

文章编号:1001-6880(2018)6-1021-09

二次旋转正交法优化提取板栗壳斗中多酚类物质的工艺及其抗氧化性研究

宋照风*,朱峰,赵海全

佛山科学技术学院,佛山 528000

摘要:为实现二次旋转正交法优化提取板栗壳斗中多酚类抗氧化剂,本文用板栗壳为原材料,采用传统水溶液溶解和加热提取的工艺,以单因素的结果设计二次旋转正交实验,以总多酚提取率为评定对象,得出板栗壳中多酚提取的最佳工艺条件,并对产品进行了抗氧化测试和光谱分析。实验结果表明,板栗壳多酚的最佳工艺条件为:乙醇浓度 57%,提取温度 85 °C,提取时间 45 min。在该条件下,板栗壳多酚的最佳提取率为 5.44%。当多酚浓度为 1 mg/mL 时,产品对羟基自由基清除率为 8.15%。产品的红外光谱和紫外光谱均符合多酚类物质的光谱特征。

关键词:壳斗;多酚;抗氧化;二次正交旋转

中图分类号:R91;Q946.82

文献标识码:A

DOI:10.1633/j.1001-6880.2018.6.018

Optimization of Extraction of Shell Polyphenols by Quadratic Rotation Orthogonal and Antioxidant Activity from the Chestnut

SONG Zhao-feng*, ZHU Feng, ZHAO Hai-quan

Department of Chemistry and Chemical Engineering, School of environmental and chemical engineering, Foshan University, Foshan 528000, China

Abstract: In order to obtain the optimal extraction conditions of polyphenols from the fagaceae plants *Castanea mollissima* by quadratic rotation orthogonal method, the chestnut shell was used as raw material, and the process of traditional water solution extraction and heating extraction were adopted. The results of single factor experiment were used to design the quadratic rotation orthogonal experiment with the extraction rate of total polyphenols as the assessing factor. The extracts were also tested for its antioxidant activity, and its structural feature was analyzed by spectral methods. The results showed that the optimal conditions for extraction of polyphenols from chestnut shell were: ethanol concentration 57%, extraction temperature 85 °C and extraction time 45 min. Under these conditions, the optimal extraction rate of polyphenols from chestnut shell was 5.44%. When the concentration of polyphenols was 1 mg/mL, the hydroxyl radical scavenging rate of the extracts was 8.15%. In addition, the FTIR and UV spectra of the extracts were all consistent with the spectral characteristics of polyphenols.

Key words: shell; polyphenols; antioxidant; quadratic rotation orthogonal

壳斗科植物遍及全世界,其中最常见的是板栗。壳斗又称为总苞,呈杯状或者囊状,内含有 2 到 3 颗坚果^[1]。板栗芬芳甜美,含有大量的淀粉、蛋白质、粗纤维、维生素、矿物质等物质。虽然板栗的种植面积不断扩大,产量不断提高,但是迄今为止人们对板栗壳斗资源的利用还比较少。民间说法板栗壳斗具有补肾强筋,健脾益气,散结解毒等功效,常作为消

炎药来使用。因此深入挖掘板栗壳斗潜在价值,对减少资源浪费,增加产品附加值有着显著的作用^[2]。

抗氧化物质是中和和消灭氧原子从而防止自由基进行氧化反应的物质。天然抗氧化剂在疾病的治疗,化妆品,日用化学品和食品添加剂上的运用都比较广泛^[3]。自然界中的天然抗氧化物质包括有:黄酮、维生素 E、维生素 C、植物活性硒、胡萝卜素、天然虾青素和多酚类(如:天然茶多酚、天然红酒多酚等)。抗氧化剂是通过释放出自身的氢原子来和氧原子反应,从而阻止氧化;同时也能降低氧化酶的活

收稿日期:2017-07-15 接受日期:2018-03-06

基金项目:2017 年度广东省大学生创新创业训练计划(XJ201715)

*通信作者 Tel:86-757-82781287;E-mail:songzhaofteng012@163.com

性,将能催化及引起氧化反应的物质封闭^[4]。

天然抗氧化剂中多酚类物质的研究报道不少,在很多天然产物中都成功提取了多酚类物质^[5,6],他们分别从植物的根^[7]、茎^[8]、叶^[9]、果实中(包括果实的皮、肉、种子等)提取^[10]。目前天然氧化剂多酚类物质的提取方法很多,如微波辅助提取法^[11]、超声波辅助提取法^[12]、酸碱提取法、酶解法、水热法等。另外,对多酚类物质提取工艺的优化方法也不断出现如,正交法、响应面法^[13]、二次正交旋转^[14]、神经网络法等。这些研究不是优化的参数少(只有三个)、没有做参数之间的交互或者是优化的结果并不理想等。现阶段对壳斗多酚也有研究^[15],但是没有报道用二次正交旋转法优化壳斗多酚的提取。

