

超声波辅助低共熔溶剂提取高粱麸皮多酚的工艺优化及其抗氧化活性

李洁茹, 米雪, 潘美美, 吴艺臻, 苏静*

(山西农业大学食品科学与工程学院, 山西晋中 030800)

摘要: 为实现高粱麸皮多酚的开发应用, 该研究利用超声波辅助低共熔溶剂 (Deep Eutectic Solvent, DES) 法提取高粱麸皮多酚。首先, 从 16 种 DESs 中筛选提取高粱麸皮多酚得率最高的 DES 体系, 其次, 基于单因素试验结果, 采用响应面法确定高粱麸皮多酚的最优提取条件, 并考察高粱麸皮多酚的抗氧化活性。结果表明, 提取高粱麸皮多酚的最佳溶剂为 1,3-丁二醇-丙二酸, 溶剂摩尔比 1:1, 含水量 20% (V/V), 在液料比 1:26 g/mL, 超声温度 47 °C, 超声时间 50 min 时, 高粱麸皮多酚得率为 19.47 mg/g, 分别是 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取物的 2.21 倍和 1.68 倍。DES 提取物对 2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)阳离子自由基、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基、超氧阴离子和羟基自由基的半数抑制浓度分别为 105.85、122.94、145.42、146.29 g/mL, 均显著低于 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取物 ($P<0.05$)。多酚含量相同时, DES 提取物的铁离子还原能力显著高于 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取物 ($P<0.05$)。研究表明, 超声辅助 DES 法能够高效提取具有高抗氧化活性的高粱麸皮多酚, 该研究有助于高粱麸皮多酚的绿色、高效提取以及高值化应用。

关键词: 高粱麸皮; 多酚; 低共熔溶剂; 超声辅助提取; 响应面法; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2025)01-240-250

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.1.1574

Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction with Deep Eutectic Solvent and Study of Antioxidant Activity of Polyphenols from Sorghum Bran

LI Jieru, MI Xue, PAN Meimei, WU Yizhen, SU Jing*

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030800, China)

Abstract: To use polyphenols from sorghum bran, this study employed ultrasonic-assisted deep eutectic solvent (DES) extraction method. The most efficient DES system for extracting polyphenols from sorghum bran was selected from 16 candidates. Subsequently, based on the results of single-factor experiments, the optimal extraction conditions for sorghum bran polyphenols were determined using the response surface methodology. Finally, the antioxidant activity of the extracted polyphenols for sorghum bran was assessed. The results indicate that the optimal solvent for extracting polyphenols from sorghum bran was 1,3-butylene glycol-malonic acid with a solvent molar ratio of 1:1 and water content of 20% (V/V).

引文格式:

李洁茹,米雪,潘美美,等.超声波辅助低共熔溶剂提取高粱麸皮多酚的工艺优化及其抗氧化活性[J].现代食品科技, 2025,41(1):240-250.

LI Jieru, MI Xue, PAN Meimei, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction with deep eutectic solvent and study of antioxidant activity of polyphenols from sorghum bran [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(1): 240-250.

收稿日期: 2023-12-29

基金项目: 山西农业大学科技创新基金项目 (2017YJ34)

作者简介: 李洁茹 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然活性物质开发与利用, E-mail: 1503132231@qq.com

通讯作者: 苏静 (1985-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 药食同源功能食品活性成分机理研究及产品开发, E-mail: sujing200309@163.com

Under the conditions of solid-liquid ratio of 1:26 g/mL, ultrasonic temperature of 47 °C, and ultrasonic time of 50 min, the extraction yield of sorghum bran polyphenols was 19.47 mg/g, which was 2.21 and 1.68 times higher than that obtained by 70% (V/V) ethanol and 70% (V/V) methanol, respectively. The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) values of DES extract against 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) cation radical, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical, superoxide anion, and hydroxyl radical were 105.85, 122.94, 145.42, and 146.29 g/mL, respectively, which were significantly lower than those of the 70% (V/V) ethanol and 70% (V/V) methanol extracts ($P < 0.05$). At equivalent polyphenol concentrations, the ferric reducing ability of plasma (FRAP) value of the DES extract was significantly higher than that of the 70% (V/V) ethanol and 70% (V/V) methanol extracts ($P < 0.05$). These results indicate that the ultrasonic-assisted DES extraction method effectively extracts polyphenols from sorghum bran with high antioxidant activity. This research contributes to the green, efficient extraction and high-value application of polyphenols from sorghum bran.

Key words: sorghum bran; polyphenols; deep eutectic solvents; ultrasound-assisted extraction; response surface methodology; antioxidant activity

高粱 (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) 作为我国重要的旱地作物, 主要分布于东北、华北和西南三大地区。据 2021 年的数据显示, 全国高粱种植面积达 71.32 万 hm^2 , 年总产量为 337.3 万 t, 资源十分丰富^[1,2]。高粱麸皮是高粱籽粒经碾白工艺获得的主要副产品, 约占籽粒质量的 20%^[3]。然而, 目前高粱麸皮主要被用作饲料或发酵原料等, 其高值化利用还有待提升。研究表明, 高粱麸皮内富含酚类物质, 其多酚含量相比种仁高出 6 倍以上^[3]。这些酚类物质主要包括酚酸、黄酮类化合物、花青素、浓缩单宁^[4]。与小麦、大米和玉米等其他谷物麸皮相比, 高粱麸皮多酚具有更高的抗氧化活性^[2]。同时, 高粱麸皮多酚也被证实具有多种健康益处, 如抗炎症、降低血糖水平、防止血栓形成和抵御癌症等^[5]。因此, 高粱麸皮的综合资源化利用是目前研究的热点。

目前, 高粱麸皮多酚的提取方式主要包括固液浸提法、超声波辅助提取法、微波辅助提取法和亚临界水萃取技术等^[6,7]。其中, 固液浸提法提取效率低, 有机溶剂易污染环境。微波辅助提取不适用于提取对微波辐射不敏感的物质, 亚临界水萃取技术的设备成本高且操作复杂。相比之下, 超声波辅助提取利用超声波诱导空化现象, 能够促进细胞壁破裂和溶剂渗透, 提取效率高, 设备要求低, 操作简便, 因此是目前提取多酚最常用的方法。近年来, 为了满足可持续发展的需求, 环保技术辅助绿色溶剂在高效提取多酚物质方面备受关注。低共熔溶剂是一种绿色安全的提取溶剂, 近年来受到广泛的关注。低共熔溶剂由特定摩尔比的氢键供体 (Hydrogen Bond Donor, HBD) 和氢键受体 (Hydrogen Bond

