

# 白肉番石榴总黄酮提取工艺优化 及体外抗氧化活性分析

张婉君,冯彬,谢笔钧,孙智达\*

(华中农业大学食品科技学院,湖北武汉 430070)

**摘要:**对白肉番石榴中总黄酮的提取工艺进行优化,并研究其体外的抗氧化活性。以珍珠番石榴(白肉)的叶、皮为原料,在单因素实验的基础上,以总黄酮提取量为指标,采用正交试验优化获得了番石榴叶、皮中总黄酮的提取工艺。在此基础上提取番石榴果肉中的总黄酮,然后比较番石榴叶、皮、果肉中黄酮的体外抗氧化作用。结果表明,番石榴叶、皮的总黄酮的最优提取工艺略有差异。番石榴叶总黄酮的提取最优工艺为:乙醇浓度 50%,提取温度 65℃,料液比 1:20 (g/mL),提取时间 135 min。番石榴皮总黄酮提取最优工艺为:乙醇浓度 60%,提取温度 45℃,料液比 1:7 (g/mL),提取时间 105 min。在最优条件下番石榴叶、皮总黄酮的提取量分别为(188.66±0.23)、(48.03±0.16) mg/g。番石榴叶、皮、果肉总黄酮在 ABTS 自由基及羟基自由基清除实验、铁还原力及总抗氧化力测定分析中显示良好的抗氧化活性,其中番石榴叶总黄酮的体外抗氧化能力最强。由此说明番石榴黄酮有望成为一种良好的天然抗氧化剂。

**关键词:**珍珠番石榴,黄酮,提取工艺,抗氧化活性

## Optimization of Extraction Process and *in Vitro* Antioxidant Activity Analysis of Total Flavonoids from White-flesh Guava (*Psidium guajava* L.cv.Pearl)

ZHANG Wan-jun, FENG Bin, XIE Bi-jun, SUN Zhi-da\*

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** The extraction process of total flavonoids from white-flesh guava was optimized and the *in vitro* antioxidant activity was studied. The leaves and peel of pearl guava (white meat) were used as raw materials. Based on a single factor experiment, the total flavonoids extraction quantity was used as an indicator to optimize the extraction process of total flavonoids from leaves and peel of guava by orthogonal test. On this basis, the total flavonoids in flesh of guava were extracted, and the *in vitro* antioxidant effects of total flavonoids in leaves, peel and flesh of guava were compared. The results showed that the optimal extraction process of total flavonoids from leaves and peel of guava were slightly different. The optimal extraction process of total flavonoids from guava leaves were as follows: ethanol concentration 50%, extraction temperature 65℃, solid-liquid ratio 1:20 (g/mL), extraction time 135 min. The optimum extraction process of total flavonoids from guava peel were as follows: ethanol concentration 60%, extraction temperature 45℃, solid-liquid ratio 1:7 (g/mL), extraction time 105 min. Under optimal conditions, the extraction quantities of total flavonoids in guava leaves and peel were (188.66±0.23) and (48.03±0.16) mg/g, respectively. Total flavonoids of guava leaves, peel and flesh showed good antioxidant activity in the experiments of ABTS radical and hydroxyl radical scavenging experiments, iron reducing force and total antioxidant capacity, among which total flavonoids of guava leaves had the strongest antioxidant capacity *in vitro*. This indicated that white-flesh guava flavonoids were expected to be a good natural antioxidant.

**Key words:** *Psidium guajava* L.cv.Pearl; flavonoids; extraction process; antioxidant activity

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2019)08-0196-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.08.033

引文格式: 张婉君, 冯彬, 谢笔钧, 等. 白肉番石榴总黄酮提取工艺优化及体外抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(8): 196-201.

番石榴 (*Psidium guajava* L.), 又称为芭乐, 俗名鸡矢果、拨子, 是一种热带水果。原产于美洲热带,

现在在全球广泛分布, 全球最大的生产国家是印度, 其次是中国和泰国。根据果肉的颜色可以将其分为

收稿日期: 2018-07-06

作者简介: 张婉君(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: zwj93612@sina.com。

\* 通讯作者: 孙智达(1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: sunzhida@sina.com。

红肉及白肉番石榴两大类。红肉番石榴多为野生,白肉番石榴为人工选育栽培的新品种。其中珍珠番石榴更是白肉番石榴中的优等品种,是支持南方农业经济的大宗水果之一<sup>[1]</sup>。根据我国药典记载,番石榴叶、皮具有开胃消食、止泻通便、收敛、止痒、提高机体免疫力、消炎、治疗糖尿病、保肝护肝等多重功效<sup>[2]</sup>。研究发现番石榴中含有维生素 A、B、C 以及钙、磷、钾、铁等元素<sup>[3-5]</sup>。番石榴中还含有多种活性成分,主要有黄酮、类胡萝卜素、挥发油、萜类和三萜等。其中黄酮是番石榴中重要的生物活性成分,具有良好的抑菌、抗氧化、抗肿瘤等功效。

