

响应面法优化香水莲花多酚的提取工艺及其抗氧化活性

周琦¹, 曾莹¹, 祝遵凌^{1,2,3}

(1. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 江苏南京 210037)

(2. 南京林业大学风景园林学院, 江苏南京 210037) (3. 南京林业大学艺术设计学院, 江苏南京 210037)

摘要: 为了研究香水莲花多酚提取工艺的最佳条件及其抗氧化能力, 本文采用响应面分析法优化香水莲花多酚的提取工艺, 以香水莲花多酚提取率为指标, 对浸提温度、液料比、浸提时间以及乙醇浓度进行了单因素试验, 并根据 Box-Behnken 试验原理, 进行四因素三水平的响应面法优化; 同时, 以香水莲花多酚清除 DPPH 自由基、ABTS 自由基, 及 FRAP 还原力为指标, 来评价其抗氧化性。研究表明: 香水莲花多酚的最优提取条件是: 浸提温度为 58 ℃, 液料比为 48:1 (mL/g), 浸提时间为 1.9 h, 乙醇浓度为 57%, 在该条件下香水莲花多酚提取率可达 8.28%。香水莲花多酚对 DPPH 自由基的清除率可达 90.22%, 对 ABTS 自由基的清除率达到 88.01%, FRAP 还原力则随多酚浓度的升高而增大, 且呈一定的量效关系, 表明香水莲花多酚的抗氧化作用较强。

关键词: 香水莲花; 多酚; 响应面法; 提取工艺; 抗氧化性

文章编号: 1673-9078(2018)11-200-207

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.030

Extraction Optimization through Response Surface Methodology and Antioxidant Activity of Polyphenols of *Nymphaea Hybrid*

ZHUO Qi¹, ZENG Ying¹, ZHU Zun-ling^{1,2,3}

(1. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

(2. College of Landscape Architecture, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

(3. College of Arts & Design, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: In order to explore the best extraction technology and antioxidant activity of polyphenols from *Nymphaea hybrid*, the optimization of polyphenols extraction conditions was researched by the method of response surface methodology. The influences of extraction temperature, liquid/solid ratio, extraction time, and alcohol concentration on polyphenol extraction yield were researched by single factor experiments. Based on Box-Behnken, four-factor and three-level response surface methodology was carried out to optimize the extraction technology. The antioxidant activity of polyphenols was evaluated using DPPH and ABTS radical scavenging activities and FRAP reducing power. The results found that the optimum conditions for polyphenol extraction were obtained as follows: extraction temperature of 58 ℃, liquid/solid ratio of 48:1 (mL/g), extraction time of 1.9 h, and alcohol concentration of 57%. Under the optimal conditions, extraction rate of *N. hybrid* polyphenols was 8.28%. The DPPH and ABTS scavenging abilities of *N. hybrid* polyphenols were 90.22% and 88.01%, respectively. The FRAP value was increased with the polyphenol concentration, exhibiting a dose-dependent effect. These results suggested that *N. hybrid* polyphenols has an obvious antioxidant activity.

Key words: *Nymphaea hybrid*; polyphenols; response surface methodology; extraction technology; antioxidant

香水莲花(*Nymphaea hybrid*), 是一种睡莲科睡莲属植物, 分布于海南、广州、福建、四川、浙江等地,
收稿日期: 2018-07-04

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31770752); 江苏省工程技术研究中心建设项目(BM2013478); 南京林业大学优秀博士学位论文创新基金项目资助
作者简介: 周琦(1988-), 女, 博士生, 研究方向: 园林植物栽培与应用
通讯作者: 祝遵凌(1968-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 园林植物栽培与应用

属于热带睡莲。因其花色多变, 香味奇特, 故又称之为“九品香莲”^[1]。香水莲花可常年开花, 花姿优雅, 花色丰富, 花香宜人, 可终年观赏。同时, 该属植物具有多种药效功能^[2-4], 还能净化和修复水体、土壤及大气污染^[5-7]。香水莲花不仅是重要的新兴园林水生观赏植物, 还是高档的鲜切花, 可盆栽、庭院造景, 打造主题农业观光园和风景区建设, 亦可用于城市道路沿线水体景观营建, 兼具观赏及美化环境的作用, 具

有很大的经济价值、生态价值和观赏价值。

近年来,香水莲花的食用性和保健作用受到越来越多人的关注。香水莲花的鲜花可提取精油、纯露^[8],花中含有丰富的植物性胎盘素,是一种天然的香料和化妆品添加剂^[9]。香水莲花亦可制成花茶,其花茶集茶味与花香于一体,浓郁爽口、气味芬芳,同时也具有良好的药理作用,花中的植物胶原蛋白可以美容护肤,促进新陈代谢^[10,11]。动物实验已证实香水莲花具有调节脂类物质代谢^[12],预防和治疗疾病^[13]等功效。香水莲花含有丰富的多酚、黄酮类物质^[14],具有很强的自由基清除能力和生物活性,其酚类物质主要是黄酮类及酚酸类化合物,包括黄酮、黄酮醇和异黄酮类物质^[15]。酚类物质作为天然的抗氧化剂和保鲜剂,可广泛用于食品、日化 and 医药等领域^[16,17],具有很大的经济价值和药用价值。目前,关于香水莲花多酚提取方法的研究尚不多见,因此,本文通过探究香水莲花多酚的提取工艺,及其体外抗氧化作用,以期香水莲花的多角度利用提供依据,同时为其资源的综合开发提供一条新的思路。

