

紫苏叶多酚超声辅助聚乙二醇提取工艺 优化及抗氧化活性研究

Optimization of ultrasonic-assisted extraction for polyphenols from perilla leaves by polyethylene glycol and its antioxidant activity

茹巧美 任国平 胡琼

RU Qiao-mei REN Guo-ping HU Qiong

(杭州万向职业技术学院康养旅游系, 浙江 杭州 310023)

(Department of Health and Agriculture, Hangzhou Wanxiang Polytechnic, Hangzhou, Zhejiang 310023, China)

摘要:以提取率为响应值,采用 Box-Behnken 响应面分析法优化紫苏叶多酚超声辅助聚乙二醇提取工艺,并研究其抗氧化活性。结果表明,紫苏叶多酚的最佳提取工艺条件为聚乙二醇浓度 68%、液料比($V_{\text{聚乙二醇}} : m_{\text{紫苏叶}}$) 46 : 1 (mL/g)、超声功率 157 W、超声时间 67 min。此条件下的提取率为 18.21 mg GAE/g · DW, 预测值为 18.38 mg GAE/g · DW, 模型准确率达 99.08%。抗氧化试验表明,紫苏叶多酚具有良好的抗氧化能力,且与多酚浓度呈剂量效应关系;其对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、DPPH $\cdot$ 和还原力的 IC_{50} 分别为 60.21, 73.44, 70.81, 37.52 $\mu\text{g/mL}$;但其抗氧化能力弱于抗坏血酸。

关键词:紫苏叶;多酚;聚乙二醇;超声波;抗氧化

Abstract: On the basis of single factor experiment, the concentration of polyethylene glycol, liquid/solid ratio, ultrasonic power and extraction time were optimized by Box-Behnken response surface analysis. Result: The results showed that the optimal extraction conditions were concentration of polyethylene glycol 68%, liquid/solid ratio 46 : 1 (mL/g), ultrasonic power 157 W and extraction time 67 min. Under these conditions, the yield of polyphenols from perilla leaves reached 18.38 mg GAE/g · DW, while the predicted value was 18.21 mg GAE/g · DW, and the accuracy of the model reached 99.08%. Polyphenols from perilla leaves exhibited good antioxidant activity in a concentration-dependent manner. The IC_{50} of polyphenols to hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), superoxide anion radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$), 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine radical (DPPH $\cdot$) and reducing power were 60.21, 73.44, 70.81 and 37.52 $\mu\text{g/mL}$, respectively. However, the

antioxidant activity of polyphenols extracted from perilla leaves was weaker than that of ascorbic acid (V_C).

Keywords: perilla leaves; polyphenols; polyethylene glycol; ultrasonic; antioxidant activity

紫苏 [*Perilla frutescens* (L.) Britt] 系唇形科一年生草本植物,广泛分布于东南亚国家,是中国卫生部颁布的第一批药食同源植物^[1]。紫苏叶具有抗过敏、抗炎、抗氧化、抗癌、抗菌、抗抑郁、止咳作用,主要归因于其高含量生物活性物质,特别是酚类、黄酮、三萜类、挥发性化合物等^[2]。

常见的多酚提取方法主要有超临界流体萃取^[3]、加压液相萃取^[4]、酶解法^[5]和溶剂浸提法^[6]等。溶剂浸提多酚是一种较为传统的操作,其中乙醇、丙酮、甲醇、异丙醇等是提取多酚的主要有机溶剂^[7]。近年来,亚临界水^[8]、 β -环糊精^[9]、深度共晶溶剂—甘油水溶液^[10]等多酚绿色提取剂已被开发。聚乙二醇是一种非挥发性且具有一定稳定性的有机溶剂,与水有良好的混溶性且成本低,是一种环境友好型溶剂,被广泛应用于双水相萃取以及浊点萃取等提取试验^[11]。试验拟以紫苏叶为原料,采用超声辅助聚乙二醇提取紫苏叶多酚并研究其抗氧化活性,旨在为紫苏叶多酚的绿色提取及工业化生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

紫苏叶:红叶紫苏,产地浙江湖州;

聚乙二醇-200(平均分子量为 200 的聚乙二醇)、没食子酸(GAE):分析纯,阿拉丁试剂(上海)有限公司;

其他试剂均为国产分析纯。

1.1.2 主要仪器设备

超声波清洗器:KH5200DB 型,昆山禾创超声仪器有

基金项目:浙江省科技厅公益项目(编号:2016C32001);杭州市农业科研攻关专项(编号:20191203B31)

作者简介:茹巧美(1982—),女,杭州万向职业技术学院副教授,博士后。E-mail:1483091098@qq.com

收稿日期:2020-06-28

限公司;

电热恒温鼓风干燥箱:DHG-9240A型,上海精宏实验设备有限公司;

电子天平:BSA224S型,赛多利斯科学仪器有限公司;

