

单性木兰枝多酚提取工艺及抗氧化性研究

Extraction and antioxidant activities of polyphenol from
Magnolia kwangsiensis figlar & noot. branch

郑燕菲¹

张 强²

蓝亮美³

ZHENG Yan-fei¹ ZHANG Qiang² LAN Liang-mei³

许建本¹

黄秋萍¹

林依娜¹

XU Jian-ben¹ HUANG Qiu-ping¹ LIN Yi-na¹

(1. 广西民族师范学院化学化工学院, 广西 崇左 532200; 2. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530022;

3. 柳州城市职业学院机电与汽车工程系, 广西 柳州 545036)

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Normal University for Nationalities, Chongzuo, Guangxi 532200, China; 2. Faculty of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530022, China; 3. Department of Electrical and Automotive Engineering, Liuzhou City Vocational College, Liuzhou, Guangxi 545036, China)

摘要:以单性木兰枝为原材料,采用超声波辅助法对其多酚进行提取,通过响应面试验优化提取工艺条件,并从总抗氧化性、对 DPPH· 和 ·OH 的清除作用 3 个方面研究了单性木兰枝多酚的抗氧化活性。结果表明,单性木兰枝多酚的最佳提取条件为丙酮浓度 67%,液固比 22:1 (mL/g),提取时间 20 min,该条件下多酚得率为 1.45%。单性木兰枝多酚具有一定的总抗氧化活性,但对 DPPH· 和 ·OH 具有良好的清除能力。

关键词:单性木兰枝;多酚;超声波辅助提取;抗氧化

Abstract: The extraction of polyphenols from the branches of *Magnolia kwangsiensis* figlar & noot. (*M. kwangsiensis*) was studied by ultrasonic-assisted extraction. The extraction condition was optimized by response surface methodology. The antioxidant activities of *M. kwangsiensis* branch polyphenols were evaluated in aspect of total antioxidant activity, DPPH· scavenging activity and ·OH scavenging effect. Results showed the optimum conditions were acetone concentration 67%, liquid-solid ratio 22 (mL/g), extraction time 20 min, and the yield of poly-

phenols reached 1.45%. The polyphenols from the branches of *M. kwangsiensis* had certain total antioxidant activity, but had good scavenging effects on DPPH· and ·OH.

Keywords: *Magnolia kwangsiensis* figlar & noot. branch; polyphenols; ultrasonic-assisted extraction; antioxidant

单性木兰又名广西木兰,花单性、雌雄异株^[1]。目前,单性木兰的有效成分研究主要集中在挥发油、脂肪酸、多糖、多酚及其生物活性^{[2-4][5]63-90}。黄品鲜等^[3]采用气相色谱—质谱联用技术对单性木兰种皮的挥发组分中的油层精油和溶解在水中的化学成分分别进行了定性定量分析;课题组前期曾对单性木兰的新鲜雄花、雌花、叶、果皮和果肉的挥发性成分进行了分析,并研究了单性木兰叶多糖提取工艺及其抗肿瘤活性^{[4][5]15-37};还优化了单性木兰叶多酚的微波辅助提取工艺,最高提取率为(2.44±0.02)%,并评价得知单性木兰叶多酚具有良好的抗氧化性^[6]。但对单性木兰枝中多酚的研究未见报道,若能将其修剪丢弃的单性木兰枝作为原料提取多酚类化合物,并将其应用于开发保健药品及功能食品,有利于扩大其应用价值。植物多酚是具有抗氧化^[7]、抗菌^[8]、抗肿瘤^[9-10]等活性的一种可再生绿色资源,其常见的提取方法有溶剂法、微波辅助法、超声辅助法和酶解法等^[11],其中超声辅助法因简单易行、溶剂消耗少、提取率高等而被广泛使用^[12]。

为了全面构建单性木兰化学成分库,完善开发单性木兰的综合利用,试验拟以单性木兰枝为原料,采用超声

基金项目:广西民族师范学院科研项目(编号:2017BS001);广西教育厅 2018 年广西高校中青年教师基础能力提升项目(编号:2019KY0769);广西教育厅 2019 广西高校中青年教师基础能力提升项目(编号:2019KY0763)

作者简介:郑燕菲,女,广西民族师范学院讲师,博士。

通信作者:张强(1989—),男,广西中医药大学讲师,博士。

E-mail: wwwbxp@126.com

收稿日期:2020-01-11

波辅助法提取多酚,通过响应面优化设计确定最佳提取工艺,并研究单性木兰枝多酚的总抗氧化性、对 DPPH·和·OH 的清除作用,以期扩展单性木兰该资源化学成分研究的数据资源以及为单性木兰作为功能性食品、天然抗氧化剂品的开发提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

