

# 响应面优化紫果西番莲叶多酚超声辅助提取工艺及其抗氧化活性

贺银菊<sup>1,2</sup>, 张旋俊<sup>1</sup>, 杨再波<sup>1,2</sup>, 彭莘媚<sup>1,2</sup>, 卯申发<sup>1</sup>

(1. 黔南民族师范学院化学化工学院, 贵州都匀 558000;

2. 贵州省高校民族药用植物资源开发工程研究中心, 贵州都匀 558000)

**摘要:**以紫果西番莲叶为对象, 研究其多酚提取工艺及抗氧化活性。在单因素实验基础上采用 Box-Behnken 响应面分析法优化紫果西番莲叶多酚的提取工艺, 考察液料比、提取时间、超声功率和超声温度对其多酚提取量的影响, 以清除 DPPH 自由基和 ·OH 能力评价紫果西番莲叶多酚的抗氧化活性。结果表明, 最佳提取条件为: 液料比 36:1 mL/g、提取时间 54 min、超声功率 350 W 和超声温度 70 °C, 此时紫果西番莲叶中多酚提取量为 (13.19 ± 0.17) mg/g。抗氧化活性结果表明, 紫果西番莲叶多酚具有较好的抗氧化活性, 其清除 DPPH 自由基和 ·OH 的半抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 分别为 0.058 和 0.144 mg/mL。

**关键词:**紫果西番莲叶, 响应面分析, 多酚, 提取, 抗氧化活性

## Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Polyphenols in the Purple Passionfruit Leaves by Response Surface Methodology and Its Antioxidant Activity

HE Yin-ju<sup>1,2</sup>, ZHANG Xuan-jun<sup>1</sup>, YANG Zai-bo<sup>1,2</sup>, PENG Xin-mei<sup>1,2</sup>, MAO Shen-fa<sup>1</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Qiannan Normal University for Nationalities, Duyun 558000, China;

2. Guizhou Province College Research Center of Ethnical Medicinal Plant

Resources Exploitation Engineering, Duyun 558000, China)

**Abstract:** To optimize the extraction technology and antioxidant activity of polyphenols from purple passionfruit leaves. On the basis of a single factor test, the material to solvent ratio, extraction time, ultrasonic power and ultrasonic temperature were the factors, and the Box-Beheken was used to design test program. The optimal extraction technology was as follows: Solvent to material ratio 36:1 mL/g, extraction time 54 min, ultrasonic power 350 W and temperature 70 °C. Under the above conditions, the extraction amount of polyphenols from purple passionfruit leaves was (13.19 ± 0.17) mg/g. The test of antioxidant activity showed that the polyphenols from purple passionfruit leaves had better antioxidant activity, and half inhibition concentrations (IC<sub>50</sub>) of DPPH and hydroxyl radicals were 0.058 mg/mL and 0.144 mg/mL, respectively.

**Key words:** purple passionfruit leaves; response surface methodology; polyphenols; extraction; antioxidant activity

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2021)01-0211-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020030146

**引文格式:** 贺银菊, 张旋俊, 杨再波, 等. 响应面优化紫果西番莲叶多酚超声辅助提取工艺及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2021, 42(1): 211-216, 226.

HE Yin-ju, ZHANG Xuan-jun, YANG Zai-bo, et al. Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Polyphenols in the Purple Passionfruit Leaves by Response Surface Methodology and Its Antioxidant Activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(1): 211-216, 226. (in Chinese with English abstract) <http://www.spgykj.com>

西番莲 (Passionfruit) 又称百香果、鸡蛋果、巴西果, 是西番莲科多年木质藤本植物, 西番莲主要有黄果、紫果、紫红色果三个品种, 其果实气味芳香浓郁,

有“果汁之王”的美誉<sup>[1]</sup>。西番莲果实、种籽、果皮、茎、叶中均含有多种活性成分<sup>[2]</sup>, 具有抗氧化<sup>[3]</sup>、抗菌<sup>[4]</sup>、抗炎<sup>[5]</sup>、抗抑郁<sup>[6]</sup>、抗疲劳<sup>[7]</sup>、降血压<sup>[8]</sup>等生物

收稿日期: 2020-03-13

作者简介: 贺银菊 (1986-), 女, 硕士, 讲师, 主要从事天然产物的研究与开发方面的研究, E-mail: heyinju2007@163.com。

基金项目: 黔南州科技局计划项目 (黔南科合社字 (2016)41 号); 校级产学研基地 (Qnsyk201603, QNSYCXJYD2018005); 校级大学生科技创新创业训练项目 (QNSY2019DKC004)。

活性。研究发现,西番莲叶有抑菌、抗焦虑、保护神经等功效,其主要活性成分为三萜类、黄酮类、生物碱、酚类等物质<sup>[2]</sup>。在南美洲及欧洲的民间,西番莲叶被当作药物,用于治疗神经紧张、偏头痛、酒精中毒等疾病<sup>[9]</sup>。目前国内对西番莲的研究主要集中在果实中果汁、果皮及种子中的化学物质<sup>[10]</sup>,对西番莲叶的应用研究较少。

