

超声辅助复合酶法提取莓茶多糖的工艺优化

Research on extraction technology of *Ampelopsis grossedentata* polysaccharide by ultrasound-assisted enzymatic method

王晓慧^{1,2}姚茂君^{1,2}陈怡君^{1,2}朱露怡²黄湘宇²WANG Xiao-hui^{1,2} YAO Mao-jun^{1,2} CHEN Yi-jun^{1,2} ZHU Lu-yi² HUANG Xiang-yu²

(1. 吉首大学林产化工湖南省重点实验室, 湖南 张家界 427000; 2. 吉首大学食品科学研究所, 湖南 吉首 416000)

(1. Key Laboratory of Hunan Forest Products and Chemical Industry Engineering, Jishou University, Zhangjiajie, Hunan 427000, China; 2. Institute of Food Science, Jishou University, Jishou, Hunan 416000, China)

摘要:目的:提高莓茶多糖的提取效率。方法:采用超声辅助复合酶法优化莓茶多糖的提取工艺,通过单因素试验考察超声波温度、超声波提取时间、酶解 pH、超声波功率和复合酶添加量对莓茶多糖提取率的影响,再利用 Plackett-Burman 试验筛选得到酶解 pH、超声波功率和复合酶添加量对多糖提取率影响显著。并经过最陡爬坡试验和响应面(Box-Behnken)试验得到最佳工艺。结果:在酶解 pH 4.30,超声波功率 104 W,复合酶添加量 1.20%,超声波时间 40 min,超声波温度 50 ℃ 的条件下,莓茶多糖得率为 $(7.22 \pm 0.06)\%$,与热水提取、超声波提取、复合酶提取相比,其得率分别提高了 106.83%, 86.35%, 54.46%。结论:超声辅助复合酶提取莓茶多糖工艺可以显著提高莓茶多糖得率。

关键词:莓茶;多糖;超声波;纤维素酶;果胶酶

Abstract: Objective: In order to improve the extraction efficiency of polysaccharide from *Ampelopsis grossedentata*. **Methods:** Ultrasound-assisted enzymatic extraction method was used in this study to optimize the extraction process of polysaccharide from *Ampelopsis grossedentata*. The effects of ultrasound temperature, ultrasound extraction time, enzymolysis pH, ultrasound power and the addition of complex enzyme on the extraction efficiency of polysaccharide from *Ampelopsis grossedentata* were investigated by single factor test. And the significant factors, including enzymolysis pH, ultrasonic power and the addition of complex enzyme were by Plackett-Burman test. The optimal extraction conditions were obtained through the steepest

climbing test and Box-Behnken test. **Results:** The optimal extraction conditions were as follows: the value of pH 4.30, ultrasound power 104 W, the addition of complex enzyme 1.20%, ultrasonic time 40 min, ultrasonic temperature 50 ℃. Under these optimized conditions, the yield of polysaccharide from *Ampelopsis grossedentata* was $(7.22 \pm 0.06)\%$. And compared with that of hot water extraction, ultrasound extraction and complex enzyme extraction method, the yield was increased by 106.83%, 86.35%, 54.46%, respectively. **Conclusion:** Ultrasound-assisted enzymatic extraction method can obviously improve the yield of polysaccharide from *Ampelopsis grossedentata*. **Keywords:** *Ampelopsis grossedentata*; polysaccharide; ultrasonic; cellulase; pectinase

莓茶,又名藤茶、龙须茶、白茶等,为葡萄科蛇葡萄属植物显齿蛇葡萄 [*Ampelopsis grossedentata* (Hand.-Mazz.) W.T.Wang] 的茎叶。其富含多糖、多酚和黄酮等多种活性成分^[1],具有清热解毒、利湿消肿、平肝降压等作用^[2]。

植物多糖一般分布于细胞壁(或细胞)内,传统的提取技术主要集中于热水提取^[3]、超声波辅助提取^[4]、微波辅助提取^[5]、酶法提取^[6]、超临界萃取^[7]等。其中,热水提取所需温度高且效率低,高温通常容易导致多糖结构发生改变;单纯的超声辅助提取能有效提高提取效率,但提取时间长易造成多糖降解^[8];酶法提取虽兼具反应条件温和、得率高、节约时间等特点,且能较好地保留多糖生理活性^[9],但是酶的价格昂贵,单纯采用酶法进行提取成本较高。采用超声波辅助复合酶提取多糖不但可以提高提取效率还可以节约成本,提高得率,该方法已被应用于甘草酸^[10]、大蒜多糖^[11]和金钱草多糖^[12]的提取,但尚未见采用超声辅助复合酶对莓茶多糖进行提取的报道。

