

# 辣木叶乙醇提取物的抗氧化活性研究

周伟<sup>1</sup>, 刘能<sup>1,2</sup>, 林丽静<sup>1</sup>, 李积华<sup>1</sup>, 郭长青<sup>3</sup>, 雷少玲<sup>4</sup>

(1. 中国热带农业科学院农产品加工研究所, 广东湛江 524001)

(2. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北武汉 430070) (3. 河南金辣木生物科技有限公司, 河南鹤壁 458000)

(4. 广西领鲜自然农业发展有限公司, 广西南宁 530000)

**摘要:** 确定辣木叶中总抗氧化物质的最佳提取条件, 并评价其体外抗氧化活性。在单因素试验结果的基础上, 以 DPPH 自由基清除率为评价指标, 通过采用正交试验研究乙醇体积分数、提取温度、料液比和提取时间 4 个因素对辣木叶抗氧化物质抗氧化活性的影响。结果表明: 最佳提取条件为提取温度为 90 °C、料液比为 1:30、乙醇体积分数为 60%、提取时间为 1.5 h, 在此条件下, 辣木叶中多酚含量为 69.36±0.58 mg/g, 黄酮含量为 53.72±0.48 mg/g, DPPH 自由基清除率为 57.83±0.14%。辣木叶抗氧化物质粗提物对 DPPH、ABTS 和·OH 自由基具有较好的清除效果, 还原能力较弱, 其 EC<sub>50</sub> 值分别为 86、31 和 140 μg/mL, 对 DPPH、ABTS 和·OH 自由基清除率分别达到相同质量浓度 BHT 的 98.26%、99.04% 和 96.63%, 并与辣木叶粗提物质量浓度存在一定的量效关系。

**关键词:** 辣木叶; 提取; 抗氧化活性; 抗氧化物质

文章编号: 1673-9078(2017)10-149-156

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.10.022

## Antioxidant Activity of Ethanol extract from *Moringa oleifera* Leaves

ZHOU Wei<sup>1</sup>, LIU Neng<sup>1,2</sup>, LIN Li-jing<sup>1</sup>, LI Ji-hua<sup>1</sup>, GUO Chang-qing<sup>3</sup>, LEI Shao-ling<sup>4</sup>

(1. Agricultural Products Processing Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang

524001, China) (2. School of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

(3. Henan Gold Moringa Biotechnology Co., Ltd., Hebi, 458000, China) (4. Guangxi Lingxian Natural Agriculture

Development Co., Ltd., Nanning, 530000, China)

**Abstract:** To optimize the extraction conditions of antioxidant components from *Moringa oleifera* leaves and evaluate the antioxidant activity. Based on the results of univariate experiments, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging rate was used as the evaluation index. Effects of ethanol concentration, extraction temperature, the ratio of liquid to material and extraction time on the antioxidant activity of the antioxidant components from *Moringa oleifera* leaves were studied by orthogonal test. The results showed that the optimal parameters of extraction were as follows: extraction temperature of 90 °C, the ratio of liquid and material of 1:30, ethanol concentration of 60% and extraction time of 1.5 h. Under these conditions, the flavonoids and polyphenol content were 69.36±0.58 mg/g and 53.72±0.48 mg/g, respectively, and the clearance of DPPH free radical was 57.83±0.14%. The crude extracts obtained from *Moringa oleifera* leaves had strong scavenging capacity on DPPH, 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) and hydroxyl radical (·OH) free radical in a dose-dependent manner, but its reducing power was weak. The EC<sub>50</sub> values of crude extracts were 86, 31 and 140 μg/mL, respectively. The scavenging impact of the three radicals accounts for 98.26%, 99.04% and 96.63% of butylated hydroxytoluene (BHT), respectively.