单性木兰枝:采摘于广西南宁武鸣;

福林酚:分析纯,上海宝曼生物科技有限公司;

丙酮:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

单宁酸、结晶紫:分析纯,成都市科龙化工试剂厂;

DPPH:分析纯,阿拉丁工业公司。

1.1.2 仪器与设备

数控超声波清洗仪:KQ-300DB 型,上海越众仪器设备有限公司;

分析天平:AR224CN 型,上海奥豪斯仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:AOE 型,翔艺仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 原料预处理 单性木兰枝于 50℃ 烘干,粉碎,过 40 目筛。以石油醚为溶剂,按 4:1 (mL/g) 液固比,于 70℃ 油浴回流 4 h,趁热抽滤,55℃ 烘干 3 h,得单性木兰枝脱脂原料,密封保存以备。

1.2.2 单性木兰枝多酚的定性分析 分别往单性木兰枝多酚提取液中加入少量的 0.3% FeCl₃ 溶液、1% 明胶溶液,摇匀,观察试验现象;向 10 mL 单性木兰枝多酚提取液中依次加入 1 mL 36% 甲醛和 2 mL 浓盐酸,煮沸,回流 30 min,观察试验现象;取单性木兰枝多酚提取液 0.1 mL,进行 Folin-Ciocalteus 显色,用紫外分光光度计扫描^{[5]68}。以单宁酸作为对照。

1.2.3 单性木兰枝多酚的定量分析 以蒸馏水为溶剂,配制质量浓度为 105 μg/mL 的单宁酸标准溶液,准确移取 0.3、0.5、0.8、1.0、1.3 mL 的单宁酸标准溶液于 5 个 25 mL 的棕色容量瓶中,加入 1.3 mL 的福林酚溶液,摇匀静置 6 min,加入 5 mL 的饱和碳酸钠溶液,摇匀静置 6 min,定容至刻度线,摇匀避光静置 30 min^[13]。以单宁酸溶液的质量浓度(x)为横坐标,吸光度(y)为纵坐标,绘制出单宁酸的标准曲线,拟合回归方程为: $y=0.1064x+0.0907$, $R^2=0.9992$ 。说明在 1.00~6.00 μg/mL 范围内,单宁酸呈现良好的线性关系。

准确量取一定体积的样品提取液,用上述方法显色后测定吸光度,用标准曲线方程计算相关浓度,根据式(1)计算单性木兰枝多酚的得率。

$$Y = \frac{25CV_1}{10^6 V_2 W_R} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

Y ——单性木兰枝多酚的得率,%;

W_R ——脱脂原料的质量,g;

C ——通过标准曲线方程求出的浓度,μg/mL;

V_1 ——提取液的总体积,mL;

V_2 ——测定时量取的提取液体积,mL。

1.2.4 单性木兰枝多酚提取工艺优化 称取 10.00 g 单性木兰枝脱脂原料,在温度 65℃ 下进行超声辅助提取,研究不同提取剂、丙酮浓度、液固比、提取时间对单性木兰枝多酚得率的影响。

(1) 提取剂:采用液固比 20:1 (mL/g),提取时间为 10 min,提取剂分别为 70% 丙酮,70% 乙醇,70% 乙醇(1% 盐酸)酸性溶液,蒸馏水,考察单性木兰枝多酚的得率。

(2) 丙酮浓度:采用液固比 20:1 (mL/g),提取时间为 10 min,丙酮浓度分别为 50%,60%,70%,80%,90%,考察单性木兰枝多酚的得率。

(3) 液固比:采用丙酮浓度 70%,提取时间为 10 min,液固比分别为 10:1,15:1,20:1,25:1,30:1 (mL/g),考察单性木兰枝多酚的得率。

(4) 提取时间:采用丙酮浓度 70%,液固比为 20:1 (mL/g),提取时间分别为 5,10,15,20,25 min,考察单性木兰枝多酚的得率。

(5) 响应面优化试验:在单因素试验后,对丙酮浓度、液固比、提取时间进行响应面 Box-Behnken 设计试验,以单性木兰枝多酚得率为评价指标,优化单性木兰枝多酚提取工艺条件。

1.2.5 单性木兰枝多酚的分离 将单性木兰枝多酚提取液在 40℃ 下减压浓缩,于 50℃ 烘干得多酚粗提物。将单性木兰枝多酚提取液在 40℃ 下减压浓缩,依次用石油醚、乙酸乙酯萃取,取乙酸乙酯层和水层于 50℃ 下浓缩干燥,分别得到乙酸乙酯层样和水层样。

1.2.6 单性木兰枝多酚抗氧化性的测定 试验取单性木兰枝多酚粗提物、乙酸乙酯层样、水层样为研究对象,对其总抗氧化性、DPPH·清除能力和·OH 清除能力进行抗氧化性测定。