研究拟以莓茶为原料,采用超声波辅助复合酶法提

基金项目:吉首大学校级科研项目(编号:Jdy20046);湖南省重点研发计划项目(编号:2022NK2036)

作者简介:王晓慧,女,吉首大学在读硕士研究生。

通信作者:姚茂君(1968—),男,吉首大学教授,硕士。

E-mail: yaomaojun@126.com

收稿日期:2021-08-23

取莓茶多糖,通过单因素试验研究各因素对提取莓茶多糖的影响,利用 Plackett-Bueman(PB)试验、最陡爬坡试验和 Box-Behnken 试验优化莓茶多糖的提取工艺条件,以期对莓茶多糖的开发和利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

莓茶:产地湖南省永顺县,干燥粉碎成粉末后,过 60 目筛备用;

纤维素酶、果胶酶: $\geq 15\,000\text{ U/g}$,国药集团化学试剂有限公司;

葡萄糖、无水乙醇、浓硫酸、柠檬酸、柠檬酸钠、苯酚、石油醚($60\sim 90\text{ }^{\circ}\text{C}$):分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

鼓风干燥箱:GZX-9246MBE 型,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;

紫外可见一分光光度计:UV-2450 型,日本岛津公司;

多用途恒温超声波提取机:TF-650CT 型,上海拓纷机械设备有限公司;

电子天平:FA224 型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 预处理 取干燥的莓茶用超微粉碎机进行粉碎,过 60 目筛于 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重。依次用石油醚、95%的乙醇进行洗涤,以去除色素及小分子杂质。再于 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥至恒重,过 60 目筛后,于干燥器中保存备用。

1.2.2 莓茶多糖的提取 称取 2.0 g 莓茶粉,以柠檬酸和柠檬酸钠缓冲液为提取溶剂,先进行超声波处理再进行酶解(经预试验,确定酶解温度为 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$,酶解时间为 2 h, $m_{\text{果胶酶}}:m_{\text{纤维素酶}}$ 为 1:1),依据试验所需提取条件设定相应的超声波和酶解参数进行提取。提取结束后,于 $5\,000\text{ r/min}$ 离心 15 min,取上清液进行抽滤。浓缩至原体积的 1/5,加入无水乙醇至乙醇量为 80%, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下静置 8 h,于 $5\,000\text{ r/min}$ 离心 10 min,取其沉淀复溶,于 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中挥发掉乙醇后于 1 000 mL 容量瓶中定容,测定莓茶多糖含量并计算其得率。

1.2.3 莓茶多糖含量的测定及其得率计算 采用硫酸—苯酚法测量莓茶提取液中多糖的含量。标准曲线绘制:精确称取葡萄糖 20 mg,用蒸馏水溶解后定容于 200 mL 容量瓶中,配制质量浓度为 0.1 mg/mL 葡萄糖标准母液,再将其稀释成 0.01,0.02,0.04,0.06,0.08 mg/mL 的葡萄糖标准溶液,取上述 6 个质量浓度标准溶液各 1 mL 于试管中,分别加入 1 mL 5%的苯酚溶液,摇匀,迅速加入浓

硫酸 5 mL,摇匀,5 min 后置于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水浴锅中静置 20 min 后于 $\text{OD}_{490\text{ nm}}$ 处测定其吸光度值,以蒸馏水为空白组,葡萄糖标准质量浓度 $C(\mu\text{g/mL})$ 为横坐标,吸光度值 A 为纵坐标。计算回归方程为 $A = 0.009\,47C - 0.005\,71$, $R^2 = 0.998$ 。用移液枪移取 1.0 mL 定容后的莓茶多糖液样品,测定吸光度 A ,用蒸馏水作为空白对照组,平行测定 3 次。多糖得率按式(1)计算:

$$Y = \frac{CV_n}{1\,000m} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

Y ——多糖得率,%;

C ——待测样品液中莓茶多糖质量浓度,mg/mL;

V ——待测样品液体积,mL;

n ——样品浓度稀释倍数;

m ——莓茶多糖粉质量,g。

1.2.4 超声辅助复合酶提取单因素试验

(1) 超声波时间对莓茶多糖得率的影响:取 2.0 g 莓茶粉,溶解于 pH 为 5.0 的缓冲液中进行超声处理,超声波功率为 104 W,超声波温度为 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$,添加复合酶质量 1.00%,超声波时间分别设置为 20,30,40,50,60 min 进行提取。