1 材料与方法

1.1 原料

香水莲花,试验所选的黄色香水莲花为福建漳州香水莲花合作社提供。福林酚、2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)、奎诺二甲基丙烯酸酯(Trolox),上海源叶生物科技有限公司;2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐(ABTS)、没食子酸,阿拉丁试剂公司;2,4,6-三吡啶三吡啶(TPTZ),上海麦克林生化科技有限公司;过硫酸钾、碳酸钠、抗坏血酸(Vc),国药集团化学试剂有限公司;其他化学试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

FW-80 高速粉碎机,北京市永光明医疗仪器厂;BS124S 电子天平,德国赛多利斯公司;Sigma 2-16PK 台式高速离心机,德国 Sigma 公司;Lambda 25 型紫外可见分光光度计,美国 Perkin Elmer 公司;DK-S24 电热恒温水浴锅,上海森信实验仪器有限公司;SHZ-III 型循环水多用真空泵、RE-3000 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 香水莲花多酚物质提取

香水莲花洗净后置于烘箱中,60~65℃下烘 24 h,经粉碎机粉碎后过 60 目筛,避光密封保存备用。称取

香水莲花干花粉,置于 250 mL 锥形瓶中,按试验设计的液料比加入一定浓度的乙醇,在设定的时间和温度下进行浸提,然后将粗提液进行减压抽滤,用乙醇定容至 100 mL,得到香水莲花多酚提取液。

1.3.2 多酚含量测定

1.3.2.1 没食子酸标准曲线测定

精确称取 100 mg 没食子酸,用离子水配制成 1 mg/mL 的没食子酸标准储备液。准确量取 1.0~5.0 mL 的没食子酸标准储备液至 100 mL 的容量瓶中,用水定容,得到梯度质量浓度(10、20、30、40、50 μg/mL)的没食子酸标准液。量取梯度标准液各 0.5 mL,依次加入 2.0 mL 10% (体积比) 的福林酚溶液,充分摇匀后再静置 5 min,然后再依次加入 2 mL 7.5% 的碳酸钠稀溶液,室温下放置反应 2 h。以纯水代替试剂作为对照,测定波长为 765 nm 处的吸光值。以没食子酸与吸光度的值绘出标准曲线,同时求出回归方程: $Y=0.0042X+0.0042$, $R^2=0.9959$; 其中, Y 为吸光度, X 为没食子酸浓度, μg/mL。

1.3.2.2 香水莲花多酚提取率的测定

香水莲花多酚的含量采用福林酚比色法(Folin-Ciocalteu)来测定^[18,19],并略作修改。精确吸取 0.5 mL 香水莲花多酚提取液,加入 2 mL 10% 的福林酚试剂,充分摇匀后静置 5 min,再添加 2 mL 浓度为 7.5% 的碳酸钠溶液,在室温下放置,反应时间为 2 h,然后在 765 nm 处测吸光值。代入标准曲线方程计算出多酚的含量。按下式计算多酚提取率:

$$\text{多酚提取率}(\%) = \frac{C \times V \times F}{M} \times 100\%$$

注: C—香水莲花提取液多酚浓度(μg/mL); V—多酚提取液总体积(mL); F—稀释倍数; M—香水莲花质量(g)。

1.3.3 单因素试验

以香水莲花多酚提取率为考察指标,以浸提温度为 60℃,液料比为 40:1 (mL/g),浸提时间为 1 h,乙醇浓度为 60% (V/V) 为固定因子,分别考察浸提温度(30、40、50、60、70、80℃)、液料比(20:1、30:1、40:1、50:1、60:1、70:1 mL/g)、浸提时间(0.5、1、1.5、2、2.5、3 h)和乙醇浓度(0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%)对多酚提取率的影响。

1.3.4 香水莲花多酚提取工艺条件的优化

依据 Box-Behnken 中心组合进行试验设计^[20,21],利用 Design-Expert 8.0 软件进行数据拟合优化香水莲花多酚的提取工艺。在上文单因素水平的分析基础上,选取 4 个单因素为自变量,每个自变量分别以-1、0、1 表示低、中、高三个试验水平,来进行编码。以香水莲花多酚提取率为响应值,采用四因素三水平的

实验设计, 见表 1。

表 1 响应面法实验设计

Table 1 Design for response surface methodology

水平	因素			
	A: 浸提温度/℃	B: 液料比/(mL/g)	C: 浸提时间/h	D: 乙醇浓度/%
-1	50	40	1.5	40
0	60	50	2	60
1	70	60	2.5	80

