*”表示影响显著($P<0.05$),“**”表示影响极显著($P<0.01$); $R^2=0.983 4$; $R^2_{Adj}=0.966 7$; $CV=1.20\%$ 。

量浓度为 1.0 mg/mL 时, 两种方法提取的多酚对 DPPH· 清除率最小, 分别为 40.36%, 35.12%; 对 ·OH 清除率亦为最小, 分别为 32.385%, 27.23%; 质量浓度为 5.0 mg/mL 时, 两种方法提取的多酚对 DPPH· 清除率最大, 分别达到 87.27%, 80.79%, 对 ·OH 清除率亦为最大, 分别为 77.21%, 71.86%。在相同质量浓度下, 卢彩会等^[7]采用乙醇直提法提取多酚, 其 DPPH· 和 ·OH 的清除率分别为 75.04%, 74.18%, 而安晓雯等^[2]采用 50% 乙醇水溶液提取鸡枞菌多酚, DPPH· 和 ·OH 的清除率分别达到 80%, 70% 左右, 以上研究的自由基清除率均显著低于试验采用 Q 法提取的, 所以 Q 法提取的鸡枞菌多酚有较强的抗氧化性, 具有良好的应用前景。

3 结论

超声辅助离子液体法以离子液体 1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐为提取剂。在最优提取工艺下, 超声辅助离子液体法、纤维素酶解法的鸡枞菌多酚提取率分别为 (19.93 ± 0.12) , (11.42 ± 0.16) mg/g, 超声辅助离子液体法的料液比是纤维素酶解法的 1.53 倍, 超声时间是纤维素