(2) 超声波温度对莓茶多糖得率的影响:取 2.0 g 莓茶粉,溶解于 pH 为 5.0 的缓冲液中进行超声处理,超声波功率为 104 W,超声波时间为 40 min,添加复合酶 1.00%。超声波温度分别设置为 30,40,50,60,70 $^{\circ}\text{C}$ 进行提取。

(3) 酶解 pH 对莓茶多糖得率的影响:取 2.0 g 莓茶粉,溶解于 pH 分别为 2,3,4,5,6 的缓冲液中进行超声处理,超声波温度为 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$,添加复合酶 1.00%,超声波时间为 40 min,超声波功率为 104 W 进行提取。

(4) 超声波功率对莓茶多糖得率的影响:取 2.0 g 莓茶粉,溶解于 pH 为 5.0 的缓冲液中进行超声处理,超声波温度为 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$,添加复合酶 1.00%,超声波时间为 40 min,超声波功率分别设置为 78,91,104,117,130 W (超声波提取机总功率为 650 W,78,91,104,117,130 W 分别对应其 12%,14%,16%,18%,20%的输出功率)进行提取。

(5) 复合酶添加量对莓茶多糖得率的影响:取 2.0 g 莓茶粉,溶解于 pH 为 5.0 的缓冲液中进行超声处理,超声波温度为 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$,超声波时间为 40 min,超声波功率 104 W,复合酶添加量 0.10%,0.50%,1.00%,1.50%,1.90% 进行提取。

1.2.5 Plackett-Burman 试验和最陡爬坡试验 在单因素试验基础上,利用 Plackett-Burman 试验,每个因素选取高(+1)、低(-1)2 个水平,考察超声波温度、酶解 pH、超声波时间、复合酶添加量、超声波功率 5 个因素对莓茶多

糖提取得率的影响,筛选出影响显著的关键因素,得到一次拟合方程,进行爬坡方向和步长设计来确定各重要因素最佳中心点。

1.2.6 响应面优化试验 根据 1.2.5 的试验结果得出的显著性关键因素进行 Box-Behnken 设计,建立相应的数学回归模型,最后绘制等高线和响应面图。

1.2.7 不同方法提取效果的比较

(1) 热水提取:参照 1.2.2 的方法在 80 °C 的恒温水浴锅中进行提取,时间为 2.5 h,不做超声提取和酶处理。

(2) 超声波提取:参照 1.2.2 的方法,超声提取后于水浴锅中放置 2 h,不做复合酶处理。

(3) 复合酶提取:参照 1.2.2 的方法,在 50 °C 恒温水浴锅中放置 30 min 后,酶解 2 h,不做超声提取。

(4) 超声复合酶提取:参照 1.2.2 的方法,选取响应面优化试验得到的最佳条件进行试验。

1.3 数据处理

所有结果均以 3 次试验的平均值表示,数据分析用 Design-Expert 8.0.6、Origin 9.0、Excel 2003 软件进行试验设计及统计分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 超声波时间对莓茶多糖得率的影响 由图 1 可知,随着超声波时间延长,莓茶多糖得率随之上升,超声时间的延长能使莓茶与溶剂充分混合,超声波处理 40 min 时莓茶多糖得率达到(5.94±0.06)%,之后莓茶多糖得率开始下降,可能是由于超声波处理时间过长导致莓茶多糖分子结构被破坏,得率下降^[13]。

2.1.2 超声波温度对莓茶多糖得率的影响 由图 2 可知,随着超声波温度的上升多糖得率上升,当超声波温度为 50 °C 时莓茶多糖得率达到(5.94±0.06)%,之后莓茶多糖得率开始下降,可能与超声波的空化效应和细胞壁的扩散作用有关。随着超声波温度的升高,表面张力和

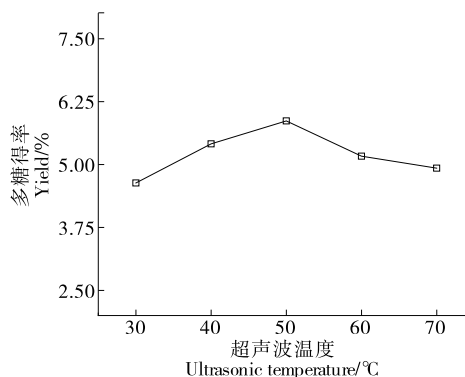


图 2 超声波温度对莓茶多糖得率的影响

Figure 2 Effects of ultrasonic temperature on the yield of *Ampelopsis grossedentata* polysaccharide

黏度降低,液体的蒸汽压力增加,溶质形成空化气泡,当超声波功率较低时,产生空化效应来加速细胞的破裂,随着温度的升高,空化形成的气泡的表面张力降低,蒸汽压强增加,细胞不易破坏,因此莓茶多糖得率开始下降^[14]。