二次旋转正法与以往的正交设计、均匀设计相比、是将正交、回归、均匀和较高饱和度融为一体的一种试验设计方法。它不但具有试验次数少、计算简便、回归系数间无相关性的优点,并且还可以利用旋转性克服预测值的方差对试验点在因子空间中位置的依赖性,是一种较好的设计方案。

本文采用了目前使用较少的二次正交旋转法优化从壳斗中提取多酚类物质的工艺,我们不仅做了提取出的多酚的体外羟自由基和DPPH的抗氧化研究,还对壳斗多酚进行了紫外和红外的光谱分析。

1 材料与方法

1.1 实验材料

壳斗(购于当地市场);福林酚(广东光华科技股份有限公司);DPPH(西亚化学工业有限公司)。

1.2 实验仪器

UV-1100型紫外/可见光分光光度计(上海美普达);真空冷冻干燥机(上海化朗仪器制造有限公司);TENSOR27傅立叶变换红外光谱(德国布鲁克公司)。

2 实验方法

2.1 壳斗多酚的提取工艺流程

粉碎壳斗过20目筛后称重,水浴提取后纱布过滤,离心10 min,福林酚法测吸光度,浓缩溶液后冷冻干燥,之后进行清除自由基反应,计算自由基清除率并进行光谱成分分析。

2.2 实验步骤

(1)将从市场买回来干燥的壳斗打碎、磨成能透过20目筛的粉状,装入保鲜袋中备用。(2)用电

子天平取5.0 g壳斗粉末于烧杯中,加入实验所需液料比的含水乙醇,根据实验需要在相应温度的恒温水浴锅中浸提若干时间。(3)将以上所得浊液先用纱布过滤掉滤渣,再放入高速离心机中离心10 min,之后得到褐黄色的提取液,并同时测量其体积。(4)吸取少量多酚溶液稀释后用分光光度计测量多酚的吸光度,计算提取率。(5)取一定浓度的壳斗提取液,分别用芬顿法测定OH⁻根消除率和用DPPH法测定自由基清除率。(6)记录数据,分析结果。(7)对(3)中的提取液进行浓缩后冻干,再进行光谱分析。

2.3 检测方法

2.3.1 自由基清除方法

2.3.1.1 芬顿法

(1)称取0.08 g左右的氯化亚铁后,先用蒸馏水溶解,再定容放到足够大的容量瓶中,静置保存备用。(2)称取0.04 g左右的固态邻二氮菲后,先用乙醇溶解,再用蒸馏水定容放到足够大的容量瓶中,静置保存作为显色剂使用。(3)量取30%过氧化氢10 mL,再用蒸馏水定容到100 mL的容量瓶中,静置保存得到3%双氧水作为芬顿发生剂使用。(4)称取8 g氯化钠固体,0.2 g氯化钾固体,1.44 g磷酸二氢钠和0.24 g磷酸二氢钾,用蒸馏水溶解后,用盐酸调节pH到7.4,定容到1L水中。静置后即可得到PBS缓冲溶液。(5)向一干净容量瓶中依次加入上述制备好的氯化亚铁溶液10.00 mL,显色剂邻二氮菲溶液10.00 mL,PBS缓冲溶液5 mL,3%双氧水1.00 mL,1.00 mL的某一已知浓度的壳斗提取液,用蒸馏水定容到相同体积,每加入一样溶液都要先摇匀,然后把反应液放置在36 °C恒温水浴槽中保温60 min后,用紫外分光光度计于530 nm波长下测定吸光度,平行重复三次测定A₂,另分别平行三次测A₁和A₀,根据清除率计算公式,计算提取液对·OH自由基的清除率。

$$\text{清除率\%} = [(A_2 - A_1) / (A_0 - A_1)] \times 100 \quad (1)$$

式中:A₂—加入壳斗提取液及3%双氧水混合液的吸光度;A₁—单独加入3%双氧水的吸光度;A₀—氯化亚铁溶液的吸光度^[16]。

2.3.1.2 DPPH法清除自由基

(1)配制浓度为0.004%的DPPH溶液,用乙醇溶解,避光保存。(2)加3 mL 0.004% DPPH乙醇溶液和不同浓度的样品试液0.1 mL于试管,设3个重复实验组,摇匀后在室温存放30 min。(3)以分