(1) 总抗氧化性:分别取质量浓度为 0.01,0.02,0.03,0.04,0.05,0.06,0.07 mg/mL 的单性木兰枝多酚的粗提物、乙酸乙酯层样、水层样溶液各 1 mL,依次加入 0.6 mol/L 浓硫酸 1 mL、28 mmol/L 磷酸钠溶液 1 mL、4 mmol/L 钼酸铵溶液 1 mL,于 95℃ 的水浴中恒温 1.5 h,在 695 nm 的波长下测定其吸光度^[14],用 V_C 溶液作对照。试验平行 3 次,取平均值。

(2) DPPH·清除作用:分别取质量浓度为 0.000 1,0.000 5,0.001 3,0.001 7,0.002 3,0.003 5,0.005 0 mg/mL 的单性木兰枝多酚的粗提物、乙酸乙酯层样、水层样溶液

2 mL,分别加入 0.004 mg/mL 的 DPPH · 乙醇溶液 2 mL,摇匀,避光放置 0.5 h,在 514 nm 的波长下测定其吸光度 A_i ^{[5]71[15]},其中不加 DPPH · 乙醇溶液时的吸光度为 A_j ,在加入 DPPH · 乙醇溶液前用蒸馏水代替多酚样品溶液作空白,测定吸光度 A_0 ,用 V_c 溶液作对照。试验平行 3 次,取平均值。按式(2)计算单性木兰枝多酚对 DPPH · 的清除率。

$$S = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

S ——多酚对 DPPH · 的清除率,%;

A_0 ——水与 DPPH · 混合溶液的吸光度;

A_i ——样品溶液与 DPPH · 混合反应后的吸光度;

A_j ——样品溶液与无水乙醇混合溶液的吸光度。

(3) ·OH 清除作用:分别取质量浓度为 0.10,0.15,0.20,0.25,0.30,0.35,0.40 mg/mL 的单性木兰枝多酚的粗提取物、乙酸乙酯层样、水层样溶液 1 mL 于 10 mL 刻度试管中,依次加入 0.4 mmol/L 结晶紫 0.3 mL、1.0 mmol/L 硫酸亚铁溶液 1.2 mL、2.0 mmol/L 过氧化氢溶液 0.6 mL,用 pH 4.0 的磷酸氢二钠-柠檬酸的缓冲溶液定容到刻度线,混匀,避光静置 0.5 h,在 580 nm 的波长下测定其吸光度 A_s ^[16],其中不加过氧化氢溶液时的吸光度为 A_0 ,在加入过氧化氢溶液前用蒸馏水代替多酚样品溶液作空白,测定吸光度 A_b ,用 V_c 溶液作对照。试验平行 3 次,取平均值。按式(3)计算单性木兰枝多酚对 ·OH 的清除率。

$$S = \frac{A_s - A_b}{A_0 - A_b} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

S ——多酚对 ·OH 的清除率,%;

A_0 ——体系中不加过氧化氢溶液的吸光度;

A_s ——加入样品溶液的吸光度;

A_b ——不加样品溶液的吸光度。

2 结果与分析

2.1 单性木兰枝多酚的定性分析

2.1.1 颜色反应对比 用单性木兰枝的多酚提取液的颜色反应进行定性分析,用单宁酸溶液作对比,结果如表 1 所示。由表 1 可知,单性木兰枝的提取液中含有多酚类物质——单宁。

2.1.2 紫外可见光谱分析 经福林酚显色,单性木兰枝

多酚提取液和单宁酸标准品的紫外可见光谱如图 1 所示。由图 1 可知,单性木兰枝多酚提取液和单宁酸标准品的最大吸收波长,均显示在 760 nm 处,故选择 760 nm 作为测定的吸收波长。

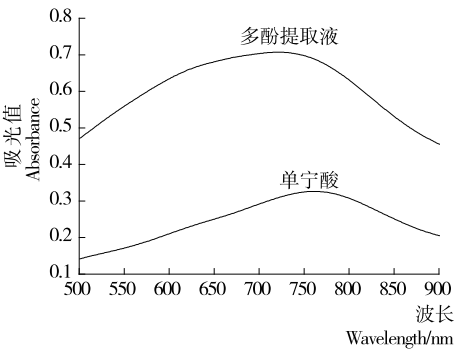


图 1 单性木兰枝多酚的紫外可见光谱图

Figure 1 UV spectra of *M. kwangsiensis* branch polyphenols

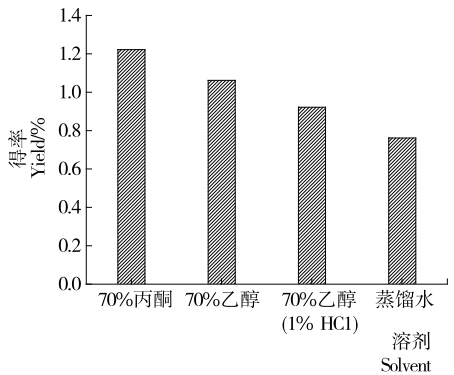


图 2 提取剂对单性木兰枝多酚得率的影响

Figure 2 Effect of different solvent on yield *M. kwangsiensis* branch polyphenols