2.1.3 酶解 pH 对莓茶多糖得率的影响 由图 3 可知,随着酶解 pH 的增大莓茶多糖得率上升,当酶解 pH 为 4 时莓茶多糖得率达最大值(6.37±0.14)%,随后多糖得率开始下降。这可能是 pH 值会影响酶活性中心上必需基团的解离程度,从而影响酶分子与底物的结合与催化,最适的 pH 能够将酶分子与底物充分结合,进而使酶解反应达到最大^[15]。

2.1.4 超声波功率对莓茶多糖得率的影响 由图 4 可知,莓茶多糖得率随着超声波功率的增大,先增加后下降,超声波功率为 104 W 时达到最大值(6.56±0.11)%,主要原因是莓茶进行超声处理时,会产生空洞效应和振动作用,一开始植物细胞壁破碎,加快了莓茶多糖的溶出,但随着功率的增大,超声波空化效应增强并产生气泡,气泡中生成的自由基与莓茶多糖发生反应,使莓茶多糖被降解,得率下降^[16]。

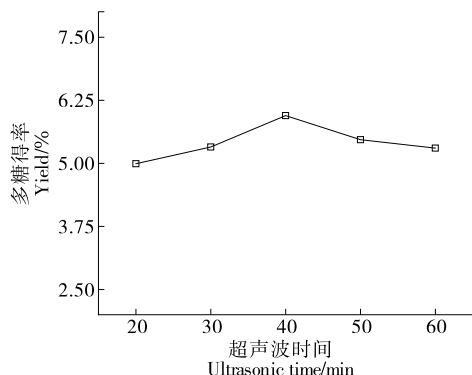


图 1 超声波时间对莓茶多糖得率的影响

Figure 1 Effects of ultrasonic time on the yield of *Ampelopsis grossedentata* polysaccharide

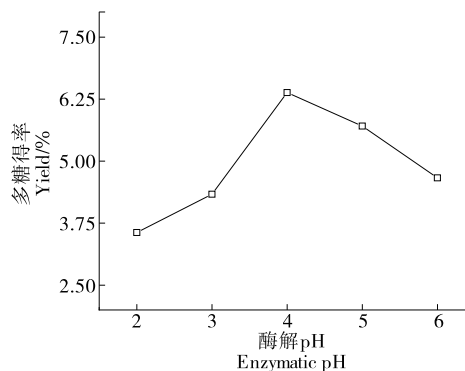


图 3 酶解 pH 对莓茶多糖得率的影响

Figure 3 Effects of pH on the yield of *Ampelopsis grossedentata* polysaccharide

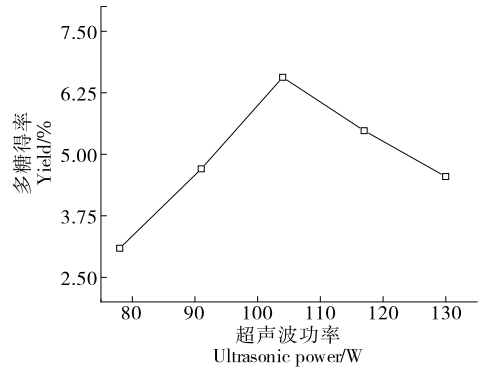


图4 超声波功率对莓茶多糖得率的影响

Figure 4 Effects of ultrasonic power on the yield of *Ampelopsis grossedentata* polysaccharide

2.1.5 复合酶添加量对莓茶多糖得率的影响 由图5可知,随着复合酶添加量增加,莓茶多糖得率先增加,当复合酶添加量达到1.0%时莓茶多糖得率达到最大值(7.09±0.16)%,之后随着复合酶的添加,莓茶多糖得率开始下降。这可能是由于复合酶的增加加大了与底物接触的机会,释放出更多的多糖,当复合酶继续增加,两种酶之间出现竞争,抑制了酶的催化作用,导致莓茶多糖得率下降。

2.2 Plackett-Burman 试验

在单因素试验基础上,利用 Plackett-Burman 试验设计考察超声波时间、超声波温度、酶解 pH、超声波功率、复合酶添加量 5 个因素对莓茶多糖得率的影响,以这 5 个因素进行显著因素筛选,见表 1。

各因素的效应评价及 Plackett-Burman 试验结果见表 2、表 3。

根据表 2 得到影响莓茶多糖得率的一次回归方程:

$$Y=4.88-0.046A_1+0.062A_2+0.36A_3-0.20A_4+0.19A_5。$$
 (2)