析纯乙醇溶液当空白对照组,测定其在 517 nm 下的吸光度 A_1 。另测 3 mL 的 0.004% DPPH 乙醇溶液 0.1 mL 在 517 nm 下的吸光度 A_2 。测 3 mL DPPH 水溶液于 517 nm 下吸光度,记为 A_0 。(4) 清除率记为 K。

$$K = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100^{[17]} \quad (2)$$

2.3.1 多酚含量的测定方法

(1) 碳酸钠缓冲溶液的配制:准确称取 10.00 g 碳酸钠固体,用蒸馏水溶解,定容存放于 100 mL 容量瓶中备用。(2) 检测方法:取 1.00 mL 的稀释后壳斗提取液于 50 mL 的容量瓶中,加入 10 mL 蒸馏水,福林酚溶液 1.5 mL,避光静置 5 min,然后再加入 6 mL 碳酸钠缓冲溶液,避光静置反应 1 h 后在 765 nm 波长处测量多酚的吸光度,根据标准曲线算出其含量^[18]。

2.4 多酚的标准曲线

2.4.1 标准溶液的配制及检测

(1) 配制标准溶液:准确称取没食子酸 0.0025、0.005、0.0075、0.01、0.0125 g 用蒸馏水溶解,定容到 100 mL 容量瓶中,配制成 0.025、0.05、0.075、0.1、0.125 mg/mL 的没食子酸标准溶液。(2) 检测方法:取每种浓度标准溶液 1 mL 于 50 mL 容量瓶中,加蒸馏水 10 mL,福林酚溶液 1.5 mL,避光静置 5 min 后加入碳酸钠溶液 6 mL,避光反应 1 h。在波长 765 nm 下测其吸光度,然后以吸光度为纵坐标,没食子酸浓度为横坐标,绘制出标准曲线。

2.4.2 标准曲线的绘制

根据焦性没食子酸标准曲线,得出焦性没食子酸标准曲线的回归方程为: $y = 10.508x - 0.0595$, $R^2 = 0.9991$ 。

2.5 红外样品分析

取干燥的壳斗提取粉末 1 mg,分别与 100 mg 干燥溴化钾混合研磨压片,在 4000 ~ 400 cm⁻¹ 区间进行红外光谱扫描,观察谱峰情况。

2.6 紫外样品分析

把多糖溶于蒸馏水中,至浓度为 0.1%,在波长为 190 ~ 400 nm 下进行紫外光谱扫描。

3 结果与讨论

3.1 单因素实验

3.1.1 无水乙醇浓度

称取 5.0 g 干燥的壳斗粉末,在固定温度 80

℃,液料比 20:1 mL/g 的情况下,分别以乙醇 40%、50%、60%、70% (v/v) 的浓度,进行 60 min 水浴提取,之后用纱布过滤,用离心机离心 10 min 后,测量提取液体积和吸光度,计算出壳斗多酚产量和提取率。

由图 1 的结果,在乙醇浓度的影响下,多酚产量出现先升后降的情况。实验结果显示,在 60% (v/v) 的乙醇浓度下壳斗提取液中多酚产量最高。为了使最适合范围更加精准,所以在二次旋转正交实验中选取浓度范围是 50%、55%、60%、65%、70% (v/v) 的乙醇浓度。

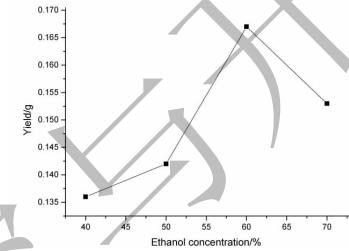


Fig. 1 Relationship between polyphenol yield and ethanol concentration (v/v)

3.1.2 料液比

称取 5.0 g 干燥的壳斗粉末,在固定乙醇 60% (v/v) 的浓度,温度 80 ℃ 的情况下,分别取液料比 15:1、20:1、25:1、30:1 mL/g 进行 60 min 水浴提取,用纱布过滤后,用离心机离心 10 min 后,测量提取液体积和吸光度,计算出多酚产量和产率。

由图 2 的结果,在料液比的影响下,多酚产量出现先升后降的情况,料液比过小,多酚产量变小。料液比大的时候多酚产量变化趋于平稳。实验数据显示,料液比为 25:1 mL/g 为最适合,为让适合条件范围更加准确,所以在二次旋转正交实验中选择 15:1 mL/g、20:1 mL/g、25:1 mL/g、30:1 mL/g、35:1 mL/g 为实验条件。

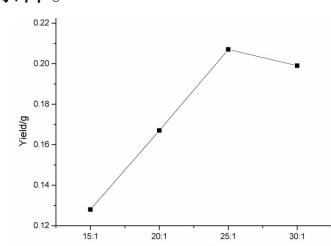


Fig. 2 Relationship between solid/liquid ratio and polyphenol yield

3.1.3 提取温度

称取 5.0 g 干燥的壳斗粉末, 在固定乙醇 60% (v/v) 的浓度, 以料液比 20:1 mg/L 的液料比的情况下在 70、80、85、90、95 °C 进行 60 min 水浴提取, 用纱布过滤后, 放入离心机离心 10 min 后, 测量提取液体积和吸光度, 计算出多酚含量和产率。