2.2 单性木兰枝多酚提取工艺的优化

2.2.1 提取剂的影响 由图 2 可知,提取剂对单性木兰枝多酚得率影响的次序为:70%丙酮>70%乙醇>70%乙醇(1%盐酸)酸性溶液>蒸馏水。根据相似相溶原理可知,丙酮溶液与多酚物质的极性相近,确定丙酮溶液为单性木兰枝多酚的最佳提取溶剂。

2.2.2 丙酮浓度的影响 由图 3 可知,随着丙酮浓度的增大,单性木兰枝多酚的得率呈先增大后降低的趋势,当丙酮浓度为 70%时得率最高,原因可能是丙酮浓度过大,脂溶性物质溶出增加,从而多酚得率降低^[17]。故选择 60%,70%,80% 3 个水平进行响应面优化试验。

2.2.3 液固比的影响 由图 4 可知,随着液固比的增大,单性木兰枝多酚的得率呈先增大后趋于平缓的趋势,在液固比>20:1 (mL/g)时,单性木兰枝多酚得率几乎保持不变。适当增大液固比有利于多酚溶出,但液固比过

表 1 提取液和单宁酸的对比

Table 1 Comparison of extraction solution and tannin acid

试验内容	提取液	单宁酸
与 0.3% Fe ³⁺ 的反应	呈深蓝色	呈深蓝色
与 1% 明胶的反应	白色絮状物产生	白色絮状物产生
与 甲醛—盐酸 的反应	红色沉淀	红色沉淀

大,会消耗大量溶剂、增大后续浓缩的操作难度^[18]。故选择 15 : 1,20 : 1,25 : 1 (mL/g) 3 个水平进行响应面优化试验。

2.2.4 提取时间的影响 由图 5 可知,随着提取时间的增加,单性木兰枝多酚的得率呈先增大后减少的趋势,当提取时间为 15 min 时得率最大,这是因为刚开始超声

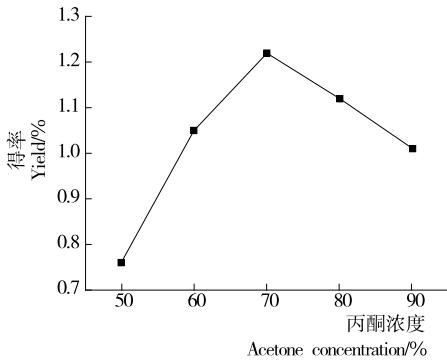


图 3 丙酮浓度对单性木兰枝多酚得率的影响
Figure 3 Impact of acetone concentration on yield of *M. kwangsiensis* branch polyphenols

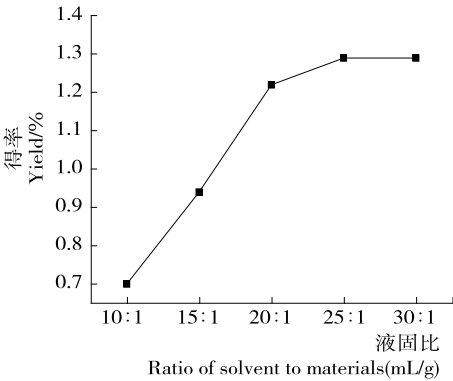


图 4 液固比对单性木兰枝多酚得率的影响
Figure 4 Impact of ratio of solvent to materials on yield of *M. kwangsiensis* branch polyphenols

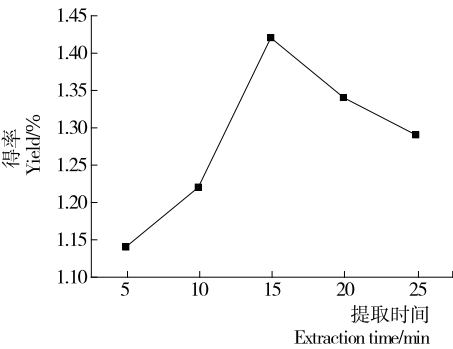


图 5 提取时间对单性木兰枝多酚得率的影响
Figure 5 Impact of extraction time on yield of *M. kwangsiensis* branch polyphenols