Acceptor, HBA) 组成。这些溶剂组分通过氢键、静电力和分子间相互作用连接, 在室温下以稳定的液态形式存在。同时, 该溶剂表现出低挥发性、制备简便、可回收重复利用, 较高的生物活性物质提取能力和良好的生物相容性等优点, 因此可以很好地替代传统提取溶剂^[8]。低共熔溶剂供体和受体之间的氢键相互作用, 也能与酚类化合物发生分子间相互作用力, 从而增强萃取物的溶解能力^[9]。刘玉坤等^[10]使用左旋肉碱和脯氨酸构建的 DES 体系对海藻多酚进行提取, 其多酚得率是乙醇提取物的 10 倍。另外, 刘佳怡等^[11]采用超声辅助 DES[n (氯化胆碱) :n (苹果酸) =1:1] 提取紫丁香花多酚, 结果表明其提取量分别是常规溶剂水、60% (V/V) 乙醇和 60% (V/V) 甲醇提取的 1.70、1.39、1.47 倍。

为建立一种更加绿色高效的高粱麸皮多酚提取方法, 提高高粱麸皮多酚的得率。本研究首先从 16 种 DES 中筛选出适合高粱麸皮多酚提取的 DES 体系, 其次, 以多酚得率为指标, 进行单因素试验, 然后采用响应面法优化高粱麸皮多酚的提取条件, 最后考察高粱麸皮多酚提取物的抗氧化性能, 以期为高粱麸皮多酚的绿色、安全提取以及高值化应用提供一定的理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

高粱麸皮购自晋中市太谷区当地农贸市场, 高粱麸皮经自然晒干, 无任何昆虫损害或真菌感染。

丙二酸、奎诺二甲基丙烯酸酯 ((±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic Acid,

Trolox), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 1,3-丁二醇, 天津大茂化学试剂厂; 2,2-联氨基双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid), ABTS), 北京索莱宝科技有限公司; 1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH), 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司; 其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

HC-5002 电子天平, 慈溪市华徐衡器实业有限公司; QJ-04 多功能粉碎机, 上海兆申科技有限公司; UV-1200 型紫外可见分光光度计, 上海美普达仪器有限公司; SB-5200 DTDN 超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; MS-H280-Pro 磁力加热搅拌器, 上海科雅生物技术有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 DES的制备

根据表1中所列摩尔比计算并称取相应质量的氢键受体和氢键供体于烧杯内^[12-14], 随后放入转子并将烧杯封口, 将磁力加热搅拌器设置为 80 °C, 磁力搅拌加热 1~2 h, 直至溶液呈现均匀透明的状态, 置于室温下静置 12 h, 待溶液状态保持稳定后备用。

1.3.2 最佳低共熔溶剂体系的确定

1.3.2.1 DES 的筛选

高粱麸皮经粉碎、过筛(80目)后制成高粱麸皮粉末, 在 4 °C 冰箱内避光封存。

精确称量 0.20 g 高粱麸皮粉末于 15 mL 离心管中, 添加 4 mL 含水量为 30% (V/V) 的低共熔溶剂(DES-1~DES-16), 并以 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇作为对照。样品混合均匀后进行超声波辅助提取, 设定超声功率为 200 W、超声温度为 40 °C, 超声时间为 30 min^[11]。提取液分别在 10 000 r/min 下离心 5 min, 收集上清液, 4 °C 保存待用。

1.3.2.2 总多酚得率的测定

采用酒石酸亚铁比色法测定总多酚含量^[15], 取 0.1 mL 适当稀释后的提取液与 0.4 mL 的去离子水混合, 随后加入 0.5 mL 酒石酸亚铁溶液和 pH 值为 7.5 的磷酸缓冲液 1.5 mL。利用紫外可见分光光度计在 540 nm 波长处测定吸光度。以不同浓度没食子酸标准溶液(10~50 mg/L)代替样液制作标准曲线, 以没食子酸浓度(x)为横坐标、吸光度值(y)为纵坐标, 得到没食子酸标准曲线回归方程为 $y=19.435x-0.0209$, 相关系数 $R^2=0.9983$ 。多酚得率以没食子酸当量表示, 单位为 mg/g。总多酚得率计算见公式(1)。

表 1 不同低共熔溶剂的组成

Table 1 Composition of different DESs

序号	DES	摩尔比	氢键受体	氢键供体	氢键受体类型	氢键供体类型
DES-1	氯化胆碱-葡萄糖	1:1	氯化胆碱	葡萄糖		糖类
DES-2	氯化胆碱-丙二酸	1:2	氯化胆碱	丙二酸		羧酸类
DES-3	氯化胆碱-乳酸	1:1	氯化胆碱	乳酸	胆碱类	羧酸类
DES-4	氯化胆碱-乙二醇	1:2	氯化胆碱	乙二醇		多元醇类
DES-5	氯化胆碱-丙三醇	1:2	氯化胆碱	丙三醇		多元醇类
DES-6	乳酸-乙二醇	1:1	乳酸	乙二醇		多元醇类
DES-7	乳酸-甘氨酸	4:1	乳酸	甘氨酸		羧酸类
DES-8	乳酸-醋酸钠	3:1	乳酸	醋酸钠	羧酸类	金属盐类
DES-9	乳酸-醋酸铵	3:1	乳酸	醋酸铵		金属盐类
DES-10	甜菜碱-乳酸	1:1	甜菜碱	乳酸		羧酸类
DES-11	甜菜碱-乙酰丙酸	1:2	甜菜碱	乙酰丙酸	季铵碱类	羧酸类
DES-12	苹果酸-乙二醇	1:1	苹果酸	乙二醇		多元醇类
DES-13	苹果酸-葡萄糖	1:3	苹果酸	葡萄糖		糖类
DES-14	丙二酸-1,3-丁二醇	1:1	丙二酸	1,3-丁二醇	羧酸类	多元醇类
DES-15	脯氨酸-乳酸	1:2	脯氨酸	乳酸		羧酸类
DES-16	脯氨酸-乙酰丙酸	1:2	脯氨酸	乙酰丙酸		羧酸类

$$Y = \frac{C \times V \times n}{M} \quad (1)$$

式中:

Y —多酚得率, mg/g;

C —对照标准曲线测定的多酚质量浓度, mg/mL;

V —溶液体积, mL;

n —稀释倍数;

M —高粱麸皮粉的质量, g。

1.3.2.3 含水量对多酚得率的影响

选用料液比为 1:20 (g/mL), 超声功率为 200 W, 超声温度为 40 °C, 超声时间为 30 min, 以前期筛选出的最佳 DES 作为提取剂, 考察 DES 的含水量 (0%、10%、20%、30%、40%、50%, V/V) 对多酚得率的影响。

1.3.3 单因素对多酚得率的影响

以前期筛选出的最佳 DES 作为提取剂, 考察料液比 (1:10、1:15、1:20、1:30、1:40、1:50, g/mL)、不同的超声温度 (20、30、40、50、60、70 °C)、不同的超声时间 (20、30、40、50、60 min) 对高粱麸皮多酚得率的影响。

