

超声波辅助酶法提取香菇柄中总黄酮的工艺优化

杨萌, 徐艳阳*, 杨光, 郝明伟, 刘春梅

(吉林大学食品科学与工程学院, 长春 130062)

摘要: **目的** 对采用超声波辅助酶法提取香菇柄中黄酮类化合物的工艺进行优化, 为进一步开发香菇柄资源提供依据。**方法** 以总黄酮得率为指标, 通过单因素试验研究乙醇体积分数、超声时间、超声功率及酶用量对黄酮类化合物得率的影响, 利用响应面分析法对影响黄酮类化合物得率的上述4个因素进行优化。**结果** 最佳提取工艺参数为: 乙醇体积分数75%、超声时间20 min、超声功率280 W、酶用量0.012 mg。在此条件下, 通过3次验证实验, 测得黄酮类化合物的得率为1.673 mg/g, 实际值与理论值基本吻合。**结论** 采用响应面分析法优化超声波辅助酶法提取香菇柄中的黄酮类化合物的工艺具有可行性。

关键词: 香菇柄; 黄酮类化合物; 超声波辅助酶法; 响应面分析法

Optimization of the process for the extraction of total flavonoids in stem of *Lentinus edodes* by ultrasonic assisted enzymatic method

YANG Meng, XU Yan-Yang*, YANG Guang, HAO Ming-Wei, LIU Chun-Mei

(College of Food Science and Engineering, Jilin University, Changchun 130062, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the extraction process of flavonoids compounds from the stems of *Lentinus edodes* by ultrasonic assisted enzymatic method, so as to provide a basis for the further development of stems of *Lentinus edodes* resources. **Methods** With the yield of total flavonoids as the index, the effects of ethanol concentration, ultrasonic time, ultrasonic power and enzyme dosage on the yield of flavonoids compounds were studied through the single-factor test, and the above 4 factors were optimized by response surface analysis method. **Results** The optimum parameters in extraction process were as follows: the ethanol concentration was 75%, the ultrasonic time was 20 min, the ultrasonic power was 280 W, and the enzyme dosage was 0.012 mg. Under these conditions, the yield of flavonoids was 1.673 mg/g through 3 confirmatory experiments, and the actual value was in good agreement with the theoretical value. **Conclusion** It is feasible to use response surface analysis method to optimize the extraction process of flavonoids compounds from the stems of *Lentinus edodes* by ultrasonic assisted enzymatic method.

KEY WORDS: stem of *Lentinus edodes*; flavonoids compounds; ultrasonic assisted enzymatic method; response surface analysis method

基金项目: 吉林大学大学生创新创业训练项目(2016B47376)

Fund: Supported by the Project of Innovation and Entrepreneurship Training for Undergraduate Student in Jilin University (2016B47376)

*通讯作者: 徐艳阳, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品营养与安全。E-mail: xuyy@jlu.edu.cn

*Corresponding author: XU Yan-Yang, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science and Engineering, Jilin University, No.5333, Xi'an Road, Changchun 130062, China. E-mail: xuyy@jlu.edu.cn

1 引 言

香菇(*Lentinus edodes*)又称香蕈或冬菇,是侧耳科(*Pleurotaceae*)担子菌的一种药食同用的真菌。香菇由香菇菌盖和香菇柄组成,香菇柄占香菇总重的 30%^[1],但鉴于香菇柄口感粗糙,咀嚼度差,大多数被废弃处理。然而,研究表明,香菇柄不仅在营养成分上与香菇伞基本接近,而且膳食纤维含量远高出香菇伞^[2]。黄酮类化合物是一类重要的天然有机化合物,是植物在长期自然选择过程中产生的一类代谢产物^[3],广泛存在于高等植物的根、茎、叶及果实中^[4],具有许多重要的生理生化作用:(1)黄酮类化合物具有高度的化学反应性,能清除生物体内的自由基,具有抗氧化作用^[5,6];(2)黄酮类化合物是许多中草药的有效成分,具有极高的药用价值,且无毒无害,对人类的肿瘤、心血管等疾病的治疗和预防有重要意义;(3)黄酮类化合物在食品及化妆品等行业中有着广泛的应用。刘存芳^[1]证明香菇柄中含有一定量的黄酮类物质,我国香菇年产量 100 万吨以上,有丰富的香菇柄资源。因此,利用被人们废弃的香菇柄提取黄酮类化合物,可变废为宝,这对黄酮类化合物在功能食品以及药品上的应用将有很大的推动作用。