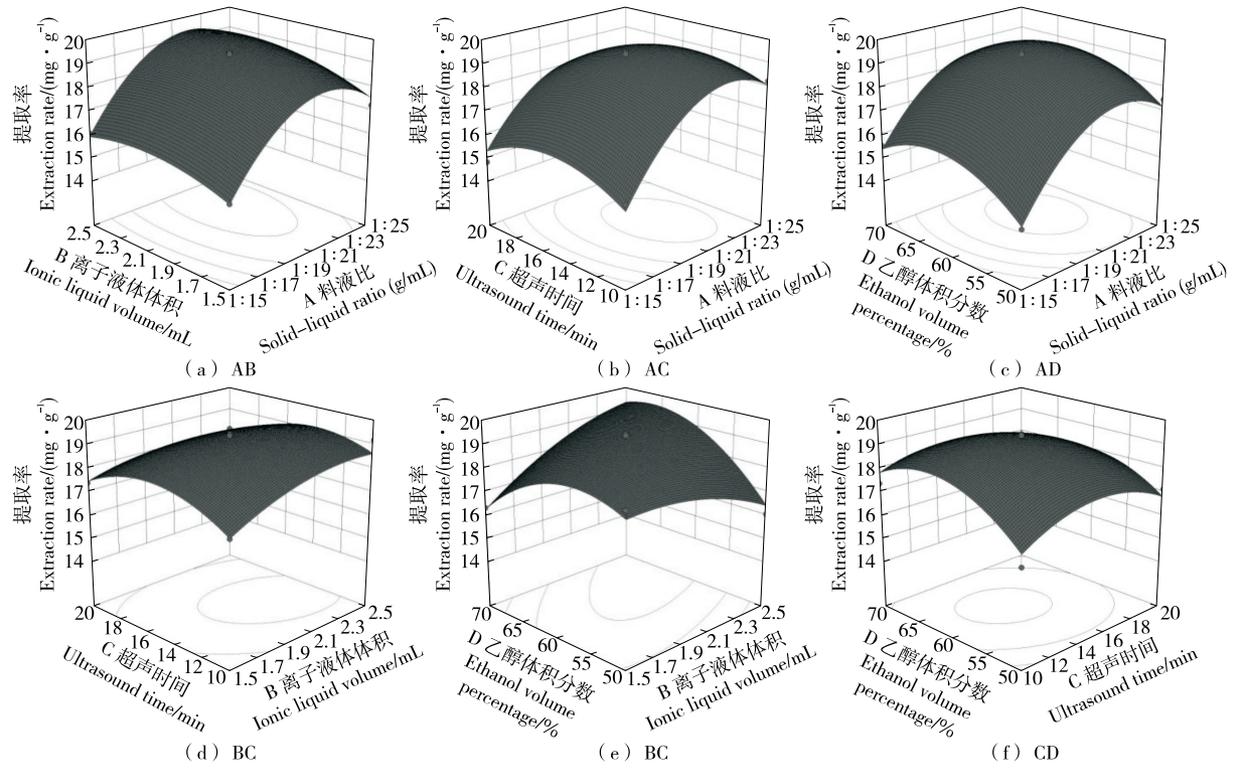


图3 Q法响应面图

Figure 3 Q method response surface graph

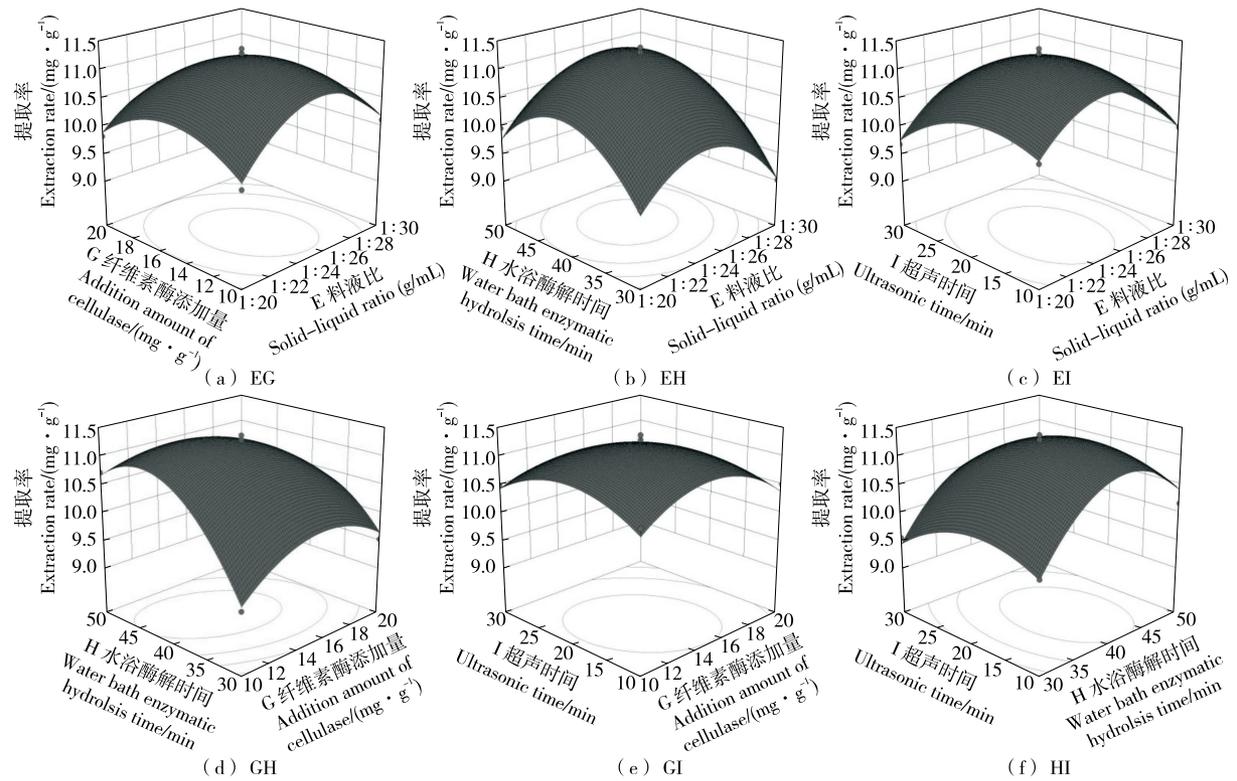


图4 S法响应面图

Figure 4 S method response surface graph

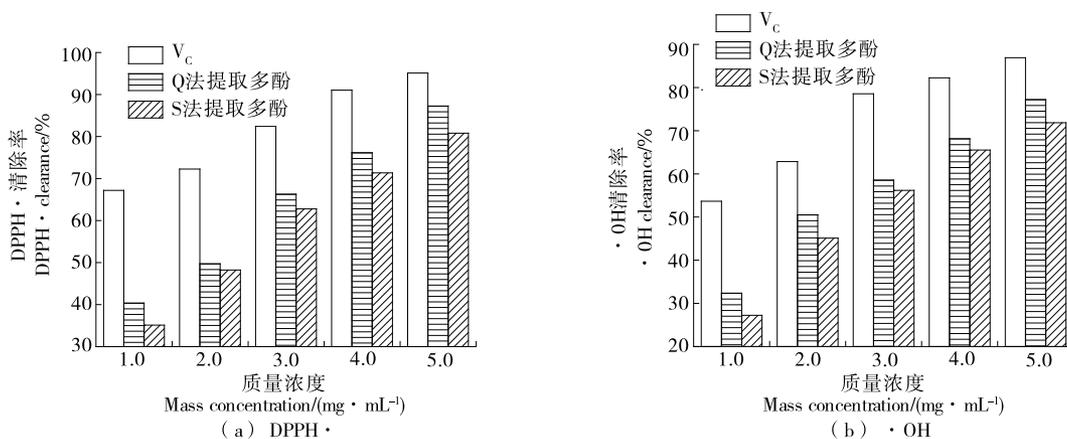


图 5 不同质量浓度多酚的 DPPH· 和 ·OH 清除能力

Figure 5 DPPH· and ·OH scavenging ability of polyphenols at different concentrations

酶解法的 0.72 倍,说明超声辅助离子液体法所用提取溶液较少,所需提取时间更低,同时与传统的水、乙醇直提法相比,鸡枞菌多酚提取率提升幅度较大,可以更好地节约提取物料和时间成本,具有较大应用前景。抗氧化性结果表明,在不同质量浓度下,超声辅助离子液体法提取的多酚对 DPPH· 和 ·OH 清除率均大于纤维素酶解法的,当质量浓度为 5.0 mg/mL 时,二者对 DPPH· 和 ·OH 清除率达到最大,分别为 87.27%,77.21%,表明鸡枞菌多酚具有良好的抗氧化性。

离子液体对天然有机物和无机物都有良好的溶解性能,可使反应在均相条件下进行,同时可减少设备体积,无味、无污染,具有良好的热稳定性和化学稳定性,易与其他物质分离,可以循环利用,在天然产物提取方面,具有良好的应用前景,是目前提取天然物质的研究热点。但离子液体种类较多,不同离子液体对天然产物具有不同的提取效果,所以后续可研究不同的离子液体对鸡枞菌多酚的提取。

参考文献

[1] EVANS N F, SANDA A K, MARTIN S, et al. Free radical scavenging capacities and alleviating actions of polysaccharides extract of *Termitomyces le-testui* on methylprednisolone-induced immunodepression in rats[J]. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2021, 2 021: 5893210.

[2] 安晓雯, 王彦立, 杨子怡, 等. 黑皮鸡枞菌营养与质构特性分析及其抗氧化活性评价[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(5): 236-242, 249.

AN X W, WANG Y L, YANG Z Y, et al. Analysis of nutritional and textural properties and antioxidant activity evaluation of *Termitomyces albuminosus*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(5): 236-242, 249.