台式高速冷冻离心机:TGL-16M型,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;

旋转蒸发器:R502B型,上海申生科技有限公司;

紫外—可见分光光度计:UV-5800PC型,上海元析仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 原料预处理 将新鲜无虫害紫苏叶洗净,自然风干后磨粉过200目筛,装袋密封后于4℃冰箱中备用。

1.2.2 紫苏叶多酚提取工艺 取适量紫苏叶粉,与聚乙二醇混合均匀,在不同条件下进行超声波辅助(超声频率40 kHz)提取,迅速冷却至室温,11 000 r/min离心20 min,收集上清液,测定多酚含量。

1.2.3 单因素试验

(1) 聚乙二醇浓度:固定液料比($V_{\text{聚乙二醇}} : m_{\text{紫苏叶}}$)30 : 1 (mL/g),超声功率140 W,超声时间40 min,考察聚乙二醇浓度(50%,60%,70%,80%,90%)对多酚提取率的影响。

(2) 液料比:固定聚乙二醇浓度70%,超声功率140 W,超声时间40 min,考察液料比[$V_{\text{聚乙二醇}} : m_{\text{紫苏叶}}$ 为10 : 1,20 : 1,30 : 1,40 : 1,50 : 1 (mL/g)]对多酚提取率的影响。

(3) 超声功率:固定聚乙二醇浓度70%,液料比($V_{\text{聚乙二醇}} : m_{\text{紫苏叶}}$)30 : 1 (mL/g),超声时间40 min,考察超声功率(100,120,140,160,180,200 W)对多酚提取率的影响。

(4) 超声时间:固定聚乙二醇浓度70%,液料比($V_{\text{聚乙二醇}} : m_{\text{紫苏叶}}$)30 : 1 (mL/g),超声功率140 W,考察提取时间(20,30,40,50,60 min)对多酚提取率的影响。

1.2.4 响应面试验 基于单因素试验结果,根据Box-Behnken中心原理,以聚乙二醇浓度、液料比、超声功率和超声时间为自变量,多酚提取率为响应值设计响应面分析试验。

1.2.5 多酚含量的测定 采用Folin-Ciocalteu法^[12]。

1.2.6 抗氧化活性测定

(1) ·OH清除率:参照Shen等^[13]的方法稍作改动。分别取1.0 mL水杨酸(6 mmol/L)、0.5 mL FeSO₄ (17.5 mmol/L)于比色管中,加入1.0 mL不同质量浓度的紫苏叶多酚溶液,再加入0.5 mL H₂O₂ (8.8 mmol/L)启动反应,37℃水浴30 min,测定532 nm处吸光度,以70%聚乙二醇代替样品溶液为空白组,以去离子水代替H₂O₂为对照组,按式(1)计算·OH清除率。

$$E = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

E ——自由基清除率,%;

A_0 ——空白组吸光度;

A_1 ——样品组吸光度;

A_2 ——对照组吸光度。

(2) O₂⁻·清除率:参照Lin等^[14]的方法略有改进。取3.0 mL Tris-HCl (50.0 mmol/L,pH 8.2)于比色管中,25℃水浴20 min,加入1.0 mL不同质量浓度的紫苏叶多酚溶液,再加入0.4 mL邻苯三酚(5.0 mmol/L)溶液摇匀,25℃水浴4 min,以0.1 mL HCl (8.0 mol/L)终止反应,测定320 nm处吸光度,同时以70%聚乙二醇溶液代替样品溶液为空白组,以去离子水代替邻苯三酚为对照组,按式(1)计算O₂⁻·清除率。

(3) DPPH·清除率:参照Pandey等^[15]的方法略作改动。取1.0 mL不同质量浓度的紫苏叶多酚溶液,加入3.0 mL DPPH (0.2 mmol/L)溶液摇匀,避光室温保存30 min,测定517 nm处吸光度,以70%聚乙二醇溶液作空白,按式(1)计算DPPH·清除率。

(4) 还原力:参照Rozi等^[16]的方法略作修改。取1 mL不同质量浓度的紫苏叶多酚溶液,加入2.5 mL磷酸缓冲液(0.2 mol/L,pH 6.6),2.5 mL铁氰化钾(1.0%),混匀,50℃水浴20 min,以2.5 mL 10%三氯乙酸终止反应。3 000 r/min离心10 min,取上清液5 mL,加入4 mL去离子水和1 mL 0.1%三氯化铁溶液,混匀,室温放置10 min,测定700 nm处吸光度。

1.3 数据处理

所有试验平行3次,采用Design-Expert 8.0.6软件进行试验设计与统计分析;采用SPSS 22.0、Origin 9.0软件进行数据处理与制图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 聚乙二醇浓度对紫苏叶多酚提取率的影响 由图1可知,多酚提取率随聚乙二醇浓度的增加先增大后降低,当聚乙二醇浓度为60%时多酚提取率最大,为17.92 mg GAE/g·DW。这可能是有一部分植物多酚以与蛋白质结合的形式存在,有机溶剂浓度过高会使蛋白质变性,不利于此部分多酚溶出^[17]。因此,确定聚乙二醇浓度为60%。

