

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20240057

网络首发日期: 2024-07-15; 网络首发地址: <http://link.cnki.net/urlid/12.1355.N.20240710.1027.003>

## 四棱豆叶总酚提取工艺优化及抗氧化能力研究

何洪鑫, 孙风霞, 王赫, 李爱光, 代理响, 刘霞

(天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457)

**摘要:** 以超声辅助醇提四棱豆叶总酚提取量为考察指标, 在单因素实验的基础上, 通过响应面实验优化总酚的提取工艺。以 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup>自由基、羟自由基清除率以及亚铁离子与三吡啶基三嗪 (FRAP 还原力) 4 种抗氧化能力分析方法, 考察四棱豆叶总酚的抗氧化能力。结果表明: 四棱豆叶总酚的最佳提取工艺为乙醇体积分数 38%、提取温度 67 °C、料液比 (g : mL) 1 : 26、超声功率 300 W、提取时间 40 min, 在该条件下四棱豆叶总酚提取量达到 6.01 mg/g。四棱豆叶总酚提取物对 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup>自由基、羟自由基具有较强的清除作用, 其 IC<sub>50</sub> 分别为 2.09 mg/mL、0.39 mg/mL、0.000 32 mg/mL。液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 技术分析结果表明, 四棱豆叶醇提物中的酚酸类化合物成分共有 31 种, 其中邻羟基肉桂酸对其抗氧化能力贡献较大。

**关键词:** 四棱豆叶; 总酚提取; 抗氧化能力; 成分分析

中图分类号: TS255.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2025)02-0029-08

## Optimization of Extraction Process and Antioxidant Activity of Total Phenols from Winged Bean Leaves

HE Hongxin, SUN Fengxia, WANG He, LI Aiguang, DAI Lixiang, LIU Xia

(College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** In the present study, the extraction of total phenols from the leaves of winged bean was investigated by ultrasound-assisted alcoholic extraction, and the extraction process of total phenols was optimised by response surface test on the basis of one-way test. And the antioxidant capacity of total phenols was investigated by four antioxidant capacity analyses, namely DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>+</sup>, ·OH radical scavenging rate, and ferrous ion and tripyridyltriazine (FRAP reducing power). The results showed that the optimal extraction process of total phenol was 38% ethanol volume fraction, extraction temperature of 67 °C, material-liquid ratio of 1 : 26 (g/mL), ultrasonic power 300 w, and extraction time of 40 min, and the extracted amount of total phenol reached 6.01 mg/g under these conditions. Moreover, the extract of total phenol had a stronger scavenging effect on the DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>+</sup>, and OH free radicals, and its DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>+</sup>, and ·OH with IC<sub>50</sub> of 2.09 mg/mL, 0.39 mg/mL, and 0.000 32 mg/mL, respectively. Analysis using LC-MS/MS showed that there were 31 phenolic acid components in the alcoholic extracts of winged bean leaves, of which *o*-hydroxycinnamic acid provided a greater contribution to its antioxidant capacity.

**Key words:** winged bean leaves; total phenol extraction; antioxidant capacity; component analysis

### 引文格式:

何洪鑫, 孙风霞, 王赫, 等. 四棱豆叶总酚提取工艺优化及抗氧化能力研究[J]. 天津科技大学学报, 2025, 40(2): 29-36.  
HE H X, SUN F X, WANG H, et al. Optimization of extraction process and antioxidant activity of total phenols from winged bean leaves[J]. Journal of Tianjin university of science and technology, 2025, 40(2): 29-36.

收稿日期: 2024-03-20; 修回日期: 2024-04-18

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2022BBF03026)

作者简介: 何洪鑫(2000—), 男, 安徽人, 硕士研究生; 通信作者: 刘霞, 教授, liuxia831930@163.com

四棱豆, 又称翼豆、翅豆、四角豆等, 原产于热带, 是豆科蝴蝶形花亚科菜豆族的一种, 具备较高营养价值<sup>[1-2]</sup>。四棱豆的嫩叶与嫩荚均可食用, 其块根富含淀粉和蛋白质, 嫩果含蛋白质、脂肪、碳水化合物、膳食纤维、多种维生素、胡萝卜素、多种矿物质元素和氨基酸等<sup>[3]</sup>。四棱豆中富含的多酚类、黄酮类及多肽类物质是抗氧化和缓解脂质过氧化的重要组成部分, 具备一定的药用价值, 对冠心病、动脉硬化、不孕不育、口腔炎症、泌尿系统炎症、眼部疾病等 19 种疾病有较好的治疗效果<sup>[4-5]</sup>。

酚类化合物是植物在正常发育过程中合成的次生代谢物, 通常是为了应对胁迫条件。在植物中, 酚类物质可以作为植物抗毒素剂、抗氧化剂和紫外线防护剂等<sup>[6-7]</sup>。化合物在抵消活性氧物质方面发挥着至关重要的作用, 从而最大限度地减少分子损伤, 具有抗氧化、抗炎、清除自由基、抗肿瘤、降血糖、降血脂等生物活性, 可应用于多种保健食品中<sup>[8-9]</sup>。在四棱豆种植过程中可以大量获得四棱豆叶, 其含有多糖类、总酚类、黄酮类化合物及大量微量元素等, 而总酚是其成分中的一类重要活性物质。

