

# The Quadratic Regression Orthogonal Model Optimization Experiment and Antioxidant Properties of Polyphenols from Olive

Zhaofeng Song\*, Zifan Zhou, Feng Zhu, Haiquan Zhao

Foshan University, Foshan Guangdong

Email: \*songzhaofeng012@163.com

Received: May 1<sup>st</sup>, 2018; accepted: May 15<sup>th</sup>, 2018; published: May 22<sup>nd</sup>, 2018

## Abstract

Oleuropein is an active component extracted from olive and has good pharmacological activity. In this paper, olive powders were used as raw material to study the extraction process of oleuropein by ultrasonic wave. Based on the single factor experiment, the quadratic regression orthogonal design experiment was used to optimize the extraction process. According to the experimental results, the best extraction conditions were: ultrasonic time 37 min, water bath temperature 46°C, ethanol concentration 43%, solid-liquid ratio of 1:32, and the extraction rate of polyphenols was 14%. The antioxidant capacity of oleuropein was determined by DPPH radical scavenging. When the concentration of oleuropein was 0.1 mg·mL<sup>-1</sup> the DPPH radical scavenging rate was 96%.

## Keywords

Oleuropein, Ultrasonic Extraction, Antioxidant Activity, Quadratic Regression Orthogonal

# 二次正交旋转优化橄榄多酚提取及其抗氧化性研究

宋照风\*, 周子凡, 朱峰, 赵海全

佛山科学技术学院, 广东 佛山

Email: \*songzhaofeng012@163.com

收稿日期: 2018年5月1日; 录用日期: 2018年5月15日; 发布日期: 2018年5月22日

\*通讯作者。

文章引用: 宋照风, 周子凡, 朱峰, 赵海全. 二次正交旋转优化橄榄多酚提取及其抗氧化性研究[J]. 食品与营养科学, 2018, 7(2): 110-122. DOI: 10.12677/hjfn.2018.72013

## 摘要

橄榄多酚是从橄榄中提取出来的活性成分，具有很好的药理作用。该文采用橄榄粉作为原料研究超声提取橄榄多酚的工艺。以单因素实验为基础，进而进行二次正交旋转实验设计来优化提取工艺。实验得到的最佳提取条件为：超声时间37 min、水浴温度46℃、乙醇浓度为43%，固液比为1:32，多酚提取率为14%。并以DPPH自由基清除来测定橄榄多酚的抗氧化能力，在质量浓度0.1 mg·mL<sup>-1</sup>时，消除率可达到96%。

## 关键词

橄榄多酚，超声提取，抗氧化活性，二次正交旋转

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

橄榄又名福果、青果等，是橄榄科橄榄属植物的果实，栽植面积广，产率高，是一种很容易购买到的食材，具有很大的发展潜力[1]。橄榄果肉拥有丰富的营养价值，含钙量高而且容易被人体所吸收，可以通过开发和利用成为药品或者保健品；橄榄还有很高的药用价值，药用橄榄对降血压、血糖、血脂、糖尿病、咽喉肿痛、口腔溃疡、咳嗽、哮喘等病症有明显疗效[2]。

抗氧化剂目前广泛应用于食品加工，自然界中许多植物中的天然抗氧化成分因其安全、健康、无毒而得到人们越来越多的关注。而橄榄多酚作为一种天然抗氧化剂，是一种广泛存在与植物体内的多元酚，主要分布于物的皮、根、木、叶、果中，它也是一类具有独特生理活性和药理活性的天然产物。大量研究表明，橄榄多酚在抗诱变、抗肿瘤、抗病毒、抗微生物、抗衰老、抗氧化等很多方面具有良好的作用，具有很高的发展前景[3]。

DPPH 自由基在 517 nm 波长附近存在最大吸收峰[4]。DPPH 自由基和抗氧化剂反应后，抗氧化剂可以配对 DPPH 的孤对电子对使 DPPH 褪色，接受电子量与褪色程度呈定量关系，所以可用比色定量分析来测定橄榄多酚溶液的抗氧化能力，DPPH 清除率越大，抗氧化能力越强[5]。因为该方法简单、快捷、灵敏，操作方便，所以本论文使用 DPPH 消除法来测定橄榄多酚的抗氧化性，并使用 Vc 和 BHA 这两种常用食品添加剂作为对比，反映橄榄多酚还原能力的强弱。

由于提取抗氧化剂的原材料不同，抗氧化剂可以采取多种提取方法。常用的有超声辅助提取法、微波辅助提取法、酸碱提取法、酶解法、醇浸法等[6]。罗永会等[7]用传统乙醇浸取橄榄多酚，有较好的提取率 5.75%，但是耗时达到 4 h。曾培源等[8]用超声提取橄榄多酚，工艺流程需要 3 次，每次 40 min，得率 2.3%。何志勇等[9]用微波提取，时间仅需 5 s，得率 1.2%。传统提取法消耗时间但提取率较高，现代提取法省时但提取率较低。

多酚类化合物在碱性溶液中，钨钼酸与体系中存在的酚羟基发生反应，钨离子从正六价转换为正五价，导致反应体系从青绿色转换为蓝色，溶液中蓝色的深浅程度与含酚基团的数目成正比，所以可以利用紫外/可见分光光度计测量溶液的吸光度，从而求得多酚的提取率[10]。

二次正交旋转组合设计是国外近年应用较多的一种实验设计方法。结合了响应面优化法，并且通过

统计软件对实验结果进行非线性数学模型拟合。

该论文首先对超声时间、超声水浴温度、乙醇浓度、固液比四个因素分别进行单因素实验,研究这四个因素对橄榄多酚提取率的影响,得到各个因素的最佳条件所在的大致范围。再利用二次正交旋转组合设计,以单因素实验中各个因素的最佳条件作为中心水平,进行四因素五水平的正交实验设计,最终得到最佳的工艺参数。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 仪器和试剂