**Key words:** *Moringa oleifera* leaves; extraction; antioxidant activity; antioxidant components

细胞内自由基产生的损伤可导致癌症、心血管疾病和免疫系统衰退等多种退变性疾病, 摄入外源性的抗氧化剂能有效地预防或抑制这些疾病的发生<sup>[1,2]</sup>。一

收稿日期: 2017-03-15

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划(桂科攻 15248003-18); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(1630122017016); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(1630122016007)

作者简介: 周伟(1987-), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 食品加工

通讯作者: 李积华(1979-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品科学与工程

些人工合成的抗氧化剂大多含有一定程度的毒性、诱癌性和致畸性, 甚至会引起食物中毒<sup>[3]</sup>。此外, 以高抗氧化活性的植物材料开发的抗氧化食品受到广泛的重视, 也是植物资源利用的新趋势<sup>[4]</sup>。辣木(*Moringa oleifera* Lam.), 属辣木科辣木属植物, 广泛分布于亚洲、非洲的热带和亚热带地区<sup>[5]</sup>。辣木全身均可供人类食用与利用<sup>[6]</sup>。其中辣木叶含有丰富的钾、钙、磷、必需氨基酸以及多酚等物质<sup>[7]</sup>。研究已表明辣木叶具有抗氧化<sup>[8-10]</sup>、抗癌<sup>[11]</sup>、降血脂<sup>[12]</sup>、降血糖<sup>[13-15]</sup>、增强免疫力<sup>[16]</sup>以及抑菌<sup>[17]</sup>等多种生物活性功效。

虽然许多学者对辣木叶中营养成分、活性成分及抗氧化等方面进行了研究,但辣木叶中总抗氧化物质提取工艺及其抗氧化活性的研究还未见报道。因此,本实验以 DPPH 自由基清除率为考察指标,乙醇为提溶剂,通过单因素试验和正交试验优化辣木叶中抗氧化物质提取工艺参数,并评价其体外抗氧化活性,以期天然高抗氧化性辣木食品的开发提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

辣木叶,河南金辣木生物科技有限公司;2,6-二叔丁基对甲酚、ABTS 和福林酚,美国 sigma 公司;DPPH、芦丁和绿原酸,上海源叶生物技术有限公司;羟自由基清除能力测定试剂盒,北京 Solarbio 科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

UV1780 紫外分光光度仪,日本岛津公司;ALPHA2-4 实验型冻干机,德国 CHRIST 公司;RE-2000B 旋转蒸发器,上海亚荣仪器厂;HH-4 恒温水浴锅,金坛市国旺实验仪器厂;Milli-QIntegral 纯水仪,法国密理博公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品处理

将辣木叶进行粉碎处理后,过 60 目筛,于 -20 °C 冰箱内避光保存。

#### 1.2.2 单因素试验

准确称取 1.0 g 辣木叶粉,以乙醇体积分数、提取温度、料液比和提取时间为考察因素,按照表 1 的方案设计进行单因素试验,漩涡振荡回流提取一定时间后,趁热减压抽滤,定容至 100 mL,提取液稀释后采用 DPPH 法进行提取物抗氧化活性的测定。

表 1 单因素试验

Table 1 Univariate experiments

考察因素	水平设计	固定提取条件
乙醇体积分数/%	30、40、50、60、70、80	料液比 1:20、60 °C 漩涡回流提取 1.0 h
提取温度/°C	40、50、60、70、80、90	料液比 1:20、乙醇体积分数 50%、漩涡回流提取 1.0 h
料液比	1:10、1:20、1:30、1:40、1:50	乙醇体积分数 50%、80 °C 漩涡回流提取 1.0 h
提取时间/h	0.5、1.0、2.0、3.0、4.0	乙醇体积分数 50%、料液比 1:30、提取温度 80 °C

### 1.2.3 正交试验

在最佳单因素试验结果的基础上,设计 4 因素 3 水平正交试验,其方案如表 2 所示,以 DPPH 自由基清除率为评价指标,进一步优化辣木叶抗氧化物质提取工艺参数,每个处理重复 3 次。