辅助提取时,单性木兰枝粉末细胞破碎度逐渐增加,但超声提取时间过长时,多酚虽已基本溶出,但部分多酚已被氧化分解^[19]。故选择 10,15,20 min 3 个水平进行响应面优化试验。

2.2.5 提取条件的优化 根据单因素试验结果,选择丙酮浓度、液固比、提取时间 3 个因素进行响应面优化试验。试验选取的因素与水平见表 2,试验方案与结果见表 3。

表 2 响应面设计试验的因素和水平表

Table 2 Independent variables and their levels in the response surface methodology test

水平	X ₁ 丙酮浓度/%	X ₂ 液固比(mL/g)	X ₃ 提取时间/min
-1	60	15 : 1	10
0	70	20 : 1	15
1	80	25 : 1	20

表 3 响应面设计试验方案及结果

Table 3 The experimental design and results for yield of polyphenols in the response surface methodology test

序号	X ₁	X ₂	X ₃	多酚得率/%
1	-1	-1	0	0.93
2	1	-1	0	0.95
3	-1	1	0	1.18
4	1	1	0	1.16
5	-1	0	-1	1.11
6	1	0	-1	1.24
7	-1	0	1	1.31
8	1	0	1	1.11
9	0	-1	-1	1.16
10	0	1	-1	1.09
11	0	-1	1	1.05
12	0	1	1	1.39
13	0	0	0	1.46
14	0	0	0	1.47
15	0	0	0	1.40
16	0	0	0	1.38
17	0	0	0	1.40

对表 3 中的试验结果进行响应面优化分析,将各个数值与对应的各因素之间的关系进行二元回归拟合,可以得到单性木兰枝多酚的得率(Y)对丙酮浓度(X₁)、液固比(X₂)、提取时间(X₃)的回归方程为:

$$Y = -11.86 + 0.270 \ 8X_1 + 0.280 \ 4X_2 + 0.107 \ 2X_3 - 0.000 \ 2X_1X_2 - 0.001 \ 7X_1X_3 + 0.004 \ 1X_2X_3 - 0.001 \ 7X_1^2 - 0.007 \ 7X_2^2 - 0.002 \ 3X_3^2. \quad (4)$$

由回归方程可知,对单性木兰枝多酚得率影响的因素从大到小的顺序为:液固比>丙酮浓度>提取时间。将单性木兰枝多酚得率的二次多项回归方程进行方差分析,结果见表4。

表4 回归方程方差分析[†]
Table 4 Response surface quadratic model analysis of various table

方差来源	自由度	平方和	均方和	F 值	P 值	显著性
X ₁	1	6.125E-04	6.125E-04	0.32	0.589 4	
X ₂	1	6.700E-02	6.700E-02	34.78	0.000 6	* *
X ₃	1	8.450E-03	8.450E-03	4.41	0.073 8	
X ₁ X ₂	1	4.000E-04	4.000E-04	0.21	0.661 5	
X ₁ X ₃	1	2.700E-02	2.700E-02	14.22	0.007 0	* *
X ₂ X ₃	1	4.200E-02	4.200E-02	21.95	0.002 2	* *
X ₁ ²	1	1.300E-01	1.300E-01	66.19	<0.000 1	* * *
X ₂ ²	1	1.600E-01	1.600E-01	82.32	<0.000 1	* * *
X ₃ ²	1	1.300E-02	1.300E-02	6.90	0.034 1	*
模型	9	0.470	0.052	27.28	0.000 1	* * *
失拟项	3	6.925E-03	2.308E-03	1.42	0.359 5	
纯误差	4	6.480E-03	1.620E-03			

[†] * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.000 1。

由表4可知, $R^2=0.972\ 3$,失拟项不显著,表明单性木兰枝多酚得率的二次多项方程拟合较好,方程可靠性较强。在一次项 X_1 、 X_2 、 X_3 中,仅 X_2 的 P 值在 0.001~0.010 范围内,效果较为显著,表明液固比对单性木兰枝多酚的得率影响最强,丙酮浓度和提取时间影响较弱。在交互项 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 中,丙酮浓度和提取时间、液固比和提取时间之间的交互作用对单性木兰枝多酚的得率均有较强的影响。在二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 中,丙酮浓度和液固比的二次项比提取时间的二次项对单性木兰枝多酚的得率影响较大。

2.2.6 响应面图和等高线图分析 通过 Design Expert 7.0 软件对响应面的试验结果进行拟合,研究丙酮浓度、液固比、提取时间这3个因素对单性木兰枝多酚得率的影响相应的响应面和等高线如图6~8所示。由图6~8可