由图 3 的结果, 在温度的影响下, 多酚产量出现先升后降的情况, 随着温度上升, 当温度在高水平的时候, 得出的体积会减少, 而且多酚结构有可能遭到破坏, 所以产量也随之而减少。温度在低水平的时候, 提取几乎不进行。图中显示, 温度为 85 °C 为最适合。为了让适合范围更加显著, 所以在二次旋转正交实验中选择温度范围为 75、80、85、90、95 °C。

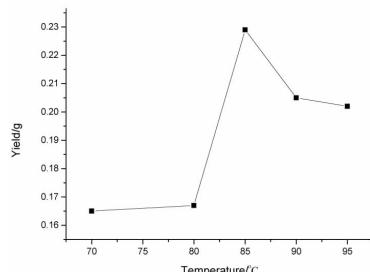


图 3 温度与多酚产量的关系图

Fig. 3 Relationship between temperature and polyphenol yield

3.1.4 提取时间

称取 5.0 g 干燥的壳斗粉末, 固定温度 80 °C, 乙醇 60% (v/v) 的浓度, 液料比为 20:1 mL/g 的情况下分别进行 30、45、60、75 min 水浴提取, 之后纱布过滤, 放入离心机离心 10 min 后, 测量提取液体积和吸光度, 计算出多酚含量和产率。

由图 4 的结果, 在不同提取时间的影响, 多酚产量出现先升后降的情况。实验数据显示, 提取时间在 45 min 为最适合, 为使适合范围更显著, 所以在二次旋转正交实验中选择时间范围为 30、35、45、50、55 min。

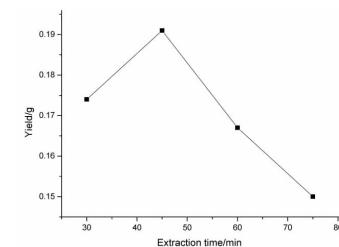


图 4 提取时间与多酚产量关系图

Fig. 4 Relationship between extraction time and polyphenol yield

3.2 单因素实验结论

从上述单因素实验可以看出在传统水浴加热提取壳斗多酚时的最适合条件为: 提取时间为 45 min, 水浴温度为 85 °C, 液料比为 25:1 mL/g, 无水乙醇浓度为 60% (v/v)。

3.3 二次旋转正交实验及数据分析处理

二次旋转正交是近年来应用比较多的实验设计方法, 通常结合响应面法, 运用专业的数据统计软件对实验结果进行非线性数学拟合, 与普通正交设计相比, 将正交和回归更高程度融合在一起的实验方法, 是一种更高等级的实验设计方法^[19]。

以单因素的实验结果为基准, 设计二次旋转正交实验优化壳斗多酚的水浴加热提取工艺。设计四因素五水平的二次旋转正交实验: 液料比 (X_1), 乙醇浓度 (X_2), 提取温度 (X_3), 提取时间 (X_4)。四个因素变量从小到大被编码成五个水平从 -2 到 2, 以多酚提取率为目, 运用数据处理软件 SAS 得出, 整个实验有了 36 组, 设计表如表 1, 结果见表 2。

实验数据根据 SAS 软件拟合, 壳斗多酚的提取率 Y 与各因素变量遵循以下相关方程: $Y = -265.35 - 6.35X_1 + 73.89X_2 + 385.03X_3 + 90.15X_4 - 1.42X_1^2 - 40.25X_2^2 - 195.67X_3^2 - 39.55X_4^2 - 5.92X_1X_2 + 14.71X_1X_3 + 3.04X_1X_4 + 6.46X_2X_3 + 1.80X_2X_4 - 15.38X_3X_4$ 。

如表 4 所示, 较高的 F 值 ($F = 12.26$) 以及低 P

表 1 二次旋转正交实验设计表

Table 1 Design table of two rotation orthogonal experiment

因素 Factor	标志 Mark	水平 Level				
		-2	-1	0	1	2
液料比 Liquid/solid ratio (W)	X_1	15:1	20:1	25:1	30:1	35:1
乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	X_2	50	55	60	65	70
水浴温度 Bath temperature (°C)	X_3	75	80	85	90	95
水浴时间 Bath time (min)	X_4	35	40	45	50	55