目前国内外对于香菇柄中的黄酮类物质提取的研究较少,但在一部分植物中黄酮类化合物的提取已经取得了一定的成果。传统的黄酮类化合物的提取方法有水提法、有机溶剂提取法、碱性水或碱性稀醇提取法等。这些方法相对繁琐,耗时耗能,并且有些方法会破坏环境,提取效率往往不高,如石月锋^[7]在对八角茴香中总黄酮的提取工艺研究中,有机溶剂的消耗量大,提取时间长,工艺有待改进。近年来随着科学技术的发展,黄酮类化合物的提取逐渐开始运用现代高新技术如:超临界流体萃取法、双水相萃取法、微波法、酶解法和超声波辅助提取法等。超临界流体萃取法设备价格高,生产成本低,不适于大规模生产^[8]。双水相萃取法能够提供温和的水环境,分离时间短,能在常压下进行操作,而且不会引起原料中生物活性物质的失活变性^[9,10],但在植物黄酮提取方面的应用研究还比较少。微波法提取黄酮类化合物具有操作时间短、有效成分得率高等特点^[11,12],但该技术的研究尚处于初级阶段,其机理似乎更依赖于被提取的基体,从而难以被广泛应用。酶解法提取黄酮类化合物操作简便,成本低廉,可以进行工业化生产,相比于传统的乙醇回流法具有较大的优势。姚莉等^[13]对荔枝中的黄酮采用酶法提取,发现荔枝黄酮提取率可达 5.64%,比乙醇回流法的提取率提高了 74.07%;王晓等^[14]对牡丹花中黄酮类物质进行酶解法提取,与传统的工艺相比,总黄酮得率提高了 19.8%。超声波辅助提取法提取黄酮类物质是目前比较新的提取方法,超声波的热效应使水温基本保持在 57 ℃,对原料有水浴作用,缩短了提取时间,提高了有效成分的提出率和原料的利用

率^[15-17]。王光霞等^[18]应用超声技术对柠条叶中芦丁的提取工艺进行了系统的研究,进一步证实该工艺提取效果最佳。王丽霞等^[19]采用正交法优化超声波辅助提取玉米须黄酮工艺,结果表明,在最优条件下,黄酮得率可达 0.301%。而超声波-酶法兼具了超声波提取和酶法提取的优点,不但缩短了提取时间,而且大大提高了总黄酮的提取率。李侠等^[20]采用响应面法优化超声波-双酶协同提取玉米须黄酮,结果表明在最优条件下,玉米须黄酮的得率为(0.86±0.02)%,较单一超声波提取法有明显提高,因此对于香菇柄中黄酮类化合物的提取应充分借鉴上述方法的优劣。

芦丁是黄酮醇化合物槲皮素的芸香糖苷,是一种从植物中提取的黄酮类化合物。根据阎克里等^[21]对红枣中总黄酮含量与芦丁关系的研究可知,浸提液中总黄酮含量的高低与芦丁含量的高低成对应关系。可以用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定芦丁的含量来代替分光光度法测定总黄酮含量。

本研究采用超声波辅助酶法从香菇柄中提取黄酮类化合物,并优化了总黄酮的提取工艺,为进一步开发废弃的香菇柄资源提供科学依据。

2 材料与方 法

2.1 材料、试剂与仪器

2.1.1 材 料

香菇柄,河南省南阳市西峡县天天果园食品有限公司。经清洗、烘干、粉碎,过 60 目筛处理,备用。

2.1.2 试 剂

纤维素酶(1800 U/mg,上海源叶生物科技有限公司);蒸馏水;芦丁标准品(色谱级,纯度 97%,天津市光复精细化工研究所);亚硝酸钠(分析纯,天津市进丰化工有限公司);硝酸铝、氢氧化钠、无水乙醇、磷酸、盐酸(分析纯,北京化工厂)。

2.1.3 仪器与设备

101A-1ET 电热鼓风干燥箱(上海实验仪器厂有限公司);FW177 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);BSA124S 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器(北京)责任有限公司);HH 数显恒温水浴锅(江苏金坛市金城国胜实验仪器厂);KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);LD4-2A 型雷勃尔低速离心机(北京雷勃尔离心机有限公司);T6 新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 芦丁标准溶液的配制

精密称取在 105 ℃下干燥至恒重的芦丁标准品 0.020 g,以 60%乙醇溶液溶解,定容到 100 mL,振荡摇匀,得到质量浓度为 0.2 mg/mL 的芦丁标准液,备用。

2.2.2 标准曲线的绘制

用移液管分别准确吸取 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 的芦丁标准液于 10 mL 比色管中, 先各加入 60% 乙醇溶液至 4.0 mL, 然后加入 5% 的 NaNO_2 溶液 0.5 mL, 摇匀, 静置 6 min; 再加入 10% 的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.5 mL, 摇匀, 静置 6 min; 最后加入 5% 的 NaOH 溶液 4.0 mL, 用 60% 乙醇溶液定容至刻度, 摇匀, 静置 20 min, 于 510 nm 波长处测定吸光度值(其中第 1 管为空白对照管)。以芦丁的质量浓度 C 为横坐标(X), 吸光度 A 为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得线性回归方程: $Y=12.171X-0.0013$, $r^2=0.9998$ 。由线性回归系数知, 芦丁质量浓度在 0~0.05 mg/mL 范围内的线性关系良好, 芦丁的标准曲线见图 1。

