

超声辅助低共熔溶剂提取板栗壳中黄酮类物质及动力学分析

王清¹, 周舟¹, 刘涛^{1*}, 付洁¹, 涂剑秋¹, 郑雪珂¹, 桑大席¹, 孙晶²

(1. 信阳农林学院食品科学与工程学院, 河南信阳 464000)(2. 信阳市第九小学, 河南信阳 464000)

摘要: 该研究以板栗壳为研究对象, 旨在探索一种绿色、高效的板栗壳黄酮物质的提取方法。首先考察不同的单因素对板栗壳总黄酮的提取效果, 再通过PB实验确定显著性影响因素, 板栗壳中黄酮类物质的提取工艺通过响应面实验优化得出, 并在此基础上建立了板栗壳中黄酮类物质提取的动力学模型。结果表明, 采用低共熔溶剂为氯化胆碱:乙醇(摩尔比1:1)作为提取剂, 板栗壳中黄酮类物质的最优提取工艺为: 超声温度为40℃, 超声功率为150W, 料液比为1:25(g/mL)、超声时间60min, 验证得出理论总黄酮得率与实际总黄酮得率的相对误差为1.49%, 表明条件优化合理。该条件下的试验数据的线性回归 R^2 的范围为0.917 22~0.998 4, 线性拟合较好, 表明提取过程符合一级动力学模型。研究结果为超声辅助低共熔溶剂技术提取板栗壳中黄酮类物质提供了一定的理论支撑, 并为板栗资源的充分开发利用提供了借鉴。

关键词: 板栗壳; 低共熔溶剂; Plackett-Burman; 响应面; 动力学

文章编号: 1673-9078(2025)02-223-232

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.2.0065

Ultrasound-assisted Extraction of Flavonoids from Chestnut Shells Using Deep Eutectic Solvents and Its Kinetic Analysis

WANG Qing¹, ZHOU Zhou¹, LIU Tao^{1*}, FU Jie¹, TU Jianqiu¹, ZHENG Xueke¹, SANG Daxi¹, SUN Jing²

(1.College of Food Science and Engineering, Xinyang College of Agriculture and Forestry, Xinyang 464000, China)

(2.Xinyang Ninth Primary School, Xinyang 464000, China)

Abstract: A green and efficient method to extract flavonoids from chestnut shells was examined. First, the effects of various single factors on the extraction of total flavonoids from chestnut shells were investigated, and significant influencing factors were identified using the Plackett-Burman experimental design. The conditions for flavonoid extraction were then optimized using response surface methodology, and, based on these optimizations, a kinetic model of the extraction process was established. The results showed that when a deep eutectic solvent composed of choline chloride and ethanol (molar ratio 1:1) was used as the extraction agent, the optimal extraction process for flavonoids from chestnut shells was: ultrasonic temperature of 40°C, ultrasonic power of 150W, liquid ratio of 1:25 (g/mL), and ultrasonic time of 60min. The relative error between the theoretical and actual total flavonoid yields was 1.49%, indicating that the conditions were optimized reasonably. The linear regression R^2 of the experimental data under these conditions ranged from 0.917 22 to 0.998 4, with a good linear fit, indicating that the extraction process conformed to a first-order kinetic model. The research results provide a certain theoretical support for the ultrasound-assisted deep eutectic solvent technology for extracting flavonoids from chestnut shells, and provide a reference for the full utilization of chestnut resources.

引文格式:

王清,周舟,刘涛,等.超声辅助低共熔溶剂提取板栗壳中黄酮类物质及动力学分析[J].现代食品科技,2025,41(2): 223-232.

WANG Qing, ZHOU Zhou, LIU Tao, et al. Ultrasound-assisted extraction of flavonoids from chestnut shells using deep eutectic solvents and its kinetic analysis [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(2): 223-232.

收稿日期: 2024-01-15

基金项目: 河南省科技攻关项目(232102230071); 河南省高等学校重点科研项目(23B550006; 24B180016; 24B550016); 信阳农林学院高水平科研孵化器建设基金项目(FCL202110); 信阳农林学院青年骨干教师培养项目(2022年度); 信阳农林学院青年教师科研基金项目(QN2022030)

作者简介: 王清(1988-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 糖类资源开发及综合利用、食品功能材料开发, E-mail: 2479902416@qq.com

通讯作者: 刘涛(1986-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 食品加工及食品机械, E-mail: 2959895690@qq.com

ratio 1:1) was used, the optimal conditions for flavonoid extraction were as follows: an ultrasonic temperature of 40 °C, an ultrasonic power of 150 W, a solid-to-liquid ratio of 1:25 (g/mL), and an ultrasonic time of 60 min. The relative error between the theoretical and actual total flavonoid yields was 1.49%, indicating the reasonableness of the optimized conditions. The linear regression R^2 values for the experimental data under these conditions ranged from 0.917 22 to 0.998 4, demonstrating good linear fitting and suggesting that the extraction process conforms to a first-order kinetic model. These findings provide theoretical support for flavonoid extraction from chestnut shells using ultrasound-assisted extraction with deep eutectic solvents and offer a reference for the comprehensive development and utilization of chestnut resources.