橄榄粉(云南文山一缘药业), DPPH(西亚试剂), 福林酚(广东光华科技股份有限公司)(阿拉丁), 真空冷冻干燥机(上海比朗仪器制造有限公司), UV-1100 紫外/可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司), TENSOR27 傅立叶变换红外光谱(德国布鲁克公司)等。

### 2.2. 实验方法

#### 2.2.1. 实验步骤

1) 用电子天平称取 3 g 橄榄干粉于 250 mL 锥形瓶中, 加入指定乙醇浓度与固液比的乙醇溶液, 混合均匀后将其放置于常温下的单槽式超声波清洗机(功率 300 W)中, 进行超声协同提取。提取一段时间后, 通过纱布过滤后, 将溶液离心后除去沉淀即初提取液。

2) 取 1 mL 初提取液稀释并定容到 50 mL 容量瓶, 剩余提取液样品放置于冰箱保存待用。取 1 mL 样品于 50 mL 容量瓶中, 滴加 1.5 mL 福林酚和 10 mL 去离子水, 于避光处放置 5 min 后, 加入 6 mL 的 10% 碳酸钠溶液, 静置 60 min 反应过, 在 765 nm 波长下测定吸光度, 以焦性没食子酸为标量计算提取液中的多酚含量。

3) 将储存待用的提取液装入 500 mL 四口烧瓶中, 通过水浴加热蒸出残留在提取液中的乙醇, 得到脱醇溶液, 装盘后放入冷冻箱结冰, 次日放入冷冻干燥机进行脱水处理, 得到橄榄多酚干粉。

4) 将干粉溶解于溶液中, 稀释处理后, 进行 DPPH 自由基消除能力、羟基自由基消除能力等抗氧化功能的测定。

#### 2.2.2. 没食子酸标准曲线

1) 用电子天平准确称取焦性没食子酸 0.0507 g, 用蒸馏水溶解, 定容至 100 mL 容量瓶备用, 作为没食子酸标准液。

2) 用天平量取 10 g 无水碳酸钠固体, 加入 60 mL 蒸馏水溶解, 将碳酸钠溶液转移到容量瓶, 用少量蒸馏水分别清洗烧杯三次, 残液转移至容量瓶, 定容, 得到 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液。

3) 吸取 3.0 mL、6.0 mL、9.0 mL、12.0 mL、15.0 mL 没食子酸标准液分别定容于 50 mL 容量瓶内。然后从没食子酸系列梯度溶液中吸取 1.0 mL 溶液加入 25 mL 容量瓶中, 加入 10 mL 蒸馏水摇匀, 用移液管移取 1.50 mL 福林酚试剂, 摇匀后放置在黑暗处, 5 min 后加入 6 mL 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液摇匀, 然后在室温下避光放置反应 60 min, 以蒸馏水作参比, 在波长 765 nm 处测定其吸光值。以吸光值为纵坐标, 标准溶液浓度为横坐标, 绘制标准曲线[11]。

#### 2.2.3. 单因素实验

1) 超声时间对橄榄多酚提取率的影响

取 3 g 橄榄粉于 250 mL 锥形瓶中, 加入 65%乙醇 100 mL (65 mL 乙醇 + 35 mL 蒸馏水), 在 50℃ 的超声水浴中加热 30 min、40 min、50 min。用福林酚作显色剂测其吸光度。

### 2) 提取温度对橄榄多酚提取率的影响

取 3 g 橄榄粉于 250 mL 锥形瓶中, 加入 65%乙醇 100 mL (65 mL 乙醇 + 35 mL 蒸馏水), 分别在 40℃、50℃、60℃、70℃下反应 40 min。用福林酚作显色剂测其吸光度。

### 3) 乙醇浓度对橄榄多酚提取率的影响

取 3 g 橄榄粉于 250 mL 锥形瓶中, 分别加入 35%、45%、55%、65%乙醇 100 mL。分别在 50℃下反应 40 min。用福林酚作显色剂测其吸光度。

### 4) 料液比对橄榄多酚提取率的影响

取 3 g 橄榄粉于 250 mL 锥形瓶中, 分别加入 65%的 45 mL、60 mL、75 mL、90 mL 的乙醇, 分别在 50℃下反应 40 min。用福林酚作显色剂测其吸光度。

## 2.2.4. 二次正交旋转组合实验

由以上四个单因素实验可知, 该四个因素均对提取率有较大影响, 分别为: 超声时间、温度、乙醇浓度、料液比, 其中超声虽然随着时间增加产率仅有少量提升, 出于实际生产效率仍选择 40 min 为中间水平。二次正交旋转组合实验设计分别使用 -2, -1, 0, 1, 2 表示每个因素的 5 个水平, 如表 1。以橄榄多酚的提取率为目标, 运用数据处理软件 SAS 得出, 整个实验有 36 组, 设计如表 2, 以优化橄榄多酚提取的最佳工艺条件[12]。

## 2.2.5. 用红外吸收光谱鉴定提取物成分

将冷冻干燥获得的橄榄多酚提取物干粉加入溴化钾研磨均匀成粉, 取适量样品进行压片, 得到薄膜片放入样品架在 4000~400 波数进行红外吸收光谱测量。

## 2.2.6. 橄榄多酚对 DPPH 消除率的测定

### 1) 1 m mol·L<sup>-1</sup> DPPH 溶液的制备

用分析天平准确量取 19.716 mg 的 DPPH 固体定容于 50 mL 棕色瓶中, 定容可得到 1 m mol·L<sup>-1</sup> 的 DPPH 溶液。使用时需稀释 10 倍使用。