植物多酚具有抗菌<sup>[11]</sup>、抗病毒<sup>[12]</sup>、抗氧化<sup>[13]</sup>、降血脂<sup>[14]</sup>、抗肿瘤<sup>[15]</sup>、抗癌<sup>[16]</sup>及增强免疫力<sup>[17]</sup>等多种药理活性,其分离提取工艺研究备受关注。传统的提取多酚方法有煎煮法<sup>[18]</sup>、渗漉法<sup>[19]</sup>、有机溶剂法<sup>[20]</sup>等,近年来借助微波辅助<sup>[21]</sup>、超声辅助<sup>[22]</sup>、酶辅助<sup>[23]</sup>及超临界流体萃取<sup>[24]</sup>等方法提取多酚的应用越来越多,其中超声辅助法是利用超声波产生的空化效应和搅拌作用,破坏植物细胞,使溶剂渗透到植物细胞中去,可缩短提取时间、提高提取率。

查询文献发现目前国内外对西番莲叶中活性成分提取的报道较少,主要报道了其黄酮的提取及抗氧化活性<sup>[25]</sup>,对西番莲叶中多酚提取的文献未见报道。为研究西番莲叶中多酚提取量,本文以紫果西番莲叶为对象,借助超声辅助法优化其多酚的提取工艺,在单因素实验结果基础上通过 Box-Behnken 设计-响应面考察液料比、提取时间、超声功率和超声温度对紫果西番莲叶多酚提取量的影响,采用酒石酸亚铁法测定其多酚提取量,并以清除 DPPH 自由基和·OH 能力评价其抗氧化活性,期望为进一步开发紫果西番莲的附加价值提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

紫果西番莲叶 紫果西番莲采于贵州省平塘县塘边镇新街村,洗净烘干,粉碎机打碎后过 60 目筛备用;没食子酸标准品(>98%) 合肥博美生物科技有限公司;DPPH(>99%)、邻二氮菲(>99%) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;维生素 C(AR)、酒石酸亚铁(AR) 天津福晨化学试剂有限公司;硫酸亚铁(AR) 西陇化工化学试剂;磷酸氢二钠(AR)、磷酸二氢钾(AR)、无水乙醇(AR) 重庆川东化工。

粉碎机 浙江金华武义屹立仪器公司;DZ-2A 型真空干燥箱、SHZ-D 型循环水真空泵 郑州英峪予华仪器有限公司;TP-A200 型电子天平 上海诺萱科学仪器有限公司;FA2204 型电子天平 上海舜宇恒平科学仪器有限公司;KQ-500DE 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;UV-1800 型双光束紫外可见分光光度计 上海美析仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 紫果西番莲叶多酚提取 称取 1.0 g 紫果西番莲叶粉末于锥形瓶中,以 95% 乙醇溶液为提取溶剂,按照一定液料比、提取时间、超声功率和超声温度进行提取,提取完成后滤液转入 50 mL 容量瓶定容,得样品溶液,备用。

1.2.2 紫果西番莲叶多酚的测定

1.2.2.1 没食子酸标准曲线的建立 没食子酸标准

溶液:称取没食子酸标准品 100 mg,加蒸馏水溶解后转入 100 mL 容量瓶定容,得 1.0 mg/mL 没食子酸标准溶液备用。酒石酸亚铁溶液、pH = 7.5 的缓冲溶液按照 GB/T 21733-2008 配制<sup>[26]</sup>。

采用酒石酸亚铁法:分别移取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 的 1.0 mg/mL 没食子酸标准溶液,置于 10 mL 容量瓶中,补水至 1 mL,加入酒石酸亚铁溶液 3.0 mL,摇匀后以 pH 为 7.5 的磷酸盐缓冲溶液定容混匀,在 540 nm 处测定其吸光度。以浓度 C(μg/mL)为横坐标、吸光度值 A 为纵坐标绘制标准曲线,得线性回归方程: $y = 0.01243x + 0.02677$ ,  $R^2 = 0.99989$ 。结果表明:在浓度为 10~50 μg/mL 范围内吸光度与浓度呈良好的线性关系。

1.2.2.2 紫果西番莲叶多酚提取 按照 1.2.1 中紫果西番莲叶多酚提取的方法,将样品溶液稀释 50 倍后即得待测液,取 1 mL 待测液于 10 mL 容量瓶中,按照 1.2.1 的方法测定待测液浓度,按照下式计算紫果西番莲叶多酚提取量(Y):

$$Y(\text{mg/g}) = C \times V \times N / m \times 10^{-3}$$

式中:C 为待测液浓度,μg/mL;V 为样品溶液的体积,mL;N 为总稀释倍数;m 为紫果西番莲叶的质量,g。

1.2.3 单因素实验 按照 1.2.1 中的提取方法,试验基本条件定为:液料比 25:1 mL/g,提取时间 40 min,超声功率 300 W 和超声温度 60 ℃。单因素实验条件为液料比(5:1、15:1、25:1、35:1、45:1 mL/g)、提取时间(20、30、40、50、60 min)、超声功率(200、250、300、350、400 W)和超声温度(40、50、60、70、80 ℃),分别考察液料比、提取时间、超声功率和超声温度对紫果西番莲叶多酚提取的影响。