表2 二次旋转正交实验结果

Table 2 Results of rotation orthogonal experiments

试验号 No.	X1	X2	X3	X4	产率 Yield (%)
1	1	1	1	1	4.12%
2	1	1	1	-1	4.39%
3	1	1	-1	1	3.86%
4	1	1	-1	-1	3.27%
5	1	-1	1	1	4.63%
6	1	-1	1	-1	4.61%
7	1	-1	-1	1	4.79%
8	1	-1	-1	-1	3.77%
9	-1	1	1	1	2.98%
10	-1	1	1	-1	3.15%
11	-1	1	-1	1	3.69%
12	-1	1	-1	-1	2.89%
13	-1	-1	1	1	3.47%
14	-1	-1	1	-1	3.04%
15	-1	-1	-1	1	2.99%
16	-1	-1	-1	-1	3.78%
17	-2	0	0	0	3.56%
18	2	0	0	0	6.12%
19	0	-2	0	0	5.41%
20	0	2	0	0	2.49%
21	0	0	-2	0	2.88%
22	0	0	2	0	1.84%
23	0	0	0	-2	3.19%
24	0	0	0	2	3.04%
25	0	0	0	0	5.22%
26	0	0	0	0	5.14%
27	0	0	0	0	5.00%
28	0	0	0	0	5.30%
29	0	0	0	0	5.31%
30	0	0	0	0	4.97%
31	0	0	0	0	5.57%
32	0	0	0	0	5.42%
33	0	0	0	0	4.87%
34	0	0	0	0	5.12%
35	0	0	0	0	4.83%
36	0	0	0	0	5.27%

表3 二次旋转正交实验各项因子方差分析表

Table 3 Variance analysis of each factor

因子 Factor	自由度 Free degree	参数估计 Parameter estimation	标准差 Standard deviation	t值(F值) F-value	Pr>t P-value
Intercept	1	-265.35	43.35	-6.12	<0.001
X1	1	-6.35	13.51	-0.47	0.6430
X2	1	73.89	35.69	2.07	0.0510
X3	1	385.03	55.69	6.92	<0.001
X4	1	90.15	22.50	3.53	0.002
X_1^2	1	-1.42	2.01	-0.71	0.485
X_2^2	1	-40.25	11.58	-3.48	0.0023
X_3^2	1	-195.67	23.24	-8.42	<0.001
X_4^2	1	-39.55	6.51	-6.07	<0.001
$X_1 * X_2$	1	-5.92	6.82	-0.87	0.3955
$X_1 * X_3$	1	14.71	9.66	1.52	0.1431
$X_1 * X_4$	1	3.04	5.11	0.59	0.5589
$X_2 * X_3$	1	6.46	23.20	0.28	0.7833
$X_2 * X_4$	1	1.80	12.28	0.15	0.8848
$X_3 * X_4$	1	-15.38	17.40	-0.88	0.3867

表4 二次旋转正交实验方差分析

Table 4 Variance analysis for two rotation orthogonal experiment

来源 Source	自由度 Free degree	平方和 Sum of square	均方 Mean square	F值 F-value	Pr>F P-value
模型 Model	14	35.53	2.54	12.26	<0.001
误差 Error	21	4.34	0.21		
合计 Total	35	39.87			

表5 二次旋转正交实验方差分析

Table 5 Variance analysis for two rotation orthogonal experiment

均方误差 Mean square error	0.46
因变量均值 Dependent variable mean	4.17
变异系数 Coefficient of variation	10.92
R ²	0.89
Adj R ²	0.81

值($P < 0.001$)显示,该方程有比较可靠的统计学意义。 F 值和 P 值一般是用来检测每一项因子的意义。由表3的数据可以知道 $X_3, X_4, X_2^2, X_3^2, X_4^2$ 的系数是具有高度显著性的($P < 0.001$), X_2 的系数具有较高显著性($P = 0.05$),除此之外其他因子的系数均没有显著性。除去没有显著性的因子,用

SAS 软件再拟合,得到以下优化的方程:

$$Y = -266.05 + 76.24X_2 + 390.82X_3 + 79.61X_4 - 40.26X_2^2 - 195.67X_3^2 - 39.55X_4^2。$$

根据对优化后方程求导得出,当 X_2 (乙醇浓度)=57%, X_3 (温度)=85 °C, X_4 (提取时间)=45 min时, Y (提取率)预测达到最大为5.44%。根据多次重复实验可知结果接近预测值,可以说明该模型比较可靠。

如表3所示,根据每项因子的 F 值可以看出,四个因素对壳斗多酚提取率的影响程度分别是 X_3 (温度)> X_4 (提取时间)> X_2 (乙醇浓度)> X_1 (液料比)。因子方差分析显示, X_1 (液料比)对提取率没有显著影响($P > 0.05$)响应面是一种直观的方法来了解每个变量之间的关系,测量两个变量之间的

关系。陡峭的响应面表明变量之间有统计学意义。响应面平面投影反映两因素之间的相互作用强度,平面投影的形状,圆形或椭圆形反映相互作用是否明显。另外,每一幅图都表示当两个因子在二次旋转正交实验的0水平时,其他两个因子相互作用情况。由于因子 X_1 (液料比)在二次旋转正交实验得出模型中没有显著性,故分析图另外排列。