1.3.4 响应面试验

基于 1.3.3 单因素试验结果, 遵循 Box-Behnken 中心组合原理 (BBD), 以多酚得率为响应值, 选择料液比 (A)、超声温度 (B)、超声时间 (C) 为自变量, 构建了三因素三水平的响应面优化试验, 具体试验设计见表 2, 并对试验结果进行多元回归分析。为验证试验设计的有效性, 在最佳提取条件下进行三次验证实验。

表 2 Box-Behnken 试验设计中的自变量及水平

Table 2 Independent variables and levels of Box-Behnken experimental design

水平	因素		
	A 料液比(g/mL)	B 提取温度/°C	C 提取时间/min
-1	1:20	40	40
0	1:30	50	50
1	1:40	60	60

1.3.5 DPPH 自由基清除能力

采用 Xu 等^[16]的方法, 并稍作修改。取 100 μ L 样品溶液与 3.90 mL 浓度为 0.06 mmol/L 的 DPPH 溶液混匀, 室温避光 30 min, 在 517 nm 波长处测定溶液的吸光度值 A_i ; 用样品溶剂代替样品溶液作为空白组, 测定吸光度值 A_j 。以 Trolox 作为阳性对

照。根据下式 (2) 计算 DPPH 自由基清除率, 并用 Origin Pro 2021 软件求出 IC_{50} 值。

$$C_1 = (1 - \frac{A_i}{A_j}) \times 100\% \quad (2)$$

式中:

C_1 —DPPH 自由基清除率, %;

A_i —样品组的吸光度值;

A_j —空白组的吸光度值。

1.3.6 ABTS⁺ 自由基清除能力

采用 Meng 等^[17]的方法, 并稍作修改。ABTS 储备液由 7 mmol/L ABTS 溶液和 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液按 1:1 的体积比混合, 室温避光条件下反应 16 h。ABTS 工作液: 将 ABTS 储备液用 80% (V/V) 的乙醇溶液稀释, 使得此溶液的 OD_{734nm} 为 0.700 ± 0.050 。取 500 μ L 样品溶液与 2 mL ABTS 工作液充分混合, 室温避光静置 10 min, 并测定其在 734 nm 处的吸光度值 A_i ; 用样品溶剂代替样品溶液作为空白组, 测定吸光度值 A_j 。以 Trolox 作为阳性对照。根据下式 (3) 计算 ABTS⁺ 自由基清除率, 并用 Origin Pro 2021 软件求出 IC_{50} 值。

$$C_2 = (1 - \frac{A_i}{A_j}) \times 100\% \quad (3)$$

式中:

C_2 —ABTS⁺ 自由基清除率, %;

A_i —样品组的吸光度值;

A_j —空白组的吸光度值。

1.3.7 羟基自由基清除能力

基于 Samsonowicz 等^[18]的方法, 并稍作修改。根据水杨酸 / 铁离子法 (II) 法测定提取物对羟基自由基的清除作用。取 1.60 mL 浓度为 6 mmol/L 的水杨酸乙醇溶液、200 μ L 浓度为 6 mmol/L 的硫酸亚铁溶液和 200 μ L 浓度为 6 mmol/L 的过氧化氢水溶液, 与 500 μ L 样品溶液混匀, 将混合液置于 37 °C 水浴中反应 15 min, 然后测定 510 nm 处的吸光度 A_i ; 用无水乙醇代替过氧化氢溶液作为对照组, 测定吸光度值 A_j ; 用样品溶剂代替样品溶液作为空白组, 测定吸光度值 A_c 。以 Trolox 作为阳性对照。根据下式 (4) 计算羟基自由基的清除率, 并用 Origin Pro 2021 软件求出 IC_{50} 值。

$$C_3 = (1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}) \times 100\% \quad (4)$$

式中:

C_3 —羟基自由基清除率, %;

A_i —样品组的吸光度值;

A_j —对照组的吸光度值;

A_c —空白组的吸光度值。

1.3.8 超氧阴离子清除能力

基于王纪辉等^[19]的方法,并稍作修改。取 2.25 mL pH 值为 8.2 的 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液于离心管中,并在 25 °C 水浴中预热 20 min。分别加入 500 μ L 样液和 200 μ L 浓度为 25 mmol/L 的邻苯三酚溶液,在 320 nm 波长处测定溶液的吸光度值;用无水乙醇代替邻苯三酚作为对照组,测定吸光度值 A_j ;用样品溶剂代替样品溶液作为空白组,测定吸光度值 A_c 。以 Trolox 作为阳性对照。根据下式 (5) 计算超氧阴离子的清除率,并用 Origin Pro 2021 软件求出 IC_{50} 值。

$$C_4 = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}\right) \times 100\% \quad (5)$$

式中:

C_4 —超氧阴离子清除率, %;

A_i —样品组的吸光度值;

A_j —对照组的吸光度值;

A_c —空白组的吸光度值。

1.3.9 铁离子还原能力

基于 Jo 等^[20]的方法,并稍作修改。将 100 μ L 样液加入至 3.10 mL 去离子水中,然后与 1.80 mL FRAP 工作液充分混匀,将混合液置于 37 °C 水浴中反应 30 min,测定 593 nm 波长处的吸光度值。以浓度为 200~1 600 μ mol/L 的 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 水溶液制作标准曲线,根据标准曲线回归方程计算样品的铁离子还原能力,以不同质量浓度高粱麸皮多酚达到同样吸光度值所需的 Fe^{2+} 的微摩尔数表示。

1.4 统计分析

所有实验均进行了三次重复,结果以平均值 \pm 标准偏差呈现。数据整理采用 Excel 和 Origin Pro 2021 软件进行,单因素方差分析使用 SPSS 19.0 软件,响应面试验设计和数据回归分析采用 Design-Expert 8.0.6 软件。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂对高粱麸皮多酚得率的影响

图 1 所示,除氯化胆碱-乳酸、乳酸-醋酸钠、脯氨酸-乙酰丙酸外,其余 DES 体系的多酚得率均

高于传统提取溶剂[70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇],其中 1,3-丁二醇-丙二酸的多酚得率最高。1,3-丁二醇-丙二酸的多酚得率最高可能与氢键受体类型为多元醇类的 DES 具有较低的粘度以及醇羟基与酚羟基能够形成较强分子间氢键有关^[21]。相比氢键受体类型为多元醇类和糖类的 DES,氢键受体类型为羧酸类的 DES 具有更高的极性和较低的 pH 值,从而使 DES 结构更稳定,并提高了对极性化合物的提取效率^[22]。因此选择 1,3-丁二醇-丙二酸作为提取溶剂进行后续优化。