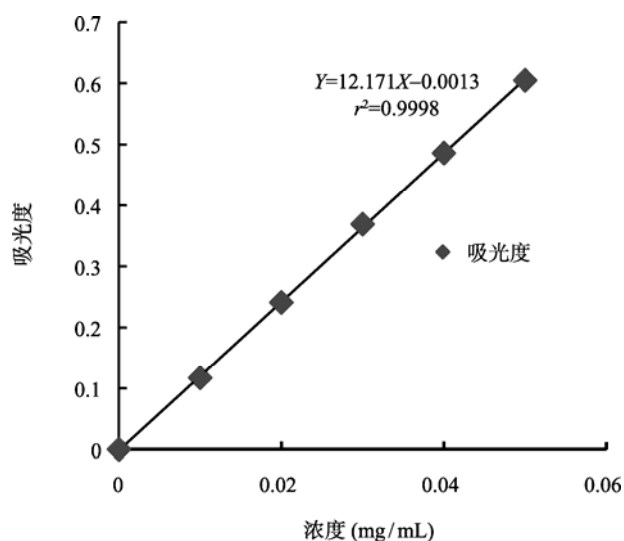


图 1 芦丁的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of rutin

2.2.3 香菇柄中总黄酮含量的测定

将香菇柄洗净后置于 55 °C 干燥箱中恒温处理 6 h, 粉碎后过 60 目筛, 然后称取一定量的香菇柄, 按一定的料液比加入乙醇, 在不同功率下超声波辅助提取一定时间, 之后进行酶解, 再用离心机在 4000 r/min 速率下离心 10 min, 过滤取上清液, 得黄酮类化合物粗提液。

吸取 3.0 mL 粗提液于 10 mL 比色管中, 按照 2.2.2 中的方法测定其在 510 nm 波长处的吸光度 A , 再根据标准曲线的线性回归方程计算出黄酮类化合物的质量浓度 C_0 , 再按公式(1)计算香菇柄中总黄酮的得率:

$$G = \frac{C_0 \times V_0 \times N}{W} \quad (1)$$

式中: G 为总黄酮的得率, mg/g; C_0 为黄酮类化合物的质量浓度, mg/mL; V_0 为样品提取液总体积, mL; N 为测定时样品提取液的稀释倍数; W 为样品重量, g。

2.3 单因素实验设计

2.3.1 乙醇体积分数对香菇柄中总黄酮得率的影响

称取 5 份 1.0 g 香菇柄粉末, 分别加入 20 mL 体积分

数为 60%、65%、70%、75%、80% 的乙醇, 在功率为 240 W、温度为 55 °C 的超声清洗器中提取 30 min。加入 0.14 mL pH=5.0 的磷酸缓冲溶液, 加入 0.014 mg 纤维素酶, 在 70 °C 下酶解 2 h, 1 mol/L NaOH 灭活。加入显色剂, 在 510 nm 下测定吸光度, 计算得率。

2.3.2 超声时间对香菇柄中总黄酮得率的影响

称取 6 份 1.0 g 香菇柄粉末, 加入 20 mL 体积分数为 70% 的乙醇, 在功率为 240 W、温度为 55 °C 的超声清洗器中分别提取 10、20、30、40、50、60 min。加入 0.14 mL pH=5.0 的磷酸缓冲溶液, 加入 0.014 mg 纤维素酶, 在 70 °C 下酶解 2 h, 1 mol/L NaOH 灭活。加入显色剂, 在 510 nm 下测定吸光度, 计算得率。

2.3.3 超声功率对香菇柄中总黄酮得率的影响

称取 5 份 1.0 g 香菇柄粉末, 加入 20 mL 体积分数为 70% 的乙醇, 分别在功率为 160、200、240、280、320 W, 温度为 55 °C 的超声清洗器中提取 30 min。加入 0.14 mL pH=5.0 的磷酸缓冲溶液, 加入 0.014 mg 纤维素酶, 在 70 °C 下酶解 2 h, 1 mol/L NaOH 灭活。加入显色剂, 在 510 nm 下测定吸光度, 计算得率。

2.3.4 酶用量对香菇柄中总黄酮得率的影响

称取 5 份 1.0 g 香菇柄粉末, 加入 10 mL 体积分数为 70% 的乙醇, 在功率为 240 W、温度为 55 °C 的超声清洗器中提取 30 min。加入 0.14 mL pH=5.0 的磷酸缓冲溶液, 分别加入 0.010、0.012、0.014、0.016、0.018 mg 的纤维素酶, 在 70 °C 下酶解 2 h, 1 mol/L NaOH 灭活。加入显色剂, 在 510 nm 下测定吸光度, 计算得率。

2.4 Box-Behnken 响应面法优化实验设计

综合考虑单因素试验结果, 选取响应面分析的实验因素, 采用响应面法试验设计优化香菇柄中总黄酮的提取工艺参数。称取 1 g 香菇柄粉末, 按试验方案中的条件提取 3 次, 并测定总黄酮得率。

2.5 数据处理与分析

每次试验重复 3 次, 采用 Excel 2013、SPSS 17.0、Design-Expert 8.05 和 MathType 6.7 软件对试验结果进行统计分析。

3 结果与分析

3.1 单因素实验结果

3.1.1 乙醇体积分数对香菇柄中总黄酮得率的影响

考察不同乙醇体积分数对香菇柄中总黄酮得率的影响, 结果见图 2。通过方差分析可知, 乙醇体积分数对香菇柄总黄酮得率的影响极显著($P < 0.01$)。由图 2 可知, 随着乙醇体积分数的增加, 总黄酮得率增加, 在乙醇体积分数为 75% 时, 总黄酮得率达到最大, 当乙醇的体积分数高于 75% 时, 总黄酮得率趋于稳定, 乙醇体积分数对总黄酮得

