



废次烟叶中绿原酸提取工艺优化及抗氧化性研究

卫 佳

(运城护理职业学院 医学技术系,山西 运城 044000)

摘要:为提高废次烟叶中绿原酸的提取率,本研究以废次烟叶为材料,优化绿原酸的提取工艺。采用单因素试验,研究液料比、浸提温度、浸提时间、溶剂 pH 对绿原酸提取率的影响。在此基础上,用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选废次烟叶绿原酸提取工艺条件。采用最佳优选工艺组合提取不同品种烟草不同部位的绿原酸,并研究提取液的抗氧化性。结果表明:随着液料比的增大、浸提温度的升高、浸提时间的延长、溶剂 pH 的增大,废次烟叶中绿原酸提取率均呈先上升后下降趋势。通过方差分析和多重对比发现,这 4 个因素对绿原酸提取率均有极显著影响,最佳优选工艺组合是浸提时间为 90 min、浸提温度为 90 ℃、液料比为 10:1、pH5 时,提取率为 0.714%。通过验证试验表明,这种优选工艺组合提取率高,稳定性好。运用此方法,对不同品种烟草不同部位的绿原酸进行提取,发现不同部位间提取率差异显著,上部叶最高,其次是中部叶和下部叶,烟梗的提取率最低,且品种间提取率也存在显著差异。此外,废次烟叶提取液具有良好的清除 DPPH 自由基能力和 Fe^{3+} 还原能力,具有较高的潜在应用价值。

关键词:废次烟叶;绿原酸;提取工艺;抗氧化

烟草(*Nicotiana tabacum*)属茄科(Solanaceae)烟草属(*Nicotiana*),主要栽培品种有红花烟草(*N. tabacum* L.)和黄花烟草(*N. rustica* L.),均为一年生草本。我国的烟草产量和卷烟量均居世界首位,但每年有大量的废次烟叶亟待解决^[1],目前,仅有少量的废次烟叶用于烟碱^[2-3]、茄尼醇^[4-5]、绿原酸^[6-7]等天然成分的提取,大部分未经处理直接抛弃,导致资源浪费和环境污染^[8]。绿原酸具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、降血脂、增强免疫调节、保肝护胆等作用,是食品、药品、化妆品、保健品等生产的重要工业原料^[9-14]。随着经济的发展,市场对绿原酸的需求量越来越大。有关学者对金银花^[15-16]、杜仲^[17-18]、山楂^[19-20]、山银花^[21-22]等植物的绿原酸提取方法进行了研究,但有关废次烟叶中绿原酸的提取与优化研究相对较少。为实现废次烟叶的综合利用,提高附加值,本文以废次烟叶为材料,进行了单因素试验和正交试验,优选出废次烟叶中绿原酸的最佳提取工艺组合,对这种工艺组合进行验证,对不同品种烟草不同部位的绿原酸含量进行比较,并研究了废次烟叶提取液的抗氧化能力,以期为废次烟叶的深度开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原材料 废次烟叶取自陕西环秦岭种植基地南郑试验地。

1.1.2 试剂 95%乙醇(分析纯,青岛化学试剂厂);盐酸(分析纯,天津化学试剂厂);氢氧化钠(分析纯,上海化学试剂厂);绿原酸标准品(陕西杨凌天润科技有限公司);蒸馏水。

1.1.3 仪器设备 DFT-250 手提式高速万能粉碎机;FA2004 型电子天平;HH-6 数显恒温水浴锅;E-201-C 型 pH 复合电极;2XZ-1 旋片式真空泵;紫外分光光度计;美国 Waters 公司高效液相色谱仪。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 以废次烟叶为材料,采用单因素试验,提取废次烟叶中的绿原酸。在此基础上,用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选废次烟叶绿原酸提取工艺条件。采用最佳优选工艺组合提取不同品种烟草不同部位的绿原酸,并研究提取液的抗氧化性。