Key words: chestnut shell; deep eutectic solvent; Plackett-Burman; response surface; kinetics

板栗壳含有丰富的胶原成分、纤维素、多种微量元素以及多种维生素和黄酮类等物质^[1,2], 其中的黄酮物质具有抗癌、抗氧化、降血糖等功效^[3-5], 具有一定的药用价值。

目前, 提取总黄酮的方法有采用溶剂浸提法、碱提取法进行提取, 但存在提取时间长的缺陷, 且残留的溶剂易造成环境污染^[6]; 也有采用酶提取法进行提取^[7], 但存在耗时以及成本过高的缺点^[8]。因此需要开发新的绿色、环保的总黄酮提取工艺和方法。低共熔溶剂 (Deep Eutectic Solvent, DES) 作为一种新型绿色萃取溶剂, 是一种共晶混合物, 是由以氢键供体和氢键受体形式的两种或以上试剂在一定的温度下通过氢键作用结合形成的高粘度透亮的溶剂^[7], 具有不易挥发、价格便宜、毒性小、绿色环保、易制备、不需要纯化等优势, 逐渐被广泛用于生物活性化合物的提取^[9], 被称为离子液体的替代物和 21 世纪的新型绿色溶剂。低共熔溶剂拥有很强的渗透植物细胞壁的能力, 还可以跟酚类、黄酮类物质形成氢键, 提高对生物活性物质的提取率。此外, 低共熔溶剂还能增强生物活性物质的抗菌、抗氧化等活性, 改善生物活性物质的热稳定性和储藏稳定性^[10,11]。罗蓉等^[12]发现含 50% 水的丙三醇 / 氯化胆碱 (摩尔比 3:1) 低共熔溶剂是提取山楂总黄酮的最佳溶剂。张媛媛等^[13]采用低共熔溶剂作为提取剂提取枣渣黄酮, 提取率明显优于传统的提取法。目前利用 DES 作为媒介并采用超声辅助从板栗壳中提取黄酮尚未有报道, 提取过程中的动力学研究还未见报道。

为充分利用板栗资源, 本文以板栗壳为研究对象, 采用超声辅助低共熔溶剂的方法对提取板栗壳中的黄酮类物质, 通过 Plackett-Burman (PB) 与响应面法优化联合实验对板栗壳中黄酮类物质的提取工艺进行优化, 并根据 Fick 第二定律建立超声辅助低共熔溶剂提取板栗壳中的黄酮类物质动力学模

型。为绿色高效提取板栗壳中活性物质提供新的思路, 为促进板栗加工产业的绿色清洁生产与转型发展提供必要的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

板栗: 市售; 冰乙酸 (95%), 江苏强盛功能化学有限公司; 乙醇 (AR), 山东鑫赢舜新材料有限公司; 氯化胆碱 (AR), 上海山浦化工有限公司; 丙三醇 (AR), 永华化学股份有限公司; 柠檬酸 (AR)、氢氧化钠 (AR)、硝酸铝 (AR)、无水乙醇 (AR), 天津市瑞金特化学品有限公司; 芦丁标准品 (95%~98%), 上海源叶有限公司; 乳酸 (80.0%~90.0%), 天津市大茂化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

YH-M3003 电子分析天平, 五鑫衡器有限公司; SB-3200DTD 超声波清洗机, 山东盛泰仪器有限公司; 800Y 高速多功能粉碎机, 武义海纳电器有限公司; SHZ-III 水浴锅, 上海亚荣生化仪器厂; UR120D0004 紫外可见分光光度计, 上海大普仪器有限公司; DILITCEN 22 台式离心机, 苏州贝锐仪器科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 板栗壳粉末的制备

新鲜的板栗, 经过简易的预处理, 将栗皮进行筛分, 然后用密闭粉碎机粉碎, 再通过 40 目筛分得到。

1.3.2 标准曲线的绘制

通过 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3$ 比色法^[14]。精密称取 1.00 mg 芦丁标准品, 用 60% (V/V) 的乙醇溶液溶解, 定容至 10 mL, 摇匀后制成 0.1 mg/mL 的芦

丁标准储备液。在 6 个容量瓶中分别注入 0、0.25、0.50、0.75、1.00、1.25 mL 芦丁标准溶液，再分别加入了 0.5 mL 的 5% (m/V) 亚硝酸钠溶液，摇匀，静置 6 min；后加入 4 mL 的 4% (m/V) 氢氧化钠溶液，摇匀，60% 乙醇定容，静置 12 min，水浴 60 min。以 60% (V/V) 的乙醇作为参比溶液，用紫外可见分光光度计在 510 nm 波长处进行比色，测定吸光度，以吸光度值作为纵坐标、芦丁标准品溶液浓度作为横坐标，绘制标准曲线。标准曲线如图 1 所示，标准曲线方程为 $y=1.222 9x-0.038 6$ ， $R^2=0.998$ ，表明线性关系良好。

1.3.3 板栗壳粉中总黄酮得率的测定

准确称量 1.00 g 板栗壳粉于烧杯中，按一定的料液比加入一定含水量的低共熔溶剂，置于一定功率和一定温度的超声波中，超声一定时间后放冷，移至 50 mL 离心管内，于 10 000 r/min 下离心 10 min，得板栗壳粉提取液，稀释定容，取 1 mL 稀释液按照 1.3.2 的方法，测定吸光度。计算黄酮的浓度后代入公式，按下式计算板栗壳总黄酮的得率：

$$W = \frac{C \times V \times D}{M \times 10^3} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

W ——总黄酮的得率，%；

C ——回归方程计算的板栗壳提取液中总黄酮的质量浓度，mg/mL；

D ——稀释倍数；

M ——板栗壳粉的质量，g。

1.3.4 DES的配制

按照表 1 中所示的摩尔比，将氢供给体和氢接收体在 70 °C 的恒温水中搅拌 1 h，直到该溶液均匀透明，获得 20% 水含量的 DES^[15]，然后冷却到室温，待用。

表 1 DES种类的选择及比例

Table 1 Selection and proportion of DES types

序号	种类	摩尔比
DES1	氯化胆碱：乳酸	1:2
DES2	氯化胆碱：乙醇	1:1
DES3	氯化胆碱：柠檬酸	1:1
DES4	氯化胆碱：乙酸（冰）	1:1
DES5	氯化胆碱：丙三醇	1:1