1.2.4 响应面优化设计试验 根据单因素实验的结果和 Box-Behnken 的中心组合设计试验因素和水平见表 1。根据响应面优化设计试验结果进行验证性试验,并计算多酚提取量。

表 1 响应面分析试验因素水平表

Table 1 Levels and factors table of response surface methodology

因素	水平		
	-1	0	1
A 液料比(mL/g)	30:1	35:1	40:1
B 提取时间(min)	40	50	60
C 超声功率(W)	300	350	400
D 超声温度(℃)	60	70	80

1.2.5 紫果西番莲叶多酚抗氧化活性测定

1.2.5.1 清除 DPPH 自由基活性 参照贺银菊等<sup>[27]</sup>方法:取 2.0 mL DPPH 溶液和 2.0 mL 不同浓度(浓度依次为 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.15、0.20 mg/mL)的样品溶液于 10 mL 比色管中,放置 30 min,以蒸馏水做参比,在 517 nm 处测定其吸光度为  $A_0$ ,按照同样的方法测定 2.0 mL 80% 乙醇溶液和不同浓度多酚样品液 2.0 mL 的吸光度为  $A_1$ ,2.0 mL 80% 乙醇溶液和 2.0 mL DPPH 溶液的吸光度为  $A_2$ 。以维生素 C 为

对照品, DPPH 自由基清除率计算公式:

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A_0 - A_1) / A_2] \times 100$$

1.2.5.2 清除·OH 活性 参照贺银菊等<sup>[27]</sup>方法:取 1.5 mL 5 mmol/L 的邻二氮菲溶液于 10 mL 比色管中,加 2.0 mL pH = 7.5 的磷酸盐缓冲液,再加 1.0 mL 7.5 mmol/L 的 FeSO<sub>4</sub> 溶液,蒸馏水定容,在 37 °C 的水浴保温 1 h,在 510 nm 处测定吸光度得 A<sub>0</sub>;取 1.5 mL 5 mmol/L 的邻二氮菲溶液于 10 mL 比色管中,加 2.0 mL pH = 7.5 的磷酸盐缓冲液,再加 1.0 mL 7.5 mmol/L 的 FeSO<sub>4</sub> 溶液,加入 1.0 mL 1.0 mL/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,蒸馏水定容,在 37 °C 的水浴保温 1 h,在 510 nm 处测定吸光度得 A<sub>1</sub>;取 1.5 mL 5 mmol/L 的邻二氮菲溶液于 10 mL 比色管中,加 2.0 mL pH = 7.5 的磷酸盐缓冲液,再加 1.0 mL 7.5 mmol/L 的 FeSO<sub>4</sub> 溶液,分别加入 0.1 mL 不同浓度(浓度依次为 0.05、0.10、0.15、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mg/mL) 的样品溶液,再加 1.0 mL 1.0 mL/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,蒸馏水定容,37 °C 水浴保温 1 h,在 510 nm 处测定吸光度得 A<sub>2</sub>。以维生素 C 为对照品,按下式计算·OH 清除率:

$$\text{清除率}(\%) = (A_0 - A_2) / (A_0 - A_1) \times 100$$

### 1.3 数据处理

单因素实验及抗氧化活性数据采用 Origin 8.0 软件分析;响应面优化试验采用 Design-Expert V8.0.6 软件分析结果及方差,并进行模型分析优化提取工艺。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验

2.1.1 液料比对紫果西番莲叶多酚提取量的影响 液料比对紫果西番莲叶中多酚提取量的影响见图 1。由图 1 可知,随着液料比的增加,紫果西番莲叶中多酚提取量升高;当液料比为 35:1 mL/g 时,紫果西番莲叶中多酚提取量最高,此时多酚提取量为 13.31 mg/g。这是因为当液料比较小时,溶液粘稠度高,不利于多酚在溶剂中的扩散,多酚溶出量少,随着液料比的增大,溶液粘稠度降低,多酚在溶剂中扩散快,多酚溶出量多,到达 35:1 mL/g 时,多酚已基本溶出。当液料比超过 35:1 mL/g,随着液料比的增大,紫果西番莲叶中多酚提取率反而下降,这是因为多酚已溶出完全,再增加溶剂用量杂质,杂质溶出增多抑制多酚溶出,多酚的浓度反而降低,因此较优液料比为 35:1 mL/g。

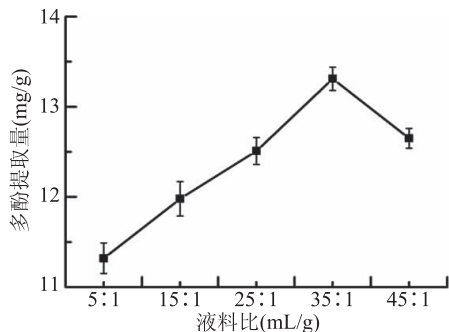


图 1 液料比对紫果西番莲叶多酚提取量的影响

Fig.1 Effect of solvent to material ratio on extraction amount of polyphenols from the purple passionfruit leaves