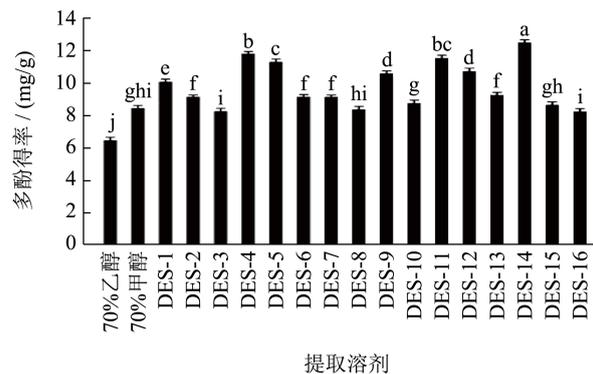


图 1 不同 DESs 对高粱麸皮多酚得率的影响

Fig.1 Effect of different DESs on the yield of polyphenols from sorghum bran

注:不同小写字母表示样品间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 2~5 同。

2.2 DES 含水量对高粱麸皮多酚得率的影响

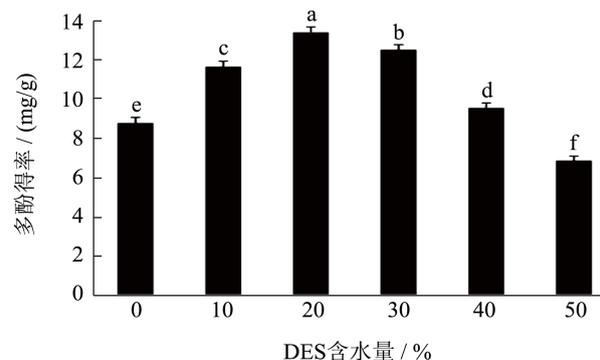


图 2 不同含水量对高粱麸皮多酚得率的影响

Fig.2 Effect of different water content on the yield of polyphenols from sorghum bran

如图 2 所示,随着含水量的增加,多酚得率先增加后下降。当 DES 的含水量小于 20% (V/V) 时,DES 的黏度高,阻碍了多酚从高粱麸皮细胞传质到 DES 介质中的效率。当含水量超过 20% (V/V) 时,多酚得率逐渐下降,这可能是高含水量导致高粱麸

皮多酚和 DES 之间的氢键相互作用降低, 而当含水量高于 50% (V/V) 时, DES 独特的氢键网络断裂, 削弱了提取效果^[23]。当 DES 的含水量为 20% (V/V) 时, 多酚得率最高, 这是由于适当的含水量增强了 DES 的流动性、降低了其表面张力, 增强了溶剂到植物细胞的传质效率, 促进了多酚类物质在 DES 中的溶解。因此, 选择 DES 的含水量为 20% (V/V)。

2.3 料液比对高粱麸皮多酚得率的影响

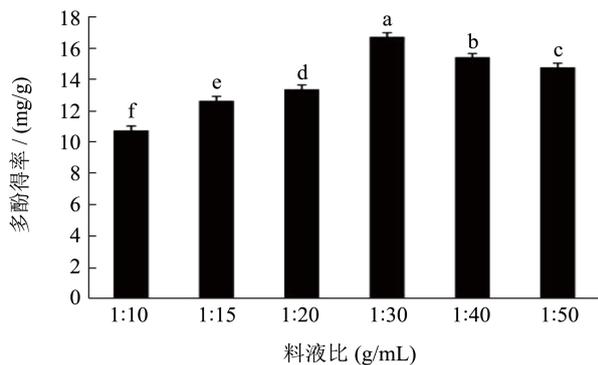


图3 不同料液比对高粱麸皮多酚得率的影响

Fig.3 Effect of different solid-liquid ratio on the yield of polyphenols from sorghum bran

液料比影响了高粱麸皮粉和 DES 之间的接触面积。如图 3 所示, 随着料液比的提高, 多酚得率先增加后下降。当料液比在 1:10 (g/mL) 到 1:30 (g/mL) 范围内, 增加溶剂用量增加了原料和溶剂的接触表面积, 提高了传质推动力, 促进了 DES 与多酚类物质之间的氢键相互作用, 有利于多酚类物质的溶解^[24]。然而, 当料液高于 1:30 (g/mL) 时, 接触面积达到饱和, 增加 DES 比例对多酚的提取效果不利, 使得已吸附的多酚类物质脱附并重新回到提取物中, 造成多酚得率的下降。当 DES 的料液比为 1:30 (g/mL) 时, 多酚得率最高, 因此选择 DES 的料液比为 1:30 (g/mL)。

2.4 超声温度对高粱麸皮多酚得率的影响

如图 4 所示, 随着温度的升高, 多酚得率先增加后下降。当超声温度从 20 °C 升至 50 °C 时, 提高温度会降低 DES 的黏度和表面张力, 增加扩散系数, 加速溶液分子的热运动并提高溶液的流动性, 有助于 DES 深入渗透植物细胞基质, 增加多酚类物质的溶解。然而, 温度高于 50 °C 时, 过高的温度对超声空化效应产生不利影响, 易造成大量自由基的

积累以及对热敏感和易氧化的生物活性化合物的降解, 使得多酚得率下降^[25-27]。因此, 选择 50 °C 的超声温度进行后续研究。

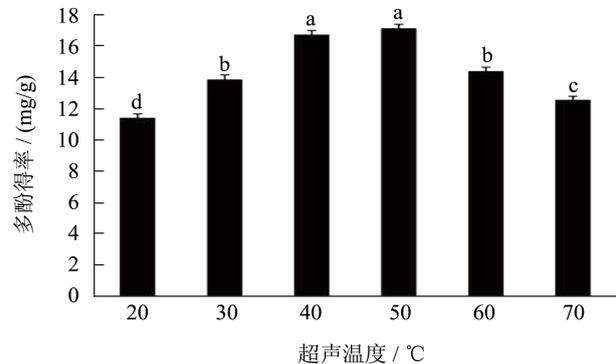


图4 不同提取温度对高粱麸皮多酚得率的影响

Fig.4 Effect of different extraction temperature on the yield of polyphenols from sorghum bran

2.5 超声时间对高粱麸皮多酚得率的影响

如图 5 所示, 随着超声时间的延长, 多酚得率先增加后下降。超声时间在 20~50 min 内, 多酚类化合物的浓度未达到饱和, 增加超声时间会增强细胞的破裂程度, 促进更多胞内活性物质释放到溶液中。当超声时间继续延长, 多酚类化合物的浓度逐渐达到饱和状态, 并且超声空化效应带来的瞬时高温高压使得自由基增加, 可能会导致多酚类物质的氧化, 从而加速了多酚的降解。因此, 超声处理的最佳时间为 50 min。

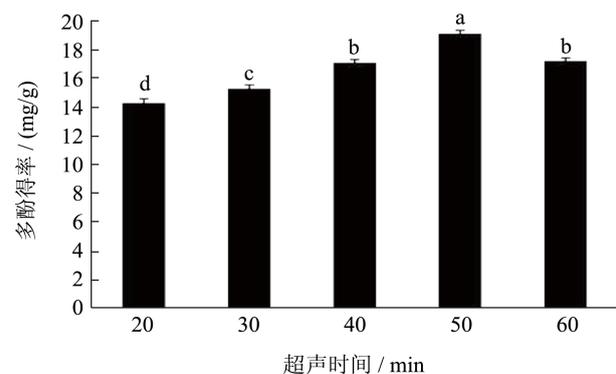


图5 不同提取时间对高粱麸皮多酚得率的影响

Fig.5 Effect of different extraction time on the yield of polyphenols from sorghum bran