1.3.5 单因素试验

为确定超声辅助低共熔溶剂提取板栗壳总黄酮的工艺参数，选择 DES 类型、料液比、超声功率、超声时间、超声温度为主要工艺参数进行研究。分别考察 DES 类型 (DES1、DES2、DES3、DES4、DES5)、料液比 [1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 (g/mL)] 超声功率 (50、100、150、200、250 W)、超声时间 (30、40、50、60、70 min)、超声温度 (40、50、60、70、80 °C) 对板栗壳总黄酮得率的影响。

1.3.6 筛选试验与响应面试验

以单因素试验结果为依据，从 DES 类型、料液比、超声温度、超声时间、超声功率 5 个因素中筛选出对总黄酮得率影响显著的因素，以总黄酮得率为评价指标，对影响显著的因素进行响应面优化试验。响应面分析试验中各因素及水平见表 2。

表 2 响应面设计的因素与水平表

Table 2 Factors and levels of response surface design

水平	因素		
	A 超声功率/W	B 超声时间/min	C 料液比(g/mL)
-1	100	50	1:20
0	150	60	1:25
1	200	70	1:30

1.3.7 动力学分析

板栗壳总黄酮进行提取动力学过程的拟合。根据 Fick 第二定律，对板栗壳总黄酮提取动力学进行拟合^[16]，超声波提取动力学过程表达式如式 (2) 所示^[17]：

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_s \left(\frac{\partial^2 c}{\partial r^2} + \frac{2\partial c}{r\partial r} \right) \quad (2)$$

设 $f=rc$ ，方程转换为：

$$\frac{\partial f}{\partial t} = D_s \frac{\partial^2 f}{\partial r^2} \quad (3)$$

$$\text{当 } r=0, f=0, r=R, \frac{\partial C_w}{\partial t} \left(\frac{\partial C_w}{\partial t} \right) * V_a = -D_s A \left(\frac{\partial c}{\partial t} \right)_{r=R}$$

式中：

C_w ——超声辅助低共熔溶剂提取板栗壳总黄酮的浓度，

V_a ——提取溶液的体积，

A ——板栗壳样品颗粒与溶剂的接触面积。

根据傅里叶变换得到公式 (4)：

$$\frac{C_\infty - C}{C_\infty - C_0} = \left(\frac{6}{\pi^2} \right) \sum_{n=1}^{\infty} \{ \exp[-(n\pi/R)^2 D_s t] \} \quad (4)$$

令上式 $n=1$ ，则

$$\frac{\partial_{\infty}-C}{C_{\infty}-C} = \left(\frac{6}{\pi^2}\right) [\exp(-\pi^2 D_s t / R^2)] \quad (5)$$

对式(5)左右两边同时取对数:

$$\ln\left[\frac{C_{\infty}}{C_{\infty}-C}\right] = Kt + \ln\left[\frac{\pi^2 C_{\infty}}{6(C_{\infty}-C_0)}\right], \text{ 且 } K = \pi^2 D_s / R^2 \quad (6)$$

式中:

C_{∞} —提取板栗壳总黄酮在平衡时刻的得率, %;

C —任意时刻的得率, %;

C_0 —提取溶液中板栗壳的初始得率, %;

K —速率常数, min^{-1} ;

T —超声提取时间, min 。

1.4 数据处理

采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行响应面数据处理分析, Origin 2021 软件进行作图, SPSS 22.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 DES类型对板栗壳中总黄酮得率的影响

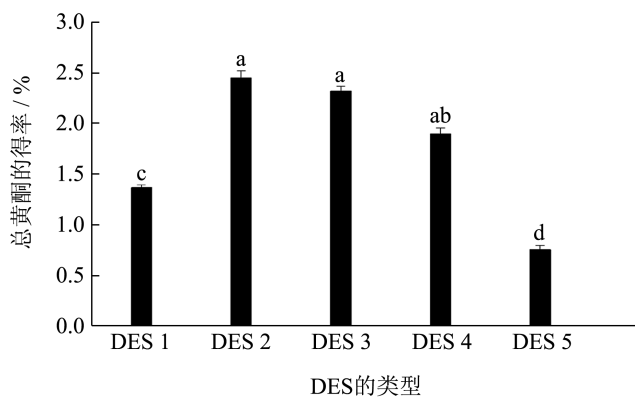


图 1 DES 类型的选择对总黄酮得率的影响

Fig.1 Effect of the choice of DES type on the total flavonoids extraction rate

注: 同一列中不同字母表示显著性差异 ($P < 0.05$), 下同。

由图 1 可知, DES1 与 DES5 对板栗壳的黄酮提取效果差, 总黄酮得率低, 而 DES2 与 DES3 的黄酮得率显著高于其他类型的 DES 种类 ($P < 0.05$), 这可能是因为其他的醇溶性成分 (例如黄酮苷元) 和水溶性成分 (例如二氢黄酮和二氢) 的溶出^[18], 而这些成分与从板栗壳中提取的黄酮存在竞争, 从而使总黄酮的含量下降。由此可见, 适宜的 DES 可以显著提高黄酮的得率。其中 DES2 的黄酮得率最高, 这与臧青民等^[19]的研究中得出的氯化胆碱-乙

醇被选作橘红花柚皮苷的最佳提取剂的结论相似。因此选择 DES2、DES3、DES4 为提取板栗壳总黄酮的较优的低共熔溶剂组。

2.1.2 料液比对板栗壳中总黄酮得率的影响

由图 2 可知, 当料液比为 1:15~1:25 (g/mL) 时, 添加更多的 DES2 提取液可提高板栗壳粉中总黄酮的提取效果, 且以 1:25 (g/mL) 为最佳, 总黄酮得率为 4.59%。之后总黄酮的得率随着料液比的增加而减小, 这说明在一定的料液比范围内, 所有的黄酮类物质游离之前, 料液比越大总黄酮的得率越大^[20]。经过长时间提取, 板栗壳粉中的总黄酮类物质已经全部被提取出来, 若继续增大料液比, 会导致板栗壳粉中其他残留的成分被提取出来, 这些残留成分会与总黄酮竞争提取溶剂, 导致总黄酮的得率不断降低^[21,22]。因此较优的料液比 1:25 (g/mL) 左右。