2.1.2 液料比对紫苏叶多酚提取率的影响 由图2可知,多酚提取率随液料比的增加先显著增加后略有下降,当液料比($V_{\text{聚乙二醇}} : m_{\text{紫苏叶}}$)为40 : 1 (mL/g)时多酚提取率最高,为17.55 mg GAE/g·DW。这主要是因为增加液料比,固液两相的接触面积增加,同时溶质与溶剂之间的浓度差增大,有利于多酚物质由原料向溶剂扩散,聚乙二醇中溶解的多酚也不断增多;而过多的提取剂导致其他杂质成分如半纤维素、叶绿素等的溶出量增多,影响多

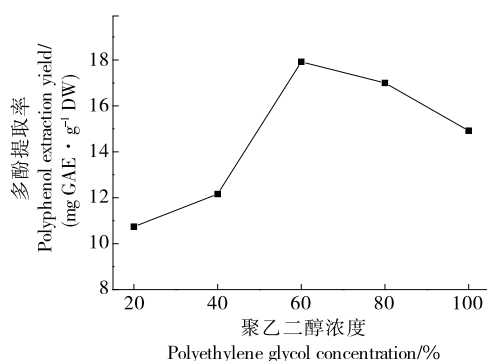


图 1 聚乙二醇浓度对紫苏叶多酚提取率的影响

Figure 1 The effect of polyethylene glycol concentration on the yield of polyphenols from perilla leaves

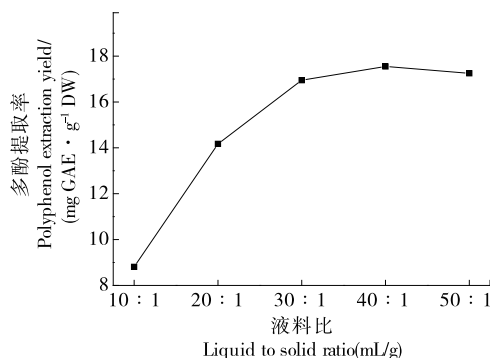


图 2 液料比对紫苏叶多酚提取率的影响

Figure 2 The effect of liquid to solid ratio on the yield of polyphenols from perilla leaves

酚物质的提取,同时增加热负荷以及提取时间,回收溶剂成本也有所增高^[18]。综合考虑,液料比($V_{\text{聚乙二醇}} : m_{\text{紫苏叶}}$)固定为 40 : 1 (mL/g)。

2.1.3 超声功率对紫苏叶多酚提取率的影响 由图 3 可知,多酚提取率随超声功率的增大先增大后明显下降,当超声功率为 140 W 时达最大值(17.16 mg CGE/g · DW)。这是由于超声波引起的空化效应随超声功率的增大而增强,同时提取液温度不断上升,溶液扩散速度加快,紫苏叶粉末颗粒膨胀,促使酚类物质渗透速率加快,聚乙二醇对多酚的溶解度逐渐增加,但超声功率过高,热效应显著,会导致酚类物质结构遭到破坏,部分多酚分解,提取率下降^[19]。因此超声功率宜选择 140 W。

2.1.4 超声时间对紫苏叶多酚提取率的影响 由图 4 可知,多酚提取率随超声时间的增加先增大后减少,当超声时间为 60 min 时提取率最高,达 17.68 mg GAE/g · DW。Kazemi 等^[20]表明,超声辅助提取过程中,较长的超声时间有助于细胞壁的进一步破坏和酚类物质的渗透,提取率增加。而超声时间过长,多酚会氧化为醌类物质或者分解,不利于多酚提取^[21]。因此,最佳超声时间为 60 min。

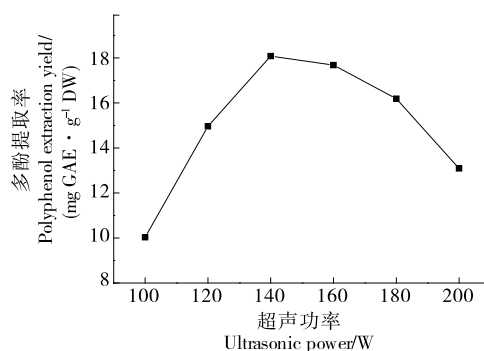


图 3 超声功率对紫苏叶多酚提取率的影响

Figure 3 The effect of ultrasonic power on the yield of polyphenols from perilla leaves