2.6 响应面设计优化

依据单因素实验结果, 采用响应面实验进一步优化超声辅助低共熔溶剂提取高粱麸皮多酚的工艺条件。表 3 展示了基于 Box-Behnken 中心组合原

理设计的试验矩阵以及相应的试验数据。该试验矩阵包含了 17 组试验，其中包括 7 个因子点、5 个轴点和 5 个中心点，并且每组试验进行了 3 次平行试验。基于表 3 试验数据，以多酚得率为响应值 (Y)，对 A (料液比)、B (提取温度) 和 C (提取时间) 这三个变量进行了函数拟合。自变量与响应值之间的相关性由以下二次多项式回归模型表示：

$$Y=19.29-1.35A-0.89B+0.37C-0.21AB+0.31AC+0.088BC-1.78A^2-1.19B^2-3.21C^2$$

表 3 高粱麸皮多酚提取响应面优化的独立实验组合以及响应值

Table 3 The independent experimental combinations and response values of response surface optimization for polyphenol extraction from sorghum bran

试验号	A 料液比 (g/mL)	B 提取温度/°C	C 提取时间/min	Y 多酚得率/(mg/g)
1	-1	-1	0	18.04 ± 0.21
2	1	-1	0	15.95 ± 0.17
3	-1	1	0	17.13 ± 0.24
4	1	1	0	14.18 ± 0.14
5	-1	0	-1	15.61 ± 0.16
6	1	0	-1	12.09 ± 0.11
7	-1	0	1	15.90 ± 0.18
8	1	0	1	13.61 ± 0.12
9	0	-1	-1	15.81 ± 0.25
10	0	1	-1	13.40 ± 0.10
11	0	-1	1	16.21 ± 0.19
12	0	1	1	14.15 ± 0.11
13	0	0	0	19.10 ± 0.19
14	0	0	0	19.10 ± 0.24
15	0	0	0	19.68 ± 0.26
16	0	0	0	19.27 ± 0.20
17	0	0	0	19.30 ± 0.21

根据表 4 中的二次多项式模型的方差分析结果和对一次项、二次项、交叉项显著性分析显示。高 F 值 (F=94.02) 和低 P 值 (P<0.000 1) 显示该模型已经达到了显著水平。失拟项不显著

(P=0.155 8>0.05) 表明实验数据精确度高。决定系数 R² 为 0.991 8，这说明该模型有效拟合了实验值，提取体系中约 99.2% 的数据可由此模型解释。调整后的决定系数 (R_{Adj}²) 与预测的决定系数 (R_{Pred}²) 之间的差异小于 0.2，同时，在图 6 中，实验数据点均匀分布在回归线周围且与回归线密切匹配，这表明实际值与预测值具有高度一致性，该模型对于多酚提取率的预测具有成功的适用性^[28]。变异系数为 2.00%，说明标准差与均值的比值较小，表明实验数据精度高且可靠。此外，结果显示全部的线性系数 (A、B、C) 和所有的二次项系数 (A²、B²、C²、D²) 对多酚得率有显著影响 (P<0.05)。模型的回归系数显示对多酚得率的影响顺序依次为超声时间>超声温度>料液比。

表 4 二次模型方差分析和显著性分析

Table 4 The analysis of variance and significance analysis for the quadratic model

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	90.94	9	10.1	94.02	<0.000 1	**
A	14.68	1	14.68	136.57	<0.000 1	**
B	6.4	1	6.4	59.56	0.000 1	*
C	1.09	1	1.09	10.13	0.015 4	*
AB	0.18	1	0.18	1.71	0.232 2	ns
AC	0.38	1	0.38	3.51	0.103 2	ns
BC	0.031	1	0.031	0.29	0.609 1	ns
A ²	13.25	1	13.25	123.25	<0.000 1	**
B ²	5.89	1	5.89	54.76	0.000 1	*
C ²	43.24	1	43.24	402.3	<0.000 1	**
残差	0.75	7	0.11			
失拟项	0.52	3	0.17	3.03	0.155 8	ns
纯误差	0.23	4	0.057			
总和	91.69	16				

R²=0.991 8, R_{Adj}²=0.981 2, R_{Pred}²=0.904 9, C.V.%=2.00

注：P<0.05 为显著，用 * 表示；P<0.01 为极显著，用 ** 表示；P>0.05 为不显著，用 ns 表示。

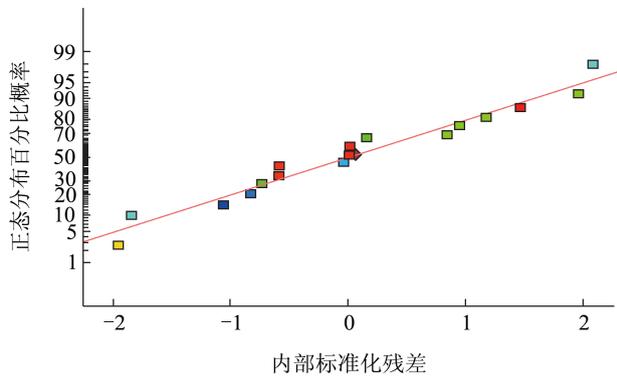


图6 高粱麸皮多酚提取预测值与实际值之间的相关关系
Fig.6 Correlation between predicted and actual values of polyphenol extraction from sorghum bran

2.7 响应面分析

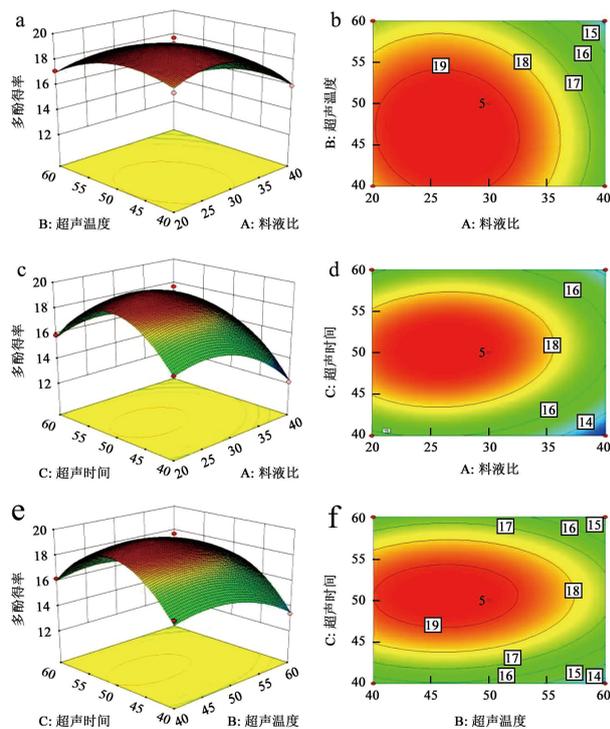


图7 不同试验因素交互作用对高粱麸皮多酚得率影响的响应面图和等高线图

Fig.7 The response surface and contour plots for the effects of the interactions between different experimental factors on the extraction yield of polyphenols from sorghum bran