1.2.2 绿原酸提取流程 废次烟叶→干燥→粉碎→过 40 目筛→50%乙醇浸泡→过滤→稀释→检测。

1.2.3 最佳提取工艺单因素试验 精确称取 5.00 g 废次烟叶粉末置于烧杯中,以液料比 9:1、浸提时间 80 min、浸提温度 80 ℃、溶剂 pH5 为基底,控制其中 3 个条件,分别研究不同液料比(6:1、8:1、10:1、12:1、14:1)、不同浸提时

收稿日期:2018-08-27

基金项目:广东中烟工业有限责任公司技术中心科技资助项目(粤烟工 05XM-QK[2014]015)。

作者简介:卫佳(1992-),女,硕士,助教,从事药用植物学研究。E-mail:329039315@qq.com。

间(30、50、70、90、110 min)、不同浸提温度(50、60、70、80、90 ℃)、不同溶剂 pH(3、4、5、6、7)对绿原酸提取效果的影响。

1.2.4 正交试验 根据单因素试验结果,选取适宜的液料比、浸提温度、浸提时间、溶剂 pH 进行正交试验,选用 $L_9(3^4)$ 正交设计进行试验(表 1),优化废次烟叶中绿原酸提取工艺。

表 1 绿原酸正交试验因素水平

Table 1 Orthogonal experiment factors and level of the chlorogenic acid

水平 Level	因子 Factors			
	A 浸提 时间/min	B 浸提 温度/℃	C 液料比	D 溶剂 pH
	Extraction time	Extraction temperature	Liquid-material ratio	Solvent pH
1	75	70	10:1	4
2	90	80	12:1	5
3	105	90	14:1	6

1.2.5 不同品种烟草不同部位的绿原酸提取 2015 年 7 月,在陕西环秦岭种植试验基地,采集了 6 个品种烟草的烟梗和不同部位叶片,运用正交优选最佳工艺组合对其绿原酸含量进行测定。

1.2.6 DPPH 自由基清除率测定 参照康如龙等^[23]方法进行测定。

1.2.7 Fe^{3+} 还原力测定 参照王小波等^[24]方法进行测定。

1.2.8 数据分析 试验数据采用 Excel 2010 和 SPSS 17.0 统计软件进行计算和方差分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 液料比对废次烟叶中绿原酸提取率的影响 从图 1 可以看出,随着液料比的增大,废次烟叶中绿原酸提取率呈先上升后下降趋势。当液料比小于 12:1 时,绿原酸提取率随着液料比的增大而上升;当液料比大于 12:1 时,绿原酸提取率随着液料比的增大而下降。当液料比为 6:1 时,废次烟叶中绿原酸提取率显著小于其它液料比下的提取率。当液料比为 12:1 时,废次烟叶中绿原酸提取率为 0.630%,显著大于其它液料比下的提取率。废次烟叶中绿原酸的含量固定不变,当提取溶剂量较小时,提取率随着溶剂量的增大而上升;当提取溶剂量达到一定程度时,提取率不再上升,反而随着溶剂量的增大而下降。液料比越大,