率的影响不显著($P>0.05$)。原因可能是乙醇体积分数较高时, 香菇柄中的总黄酮已提取接近完全, 而其中的醇溶性和脂溶性杂质较少, 对总黄酮得率影响不大。因此, 考虑到提取效果和原料用量, 选用体积分数为 75% 的乙醇较为合适。

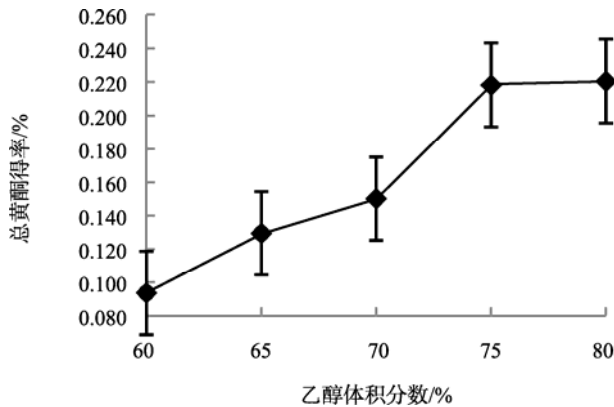


图 2 乙醇体积分数对总黄酮得率的影响($n=3$)

Fig. 2 Effect of ethanol volume fraction on yield of total flavonoids ($n=3$)

3.1.2 超声时间对香菇柄中总黄酮得率的影响

考察不同超声时间对香菇柄中总黄酮得率的影响, 结果见图 3。通过方差分析可知, 超声时间对香菇柄中总黄酮得率影响极显著($P<0.01$)。由图 3 可知, 随着超声时间的增加, 总黄酮的得率增加, 在 20 min 时总黄酮的得率达到最大, 继续增加超声时间, 总黄酮的得率下降。可能的原因是超声具有较强的机械效应, 有利于破坏香菇柄的细胞壁使总黄酮浸出, 在 60 min 时总黄酮浸出完全; 时间过长, 会引起黄酮结构的变化而使提取率降低, 因此选取超声时间为 20 min。

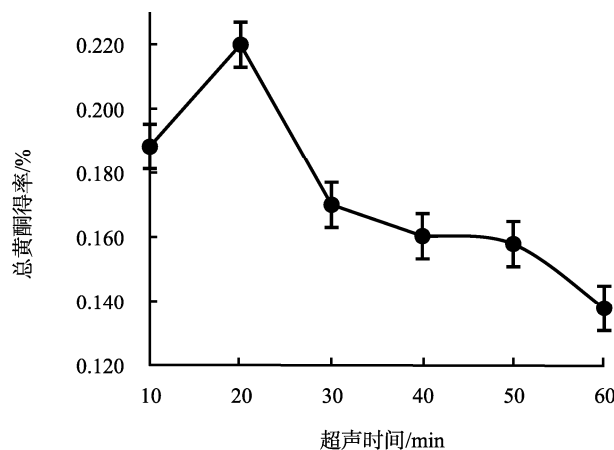


图 3 超声时间对总黄酮得率的影响($n=3$)

Fig. 3 Effect of ultrasonic time on the yield of total flavonoids ($n=3$)

3.1.3 超声功率对香菇柄中总黄酮得率的影响

考察不同超声功率对香菇柄中总黄酮得率的影响, 结果见图 4。通过方差分析可知, 超声功率对香菇柄中总黄酮得率的影响极显著($P<0.01$)。由图 4 可知, 超声功率在 240 W 时总黄酮得率达到最大值。小于 240 W 时, 随着超声功率的增大, 总黄酮的得率增加。大于 240 W 时, 随着超声功率的增大, 总黄酮得率下降。原因可能是黄酮类化合物具有 2-苯基色原酮(flavone)结构, 提高超声功率有利于黄酮类化合物的浸出, 但较高的功率对黄酮类化合物分子的活性有一定破坏作用, 影响稳定性从而使得率降低。因此, 选择超声功率为 240 W。

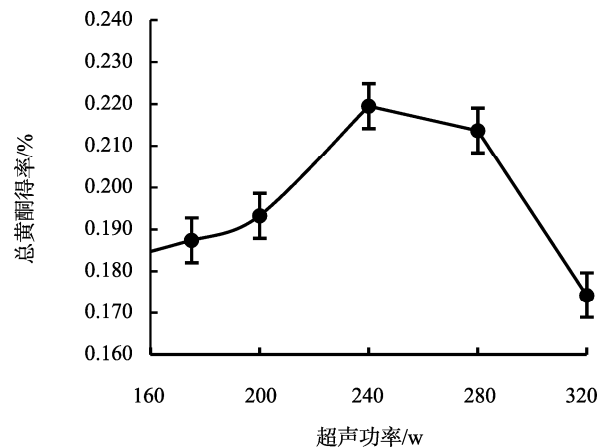


图 4 超声功率对总黄酮得率的影响($n=3$)

Fig. 4 Effect of ultrasonic power on the yield of total flavonoids ($n=3$)