由表 3 可知, A_4 和 A_5 对莓茶多糖得率的影响显著

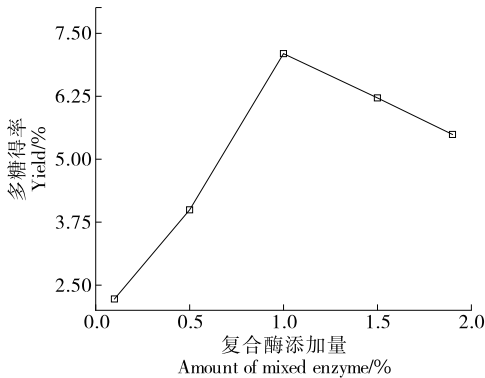


图5 复合酶添加量对莓茶多糖得率的影响

Figure 5 Effects of amount of mixed enzyme on the yield of *Ampelopsis grossedentata* polysaccharide

表 1 Plackett-Burman 试验因素及水平取值

Table 1 Factors and levels of Plackett-Burman experiment

水平	A ₁ 超声波 时间/min	A ₂ 超声波 温度/℃	A ₃ 酶解 pH	A ₄ 超声波 功率/W	A ₅ 复合酶 添加量/%
—1	30	40	3	91	0.05
1	50	60	5	117	1.50

表 2 Plackett-Burman 试验结果

Table 2 Results of Plackett-Burman experiment

序号	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	Y 多糖含量/%
1	—1	1	—1	1	1	4.51
2	—1	—1	—1	1	—1	4.38
3	—1	—1	1	—1	1	5.51
4	1	1	1	—1	—1	5.36
5	—1	1	1	1	—1	4.87
6	1	1	—1	1	1	4.61
7	—1	1	1	—1	1	5.94
8	—1	—1	—1	—1	—1	4.34
9	1	—1	—1	—1	1	4.94
10	1	—1	1	1	1	4.91
11	1	—1	1	1	—1	4.82
12	1	1	—1	—1	—1	4.36

($P<0.05$), A_3 对莓茶多糖得率的影响极显著($P<0.01$)。模型的 $P=0.0067$, $R^2=0.8949$, $R^2_{Adj}=0.8074$, 说明回归方程关系显著, 响应值达到 80.74%, 拟合程度好。根据实际情况, 响应面优化试验中将不显著因素超声波温度和超声波时间分别设定为 50℃、40 min。

2.3 最陡爬坡试验确定最佳中心点

根据超声波功率、复合酶添加量和酶解 pH 的系数设

表 3 Plackett-Burman 试验方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance for Plackett-Burman experiment

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	2.49	5	0.50	10.22	0.006 7	* *
A ₁	0.03	1	0.03	0.52	0.498 9	
A ₂	0.05	1	0.05	0.96	0.364 4	
A ₃	1.52	1	1.52	31.20	0.001 4	* *
A ₄	0.46	1	0.46	9.45	0.021 8	*
A ₅	0.44	1	0.44	8.97	0.024 1	*
残差	0.29	6	0.05			
总离差	2.78	11				

[†] * 表示差异显著($P<0.05$); * * 表示差异极显著($P<0.01$)。

计爬坡方向和步长,其中超声波功率、复合酶添加量为正效应,取其高水平;酶解 pH 为负效应,取其低水平。

由表 4 可知,在第 3 组处莓茶多糖得率达到最高,即第 3 组附近存在最优值,因此以酶解 pH 为 4、超声波功率为 104 W、复合酶添加量为 1%为响应面的试验中心点进行优化。

2.4 Box-Behnken 响应面优化分析

以酶解 pH、超声波功率、复合酶添加量为自变量,莓茶多糖得率为响应值进行优化,莓茶多糖提取工艺响应面试验因素水平及结果分别见表 5、表 6。

通过多元回归方程拟合和方差分析得到方程:

$$Y=7.10+0.47A_3+0.20A_4+0.78A_5+0.018A_3A_4+0.055A_3A_5-0.29A_4A_5-0.89A_3^2-0.74A_4^2-0.83A_5^2。$$

(3)

由表 6 可知,模型 $P<0.000\ 1$,失拟项 $P=0.994\ 7>0.05$, $R^2=0.989\ 3$, $R^2_{Adj}=0.975\ 5$,表明该试验预测值与

实际值之间的相关性较高且模型拟合程度良好,适用于莓茶多糖提取工艺分析和预测。其中,一次项 A_3 、 A_4 、 A_5 ,二次项 A_3^2 、 A_4^2 、 A_5^2 ,以及交互项 A_4A_5 对莓茶多糖得率影响极显著($P<0.01$),其余项并无显著影响。将 3 个因素中的一个固定在 0 水平,绘制其余两因素交互作用的等高线图和响应面图,见图 6。