表 2 正交试验因素水平

Table 2 Parameters of orthogonal experiments

水平	因素			
	A 乙醇 体积分数/%	B 提取 温度/°C	C 料液比	D 提取 时间/h
-1	40	70	1:20	1.5
0	50	80	1:30	2.0
1	60	90	1:40	2.5

### 1.2.4 辣木粗提物黄酮、多酚含量的测定

#### 1.2.4.1 黄酮含量的测定

移取 1.0 mL 样品液于 10 mL 容量瓶中,加适量蒸馏水,先加 5 g/100 mL NaNO<sub>2</sub> 溶液 0.5 mL,摇匀,放置 6 min,再加 10 g/100 mL Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液 0.5 mL,摇匀,放置 6 min,加 4 g/100 mL NaOH 溶液 4 mL,用蒸馏水定容到 10 mL,摇匀,放置 15 min,以试剂空白为参比,于 510 nm 处测定吸光度值,以芦丁标准液浓度 X 为横坐标 (mg/mL),吸光度值 Y 为纵坐

标,绘制标准曲线。标准曲线为:  $Y=9.26X-0.051$ , ( $R^2=0.9992$ )。

#### 1.2.4.2 多酚含量测定

移取 1.0 mL 样品液加入到 25 mL 容量瓶中,再分别加入 9 mL 蒸馏水,混合,加入 1 mL 福林酚试剂,混合,在 5 到 8 min 内,加入 10 mL 7.0% 的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液,混合,加水定容。将上述标准溶液在 20 °C 条件下避光放置 2 h 后,用上述方法制备空白试样,在 760 nm 波长处测定吸光度。以绿原酸标准液浓度 X 为横坐标 (mg/mL),以吸光度 Y 为纵坐标绘制标准曲线。标准曲线为:  $Y=4.22X+0.0045$ ,  $R^2=1$ 。

### 1.2.5 辣木叶粗提取物抗氧化活性的测定

称取一定质量的辣木叶粉,按照最佳提取工艺参数进行提取,利用旋转蒸发器除去部分溶液后冷冻干燥即得辣木叶抗氧化物质粗提物粉末。将该粗提物粉末配制成一系列质量浓度 (0、0.025、0.05、0.10、0.20、0.40 mg/mL) 的样品测试液,分别测定其 DPPH、ABTS 与 ·OH 自由基清除率以及总还原能力,以 BHT 作为阳性对照。

#### 1.2.5.1 DPPH 自由基清除能力的测定

参照 Moyo 等<sup>[18]</sup>的方法,略有改动:称取适量 DPPH 试剂,用无水乙醇溶解,配制成浓度为 0.135

mmol/L DPPH 工作液, 取标准液或稀释后提取液 2.0 mL, 加入 2.0 mL DPPH 工作液, 漩涡混匀, 室温下避光静置 30 min, 于波长 517 nm 处测定吸光度。按照式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

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

式中,  $A_1$ : 2.0 mL 提取液+2.0 mL DPPH 工作液吸光度;

$A_2$ : 2.0 mL 提取液+2.0 mL 无水乙醇吸光度;  $A_0$ : 2.0 mL 纯水+2.0 mL DPPH 工作液吸光度。

### 1.2.5.2 ABTS 自由基清除能力的测定

参考 Moyo 等<sup>[18]</sup>的方法, 略有改动: 向盛有 7 mmol/L ABTS 溶液的烧杯中, 加入相同体积的 2.4 mmol/L 过硫酸钾溶液, 在室温和避光的条件下反应 16 h, 即得 ABTS<sup>+</sup>储备液, 使用前用无水乙醇稀释直至其在波长 734 nm 处吸光值为 0.70±0.01。0.5 mL 提取液加到 3.0 mL ABTS<sup>+</sup>溶液中, 避光反应 30 min 后, 于 734 nm 波长处测定吸光度。按照式(2)计算 ABTS 自由基清除率。

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = [1 - A_s / A_c] \times 100 \quad (2)$$

式中,  $A_c$ : 0.5 mL 纯水加 3.0 mL ABTS<sup>+</sup>试液的吸光值;