需要的溶剂量越大,成本也就越高。因此,选取最佳液料比为 12:1。

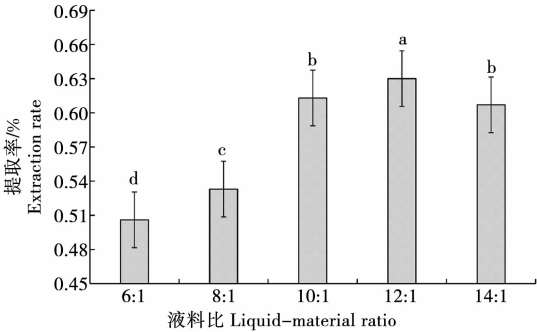


图 1 液料比对绿原酸提取率的影响

Fig. 1 Effect of liquid-material ratio on extraction rate of chlorogenic acid

2.1.2 浸提时间对废次烟叶中绿原酸提取率的影响 从图 2 可以看出,随着浸提时间的延长,废次烟叶中绿原酸提取率呈先上升后下降趋势。当浸提时间为 30 min 时,废次烟叶中绿原酸提取率最小,显著小于其它浸提时间的绿原酸提取率。当浸提时间为 90 min 时,废次烟叶中绿原酸提取率最大,为 0.671%;其次是浸提 70 min,绿原酸提取率为 0.664%,这两个时间的绿原酸提取率差异不显著,但显著大于其它 3 个浸提时间的绿原酸提取率。当处理时间大于 90 min 时,废次烟叶中绿原酸提取率逐渐下降,这可能是浸提液中绿原酸因时间过长而变性或分解,导致绿原酸提取率下降。当浸提 70 和 90 min 时,绿原酸提取率差异不显著,但相差 20 min。因此,选取最佳浸提时间为 70 min,可以节省时间。

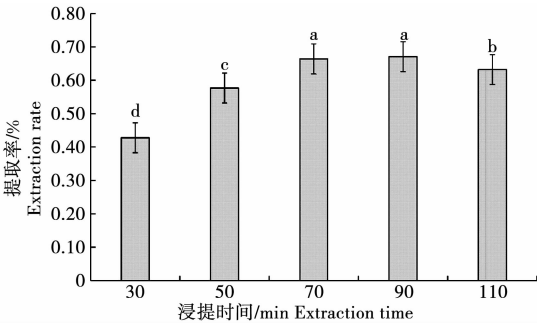


图 2 浸提时间对绿原酸提取率的影响

Fig. 2 Effect of extraction time on extraction rate of chlorogenic acid

2.1.3 浸提温度对废次烟叶中绿原酸提取率的影响 从图 3 可以看出,随着浸提温度的升高,废次烟叶中绿原酸提取率呈先上升后下降趋势。当浸提温度小于 80 ℃时,废次烟叶中绿原酸提取率

呈显著性上升;当浸提温度大于 80 ℃时,废次烟叶中绿原酸提取率呈显著性下降,这可能是浸提液中绿原酸随着温度的增加而变性,导致含量下降,提取率减小。当浸提温度为 80 ℃时,废次烟叶中绿原酸提取率显著大于其它 4 个浸提温度,分别高于 50、60、70 和 90 ℃时的提取率33.59%、18.34%、10.68%和7.89%。因此,选择最佳浸提温度为 80 ℃,可以有效提高废次烟叶中绿原酸提取率。

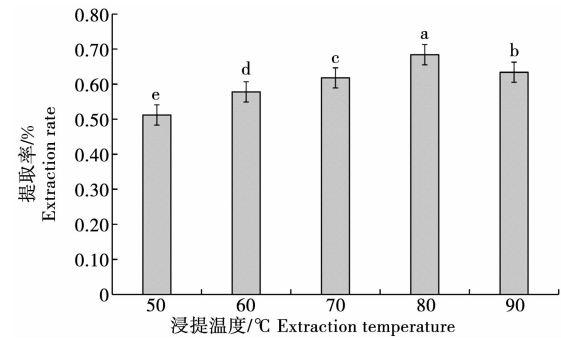


图 3 浸提温度对绿原酸提取率的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on extraction rate of chlorogenic acid

2.1.4 溶剂 pH 对废次烟叶中绿原酸提取率的影响 从图 4 可以看出,随着溶剂 pH 的增大,废次烟叶中绿原酸提取率呈先上升后下降趋势。当溶剂 pH 小于 5 时,废次烟叶中绿原酸提取率呈显著上升;当溶剂 pH 大于 5 时,废次烟叶中绿原酸提取率呈显著下降,这可能与绿原酸通过水解和分子内酯基迁移而发生的异构化有关。当溶剂 pH 为 5 时,废次烟叶中绿原酸提取率显著大于其它 pH 下绿原酸提取率,分别高于 pH 为 3、4、6、7 时的 24.39%、15.18%、13.46%和17.18%。因此,选择最佳溶剂 pH 为 5,可以有效提高废次烟叶中绿原酸提取率。