### 2.1.2 提取时间对紫果西番莲叶多酚提取量的影响

提取时间对紫果西番莲叶中多酚提取量的影响见图 2。由图 2 可知,随着提取时间的增加,紫果西番莲叶中多酚提取量升高;当提取时间为 50 min 时,紫果西番莲叶中多酚提取量最高,此时多酚提取量为 12.90 mg/g。这是因为随着时间的增加,多酚溶出量增加,提取时间为 50 min 时,多酚已基本溶出;再延长提取时间对提取量贡献不大,反而使多酚在机械波和热效应的影响下不稳定,被分解或氧化成其他物质<sup>[28]</sup>,使多酚提取量降低,因此较优提取时间为 50 min。

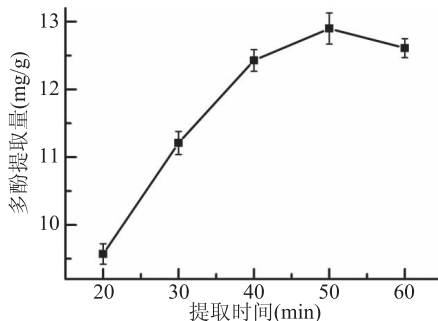


图 2 提取时间对紫果西番莲叶多酚提取量的影响

Fig.2 Effect of extraction time on extraction amount of polyphenols from the purple passionfruit leaves

### 2.1.3 超声功率对紫果西番莲叶多酚提取量的影响

超声功率对紫果西番莲叶中多酚提取量的影响见图 3。由图 3 可知,随着超声功率的增加,紫果西番莲叶中多酚提取量升高;当超声功率为 350 W 时,紫果西番莲叶中多酚提取量最高,此时多酚提取量为 12.84 mg/g。这是因为超声功率增强后,超声波的振荡增强,超声波破坏样品细胞壁后溶剂进入固体样品内部,多酚溶出量增加,当超声功率为 350 W 时,多酚已基本溶出,再增加超声功率紫果西番莲叶中多酚提取量反而降低,这是因为多酚结构被破坏,同时溶出的杂质也增多,使多酚提取量反而降低,因此较优超声功率为 350 W。

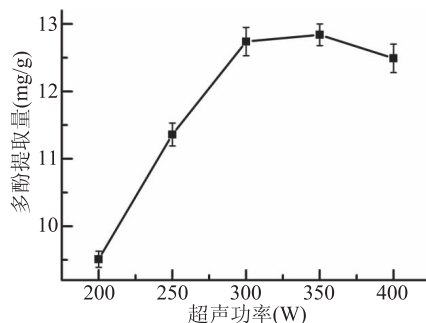


图 3 超声功率对紫果西番莲叶多酚提取量的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic power on extraction amount of polyphenols from the purple passionfruit leaves

### 2.1.4 超声温度对紫果西番莲叶多酚提取量的影响

超声温度对紫果西番莲叶中多酚提取量的影响见图 4。由图 4 可见,随着超声温度的升高,紫果西番莲叶中多酚提取量升高,当超声温度为 70 °C 时紫果西番莲叶中多酚提取量最高,此时多酚提取量为 13.11 mg/g。这是因为随着温度的升高,分子运动增强,液固接触机率增多,多酚溶出增加;当超声温度为 70 °C 时,多



酚已基本溶出,再升高超声温度,会因为温度过高,使溶剂易变为蒸汽,实际参与提取的溶剂量减少,同时温度过高导致多酚分解和氧化,因此多酚提取反而降低,因此较优超声温度为 70 ℃。

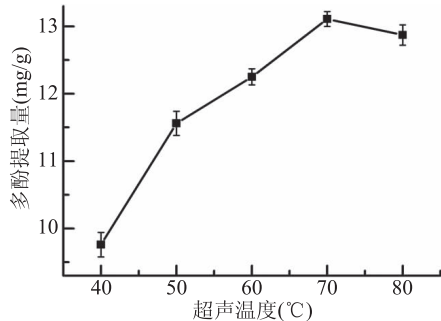


图4 超声温度对紫果西番莲叶多酚提取量的影响

Fig.4 Effect of temperature on extraction amount of polyphenols from the purple passionfruit leaves

## 2.2 响应面试验优化

2.2.1 响应面试验设计及结果 根据 Box-Behnken 的中心组合原理设计了 29 组试验,试验结果见表 2。用 Design-Expert V8.0.6 进行分析与拟合后,得紫果西番莲叶多酚提取量(Y)的回归方程:

$$Y(\text{mg/g}) = 13.11 + 0.47A + 1.10B + 0.15C + 0.058D - 0.20AB - 0.035AC - 0.13AD + 0.002500BC - 0.025BD + 0.000CD - 0.98A^2 - 1.26B^2 - 1.06C^2 - 1.08D^2$$