本研究以四棱豆叶为原料, 采用超声辅助醇提法提取四棱豆叶总酚, 优化四棱豆叶总酚提取的最佳工艺条件, 并在最佳工艺条件下制备四棱豆叶总酚样品, 评价四棱豆叶总酚抗氧化活性及还原力, 为四棱豆叶总酚的开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

四棱豆叶(星际宇航海南三号), 黑龙江星际宇航科技有限公司。选取 2 月龄的四棱豆植株进行采摘, 空运至实验室后将植株所有根茎全部剔除, 留下四棱豆叶进行后续实验。

### 1.2 试剂与仪器

没食子酸(99%), 上海晶纯试剂有限公司; 福林酚, 北京索莱宝科技有限公司; 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 DPPH(98%)、2, 2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 ABTS(98%)、碳酸钠(99.8%)、水杨酸(99%), 上海源叶生物科技有限公司; 过硫酸钾(99.5%)、铁氰化钾(99.5%)、三氯化铁(99%), 上海麦克林生化科技有限公司; 三氯乙酸(99%), 天津市津科精细化工研究所; 甲醇、甲酸、醋酸铵, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

SB-5200DTD 型超声波清洗机, 宁波新芝生物

科技股份有限公司; TGL-16M 型冷冻离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; FA2204B 型电子天平, 上海佑科仪器仪表有限公司; Q Exactive<sup>TM</sup> HF 型质谱仪、Vanquish UHPLC 型色谱仪, 赛默飞世尔科技(中国)公司。

### 1.3 总酚提取工艺优化

#### 1.3.1 总酚提取液的制备

四棱豆叶在 50 ~ 55 °C 条件下烘至质量恒定后, 将其放置在粉碎机中粉碎, 过 100 目筛, 得到实验样品, 置于保鲜袋中低温避光保存。称取 1.0 g 四棱豆叶样品置于烧杯中, 按一定料液比加入不同体积分数的乙醇溶液, 在一定温度下进行超声波辅助提取, 提取完成后, 5 000 r/min 离心 15 min, 取上清液加水定容, 得样品溶液备用。

#### 1.3.2 总酚提取量的测定

参考 Gao 等<sup>[10]</sup>的方法并略作修改, 以 200 μg/mL 没食子酸为标准溶液, 准确吸取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 的标准溶液置于试管中, 并用 60% 乙醇溶液加至 0.5 mL。向各试管中加入 1.5 mL 10% 福林酚溶液, 充分混匀后暗反应 20 min, 随后加入 0.5 mL 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液, 暗反应 60 min, 测定 755 nm 处吸光度, 每组重复 3 次后取平均值。

样品检测按没食子酸标准溶液制备方法, 样品添加量 0.5 mL, 依次添加试剂, 于 755 nm 处测量吸光度, 根据没食子酸标准曲线计算总酚提取量( $\omega$ ), 其回归方程为  $y = 0.0102x + 0.0053$  ( $R^2 = 0.9996$ ), 且线性关系良好。

$$\omega = (m \times V_1) / (m_0 \times V_2) \quad (1)$$

式中:  $m$  为没食子酸质量, μg;  $V_1$  为总提取液体积, mL;  $m_0$  为样品质量, g;  $V_2$  为测量所取样品体积, mL。

#### 1.3.3 单因素实验

首先以超声功率 200 W、乙醇体积分数 50%、提取温度 60 °C, 料液比 1 : 15, 考察不同提取时间(10、20、30、40、50 min)对四棱豆叶总酚提取量的影响; 然后固定提取时间 40 min, 考察不同超声功率(0、100、200、300、400、500 W)、乙醇体积分数(30%、40%、50%、60%、70%、80%)、提取温度(40、50、60、70、80 °C)、料液比(1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25、1 : 30)对四棱豆叶总酚提取量的影响。后续选取乙醇体积分数、提取温度、料液比 3 种因素进行响应面优化实验。

#### 1.3.4 响应面优化实验

在单因素实验基础上, 采用响应面分析进一步优

化四棱豆叶总酚的提取工艺。依据 Design-Expert 10.0 软件中 Box-Behnken 的实验设计原则(表 1),选取乙醇体积分数(A)40%、提取温度(B)70℃、料液比(C)1:25为各因素的中心点,确定最佳提取条件。

表 1 响应面因素与水平设计

Tab. 1 Response surface factors and horizontal design

水平	乙醇体积分数/%	提取温度/℃	料液比
-1	35	65	1:20
0	40	70	1:25
+1	45	75	1:30

## 1.4 抗氧化能力分析

### 1.4.1 DPPH 自由基清除能力

参考 Müller 等<sup>[11]</sup>的方法并稍作修改,按照式(2)测定四棱豆叶对 DPPH 自由基的清除能力( $R_{\text{DPPH}}$ )。

$$R_{\text{DPPH}} = \left(1 - \frac{A_i - A_0}{A_0}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式中: $A_0$ 为未加样液时的吸光度, $A_i$ 为待测液的吸光度, $A_i$ 为加入待测液后的吸光度。