[3] PAYEL M, NARAYAN C M, KRISHNENDU A P. Polyphenolic extract of *Termitomyces heimii*: antioxidant activity and

phytochemical constituents[J]. *Journal Für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2016, 11(1): 25-31.

[4] 王子成, 王娅飞, 夏榕嵘, 等. 模拟冷链温度条件下不同采收方式对黑皮鸡枞菌品质的影响[J]. *食品科学*, 2022, 43(17): 282-289.

WANG Z C, WANG Y F, XIA R R, et al. Effects of different harvesting methods on the quality of *Oudemansiella raphanipes* under simulated cold-chain temperature condition[J]. *Food Science*, 2022, 43(17): 282-289.

[5] 栗铭鸿, 李官浩, 朴守焕, 等. 鸡枞菌不同溶剂提取物成分分析及抗氧化作用研究[J]. *食品与机械*, 2018, 34(1): 144-148.

LI M H, LI G H, PIAO S H, et al. Research of composition and antioxidant activity of different solvent extracts from *Termitomyces albuminosus*[J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(1): 144-148.

[6] SZOPA D, WRÓBEL P, WITEK-KROWIAK A. Enhancing polyphenol extraction efficiency: a systematic review on the optimization strategies with natural deep eutectic solvents[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2024, 404: 124902.

[7] 卢彩会, 郭晓萌, 牟德华. 黑皮鸡枞菌水提物和醇提物的主要成分及抗氧化性研究[J]. *食品工程*, 2016(3): 35-40, 57.

LU C H, GUO X M, MOU D H. Research of composition and antioxidant activity between water and alcohol extracts of black *Termitomyces albuminosus*[J]. *Food Engineering*, 2016(3): 35-40, 57.

[8] RAVINDRAN R, DESMOND C, JAISWAL S, et al. Optimisation of organosolv pretreatment for the extraction of polyphenols from spent coffee waste and subsequent recovery of fermentable sugars[J]. *Bioresource Technology Reports*, 2018, 3: 7-14.

[9] 李哲斌. 响应面耦合遗传算法优化超声辅助酶法提取红枣多酚工艺[J]. *包装与食品机械*, 2023, 41(6): 33-39.

LI Z B. Optimization of ultrasonic assisted extraction of polyphenols from jujube by response surface methodology