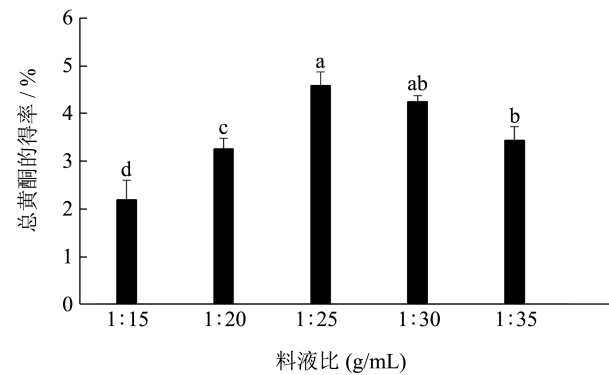


图 2 料液比对总黄酮得率的影响

Fig.2 Effect of material liquid ratio on total flavonoids extraction rate

2.1.3 超声温度对板栗壳中总黄酮得率的影响

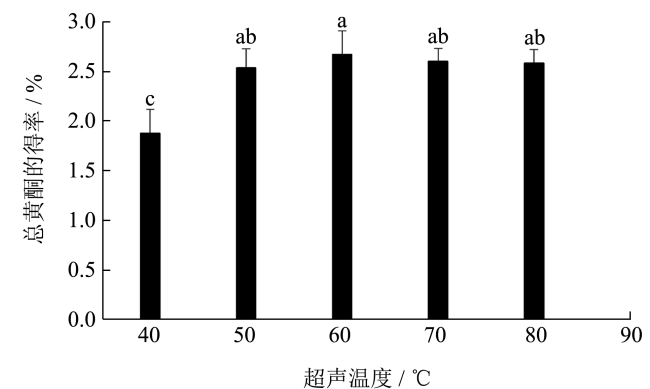


图 3 超声温度对总黄酮得率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic temperature on the extraction rate of total flavonoids

从图 3 可得, 板栗壳总黄酮的得率随着超声温

度的提高不断增加, 60 °C时, 板栗总黄酮的得率最高, 为 2.67%, 随后显著下降 ($P<0.05$)。刘洋璇等^[23]也发现一定的超声温度对葛根总黄酮的提取有促进作用, 过高的温度会导致部分黄酮类物质被破坏。这可能是因为 DES 的黏度因温度的升高而降低, 从而加剧溶剂的提取, 使得黄酮分子更加高效地溶出, 当提取温度超过 60 °C时, 总黄酮的得率反而下降, 可能是因为板栗壳总黄酮提取效率已达最高, 但随着超声温度的增加使得其他杂质更有利于溶解, 导致部分黄酮类物质被破坏, 并且过高的温度可能导致黄酮类化合物与 DES 相互作用减弱, 导致提取效率降低, 超声波可能破坏了板栗壳黄酮的结构, 使得提取条件的不稳定性, 降低了板栗壳总黄酮得率^[24], 因此选择 60 °C的超声温度较适宜。

2.1.4 超声时间对板栗壳中总黄酮得率的影响

从图 4 的结果表明, 在超声波辅助下, 随着时间的推移, 所得到的总黄酮类物质的含量显著增加 ($P<0.05$), 在 60 °C达到最高, 为 4.59%, 随后则趋于平缓, 且开始降低。这可能是因为超声处理的时间越长, 对板栗壳中糖类、蛋白质等的溶出率越高, 其溶液的粘度越大^[25]。王志轩^[26]的研究中认为超声时间的延长可能会造成一些已溶出黄酮类物质的结构遭到破坏, 因此选择 60 min 的超声时间较适宜。

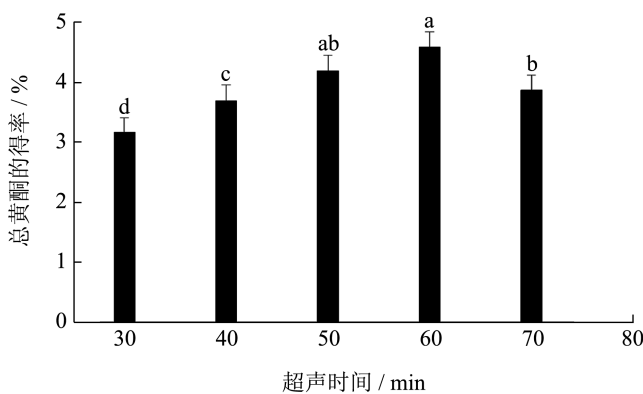


图 4 超声时间对总黄酮得率的影响

Fig.4 Effect of ultrasound time on total flavonoids extraction rate

2.1.5 超声功率对板栗壳中总黄酮得率的影响

从图 5 可以看出, 随着超声功率的增大, 板栗壳的总黄酮得率也在显著增加 ($P<0.05$), 在 150 W 时, 板栗壳的总黄酮得率达到最高 (4.57%), 但超

过 150 W 后则开始减少。这可能是因为超声功率过小, 超声波空化产生的压力小, 细胞破碎不完全, 总黄酮得率较低, 因而功率越大, 总黄酮的得率越高^[27]。而功率过大的热量则会引起总黄酮得率降低, 这是由于过于激烈的分子运动, 导致其他成分与黄酮产生反应^[28]。因此选择在 100~200 W 的超声功率范围进行考察。