### 1.4.2 ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力

参考 Zhang 等<sup>[12]</sup>、李斌等<sup>[13]</sup>的方法并稍作修改,测定四棱豆叶对 ABTS<sup>+</sup>自由基的清除能力( $R_{\text{ABTS}^+}$ )。

$$R_{\text{ABTS}^+} = \left(1 - \frac{A_s - A_r}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式中: $A_0$ 为未加样液时的吸光度, $A_r$ 为待测液的吸光度, $A_s$ 为加入待测液后的吸光度。

### 1.4.3 羟自由基清除率

参考文良娟等<sup>[14]</sup>的方法并稍作修改,测定四棱豆叶对羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )的清除能力( $R_{\text{OH}}$ )。

$$R_{\text{OH}} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (4)$$

式中: $A_0$ 为双蒸水代替样品测得的吸光度, $A_1$ 为待测液的吸光度, $A_2$ 为双蒸水代替水杨酸测得的吸光度。

### 1.4.4 FRAP 还原力

参考李小艳等<sup>[15]</sup>的方法并稍作修改,测定四棱豆叶对 FRAP 的还原能力。以蒸馏水代替样品为空白,吸光度与还原力成正比。

## 1.5 酚类化合物检测及成分分析

酚类化合物采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)进行分析测定。基于高分辨质谱检测技术,非靶向代谢组可以尽可能多地检测到样本中的分子特征峰。结合由标准品构建的高质量 mzCloud 数据

库搭配 mzVault 及 MassList 数据库,对分子特征峰进行匹配鉴定。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果

不同的提取时间对四棱豆叶总酚提取量的影响如图 1(a)所示。随着超声提取时间的增加,总酚的提取量不断增加,提取时间为 40 min 时,提取量达到最高,之后呈下降趋势。随着提取时间的增加,四棱豆叶与溶剂相互作用,多酚类物质溶出,提取量逐渐提高。达到峰值后继续提取,会导致酚类物质在空气中暴露的时间增加,部分物质会被逐步分解或氧化,导致提取量下降,四棱豆叶中的其他物质也会相继溶出,不利于后续分离纯化<sup>[16-17]</sup>。

不同超声功率对四棱豆叶总酚提取量的影响如图 1(b)所示。随着超声功率的提高,总酚提取量不断增加,当超声功率为 300 W 时,提取量达到峰值,相比单一醇提取量增加了 90.71%,超声功率的升高加大了其对四棱豆叶的破壁效果,促进了内容物的释放,进而提高了总酚提取量。继续加大超声功率,总酚提取量呈逐渐下降趋势,超声功率的增大,会逐渐产生热效应,继而破坏部分多酚,使提取量下降<sup>[18]</sup>。

不同体积分数的乙醇对四棱豆叶总酚提取量的影响如图 1(c)所示。在一定范围内,总酚提取量随着乙醇体积分数的增大而增大,当体积分数达到 40% 时,总酚提取量最大,使用乙醇与水的混合物对酚类化合物的提取效率会更高,因为在有机溶剂中加入适量水会使溶液极性增大,进而加速对多酚类物质的提取。但是,随着乙醇体积分数的继续增大,溶剂极性逐渐降低,导致总酚提取量下降<sup>[19-20]</sup>。

不同提取温度对四棱豆叶总酚提取量的影响如图 1(d)所示。在一定范围内,温度越高,总酚提取量越大,当温度为 70℃ 时,提取量达到最大,随后开始下降。温度的不断升高会增加酚类化合物的溶解度和扩散系数,从而促进传质,提高总酚提取量<sup>[21]</sup>。当温度过高时,酚类物质结构被破坏,平衡被打破,物质转移规律发生变化,非总酚物质析出,总酚提取量下降<sup>[22]</sup>。

在提取时间 40 min、超声功率 300 W、乙醇体积分数 40%、温度 70℃ 的条件下,考察不同料液比对四棱豆叶总酚提取量的影响,结果如图 1(e)所示。随着料液比的升高,总酚提取量总体呈上升趋势,当料

液比为 1 : 25 时, 提取量达到最大, 继续加大料液比后总酚提取量呈下降的趋势, 表明此时四棱豆叶中酚类物质已溶出完全, 且料液比增多也不利于后续分离纯化, 因此选择料液比 1 : 25 进行后续优化实验<sup>[23]</sup>。