1.3.5 香水莲花多酚抗氧化能力的测定

1.3.5.1 清除 DPPH 自由基的能力

将最佳提取条件下的香水莲花多酚提取液, 经浓缩、干燥后配制成不同质量浓度的样液。根据参考文献^[22], 取 0.5 mL 香水莲花多酚样品溶液, 加入 4.0 mL 浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH 稀释溶液, 在室温下摇匀, 避光静置 30 min 后, 在 517 nm 处测量吸光值, 以 Trolox 和 Vc 作阳性对照。按下式计算 DPPH 的清除率:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$

注: A_0 为 DPPH 加乙醇溶液的吸光度, A_1 为 DPPH 加样品的吸光度, A_2 为样品加乙醇溶液吸光度。

1.3.5.2 清除 ABTS 自由基能力

根据参考文献^[23], 以浓度为 7 mmol/L 的 ABTS 溶液与 2.45 mmol/L 的过硫酸钾混合溶液配制 ABTS 自由基的阳离子工作液。准确吸取 0.5 mL 不同质量浓度的香水莲花多酚样液与 3.9 mL 工作液, 混合后静置, 在 23 ℃ 条件下反应 6 min, 然后在 734 nm 波长处测量其吸光度, 以蒸馏水作为空白对照, 按公式 (2) 计算 ABTS 自由基清除率 (%), 以 Trolox 和 Vc 作阳性对照。

1.3.5.3 还原力测定-FRAP 法

根据参考文献^[24], 准确吸取 0.5 mL 不同浓度的香水莲花多酚样液, 加入 4.0 mL 的 TPTZ 工作液, 充分混匀后, 在 37 ℃ 条件下, 静置 30 min, 然后测定波长在 593 nm 处的吸光值, 以吸光值表示还原力的大小, 并以 Trolox 和 Vc 作阳性对照。

1.4 数据分析

本研究中每个实验重复 3 次, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 来表示。利用软件 Excel 2011 和 SPSS 22.0 对所测的数据进行整理、分析, 并制图。

2 结果与讨论

2.1 香水莲花多酚提取工艺单因素试验研究

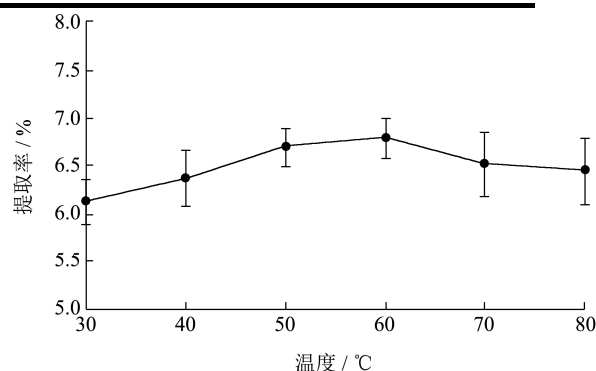


图 1 浸提温度对香水莲花的多酚提取率的影响

Fig.1 Effect of extraction temperature on the yield of polyphenols in *Nymphaea hybrid*

浸提温度对香水莲花多酚提取率的影响如图 1 所示, 由图可知多酚提取率在较低温度时, 随着浸提温度的增大而不断上升, 当温度达到 60 ℃ 时, 提取率达到最大值, 为 6.79%。之后, 随温度升高, 多酚提取率反而逐渐变小, 可能是因高温对多酚造成破坏, 引起提取率下降。因此, 选择 60 ℃ 为最佳水平。

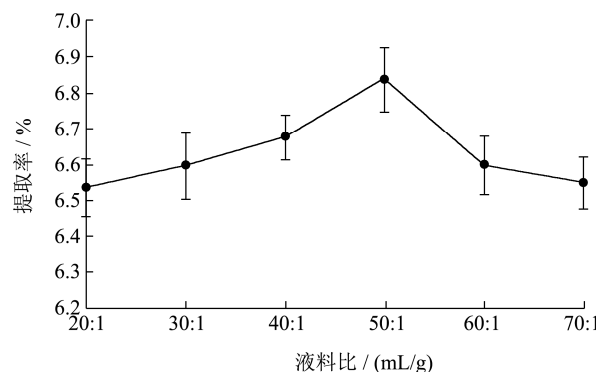


图 2 液料比对香水莲花的多酚提取率的影响

Fig.2 Effect of solid/liquid ratio on the yield of polyphenols in *Nymphaea hybrid*

图 2 显示了液料比对香水莲花多酚提取率的影响。由图可看出, 液料比的大小对多酚的提取率产生了一定的影响, 总体随比值的增大, 呈先增后降的趋势, 提取率在液料比为 50:1 mL/g 时, 达到一个峰值, 为 6.84%, 而后, 提取率又开始逐渐变小, 可能是因为其他醇溶性的物质溶出, 引起多酚提取率的下降。所以, 选择液料比为 50:1 mL/g 较为合适。