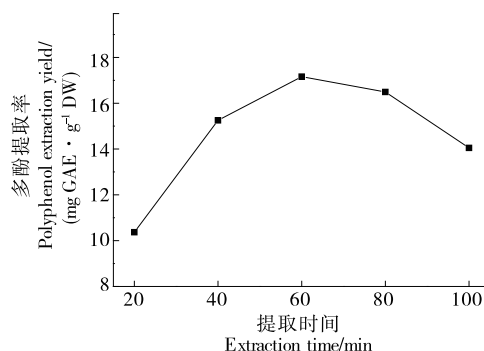


图 4 超声时间对紫苏叶多酚提取率的影响

Figure 4 The effect of extraction time on the yield of polyphenols from perilla leaves

2.2 紫苏叶多酚提取工艺参数优化

2.2.1 响应面实验设计与结果 在单因素试验的基础上,以聚乙二醇浓度、液料比、超声功率和超声时间为自变量,以多酚提取率为响应值进行四因素三水平响应面优化试验,因素水平表见表 1,试验设计与结果见表 2。

2.2.2 回归模型的建立与方差分析 通过 Design Expert 8.0.6 软件对表 2 进行多元回归拟合,得二次多项回归方程为:

$$Y = 17.65 + 1.04X_1 + 0.39X_2 + 0.92X_3 + 0.028X_4 + 0.55X_1X_2 + 1.44X_1X_3 - 0.20X_1X_4 + 0.66X_2X_3 + 0.33X_2X_4 + 0.58X_3X_4 - 3.06X_1^2 - 1.09X_2^2 - 1.24X_3^2 - 0.86X_4^2 \quad (2)$$

表 1 响应面实验因素水平表

Table 1 Factors and levels used in RSM optimization

水平	X ₁ 聚乙二醇 浓度/%	X ₂ 液料比 (mL/g)	X ₃ 超声功 率/W	X ₄ 超声时 间/min
-1	40	30 : 1	120	40
0	60	40 : 1	140	60
1	80	50 : 1	160	80

表 2 Box-Behnken 试验设计与结果
Table 2 Response surface arrangement and experimental results

试验号	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	多酚提取率/ (mg GAE · g ⁻¹ DW)
1	0	1	0	1	15.42
2	0	0	0	0	18.02
3	-1	0	0	1	13.58
4	1	-1	0	0	13.82
5	0	0	1	-1	16.61
6	0	0	-1	1	13.94
7	0	0	0	0	17.29
8	0	-1	-1	0	14.99
9	-1	0	0	-1	12.43
10	-1	0	-1	0	12.36
11	0	1	0	-1	15.01
12	-1	-1	0	0	12.49
13	1	0	0	-1	14.62
14	1	0	-1	0	11.53
15	0	-1	0	-1	15.73
16	0	0	0	0	18.07
17	0	0	1	1	17.44
18	0	0	0	0	17.45
19	1	0	1	0	16.32
20	0	0	-1	-1	15.42
21	0	0	0	0	17.43
22	-1	0	1	0	11.39
23	1	0	0	1	14.97
24	1	1	0	0	16.21
25	0	1	-1	0	14.75
26	-1	1	0	0	12.69
27	0	-1	1	0	14.90
28	0	-1	0	1	14.81
29	0	1	1	0	17.31

由表 3 可知,回归模型的 F 值为 17.90, $P<0.000\ 1$, 决定系数 $R^2=0.947\ 1$,校正决定系数 $R^2_{Adj}=0.894\ 2$,且模型残差值低,失拟项不显著,说明模型的拟合程度良好,且与实际情况相符。一次项 X_1 、 X_3 达到了极显著水平($P<0.01$),而 X_2 和 X_4 不显著($P>0.05$),说明聚乙二醇浓度和超声功率对紫苏叶多酚提取率有极显著影响;除 X_1X_3 之间的交互作用极显著外($P<0.01$),其余因素间的交互作用不显著($P>0.05$),说明因素间交互作用对紫苏叶多酚提取率的影响较小;二项式 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2 的 P 值 <0.01 ,对响应目标值均有极显著影响。

2.2.3 两因素间交互作用 由图 5 可知,多酚提取率随聚乙二醇浓度、液料比、超声功率和超声时间的增加呈先

表 3 回归模型方差分析[†]
Table 3 Variances analysis of the fitted regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	102.86	14	7.35	17.90	$<0.000\ 1$	* *
X ₁	13.08	1	13.08	31.88	$<0.000\ 1$	* *
X ₂	1.80	1	1.80	4.39	0.054 8	
X ₃	10.05	1	10.05	24.48	0.000 2	* *
X ₄	9.63E-03	1	9.63E-03	0.02	0.880 4	
X ₁ X ₂	1.20	1	1.20	2.92	0.109 5	
X ₁ X ₃	8.29	1	8.29	20.21	0.000 5	* *
X ₁ X ₄	0.16	1	0.16	0.39	0.542 4	
X ₂ X ₃	1.76	1	1.76	4.28	0.057 6	
X ₂ X ₄	0.44	1	0.44	1.08	0.316 9	
X ₃ X ₄	1.33	1	1.33	3.25	0.093 0	
X ₁ ²	60.56	1	60.56	147.56	$<0.000\ 1$	* *
X ₂ ²	7.71	1	7.71	18.80	0.000 7	* *
X ₃ ²	9.92	1	9.92	24.18	0.000 2	* *
X ₄ ²	4.79	1	4.79	11.67	0.004 2	* *
残差	5.75	14	0.41			
失拟项	5.21	10	0.52	3.93	0.099 8	
纯误差	0.53	4	0.13			
总差	108.60	28				