$A_s$ : 0.5 mL 样品液加 3.0 mL ABTS<sup>+</sup>试液的吸光值。

### 1.2.5.3 总还原力的测定

吸取 1.0 mL 样品液于试管中, 加入 1.5 mL 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH=6.6)、1.5 mL 质量分数为 1% 的铁氰化钾, 混匀后于 50 °C 恒温水浴中反应 20 min, 冷却至室温后各加入 1.5 mL 质量分数为 10% 的三氯乙酸充分混匀后在离心机中以 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2.5 mL、加入 0.5 mL 新配置的质量分数为 0.1% 的三氯化铁溶液和 2 mL 蒸馏水, 在常温下充分混匀后在波长为 700 nm 处测定各个试管中样品的吸光度值 A (以纯水作为参比)。

### 1.2.5.4 羟自由基清除率的测定

采用试剂盒测定样品羟自由基清除能力。吸取 150 μL 试剂一、400 μL 试剂二与 100 μL 试剂三于试管中, 立即混匀, 防止局部颜色过浓, 加入 250 μL 样品液和 100 μL 试剂四, 空白管为不加样品液和试剂四, 加 350 μL 纯水, 对照管不加样品液, 加 100 μL 试剂四和 250 μL 纯水, 混匀, 37 °C 反应 60 min, 纯水调零, 于波长 536 nm 处测定吸光值, 羟自由基清除率按照式(3)计算。

$$\text{羟自由基清除率} D(\%) = (A_{\text{测}} - A_{\text{对}}) / (A_{\text{空}} - A_{\text{对}}) \times 100\% \quad (3)$$