目前对番石榴黄酮研究主要集中在红肉品种的叶及全果上,关于白肉品种番石榴研究较少。且研究局限于番石榴的单一部位,对于番石榴不同部位黄酮提取及抗氧化活性的比较几乎为零,而使皮、果肉等其他部位黄酮物质被忽略<sup>[6-8]</sup>。

因此,本研究将选用珍珠番石榴(白肉)为原料,而其中番石榴叶及番石榴皮为工业生产的副产物,并且黄酮含量较高,具有进行提取工艺优化的价值,则对番石榴叶、皮中的总黄酮进行提取工艺优化。再对番石榴果肉总黄酮进行提取,探讨番石榴叶、皮、果肉中黄酮的体外抗氧化活性差异,以增加番石榴不同组成部分的综合利用价值,同时为开发天然的抗氧化剂提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

珍珠番石榴(白肉) 购自广东珠海;2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、水溶性维生素 C Sigma 公司;芦丁等 国产分析纯。

EL104 电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;UV2100 紫外可见分光光度计尤尼柯(上海)仪器有限公司;DK-98-II A 电热恒温水浴锅 天津市泰斯特仪器有限公司;KX-100 型高速多功能粉碎机 浙江武义鼎藏日用金属制品厂;5084 高速冷冻离心机 德国艾本德。

### 1.2 实验方法

1.2.1 番石榴总黄酮的提取 番石榴叶的预处理:将番石榴叶置于温度为 40 ℃ 的烘箱中烘干直至恒重,粉碎至 60 目于干燥器内保存。番石榴果皮的预处理:将番石榴的果皮使用液氮低温研磨成粉放置在 -20 ℃ 下保存。分别准确称取 1.0 g 番石榴叶、皮粉末,按照一定的料液比加入一定浓度的乙醇溶液,在一定的设定温度下水浴浸提一定的时间。常温条件下以 5000 r/min 离心 5 min,收集上清液,使用一定体积分数的乙醇溶液定容至 50 mL 棕色容量瓶中。

#### 1.2.2 单因素实验

1.2.2.1 乙醇浓度对总黄酮提取量的影响 设定料液比为 1:5 (g/mL),提取温度为 40 ℃,提取时间为 60 min,考察乙醇浓度为 20%、40%、60%、80%、100% 时对番石榴叶、皮总黄酮提取量的影响。

1.2.2.2 提取温度对总黄酮提取量的影响 设定乙

醇浓度为 60%,料液比为 1:5 (g/mL),提取时间为 60 min,考察提取温度为 40、50、60、70、80 ℃ 时对番石榴叶、皮总黄酮提取量的影响。

1.2.2.3 料液比对总黄酮提取量的影响 设定乙醇浓度为 60%,提取温度为 60 ℃,提取时间为 60 min,考察料液比 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25 (g/mL) 对番石榴叶总黄酮提取量的影响。

设定乙醇浓度为 60%,提取温度为 50 ℃,提取时间为 60 min,考察料液比 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25 (g/mL) 对番石榴皮总黄酮提取量的影响。

1.2.2.4 提取时间对总黄酮提取量的影响 设定乙醇浓度为 60%,料液比为 1:20 (g/mL),提取温度为 60 ℃,考察提取时间为 60、90、120、150、180 min 对番石榴叶总黄酮提取量的影响。

设定乙醇浓度为 60%,料液比为 1:10 (g/mL),提取温度为 50 ℃,考察提取时间为 60、90、120、150、180 min 对番石榴皮总黄酮提取量的影响。

1.2.3 正交实验 根据单因素实验结果,进行正交试验设计,优化番石榴叶、皮黄酮的提取工艺。

表 1 番石榴叶总黄酮正交实验因素水平设计

Table 1 Factors and levels of orthogonal test of total flavonoids from guava leaves

水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 提取温度 (°C)	C 料液比 (g/mL)	D 提取时间 (min)
1	50	55	1:17	135
2	60	60	1:20	150
3	70	65	1:23	165

表 2 番石榴皮黄酮正交实验因素水平设计

Table 2 Factors and levels of orthogonal test of total flavonoids from guava peel

水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 提取温度 (°C)	C 料液比 (g/mL)	D 提取时间 (min)
1	50	45	1:7	75
2	60	50	1:10	90
3	70	55	1:13	105