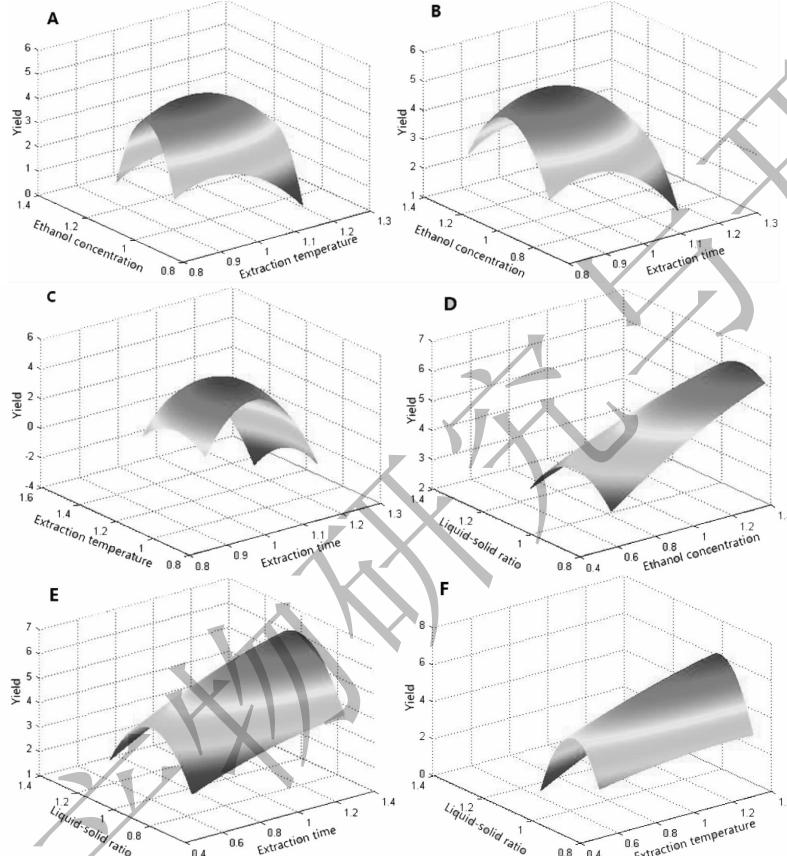


图 5 任意两个变量对多酚产率影响的响应面图

Fig. 5 Response surface plots showing the effects of any two variables on extraction yield of polyphenols

3.4 壳斗多酚的红外光谱分析

如图6所示,对壳斗多酚的红外光谱进行分析,

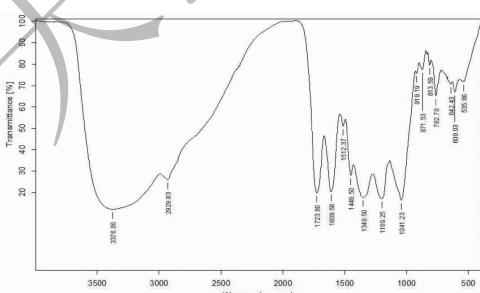


图 6 壳斗多酚红外光谱图

Fig. 6 Infrared spectra of polyphenols from Fagaceae

图5各图都反映了当因子接近0水平的时候,目标接近最大值,与模型方程求导结果大致相同,表示与实验几乎没有相违背的地方。由于在模型中液料比没有显示出高效的显著性,也就是说该因子对实验目标影响不明显,所以无法从响应面得出液料比与其他各项因子之间的相互关系。

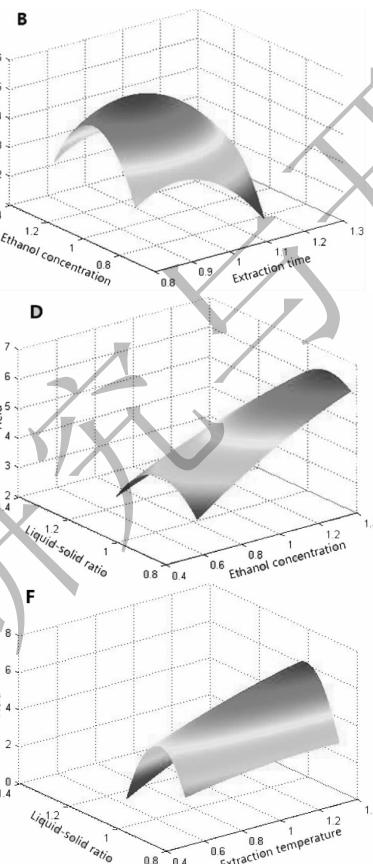


图 5 任意两个变量对多酚产率影响的响应面图

Fig. 5 Response surface plots showing the effects of any two variables on extraction yield of polyphenols