图7中的三维响应面图和等高线图反映了三个影响因素相互作用对多酚得率的影响。如图7a、7c、7e所示，三维响应面图均开口向下且具有最高点，这表明随着料液比、超声温度、超声时间两两因素的逐渐增加，多酚得率逐渐上升到峰值，随后下降，与单因素实验中观察到的趋势一致。三维响

应面图越陡，表明两个影响因素的相互作用对响应值的影响越显著，此外，圆形或接近圆形的等高线说明两个影响因素间的相互作用不显著，而椭圆形等高线说明两个影响因素间的相互作用显著。在图7b、7d、7f中，料液比和超声时间交互作用的等高线呈现明显的椭圆形，表明其对多酚得率的影响更为显著。在图7a、7c、7e中，三维响应面图向料液比方向的曲线倾斜程度更大，说明与超声时间和超声温度相比，料液比对多酚得率的影响更为显著。总体而言，三维响应面图和等高线图所展示的结果与前述数据保持一致。

2.8 最佳工艺及验证实验

分析拟合方程和方差分析结果，利用 Design Expert 8.0 软件可得最佳提取条件为：丙二酸-1,3-丁二醇摩尔比为 1:1，含水量为 20% (V/V)，料液比为 1:26.41 (g/mL)，超声温度为 46.96 °C，超声时间为 50.37 min。为便于实际操作，将提取条件调整为丙二酸-1,3-丁二醇摩尔比为 1:1，含水量为 20% (V/V)，料液比为 1:26 (g/mL)，超声温度为 47 °C，超声时间为 50 min。在此条件下进行三次平行验证试验，高粱麸皮多酚实际得率为 19.47 mg/g，与模型预测值 19.68 mg/g 在 5% 偏差范围内，表明建立的该回归模型具有较高的拟合度，能有效预测实验过程中的多酚得率。相同条件下，DES 提取物的多酚得率分别为 70% 乙醇提取物 (8.80 mg/g) 和 70% 甲醇提取物 (11.59 mg/g) 的 2.21 倍和 1.68 倍。

2.9 不同多酚提取物的抗氧化活性

本研究基于清除自由基能力和铁离子还原能力来评估高粱麸皮多酚的抗氧化能力，结果详见图8。此外，IC₅₀ 值表示抑制 50% 的自由基活性所需的抗氧化物浓度，IC₅₀ 值越低，表明该物质的抗氧化活性越强。

2.9.1 DPPH 自由基清除能力

根据图8结果显示，在 40~320 μg/mL 范围内的质量浓度下，每种溶剂提取物对 DPPH 自由基的清除能力随着多酚浓度的增加而逐渐增大。然而，不同溶剂多酚提取物清除 DPPH 自由基的效果存在差异。如图8所示，在相同多酚浓度下，DES 提取物对 DPPH 自由基的清除率始终高于 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取物。表5中的数据显示，DES 提取物清除 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值均显

著低于 70% (V/V) 乙醇提取物和 70% (V/V) 甲醇提取物。综上所述, DES 提取的多酚清除 DPPH 自由基的效果强于传统溶剂 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取的多酚。然而, 在相同多酚浓度下, DES 提取物清除 DPPH 自由基的能力始终低于对照品 Trolox, 这一结果与刘佳怡对紫丁香花多酚 DPPH 自由基清除能力的研究结果相近^[11]。

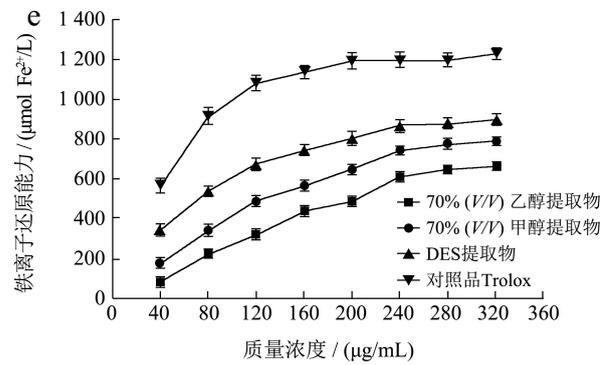
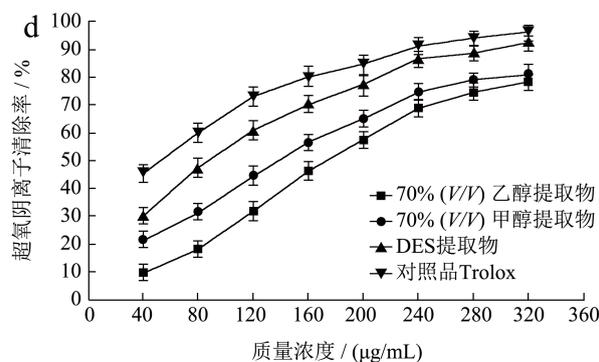
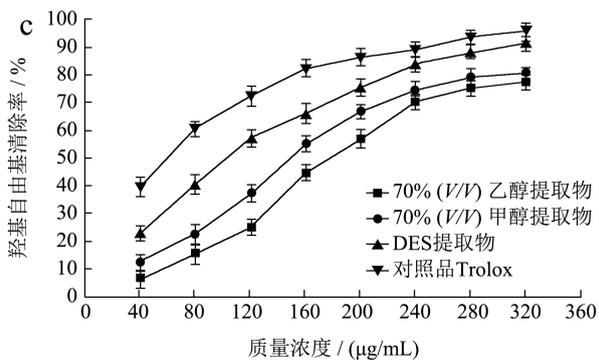
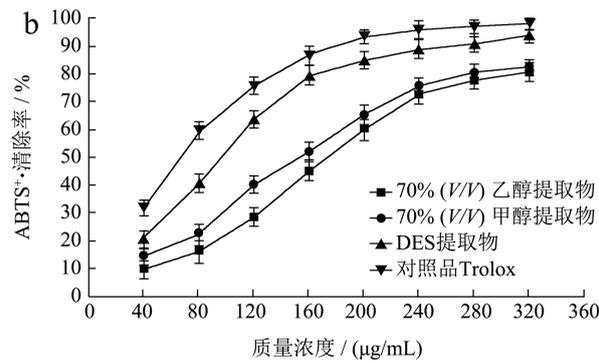
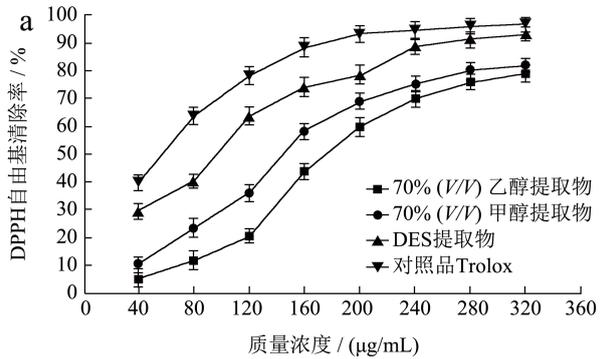