### 2) 橄榄提取物系列浓度梯度溶液制备

取 0.25 g 橄榄多酚提取物用无水乙醇定容于 100 mL 容量瓶, 得到 2.5 mg·mL<sup>-1</sup> 原液①。从原液①中量取 2 mL 橄榄溶液定容于 50 mL 容量瓶, 得到 0.1 mg·mL<sup>-1</sup> 溶液②。从溶液②中取 10 mL 溶液定容于 50 mL 容量瓶, 得到 0.02 mg·mL<sup>-1</sup> 溶液③。从溶液②中取 5 mL 定容于 50 mL 容量瓶中, 得到 0.01 mg·mL<sup>-1</sup> 溶液④。从溶液②中取 2.5 mL 定容于 50 mL 容量瓶中, 得到 0.005 mg·mL<sup>-1</sup> 溶液⑤。从溶液②中取 0.5 mL 定容于 50 mL 容量瓶中, 得到 0.001 mg·mL<sup>-1</sup> 溶液⑥。以上制备得到 0.1 mg·mL<sup>-1</sup>、0.02 mg·mL<sup>-1</sup>、0.01 mg·mL<sup>-1</sup>、0.005 mg·mL<sup>-1</sup>、0.001 mg·mL<sup>-1</sup> 系列浓度梯度溶液。

Table 1. Combination experiment design of quadratic regression orthogonal

表 1. 二次正交旋转组合实验设计表

水平	因素			
	超声时间/min	温度/℃	乙醇浓度/%	料液比
-2	30	40	45	1:20
-1	35	45	50	1:25
0	40	50	55	1:30
1	45	55	60	1:35
2	50	60	65	1:40

### 3) 橄榄多酚对 DPPH 清除率的测定

分别用移液管移取  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.005 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.001 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的橄榄多酚溶液  $2.0 \text{ mL}$  至试管中，分别加入  $2.0 \text{ mL}$  乙醇和  $2.0 \text{ mL}$   $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 DPPH 溶液，另外取一直空试管加入  $2 \text{ mL}$  蒸馏水和  $2 \text{ mL}$   $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 DPPH 溶液，作为空白样使用。将这一系列试管摇晃均匀后放置于黑暗处静置  $30 \text{ min}$ ，在波长  $517 \text{ nm}$  处测定吸光度。用 Vc 作为参照，计算 DPPH 清除率。

$$\text{DPPH清除率} = \left[ 1 - (A_x - A_y) / A_0 \right] \times 100\% \quad (1)$$

其中， $A_x$  为加入样品和 DPPH 溶液反应后的吸光度； $A_y$  为加入样品和等体积乙醇溶液的吸光度； $A_0$  为空白对照样的吸光度。

### 4) Vc、BHA 对 DPPH 清除率的测定

分别制备 Vc、BHA 系列浓度梯度溶液，得到  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.005 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.001 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的 Vc 溶液和 BHA 溶液。分别移取各样品溶液  $2.0 \text{ mL}$  至试管中，分别加入  $2.0 \text{ mL}$  乙醇和  $2.0 \text{ mL}$   $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 DPPH 溶液，另外取一直空试管加入  $2 \text{ mL}$  蒸馏水和  $2 \text{ mL}$   $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 DPPH 溶液，作为空白样使用。将这一系列试管摇晃均匀后放置于黑暗处静置  $30 \text{ min}$ ，在波长  $517 \text{ nm}$  处测定吸光度[13]。

### 2.2.7. 二次回归正交旋转组合设计实验

二次回归正交旋转组合设计实验用 spss 软件进行方差分析和显著性检测进行分析后，再用 sas 软件拟合二次回归正交优化方程，最后 matlab 软件对提取因素间的交互作用进行分析。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 福林酚测定没食子酸浓度标准曲线

据步骤 2.2.2. 得回归方程  $y = 10.028x - 0.0355$ ， $R^2 = 0.99862$ ，表明在  $0.02 \sim 0.12 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的浓度范围内，没食子酸浓度  $x$  与吸光度  $y$  之间有很好的相关性，如图 1 所示：

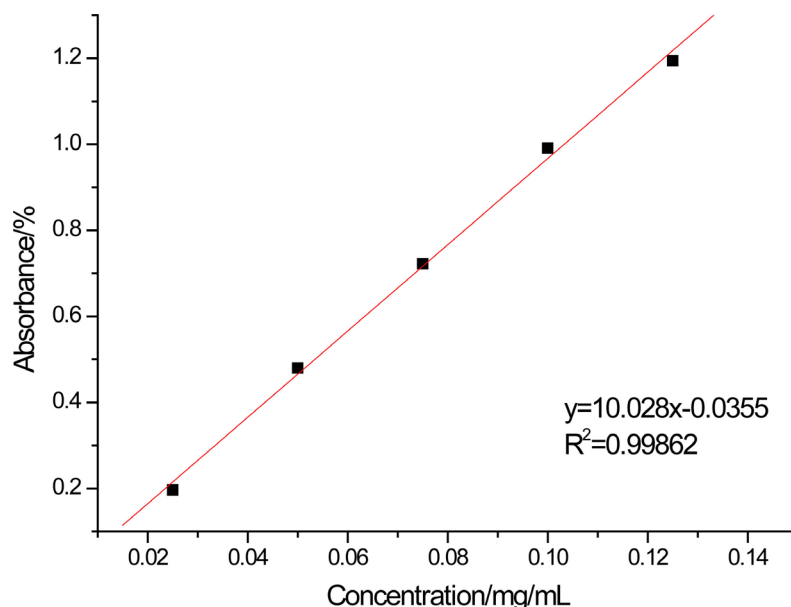


Figure 1. The standard curve of gallic acid

图 1. 没食子酸标准曲线

## 3.2. 单因素实验结果

### 3.2.1. 超声时间对橄榄多酚提取率的影响

由图 2 可知, 在 40 min 内, 随着超声提取时间的增长, 多酚得率逐渐增大, 当超声时间延长到 40 min 以后, 多酚得率稍微下降, 随着时间增长, 得率只有不显著的增长, 在实际生产中, 40 min 的生产效率更高, 故选择超声提取时间为 40 min。