进一步确定其含有的官能团结构。在 3376.65 cm^{-1} 处有一个宽而强的吸收峰,这可能是-OH的伸缩振动造成的;在 2929.83 cm^{-1} 处有个弱的吸收峰,可能是C-H的伸缩振动;在 1723.80 cm^{-1} 到 1041.23 cm^{-1} 有连续峰,在 1349.5 cm^{-1} 的吸收峰可以认为是C-H键的振动变形。以上分析显示:实验样品的结构符合多酚的官能团结构^[20]。

3.5 壳斗多酚的紫外光谱分析

由图7可知,在波长为 215 nm 的时候吸收峰最大,可以确认样品不是蛋白质或者核酸。根据文献得知,没食子酸在 215 nm 附近的吸收峰最大,由此可以推断样品的为多酚的可能性比较高^[21]。

3.6 壳斗多酚的抗氧化能力分析

利用分光光度计,在特定波长下分别测量试液清除反应前后的吸光度,即可分析出其自由基清除率。

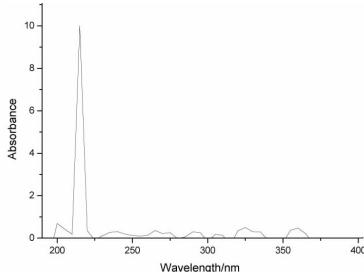


图 7 壳斗多酚紫外光谱图

Fig. 7 UV spectrum of polyphenols from Fagaceae

3.6.1 芬顿法

壳斗多酚浓度为 1 mg/L 时,由公式:清除率% = [(A₂-A₁)/(A₀-A₁)] × 100 可以算出,在芬顿法下,·OH 自由基清除率为 8.15%。

表 6 芬顿法壳斗多酚清除率

Table 6 Scavenging rate with Fenton

项目 Item	A ₂	A ₁	A ₀
	0.420	0.378	0.913
	0.419	0.374	0.915
	0.418	0.373	0.916
平均值 Average	0.419	0.375	0.915

3.6.2 DPPH 法测定自由基消除率

清除率% = [1-(A₁-A₂)/A₀] × 100, A₀ = 0.552

由图 8 可以看出,D 在壳斗多酚浓度在 0.1 mg/L 时 PPH 法测定的自由基消除率为 95.8%。

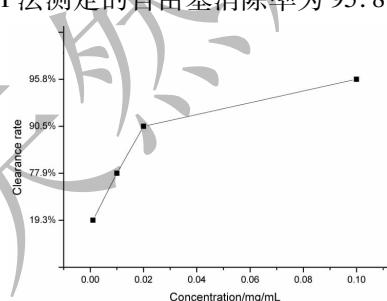


图 8 多酚浓度与消除率的关系

Fig. 8 Relationship between polyphenol concentration and removal rate

4 结论

本实验采用了传统水浴加热提取工艺,在进行

了单因素实验以及二次旋转正交实验后,得出了以下结论:(1)在多因子实验下,液料比对提取率几乎没有影响,最优的方程为:

$$Y = -266.05 + 76.24X_2 + 390.82X_3 + 79.61X_4 - 40.26X_2^2 - 195.67X_3^2 - 39.55X_4^2$$

根据对优化后方程求导得出,当 X₂(乙醇浓度) = 57%, X₃(温度) = 85 °C, X₄(提取时间) = 45 min 时,Y(提取率)预测达到最大为 5.44%,这与重复实验一致。

(2)在各因素的交互模型中乙醇浓度与提取时间、提取温度交互明显,而液料比与其他因素没有显著性,这与方程一致。

(3)通过红外光谱分析可以制备的样品符合多酚的结构;紫外光谱最大吸收峰在 215 nm,与文献中酚类一致。

(4)在芬顿法下测得当壳斗多酚浓度在 1 mg/L 时,·OH 自由基清除率为 8.15%。测得在 0.1 mg/L 时,对 DPPH 自由基清除率达到 95.8%,接近全部清除。壳斗多酚作为天然的抗氧化剂具有开发的潜力,但是需要进一步分离纯化提高其纯度。

在本次研究中还发现,在多因素两两共同作用下时,当两种因素都在最佳范围的时候,多酚的提取率也随之达到最大值,当有一个因素偏离最适范围时,多酚的提取率也随即降低。此外,壳斗多酚的热性能、鳌合金属离子能力、抗菌能力等一些性能在本文中并没有体现,这些参数能为壳斗多酚作为天然抗氧化剂提供最直接的依据。

参考文献

- Li JF(李金凤),Duan YQ(段玉清),Ma HY(马海乐),et al. Study on extraction and antioxidation property of polyphenol from chestnut shells[J]. *Chem Ind Forest Prod* (林产化学与工业),2010,1:53-58.
- Zheng JX(郑佳欣),Li YQ(李怡婧),Wang CY(汪晨阳),et al. Study on tannins extraction process from Chestnut shell and scavenging effects of DPPH free radical[J]. *Sci Tech Food Ind* (食品工业科技),2016,3:211-215.
- Zhao YJ(赵永杰),Zhang J(张静). Development progress for research of antioxidant in personal care products[J]. *De-tect Cosm* (日用化学品科学),2008,31(3):66-70.
- Qi FK(戚凤奎),Yin RL(尹荣兰),Yin RH(尹荣焕),et al. Effect of olaquindox on serum antioxidation activity of enzymes in mice. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报),2011,11:43-45.