图 8 高粱麸皮多酚的抗氧化能力

Fig.8 The antioxidant capacity of polyphenols from sorghum bran

2.9.2 ABTS⁺自由基清除能力

根据图 8 结果显示, 在 40~320 μg/mL 范围内的多酚浓度下, 每种溶剂提取物的抗氧化活性均呈现剂量依赖性, 这与之前的研究结果相一致^[18]。在相同多酚浓度下, DES 提取物对 DPPH 自由基的清除率始终高于 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取物。当多酚质量浓度达到 160 μg/mL 时, DES 提取物的清除率增长程度趋于平缓。当多酚质量浓度为 320 μg/mL 时, DES 提取物对 ABTS⁺ 自由基的清除率最高, 达到 93.51%, 表明 DES 提取物具有较强的清除 ABTS⁺ 自由基的能力。但同一质量浓度下, 对照品 Trolox 清除 ABTS⁺ 自由基的能力始终高于 DES 提取的高粱麸皮多酚, 可通过增加高粱麸皮多酚的含量来提高 ABTS⁺ 自由基清除能力。表 5 中的数据显示, 70% (V/V) 乙醇提取物和 70% (V/V) 甲醇提取物清除 ABTS⁺ 自由基的 IC₅₀ 值均显著高于 DES 提取物。综上所述, DES 提取的多酚清除 ABTS⁺ 自由基的效果强于传统溶剂 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取的多酚。

2.9.3 羟基自由基清除能力

根据图 8 结果显示, 在 40~320 μg/mL 范围内的多酚浓度下, 此外, 每种溶剂提取物对羟基自由基的清除能力与多酚浓度呈正相关。此外, 在相同多酚浓度下, DES 提取物对羟基自由基的清除率始终高于 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取物。当多酚质量浓度为 320 μg/mL 时, DES 提取物对羟基自由基的清除率最高, 达到 90.78%, 表明 DES 提取物具有较强的清除羟基自由基的能力。表 5 中的数据显示, DES 提取物清除羟基自由基的 IC₅₀ 值均显著低于 70% (V/V) 乙醇提取物和 70% (V/V) 甲醇提取物。综上所述, DES 提取的多酚清除羟

基自由基的效果强于传统溶剂 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取的多酚。然而, 在相同多酚浓度下, DES 提取物清除羟基自由基的能力始终低于对照品 Trolox, 这可能与本研究所用的高粱麸皮多酚纯度较低, 且含有部分杂质, 可能会影响高粱麸皮多酚的共轭结构^[19]。

2.9.4 超氧阴离子清除能力

根据图 8 结果显示, 在 40~320 $\mu\text{g/mL}$ 范围内的多酚质量浓度下, 每种溶剂提取物对超氧阴离子的清除能力随着多酚浓度的增加而逐渐增大。然而, 不同溶剂多酚提取物清除超氧阴离子的效果存在差异。如图 8 所示, 在相同多酚浓度下, DES 提取物对超氧阴离子的清除率始终高于 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取物。这种现象可能是由于不同溶剂提取的高粱麸皮多酚化学结构中羟基的数量及其位置的不同所致, 这些差异可能导致不同提取物的抗氧化能力的差异^[19]。当多酚浓度为 240 $\mu\text{g/mL}$ 后, DES 提取物对超氧阴离子的清除能力缓慢增加。当多酚质量浓度为 320 $\mu\text{g/mL}$ 时, DES 提取物对超氧阴离子的清除率最高, 达到 91.83%, 表明 DES 提取物具有较强的清除超氧阴离子的能力。表 5 中的数据显示, DES 提取物清除超氧阴离子的 IC_{50} 值均显著低于 70% (V/V) 乙醇提取物和 70% (V/V) 甲

醇提取物。综上所述, DES 提取的多酚清除超氧阴离子的效果强于传统溶剂 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取的多酚。然而, 在相同多酚浓度下, DES 提取物清除超氧阴离子的能力始终低于对照品 Trolox。

2.9.5 铁离子还原能力

根据图 8 结果显示, 在 40~320 $\mu\text{g/mL}$ 范围内的多酚质量浓度下, 不同溶剂提取的高粱麸皮多酚提取物均表现出还原铁离子的能力。此外, 每种溶剂提取物对铁离子的还原力随着多酚浓度的增加而逐渐增大。然而, 不同溶剂多酚提取物还原铁离子的效果存在差异。如图 8 所示, 在相同多酚浓度下, DES 提取物对铁离子的还原能力始终高于 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取物。表 5 中所示, 多酚质量浓度为 320 $\mu\text{g/mL}$ 时, DES 提取物对超氧阴离子的清除率最高, 达到 897.07 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$, 显著高于 70% (V/V) 乙醇提取物和 70% (V/V) 甲醇提取物的铁离子还原能力 (787.90、664.93 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$), 然而, 在相同多酚浓度下, DES 提取物还原铁离子的能力始终低于对照品 Trolox。综上所述, DES 提取的多酚还原铁离子的效果强于传统溶剂 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇提取的多酚。

表 5 高粱麸皮多酚抗氧化活性

Table 5 Antioxidant activity of polyphenols from sorghum bran

样品	DPPH 自由基 IC_{50} 值/ $\mu\text{g/mL}$	ABTS ⁺ 自由基 IC_{50} 值/ $\mu\text{g/mL}$	超氧阴离子 IC_{50} 值/ $\mu\text{g/mL}$	羟基自由基 IC_{50} 值/ $\mu\text{g/mL}$	铁离子还原能 力/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{Fe}^{2+}/\text{L})$
70% (V/V) 乙醇提取物	164.53 \pm 3.92 ^a	169.83 \pm 3.89 ^a	171.81 \pm 5.71 ^a	167.08 \pm 7.63 ^a	664.93 \pm 20.89 ^d
70% (V/V) 甲醇提取物	140.04 \pm 5.87 ^b	157.19 \pm 7.24 ^a	161.33 \pm 8.96 ^a	154.56 \pm 2.87 ^b	787.90 \pm 23.08 ^c
DES 提取物	122.94 \pm 6.37 ^c	105.85 \pm 2.20 ^b	145.42 \pm 6.37 ^b	146.29 \pm 5.53 ^c	897.07 \pm 26.05 ^b
Trolox	81.23 \pm 4.16 ^d	79.82 \pm 4.40 ^c	117.57 \pm 6.85 ^c	74.84 \pm 6.47 ^d	1 222.49 \pm 32.25 ^a