### 3.2.2. 温度对橄榄多酚提取率的影响

由图 3 可知, 在 40℃ 到 70℃ 的范围内, 水浴温度对多酚得率有一定的影响, 且在 70℃ 左右到达最

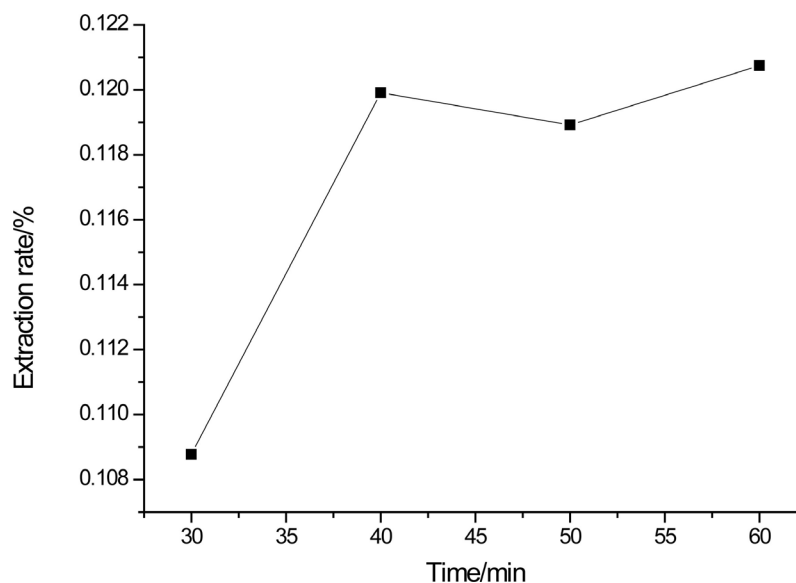


Figure 2. Effect of ultrasonic time on yield of oleuropein

图 2. 超声提取时间对橄榄多酚得率的影响

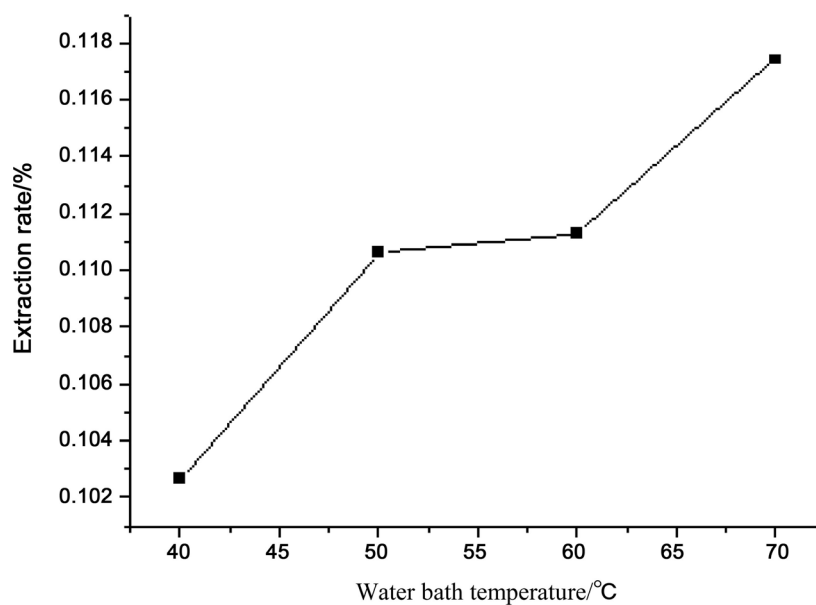


Figure 3. Effect of water bath temperature on yield of oleuropein

图 3. 水浴温度对橄榄多酚提取率的影响

高点, 故使用 70℃ 水浴温度为最佳实验条件。

### 3.2.3. 乙醇浓度对橄榄多酚提取率的影响

由图 4 可知, 在 35% 到 65% 的范围内, 多酚得率随着浓度增加, 呈先增加而降低的趋势。乙醇浓度对在 55% 范围内, 随着百分数的增加, 多酚得率增加, 在 55% 的时候达到最高点, 之后缓慢下降, 故选择乙醇浓度 55% 为实验最佳条件。