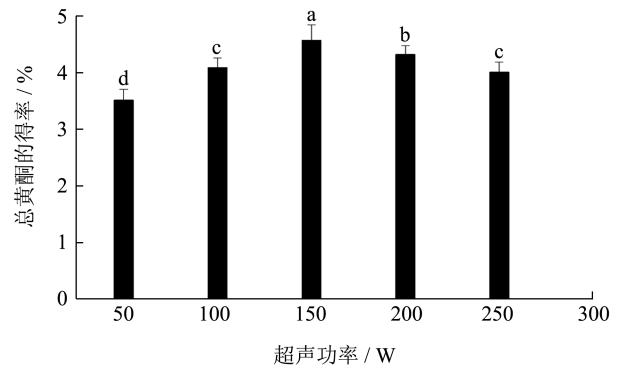


图 5 超声功率对总黄酮得率的影响

Fig.5 Effect of ultrasound power on the extraction rate of total flavonoids

2.1.6 Plackett-Burman筛选试验结果

表 3 Plackett-Burman试验设计

Table 3 Test design of Plackett-Burman

试验号	(A) DES 类型	(B) 料液比 (g/mL)	(C) 超声温度/°C	(D) 超声时间/min	(E) 超声功率/W	Y 总黄酮得率/%
1	1	1	-1	-1	-1	3.12
2	-1	-1	-1	-1	-1	2.05
3	1	-1	-1	-1	1	2.96
4	1	-1	1	1	1	3.97
5	-1	1	1	-1	1	3.79
6	1	-1	1	-1	-1	3.06
7	-1	1	1	1	-1	3.88
8	1	1	-1	1	1	4.14
9	-1	1	1	-1	1	3.52
10	-1	-1	-1	1	-1	3.56
11	-1	1	-1	1	1	4.12
12	1	-1	1	1	-1	3.52

表 4 方差分析
Table 4 Analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型 Model	3.58	5	0.76	10.96	0.005 6	极显著
A	0.051	1	0.051	0.78	0.411 9	
B	0.57	1	0.57	8.65	0.025 9	显著
C	0.27	1	0.27	4.09	0.089 7	
D	1.83	1	1.83	28.07	0.001 8	极显著
E	0.39	1	0.39	6.04	0.049 3	显著
残差	0.39	6	0.065			
总差	3.97	11				

$R^2=0.901\ 3, R^2_{Adj}=0.819\ 1, R^2_{pred}=0.589\ 9$

由表 3、4 可知,模型 $P < 0.01$,说明模型极显著,模型的相关系数 R^2 为 0.923 0, R^2_{Adj} 为 0.858 8,说明方程的拟合性较好,能够反映 5 个变量与黄酮得率的关系,预测值与实际值有较高的相关性。由表 4 可知,对总黄酮得率的影响呈极显著的因素是超声时间,料液比与超声功率为显著影响,且显著性大小依次为超声时间 > 料液比 > 超声功率,而其他因素影响不显著 ($P > 0.05$)。因此选择超声时间、超声功率和料液比这三个显著因素作为响应面优化设计的变量,固定 DES 类型为 DES2,超声温度为 60 °C。

2.2 响应面试验

2.2.1 试验设计方案与结果

采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行分析,Box-Behnken 设计方案和试验结果见表 5。通过 Design-Expert 8.0.6 软件分析得到回归方程如下:

$$Y = 3.49 + 0.051A + 0.30B - 0.16C - 0.070AB - 0.027AC + 0.060BC - 0.041A^2 - 0.61B^2 - 0.39C^2$$

根据表 6 中的方差分析,模型 $F = 57.42$, P 值 $< 0.000\ 1 < 0.01$,相关系数 $R^2 = 0.986\ 6$,失拟项的 P 值 $= 0.051\ 4$,说明该模型有意义且具有良好的拟合度与可信度。该模型以板栗壳粉中总黄酮得率作为响应值,同时也表明了预测结果与真实数据之间的良好相关性,从而明确地建立了分析板栗壳粉中总黄酮得率与三个主要影响因素之间的关系。由表 6 可以得出,对总黄酮的得率影响极显著的是二次项 B^2 、 C^2 ,不同因素对板栗壳中总黄酮得率的影响程度依次为 $B > C > A$,即超声时间 > 料液比 > 超声功率。

表 5 Box-Behnken 设计方案和试验结果

Table 5 Box-Behnken design scheme and test results

序号	A 超声功率/W	B 超声时间/min	C 料液比 (g/mL)	Y 总黄酮得率/%
1	100	50	1:25	2.33
2	200	50	1:25	2.63
3	100	70	1:25	3.19
4	200	70	1:25	3.21
5	100	60	1:20	3.16
6	200	60	1:20	3.26
7	100	60	1:30	2.93
8	200	60	1:30	2.92
9	150	50	1:20	2.49
10	150	70	1:20	2.85
11	150	50	1:30	2.02
12	150	70	1:30	2.62
13	150	60	1:25	3.53
14	150	60	1:25	3.54
15	150	60	1:25	3.43
16	150	60	1:25	3.49
17	150	60	1:25	3.48

2.2.2 板栗壳粉中总黄酮得率的响应面分析

利用 Design-Expert 8.0.6 软件获得了图 6 中显示的相互作用等高线曲线和三维响应曲线,用于探究主要因素对板栗壳粉中总黄酮得率的影响。

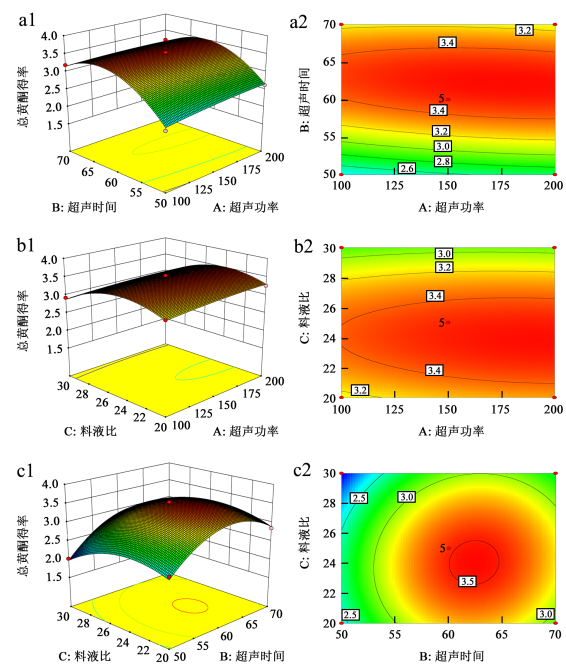


图 6 不同因素之间相互作用的等高线曲线和三维响应曲线
Fig.6 Contour curves and 3D response curves of the effect of interactions between different factors