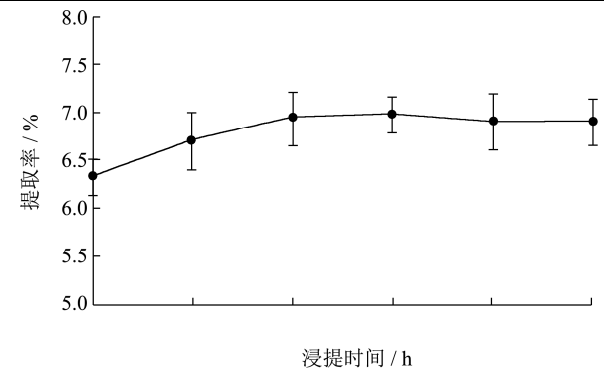


图3 浸提时间对香水莲花末多酚提取率的影响

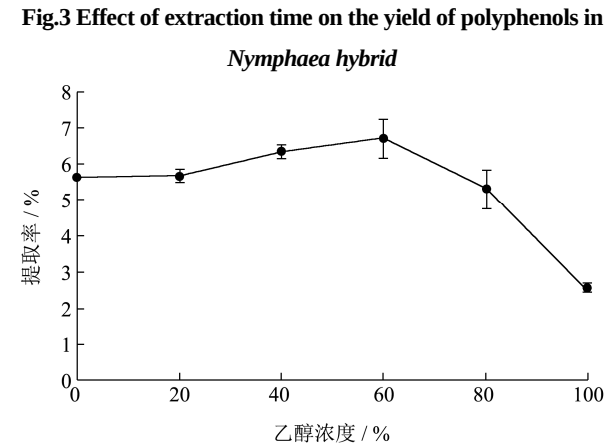


图4 乙醇浓度对香水莲花末多酚提取率的影响

Fig.4 Effect of alcohol concentration on the yield of polyphenols in *Nymphaea hybrid*

浸提时间对多酚的提取率也有重要的影响。如图3所示,在浸提温度60℃条件下,随浸提时间的增加,香水莲花多酚提取率在2h以内逐渐增大,在2h时,达最大值为6.96%。当浸提时间继续延长时,在氧气、光照的影响下,酚类物质可能被氧化分解,使得多酚提取率不再增加,甚至开始下降,但趋势不明显。因而,选择2h作为最佳浸提时间。

乙醇对酚类物质具有较好的溶解性,且较为经济,无毒。因此,本研究选择乙醇作为提取剂。由图4可知,在温度为60℃,液料比为40:1,浸提时间为1h的条件下,香水莲花多酚提取率随乙醇浓度的增大而逐渐增高,当乙醇浓度为60%时出现峰值,提取率达到6.69%;而当乙醇浓度继续增大时,提取率反而逐渐变小。可能是因为60%浓度的乙醇溶液与香水莲花酚类物质的极性较为接近,此浓度作为提取剂较为合适。

2.2 香水莲花多酚提取工艺条件的优化

2.2.1 Box-Behnken 试验设计与结果

以香水莲花多酚提取率为考察响应值,浸提温度(A)、液料比(B)、浸提时间(C)、乙醇浓度(D)4因素为考察自变量,进行4因素3水平的响应面分析结果(表2)。

表2 响应面优化香水莲花多酚提取的结果分析

Table 2 Experimental design and results of optimizing test with response surface method of polyphenols in *Nymphaea hybrid*

编号	A: 浸提温度/℃	B: 液料比/(mL/g)	C: 浸提时间/h	D: 乙醇浓度/%	多酚提取率/%	
					实测值	预测值
1	50	50	2.5	60	6.28	6.64
2	70	50	1.5	60	7.22	7.08
3	60	40	1.5	60	6.93	7.32
4	60	50	1.5	40	6.86	6.99
5	60	60	2.5	60	6.22	5.67
6	60	60	2	80	5.58	5.85
7	60	50	2	60	8.01	8.11
8	50	60	2	60	6.79	7.19
9	60	40	2	80	6.42	6.53
10	60	40	2	40	7.29	7.23
11	60	50	2	60	8.12	8.11
12	60	50	2	60	8.01	8.11
13	60	50	2	60	8.20	8.11
14	60	60	1.5	60	7.67	7.30
15	70	50	2	40	6.23	6.36
16	70	50	2	80	5.89	6.18

转下页

接上页						
17	70	60	2	60	5.88	6.03
18	70	40	2	60	7.90	7.45
19	50	40	2	60	7.45	7.25
20	60	60	2	40	6.33	6.44
21	60	50	2.5	80	5.60	5.42
22	60	50	1.5	80	6.88	6.68
23	60	40	2.5	60	6.90	7.11
24	60	50	2.5	40	6.26	6.41
25	50	50	2	40	7.76	7.30
26	50	50	2	80	6.49	6.19
27	70	50	2.5	60	6.11	6.13
28	60	50	2	60	8.21	8.11
29	50	50	1.5	60	7.33	7.53