### 3.2.4. 料液比对橄榄多酚提取率的影响

由图 5 可知, 在 1:20 到 1:30 的范围内, 随着乙醇用量的增加, 多酚得率增加, 到 1:30 时, 多酚得

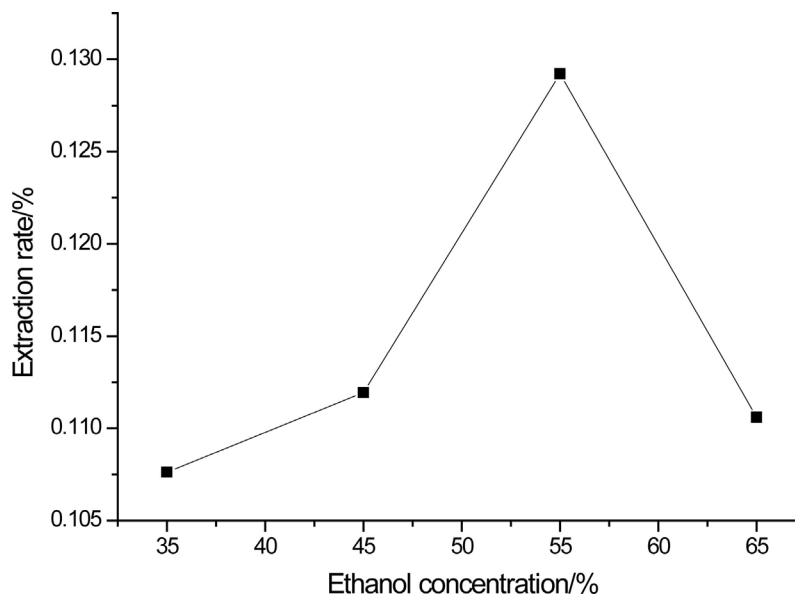


Figure 4. Effect of ethanol concentration on yield of oleuropein

图 4. 乙醇浓度对橄榄多酚得率的影响

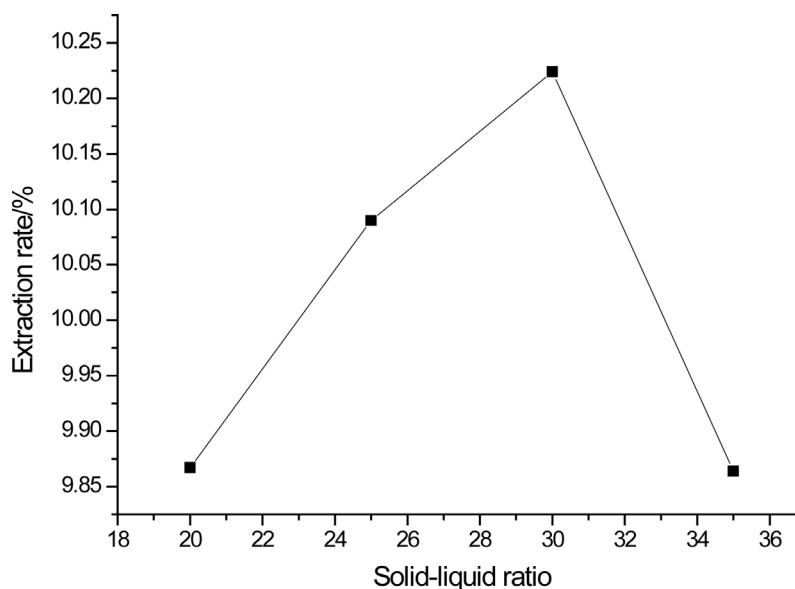


Figure 5. Effect of solid-liquid ratio on yield of oleuropein

图 5. 料液比对橄榄多酚得率的影响

率达到最高点, 之后有明显下降, 故选择 1:30 为最佳条件[14]。

### 3.3. 二次回归正交旋转实验优化提取条件

由表 2 的实验结果, 运用 spss 软件进行方差分析和显著性检测。由表 3 方差分析可知, 模型整体 sig 值为 0.012 远小于 0.05 但接近于 0.01, 可见模型的显著性一般, 其决定系数  $R^2 = 0.790$ , 说明模型拟合效果一般, 实验存在一定的误差率。

由表 3 可见 sig 值小于 0.05 的项,  $x_1$  远小于 0.01, 为主要影响显著的因素,  $x_2$  和  $x_3$  小于 0.05, 为显著性一般的因素, 故影响因素主效应的顺序为  $x_1$  (超声时间)  $> x_3$  (乙醇浓度)  $> x_2$  (温度)  $> x_4$  (固液比)。从交互项来看, 温度和乙醇浓度的交互作用、温度和固液比的交互作用均接近 0.2, 为交互项中最为显著的两项, 可以想到因为温度的提高使乙醇溶液蒸发导致提取液的体积变小, 影响到乙醇浓度和固液比两个因素对提取率的作用, 所以乙醇浓度和固液比两个因素与其他因素的交互性的显著性较低。特别是体积减小影响最大的固液比显著性最低, 导致了整体误差的增大。

显著性低的交互项去掉, 使用 sas 软件拟合方程:

$$y = -19.75 - 36.99x_1 + 43.02x_2 + 32.33x_3 + 24.24x_4 + 19.25x_1^2 - 6.76x_2^2 - 5.31x_3^2 - 6.77x_4^2 - 4.3x_1 * x_2 - 18.86x_2 * x_3 - 9.58x_2 * x_4 \quad (2)$$

使用 matlab 软件对乙醇浓度、温度和固液比制作交互图。

**Table 2.** Design of quadratic regression orthogonal rotation combination experiment

**表 2.** 二次回归正交旋转组合实验设计表

编号	因素				提取率/%
	超声时间	温度	乙醇浓度	料液比	
1	1	1	1	1	9.864
2	1	1	1	-1	9.941
3	1	1	-1	1	9.345
4	1	1	-1	-1	9.455
5	1	-1	1	1	11.011
6	1	-1	1	-1	10.789
7	1	-1	-1	1	10.741
8	1	-1	-1	-1	9.841
9	-1	1	1	1	10.113
10	-1	1	1	-1	9.791
11	-1	1	-1	1	10.218
12	-1	1	-1	-1	9.879
13	-1	-1	1	1	11.676
14	-1	-1	1	-1	10.938
15	-1	-1	-1	1	10.762
16	-1	-1	-1	-1	9.542
17	-2	0	0	0	13.859
18	2	0	0	0	10.643



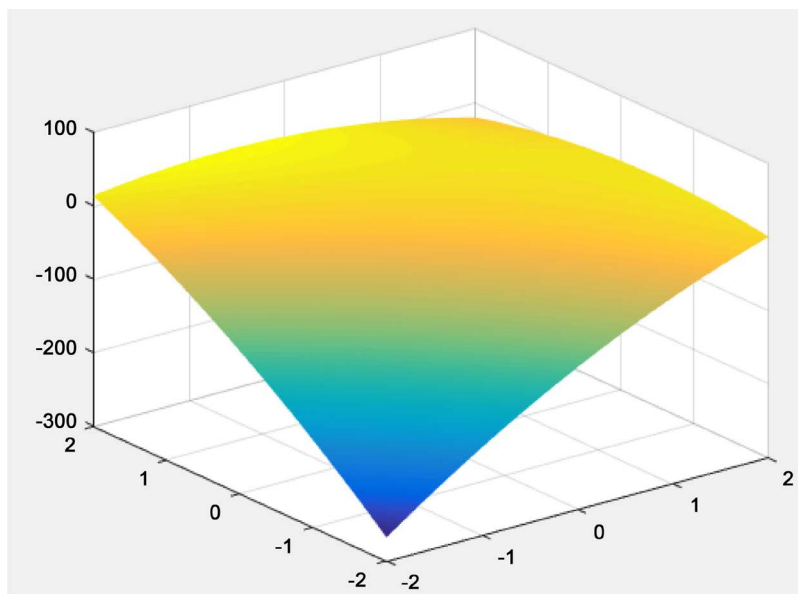
## Continued

19	0	-2	0	0	11.047
20	0	2	0	0	10.508
21	0	0	-2	0	10.059
22	0	0	2	0	9.311
23	0	0	0	-2	10.107
24	0	0	0	2	10.580
25	0	0	0	0	9.252
26	0	0	0	0	9.296
27	0	0	0	0	10.912
28	0	0	0	0	10.568
29	0	0	0	0	11.421
30	0	0	0	0	11.076
31	0	0	0	0	10.553
32	0	0	0	0	10.628
33	0	0	0	0	11.241
34	0	0	0	0	10.688
35	0	0	0	0	10.897
36	0	0	0	0	10.344