综合考虑以上几种单因素结果, 后续选取乙醇体积分数、提取温度、料液比作为后续响应面优化实验的因素。

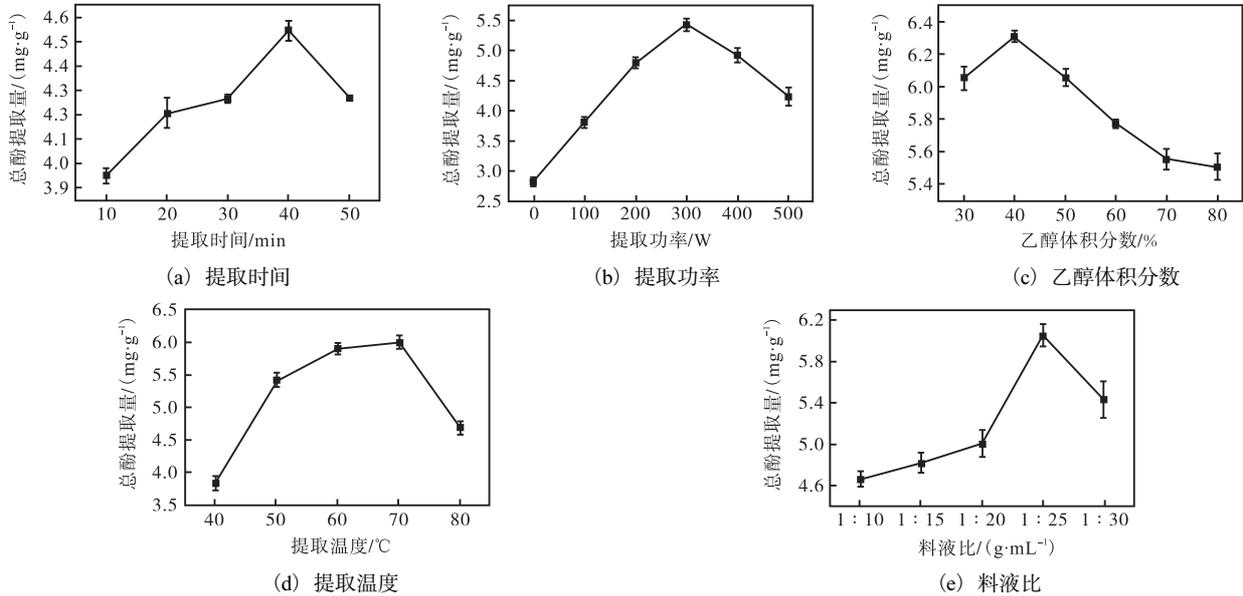


图 1 不同因素对四棱豆叶总酚提取量的影响

Fig. 1 Effect of different factors on the extraction of total phenols from the leaves of winged bean

2.2 响应面结果分析

2.2.1 模型建立及显著性分析

在单因素实验基础上, 固定提取时间为 40 min, 运用响应面进行 3 因素 3 水平设计对四棱豆叶总酚提取工艺进行优化, 得到最佳的提取参数。响应面实验设计及结果见表 2, 方差分析见表 3。

由表 3 可知, 较高的 *F* 值(40.58)和较低的 *P* 值 (<0.000 1)表明回归模型显著, 失拟误差不显著表明模型拟合度较好, 因此认为该模型适合分析四棱豆总酚的提取。模型中 *R*<sup>2</sup>(0.981 2)、*R*<sub>Adj</sub><sup>2</sup>(0.957 0)、*R*<sub>Pred</sub><sup>2</sup>(0.763 1)共同表明该模型较为可靠, 预测值与实验值之间具有较强的相关性。各因素对总酚提取量影响依次为: *C*(料液比) > *B*(提取温度) > *A*(乙醇体积分数), *B*、*C* 以及平方项 *C*<sup>2</sup> 均影响极显著 (*P* < 0.01), 交互项影响及平方项 *A*<sup>2</sup>、*B*<sup>2</sup> 影响都不显著。

根据拟合的多元二次回归模型简化所得总酚提取量(mg/g)为

$$w = 6.04 - 0.038A - 0.083B + 0.095C - 0.059B^2 - 0.43C^2$$

2.2.2 响应面优化及模型验证

在确定最佳超声功率、提取时间的基础上, 通过响应面优化确定四棱豆叶总酚的最佳提取条件为: 乙醇体积分数 37.61%、提取温度 67.41 °C、料液比 1 :

25.56、超声功率 300 W、提取时间 40 min, 总酚提取量为 6.09 mg/g。为后续实验方便, 将最优条件调整为: 乙醇体积分数 38%、提取温度 67 °C、料液比 1 : 26、超声功率 300 W、提取时间 40 min, 进行 3 次验证实验, 实测总酚提取量平均值为 6.01 mg/g, 与预测值偏差(1.31%)较小, 说明该模型对四棱豆叶总酚的提取有较好的预测能力。

表 2 响应面实验设计及结果

Tab. 2 Response surface test design and results

编号	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	总酚提取量/(mg·g <sup>-1</sup> )
1	-1	-1	0	6.08
2	+1	-1	0	5.91
3	-1	+1	0	5.89
4	+1	+1	0	5.87
5	-1	0	-1	5.43
6	+1	0	-1	5.45
7	-1	0	+1	5.76
8	+1	0	+1	5.63
9	0	-1	-1	5.61
10	0	+1	-1	5.37
11	0	-1	+1	5.71
12	0	+1	+1	5.52
13	0	0	0	5.99
14	0	0	0	6.08
15	0	0	0	6.05
16	0	0	0	6.03
17	0	0	0	6.05