响应面分析模型的方差分析见表 3。由表 3 可知,模型的  $P$  值小于 0.0001,说明试验二次模型拟合度较高,可正确反映各提取因素与响应值之间的变化关系。模型的决定系数、校正决定系数分别为  $R^2 = 0.9896$  和  $R^2_{\text{adj}} = 0.9792$ ,变异系数  $CV = 1.50\%$  较小,失拟项  $P$  值为 0.7414 大于 0.05,说明模型拟合好、稳定、可靠。因素 A、B、C、 $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ 、 $D^2$  对紫果西番莲叶多酚提取量影响极显著( $P < 0.01$ ),交互项 AB 对紫果西番莲叶多酚提取量影响显著( $0.01 < P < 0.05$ ),因素 D 及交互项 AC、AD、BC、BD、CD 对紫果西番莲叶多酚提取量没有显著性影响( $P > 0.05$ )。由表 3 模型的方差分析可得出 4 个因素对紫果西番莲叶多酚提取量影响顺序为提取时间(B) > 液料比(A) > 超声功率(C) > 超声温度(D)。

两两因素交互作用响应面见图 5,由图 5 可知:各因素交互作用响应面开口均向下,说明响应面值均随每个因素增大而增大,达到峰值后又逐渐减小。响应面坡面越陡峭,则紫果西番莲叶多酚提取量受试验因素影响就越大,反之响应面坡面越平缓,紫果西番莲叶多酚提取量受试验因素影响就越小。图中响应面坡面陡峭顺序为  $AB > AD > AC > BD > BC > CD$ ,即液料比和提取时间交互作用响应面最陡峭,表明液料比和提取时间的交互作用对紫果西番莲叶多酚提取量影响显著,从等高线看液料比对多酚提取影响较大;而超声功率和超声温度交互作用响应面最平缓,表明超声功率和超声温度的交互作用对紫果西番莲叶多酚提取量影响不显著,从等高线看超声温度对多酚提取的影响较小。

2.2.2 响应面试验优化及验证试验 经 Design-

表 2 响应面设计试验结果  
Table 2 Arrangement and results of response surface methodology

试验号	A	B	C	D	Y:多酚提取量(mg/g)
1	0	-1	0	-1	9.59
2	1	0	0	-1	11.41
3	0	0	0	0	13.37
4	0	1	0	1	11.94
5	0	-1	0	1	9.69
6	0	0	1	1	11.13
7	1	0	-1	0	11.4
8	0	0	0	0	12.88
9	0	1	-1	0	11.79
10	-1	0	-1	0	10.23
11	-1	-1	0	0	9.31
12	0	0	1	-1	11.05
13	1	-1	0	0	10.32
14	1	1	0	0	12.06
15	0	-1	-1	0	9.54
16	0	0	0	0	12.95
17	0	-1	1	0	9.76
18	0	0	-1	-1	10.86
19	0	1	0	-1	11.84
20	-1	1	0	0	11.86
21	0	0	-1	1	10.94
22	0	1	1	0	12.02
23	-1	0	0	-1	10.24
24	-1	0	1	0	10.76
25	1	0	0	1	11.58
26	0	0	0	0	13.16
27	0	0	0	0	13.18
28	1	0	1	0	11.79
29	-1	0	0	1	10.71

Expert V8.0.6 软件模型分析,预测紫果西番莲叶多酚最佳提取工艺为:液料比 35.97:1 mL/g、提取时间 54.19 min、超声功率 353.31 W 和超声温度 70.10 ℃,此时理论多酚提取量为 13.3895 mg/g。根据实际操作设计紫果西番莲叶中多酚提取条件为:液料比 36:1 mL/g、提取时间 54 min、超声功率 350 W 和超声温度 70 ℃,按此工艺进行 3 次平行试验,测得紫果西番莲叶的平均多酚提取量为  $(13.19 \pm 0.17)$  mg/g,结果与预测的理论相近。表明模型拟合良好,参数准确可靠。

## 2.3 紫果西番莲叶多酚抗氧化活性

2.3.1 清除 DPPH 自由基活性 紫果西番莲叶多酚对 DPPH 自由基的清除活性如图 6 所示。由图 6 可知,紫果西番莲叶多酚具有一定的 DPPH 自由基清除能力。多酚对 DPPH 自由基清除率先随着样品浓度的增加而增大,浓度与活性呈现一定的量效关系,当浓度为 0.2 mg/mL 后,多酚对 DPPH 自由基清除率达 82.25%,但明显低于对照品维生素 C 的清除活性

表3 模型的方差分析  
Table 3 Analysis of variance of model

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	37.98	14	2.71	95.09	<0.0001	**
A	2.66	1	2.66	93.24	<0.0001	**
B	14.52	1	14.52	508.91	<0.0001	**
C	0.26	1	0.26	8.94	0.0097	**
D	0.041	1	0.041	1.43	0.2514	
AB	0.16	1	0.16	5.75	0.031	*
AC	4.90E-03	1	4.90E-03	0.17	0.6848	
AD	0.063	1	0.063	2.19	0.161	
BC	2.50E-05	1	2.50E-05	8.76E-04	0.9768	
BD	2.50E-03	1	2.50E-03	0.088	0.7716	
CD	0	1	0	0	1	
A <sup>2</sup>	6.28	1	6.28	219.94	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	10.38	1	10.38	363.71	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	7.27	1	7.27	254.76	<0.0001	**
D <sup>2</sup>	7.6	1	7.6	266.32	<0.0001	**
残差	0.4	14	0.029			
失拟项	0.25	10	0.025	0.64	0.7414	
纯差	0.15	4	0.038			
总和	38.38	28				