3.1.4 酶用量对香菇柄中总黄酮得率的影响

考察不同酶用量对香菇柄中总黄酮得率的影响, 结果见图 5。通过方差分析可知, 酶用量对香菇柄中总黄酮得率的影响极显著($P<0.01$)。由图 5 可知, 随着酶用量的增加, 总黄酮得率增加, 在酶用量为 0.014 mg 时, 总黄酮得率达到最大, 之后趋于稳定, 酶用量对总黄酮得率的影响不显著($P>0.05$)。纤维素酶起到破坏香菇柄细胞壁的作用, 能够加快总黄酮的浸出。酶的用量越多, 越多的底物被结合, 增大了总黄酮的得率。纤维素酶达到一定量时, 底物被结合完全, 因此总黄酮的量不再增加。综合考虑经济因素, 选择酶用量为 0.014 mg。

3.2 Box-Behnken 响应面法优化提取工艺

3.2.1 响应面试验及其结果分析

根据单因素试验结果, 进行响应面优化香菇柄中黄酮类化合物的超声波辅助酶法提取试验, 以总黄酮得率(mg/g)为响应值 Y , 其因素水平及编码见表 1, 试验方案及结果见表 2 和表 3。

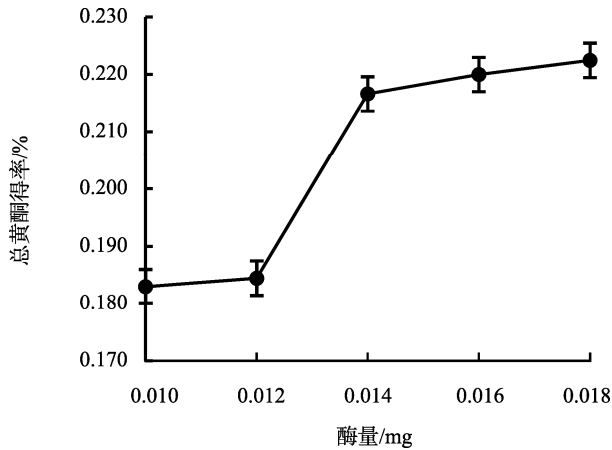


图 5 酶量对总黄酮得率的影响(n=3)

Fig. 5 Effect of the amount of enzyme on the yield of total flavonoids (n=3)

表 1 响应面分析因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface analysis

水平	X ₁ : 乙醇浓度 (%)	X ₂ : 超声时间 (min)	X ₃ : 超声功率 (W)	X ₄ : 酶量 (mg)
-1	70	10	200	0.012
0	75	20	240	0.014
1	80	30	280	0.016

应用 Design-Expert 8.05 软件对试验数据进行多元回归拟合, 由于 X₁X₂、X₁X₃、X₂X₃、X₃X₄、X₃X₃ 之间交互作用的显著性 P>0.05, 故在建立模型时去除, 得到香菇柄总黄酮得率与乙醇浓度(X₁)、超声时间(X₂)、超声功率(X₃)和酶量(X₄)的二次回归模型为:

$$Y = +3.84 + 0.094X_1 - 0.11X_2 - 0.17X_3 - 0.18X_4 + 0.33X_1X_4 - 0.24X_2X_4 - 0.25X_1^2 - 0.41X_2^2 - 0.36X_4^2 \quad (2)$$

从模型可以看出, 影响香菇柄总黄酮得率的因素大小顺序为: 酶量>超声功率>超声时间>乙醇浓度。应用 Design-Expert 8.05 软件, 进行方差分析可得, 模型的 R²=0.9191, 该模型有非常高的显著性(P<0.001), 且失拟项不显著(P=0.1385>0.05), 表明该模型能够对香菇柄总黄酮得率进行准确的预测和分析。调整确定系数为 R_{Adj}²=0.8383, 模型拟合程度良好, 可以用来确定和预测香菇柄总黄酮的提取工艺条件。

3.2.2 响应曲面图及其分析

通过 Design-Expert 8.0.5 软件分析, 获得因素交互作用的响应曲面图(见图 6~图 7)。由响应曲面分析得到最佳工艺条件为: 超声功率 280 W、超声时间 20 min、乙醇体积分数 75%、酶量 0.012 mg, 此时总黄酮得率为 1.673 mg/g。采用上述工艺重复 3 次实验, 测得总黄酮得率的平均值为 1.671 mg/g。与理论预测值的相对误差为-0.09%, 实际测定值与理论测定值基本吻合, 表明采用响应面优化的工艺参数是可靠的。

表 2 响应面分析试验设计及结果

Table 2 Design and results of response surface analysis

试验号	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y(总黄酮提取率, mg/g)
1	0	0	-1	-1	1.945
2	-1	-1	0	0	1.595
3	-1	0	0	-1	1.815
4	1	-1	0	0	1.665
5	1	0	0	-1	1.595
6	0	0	1	-1	1.670
7	0	1	1	0	1.660
8	0	0	0	0	1.900
9	0	1	0	1	1.345
10	1	0	-1	0	2.000
11	-1	1	0	0	1.375
12	0	0	-1	1	1.540
13	0	0	0	0	1.885
14	0	-1	0	1	1.715
15	0	0	1	1	1.485
16	-1	0	-1	0	1.810
17	0	-1	0	-1	1.545
18	0	0	0	0	1.870
19	0	-1	1	0	1.580
20	0	-1	-1	0	1.815
21	1	0	0	1	1.760
22	0	1	-1	0	1.705
23	0	0	0	0	1.980
24	0	0	0	0	1.955
25	1	1	0	0	1.540
26	-1	0	1	0	1.735
27	1	0	1	0	1.650
28	-1	0	0	1	1.320
29	0	1	0	-1	1.650