1.2.4 总黄酮含量的测定 采用硝酸铝比色法测定总黄酮含量<sup>[9]</sup>。吸取 0.8 mL 番石榴叶、皮总黄酮提取液于 10 mL 具塞试管中,加入 0.4 mL 5% NaNO<sub>2</sub>,混匀后常温放置 5 min,再加入 0.4 mL 10% 的 Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>,混匀常温放置 5 min,后加入 2 mL 4% 的 NaOH,混匀常温放置 10 min 后用 70% 乙醇溶液定容至 5 mL。于 510 nm 处测定吸光值。另以 0.2~0.8 mg/mL 的芦丁标准液代替样品绘制标准曲线,线性回归方程为:  $y = 0.8126x - 0.0037$  ( $R^2 = 0.9998$ ),根据标准曲线计算得到番石榴叶、皮中总黄酮含量 (mg/mL)。

1.2.5 黄酮提取量的计算 根据以下公式计算番石榴叶、皮总黄酮的提取量。

$$\text{总黄酮提取量 (mg/g)} = \frac{C \times V_1 \times V_2}{M \times V_0}$$

式中:  $C$  为根据标准曲线计算出的黄酮的质量浓度 ( $\text{mg/mL}$ );  $V_1$  为测定时的定容体积 ( $\text{mL}$ );  $V_2$  为提取液定容体积 ( $\text{mL}$ );  $M$  为称取的样品质量 ( $\text{g}$ );  $V_0$  为用于测定的提取液体积 ( $\text{mL}$ )。

1.2.6 番石榴叶、皮、果肉总黄酮体外抗氧化活性测定 根据单因素正交结果得出的最优总黄酮提取条件分别对番石榴叶、皮中的总黄酮进行提取。参照番石榴皮的预处理及总黄酮的提取方式对番石榴果肉进行预处理并对总黄酮进行提取。使用体积分数为 60%、50%、50% 的乙醇溶液分别对番石榴叶、皮、果肉总黄酮溶液进行稀释, 得到不同浓度的黄酮提取液。

1.2.6.1 清除 ABTS 自由基能力的测定 参照白海娜等的方法, 并作部分修改<sup>[10]</sup>。ABTS 原液可与过硫酸钾溶液反应生成  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , 供氢抗氧化剂具有清除  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  的作用。分别取 0.2 mL 不同浓度的番石榴叶、皮、果肉黄酮溶液与 2.4 mL  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  工作液混合避光反应 10 min, 在 734 nm 处测定吸光度。空白组以样品溶剂 (70% 乙醇) 代替样品液, 对照组以蒸馏水代替  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  工作液。并以  $V_c$  作为参照比较效果。按以下公式计算  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  清除率:

$$\text{ABTS}^{\cdot+} \text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A - A_1}{A_0}\right) \times 100$$

式中:  $A$  - 样品组吸光值;  $A_0$  - 空白组吸光值;  $A_1$  - 对照组吸光值。

$\text{ABTS}^{\cdot+}$  工作液的获取: 将 7 mmol/mL 的 ABTS 原液与 2.45 mmol/mL 的过硫酸钾溶液等体积混合, 常温避光反应 12~16 h。使用前用蒸馏水稀释  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  溶液使其在 734 nm 处的吸光值为  $0.70 \pm 0.02$ , 得到  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  工作液。

1.2.6.2 清除羟基自由基能力的测定 当  $\text{H}_2\text{O}_2$  与  $\text{FeSO}_4$  混合反应, 会产生  $\cdot\text{OH}$ 。水杨酸的加入可结合  $\cdot\text{OH}$  产生在 510 nm 处有特殊吸收的 2,3-二羟基苯甲酸。若向以上反应体系中加入具有清除羟基自由基的抗氧化剂, 就会减少有色化合物的产生, 降低体系吸光值<sup>[11]</sup>。本实验利用以上原理使用水杨酸法评估样品清除羟基自由基的能力并与  $V_c$  对比。在 10 mL 具塞试管中分别加入 2 mL 不同浓度的番石榴叶、皮、果肉黄酮溶液, 然后加入 2 mL 6 mmol/L 的  $\text{FeSO}_4$  溶液, 再与 2 mL 6 mmol/L 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  混合, 摇匀常温静置 10 min。之后加入 6 mmol/L 的水杨酸溶液 2 mL, 摇匀常温静置 30 min。于 510 nm 处测定吸光值。空白组以样品溶剂代替样品溶液。对照组以蒸馏水代替  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。按以下公式计算羟基自由基清除率:

$$\cdot\text{OH} \text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A - A_1}{A_0}\right) \times 100$$

式中:  $A$  - 样品组吸光值;  $A_0$  - 空白组吸光值;  $A_1$  - 对照组吸光值。

1.2.6.3 铁还原能力的测定 抗氧化剂可将铁氰化钾还原为亚铁氰化钾, 亚铁氰化钾再与三氯化铁反应可产生普鲁士蓝 ( $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ ), 此物质在 700 nm 处有最大吸收<sup>[12]</sup>。因此可通过以上反应原理测定样品的还原能力大小, 并以  $V_c$  为参照比较效