知,对单性木兰枝多酚得率影响较大的是丙酮浓度和提取时间、液固比和提取时间的交互作用,影响较小的是丙酮浓度和液固比的交互作用。

2.2.7 最优条件的验证 通过响应面优化试验得单性木兰枝多酚最优提取条件为:67.40%丙酮浓度、22.44:1 (mL/g)液固比、19.64 min 提取时间,预测单性木兰枝多酚的得率为 1.46%。综合试验条件,将最优提取条件调整为 67%丙酮浓度、22:1 (mL/g)液固比、20 min 提取时间。在调整后的条件下平行提取 4 次,单性木兰枝多酚的得率分别为 1.46%,1.45%,1.45%,1.44%,平均得率为 1.45%,与预测值的相对误差为 0.46%,证明该响应面优化试验结果可靠。有文献^{[5][82][6]}指出,单性木兰叶中多酚的得率为 2.44%,高于试验单性木兰枝多酚得率,可能是因为单性木兰不同部位的多酚含量有所差别,或是因

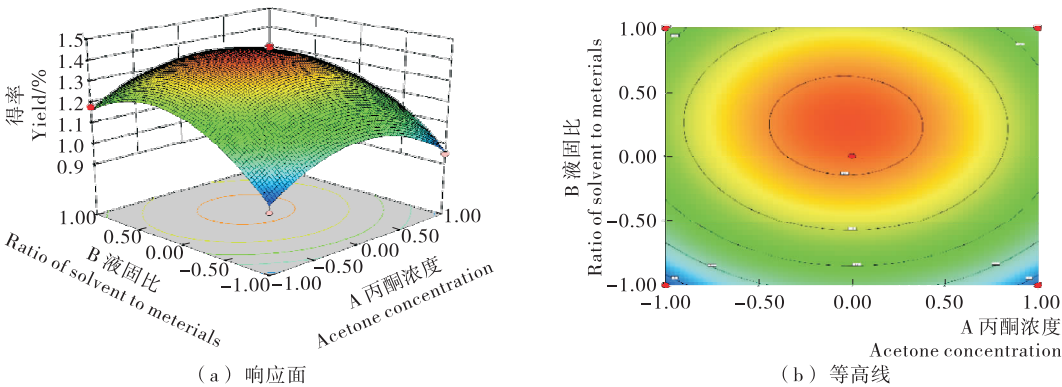


图6 丙酮浓度和液固比对多酚得率的3D和2D作用

Figure 6 The 3D and 2D impacts of acetone concentration and ratio of solvent to material on yield of polyphenols

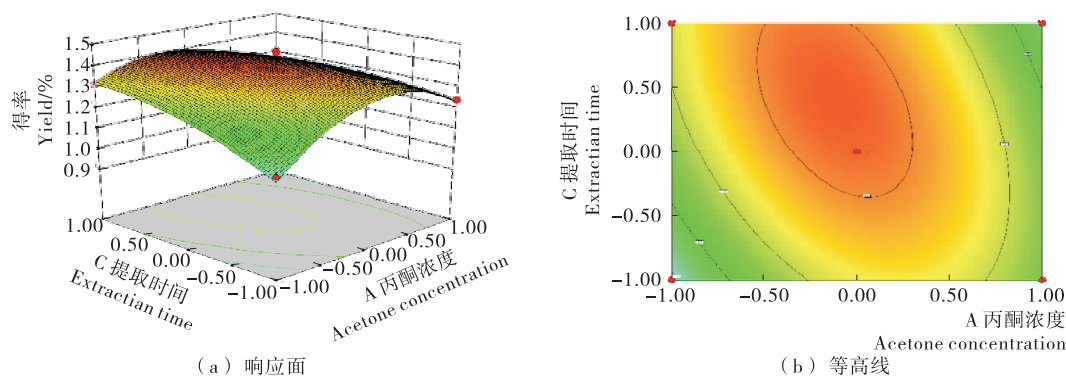


图 7 丙酮浓度和提取时间对多酚得率的 3D 和 2D 作用

Figure 7 The 3D and 2D impacts of acetone concentration and extraction time on yield of polyphenols