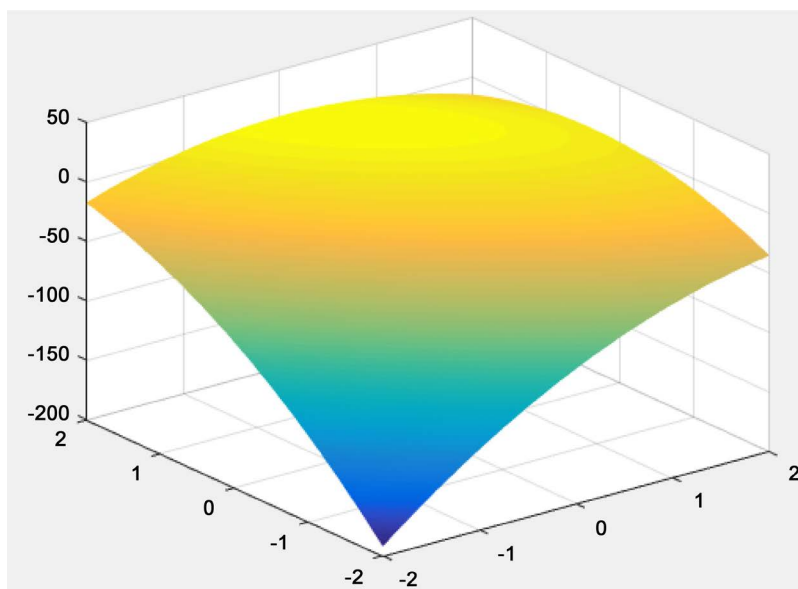
**Table 3.** Analysis of variance and significance test  
**表 3.** 方差分析与显著性检测

源	平方和	df	均方	F	Sig.
校正模型	20.641a	19	1.086	3.159	0.012
截距	768.641	1	768.641	2235.056	0.000
超声时间	10.232	3	3.411	9.917	0.001
温度	3.018	3	1.006	2.925	0.046
乙醇浓度	2.809	3	0.936	2.722	0.049
固液比	0.992	3	0.331	0.961	0.435
超声时间 * 温度	0.046	1	0.046	0.134	0.719
超声时间 * 乙醇浓度	0.001	1	0.001	0.002	0.965
超声时间 * 固液比	0.177	1	0.177	0.515	0.483
温度 * 乙醇浓度	0.461	1	0.461	1.341	0.264
温度 * 固液比	0.424	1	0.424	1.234	0.283
乙醇浓度 * 固液比	0.082	1	0.082	0.238	0.632
误差	5.502	16	0.344		

$R^2 = 0.790$



**Figure 6.** The Interaction between extraction temperature and ethanol concentration  
**图 6.** 提取温度和乙醇浓度交互图



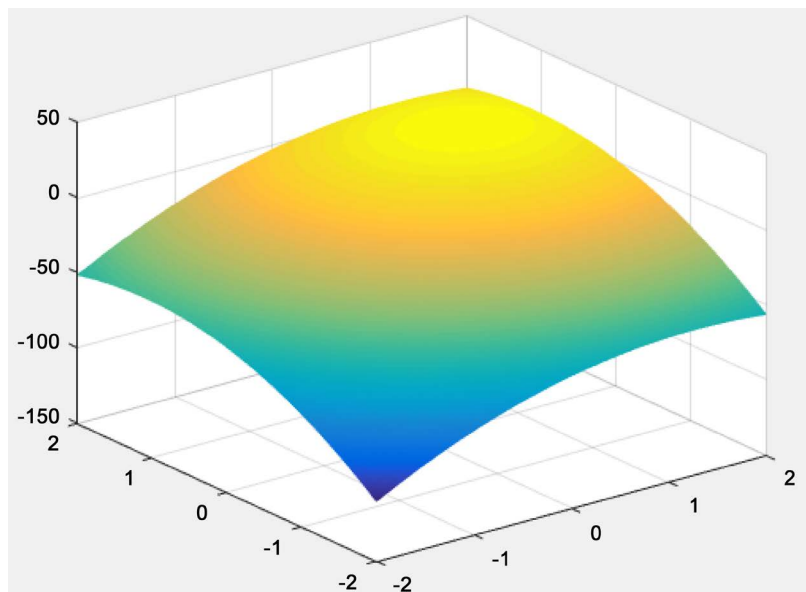
**Figure 7.** The Interaction between extraction temperature and solid-liquid ratio  
**图 7.** 提取温度和固液比交互图

由图 6~图 8 可知, 当响应面的坡度趋向平滑时, 说明响应值受各个变量的影响较小; 当响应面趋向倾斜时, 则说明响应面受变量交互作用较为明显。通过比较图 6~图 8 比较可知, 温度、乙醇浓度和固液比这三个因素之间交互关系一般[15] [16] [17] [18]。