果。分别取 2.5 mL 不同浓度的番石榴叶、皮、果肉黄酮溶液与 2.5 mL 的磷酸缓冲液 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  与  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.2 mol/L, pH = 6.6) 混合, 并加入 2.5 mL 1% 的铁氰化钾溶液, 充分混匀后在 50 °C 条件下水浴 20 min, 快速冷却后加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸终止反应, 常温条件下以 3000 r/min 离心 10 min, 取 1 mL 上清液与 0.5 mL 1% 的三氯化铁溶液混合, 常温静置 10 min 后于 700 nm 处测定吸光值, 吸光值越高样品的还原能力越强。

1.2.6.4 总抗氧化能力的测定 本实验使用磷钼络合法测定样品的总抗氧化能力<sup>[13]</sup>。Mo(VI) 在抗氧化剂存在的情况下可将其还原为 Mo(V) 产生在 695 nm 处具有最大吸收的绿色化合物 (磷钼化合物)。因此可通对其吸光度的差异来对比样品的抗氧化性强弱, 并与  $V_c$  作比较。向具塞试管中加入 1.0 mL 3.0 mol/L 的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液、1.0 mL 的 0.14 mol/L 的  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  溶液和 1 mL 0.02 mol/L 的钼酸铵溶液, 充分混匀后分别加入 1 mL 不同浓度的番石榴叶、皮、果肉黄酮溶液, 用蒸馏水定容至 5 mL。加塞后于 90 °C 下水浴 90 min。取出冷却于 695 nm 处测定吸光度。

### 1.3 数据处理

实验结果均表示为平均值  $\pm$  标准差, 使用 SPASS 18.0 软件进行显著性分析, Origin 8.0 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果

2.1.1 乙醇浓度对番石榴叶、皮中总黄酮提取量的影响 由图 1 可知, 当乙醇浓度逐渐升高时, 番石榴叶及番石榴皮中的总黄酮提取量逐渐升高。当乙醇浓度到达 60% 时, 番石榴叶及番石榴皮中总黄酮的提取量达到最高, 分别为  $(72.41 \pm 2.34)$ 、 $(39.49 \pm 0.53)$  mg/g。随后乙醇浓度继续增加, 番石榴叶及番石榴皮中总黄酮提取量反而降低。这可能是由于乙醇浓度影响了黄酮类及其他醇溶性物质的溶解性, 在乙醇浓度为 60% 时, 黄酮类物质的溶出量达到最大并达到饱和, 当乙醇浓度再增大时, 会使得其他醇溶物的溶出量也增加<sup>[14]</sup>。因此, 番石榴叶、皮总黄酮的提取中乙醇提取分数选择 60%。

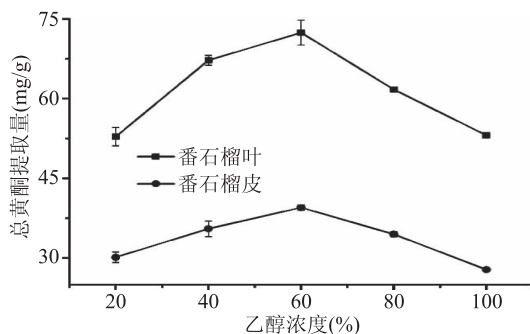


图 1 乙醇浓度对黄酮提取量的影响

Fig.1 Effect of ethanol concentration on the amount of flavonoid extraction

2.1.2 提取温度对总黄酮提取量的影响 由图 2 可知, 番石榴叶中总黄酮的提取量随着提取温度的升



高而升高,在温度达到 60 ℃ 时,总黄酮提取量达到最大(112.11 ± 1.39) mg/g。当提取温度继续升高,番石榴叶中总黄酮提取量反而降低。这可能是由于温度过高时黄酮因氧化被破坏<sup>[15]</sup>。因此,番石榴叶中总黄酮的提取温度选择 60 ℃。同理分析可知,在提取温度为 50 ℃,番石榴皮中总黄酮提取量达到最大(46.38 ± 0.21) mg/g。番石榴皮总黄酮提取温度应选择 50 ℃。