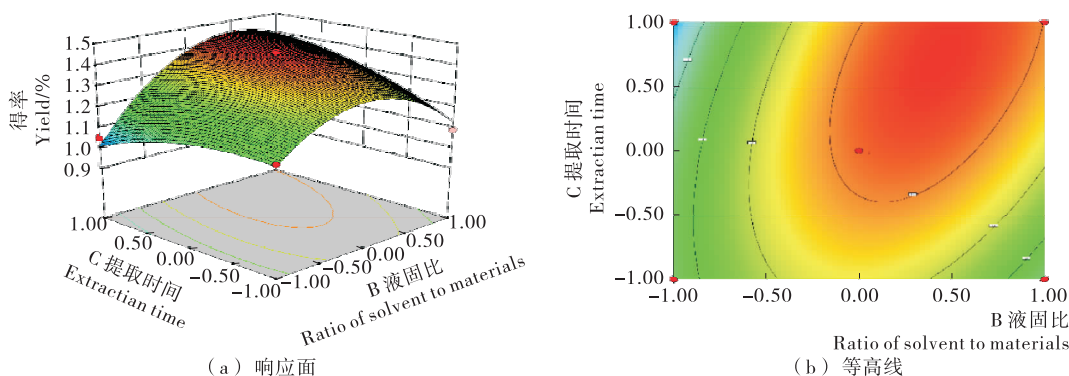


图 8 液固比和提取时间对多酚得率的 3D 和 2D 作用

Figure 8 The 3D and 2D impacts of ratio of solvent to material and extraction time on yield of polyphenols

为不同提取条件对得率有影响。

2.3 单性木兰枝多酚的抗氧化性

2.3.1 总抗氧化性 由图 9 可知,所有样品溶液的总抗氧化性均随浓度的增大而增强。当浓度为 0.07 mg/mL 时, V_C 的吸光度为 0.56,单性木兰多酚的粗提物、乙酸乙酯层样、水层样的吸光度分别 V_C 的 40.71%, 30.18%, 41.07%。说明单性木兰多酚具有一定的总抗氧化性,但弱于 V_C 。

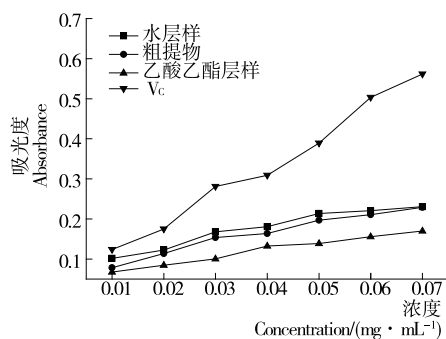


图 9 单性木兰枝多酚的总抗氧化性能力

Figure 9 Total antioxidant activities of *M. kwangsiensis* branch polyphenols

2.3.2 DPPH · 清除作用 由图 10 可知,单性木兰枝多酚样品对 DPPH · 清除能力与浓度呈正相关。当浓度为 0.005 mg/mL 时,单性木兰枝多酚的粗提物、乙酸乙酯层样、水层样的清除率分别为 90.22%, 67.39%, 82.61%。与 V_C 的清除作用相比,单性木兰枝多酚具有良好的 DPPH · 清除效果。

2.3.3 ·OH 清除作用 由图 11 可知,单性木兰枝多酚样品对 ·OH 具有良好清除能力,清除能力与浓度呈正相关的量效关系。当浓度为 0.40 mg/mL 时, V_C 对 ·OH

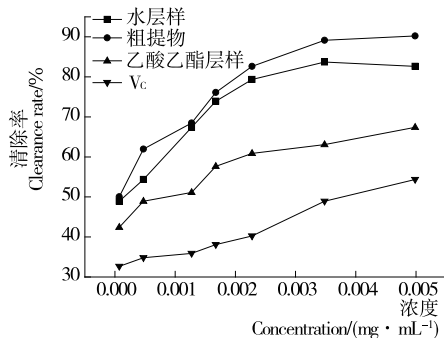


图 10 单性木兰枝多酚的 DPPH · 清除能力

Figure 10 Scavenging activities of *M. kwangsiensis* branch polyphenols on DPPH ·

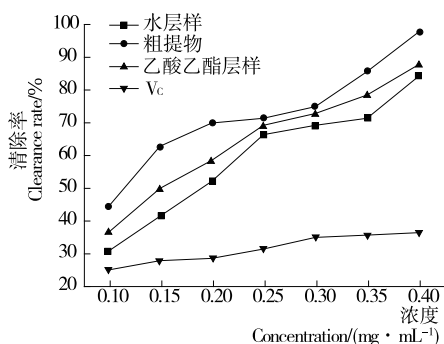


图 11 单性木兰枝多酚的·OH清除能力

Figure 11 Scavenging effect of *M. kwangsiensis* branch polyphenols on ·OH

的清除率为 36.43%，而单性木兰枝多酚的清除作用均强于 V_c，粗提物、乙酸乙酯层样、水层样的清除率分别相当于 V_c 的 2.31, 2.69, 2.41 倍。

3 结论

试验采用响应面设计法优化单性木兰枝多酚超声波辅助提取法提取工艺最优条件: 丙酮浓度 67%，液固比 22:1 (mL/g)，提取时间 20 min，该条件下，单性木兰枝多酚得率达 1.45%。抗氧化性研究发现，单性木兰枝多酚具有一定的总抗氧化性，但具有良好的 DPPH· 和 ·OH 清除效果，说明单性木兰枝多酚可开发作为食品、药品、化妆品等行业的天然抗氧化物。试验并未对单性木兰枝多酚类物质进行深入的纯化分离，后续可采用大孔吸附树脂进行分析纯化，以及探究单性木兰枝多酚抗氧化性的量效关系。