表 6 回归方程的方差分析

Table 6 Analysis of variance of regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型 Model	3.34	9	0.37	57.42	<0.01	极显著
A	0.021	1	0.021	3.25	0.114 4	
B	0.72	1	0.72	111.39	<0.01	极显著
C	0.20	1	0.20	31.19	0.000 8	极显著
AB	0.020	1	0.020	3.03	0.125 2	
AC	3.025E-003	1	3.025E-003	0.47	0.515 9	
BC	0.014	1	0.014	2.23	0.179 2	
A ²	6.992E-003	1	6.992E-003	1.08	0.332 9	
B ²	1.58	1	1.58	244.98	<0.01	极显著
C ²	0.63	1	0.63	96.93	<0.01	极显著
残差	0.045	7	6.464E-003			
失拟项	0.038	3	0.013	6.48	0.051 4	
纯误差	7.720E-003	4	1.930E-003			
总和	3.39	16				

 $R^2=0.986 6, R^2_{adj}=0.969 5$

从图 6 可以观察到主要因素之间的交互作用，等高线曲线和三维响应曲线展示了在特定区域内存在最大值，即响应面的最高点。从比较中可以看出，图 6a 中的响应曲线斜率比图 6b 中的要大得多，这表明，改变超声波的时间会使总黄酮得率的结果发生很大的变化。从图 6b 可以观察到超声波功率与料液比之间的交互作用。结果表明，各因素之间存在着一条陡峭的曲线，说明料液比对板栗壳粉末中总黄酮的得率有较大的影响。图 6c 展示了超声时间和料液比之间的交互作用。响应曲面的斜率明显且曲线陡峭，表明这两个因素，无论是独立作用还是相互作用，都对板栗壳粉中总黄酮得率产生显著影响。

2.2.3 验证试验

通过响应面软件优化得出的板栗壳粉中总黄酮物质的最优理论得率为 3.54%，在此最优得率下的提取工艺为：超声时间为 61.67 min，料液比为 1:23.86 (g/mL)，超声功率为 192.31 W。考虑到操作的可行性，调整为：超声时间为 62 min，超声功率为 190 W，料液比为 1:24 (g/mL)。为了验证在此优化工艺条件下的总黄酮得率，精密称取 3 份约 1.00 g 板栗壳粉末置于 50 mL 的容量瓶中进行 3 次平行试验，实际总黄酮得率为 3.49%，理论总黄酮得率与实际总黄酮得率的相对误差 RSD 为 1.49%，表明此方案可行。

2.3 板栗壳中总黄酮提取动力学

2.3.1 速率常数求解

表 7 不同超声功率和超声提取时间对板栗壳中总黄酮得率的影响

Table 7 Effects of different ultrasonic power and ultrasonic extraction time on the yield of total flavonoids in chestnut shell

超声时间/min	总黄酮得率/%			
	50 W	100 W	150 W	200 W
10	1.57	1.92	2.14	2.33
20	1.73	2.26	2.47	2.78
30	1.84	2.57	2.87	3.16
40	1.95	2.84	3.24	3.52
50	2.06	3.11	3.61	3.83
60	2.09	3.53	3.73	3.92

固定提取剂为 DES2，料液比为 1:24 (g/mL)，研究了不同超声功率和超声提取时间下板栗壳中总黄酮提取过程中总黄酮得率的影响，结果如表 7 所示。同一超声功率下，随着超声时间的延长而不断增加，并且板栗壳中总黄酮得率随着超声功率的增加而不断增加。60 min 时，板栗壳的总黄酮得率的增长速率逐渐平衡，因此，可以将 60 min 时的黄酮得率作为平衡得率 C_{∞} 。根据表 7 的实验数据作 $\ln[C_{\infty}/(C_{\infty}-C)]$ 对提取时间 t 作图，如图 7 所示，

所得的回归方程与速率常数见表 8。由图 7 可以看出, 超声辅助低共熔溶剂提取板栗壳总黄酮的提取过程符合 Fick 第二定律。随着超声时间的增加, 不同超声功率下的总黄酮得率也在不断提高, 说明 $\ln[(C_\infty-C)/C_\infty]$ 与超声时间 t 有良好的线性关系 ($R^2 > 0.9$), 表明超声功率的增加有利于板栗壳总黄酮物质的更快溶出。

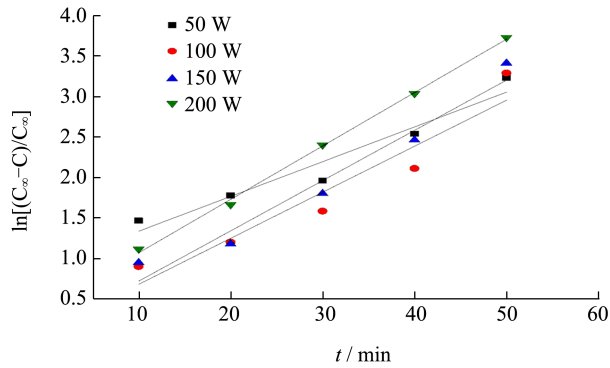


图 7 不同超声功率下 $\ln[(C_\infty-C)/C_\infty]$ 与超声时间的关系

Fig.7 The relationship between $\ln[(C_\infty-C)/C_\infty]$ and ultrasonic time under different ultrasonic power