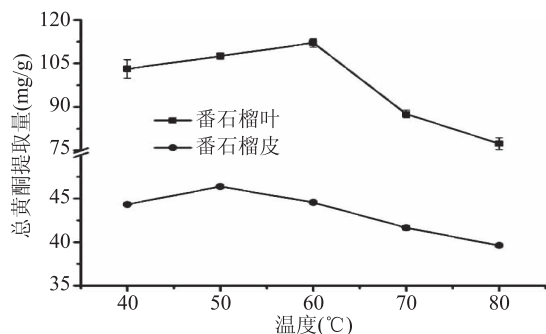


图2 提取温度对总黄酮提取量的影响

Fig.2 Effect of extraction temperature on the amount of flavonoid extraction

2.1.3 料液比对总黄酮提取量的影响 由图3可知,随着提取料液比的增加,番石榴叶中总黄酮的提取量也增加,当料液比为 1:20 (g/mL) 时,番石榴叶总黄酮提取量达到最大(166.96 ± 4.40) mg/g。再继续加大提取料液比,番石榴叶中总黄酮的提取量降低。在料液比为一个合适范围时,随料液比的增加会促进黄酮物质的溶出,而料液比过高时,会加大其他杂质的溶出,使得黄酮提取量降低<sup>[14,16]</sup>。因此,番石榴叶中总黄酮提取的料液比选择 1:20 (g/mL)。同理,当提取料液比为 1:10 (g/mL) 时,番石榴皮中总黄酮提取量达到最大(53.46 ± 1.11) mg/g,因此番石榴皮总黄酮提取料液比应选择 1:10 (g/mL)。

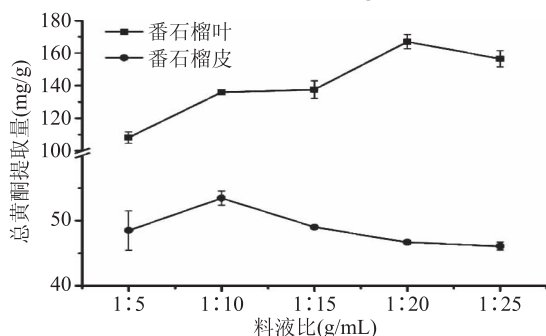


图3 料液比对总黄酮提取量的影响

Fig.3 Effect of the solid-liquid ratio on the amount of flavonoid extraction

2.1.4 浸提时间对总黄酮提取量的影响 由图4可知,随着提取时间的延长,番石榴叶中的总黄酮溶出量也逐渐加大,当提取时间在 150 min 时,番石榴叶总黄酮含量达到最大(181.43 ± 0.75) mg/g。再延长提取时间,总黄酮含量则呈下降趋势。这可能是由于当提取时间过长时会使黄酮类物质分解或者使得其他杂质溶出增多<sup>[17]</sup>。因此,番石榴叶总黄酮提取的时间选择 150 min。同理,当提取时间为 90 min

时,番石榴皮中总黄酮提取量达到最大(49.97 ± 1.14) mg/g。番石榴皮中总黄酮提取时间应选择 90 min。

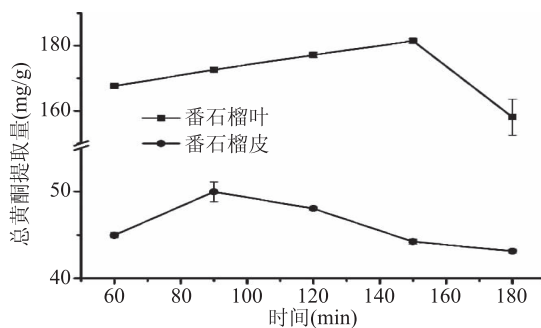


图4 提取时间对总黄酮提取量的影响

Fig.4 Effects of extraction time on the amount of flavonoid extraction

## 2.2 正交实验结果

根据单因素的结果,设计四因素三水平正交试验,番石榴叶试验结果见表3,由 R 值分析可知,四因素对番石榴叶总黄酮提取量的影响大小为 A > C > B > D,即乙醇浓度 > 料液比 > 提取温度 > 提取时间。根据 k 值分析可得番石榴叶总黄酮最优提取工艺组合 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>。即乙醇浓度为 50%,提取温度为 65 ℃,料液比为 1:20 (g/mL),提取时间为 135 min。按以上理论最优工艺进行提取,番石榴叶总黄酮提取量为(188.66 ± 0.23) mg/g,显著高于正交表中 9 个组合的番石榴叶总黄酮提取量(p < 0.05)。

表3 番石榴叶总黄酮正交实验设计及结果  
Table 3 Orthogonal test design and result of total flavonoids from guava leaves

试验号	A	B	C	D	总黄酮提取量 (mg/g)
1	1	1	1	1	168.77
2	2	1	2	2	161.38
3	3	1	3	3	173.2
4	3	2	2	1	131.36
5	1	2	3	2	185.5
6	2	2	1	3	144.4
7	2	3	3	1	139.97
8	3	3	1	2	158.18
9	1	3	2	3	160.89
k <sub>1</sub>	171.72	157.12	146.7	167.78	
k <sub>2</sub>	148.59	151.21	168.36	153.75	
k <sub>3</sub>	154.24	166.22	159.49	153.02	
R	23.14	15.01	21.66	14.76	

番石榴皮总黄酮的提取结果见表4,四因素对番石榴皮总黄酮提取量影响大小为 A > B > C > D。其最佳工艺组合为 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>D<sub>3</sub>,即乙醇浓度为 60%,提取温度为 45 ℃,料液比为 1:7 (g/mL),提取时间为 105 min。按照以上理论最优工艺进行提取,番石榴皮总黄酮提取量为(48.03 ± 0.16) mg/g,显著高于正交表中 9 个组合的番石榴皮总黄酮提取量(p < 0.05)。番石榴叶及番石榴皮总黄酮的提取工艺均得