[†] * * 表示差异极显著($P<0.01$), * 表示差异显著($P<0.05$); $R^2=0.947\ 1$, $R^2_{Adj}=0.894\ 2$ 。

增大后减小的趋势。其中,聚乙二醇浓度和超声功率对响应值的影响大,表现曲面较陡,聚乙二醇浓度对多酚提取率的曲线更陡峭,说明聚乙二醇浓度影响更大;而液料比和超声时间的曲面相对较平缓,说明对多酚提取率影响较小。聚乙二醇浓度与超声功率的交互作用显著,但其余各因素间的交互作用不显著,与表 3 结果相符,说明该模型可以较好地描述聚乙二醇浓度、液料比、超声功率和超声时间 4 个因素对紫苏叶多酚提取率的影响。

2.2.4 最佳工艺条件预测与验证实验 由 Design Expert 8.0.6 软件预测紫苏叶多酚的最佳提取条件为:聚乙二醇浓度 68.31%、液料比($V_{\text{聚乙二醇}}:m_{\text{紫苏叶}}$)46.00:1 (mL/g)、超声功率157.18 W、超声时间 67.45 min。考虑实际条件的可操作性,将最佳提取工艺调整为:聚乙二醇浓度 68%、液料比($V_{\text{聚乙二醇}}:m_{\text{紫苏叶}}$)46:1 (mL/g)、超声功率 157 ℃、超声时间 67 min。在此条件下进行 3 次验证实验,所得紫苏叶多酚提取率为 18.21 mg GAE/g · DW,与预测值 18.38 mg GAE/g · DW 接近,说明该模型对紫苏叶多酚提取工艺条件参数优化可靠,具有较好的应用价值。此外,聚乙二醇—超声辅助提取的紫苏叶多酚得率略高于乙醇—微波辅助提取的(15.744 mg/g · DW)^[22]。