从图 6 的等高线图可以看出, 沿酶量轴向等高线密集, 而乙醇浓度轴向等高线相对稀疏, 说明酶量对提取率峰值的影响比时间大, 等高线呈椭圆形, 说明 2 种因素的交互作用较显著。从图 6 的响应面图可以看出, 酶量对香菇柄

表 3 响应面结果方差分析表
Table 3 Analysis of response surface variance table

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值	显著性
模型	14	3.61	0.26	11.37	<0.0001	**
X_1	1	0.11	0.11	4.68	0.0483	*
X_2	1	0.14	0.14	6.04	0.0276	*
X_3	1	0.36	0.36	15.76	0.0014	**
X_4	1	0.37	0.37	16.44	0.0012	**
X_1X_2	1	0.0087	0.0087	0.38	0.5462	
X_1X_3	1	0.0750	0.0750	3.31	0.0903	
X_1X_4	1	0.4300	0.4300	19.06	0.0006	**
X_2X_3	1	0.0370	0.0370	1.62	0.2236	
X_2X_4	1	0.2300	0.2300	10.02	0.0069	**
X_3X_4	1	0.0480	0.0480	2.12	0.1676	
X_1^2	1	0.3900	0.3900	17.39	0.0009	**
X_2^2	1	1.1100	1.1100	48.95	<0.0001	**
X_3^2	1	0.0260	0.0260	1.14	0.3046	
X_4^2	1	0.8600	0.8600	37.97	<0.0001	**
总残差	14	0.320	0.023			
失拟残差	10	0.280	0.028	3.17	0.1385	不显著
纯误差	4	0.0360	0.0089			
总和	28	3.92				

注: **表示差异极显著($P < 0.01$); *表示差异显著($P < 0.05$)。

黄酮提取率的影响较显著, 曲面较陡, 随着酶量的增加, 提取率经过一个先缓慢升高, 然后快速降低的过程; 乙醇浓度对香菇柄黄酮提取率的影响不太显著, 曲面较缓和, 并且随着时间的延长, 提取率经过一个先升高后降低的过程, 原因可能是乙醇体积分数较低时含水量较高, 容易将细胞中的蛋白质、糖类而易溶于水的物质提取出来, 由于提取液较黏稠从而影响了黄酮的快速扩散溶出, 而高体积分数的乙醇溶液使一些醇溶性杂质的溶出量增加从而与黄酮类化合物竞争, 导致黄酮提取率降低。

从图 7 的等高线图可以看出, 沿酶量轴向等高线密集, 而超声时间轴向等高线相对稀疏, 说明酶量对提取率峰值的影响比超声时间大, 等高线呈椭圆形, 说明 2 种因素的交互作用较显著。从图 7 的响应面图可以看出, 酶量对香菇饼总黄酮提取率的影响较显著, 曲面较陡, 随着纤维素酶用量的增加, 提取率经过一个先缓慢升高然后快速降低的过程; 超声时间对香菇柄中总黄酮提取率的影响不太显著, 曲面较缓和, 并且随着时间的延长, 提取率经过一个先升高后降低的过程, 原因可能是超声具有较强的机械效应, 有利于破坏香菇柄的细胞壁使总黄酮浸出, 时间过长则会引起黄酮结构的变化而使提取率降低。

4 讨论与结论

纤维素酶-超声法提取香菇柄中黄酮类化合物有操作简便、耗能低的优点, 超声波是利用空化技术即一定的超声波作用于溶液之中, 使液体中尺寸适宜的气泡发生共振现象, 加之纤维素酶对于细胞壁的溶解和强烈的冲击波撞击, 使得细胞壁大幅度破裂, 有效成分溶出且体系温度不会有剧烈波动, 减少对于生物活性成分的破坏, 同时采用乙醇做浸提剂无毒副作用, 且具有经济环保的特点, 以香菇工业中废弃的香菇柄为原料实现了废弃资源的利用, 为香菇农产品的深加工提供了新的思路。

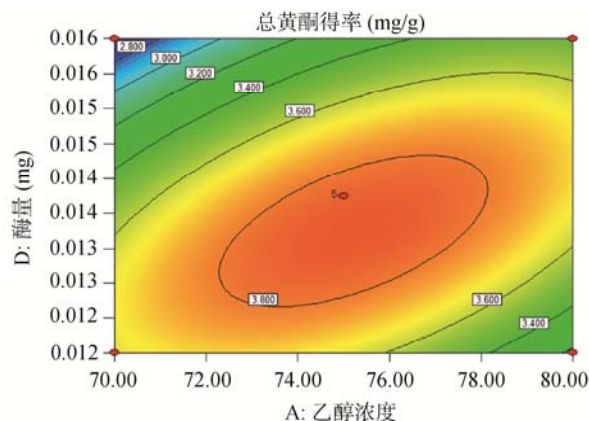
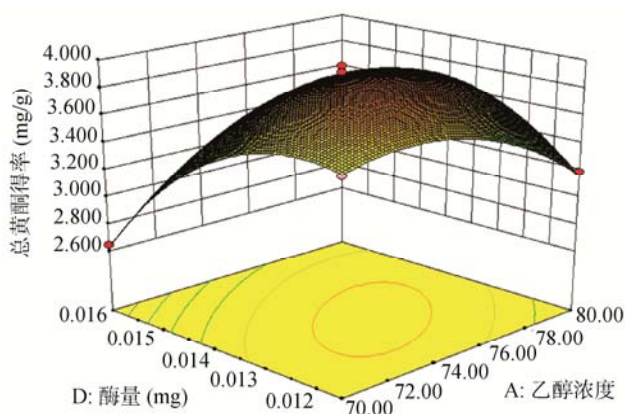