表 5 Box-Behnken 响应面试验结果

Table 5 Results of Box-Behnken experiment

序号	A_3	A_4	A_5	Y 多糖得率/%
1	0	-1	-1	4.24
2	1	0	1	6.68
3	1	1	0	6.14
4	-1	0	1	5.62
5	1	-1	0	5.74
6	0	0	0	7.36
7	-1	-1	0	4.83
8	0	0	0	7.04
9	0	1	1	6.22
10	0	0	0	7.21
11	0	1	-1	5.27
12	0	0	0	7.08
13	1	0	-1	5.01
14	-1	0	-1	4.17
15	-1	1	0	5.16
16	0	-1	1	6.37
17	0	0	0	6.79

表 4 最陡爬坡试验结果

Table 4 Results of steepest climb experiment

序号	A_3 酶解 pH	A_4 超声波功率/W	A_5 复合酶添加量/%	Y 多糖含量/%
1	2	130	0.1	4.36
2	3	117	0.5	5.03
3	4	104	1.0	6.80
4	5	91	1.5	6.45
5	6	78	1.9	6.22

表 6 回归模型方差分析及结果[†]

Table 6 Results of variance analysis of response surface quadratic model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	16.85	9	1.87	71.71	$<0.000\ 1$	* *
A_3	1.80	1	1.80	68.78	$<0.000\ 1$	* *
A_4	0.32	1	0.32	12.41	0.009 7	* *
A_5	4.81	1	4.81	184.05	$<0.000\ 1$	* *
A_3A_4	1.23×10^{-3}	1	1.23×10^{-3}	0.05	0.834 7	
A_3A_5	0.01	1	0.01	0.46	0.517 9	
A_4A_5	0.35	1	0.35	13.33	0.008 2	* *
A_3^2	3.35	1	3.35	128.26	$<0.000\ 1$	* *
A_4^2	2.29	1	2.29	87.54	$<0.000\ 1$	* *
A_5^2	2.93	1	2.93	112.25	$<0.000\ 1$	* *
残差	0.18	7	0.03			
失拟项	3.03×10^{-3}	3	1.01×10^{-3}	0.022	0.994 7	
纯误差	0.18	4	0.05			
总离差	17.03	16				