- 5 Luo HC(罗合春). The extraction process of tea polyphenols was optimized from green tea [J]. *Tea in Fujian* (福建茶叶), 2016, 38(6):3-4.
- 6 Zhang YC(张语迟), Li SN(李赛男), Liu CM(刘春明), et al. Optimization of the extraction process for polyphenol in *Plantago depressa* and its antioxidant activity evaluation [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2016, 27: 1827-1829.
- 7 Wu LX(吴林秀), Hu RK(胡荣康), Chen YX(陈艺煊), et al. Study on the extraction and antioxidant activity of total phenolic compounds from *Dictyophora indusiata* [J]. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2017, 38:203-206.
- 8 Zhou WJ(周玮婧), Li YS(李书艺), Wang WJ(王文娟). Technology optimization for extracting polyphenol from Lotus Festival [J]. *Hubei Agric Sci* (湖北农业科学), 2017, 56: 938-941.
- 9 Liu ZB(刘章彬), Huang YL(黄永林), Yang KD (杨克迪), et al. Isolation and identification of polyphenols from the leaves of *Castanopsis fordii* Hance [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2017, 29:67-73.
- 10 Li FF(李芬芳), Ma YH(马艳弘), Zhao MZ(赵密珍), et al. Study on the extraction process of strawberry polyphenols and its antibacterial activity [J]. *Jiangsu Agric Sci* (江苏农业科学), 2017, 45:155-158.
- 11 Deng X(邓祥), Huang XM(黄小梅), Wang F(王芬). Process optimization of microwave and ultrasonic extraction of polyphenols from Chuan Bergamot [J]. *Chem Res* (化学研究), 2017, 28:353-358.
- 12 Zu Y(祖亿), Zhao MZ(赵茂臻), Wang P(王鹏), et al. Technique optimization of ultrasonic-assisted extraction of oat polyphenols and chemical composition analysis [J]. *Farm Prod Proc*(农产品加工), 2017, 11:28-32.
- 13 Zhang WW(张韦唯), Dai CH(代春华), Xiong F(熊锋), et al. Extraction processing optimization of polyphenols and polysaccharides from rapeseed protein processing waste liq- uor [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng* (农业工程学报), 2017, 33:302-309.
- 14 Wang HB(王海斌), Chen XT(陈晓婷), Kong XH(孔祥海), et al. Extraction technology optimum of polyphenols in instant black tea and factor effect analysis [J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2017, 38(13):40-43.
- 15 Guan XL(关小丽), Yang ZM(杨子明), Yan XJ(颜小捷), et al. Content and Antioxidant Activity of Polypenols from 8 Fagaceae Plants [J]. *Chinese J Experimental Tradit Med Formulae*(中国实验方剂学杂志), 2015, 21(02):65-69.
- 16 Wang P(王平). Study and Evaluation on Advanced Treatment of Dye Industrial Zone's Wastewater by Fenton Method. Beijing University of Chemical Technology(北京化工大学). MSc. 2015
- 17 Chen YX(陈玉霞), Liu JH(刘建华), Lin F(林峰), et al. Determination of Antioxidative Activity of 41 Kinds of Chinese Herbal Medicines by Using DPPH and FRAP Methods. *Res and Explo in Lab*(实验室研究与探索). 2011, (06): 11-14.
- 18 Niu X(牛雪). The Research on Optimized Total Wine Phenols Determination by Folin Ciocalteu Assay. Ningxia:Ningxia University(宁夏大学) MSc. 2015.
- 19 Peng XX(彭晓霞), Zhang ZW(张振巍). Quadratic-Orthogonal-Rotation-Combination Design for Optimization of Ethanol ExtractionCraft from Radix Paeoniae Rubra [J]. *J Chin Med Mater* (中药材) 2010, (06):991-994.
- 20 Zhan M(张民), Li YH(李银花), Yuan QC(袁晴春), et al. Detection of poly phenols and amino acids of fresh tea by near infrared spectrum. *Acta Agri Shanghai* (上海农业学报). 2015, (06):36-40.
- 21 Zeng K(曾盔), Liu ZS(刘忠松), Long S(龙桑). UV-Vis Spectrum Differences of Polyphenols between Yellow and Black Seed Coats of *Brassica juncea* [J]. *Acta Agonomica Sinica*(作物学报). 2007, (03):476-481.