表3 回归模型结果的方差分析

Table 3 Variance analysis of the regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	17.09	14	1.22	8.97	0.0001	**
A-温度	0.68	1	0.68	5.02	0.0417	*
B-液料比	1.62	1	1.62	11.91	0.0039	**
C-时间	2.55	1	2.55	18.72	0.0007	**
D-浓度	1.24	1	1.24	9.13	0.0092	**
AB	0.46	1	0.46	3.4	0.0866	
AC	1.03E-03	1	1.03×10 ⁻³	7.58×10 ⁻³	0.9319	
AD	0.22	1	0.22	1.58	0.229	
BC	0.5	1	0.5	3.71	0.0747	
BD	2.95E-03	1	2.95×10 ⁻³	0.022	0.8849	
CD	0.12	1	0.12	0.86	0.3704	
A ²	2.09	1	2.09	15.4	0.0015	**
B ²	2.05	1	2.05	15.1	0.0016	**
C ²	3.18	1	3.18	23.36	0.0003	**
D ²	6.97	1	6.97	51.26	<0.0001	**
残差	1.9	14	0.14			
失拟检验	1.87	10	0.19	19.62	0.057	
纯误差	0.038	4	9.51×10 ⁻³			
总回归	18.99	28				

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

2.2.2 模型建立及响应面试验结果

使用 Design-Expert8.0 软件对表 2 的结果进行多元回归拟合, 得到香水莲花提取率 (Y) 对 4 因素的回归方程:

$$Y = 8.11 - 0.24A - 0.37B - 0.46C - 0.32D - 0.34AB - 0.016A \\ C + 0.23AD - 0.36BC + 0.027BD - 0.17CD - 0.57A^2 - 0.56B^2 - \\ 0.70C^2 - 1.04D^2$$

在该方程中, 不同因素的系数对应的绝对值大小, 可以直接表示不同因素对提取率 (Y, 即响应值) 所产生影响的程度, 而系数的正、负则表示产生影响的方向^[25]。

回归模型方差分析结果见表 3, 模型的 F 值为 8.97, 其概率 $P = 0.0001$, 达到极显著水平, 说明该模型具有显著性; 同时, 失拟项 P 值不显著, 表示模型

拟合较好。相关系数 $R^2=0.9697$, $R^2_{Adj}=0.9423$, 说明预测值与实际值相关性较好, 该模型可以用于香水莲花多酚提取率的理论预测。数据结果显示 A、B、C、D 对香水莲花多酚提取率表现出显著性影响, 各交互项对多酚提取率影响不显著, 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对多酚提取率有极显著性影响, 表明浸提温度、液料比、浸提时间、乙醇浓度是多酚提取过程中重要的影响因素; 根据方差分析结果可知, 各因素对香水莲花多酚提取率的影响依次为: C、D、B、A。

响应面法可以优化多因素条件下的最佳方法。从 3d 曲面图和等高线图能够看出, 在最佳条件下不同变量的取值和各变量之间产生交互作用的显著程度^[26]。由所求出的回归方程, 可以绘制响应面图, 如图 5a~5f 所示, 图中直观地反映了浸提温度 (A)、液料比 (B)、浸提时间 (C)、乙醇浓度 (D) 对香水莲花多酚提取率的影响。

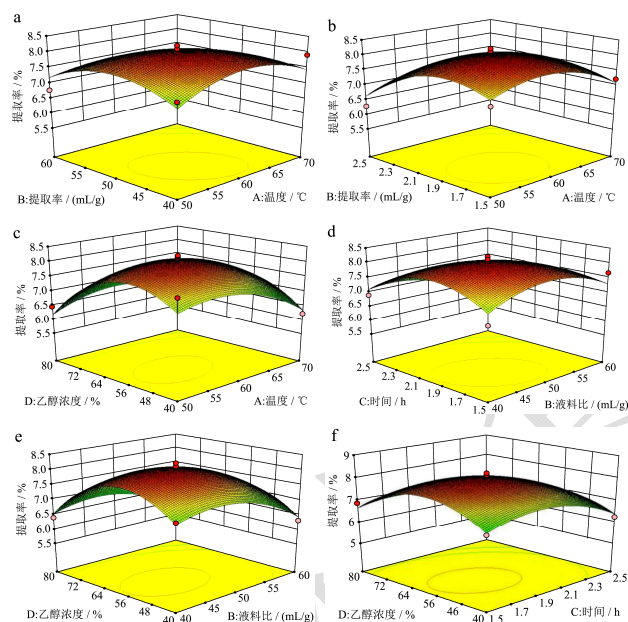


图 5 不同因素交互作用的等高线图和响应面图

Fig.5 Contour and response surface plots for the correlative effects of different factors

图 5a 等高线显示, 浸提时间和乙醇浓度处于 0 水平时, 浸提温度和液料比之间的交互作用并不强, 当固定温度时, 随着液料比的增加, 多酚提取量也不断增大, 但达到峰值后又逐渐变小; 响应面图显示, 多酚提取率在浸提温度的-1~0 水平和液料比的-1~0 水平之间有最大值。图 5b 显示, 液料比和乙醇浓度为 0 水平时, 浸提温度与时间的交互作用也较弱, 其中浸提温度的影响强度相对低于浸提时间, 多酚提取率在浸提时间-1~0 水平之间有最大值。由图 5c 可知, 液料比和浸提时间处于 0 水平, 当固定乙醇浓度时,