图 6 乙醇浓度与酶量交互作用对香菇柄黄酮提取率影响的等高线图和响应面图

Fig. 6 Response surface graph and contour map for effects of ethanol concentration and enzyme dosage on extraction rate of flavonoids in stem of *Lentinus edodes*

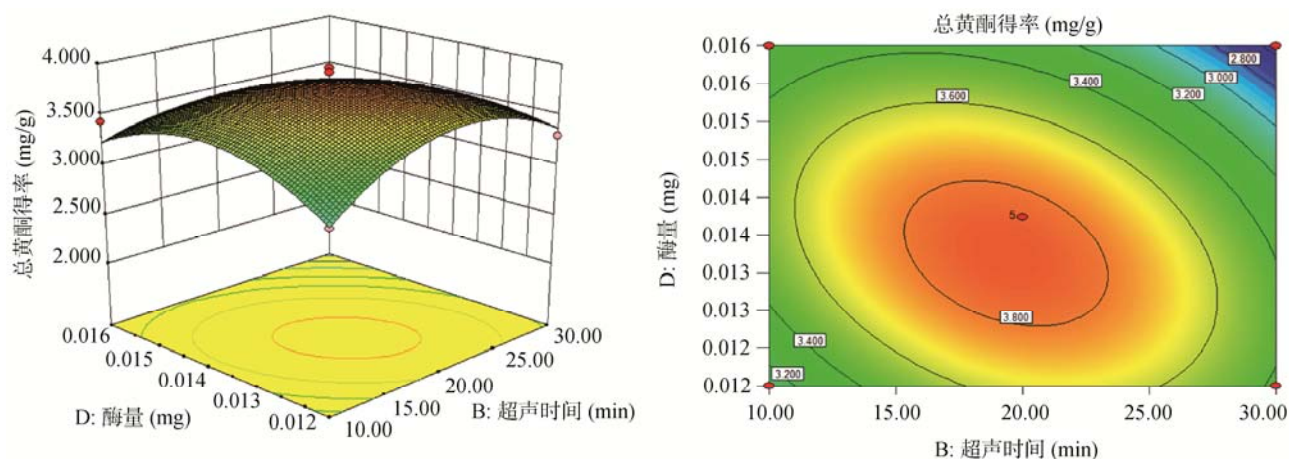


图 7 超声时间和酶量交互作用对香菇柄黄酮提取率影响的等高线图和响应面图

Fig. 7 Response surface graph and contour map for effects of ultrasonic time and enzyme dosage on extraction rate of flavonoids in stem of *Lentinus edodes*

通过响应面法优化得到香菇柄中黄酮类化合物超声波辅助酶法提取的最佳工艺条件为：超声功率 280 W、超声时间 20 min、乙醇体积分数 75%、酶量 0.012 mg，在此条件下总黄酮得率为 1.673 mg/g，实际测定值与理论测定值的相对误差为-0.09%，二者基本吻合，为香菇柄中的黄酮类化合物的工业化提取提供了参考。