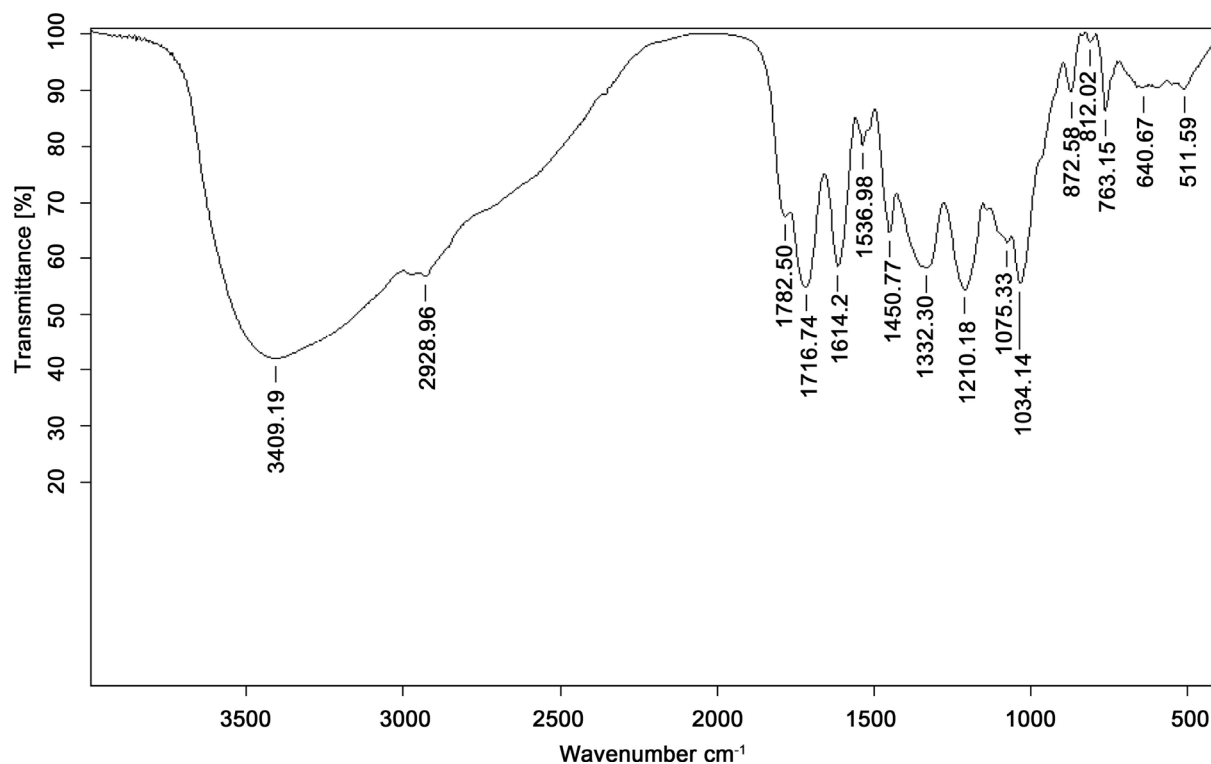
通过回归拟合方程分析出橄榄多酚最佳工艺参数为: 超声时间 37.3 min、水浴温度 46.36℃、乙醇浓度为 43.24%, 固液比为 1:32.5。考虑操作方便, 修正最佳工艺为: 超声时间 37 min、水浴温度 46℃、乙醇浓度为 43%, 固液比为 1:32, 在此条件下平行验证三次, 实验结果为 13.87%、13.92%、13.97%, 平均值接近 13.92%。

### 3.4. 红外吸收光谱

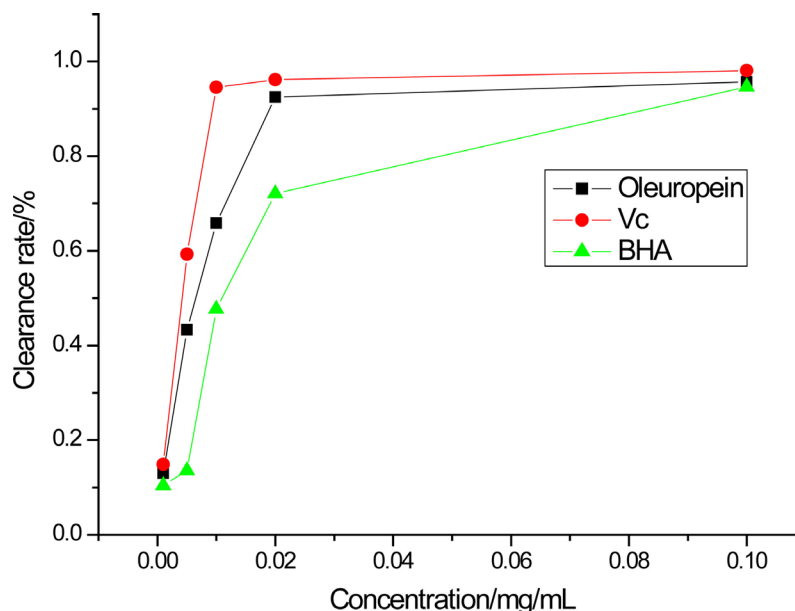
从图 9 的光谱图中可以看到, 在  $3409.19\text{ cm}^{-1}$  波长处, 有一个较强的吸收峰, 可能是由于-OH 的伸缩振动造成; 而在  $2975\sim 2850\text{ cm}^{-1}$  处弱的吸收峰为 C-H 的伸缩振动。在  $1034.14\text{ cm}^{-1}$  处为 C-H<sub>3</sub> 的弯曲振



**Figure 8.** The Interaction between ethanol concentration and solid-liquid ratio  
**图 8.** 乙醇浓度和固液比交互图



**Figure 9.** The Fourier infrared spectrogram of oleuropein  
**图 9.** 橄榄多酚的傅里叶红外光谱图



**Figure 10.** Comparison of the DPPH radical scavenging rate with oleuropeins, Vc and BHA  
**图 10.** 橄榄多酚、Vc、BHA 对 DPPH 自由基的消除率对比图