注：\*\*表示差异极显著( $P < 0.01$ ), \*表示差异显著( $P < 0.05$ )。

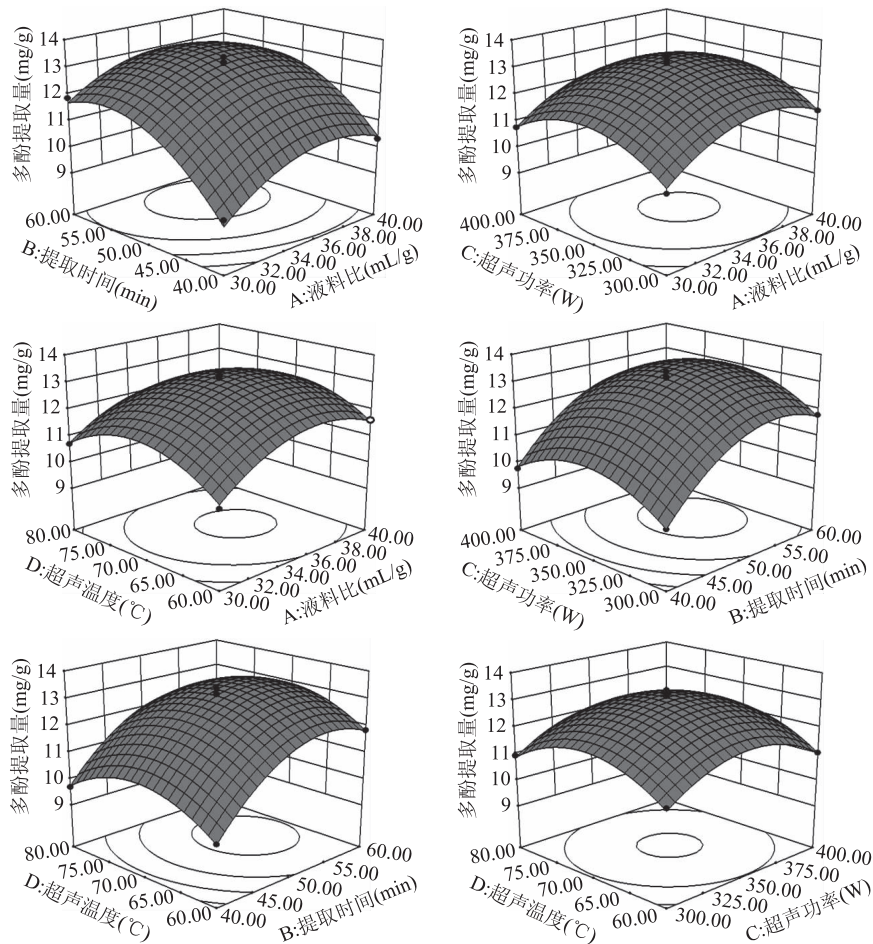


图5 各因素两两交互作用的对紫果西番莲叶多酚提取量的响应面  
Fig.5 Response surface of the effect interaction between two factors of the extraction amount of polyphenols from the purple passionfruit leaves

(95.41%)，经 Origin 8.0 软件拟合，紫果西番莲叶多酚对 DPPH 自由基的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 0.058 mg/mL，对照品维生素 C 的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 0.007 mg/mL。段宙位等<sup>[29]</sup>研究了沉香叶多酚类化合物清除 DPPH 自由基的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 0.106 mg/mL，表明紫果西番莲叶多酚有较好的清除 DPPH 自由基能力。

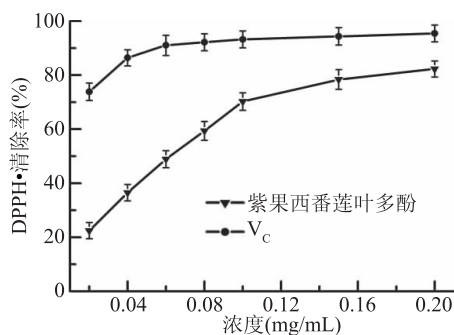


图6 紫果西番莲叶多酚对 DPPH 自由基清除作用

Fig.6 DPPH radicals scavenging activity of polyphenols from the purple passionfruit leaves

2.3.2 清除·OH 活性 紫果西番莲叶多酚对·OH 的清除活性如图7所示。由图可知，紫果西番莲叶多酚具有一定的·OH 的清除能力；多酚对·OH 清除率先随着样品浓度的增加而增大，浓度与活性呈现一定的量效关系，当浓度低于 0.8 mg/mL 时，多酚对·OH 清除率高于对照品维生素 C；当浓度为 0.8 mg/mL 时，多酚对·OH 清除率达 90.59%，与对照品维生素 C 的清除活性 (90.89%) 相当，经 Origin 8.0 软件拟合，紫果西番莲叶多酚对·OH 的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 0.144 mg/mL，对照品维生素 C 的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 0.282 mg/mL。李南薇等<sup>[30]</sup>研究了木瓜叶多酚清除·OH 的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 0.440 mg/mL，表明紫果西番莲叶多酚有较好的清除·OH 能力。