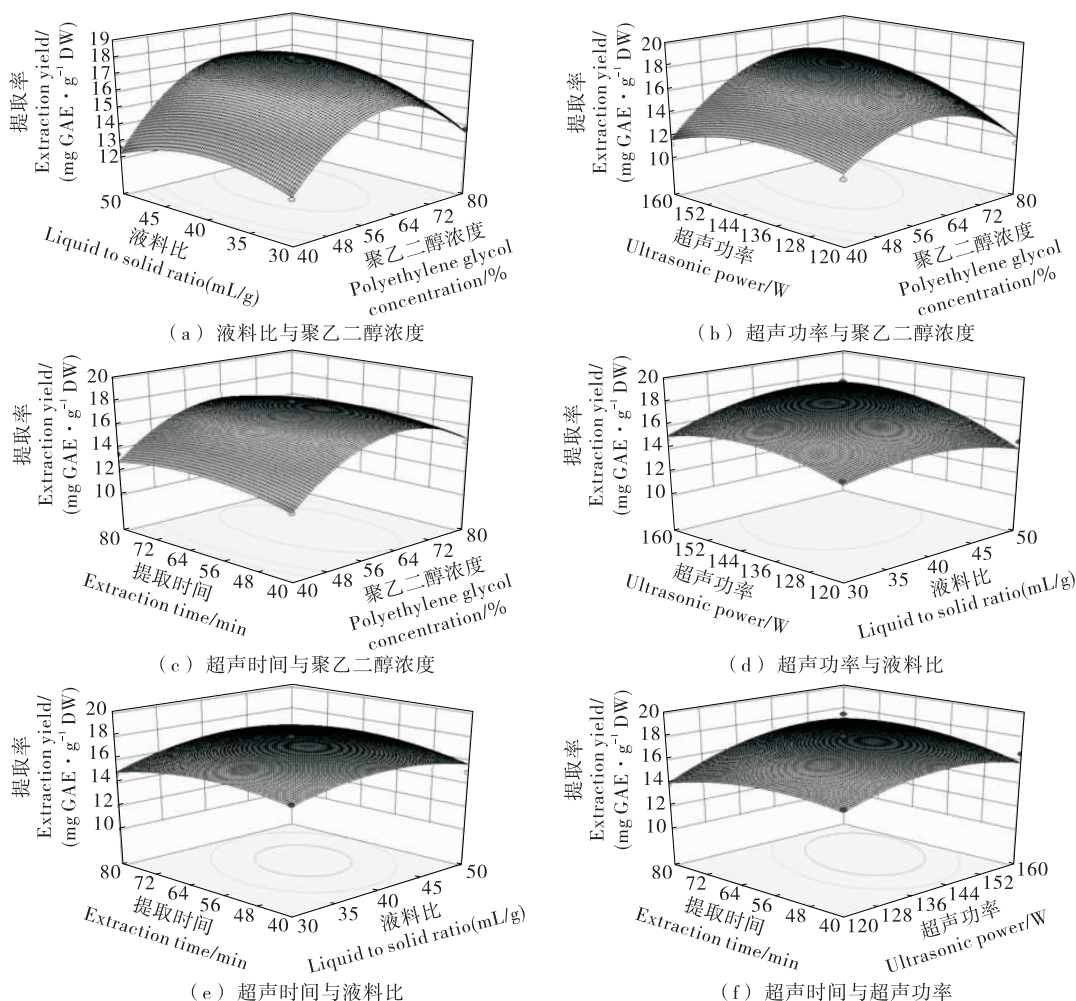


图 5 各因素交互作用对紫苏叶多酚提取率的影响

Figure 5 Response surface plots and contour plots for the effect of extraction parameters on the polyphenols extraction from perilla leaves

2.3 紫苏叶多酚的抗氧化活性

2.3.1 $\cdot\text{OH}$ 清除能力 由图 6 可知,当质量浓度为 $10\sim 100\ \mu\text{g/mL}$ 时,紫苏叶多酚对 $\cdot\text{OH}$ 有明显的清除能力,且清除活性随多酚质量浓度的增加而增强。当质量浓度 $\leq 20\ \mu\text{g/mL}$ 时,紫苏叶多酚和维生素 C 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率没有显著差异;当质量浓度 $\geq 40\ \mu\text{g/mL}$ 时,紫苏叶多酚对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率低于同质量浓度维生素 C。紫苏叶多酚对 $\cdot\text{OH}$ 的最大清除率为 81.69% ,低于维生素 C 的 (96.21%) ,且紫苏叶多酚和维生素 C 对 $\cdot\text{OH}$ 清除率的 IC_{50} 分别为 $62.62, 50.84\ \mu\text{g/mL}$,说明紫苏叶多酚具有较好的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力。

2.3.2 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除能力 由图 7 可知,紫苏叶多酚具有良好的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除能力,且随紫苏叶多酚质量浓度的增加而提高,呈一定量效关系。当质量浓度 $\leq 20\ \mu\text{g/mL}$ 时,紫苏叶多酚和维生素 C 对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除率没有显著差异;当质量浓度 $\geq 40\ \mu\text{g/mL}$ 时,紫苏叶多酚对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除率

低于同质量浓度的维生素 C;当质量浓度为 $100\ \mu\text{g/mL}$ 时,紫苏叶多酚对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除率为 75.60% ,是同质量浓度维生素 C (99.21%) 的 76.20% ;紫苏叶多酚和维生素 C

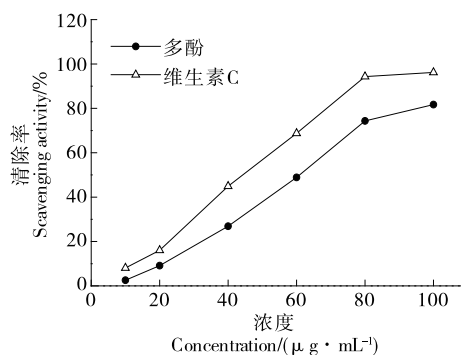
图 6 紫苏叶多酚对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力

Figure 6 Scavenging activity on hydroxyl radicals of polyphenols extracted from perilla leaves

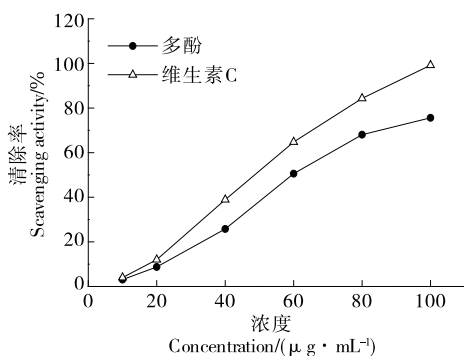
图7 紫苏叶多酚对 O_2^- 的清除能力

Figure 7 Scavenging activity on superoxide radicals of polyphenols extracted from perilla leaves