以验证。

表4 番石榴皮总黄酮正交实验设计及结果

Table 4 Orthogonal test design and result of total flavonoids from guava peel

试验号	A	B	C	D	总黄酮提取量 (mg/g)
1	1	1	1	1	42.68
2	2	1	2	2	42.34
3	3	1	3	3	43.36
4	3	2	1	1	39.94
5	1	2	3	2	36.53
6	2	2	2	3	46.78
7	2	3	3	1	41.82
8	3	3	1	2	39.43
9	1	3	2	3	35.84
$k_1$	38.35	42.79	42.96	41.48	
$k_2$	43.65	41.08	39.37	39.43	
$k_3$	40.91	39.03	40.6	42	
R	5.3	3.76	3.59	2.56	

因番石榴果肉与番石榴果皮连接较为紧密,且其生长周期及所处环境等条件较番石榴叶来说更为相近。所以在提取番石榴果肉黄酮时采用的是番石榴皮黄酮提取最佳工艺条件。其中番石榴果肉在此提取条件下的黄酮提取量 10.65 mg/g,远低于番石榴叶及皮黄酮提取量,因此本文对番石榴果肉黄酮的提取工艺不作探讨。而用番石榴皮黄酮的最佳工艺条件进行提取,目的是下一步探讨番石榴叶、皮、果肉黄酮的体外抗氧化能力。

## 2.3 番石榴叶、皮、果肉中总黄酮的体外抗氧化活性评价

**2.3.1 对 ABTS<sup>+</sup>· 的清除作用** 番石榴叶、皮、果肉黄酮对 ABTS<sup>+</sup>· 的清除作用如图5所示。随着样品浓度的增加,对 ABTS<sup>+</sup>· 清除率也随之升高,在样品浓度为 0.05 mg/mL 时,番石榴叶、皮、果肉黄酮对 ABTS<sup>+</sup>· 清除率分别高达 84.30% ± 0.12%、60.87% ± 0.26%、50.70% ± 0.12%。相同浓度下(0.02~0.05) mg/mL 比较,三种黄酮样品对 ABTS<sup>+</sup>· 清除能力均为番石榴叶黄酮 > 番石榴皮黄酮 > 番石榴果肉黄酮,并存在显著性差异( $p < 0.05$ )。与阳性对照 V<sub>c</sub> 相比,番石榴叶黄酮对 ABTS<sup>+</sup>· 的清除率显著高于 V<sub>c</sub> ( $p < 0.05$ ),而 V<sub>c</sub> 又显著优于番石榴皮及果肉黄酮。三种黄酮浓度与 ABTS<sup>+</sup>· 清除率呈现良好的剂量效应关系。

**2.3.2 对·OH 的清除作用** 番石榴叶、皮、果肉黄酮对·OH 的清除作用如图6所示。在 0.2~1.6 mg/mL 范围内,·OH 清除率随番石榴叶黄酮浓度的增加而增加,在其浓度为 1.6 mg/mL 时,对·OH 清除率为 (76.55 ± 0.05) mg/mL,随浓度继续增高,清除率未有显著性增长。当番石榴皮、果肉黄酮浓度逐渐升高时,·OH 的清除率也随之增高。且阳性对照 V<sub>c</sub> 对·OH 的清除能力显著高于番石榴叶、皮、果肉黄酮 ( $p < 0.05$ )。四者间清除·OH 能力排序为 V<sub>c</sub> > 番石榴

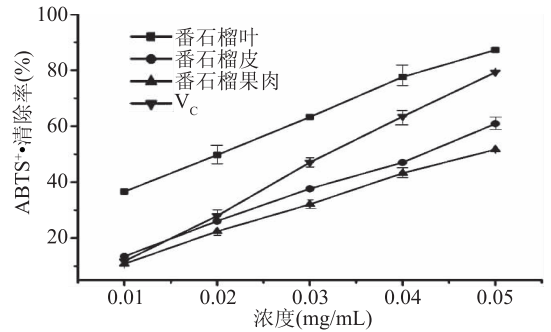


图5 番石榴叶、皮、果肉黄酮浓度对 ABTS<sup>+</sup>· 的清除作用

Fig.5 The scavenging effect of flavonoids concentration from leaves, peel and flesh of guava on ABTS free radicals