动。在  $1450.77\text{ cm}^{-1}$  处为 C-H 的弯曲振动。在  $1332.3\text{ cm}^{-1}$  处为 O-H 的弯曲振动。可以得知，提取物成分存在酚类物质[19]。

### 3.5. 橄榄多酚抗氧化测定结果与分析

由图 10 中可知，在实验范围内，橄榄多酚的对 DPPH 清除能力处于 Vc 和 BHA 之间，不同浓度的橄榄多酚溶液对 DPPH 的清除率随浓度升高而增加。在低浓度范围内，清除率和质量浓度有明显的正相关性，随着浓度升高，清除率趋于平缓，逐渐趋近于 96%。虽然橄榄多酚对 DPPH 自由基的清除率相对于 Vc 略低，但是它在高浓度时仍有效果，当质量浓度为  $0.1\text{ mg}\cdot\text{m}^{-1}\text{ L}$  时，VC 的清除率为 98%，橄榄多酚的清除率大约为 96.7%，BHA 的清除率为 94.7%，橄榄多酚的清除率介于这两种食品添加剂之间，可见橄榄多酚对 DPPH 清除效果显著[20]。

## 4. 结论

本文采用了超声辅助提取橄榄多酚的工艺，通过单因素和二次回归旋转正交试验的方法，确定了提取橄榄多酚工艺的最佳条件，即超声时间 37 min、水浴温度  $46\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、乙醇浓度为 43%，固液比为 1:32。从影响提取率的因素来看，超声时间越长，提取率虽然有所增加但是逐渐趋近于平缓，在实际制作工艺过程中会使得成本增加，故应取提取率效率最高的超声时间。同时也并不是水浴温度越高，固液比越高，乙醇浓度越高，橄榄多酚的提取率就越高。故达到最佳条件附近时，橄榄多酚的提取达到饱和。

橄榄多酚对 DPPH 溶液的消除效果很高，介于 Vc 和 BHA 这两种公用食品添加剂中间，可见橄榄多酚作为抗氧化剂有较为显著的效果。因为温度上升，导致液体体积下降，乙醇浓度变化，所以温度和溶液体积、乙醇浓度的交互作用比较难以控制，导致了模型显著性的减低，如果使用更好的密封装置，可以使模型显著性更高，模型的公信力越强。

## 基金项目

2017 年佛山科学技术学院省级大学生创新创业项目编号(201711847115)。

## 参考文献

- [1] 陈燊, 曾红亮, 陈万明, 等. 超声微波协同提取橄榄多糖及其脱蛋白工艺的研究[J]. 热带作物学报, 2015, 36(8): 1484-1490.
- [2] 张亮亮, 杨志伟, 林益明. 橄榄多酚抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2008(4): 57-59.
- [3] 王寒冬, 刘静, 刘露, 等. 微波辅助提取油橄榄多酚及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015(21): 204-209.
- [4] 高海荣, 陈秀丽, 赵爱娟, 等. 重铬酸钾分光光度法与福林酚比色法测定茶多酚的比较[J]. 中国食品添加剂, 2017(2): 162-166.
- [5] 韦献雅, 殷丽琴, 钟成, 等. DPPH 法评价抗氧化活性研究进展[J]. 食品科学, 2014(9): 317-322.
- [6] 田应娟, 朱良, 陈健, 等. 超声强化提取橄榄黄酮类物质及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2011(1): 17-22.
- [7] 罗永会, 张翠香, 徐春萍, 等. 正交试验优选大理野生橄榄总多酚的提取工艺[J]. 食品科技, 2013(11): 226-229.
- [8] 曾培源, 朱贵峰. 超声提取橄榄多酚工艺条件的优化[J]. 海峡药学, 2014(3): 17-19.
- [9] He, Z.Y. and Xia, W.S. (2011) Microwave-Assisted Extraction of Phenolics from *Canarium album* L. and Identification of the Main Phenolic Compound. *Natural Product Research*, **25**, 85-92.
- [10] 程云环, 滕井通, 薛建平, 等. Folin-Ciocalteu 比色法测定怀山药零余子多酚含量的研究[J]. 赤峰学院学报(自然科学版), 2013(9): 17-19.
- [11] 谢倩, 王威, 陈清西. 橄榄多酚含量测定方法的比较[J]. 食品科学, 2014(8): 204-207.
- [12] 项昭保, 刘星宇. 响应面法优化超声-微波协同辅助提取橄榄多酚工艺研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(1): 195-200.
- [13] 李京东, 王洋, 王春利. 几种抗氧化剂对橄榄油抗氧化性研究[J]. 食品工业, 2013, 34(9): 65-67.
- [14] 孔维宝, 李阳, 白万明, 等. 微波辅助提取油橄榄果渣多酚[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(4): 233-237.
- [15] 耿树香, 宁德鲁, 李勇杰, 等. 微波辅助提取不同品种油橄榄叶及果渣多酚物质[J]. 西部林业科学, 2014, 43(4): 27-30.
- [16] 方丽, 赖蓓蕾, 金寒冰, 等. 二次正交旋转法优化超声辅助提取羊栖菜多酚及其抗氧化[J]. 食品工业, 2014, 35(10): 168-173.
- [17] 谢碧秀, 刘滕, 马建英, 等. 油橄榄果渣中多酚提取工艺的优化[J]. 食品科技, 2015, 40(9): 192-195.
- [18] 谢碧秀, 马建英, 刘滕, 等. 正交设计优化油橄榄果渣多酚提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(9): 72-75.
- [19] 林玉芳, 谢倩, 陈清西. 橄榄多酚类化合物组分分析[J]. 热带作物学报, 2014, 35(3): 460-465.
- [20] 李永强, 杨士花, 岳晓川, 等. 野生滇橄榄多酚提取工艺的优化[J]. 中国食物与营养, 2015, 21(1): 46-50.

### 知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2166-613X, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>  
期刊邮箱: [hjfs@hanspub.org](mailto:hjfs@hanspub.org)