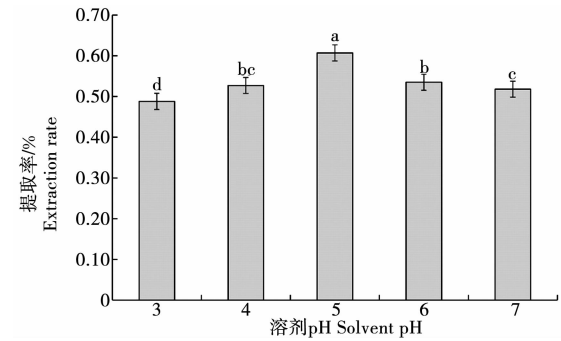


图 4 溶剂 pH 对绿原酸提取率的影响

Fig. 4 Effect of solvent pH on extraction rate of chlorogenic acid

2.2 正交试验结果

根据表 1 的因素水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验方法,优选废次烟叶中绿原酸提取工艺(表 2),并对试验结果进行了方差分析。通过正交试验发现:废次烟叶中绿原酸提取率最高的为试验 6($A_2B_3C_1D_2$),即浸提时间为 90 min、浸提温度为 90 ℃、液料比为 10:1、溶剂 pH 为 5,提取率为 0.714%;试验 1 的提取率最低,为 0.488%;其它试验提取率大小依次为试验 9>试验 8>试验 5>试验 3>试验 4=试验 7>试验 2。经过验证试验得出,组合 $A_2B_3C_2D_2$ 即当浸提时间为 90 min,浸提温度为 90 ℃,液料比为 12:1,溶剂 pH 为 5 时,废次烟叶中绿原酸的提取率小于试验 6 组,即提取率小于 0.714%。通过方差分析表明:浸提时间(A)、浸提温度(B)、液料比(C)、溶剂 pH(D)均对绿原酸的提取有极显著影响;各因素的影响大小依次为 $B>A>D>C$,即提取温度>提取时间>溶剂 pH>液料比。

表 2 正交试验结果

Table 2 Results and analysis of the orthogonal test

编号 Number	A	B	C	D	提取率/% Extraction rate
试验 1	1	1	1	1	0.488
试验 2	1	2	2	2	0.559
试验 3	1	3	3	3	0.595
试验 4	2	1	2	3	0.586
试验 5	2	2	3	1	0.620
试验 6	2	3	1	2	0.714
试验 7	3	1	3	2	0.586
试验 8	3	2	1	3	0.627
试验 9	3	3	2	1	0.690
K_1	4.923	4.977	5.49	5.391	
K_2	5.760	5.418	5.508	5.580	
K_3	5.706	5.994	5.40	5.427	
k_1	0.547	0.553	0.610	0.599	
k_2	0.640	0.602	0.612	0.620	
k_3	0.634	0.666	0.600	0.603	
R	0.093	0.113	0.012	0.021	
F	63.025 *	69.941 *	3.430 *	4.852 *	

2.3 正交优化组合稳定性试验

为了验证优选工艺组合的可靠性和稳定性,根据上述优选组合所得工艺条件进行 6 次平行试验,测得废次烟叶中绿原酸提取率平均值为

0.714%,相对标准偏差 RSD 为 1.03%。研究结果表明:这种优选工艺组合可靠且稳定,废次烟叶中绿原酸提取率较高,适合生产应用。

2.4 不同品种烟草不同部位的绿原酸提取率测定

由表 3 可知,相同品种不同部位的绿原酸提取率差异显著,6 个品种均以上部叶的绿原酸提取率最高,其次是中部叶和下部叶,烟梗中的绿原

酸提取率最低;不同品种相同部位的绿原酸提取率也差异显著;秦 96 的下部叶、中部叶、上部叶和烟梗的绿原酸提取率均大于其它品种的相应部位;其中各部位提取率最小的品种是云 87,显著小于其它 5 个品种。综上可以得出:6 个品种的绿原酸提取率大小依次为秦 96>云 97>云 85>K326>云 99>云 87,四个部位的绿原酸提取率大小依次为上部叶>中部叶>下部叶>烟梗。