对 O_2^- 清除率的 IC_{50} 分别为 65.76, 48.74 $\mu\text{g/mL}$, 表明紫苏叶多酚具有良好的 O_2^- 清除活性。

2.3.3 DPPH· 清除能力 由图8可知, 当质量浓度为 10~100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 紫苏叶多酚对 DPPH· 的清除率随质量浓度的增加而增加; 当质量浓度 $\leq 40 \mu\text{g/mL}$ 时, 紫苏叶多酚和维生素C对 DPPH· 的清除率没有显著差异; 当质量浓度 $\geq 60 \mu\text{g/mL}$ 时, 紫苏叶多酚对 DPPH· 的清除率低于同质量浓度维生素C; 当质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 紫苏叶多酚和维生素C对 DPPH· 的清除率分别为 82.26%, 98.87%, IC_{50} 分别为 53.44, 49.51 $\mu\text{g/mL}$, 表明紫苏叶多酚具有较强的 DPPH· 清除能力。

2.3.4 还原能力 由图9可知, 当质量浓度为 10~100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 多酚对铁离子的还原力随质量浓度的增大呈上升趋势; 当质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 紫苏叶多酚还原力为维生素C的 72.53%。紫苏叶多酚和维生素C对还原力的 IC_{50} 分别为 32.57, 13.71 $\mu\text{g/mL}$, 表明紫苏叶多酚具有较好的还原力。

3 结论

试验表明, 超声辅助聚乙二醇提取紫苏叶多酚的最佳工艺为聚乙二醇浓度 68%、液料比 ($V_{\text{聚乙二醇}} : m_{\text{紫苏叶}}$)

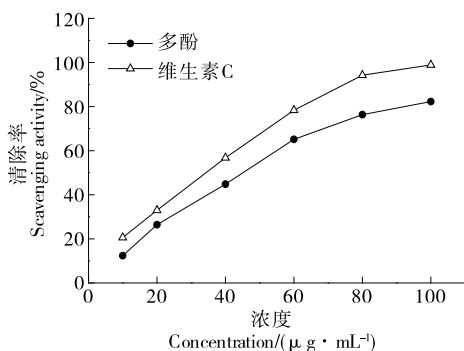


图8 紫苏叶多酚对 DPPH· 的清除能力

Figure 8 Scavenging activity on DPPH radicals of polyphenols extracted from perilla leaves

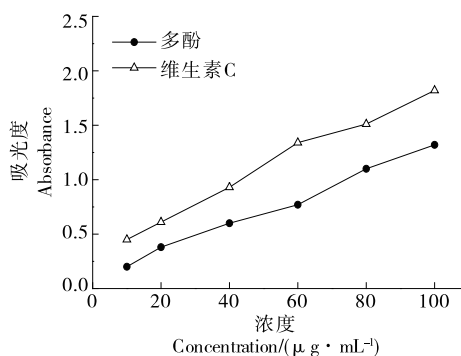


图9 紫苏叶多酚的还原能力

Figure 9 Ferric red ucing power of polyphenols extracted from perilla leaves

46 : 1 (mL/g)、超声功率 157 W、超声时间 67 min, 此条件下多酚提取率为 18.21 mg GAE/g · DW。抗氧化试验表明, 紫苏叶多酚具有较好的抗氧化性能, 量效关系明显, 说明紫苏叶多酚可开发为食品、化妆品、药品等行业的天然抗氧化物。后续需利用大孔吸附树脂和色谱等方法进行分离纯化、结构鉴定及活性评价。

参考文献

- [1] 卫生部公布药食同源物品可用于保健食品物品名单[J]. 中医药学刊, 2002(2): 176.
- [2] YU Hua, QIU Jian-feng, MA Li-juan, et al. Phytochemical and phytopharmacological review of *Perilla frutescens* L. (Labiatae), a traditional edible-medicinal herb in China[J]. Food and Chemical Toxicology, 2017, 108: 375-391.
- [3] ESCOBEDO-FLORES Y, CHAVEZ-FLORES D, SALMERON I, et al. Optimization of supercritical fluid extraction of polyphenols from oats (*Avena sativa* L.) and their antioxidant activities[J]. Journal of Cereal Science, 2018, 80: 198-204.
- [4] PUTNIK P, BARBA F J, ŠPANIC I, et al. Green extraction approach for the recovery of polyphenols from Croatian olive leaves (*Olea europea*) [J]. Food and Bioproducts Processing, 2017, 106: 19-28.
- [5] ZHU Zhen-zhou, LI Shu-yi, HE Jing-ren, et al. Enzyme-assisted extraction of polyphenol from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot: Ultra-filtration performance and HPLC-MS² profile[J]. Food Research International, 2018, 111: 291-298.
- [6] 李墨, 李宏强, 陈国刚, 等. 溶剂类型对葡萄籽多酚提取及抗氧化活性的影响[J]. 食品工业, 2016, 37(12): 122-127.
- [7] DZAH C S, DUAN Y, ZHANG H, et al. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review[J]. Food Bioscience, 2020, 35: 100547.
- [8] YAN Zheng, LUO Xiao-ping, CONG Jing-li, et al. Subcritical water extraction, identification and antiproliferation