注: 不同小写字母表示样品间差异显著 ($P < 0.05$)。

3 结论

本研究利用超声辅助 DES 技术提取高粱麸皮多酚。选用 1,3-丁二醇-丙二酸[摩尔比为 1:1, 含水量为 20% (V/V)]作为提取溶剂, 通过响应面实验确定超声辅助 DES 提取高粱麸皮多酚的最佳工艺参数: 液固比为 1:26 g/mL, 超声温度为 47 $^{\circ}\text{C}$, 超声时间为 50 min。在此条件下, 高粱麸皮多酚得率为 19.47 mg/g。同时, 相较于传统溶剂 70% (V/V) 乙醇和 70% (V/V) 甲醇, 高粱麸皮多酚 DES 提取物

表现出更强的 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基、超氧阴离子、羟基自由基清除能力和铁离子还原能力。综上所述, 超声辅助 DES 法绿色环保、提取的高粱麸皮多酚得率高且具有良好的抗氧化活性。本研究为高粱麸皮资源的再利用提供了研究基础。此外, 本研究仍缺乏对不同溶剂提取的高粱麸皮多酚物质组分的对比探讨以及高粱麸皮多酚的生理功能与药理作用的系统分析, 后续将进一步展开研究, 以其为高粱麸皮的高值化利用提供进一步的理论支持。

参考文献

- [1] 段晓敏,任倩倩,林何莺.山西高粱产业高质量发展现状及建议[J].山西农经,2023,19:160-162,182.
- [2] MOHAMED H I, FAWZI E M, BASIT A, et al. Sorghum: nutritional factors, bioactive compounds, pharmaceutical and application in food systems: a review [J]. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 2022, 91(7): 1303-1325.
- [3] 蒋依然.高粱麸皮原花青素的制备、结构表征及其抗肝癌细胞活性研究[D].无锡:江南大学,2020.
- [4] KUMARI P, KUMAR V, KUMAR R, et al. Sorghum polyphenols: plant stress, human health benefits, and industrial applications [J]. *Planta*, 2021, 254(3): 47.
- [5] MEENA K, VISARADA K, MEENA D. *Sorghum bicolor* (L.) Moench a multifarious crop-fodder to therapeutic potential and biotechnological applications: a future food for the millennium [J]. *Future Foods*, 2022, 6(2): 100188.
- [6] 卫鸣.高粱麸皮结合多酚的提取及其对衰老小鼠肠道微环境的调节作用[D].镇江:江苏大学,2022.
- [7] TYAGI V, SARAVANAN C, WANG Y X, et al. Solvent dependency of sorghum bran phytochemicals acting as potential antioxidants and antibacterial agents [J]. *Food Technology and Biotechnology*, 2021, 59(1): 31-43.
- [8] LIU X Y, OU H, GREGERSEN H, et al. Deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Cosmos sulphureus* [J]. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2023, 32: 100444.
- [9] CUNHA S C, FERNANDES J O. Extraction techniques with deep eutectic solvents [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2018, 105: 225-239.
- [10] 刘玉坤,刘凌雯,孔晶,等.天然低共熔溶剂超声辅助高效提取海茸多酚与多糖的研究[J].当代化工研究,2023, 4:74-76.
- [11] 刘佳怡,黄磊磊,王天怡,等.超声协同低共熔溶剂提取紫丁香花多酚工艺优化及抗氧化活性分析[J].食品工业科技,2024,45(4):171-179.
- [12] BARBIERI J B, GOLTZ C, BATISTÃO C F. Deep eutectic solvents applied in the extraction and stabilization of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) phenolic compounds [J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, 144: 1120149.
- [13] WU L F, LI L, CHEN S J, et al. Deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* L. leaves: optimization, comparison and antioxidant activity [J]. *Separation and Purification Technology*, 2020, 247: 117014.
- [14] SHANG X C, DOU Y Q, ZHANG Y J, et al. Tailor-made natural deep eutectic solvents for green extraction of isoflavones from chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts [J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 140: 111724.
- [15] 邓祥,韩伟.酒石酸亚铁-标准曲线法检测绿茶提取物中茶多酚含量[J].南京工业大学学报(自然科学版),2020, 42(5):677-682.
- [16] XU J, XU L L, ZHOU Q W, et al. Enhanced *in vitro* antioxidant activity of polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* by enzymatic degradation [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2016, 40(3): 275-283.
- [17] MENG L S, ZHU J Y, MA Y, et al. Composition and antioxidant activity of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* cultivated in Haicheng, Liaoning, China [J]. *Food Bioscience*, 2019, 30: 100413.
- [18] SAMSONOWICZ M, REGULSKA E, KARPOWICZ D, et al. Antioxidant properties of coffee substitutes rich in polyphenols and minerals [J]. *Food Chemistry*, 2019, 278: 101-109.
- [19] 王纪辉,何佳丽,耿阳阳,等.核桃叶多酚提取及其组成和抗氧化能力探究[J].中国粮油学报,2023,38(4):104-112.
- [20] JO Y J, CHO H S, CHUN J Y. Antioxidant activity of β -cyclodextrin inclusion complexes containing trans-cinnamaldehyde by DPPH, ABTS and FRAP [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2021, 30(6): 807-814.
- [21] WAZEER I, HAYYAN M, HADJ K M K. Deep eutectic solvents: designer fluids for chemical processes [J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2018, 93(4): 945-958.
- [22] RADOŠEVIĆ K, ČURKO N, GAURINA S V, et al. Natural deep eutectic solvents as beneficial extractants for enhancement of plant extracts bioactivity [J]. *LWT*, 2016, 73: 45-51.
- [23] WEI Z F, QI X L, LI T T, et al. Application of natural deep eutectic solvents for extraction and determination of phenolics in *Cajanus cajan* leaves by ultra performance liquid chromatography [J]. *Separation and Purification Technology*, 2015, 149: 237-244.
- [24] RASHID R, MOHD W S, MANZOOR S, et al. Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural deep eutectic solvent extraction: optimisation, comparison and bioactivity [J]. *Food Chemistry*, 2023, 398: 133871.
- [25] BENER M, ŞEN F B, ÖNEM A N, et al. Microwave-assisted extraction of antioxidant compounds from by-products of Turkish hazelnut (*Corylus avellana* L.) using natural deep eutectic solvents: modeling, optimization and phenolic characterization [J]. *Food Chemistry*, 2022, 385: 132633.
- [26] DEY S, RATHOD V K. Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis* [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2013, 20(1): 271-276.
- [27] ZHANG Q A, SHEN H, FAN X H, et al. Changes of gallic acid mediated by ultrasound in a model extraction solution [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2015, 22: 149-154.
- [28] FAN X H, ZHANG X Y, ZHANG Q A, et al. Optimization of ultrasound parameters and its effect on the properties of the activity of beta-glucosidase in apricot kernels [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2019, 52: 468-476.