表 8 不同超声功率下线性回归结果

Table 8 Linear regression results under different ultrasonic power

超声时间 /min	回归方程	R^2	C_∞	$K/10^{-4}/s^{-1}$
10	$y=0.042\ 97x+0.908\ 82$	0.943\ 16	1.78	5.55
20	$y=0.056\ 92x+0.112\ 53$	0.917\ 22	3.11	7.21
30	$y=0.062\ 12x+0.100\ 13$	0.959\ 81	3.65	8.02
40	$y=0.066\ 02x+0.411\ 16$	0.998\ 4	3.76	9.29

2.3.2 相对萃余率的求解

相对萃余率是板栗壳总黄酮在某一个条件下的残留值比上平衡时的得率, 其数值越小, 说明得率越大。根据表 7 的试验数据, 作 $(C_\infty-C)/C_\infty$ 与超声时间 t 的图, 见图 8。由图 8 可以看出, R^2 均大于 0.9, 拟合方程的拟合精度较好, 说明超声辅助低共熔溶剂提取板栗壳黄酮物质的提取过程符合指数方程模型。相对萃余率常数与表 7 中的速率常数的趋势抑制, 说明, 在不同的超声功率的条件下, 板栗壳总黄酮的得率随着超声时间的增加而提高, 总黄酮提取过程与动力学模型吻合。

2.3.3 半衰期

半衰期指的是提取一半的总黄酮所需要的时间。根据 $t_{1/2}=\ln 2/k$ 进行作图, 如图 9 所示。从图中可以看出, 其拟合方程为 $t_{1/2}=0.135\ 65-3.210\ 94E-4t$,

$R^2=0.931\ 95$, 线性良好。半衰期与超声功率成反比, 说明超声功率增大, 提取速率增大。这是由于超声波的热效应, 其能量在质点传播的过程中被吸收转换成热能, 使得质点的温度升高, 加速了总黄酮的溶出^[29]。

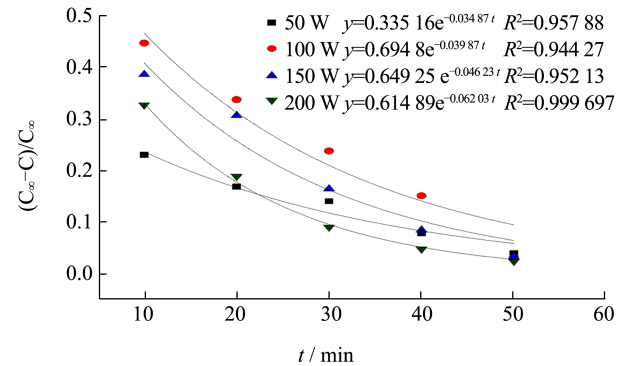


图 8 不同超声功率下板栗壳总黄酮相对萃余率与超声时间的关系

Fig.8 The relative extraction rate and ultrasonic time of total flavonoids from chestnut shell under different ultrasonic power

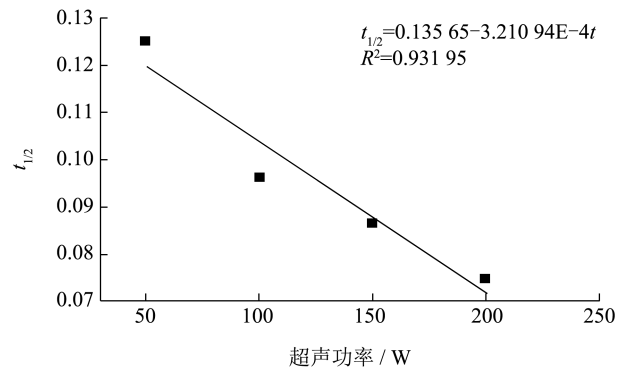


图 9 半衰期与超声功率的关系

Fig.9 Relationship between half-life and ultrasonic power

3 结论

本试验通过 PB 设计与响应面法联合实验优化板栗壳粉中总黄酮的提取工艺, 探究其最优提取条件。在单因素实验的基础上, 经过 Plackett-Burman 试验筛选出对板栗壳总黄酮得率显著或极显著的三个因素为超声时间、超声温度、料液比。经过响应面的优化分析得出低共熔溶剂结合超声提取工艺提取板栗壳中总黄酮的最佳工艺参数: 氯化胆碱与乙醇的比例为 1:1, 超声持续时间为 62 min, 超声的温度为 40 °C, 超声功率为 190 W, 以及料液比为 1:24 (g/mL), 板栗壳中的总黄酮理论得率为 3.54%, 实际得率为 3.49%。不同因素对板栗壳中总黄酮得

率的影响程度依次为料液比 > 超声时间 > 超声功率。基于 Fick 第二定律,对超声辅助低共熔溶剂提取板栗壳总黄酮进行动力学研究,该条件下的试验数据的线性回归 R^2 的范围为 0.917 22~0.998 4,线性拟合较好,提取过程符合一级动力学模型;反应速率常数介于 $5.55\sim 9.29(10^{-4}/s^{-1})$ 之间,且随着超声温度的升高而增大,说明在不同超声功率的条件下,超声时间的增加,有利于板栗壳总黄酮的提取。本实验通过将超声提取总黄酮与低共熔溶剂法结合在一起提取板栗壳总黄酮物质,提高了板栗壳总黄酮的提取效率,对后续板栗壳中黄酮类物质的研究提供一定的理论支持,为提升板栗的附加值提供更多的途径。