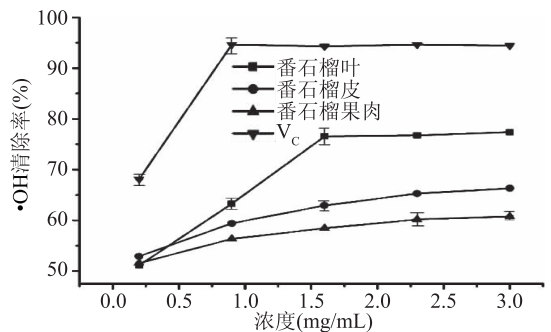


图6 番石榴叶、皮、果肉黄酮浓度对·OH 清除作用的影响

Fig.6 The scavenging effect of flavonoids concentration from leaves, peel and flesh of guava on hydroxyl free radicals

叶黄酮 > 番石榴皮黄酮 > 番石榴果肉黄酮。

**2.3.3 铁还原力分析** 番石榴叶、皮、果肉黄酮的铁还原力如图7所示。在铁还原力测定实验中,吸光值越大,代表铁还原力越强<sup>[18-19]</sup>。随着样品浓度的增加,三种黄酮还原力逐渐提高,并呈现明显的剂量效应关系。当样品浓度为 0.06 mg/mL 时,番石榴叶、皮、果肉黄酮及 V<sub>c</sub> 样品对应的吸光值为 1.33 ± 0.01、0.86 ± 0.02、0.79 ± 0.03、1.69 ± 0.03。三种黄酮样品及 V<sub>c</sub> 还原力强弱排序为 V<sub>c</sub> > 番石榴叶黄酮 > 番石榴皮黄酮 > 番石榴果肉黄酮,并且样品间还原力强弱具有显著性差异( $p < 0.05$ )。

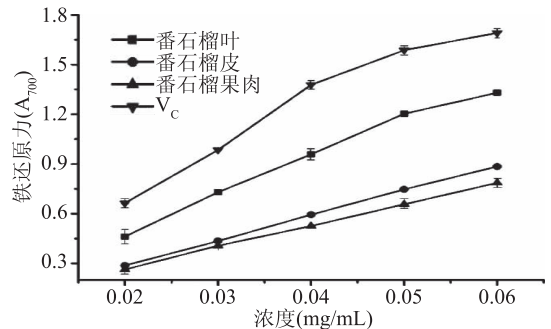


图7 番石榴叶、皮、果肉黄酮浓度对铁还原力的影响

Fig.7 Effect of flavonoids concentration from leaves, peel and flesh of guava on iron reducing force

**2.3.4 总抗氧化能力分析** 番石榴叶、皮、果肉黄酮

的总抗氧化能力如图 8 所示。在总抗氧化能力测定实验中,吸光值越高,抗氧化力越强<sup>[20-21]</sup>。番石榴叶、皮、果肉黄酮随浓度的增加抗氧化能力也逐渐增加。比较相同样品浓度作用下的吸光值,可知三种黄酮的总抗氧化能力强弱顺序为番石榴叶黄酮>番石榴皮黄酮>番石榴果肉黄酮,且这三种黄酮的浓度均与抗氧化能力间存在良好的剂量效应关系。在样品浓度范围为 0.02~0.05 mg/mL 时,番石榴叶、皮黄酮的总抗氧化能力均优于  $V_c$ ,番石榴果肉黄酮总抗氧化力略低于  $V_c$ 。当样品的浓度为 0.06 mg/mL 时, $V_c$  组对应吸光值高于番石榴皮黄酮组,与低浓度范围(0.02~0.05) mg/mL 所得规律不同,这可能与样品浓度有关,还需进一步探究。

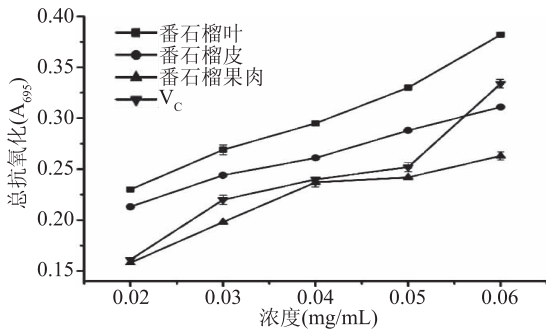


图 8 番石榴叶、皮、果肉黄酮浓度对总抗氧化能力的影响  
Fig.8 Effect of flavonoids concentration from leaves, peel and flesh of guava on total antioxidant capacity

番石榴叶、皮、果肉黄酮对  $ABTS^+$ ·及·OH 均具有良好的清除作用,也具有较好的铁还原能力及总抗氧化能力。综合以上抗氧化实验结果,可知三种黄酮的体外抗氧化能力强弱为番石榴叶黄酮>番石榴皮黄酮>番石榴果肉黄酮。可能是由于番石榴叶与番石榴果皮、果肉中黄酮组分及含量存在差异,从而影响了其抗氧化活性。而对于番石榴皮黄酮与番石榴果肉黄酮来说,尽管两者采用相同的提取工艺,但原料本身黄酮组分可能存在不同,所以产生了抗氧化活性的差别。