参考文献

- [1] 刘存芳, 田光辉, 赖普辉. 香菇柄中营养成分的开发与利用综述[J]. 科技信息, 2008, (1): 14-35.
Liu CF, Tian GH, Lai PH. Review in the development and utilization of nutrients in stem of *Lentinus edodes* [J]. Sci Technol Inf, 2008, (1): 14-35.
- [2] 戴龙. 香菇柄纤维低聚化及其产品的研制[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014.
Dai L. Oligomerization of *Lentinus edodes* handle fiber and the development of product [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2014.
- [3] Morimoto M, Tanimoto K, Nakano S, et al. Insect antifeedant activity of flavones and chromones against *Spodoptera litura*. [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(2): 389-393.
- [4] 曾晓丽, 谢燕, 袁秀荣. 黄酮类化合物体内过程的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2010, 9(19): 750-754.
Zeng XL, Xie Y, Yuan XR. Progress of flavonoids in vivo process [J]. Chin J New Drug, 2010, 9(19): 750-754.
- [5] Scalese M, Lanza M, Bonina F, et al. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes [J]. Free Radical Biol Med, 1995, 19(4): 481-486.
- [6] 吴肖虎. 几种黄酮类化合物的抗氧化性研究[D]. 广西: 广西师范学院, 2014.
Wu XH. Theoretical study on antioxidant activity of several kinds of flavonoids [D]. Guangxi: Guangxi Teachers Education University, 2014.
- [7] 石月锋, 张娟梅, 袁仲. 八角茴香总黄酮提取工艺研究[J]. 中国调味品, 2014, 39(2): 51-61.
Shi YF, Zhang JM, Yuan Z. Study on the extraction technique of total falconoid of star anise [J]. China Condim, 2014, 39(2): 51-61.
- [8] 王颖, 石亚铜, 都宏霞. 绿豆黄酮提取技术研究及进展[J]. 广东化工, 2016, 43(1): 86-97.
Wang Y, Shi YT, Du HX. Technology research and development of mung bean flavonoids [J]. Guangdong Chem Ind, 2016, 43(1): 86-97.
- [9] 王新睿, 康玉婷, 王雨婷, 等. 双水相体系萃取槐米中芸香甙的研究[J]. 广州化工, 2016, 44(13): 100-101.
Wang XR, Kang YT, Wang YT, et al. Extraction of the rutin from flos sophorae by aqueous two-phase system [J]. Guangzhou Chem Ind, 2016, 44(13): 100-101.
- [10] 李大海, 李妍, 许晖. 比较超声提取和双水相萃取荷叶总黄酮的研究[J]. 广州化工, 2014, 42(16): 59-61.
Li DH, Li Y, Xu H. Comparative study on the ultrasonic extraction and aqueous two-phase extraction of flavonoids from lotus leaf [J]. Guangzhou Chem Ind, 2014, 42(16): 59-61.
- [11] 赵二芳, 盖青青, 张海容. 微波萃取沙棘黄酮的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(12): 148-150.
Zhao EL, Gai QQ, Zhang HR. Investigation of microwave assisted extraction of seabuckthorn flavonoids [J]. Food Ferment Ind, 2004, 30(12): 148-150.
- [12] Yue ME, Jiang TF, Shi YP. Fast determination of flavonoids in *Hippophae rhamnoides* and its medicinal preparation by capillary zone electrophoresis using dimethyl- β -cy-clodextrinasmodifier [J]. Talanta, 2004, (62): 695-699.
- [13] 姚莉, 戴远威, 何敏, 等. 纤维素酶辅助醇提荔枝枝核黄酮的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(24): 69-72.
Yao L, Dai YW, He M, et al. Study on process of cellulase assisted ethanol extraction of litchi seed flavonoids [J]. Food Res Dev, 2015, 36(24): 69-72.
- [14] 王晓, 耿岩玲, 李福伟, 等. 酶法提取牡丹花总黄酮[J]. 山东科学, 2005, (4): 14-17.

- Wang X, Geng YL, Li FW, *et al.* Enzymatic extraction of total flavonoids from *Paeonia suffruticosa* Andr [J]. Shandong Sci, 2005, (4): 14–17.
- [15] 萨茹丽. 沙葱黄酮提取工艺优化、结构鉴定及其相关生物活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
- Sa RL. Studies on extraction process, structural identification and related biological activity of allium mongolicum regel flavonoids [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014.
- [16] Wei LY, Wang JH, Zheng XD, *et al.* Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers [J]. J Food Eng, 2007, 79(3): 1087–1093.
- [17] 周燕芳, 丁利君. 超声波辅助提取艾叶黄酮的工艺研究[J]. 食品与机械, 2006, (4): 39–41.
- Zhou YF, Ding LJ. Research on the extraction of flavone from artemisiae argyi with ultrasonic wave cooperated method [J]. Food Mach, 2006, (4): 39–41.
- [18] 王光霞, 李国婧, 高雅黛, 等. 超声波辅助提取柠条叶中芦丁含量的测定[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2015, 36(1): 65–67.
- Wang GX, Li GJ, Gao YD, *et al.* The determination of rutin in Caragana intermedia Kuang et H.C.Fu by ultrasonic assisted extraction [J]. Inner Mongolia Agric Univ (Nat Sci Ed), 2015, 36(1): 65–67.
- [19] 王丽霞, 刘坤. 超声波辅助提取玉米须黄酮的工艺[J]. 北方园艺, 2014, (6): 137–139.
- Wang LX, Liu K. Extraction technology of flavonoids from corn silk by ultrasonic-assisted method [J]. North Horticult, 2014, (6): 137–139.
- [20] 李侠, 马艳梅, 孙慧娟, 等. 超声波-双酶法协同提取玉米须黄酮工艺的优化[J]. 西北农林科技大学学报, 2014, 42(4): 221–227.
- Li X, Ma YM, Sun HJ, *et al.* Optimization of ultrasonic-double enzymatic synergistic extraction of flavonoids from corn silk [J]. J Northwest A F Univ, 2014, 42(4): 221–227.
- [21] 阎克里, 朱秀卿, 赵丽. 红枣中总黄酮与芦丁含量测定及关系研究[J]. 中国药物与临床, 2009, 9(3): 222–223.
- [22] Yan KL, Zhu XQ, Zhao L. Study on determination of total flavonoids and rutin content and relationship of red dates [J]. Chin Remed Clin, 2009, 9(3): 222–223.

(责任编辑: 刘 丹)

作者简介



杨 萌, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 969480130@qq.com



徐艳阳, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品营养与安全。

E-mail: xuyy@jlu.edu.cn