表 3 不同品种烟草不同部位的绿原酸提取率

Table 3 Chlorogenic acid extraction rate of different parts of tobacco (%)						
部位 Parts	K326	云 87 Yun87	秦 96 Qin96	云 99 Yun99	云 97 Yun97	云 85 Yun85
下部叶 Lower leaves	0.931 c(d)	0.841 c(e)	1.322 c(a)	0.929 c(d)	1.211 c(b)	1.143 c(c)
中部叶 Middle leaves	1.337 b(d)	1.046 b(e)	1.579 b(a)	1.004 b(f)	1.473 b(b)	1.369 b(c)
上部叶 Upper leaves	1.496 a(d)	1.173 a(e)	1.788 a(a)	1.145 a(f)	1.698 a(b)	1.553 a(c)
烟梗 Tobacco Stem	0.434 d(d)	0.338 d(e)	0.576 d(a)	0.487 d(c)	0.455 d(d)	0.513 d(b)

括号外的同列不同字母表示部位间差异显著,括号内的同行不同字母表示品种间差异显著($P<0.05$)。
The different letters in the same column outside the brackets indicate a significant difference of different parts,and the different letters in the parentheses in the line indicate a significant difference of different varieties($P<0.05$).

2.5 废次烟叶提取液对 DPPH 自由基的清除作用

从图 5 可以看出,废次烟叶提取液和绿原酸均对 DPPH 自由基具有良好的清除效果。在浓度低于 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,废次烟叶提取液对 DPPH 自由基的清除能力远高于绿原酸,并且呈线性增长。在浓度为 $8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,两者对 DPPH 自由基的清除率相差最大,废次烟叶提取液比绿原酸对 DPPH 自由基的清除率高 58.82%。在浓度高于 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,两者对 DPPH 自由基的清除率相差减小。在低浓度时,废次烟叶提取液对 DPPH 自由基的清除率高于绿原酸,这可能与废次烟叶中含有酚类和黄酮类等化合物有关;随着浓度的升高,两者对 DPPH 自由基的清除率相当,表明废次烟叶提取液中绿原酸是主要的抗氧化成分。

2.6 废次烟叶提取液对 Fe^{3+} 还原作用

植物体内含有多种抗氧化物质,可以将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} 。运用比色法进行测定,根据吸光度值判断还原能力强弱。吸光度值越大,还原能力越强;吸光度值越小,还原能力越弱。从图 6 可以看出,在浓度低于 $30\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,两者的吸光度值相差较小,表明废次烟叶提取液和绿原酸的还原能力相当;在浓度高于 $30\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,两者的

吸光度值相差较大,表明废次烟叶提取液和绿原酸的还原能力相差较大,并且随着浓度的升高相差逐渐增大。

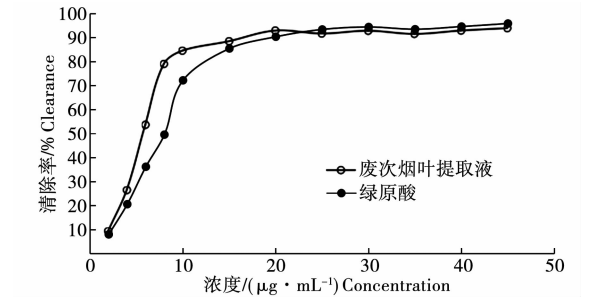


图 5 废次烟叶提取液和绿原酸对 DPPH 自由基的清除作用
Fig. 5 DPPH free radical scavenging effect of waste secondary tobacco extract and chlorogenic acid