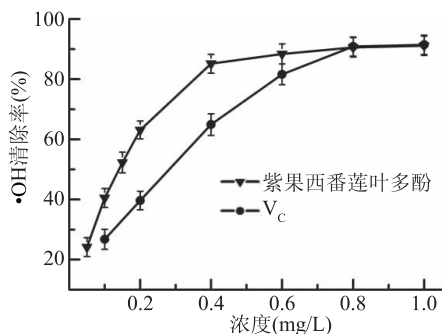


图7 紫果西番莲叶多酚对·OH 清除作用

Fig.7 Hydroxyl radicals scavenging activity of polyphenols from the purple passionfruit leaves

### 3 结论

采用超声辅助提取其多酚，在单因素实验的基础上结合响应面优化其提取工艺。结果表明：响应面分析的二次模型是极显著的，准确性较高，液料比 (A)、提取时间 (B)、超声功率 (C) 及超声温度 (D) 等 4 个因素对多酚提取量影响顺序为提取时间 (B) > 液料比 (A) > 超声功率 (C) > 超声温度 (D)，其多酚提取最佳工艺：液液料比 36:1 mL/g、提取时间

54 min、超声功率 350 W 和超声温度 70 °C，此时紫果西番莲叶多酚的提取量为 (13.19 ± 0.17) mg/g。并以清除 DPPH 自由基和·OH 能力评价了紫果西番莲叶多酚的抗氧化活性，其清除 DPPH 自由基、·OH 的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 分别为 0.058、0.144 mg/mL，表明紫果西番莲叶多酚具有较好抗氧化活性，可作为潜在的天然抗氧化剂的来源应用于食品、医药等领域。

### 参考文献

- [1] 刘坤, 刘炳仁. “果汁之王”: 百香果 [J]. 科学种养, 2007 (9): 53.
- [2] 梁倩, 李咏富, 龙明秀, 等. 百香果化学成分及药理活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2018, 39 (20): 343-347.
- [3] Viganó J, Aguiar A C, Moraes D R, et al. Sequential high pressure extractions applied to recover piceatannol and scirpusin B from passion fruit bagasse [J]. Food Research International, 2016, 85: 51-58.
- [4] Siebra A L A, Oliveira L R, Martins A O B P B, et al. Potentiation of antibiotic activity by *Passiflora cincinnata* Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2018, 25 (1): 37-43.
- [5] Saravanan S, Arunachalam K, Parimelazhagan T. Antioxidant, analgesic, anti-inflammatory and antipyretic effects of polyphenols from *Passiflora subpeltata* leaves - A promising species of *Passiflora* [J]. Industrial Crops and Products, 2014, 54: 272-280.
- [6] Wang C, Xu F Q, Shang J H, et al. Cycloartane triterpenoid saponins from water soluble of *Passiflora edulis* Sims and their antidepressant-like effects [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 148 (3): 812-817.
- [7] 农生斌, 梁华益, 黄明丽, 等. 百香果果汁对衰老小鼠负重游泳及抗疲劳的实验研究 [J]. 现代预防医学, 2017, 44 (7): 1281-1284.
- [8] Lewis B J, Herrlinger K A, Craig T A, et al. Antihypertensive effect of passion fruit peel extract and its major bioactive components following acute supplementation in spontaneously hypertensive rats [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2013, 24 (7): 1359-1366.
- [9] Li H W, Zhou P, Yang Q Q, et al. Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* 'edulis' and *Passiflora edulis* 'flavicarpa' [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 133 (3): 1085-1090.
- [10] 霍丹群, 蒋兰, 马璐璐, 等. 百香果功能研究及其开发进展 [J]. 食品工业科技, 2012, 33 (19): 391-395.
- [11] Smullen J, Koutsou G A, Foster H A, et al. The antibacterial activity of plant extracts containing polyphenols against *Streptococcus mutans* [J]. Caries Research, 2007, 41 (5): 342-349.
- [12] Yang Z F, Bai L P, Huang W B, et al. Comparison of *in vitro* antiviral activity of tea polyphenols against influenza A and B viruses and structure-activity relationship analysis [J]. Fitoterapia, 2014, 93: 47-53.
- [13] Lu Y R, Yeap Foo L. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*) [J]. Food Chemistry, 2001, 75 (2): 197-202.

(下转第 226 页)



1400-1405.

[12] Zhao B Y, Xu P, Yang F X, et al. Biocompatible deep eutectic solvents based on choline chloride: Characterization and application to the extraction of rutin from *Sophora japonica* [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2015, 3 (11): 2746-2755.

[13] Karimi M, Dadfarnia S, Shabani A M H, et al. Deep eutectic liquid organic salt as a new solvent for liquid-phase microextraction and its application in ligandless extraction and preconcentration of lead and cadmium in edible oils [J]. Talanta, 2015, 144: 648-654.

[14] Paradiso V M, Clemente A, Summo C, et al. Towards green analysis of virgin olive oil phenolic compounds: Extraction by a natural deep eutectic solvent and direct spectrophotometric detection [J]. Food Chemistry, 2016, 212: 43-47.

[15] Dai Y T, Van Spronsen J, Witkamp G J, et al. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology [J]. Analytica Chimica Acta, 2013, 766: 61-68.