[†] * 表示差异显著($P<0.05$); * * 表示差异极显著($P<0.01$)。

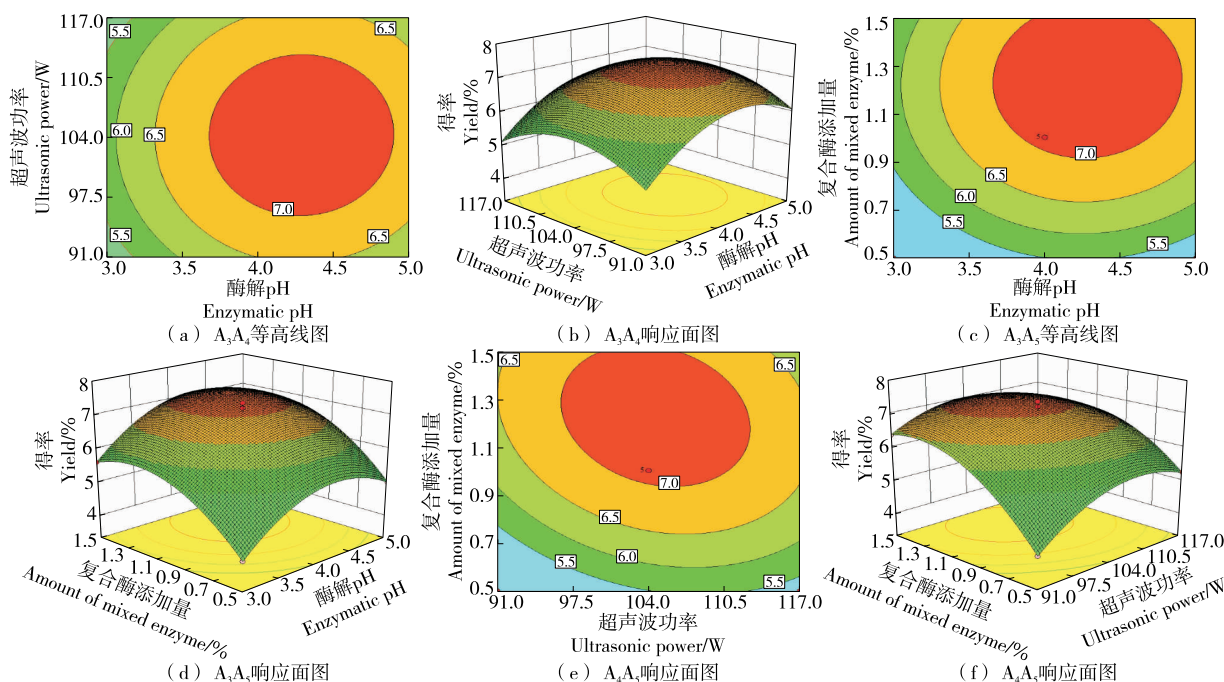


图6 两因素间交互作用响应面图

Figure 6 Response surface plots of interaction between two factors

图6(a)和图6(b)显示复合酶添加量为0水平时,随着酶解pH值从3增加到5,超声波功率从91 W增加到117 W,莓茶多糖得率先上升后下降。图6(c)和图6(d)显示超声波功率为0水平时,莓茶多糖随酶解pH和复合酶添加量的增加呈先增加后降低的趋势。图6(e)和图6(f)显示莓茶多糖含量随复合酶添加量和超声波功率的增加也呈先增加后降低的趋势。

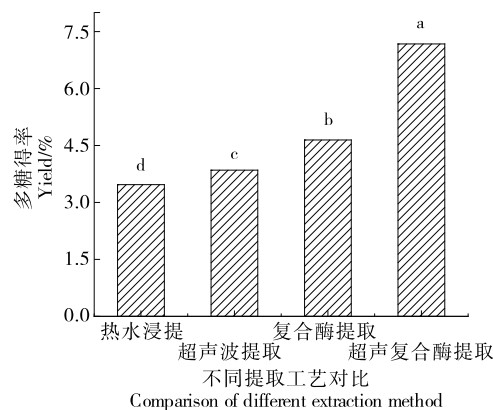
对模型进行优化分析得出的最佳工艺为酶解pH 4.28,超声波功率 104.59 W,复合酶添加量 1.23%。为满足实际操作的可性,对其最佳工艺条件进行修正,设定酶解pH 4.30,超声波功率 104 W,复合酶添加量 1.20%。通过3次平行实验验证其最佳工艺的准确性,测得莓茶多糖得率 $(7.22 \pm 0.06)\%$,与模型预测值 (7.25%) 基本吻合,说明该回归方程能够真实可靠地反映各因素对莓茶多糖得率的影响。

2.5 不同提取方法的比较

如图7所示,与热水提取、超声波提取和复合酶提取相比,超声辅助复合酶提取多糖得率提高了106.83%,86.35%,54.46%,4种方法之间存在显著性差异。超声波的机械作用和空化效应可有效地破坏原材料的细胞壁并加速分子运动,而复合酶可以使莓茶细胞壁降解加速且作用条件温和,将超声处理与复合酶结合,能够使得莓茶中的多糖更充分地释放出来,从而提高了提取效率。

3 结论

试验最终得到的超声辅助复合酶提取莓茶多糖的最



字母不同表示有显著性差异($P < 0.05$)

图7 不同提取方法莓茶多糖得率比较

Figure 7 Comparison of the yield of *Ampelopsis grossedentata* polysaccharide with different extraction methods

佳工艺为:酶解pH 4.30,超声波功率 104 W,复合酶添加量 1.20%,超声波时间 40 min,超声波温度 50 °C。超声辅助复合酶提取莓茶多糖工艺可以显著提高莓茶多糖得率,其得率为 $(7.22 \pm 0.06)\%$ 。与热水提取、超声波提取和酶法提取相比,超声波处理与复合酶结合能够较大幅度地将多糖提取出来,提高提取效率。试验从多糖得率角度对莓茶多糖的超声辅助复合酶法提取工艺进行了优化,但未能对比其不同工艺提取出来的多糖结构和生理活性的差异,后续将对此进行深入研究。