参考文献

- [1] ZANIS Michael J, SOLTIS Pamela S, QIU Yin-long, et al. Phylogenetic analyses and perianth evolution in basal angiosperms[J]. Annals of the Missouri Botanical Garden, 2003, 90(2): 129-150.
- [2] 利健文. 木兰科植物精油的提取和 GC-MS 分析[D]. 广州: 华南理工大学, 2011: 28-36.
- [3] 黄品鲜, 周永红, 赖家业, 等. 珍稀濒危植物单性木兰种皮的挥发性成分分析[J]. 广西植物, 2010, 30(5): 691-695.
- [4] ZHENG Yan-fei, ZHANG Qiang, LIU Xiong-min, et al. Extraction of polysaccharides and its antitumor activity on *Magnolia kwangsiensis* figlar & noot.[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 142: 98-104.
- [5] 郑燕菲. 濒危植物单性木兰的有效成分及其生物活性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2016.
- [6] ZHENG Yan-fei, LIU Xiong-ming, LAI Fang. Extraction and antioxidant activities of *Magnolia kwangsiensis* figlar & noot. leaf polyphenols [J]. Chemistry & Biodiverse, 2019, 16(2): e1800409.

- [7] 王婧, 郭阳, 包怡红, 等. 仙人掌多酚超声辅助醇提工艺优化及抗氧化、降脂能力分析[J]. 食品与机械, 2019, 35(8): 177-182.
- [8] 胡长玉, 戴毅, 王雅群, 等. 祁白术多酚提取工艺及抗氧化、抑菌活性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(1): 170-176.
- [9] 于娟, 纪海玉, 白云, 等. 红茶多酚对 H22 荷瘤小鼠的免疫调节和抗氧化作用[J]. 中国食品学报, 2019, 19(10): 49-55.
- [10] 杨谷良, 李士明, 邓昆, 等. 甜柿果实多酚类物质提取工艺的优化及其抗肺癌细胞生长的活性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(2): 212-216.
- [11] 夏婷, 赵超亚, 杜鹏, 等. 食品中多酚类化合物种类、提取方法和检测技术研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(5): 231-238.
- [12] WANG Zhen-bin, LI Ting-ting, LIU Feng-ye, et al. Effects of ultrasonic treatment on the maturation of Zhenjiang vinegar[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 39: 272-280.
- [13] 黄增. 巨尾桉有效成分的提取分离及其生物活性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2012: 42-63.
- [14] 延莎, 祁鹏煜, 张苏慧, 等. 不同米色小敏多酚提取物的体外抗氧化活性[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(10): 34-37.
- [15] 孙兴荣, 卞景阳, 刘琳帅, 等. 黑柿子多酚的提取及抗氧化作用的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2019(4): 85-89.
- [16] 唐晶晶. 石榴皮多酚类物质的提取、纯化及抗氧化性研究[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2010: 44.
- [17] 王彦阳, 张中润, 郑晓瑞, 等. 腰果叶多酚超声辅助提取工艺及其抗氧化能力测定[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(3): 53-58.
- [18] 胡会刚, 赵巧丽. 芒果皮渣多酚的提取分离及抗氧化活性分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(2): 53-62.
- [19] 金寒冰, 方丽, 赖蓓蕾, 等. 苦苣多酚超声辅助提取及抗氧化研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 211-215.

(上接第 159 页)

- [21] SUN Shu-jing, ZHANG Xiao-juan, SUN Shi-wei, et al. Production of natural melanin by *Auricularia auricula* and study on its molecular structure[J]. Food Chemistry, 2016, 190: 801-807.
- [22] MAGARELLI M, PASSAMONTI P, RENIERI C. Purification, characterization and analysis of sepia melanin from commercial sepia ink (*Sepia Officinalis*) [J]. Revista CES Medicina Veterinaria Zootecnia, 2010, 5(2): 18-28.
- [23] 高然, 陈俊德, 李剑瑛, 等. 鱿鱼 (*Uroteuthis chinensis*) 黑色素酶法制备工艺优化及理化特征分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(18): 14-21.
- [24] 杨亚杰, 李慧, 胡清清, 等. 乌骨鸡黑色素的体外抗氧化活性及其对豚鼠静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用[J]. 南昌大学学报: 理科版, 2019, 43(1): 59.
- [25] 王明星, 张艳秋, 肖旭朗. 基于 H₂O₂ 诱导 Caco-2 细胞模型的猴头菌多糖抗溃疡性结肠炎活性研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(10): 2 355-2 357.