表 3 响应面回归模型的方差分析

Tab. 3 Variance analysis of response surface regression model

来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	0.97	9	0.11	40.58	<0.000 1	**
A	0.011	1	0.011	4.22	0.079 0	
B	0.054	1	0.054	20.44	0.002 7	**
C	0.072	1	0.072	27.10	0.001 2	**
AB	$5.625 \times 10^{-3}$	1	$5.625 \times 10^{-3}$	2.11	0.189 5	
AC	$5.625 \times 10^{-3}$	1	$5.625 \times 10^{-3}$	2.11	0.189 5	
BC	$6.25 \times 10^{-4}$	1	$6.25 \times 10^{-4}$	0.23	0.642 9	
A <sup>2</sup>	$8.059 \times 10^{-3}$	1	$8.059 \times 10^{-3}$	3.02	0.125 6	
B <sup>2</sup>	0.015	1	0.015	5.45	0.052 2	
C <sup>2</sup>	0.77	1	0.77	290.51	<0.000 1	**
残差	0.019	7	$2.664 \times 10^{-3}$			
失拟误差	0.014	3	$4.75 \times 10^{-3}$	4.32	0.095 8	
纯误差	$4.4 \times 10^{-3}$	4	$1.10 \times 10^{-3}$			
总离差	0.99	16				

注: \*\*表示差异极显著 ( $P < 0.01$ );  $R^2 = 0.981 2$ ,  $R^2_{Adj} = 0.957 0$ ,  $R^2_{Pred} = 0.763 1$ 。

### 2.3 抗氧化能力分析

#### 2.3.1 DPPH 自由基清除率分析

如图 2(a) 所示, 以维生素 C (V<sub>C</sub>) 为阳性对照, 随着四棱豆叶总酚提取物质量浓度的增加, 提取物对 DPPH 自由基的清除率由 20.31% 增加到 82.33%, 与 V<sub>C</sub> 溶液相比, 四棱豆叶总酚提取物对 DPPH 自由基的清除率整体低于 V<sub>C</sub>, 但当其升高至一定质量浓度时, 其对 DPPH 自由基的清除率与 V<sub>C</sub> 相接近, 且 DPPH 的 IC<sub>50</sub> 为 2.09 mg/mL。由此可见, 四棱豆叶总

酚提取物浓度越高, 其对 DPPH 自由基的清除能力越强。

#### 2.3.2 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率分析

如图 2(b) 所示, 随着提取物浓度的增加, 其对 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除率也在增加, 当质量浓度为 4 mg/mL 时, 提取物对 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除率高达 99.73%, 且 ABTS<sup>+</sup> 自由基的 IC<sub>50</sub> 为 0.39 mg/mL。由此可见, 当四棱豆叶总酚提取物质量浓度超过 4 mg/mL 时, 其与 V<sub>C</sub> 对 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除效果无显著性差异。

#### 2.3.3 羟自由基清除率分析

羟自由基是一种活性氧, 具有极强的氧化能力<sup>[16]</sup>, 四棱豆叶总酚提取物清除羟自由基能力越强, 证明其抗氧化能力越强。如图 2(c) 所示, 随着总酚提取物质量浓度的增加, 羟自由基清除率也逐渐增加, 可以看出四棱豆叶总酚提取物抗氧化能力呈现质量浓度依赖性<sup>[24]</sup>, 通过·OH 的 IC<sub>50</sub> 为 0.000 32 mg/mL 可知, 其具备较强的羟自由基清除能力。

#### 2.3.4 FRAP 还原力分析

FRAP 还原力是评价抗氧化能力的重要指标, 吸光度越大, 则表示物质还原力越强。四棱豆叶总酚提取物对 Fe<sup>3+</sup> 有一定的还原能力, 其还原能力在一定质量浓度范围内呈现良好的量效关系<sup>[25]</sup>。四棱豆叶总酚提取物 FRAP 还原力如图 2(d) 所示。