参考文献

- [1] 金波,薛博.微波辅助提取板栗壳中黄酮的工艺研究[C]//中共沈阳市委,沈阳市人民政府.第十八届沈阳科学学术年会论文集.沈阳市铁西区农业技术推广与行政执法中心;沈阳工学院生命工程学院;2021:7.
- [2] 冉靛,武子敬,冉阳,等.大孔吸附树脂纯化板栗壳总黄酮的研究[J].安徽农业科学,2013,41(2):827-829.
- [3] 杨盛茹,侯银臣,张秋双,等.超声波辅助提取黄粉虫中黄酮类物质的工艺优化及黄酮类物质的稳定性[J].江苏农业学报,2023,39(1):229-237.
- [4] AFIFI H S, HASHIM I B, ALTUBJI S I, et al. Optimizing extraction conditions of crude fiber, phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity of date seed powder [J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 54(13): 4149-4161.
- [5] 生吉萍,宿文凡,石家豪,等.茶树花黄酮类化合物研究进展[J].食品安全质量检测学报,2022,13(4):1019-1026.
- [6] WEN C, LIU G Y, REN J Y, et al. Current progress in the extraction, functional properties, interaction with polyphenols, and application of legume protein [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(4): 992-1002.
- [7] 白冰瑶,李泉岑,马欣悦,等.响应面法优化超声辅助低共熔溶剂提取红枣多糖工艺[J].食品研究与开发,2022,43(18):122-129.
- [8] 苏璋,胡发广,于鑫欣,等.超声波辅助低共熔溶剂提取对咖啡蛋白结构和功能特性的影响[J].热带作物学报,2024,45(8):1714-1726.
- [9] CAO J, SU E Z. Hydrophobic deep eutectic solvents: the new generation of green solvents for diversified and colorful applications in green chemistry [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 314: 127965.
- [10] ZOU L, LIAO M R, ZHEN Y Q, et al. Autophagy and beyond: unraveling the complexity of UNC-51-like kinase 1 (ULK1) from biological functions to therapeutic implications [J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2022, 12(10): 3743-3782.
- [11] 吴若楠,王卉,张玲玲,等.低共熔溶剂在食品工业中的应用研究进展[J].食品研究与开发,2023,44(7):204-211.
- [12] 罗蓉,蔡旭,薛宏坤,等.响应面法优化超声辅助低共熔溶剂提取山楂总黄酮工艺[J].食品工业科技,2022,43(22): 229-237.
- [13] 张媛媛,宋萌萌,张彬,等.低共熔溶剂法提取枣渣中黄酮类物质[J].食品安全质量检测学报,2022,13(8):2658-2664.
- [14] 黄雪薇,雷嗣超,涂芬,等.板栗壳黄酮结构分析及其对胰脂肪酶活力的抑制作用[J].食品科学,2021,42(21):111-118.
- [15] 孙平,董萍萍,董丹华,等.超声波辅助低共熔溶剂提取野菊花总黄酮的工艺研究[J].食品工业科技,2020,41(20): 147-152.
- [16] LAZAR L, TALMACIU A I, VOLF I, et al. Kinetic modeling of the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from Picea abies bark [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 32: 191-197.
- [17] GUO X H, LIU S H, WANG Z K, et al. Ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide from dendrobium officinale: kinetics, thermodynamics and optimization [J]. Biochemical Engineering Journal, 2022, 177: 108227.
- [18] 苏适,王双侠.响应曲面优化超声波辅助提取无花果叶总黄酮的工艺研究[J].食品研究与开发,2019,40(9):101-106.
- [19] 臧青民,黄雅曼,杨瑞清,等.微波辅助低共熔溶剂优化橘红柚皮苷提取工艺及其对黄嘌呤氧化酶抑制活性研究[J].化学试剂,2023,45(12):54-61.
- [20] 关兆峰,曾庆达,吴昊,等.低共熔溶剂提取光果甘草渣中光甘草定和总黄酮及预处理效果[J].应用与环境生物学报,2024,30(2):360-366.
- [21] WANG R M, ZHANG W M, HE R P, et al. Customized deep eutectic solvents as green extractants for ultrasonic-assisted enhanced extraction of phenolic antioxidants from dogbane leaf-tea [J]. Foods, 2021, 10(10): 2527.
- [22] FAZIA B, DANIEL O C, KRZYSZTOF B, et al. Phenolic extraction of moringa oleifera leaves in Des: characterization of the extracts and their application in methylcellulose films for food packaging [J]. Foods, 2022, 11(17): 2641.
- [23] 刘洋旋,吕庆云,党允卓,等.响应面法优化超声辅助低共熔溶剂提取葛根中黄酮及其抗氧化分析[J].食品科技,2021,46(11):195-202.
- [24] ZHANG X Y, SU J Q, CHU X L, et al. A green method of extracting and recovering flavonoids from acanthopanax senticosus using deep eutectic solvents [J]. Molecules,

- 2022, 27(3): 923.
- [25] NOPPOL L, SIRAPHAT T, TRAKUL P, et al. Ultrasonic extraction of bioactive compounds from green soybean pods and application in green soybean milk antioxidants fortification [J]. *Foods*, 2022, 11(4): 588-588.
- [26] 王志轩,马丽,郭海平,等.Box-Behnken响应面法优选低共熔溶剂提取马蹄金总黄酮工艺[J].*中国药业*,2024, 33(1):45-49.
- [27] CHEN F Z, WANG B, ZHAO G H, et al. Optimization extraction of flavonoids from peony pods by response surface methodology, antioxidant activity and bio accessibility *in vitro* [J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2022, 17(1): 460-471.
- [28] SUJATA S P, AJAY P, VIRENDRA K R. Optimization and kinetic study of ultrasound assisted deep eutectic solvent based extraction: a greener route for extraction of curcuminoids from *Curcuma longa* [J]. *Ultrason Sonochem*, 2021, 70: 105267.
- [29] 刘继超,刘晓风,LORMOUA K, et al. 地木耳粗多糖超声波辅助提取工艺优化及其动力学和热力学分析[J].*天然产物研究与开发*,2018,30(2):316-324.