[16] Francisco M, Van Den Bruinhorst A, Kroon M C. Low-temperature transition-temperature mixtures (LTTMs): A new generation of designer solvents [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2013, 52(11): 3074-3085.

[17] Mukhopadhyay S, Mukherjee S, Hayyan A, et al. Enhanced removal of lead from contaminated soil by polyol-based deep eutectic solvents and saponin [J]. Journal of Contaminant

Hydrology, 2016, 194: 17-23.

[18] Mukhopadhyay S, Mukherjee S, Adnan N F, et al. Ammonium-based deep eutectic solvents as novel soil washing agent for lead removal [J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 294: 316-322.

[19] Karimi M, Shabani A M H, Dadfarnia S. Deep eutectic solvent-mediated extraction for ligand-less preconcentration of lead and cadmium from environmental samples using magnetic nanoparticles [J]. Microchimica Acta, 2016, 183(2): 563-571.

[20] Aiomar M K, Alsaadi M A, Hayyan M, et al. Lead removal from water by choline chloride based deep eutectic solvents functionalized carbon nanotubes [J]. Journal of Molecular Liquids, 2016, 222: 883-894.

[21] Huang Y, Feng F, Chen Z G, et al. Green and efficient removal of cadmium from rice flour using natural deep eutectic solvents [J]. Food Chemistry, 2018, 244: 260-265.

[22] 刘江红, 薛健, 魏晓航. 表面活性剂淋洗修复土壤中重金属污染研究进展 [J]. 土壤通报, 2019, 50(1): 240-245.

[23] 陆开彤, 唐建军, 蒋德安. 藻类富集重金属的特点及其应用展望 [J]. 应用生态学报, 2006, 17(1): 118-122.

[24] 张婷婷, 骆其君, 陈娟娟, 等. 坛紫菜干品色差测定条件的优化研究 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(23): 213-220.

[25] 史修周. 坛紫菜品质测定条件的优化及新品系品质分析 [D]. 厦门: 集美大学, 2010.

[26] 宣仕芬, 朱煜康, 孙楠, 等. 不同采收期坛紫菜感官品质及蛋白组成分析 [J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 291-296.

(上接第 216 页)

[14] Bansode R R, Randolph P, Hurley S, et al. Evaluation of hypolipidemic effects of peanut skin-derived polyphenols in rats on Western-diet [J]. Food Chemistry, 2012, 135(3): 1659-1666.

[15] 伊娟娟, 王振宇, 曲航, 等. 植物多酚抗肿瘤活性及其机制研究进展 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(18): 391-395.

[16] Cao J H, Han J, Xiao H, et al. Effect of tea polyphenol compounds on anticancer drugs in terms of anti-tumor activity, toxicology, and pharmacokinetics [J]. Nutrients, 2016, 8(12): E762.

[17] 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.

[18] 刘海林, 马本驰, 王乾贵, 等. 不同煎煮时间对代代花等 10 种药用植物水提液的总多酚与总黄酮含量及其抗氧化活性的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(9): 161-165.

[19] 李因因, 曹芳, 丁红. 鹿衔草中总黄酮和总多酚提取工艺研究 [J]. 长治医学院学报, 2012, 26(6): 407-410.

[20] 包辰, 郑宝东. 有机溶剂法提取茶树菇多酚工艺的研究 [J]. 热带作物学报, 2012, 33(11): 2070-2074.

[21] 陈丛瑾, 蒋冬华, 胡华宇, 等. 马占相思树叶总多酚的微波提取工艺研究 [J]. 应用化工, 2008, 37(7): 780-783.

[22] 王晓阳, 唐琳, 赵垒. 响应面法优化刺槐花多酚的超声提

取工艺 [J]. 食品科学, 2011, 32(2): 66-70.

[23] 屈文秀, 刁小琴, 汪春玲, 等. 响应面优化酶法提取马铃薯皮渣中多酚的工艺 [J]. 保鲜与加工, 2018, 18(1): 59-63, 70.

[24] 关海宁, 刁小琴, 乔秀丽, 等. 响应面优化超临界 CO<sub>2</sub> 萃取玉米须多酚工艺及抗氧化性研究 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(6): 120-125.

[25] 邹江冰, 袁进, 蒋琳兰. 2 种西番莲叶中黄酮的抗氧化活性研究 [J]. 中国药房, 2010, 21(35): 3280-3282.

[26] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21733-2008: 茶饮料 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[27] 贺银菊, 杨再波, 彭莘媚, 等. 响应面优化紫果西番莲多糖提取工艺及抗氧化活性研究 [J]. 食品研究与开发, 2020, 41(4): 38-44.

[28] 林波, 郑凤锦, 任红, 等. 莲雾花多酚的超声波辅助提取工艺优化抗氧化活性分析 [J]. 西南农业学报, 2019, 32(6): 1353-1359.

[29] 段亩位, 谢辉, 窦志浩, 等. 酶辅助提取沉香叶多酚及其抗氧化性研究 [J]. 食品科技, 2016, 41(7): 197-202.

[30] 李南薇, 范媛媛, 莫凡. 木瓜叶多酚的提取及抗氧化活性研究 [J]. 食品工业, 2012, 33(6): 38-40.