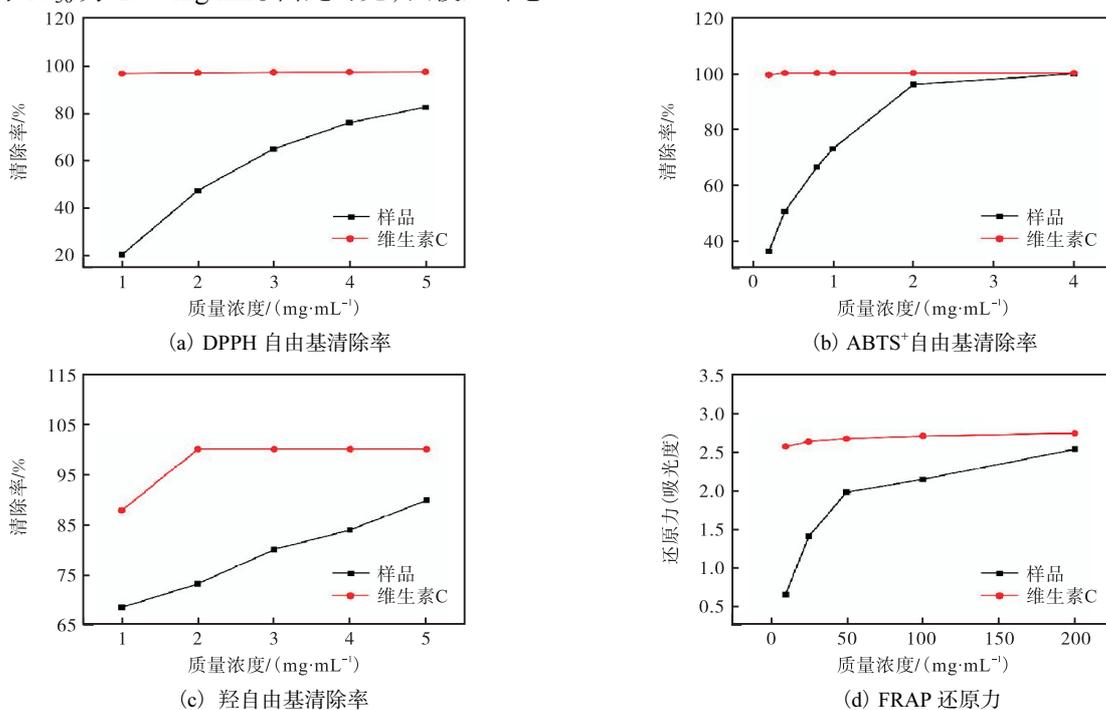


图 2 四棱豆叶总酚抗氧化能力分析

Fig. 2 Analysis of antioxidant capacity of total phenols of winged bean leaves

以  $V_C$  为阳性对照,随着四棱豆叶总酚提取物浓度的增加,当样品质量浓度为 200 mg/mL 时,还原力(吸光度 2.53)已经极其接近  $V_C$  的还原力(吸光度 2.73)。由此表明,四棱豆叶总酚提取物具备较强的还原力。

## 2.4 总酚提取物成分检测结果分析

### 2.4.1 QC 相关性分析

基于代谢物的相对定量计算样本之间的 Pearson 相关系数,样本相关性越高( $R^2$  越接近于 1)说明整个检测过程稳定性越好,数据质量越高。样本相关性分析如图 3 所示,两种离子模式下的  $R^2 \geq 0.99$ ,可以看出,四棱豆叶总酚提取物样品的检测过程稳定性较好,数据可靠。

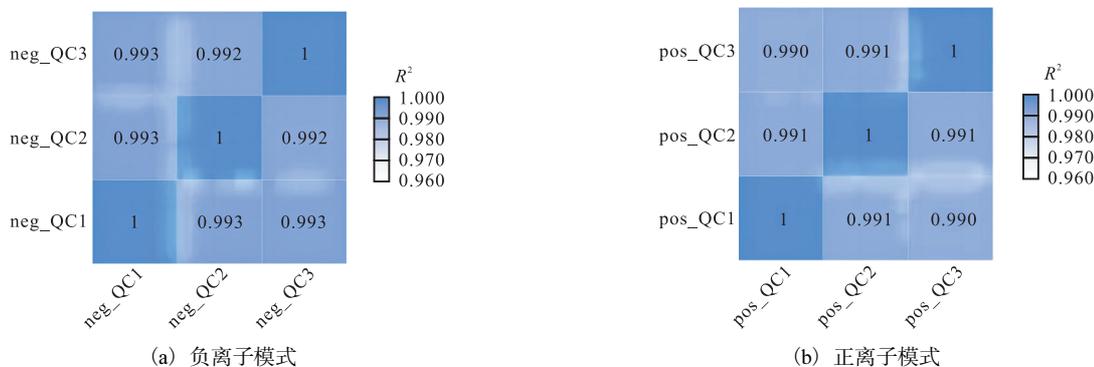


图 3 样品相关性分析

Fig. 3 Sample correlation analysis

表 4 四棱豆叶总酚提取物成分分析

Tab. 4 Phenolic compound analysis of winged bean leaves extracts

序号	名称	分子式	相对分子质量	保留时间/min	离子模式	$m/z$	峰面积	百分比/%
1	右旋奎宁酸	$C_7H_{12}O_6$	192.06	1.384	$[M-H]^-$	191.056 4	150 079 414	2.91
2	1-咖啡酰奎宁酸	$C_{16}H_{18}O_9$	354.09	1.411	$[M-H]^-$	353.089 3	1 058 334	0.21
3	绿原酸甲酯	$C_{17}H_{20}O_9$	368.11	1.472	$[M-H]^-$	367.104 9	21 310 114	0.41
4	香豆-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷	$C_{15}H_{16}O_8$	324.09	1.540	$[M-H]^-$	323.078 9	28 319 560	0.55
5	邻羟基肉桂酸	$C_9H_8O_3$	164.05	2.397	$[M+H]^+$	165.054 9	3 521 463 104	68.43
6	香豆素	$C_9H_6O_2$	146.04	2.454	$[M+H]^+$	147.044 3	123 187 782	2.39
7	原儿茶酸	$C_7H_6O_4$	154.03	5.067	$[M-H]^-$	153.019 7	62 440 226	1.21
8	肉桂酸	$C_9H_8O_2$	148.05	5.091	$[M+H]^+$	149.060 1	72 044 794	1.40
9	咖啡酸	$C_9H_8O_4$	134.04	5.098	$[M-H]^-$	133.029 8	63 022 764	1.22
10	4-羟基-3,5-二甲氧基肉桂酸	$C_{11}H_{12}O_5$	206.06	5.103	$[M+H]^+$	207.065 2	14 152 530	0.28
11	3-羟基肉桂酸	$C_9H_8O_3$	118.04	5.295	$[M-H]^-$	117.034 8	19 820 377	0.39
12	对甲氧基肉桂醛	$C_{10}H_{10}O_2$	180.08	5.320	$[M+H]^+$	163.075 6	11 747 988	0.23
13	双羟香豆素	$C_{19}H_{12}O_6$	336.06	5.325	$[M+H]^+$	337.070 4	22 220 887	0.43
14	秦皮乙素	$C_9H_6O_4$	178.07	5.374	$[M-H]^-$	177.019 5	77 947 915	1.51
15	异绿原酸 A	$C_{25}H_{24}O_{12}$	516.13	5.411	$[M-H]^-$	515.119 3	22 307 561	0.43
16	6-甲基香豆素	$C_{10}H_8O_2$	160.05	5.492	$[M+H]^+$	161.060 3	36 600 696	0.71
17	异嗪皮啶	$C_{11}H_{10}O_5$	222.05	5.533	$[M-H]^-$	221.045 5	35 737 751	0.69
18	丹叶大黄素	$C_{15}H_{14}O_4$	258.09	5.555	$[M+H]^+$	259.096 6	5 450 629	0.11
19	异阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	194.06	5.561	$[M-H]^-$	193.050 8	34 315 013	0.67
20	3-对香豆酰基奎宁酸	$C_{22}H_{28}O_{13}$	500.15	5.619	$[M-H]^-$	499.146 2	53 134 133	1.03
21	咖啡酸乙酯	$C_{11}H_{12}O_4$	208.07	5.635	$[M-H]^-$	207.066 2	14 659 514	0.28
22	二氢咖啡酸	$C_9H_{10}O_4$	164.05	5.569	$[M+H]^+$	346.128 6	5 227 477	0.10