多酚的提取率随温度的增大而提高, 当固定温度时, 多酚的提取率乙醇浓度的变化呈类似趋势, 但后者的变化幅度较前者大, 这也与前文单因素的分析结果相对应。图 5d 显示, 温度和乙醇浓度处于 0 水平, 液料比和时间的交互作用。在较低因子水平下, 随液料比和时间的增大, 提取率不断变大, 达到极值后, 反而变小。从图 5e 可以看出, 当浸提温度和时间处于 0 水平时, 乙醇浓度对多酚提取率的影响相对较大, 多酚提取率在乙醇浓度-1~0 水平之间有最大值。图 5f 显示, 浸提温度和液料比处于 0 水平, 当固定乙醇浓度时, 多酚提取量随时间的增加先增大后降低; 同样, 当固定时间时, 多酚的提取率随乙醇浓度的变化也呈相似趋势。通过响应面分析软件 Design Expert 8.0.6 对试验结果进行分析, 得香水莲花多酚提取最佳工艺为: 浸提温度 58.20 °C, 液料比 48.06:1 mL/g, 浸提时间 1.87 h, 乙醇浓度 56.87%, 预测香水莲花多酚提取率可达 8.25%。实际操作中, 将最优条件调整为: 浸提温度 58 °C, 液料比 48:1 mL/g, 浸提时间 1.9 h, 乙醇浓度 57%, 按此工艺进行提取验证, 得香水莲花多酚提取率平均值为 8.28%, 与预测值接近, 说明该模型能够较好地预测香水莲花多酚实际提取率。

2.3 香水莲花抗氧化活性分析

2.3.1 清除 DPPH 自由基的能力

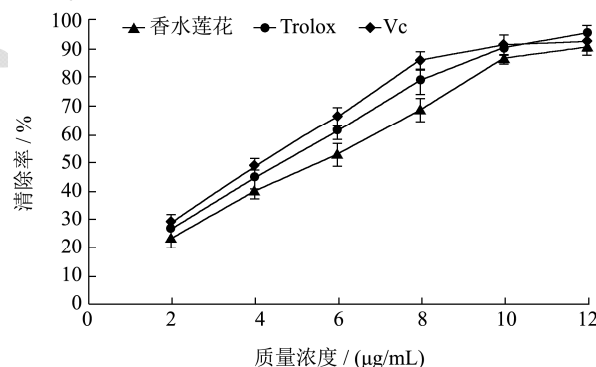


图 6 香水莲花多酚对 DPPH 自由基的清除作用

Fig.6 DPPH radical-scavenging activities of polyphenols in *Nymphaea hybrid*

在最佳条件下得到香水莲花多酚提取液, 经浓缩干燥后配制成不同浓度的样液, 用以进一步研究香水莲花多酚的抗氧化能力, 结果如图 6 所示。香水莲花多酚对 DPPH 自由基的清除能力随多酚质量浓度的升高而增大, 当多酚质量浓度为 12 μg/mL 时, 清除率达 90.22%, 总体变化趋势与 Trolox 和 Vc 相似。说明, 香水莲花多酚对 DPPH 自由基的清除能力较强。

2.3.2 清除 ABTS 自由基能力

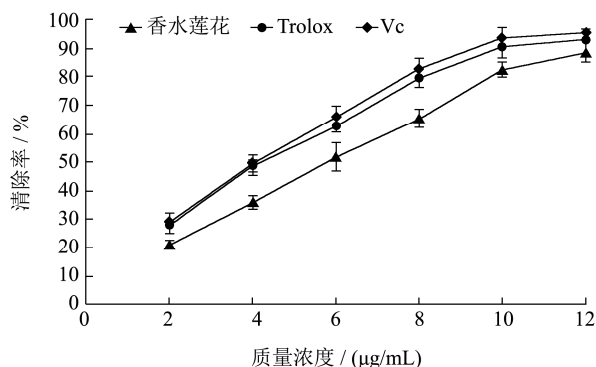


图7 香水莲花多酚对 ABTS 自由基的清除作用

Fig.7 ABTS radical-scavenging activities of polyphenols in *Nymphaea hybrid*

香水莲花多酚物质对 ABTS 自由基的清除作用如图 7 所示。由图 7 可知, 香水莲花多酚能有效清除试验体系中的 ABTS 自由基, 且不同浓度多酚样液对 ABTS 自由基的清除效果存在差异。受试质量浓度由 2~12 μg/mL, 提取物对 ABTS 自由基的清除率从 20.54% 增加到 88.01%, 略低于 Trolox 和 Vc 对 ABTS 自由基的清除能力。