- ability on HepG2 of polyphenols from lotus seed epicarp[J]. Industrial Crops and Products, 2019, 129: 472-479.
- [9] BINELLO A, CRAVOTTO G, BOFFA L, et al. Efficient and selective green extraction of polyphenols from lemon balm[J]. Comptes Rendus Chimie, 2017, 20(9): 921-926.
- [10] EL KANTAR S, RAJHA H N, BOUSSETTA N, et al. Green extraction of polyphenols from grapefruit peels using high voltage electrical discharges, deep eutectic solvents and aqueous glycerol[J]. Food Chemistry, 2019, 295: 165-171.
- [11] HUANG Hao, XU Qin, BELWAL T, et al. Ultrasonic impact on viscosity and extraction efficiency of polyethylene glycol: A greener approach for anthocyanins recovery from purple sweet potato[J]. Food Chemistry, 2019, 283: 59-67.
- [12] AHMED H M, TAVASZI-SAROSI S. Identification and quantification of essential oil content and composition, total polyphenols and antioxidant capacity of *Perilla frutescens* (L.) Britt[J]. Food Chemistry, 2019, 275: 730-738.
- [13] SHEN Ying-bin, ZHANG Hui, CHENG Li-ling, et al. In vitro and in vivo antioxidant activity of polyphenols extracted from black highland barley[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 1 003-1 012.
- [14] LIM S, CHOI A H, KWON M, et al. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components[J]. Food Chemistry, 2019, 278: 178-184.
- [15] PANDEY A, BELWAL T, SEKAR K C, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction (UAE) of phenolics and antioxidant compounds from rhizomes of *Rheum moorcroftianum* using response surface methodology (RSM)[J]. Industrial Crops and Products, 2018, 119: 218-225.
- [16] ROZI P, ABUDUWAILI A, MUTAILIFU P, et al. Sequential extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Fritillaria pallidiflora* Schrenk[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 131: 97-106.
- [17] 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.
- [18] 张雪春, 刘江, 吴鑫, 等. 响应面法优化提取文冠果壳中多酚类物质及其体外抗氧化能力分析[J]. 中国油脂, 2018, 43(5): 117-122.
- [19] FANG Xin-sheng, WANG Jian-hua, WANG Ying-zi, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of wedelolactone and antioxidant polyphenols from *Eclipta prostrata* L using response surface methodology[J]. Separation and Purification Technology, 2014, 138: 55-64.
- [20] KAZEMI M, KARIM R, MIRHOSSEINI H, et al. Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids[J]. Food Chemistry, 2016, 206: 156-166.
- [21] 盛亚男, 王长远, 张舒, 等. 绿豆多酚提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(10): 193-196.
- [22] 王根女, 苏平, 黄恺婷, 等. 响应面法优化微波提取紫苏叶多酚物质[J]. 中国食品学报, 2009, 9(5): 87-92.

(上接第 135 页)

- [8] 林虬, 黄薇, 宋永康, 等. 棉籽蛋白水解物水解度 3 种测定方法的比较[J]. 福建农业学报, 2011, 26(6): 1 076-1 080.
- [9] TAI A, IOMORI A, ITO H. Structural evidence for the DP-PH radical-scavenging mechanism of 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2017, 25(20): 5 303-5 310.
- [10] ZHANG Yu-feng, DUAN Xiu, ZHUANG Yong-liang. Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin[J]. Peptides, 2012, 38(1): 13-21.
- [11] LI Xi-can. Improved pyrogallol autoxidation method: A reliable and cheap superoxide-scavenging assay suitable for all antioxidants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(25): 6 418-6 424.
- [12] GU Feng-lin, ABBAS S, ZHANG Xiao-ming. Optimization of Maillard reaction products from casein-glucose using response surface methodology[J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(8): 1 374-1 379.
- [13] 于慧, 刘海梅, 李蒙娜, 等. 响应面法优化龙须菜蛋白酶解工艺及酶解液的抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2017, 38(12): 157-163.
- [14] 甄润英, 李晓雁, 高巍. 鲶鱼骨酶解物的抗氧化活性研究[J]. 天津农学院学报, 2011, 18(4): 13-15, 19.
- [15] MOURE A, DOMÍNGUEZ H, PARAJÓ J C. Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates[J]. Process Biochemistry, 2006, 41(2): 447-456.
- [16] GHRIBI A M, SILA A, PRZYBYLSKI R, et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein concentrate[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 516-525.
- [17] 郑志强, 李宝林, 郝利民, 等. 不同蛋白酶对小麦蛋白酶解物抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(7): 161-166.
- [18] 刘倩霞, 刘东, 张俊, 等. 2 种蛋白酶酶解曲拉干酪素条件优化及抗氧化性比较[J]. 食品科学, 2019, 40(8): 225-234.