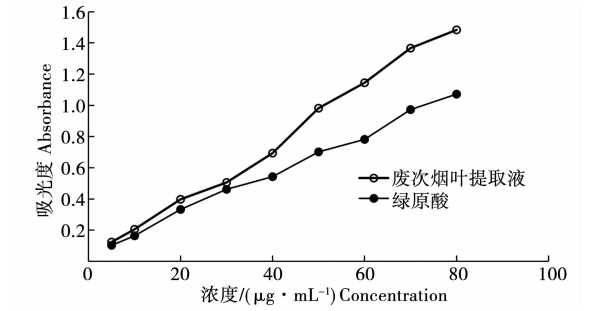


图 6 废次烟叶提取液和绿原酸对 Fe^{3+} 还原作用
Fig. 6 Reduction of Fe^{3+} by waste secondary tobacco leaf extract and chlorogenic acid

3 结论与讨论

本文采用了单因素试验和正交试验对废次烟叶中绿原酸的提取工艺进行了研究。通过数据分析得知:液料比、浸提温度、浸提时间和溶剂 pH 均对废次烟叶中绿原酸提取率有极显著影响,4 个因素的影响大小依次为浸提温度>浸提时间>溶剂 pH>液料比。通过方差分析和多重对比,确定了最佳提取工艺组合为 $A_2B_3C_1D_2$,即浸提时间为 90 min、浸提温度为 90 ℃、液料比为 10:1、溶剂 pH 为 5,绿原酸提取率为 0.714%。另外,还对最佳提取工艺组合进行了稳定性试验,发现这种优选工艺可靠且稳定,废次烟叶中绿原酸提取率较高,适合生产应用。

在进行单因素试验时发现:废次烟叶中绿原酸提取率随着液料比的增大先呈上升趋势,这可能因为溶剂量增加后浓度梯度增大,有利于绿原酸的溶出,从而使绿原酸的提取率上升;随后,废次烟叶中绿原酸提取率随着液料比增大呈下降趋势,这可能是原料里的绿原酸全部溶出,随着溶剂量的增加,吸光度值减小而造成^[25]。废次烟叶中绿原酸提取率随着浸提时间的延长先呈上升趋势,这可能是原料里的绿原酸在不断溶出;随着时间的继续延长,绿原酸提取率呈下降趋势,这可能是浸提液中绿原酸因时间过长而变性或分解,导致绿原酸提取率下降^[26]。废次烟叶中绿原酸提取率随着浸提温度的升高呈先上升后下降趋势,这可能因为温度过高,导致绿原酸变性,浸提液中绿原酸的含量降低,从而导致绿原酸提取率降低^[27]。废次烟叶中绿原酸提取率随着溶剂 pH 的增大呈先上升后下降趋势,这可能与绿原酸通过水解和分子内酯基迁移而发生的异构化有关^[28]。

通过单因素试验和正交试验,确定了最佳绿原酸提取工艺组合,运用这种工艺组合对 6 个品种烟草不同部位的绿原酸进行提取。结果表明:6 个品种烟草均以上部叶的绿原酸提取率最高,其次是中部叶和下部叶,烟梗中的绿原酸提取率最低,即 4 个部位的绿原酸提取率大小依次为上部叶>中部叶>下部叶>烟梗,这可能是新叶部分新陈代谢旺盛,绿原酸含量较高,随着叶片不断成熟,新陈代谢减弱,绿原酸含量减少。综合 4 个部位提取率可以看出,6 个品种烟草的绿原酸提取率大小依次为秦 96>云 97>云 85>K326>云