参考文献

- [1] GAO Qing-ping, MA Ru-yi, CHEN Lin, et al. Antioxidant profiling of vine tea (*Ampelopsis grossedentata*): Off-line coupling heart-cutting HSCCC with HPLC-DAD-QTOF-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2017, 225: 55-61.
- [2] 李佳川, 李思颖. 基于分子对接技术的藤茶总黄酮对高尿酸血症肾功能损伤保护机制研究[J]. 中草药, 2021, 52(3): 727-735.
- LI Jia-chuan, LI Si-ying. Protective effect and mechanism of total flavonoids from *Ampelopsis grossedentata* on renal function injury of hyperuricemia based on molecular docking technology [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(3): 727-735.
- [3] YANG Qian, WANG Si-wang, XIE Yan-hua, et al. HPLC analysis of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes activity and Bax, Bcl-2 expression[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 46(2): 167-172.
- [4] 杜志磊, 张璐瑶, 麻吉腾, 等. 芋头多糖的超声波辅助提取工艺优化, 组分鉴定和抗氧化能力分析[J]. 食品科技, 2021, 46(4): 155-161.
- DU ZHI-lei, ZHANG Lu-yao, MA Ji-teng, et al. Extraction condition optimization, component identification and antioxidant capacity analysis of taro polysaccharides[J]. Food Science & Technology, 2021, 46(4): 155-161.
- [5] LIU Cheng-hai, XUE Hong-kun, SHEN Liu-yang, et al. Improvement of anthocyanins rate of blueberry powder under variable power of microwave extraction[J]. Separation and Purification Technology, 2019, 226: 286-298.
- [6] YIN Xiu-lian, YOU Qing-hong, JIANG Zhong-hai. Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from *Tricholoma matsutake* by response surface methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(3): 1 358-1 364.
- [7] YE Feng-ying, ZHONG Qi-sheng, LIANG Yan-shan, et al. Determination of lipid mediators in breast cancer cells using lyophilization-supercritical fluid extraction online coupled with supercritical fluid chromatography-quadrupole tandem mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2020, 43(9/10): 1 800-1 807.
- [8] 景永帅, 张钰炜, 吴兰芳, 等. 中药复方多糖的提取方法和药理活性研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2021, 26(4): 462-468.
- JING Yong-shuai, ZHANG Yu-wei, WU Lan-fang, et al. Research progress on extraction methods and pharmacological activities of polysaccharide from traditional Chinese herb compound[J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2021, 26(4): 462-468.
- [9] XU Zhou, FENG Shi-ling, QU Ji-peng, et al. The effect of extraction methods on preliminary structural properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Lactarius vividus* [J]. Processes, 2019, 7(8): 482.
- [10] 梁霞, 吕晓玲. 复合酶和超声辅助两步法提取甘草酸的工艺[J]. 食品与机械, 2018, 34(10): 145-151, 157.
- LIANG Xia, LU Xiao-ling. Study on the two-stage extraction of glycyrrhizic acid by combined enzymes and ultrasonic method[J]. Food & Machinery, 2018, 34(10): 145-151, 157.
- [11] 贯云娜, 吴昊, 杨绍兰, 等. 超声复合酶法提取大蒜多糖的工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 199-204.
- GUAN Yun-na, WU Hao, YANG Shao-lan, et al. Optimization on ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide from garlic by response surface analysis under multi-enzyme complex[J]. Food & Machinery, 2014, 30(1): 199-204.
- [12] 黄盼, 周改莲, 黄素琴, 等. 响应曲面法优化超声协同复合酶法提取广金钱草多糖工艺[J]. 科学技术与工程, 2021, 21(6): 2 225-2 231.
- HUANG Pan, ZHOU Gai-lian, HUANG Su-qin, et al. Optimization of extraction of polysaccharides from *Desmodium styracifolium* by ultrasound synergistic compound enzyme method in response surface methodology[J]. Science Technology and Engineering, 2021, 21(6): 2 225-2 231.
- [13] 李扬, 杨宁线, 谢国芳, 等. Plackett-Burman 联用响应面法优化超声波—酸法提取狐臭柴果胶工艺[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(13): 210-218.
- LI Yang, YANG Ning-xian, XIE Guo-fang, et al. Technology optimization on ultrasonic-acid extracting pectin from *Premna puberula* Pamp by Plackett-Burman combined with response surface methodology[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(13): 210-218.
- [14] ZHU Cai-ping, ZHAI Xi-chuan, LI Lin-qiang, et al. Response surface optimization of ultrasound-assisted polysaccharides extraction from pomegranate peel[J]. Food Chemistry, 2015, 177: 139-146.
- [15] 罗凯, 黄秀芳, 周毅峰, 等. 响应面法优化复合酶法提取碎米荠多糖工艺及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2017, 38(4): 237-242.
- LUO Kai, HUANG Xiu-fang, ZHOU Yi-feng, et al. Optimization of multi-enzymatic extraction of polysaccharides from *Cardamine hupingshanensis* and their antioxidant activity[J]. Food Science, 2017, 38(4): 237-242.
- [16] KODA Shinobu, KIMUR Takahid, KONDO Takashi, et al. A standard method to calibrate sonochemical efficiency of an individual reaction system[J]. Ultrasonics-Sonochemistry, 2003, 10(3): 149-156.