### 3 结论

番石榴叶、皮为番石榴工业应用中的副产物,具有对其总黄酮提取工艺优化价值。因此本实验采用有机溶剂浸提法对珍珠番石榴(白肉)叶、皮黄酮的提取工艺进行了优化对比。番石榴叶黄酮最佳提取工艺为:乙醇浓度 50%、提取温度为 65℃,料液比为 1:20 (g/mL),提取时间为 135 min。番石榴皮黄酮最佳提取工艺为乙醇浓度 60%、提取温度为 45℃,料液比为 1:7 (g/mL),提取时间为 105 min。在最优工艺条件下,番石榴叶、皮黄酮的提取量分别为(188.66±0.23)、(48.03±0.16) mg/g。通过  $ABTS^+$ ·清除实验、·OH 基清除实验、铁还原力的测定及总抗氧化能力的测定,发现三种黄酮样品的体外抗氧化能力大小为番石榴叶黄酮>番石榴皮黄酮>番石榴果肉黄酮。且番石榴叶黄酮在  $ABTS^+$ ·清除能力及总抗氧化能力上显著优于阳性对照  $V_c$ 。由此可见,白肉番石榴黄酮可作为良好的抗氧化剂的天然来源。

### 参考文献

- [1] 张福平,陈蔚辉,郝楚萍,等.超声波结合气调包装对番石榴贮藏品质与生理的影响[J].南方农业学报,2017,48(3):493-498.
- [2] 佚名.中药大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,1977.
- [3] 张宏康,林奕楠,许晓鹏,等.番石榴和番石榴叶加工研究进展[J].食品工业科技,2014,35(15):390-394.
- [4] 邝高波,黄和.微波辅助提取番石榴多酚的研究[J].食品工业科技,2013,34(24):288-291,295.
- [5] Temple N J. Antioxidants and disease: More questions than answers[J]. Nutrition Research, 2000, 20(3): 449-459.
- [6] Dan - Ru L I, Ying L U, Tian B J, et al. Study on vitro bioactivity of guava leaves flavonoids [J]. Food Research & Development, 2015, 6(22): 24-27.
- [7] Chen H Y, Yen G C. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves[J]. Food Chemistry, 2007, 101(2): 686-694.
- [8] Reddy S V R, Rao D V S, Shivashankara K S. Comparative effect of 1-methylcyclopropene (MCP) and  $KMnO_4$  on the total antioxidant capacity, phenols and flavonoids of guava cv. Lucknow-49 [J]. Haryana Journal of Horticultural Sciences, 2011, 40: 114-116.
- [9] 岳秀洁,李超,扶雄.超声提取辣木黄酮优化及抗氧化活性[J].食品工业科技 2016,37(1):226-231.
- [10] 白海娜,王振宇,刘瑞海,等.白藜芦醇与黑木耳多糖协同清除  $ABTS$  自由基活性的研究[J].现代食品科技,2014,30(3):64-68.
- [11] 李艳,巩士磊,车影,等.Fenton 反应考察抗坏血酸清除羟基自由基能力及动力学[J].应用化学,2015,32(8):948-954.
- [12] 杨慧文,张旭红,陈健媚,等.白藜芦不同极性部位的体外抗氧化活性分析[J].食品研究与开发,2015,36(3):14-18.
- [13] 黄海兰,赵祖亮,王斌贵.磷钼络合物法与  $\beta$ -胡萝卜素-亚油酸法测定海藻脂类成分抗氧化活性的比较[J].中国油脂,2005(3):32-35.
- [14] 陈红梅,谢翎.响应面法优化半枝莲黄酮提取工艺及体外抗氧化性分析[J].食品科学,2016,37(2):45-50.
- [15] 曹春艳.响应面法优化银杏叶黄酮提取工艺[J].中国食品学报,2014,14(4):78-86.
- [16] 陈况况,帕塔尔·尼牙孜,等.响应面法优化水芹黄酮提取工艺及其成分研究[J].中国食品学报,2014,14(11):83-89.
- [17] 罗磊,张冰洁,朱文学,等.响应面法优化超声辅助提取金银花叶黄酮工艺及其抗氧化活性[J].食品科学,2016,37(6):13-19.
- [18] 姜红.黑胡萝卜花色苷结构鉴定、稳定性及生物学作用研究[D].武汉:华中农业大学,2016.
- [19] 李昌文,张丽华,纵伟,等.芹菜渣水溶性膳食纤维的抗氧化活性研究[J].食品工业,2016,37(9):63-66.
- [20] 殷丽琴,韦献雅,钟成,等.不同品种彩色马铃薯总花色苷含量与总抗氧化活性[J].食品科学,2014,35(5):96-100.
- [21] 姚俊杰,熊铨龙,蒋左玉,等.维生素 C 对普安银鲫早期发育中氧化损伤及总抗氧化能力的影响[J].动物学杂志,2015,50(4):581-590.