2.3.3 还原力的测定

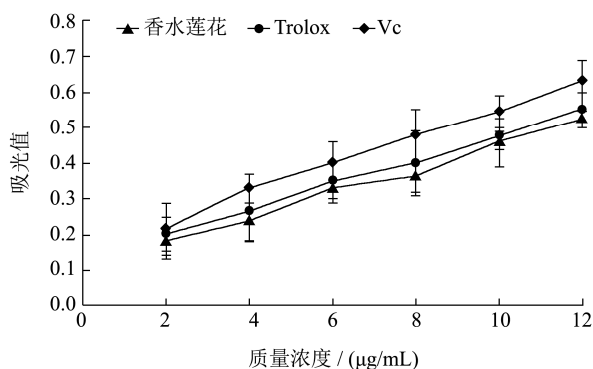


图8 香水莲花多酚还原能力

Fig.8 Reducing power of polyphenols in *Nymphaea hybrid*

抗氧化性与还原性之间存在正相关性, 通常还原性越强, 则抗氧化性越强。香水莲花多酚还原能力如图 8 所示。由图可知, 随着香水莲花多酚质量浓度的升高, 593 nm 处吸光值不断增大, 当多酚质量浓度为 12 μg/mL 时, 还原力达到最大, 比浓度为 2 μg/mL 时高出 56.7%, 表现出良好的剂量-效应关系, 表明香水莲花多酚具有较强的还原能力, 但低于 Vc, 和 Trolox 的还原力相差不大。

3 结论

本文通过考察浸提温度、液料比、浸提时间、乙醇浓度对香水莲花多酚提取率的影响, 利用响应面法分析获得提取香水莲花多酚的最佳组合为: 浸提温度 58 ℃, 液料比 48:1 mL, 浸提时间 1.9 h, 乙醇浓度 57%,

在此条件下香水莲花多酚提取率可达 8.28%。不同提取条件对多酚提取率的影响由大到小为: 浸提时间>乙醇浓度>料液比>浸提温度。通过测定香水莲花不同浓度多酚样液对 DPPH、ABTS 的清除能力和还原能力的大小, 评价了其多酚的抗氧化活性, 香水莲花多酚对 DPPH 自由基清除率可达 90.22%, ABTS 自由基清除率达 88.01%, FRAP 还原力随多酚浓度的升高而增大, 表明香水莲花多酚具有一定的抗氧化能力。

参考文献

- [1] 李红斌. 台湾九品香水莲特征特性及栽培技术[J]. 上海蔬菜, 2015, 4: 31-32
LI Hong-bing. The characteristics and cultivation techniques of *Nymphaea hybrid* [J]. Shanghai Vegetables, 2015, 4: 31-32
- [2] Almaliki G M, Alkhafaji K K, Karim R M. Antibacterial activity of two water plants *Nymphaea alba* and *Salvinia natans* leaves against pathogenic bacteria [J]. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 2017, 5(5): 353-355
- [3] Kamení M, Desire D D P, Pierre K. A Review of the pharmacological potential of the water Lily *Nymphaea lotus* [J]. Modern Application of Bioequivalence & Bioavailability, 2017, 5(1): 1-3
- [4] John-Africa L B, Idris-Usman M S, Adzu B, et al. Protective effects of the aqueous extract of *Nymphaea lotus* L. (*Nymphaeaceae*) against ethanol-induced gastric ulcers [J]. International Journal of Biological & Chemical Sciences, 2013, 6(5): 1917-1925
- [5] 卢晓明, 陈建军, 赵丰, 等. 睡莲生理特性日变化与黑臭河水水质的相关性[J]. 北京工业大学学报, 2010, 36(11): 1548-1554
LU Xiao-ming, CHEN Jian-jun, ZHAO Feng, et al. Correlation between diurnal variation of physiological traits of *Nymphaea tetragona* and characteristics of heavily polluted river water [J]. Journal of Beijing University of Technology, 2010, 36(11): 1548-1554
- [6] 张力, 张振华, 高岩, 等. 不同水生植物对富营养化水体释放气体的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2014, 6: 736-743
ZHANG Li, ZHANG Zhen-hua, GAO Yan, et al. Effect of aquatic plants on emission of gases from eutrophic water [J]. Journal of Ecology & Rural Environment, 2014, 6: 736-743
- [7] Stroud J L, Collins R N. Improved detection of coastal acid sulfate soil hotspots through biomonitoring of metal (loid) accumulation in water lilies (*Nymphaea capensis*) [J]. Science of the Total Environment, 2014, 487(487C): 500-505
- [8] 徐辉, 张卫明, 姜洪芳, 等. 香水莲花挥发油的气相色谱-质谱