续表

序号	名称	分子式	相对分子质量	保留时间/min	离子模式	<i>m/z</i>	峰面积	百分比/%
23	2,4,6-三甲酚	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O	136.09	5.722	[M-H] <sup>-</sup>	135.081 8	53 845 444	1.05
24	对香豆酸乙酯	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	192.08	5.773	[M-H] <sup>-</sup>	191.072 7	9 079 127	0.18
25	间羟基苯甲酸	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138.03	5.980	[M-H] <sup>-</sup>	137.024 8	275 630 940	5.35
26	3,4,5-三甲氧基肉桂酸	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	238.08	6.445	[M-H] <sup>-</sup>	219.066 6	98 158 501	1.91
27	五味子丙素	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	384.16	6.582	[M+H] <sup>+</sup>	385.164 0	268 200 080	5.21
28	10-姜酮醇	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	350.25	7.019	[M-H] <sup>-</sup>	349.238 4	255 722 061	4.97
29	羟基肉豆蔻酸	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	244.20	8.205	[M-H] <sup>-</sup>	243.196 7	51 478 310	1.00
30	肉豆蔻酸	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228.21	9.561	[M-H] <sup>-</sup>	227.202 0	350 178	0.01
31	丹酚酸 C	C <sub>26</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	492.11	9.622	[M+H] <sup>+</sup>	493.112 8	3 167 867	0.06

### 3 结 语

本研究先通过单因素实验确定较优的提取工艺范围,然后采用响应面实验优化四棱豆叶总酚提取工艺,得出最佳提取工艺为乙醇体积分数 38%、超声温度 67℃、超声功率 300 W、超声时间 40 min、料液比 1:26,在此工艺条件下的四棱豆叶总酚提取量为 6.01 mg/g。通过对总酚提取物的 DPPH·、ABTS<sup>+</sup>·、·OH 清除能力及 FRAP 还原力的研究,证实了四棱豆叶总酚具有较强的抗氧化能力。

用 LC-MS/MS 分析四棱豆叶总酚提取物的成分组成,通过数据库和二级质谱比对分析,共鉴定出 31 种有机化合物,有奎宁酸、咖啡酸、肉桂酸、绿原酸、肉豆蔻酸、丹酚酸、香豆素及其衍生物等,其中邻羟基肉桂酸含量占比最大,约为 68.43%,占比较多的有间羟基苯甲酸、五味子丙素、10-姜酮醇、右旋奎宁酸、香豆素,占比分别为 5.35%、5.21%、4.97%、2.91%、2.39%。酚酸类化合物在抗炎、抗氧化、抗衰老、抗糖尿病、抗心血管疾病等方面有着较多的应用,四棱豆叶提取物中检测出来的多种酚酸成分同样具有相似的功效及药用价值,在四棱豆未来的应用中,除去对四棱豆豆荚的加工应用,四棱豆叶的有效成分提取也将大幅度提高四棱豆整体植株的利用率,提高其应用价值,同时为其在化妆品、医药、保健品、食品等行业的应用提供参考依据。

#### 参考文献:

[1] 任晓雪. 不同栽培模式对四棱豆农艺性状、净光合速率日变化及品质构成因素的影响[J]. 陕西农业科学, 2022, 68(9): 41-45.

[2] 卢天啸. 四棱豆露地栽培技术[J]. 河北农业, 2017, 65(11): 21-22.

[3] 刘晶,王海燕,刘焕云,等. 四棱豆肽的分离鉴定及其

抗疲劳特性研究[J]. 热带作物学报, 2015, 36(12): 2216-2222.