- coupled with genetic algorithm[J]. *Packaging and Food Machinery*, 2023, 41(6): 33-39.
- [10] LI Y, LI X, WANG X, et al. Study on extraction and purification of *Acanthopanax senticosus* polyphenols by an ionic liquid-assisted aqueous two-phase system[J]. *Molecules*, 2023, 28(17): 6 383.
- [11] FANG S J, HU F X, LI Y, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis assisted ultrasonic extraction of polyphenols from *Chaenomeles sinensis* (thouin) koehne[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 791(1): 012175.
- [12] TOLEDO HIJO A A C, ALVES C, FARIAS F O, et al. Ionic liquids and deep eutectic solvents as sustainable alternatives for efficient extraction of phenolic compounds from mate leaves[J]. *Food Research International*, 2022, 157: 111194.
- [13] LUO Y J, HUANG X X, YAO S, et al. Synthesis of a new imidazole amino acid ionic liquid polymer and selective adsorption performance for tea polyphenols[J]. *Polymers*, 2020, 12(10): 2 171.
- [14] 贾庆超. 超声辅助离子液体和酶解法提取羊肚菌多糖及其抗氧化活性研究[J]. *粮食与油脂*, 2024, 37(3): 128-133.
JIA Q C. Study on ultrasound assisted ionic liquid and enzymatic extraction of *Morchella* polysaccharides and its antioxidant activity[J]. *Cereals & Oils*, 2024, 37(3): 128-133.
- [15] 陈洪玉, 王广慧, 赵大伟. 超声辅助离子液体提取玉米须中的多酚[J]. *食品科技*, 2022, 47(10): 211-216.
CHEN H Y, WANG G H, ZHAO D W. Extraction of polyphenol from corn silk by ultrasonic assisted ion liquid[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(10): 211-216.
- [16] 孟永海, 孟祥瑛, 付敬菊, 等. 超声波协同酶解法对山药总多酚提取及抗氧化活性影响研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2020, 22(4): 63-66.
MENG Y H, MENG X Y, FU J J, et al. Extraction and antioxidant activity of total polyphenols from Chinese yam by ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2020, 22(4): 63-66.
- [17] 陈杭, 顾冉, 孙丁艳, 等. 不同干燥预处理对牛蒡多酚和多糖抗氧化活性的影响[J]. *农产品加工*, 2023(4): 48-52.
CHEN H, GU R, SUN D Y, et al. Effects of different drying pretreatment on antioxidant of *Arctium lappa* L. polyphenols and polysaccharides[J]. *Farm Products Processing*, 2023(4): 48-52.
- [18] 范三红, 任嘉兴, 张锦华, 等. 响应面优化羊肚菌多糖提取工艺及抗氧化性[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(6): 179-185, 192.
FAN S H, REN J X, ZHANG J H, et al. Extraction optimization of *Morchella esculenta* polysaccharides by response surface methodology and its antioxidant activity[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(6): 179-185, 192.
- [19] 苏靖媛, 张静, 刘欣, 等. 响应面法优化低共熔溶剂提取黑小麦麸皮多酚的工艺研究[J]. *粮食与油脂*, 2024, 37(3): 22-26.
SU J Y, ZHANG J, LIU X, et al. Optimization of deep eutectic solvent extraction process for polyphenols from rye bran by response surface method[J]. *Grain & Oil*, 2024, 37(3): 22-26.
- [20] 叶树才, 侯银臣, 闫东旭, 等. 超声辅助提取长根菇多酚及其抗氧化活性[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(23): 104-109.
YE S C, HOU Y C, YAN D X, et al. Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of polyphenols from *Oudemansiella radicata*[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(23): 104-109.
- [21] 王涓, 潘忠礼, 马海乐, 等. 超声波的空化作用及其对多酚稳定性的影响[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(19): 388-391.
WANG J, PAN Z L, MA H L, et al. Cavitation effect of ultrasound and its effect on the stability of polyphenols[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(19): 388-391.
- [22] 徐彩红, 李桂杰, 许青, 等. 超声辅助纤维素酶法提取玉米皮总多酚及其抗氧化性研究[J]. *中国粮油学报*, 2018, 33(12): 95-101.
XU C H, LI G J, XU Q, et al. Ultrasonic-assisted cellulase extraction of total polyphenols from maize bran and its antioxidant activity[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2018, 33(12): 95-101.
- [23] 侯敏娜, 侯少平, 王泽坤, 等. 响应面法优化红薯叶多酚超声辅助提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. *化学与生物工程*, 2022, 39(4): 33-39.
HOU M N, HOU S P, WANG Z K, et al. Optimization in ultrasonic-assisted extraction process of polyphenols from *Ipomoea batatas* lam. leaves by response surface methodology and their antioxidant activity[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2022, 39(4): 33-39.
- [24] SORENSEN H M, FINNEGAN D, MAYE S, et al. Optimisation of dairy-based media using response surface modelling to increase yields of *Lactocaseibacillus rhamnosus* promoting an enhanced immune response[J]. *International Dairy Journal*, 2024, 156: 105990.
- [25] 马艳弘, 孟勇, 崔晋, 等. 牛蒡多酚超声辅助酶法提取工艺及抗氧化活性[J]. *食品与生物技术学报*, 2020, 39(1): 38-45.
MA Y H, MENG Y, CUI J, et al. Optimization of ultrasonic-assisted enzyme extraction of polyphenols from burdock and its antioxidant activity evaluation[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2020, 39(1): 38-45.