- 分析[J].食品研究与开发,2008,29(9):101-103
- XU Hui, ZHANG Wei-ming, JIANG Hong-fang, et al. Analysis of essential oil from the flowers of *Nymphaea hybrida* by GC-MS [J]. Food Research & Development, 2008, 29(9): 101-103
- [9] 蒙琼,陈夏艳.香水莲的栽培管理及花茶制作[J].花木盆景(花卉园艺),2016,1:40-41
- MENG Qiong, CHEN Xia-yan. The cultivation and management of *Nymphaea hybrid* and the production of flower tea [J]. Flower and Wood Bonsai, 2016, 1: 40-41
- [10] 刘家文,陈燕,李晖,等.香水睡莲花茶制作工艺探索[J].农业研究与应用,2014,5:30-31
- LIU Jia-wen, CHEN Yan, LI Hui, et al. Exploration on the manufacturing process of *Nymphaea hybrida* tea [J]. Agricultural Research and Application, 2014, 5: 30-31
- [11] Park G, Sim Y, Lee W, et al. Protection on skin aging mediated by antiapoptosis effects of the water Lily (*Nymphaea tetragona* Georgi) via reactive oxygen species scavenging in human epidermal keratinocytes [J]. Pharmacology, 2016, 97(5-6): 282-293
- [12] 张丹,姚正颖,侯北伟,等.香水莲花提取物对胰脂肪酶活性的抑制作用[J].食品科技,2017,3:227-231
- ZHANG Dan, YAO Zheng-ying, HOU Bei-wei, et al. Inhibitory effect of extracts from *Nymphaea hybrid* flowers on pancreatic lipase [J]. Food Science and Technology, 2017, 3: 227-231
- [13] 车璐,吴晓琴,郑茜茜,等.香水莲花抑制大鼠前列腺增生的试验研究[J].中国食品学报,2015,2:28-33
- CHE Lu, WU Xiao-qing, ZHENG Qian-qian, et al. Inhibitory effect of extracts from *Nymphaea hybrid* flowers on pancreatic lipase [J]. Food Science and Technology, 2017, 3: 227-231
- [14] 任红荣,姜洪芳,单承莺,等.微波提取香水莲花总黄酮的工艺研究[J].中国野生植物资源,2010,2:30-33
- REN Hong-rong, JIANG Hong-fang, SHAN Cheng-ying, et al. Study on microwave extraction of total flavone from *Nymphaea hybrid* [J]. Chinese Wild Plant Resources, 2010, 2: 30-33
- [15] 赵军,徐芳,吉腾飞,等.睡莲属植物化学成分及生物活性研究进展[J].天然产物研究与开发,2014,26(1):142-147
- ZHAO Jun, XU Fang, JI Teng-fei, et al. Advances in the study on chemical constituents and biological activities in *Nymphaea* Genus [J]. Natural Product Research & Development, 2014, 26(1): 142-147
- [16] Lachman J, Orsak M, Pivec V, et al. Polyphenol content in green, black and oolong tea (*Camellia sinensis*) infusions in different times of tea maceration [J]. Scientia Agriculturae Bohemica, 2003, 34: 22-28
- [17] Manzocco L, Anese M, Nicoli M C. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing [J]. Lebensmittel-Wissenschaft and-Technologie, 1998, 31(7-8): 694-698
- [18] Vázquez G, Fontenla E, Santos J, et al. Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts [J]. Industrial Crops & Products, 2008, 28(3): 279-285
- [19] Roura E, Andr   S-Lacueva C, Estruch R, et al. Total polyphenol intake estimated by a modified Folin-Ciocalteu assay of urine [J]. Clinical Chemistry, 2006, 52(4): 749-752
- [20] Karakashov B, Grigorakis S, Loupassaki S, et al. Optimisation of organic solvent-free polyphenol extraction from *Hypericum triquetrifolium* Turra using Box-Behnken experimental design and kinetics [J]. International Journal of Industrial Chemistry, 2015, 6(2): 85-92
- [21] 杨迎,谢凡,龚胜祥,等.响应面法优化辣木籽多酚提取工艺及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2018,3:172-178
- YANG Ying, XIE Fan, GONG Shen-xiang, et al. Optimization of polyphenols extraction from *Moringa oleifera* Lam.seeds by response surface methodology and its antioxidant activity [J]. Science & Technology of Food Industry, 2018, 3: 172-178
- [22] Wojdy   A, Oszmia  ski J, Czerny R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs [J]. Food Chemistry, 2007, 105(3): 940-949
- [23] 朱玉昌,焦必宁.ABTS法体外测定果蔬类总抗氧化能力的研究进展[J].食品与发酵工业,2005,31(8):77-80
- ZHU Yu-chang, JIAO Bi-ning. Research progress on ABTS assay in determination of TAA in fruits and vegetables *in vitro* [J]. Food & Fermentation Industries, 2005, 31(8): 77-80
- [24] 金亮,李小白,丁华侨,等.不同种类茶叶抗氧化活性及茶汤颜色参数比较[J].中国食品学报,2016,16(2):242-250
- JIN Liang, LI Xiao-bai, DING Hua-qiao, et al. Comparison on antioxidant activity and color parameters for different types of tea [J]. Food Science and Technology, 2016, 16(2): 242-250
- [25] 钱敏,李春阳,刘玉皎,等.响应面法优化蚕豆多酚超声辅助提取工艺[J].食品工业科技,2018,9:194-200
- QIAN Ming, LI Chun-yang, LIU Yu-jiao, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction technology of polyphenols from broad bean by RSM [J]. Science & Technology of Food Industry, 2018, 9: 194-200
- [26] 臧涛,向东.响应面优化蓝葎睡莲总酚水提工艺的研究[J].热带作物学报,2017,12:2360-2365

ZANG Tao, XIANG Dong. Optimization of water extraction of total polyphenols from *Nymphaea stellata* wild by response

surface methodology [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2017, 12: 2360-2365