- [4] 肖正春,袁昌齐,束成杰,等. 四棱豆与四翼豆的利用与传播[J]. 中国野生植物资源, 2018, 37(5): 1-3.
- [5] 邓婷婷,叶涛,毛春季,等. 四棱豆养分消化特性的研究[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(11): 48-51.
- [6] KOLEY T K, SINGH S, KHEMARIYA P, et al. Evaluation of bioactive properties of Indian carrot (*Daucus carota* L.): a chemometric approach[J]. Food research international, 2014, 60: 76-85.
- [7] SINGH M, DUBEY R K, KOLEY T K, et al. Valorization of winged bean [*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC] by evaluation of its antioxidant activity through chemometric analysis[J]. South african journal of botany, 2019, 121: 114-120.
- [8] 李达,马聪玉,吕青林,等. 不同产地脱脂乳木果仁总酚含量测定及其生物活性[J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(5): 572-579.
- [9] 王思花,张静,张姗姗,等. 响应面法优化豌豆皮中的总酚提取工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(8): 110-114.
- [10] GAO Y, SHI Y, MIAO N, et al. A green ultrasound-assisted enzymatic extraction method for efficient extraction of total polyphenols from *Empetrum nigrum* and determination of its bioactivities[J]. Journal of industrial and engineering chemistry, 2022, 109: 559-567.
- [11] MÜLLER L, FRÖHLICH K, BÖHM V. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay ( $\alpha$ TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay[J]. Food chemistry, 2011, 129(1): 139-148.
- [12] ZHANG H, YANG Y, ZHOU Z. Phenolic and flavonoid contents of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit tissues and their antioxidant capacity as evaluated by DPPH and ABTS methods[J]. Journal of integrative

- agriculture, 2018, 17(1): 256–263.
- [13] 李斌, 雷月, 孟宪军, 等. 响应面实验优化超声波辅助提取蓝靛果多酚工艺及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2015, 36(22): 33–39.
- [14] 文良娟, 刘苇芬. 苦瓜黄酮的提取条件及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 183–186.
- [15] 李小艳, 段鹏慧, 张兴亮, 等. 板栗果实酚类物质及其抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(4): 138–144.
- [16] ISMAIL B B, GUO M, PU Y, et al. Valorisation of baobab (*Adansonia digitata*) seeds by ultrasound assisted extraction of polyphenolics. Optimisation and comparison with conventional methods[J]. Ultrasonics sonochemistry, 2019, 52: 257–267.
- [17] RUDKE A R, DA SILVA M, ANDRADE C J D, et al. Green extraction of phenolic compounds and carrageenan from the red alga *Kappaphycus alvarezii*[J]. Algal research, 2022, 67: 102866.
- [18] FERNANDES A, FERNANDES I, CRUZ L, et al. Antioxidant and biological properties of bioactive phenolic compounds from *Quercus suber* L.[J]. Journal of agricultural & food chemistry, 2009, 57(23): 11154–11160.
- [19] HUANG J, GUO X Y, XU T Y, et al. Ionic deep eutectic solvents for the extraction and separation of natural products[J]. Journal of chromatography, 2019, 1598: 1–19.
- [20] AHMED T, RANA M R, MAISHA M R, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic content & antioxidant activity of hog plum (*Spondias pinnata* L. f. kurz) pulp by response surface methodology[J]. Heliyon, 2022, 8(10): e11109.
- [21] JANARNY G, RANAWEERA K K D S, GUNATHILAKE K D P P. Optimization of ethanol based extraction of phenolics from *Ocimum sanctum* flowers by response surface methodology[J]. Biocatalysis and agricultural biotechnology, 2022, 45: 102493.
- [22] 都昊贤, 王步江, 张静. 小麦麦麸中总酚提取工艺的响应面优化及油脂抗氧化应用研究[J]. 天津农业科学, 2022, 28(5): 75–80.
- [23] LIAO J, XUE H, LI J. Extraction of phenolics and anthocyanins from purple eggplant peels by multi-frequency ultrasound; effects of different extraction factors and optimization using uniform design[J]. Ultrasonics sonochemistry, 2022, 90: 106174.
- [24] 孙天颖, 马继洋. 酸浆宿萼多酚类物质提取工艺研究及抗氧化活性评价[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(6): 87–91.
- [25] 康兆勇, 李玉霜, 吴过, 等. 厚朴叶不同极性溶剂萃取物总酚含量及体外抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(24): 73–79.
- [26] 陈端端. 副溶血弧菌感染对红螯螯虾胰腺转录组和代谢组的影响及 *Relish* 和 *TRAF6* 基因的功能分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2022.

责任编辑: 郎婧

(上接第 28 页)

- LOPEZ-BLANCO R, et al. STAT-3 activation by differential cytokines is critical for human in vivo-generated plasma cell survival and Ig secretion[J]. Journal of immunology, 2013, 191(10): 4996–5004.
- [21] DING L, TAN Y, XU L, et al. Shengxuening extracted from silkworm excrement mitigates myelosuppression via SCF-Mediated JAK2/STAT3 signaling[J]. Chemistry & biodiversity, 2021, 18(6): e2100139.
- [22] CHEN W, ZHU L, WANG L, et al. A novel antithrombocytopenia agent, *Rhizoma cibotii*, promotes megakaryopoiesis and thrombopoiesis through the PI3K/AKT, MEK/ERK, and JAK2/STAT3 signaling pathways[J]. International journal of molecular sciences, 2022, 23(22): 14060.

责任编辑: 郎婧