99>云 87,这可能与烟草的品种和绿原酸含量有关。

烟叶中含有多种化学成分,可以进行提取纯化应用,减少资源的浪费。有关研究表明:废次烟叶中的多糖可以有效清除 DPPH 自由基,这种清除效率与多糖浓度呈剂量-效应关系^[1,29]。孙高军等^[30]研究发现,烟叶中的多糖具有比抗坏血酸更高效而稳定的抗氧化能力,在功能食品等领域具有较高的应用潜力。本研究发现:废次烟叶提取液具有还原能力,并且随着浓度的增加而增强,然后趋于平缓。在低浓度时,废次烟叶提取液对 DPPH 自由基具有良好的清除能力,并且清除能力高于绿原酸,浓度为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的清除率可达到 84.37%,浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的清除率可达到 92.75%;随着浓度的增加,废次烟叶提取液对 DPPH 自由基的清除能力趋于平缓。另外,废次烟叶提取液还具有一定还原能力,可以将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,还原能力强于绿原酸。因此,可将废次烟叶作为抗氧化功能产品进行研制。

参考文献:

- [1] 许春平,杨琛琛,王铮,等.低次烟叶多糖的提取及生物活性分析[J].烟草科技,2013(11):52-55.
- [2] 王星敏,徐龙君,殷钟意,等.微生物酶促高效提制废次烟草中烟碱的研究[J].环境工程学报,2010,4(12):2875-2878.
- [3] 黄飞,屈飞强,李长江,等.正交法优化微波辅助提取废次烟叶中烟碱的工艺[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2015,41(2):132-135.
- [4] 张露月,王星敏,殷钟意,等.白腐真菌协同超声解浸提废次烟叶中茄尼醇[J].南方农业学报,2015,46(8):1474-1479.
- [5] 王星敏,张渝文,张桂芝,等.酶解破壁促进废次烟叶中茄尼醇溶浸[J].生物工程学报,2013,29(11):1706-1710.
- [6] 古君平,魏万之.废次烟叶中绿原酸的提取与分离[J].烟草科技,2010(2):43-47.
- [7] 朱松,娄在祥,陈尚卫,等.超声辅助酶法提取废次烟叶中绿原酸、烟碱工艺研究[J].食品工业科技,2012,33(5):181-184.
- [8] 饶国华,赵谋明,林伟锋,等.中国低次烟叶资源综合利用研究[J].资源科学,2005,27(5):120-127.
- [9] Ronsted N, Strandgaard H, Jensen S R, et al. Chlorogenic acid from three species of *Hydrostachys* [J]. *Biochemical Systematics & Ecology*, 2002, 30(11): 1105-1108.
- [10] Awad M A, Jager A D, Westing L M V. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation [J]. *Scientia Horticulturae*, 2000, 83(3): 249-263.
- [11] He C, Cui H, Zhao G. The determination of chlorogenic acid in cigarettes by inhibited chemiluminescence analysis[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1997, 351(1):

- 241-246.
- [12] Marques V, Farah A. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions[J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1370-1376.
- [13] Farah A, Donangelo C M. Phenolic compounds in coffee[J]. Brazilian Journal of Plant Physiology, 2006, 18(1): 23-36.
- [14] Wang G F, Shi L P, Ren Y D, et al. Anti-hepatitis B virus activity of chlorogenic acid, quinic acid and caffeic acid in vivo and in vitro[J]. Antiviral Research, 2009, 83(2): 186-190.
- [15] 李杰, 陈道鸽, 王兵兵, 等. 水热法提取金银花中绿原酸的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(2): 62-67.
- [16] 李春燕, 曾婷, 陈远谷, 等. 金银花中绿原酸不同提取方法的比较[J]. 食品科技, 2015, 40(9): 212-216.
- [17] 邓爱华, 李红勇, 谢鹏, 等. 响应面法优化杜仲叶中绿原酸提取工艺[J]. 经济林研究, 2018, 36(1): 125-130.
- [18] 周爱存, 袁建国, 潘佳佳, 等. 杜仲叶中绿原酸的提取方法与精制工艺研究[J]. 浙江林业科技, 2016, 36(1): 42-46.
- [19] 王新红, 李雪梅, 蔡晨, 等. 离子液体提取山楂绿原酸的工艺优化[J]. 农业工程学报, 2014, 30(10): 270-276.
- [20] 何雅君, 苏娟, 杨茜, 等. HPLC 同时测定山楂提取物中绿原酸和牡荆素鼠李糖苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 829-831.
- [21] 刘亚敏, 刘玉民, 李琼, 等. 超声波辅助提取山银花绿原酸工艺及其抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(1): 186-190, 195.
- [22] 刘欣, 陈玉保, 胡佑帆, 等. 山银花绿原酸提取方法的比较[J]. 化学与生物工程, 2015, 32(4): 67-70.
- [23] 康如龙, 刘倩, 苏小建, 等. 冬瓜皮提取物抗氧化性活性的研究[J]. 食品科技, 2013, 38(3): 218-222.
- [24] 王晓波, 何晓燕, 王梅, 等. 火龙果皮总黄酮提取与体外抗氧化作用研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(11): 156-159, 163.
- [25] 樊铭聪, 李文香. 超声波辅助提取金银花中绿原酸的工艺优化[J]. 包装与食品机械, 2013, 31(6): 15-19.
- [26] 李旭, 刘停, 陈时建, 等. 杜仲叶绿原酸提取工艺优化及对自发性高血压大鼠的降压作用[J]. 食品科学, 2013, 34(14): 30-34.
- [27] 胡仲秋, 洪小迪, 岳田利. 光皮木瓜绿原酸的提取及抗菌活性测定[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 8-13.
- [28] Buhler W, Dinjus E, Ederer H J, et al. Ionic reactions and pyrolysis of glycerol as competing reaction pathways in near-and supercritical water[J]. Journal of Supercritical Fluids, 2002, 22(1): 37-53.
- [29] 许春平, 赵珊珊, 杨琛琛, 等. 烤烟多糖的硫酸化修饰及抗氧化活性[J]. 烟草科技, 2015, 48(7): 41-45.
- [30] 孙高军, 洪深求, 周小兵, 等. 不同产地烟叶多糖体外抗氧化活性研究[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2018, 41(2): 260-265.

Study on Extraction of Chlorogenic Acid and Antioxidant from the Discarded Tobacco Leaves

WEI Jia

(Department of Medical Technology, Yuncheng Vocational Nursing College, Yuncheng 044000, China)

Abstract: In order to improve the extraction rate of chlorogenic acid in waste tobacco leaves, the discarded tobacco leaves were used to establish the best technology combination for extracting chlorogenic acid in this study. Using single-factor experiments, the effects of liquid-feed ratio, extraction temperature, extraction time, and solvent pH on the extraction of chlorogenic acid were studied. On this basis, the extraction conditions of chlorogenic acid from the discarded tobacco leaves were optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal experiment. Extracting chlorogenic acid from different parts and different parts using the best combination of process techniques, and studying the antioxidant activity of the extract. The results showed that with the ratio of liquid to material, extraction temperature, and extraction time as well as solvent pH increasing, the extraction rate of chlorogenic acid in the discarded tobacco leaves increased firstly and then decreased. Through analysis of variance and multiple comparisons, it was found that the four factors had a significant effect on the extraction rate of chlorogenic acid. The best optimized extraction time was 90 min, extraction temperature 90 °C, liquid-to-feed ratio 10:1, solvent pH 5. Under this condition, the extraction rate was 0.714%. The verification experiments showed that this optimal combination had a high extraction rate and a strong stability. Using this method, the extraction of chlorogenic acid from different parts of tobacco was studied. It was found that the highest extraction rate was found in the upper leaves, followed by the middle and the lower leaves, and the extraction rate of stems was the lowest. In addition, the waste secondary tobacco leaf extract has a good DPPH free radical scavenging and reducing ability and has a high potential application value.

Keywords: discarded tobacco leaves; chlorogenic acid; extraction process; antioxidant