式中,  $A_{\text{空}}$ 、 $A_{\text{对}}$ 和  $A_{\text{测}}$ : 空白管、对照管和测定管的吸光值。

### 1.2.6 数据处理

采用 SPSS 22.0、Microsoft office Excel 2016 和 Origin 8.5 分析软件对数据进行处理和作图, 试验重复

3 次, 试验数据以平均值±标准差表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素试验结果

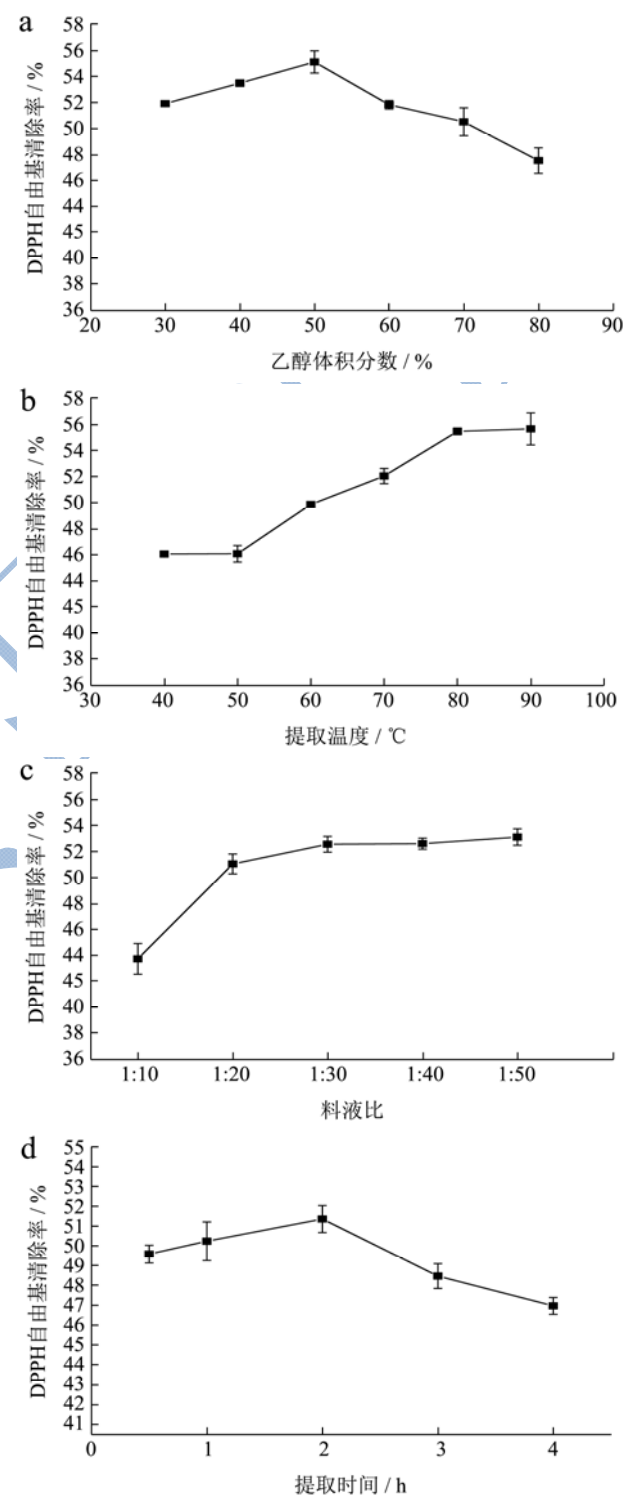


图 1 不同提取条件对 DPPH 自由基清除率的影响

Fig.1 Effects of different extraction parameters on the DPPH radical scavenging activity

乙醇体积分数对 DPPH 自由基清除率的影响如图

1a 所示。乙醇体积分数为 30%~50%时,清除率逐渐增加;在乙醇体积分数为 50%时,达到最大值;之后随着乙醇浓度的增大,清除率逐渐降低。这可能是因为辣木叶中水溶性和醇溶性抗氧化物质在 50%乙醇浓度处有较好的溶解度,而且高浓度的乙醇溶液促使一些叶绿素等成分的溶出量增加而影响了抗氧化物质的溶出<sup>[19]</sup>。因此最佳乙醇体积分数为 50%。

提取温度对 DPPH 自由基清除率的影响如图 1b 所示。提取温度为 40℃~50℃时,清除率无明显变化,之后随着温度的升高,清除率呈现直线上升的趋势,当温度高于 80℃时,上升幅度较小,趋于平缓。原因可能是一些抗氧化物质如多酚等主要分布在叶肉组织深层,稳定性好,需要较高的温度才能溶出<sup>[20]</sup>。考虑到高温会消耗更多能源以及可能会使抗氧化物质发生氧化降解反应,选择提取温度为 80℃进行后续试验。

料液比对 DPPH 自由基清除率的影响如图 1c 所

示。料液比从 1:10 上升至 1:30 时, DPPH 自由基清除能力增加显著;继续增加料液比,清除率呈水平趋势,增加缓慢。这说明适当增加料液比有利于提高辣木叶中抗氧化物质的浸出量,但过大的料液比会增加生产成本并对后期分离纯化处理不利<sup>[19]</sup>。综合考虑,1:30 为最佳料液比。

提取时间对 DPPH 自由基清除率的影响如图 1d 所示。提取时间从 0.5 h 增加到 2.0 h 时,清除率呈上升趋势,在提取时间为 2.0 h 时达到最高值,继续延长提取时间,清除率呈下降的趋势。这可能是因为提取时间过长会导致辣木叶活性成分被氧化或分解。因此,选取 2.0 h 为最佳提取时间。

## 2.2 正交试验分析

### 2.2.1 正交试验结果

表 3 正交试验结果

Table 3 Orthogonal experiment results

序号	A	B	C	D	DPPH 自由基清除率/%
1	-1	-1	-1	-1	50.86±0.29
2	-1	0	0	0	53.15±0.46
3	-1	1	1	1	56.10±1.04
4	0	-1	0	1	52.40±0.56
5	0	0	1	-1	53.27±0.12
6	0	1	-1	0	55.07±0.99
7	1	-1	1	0	52.18±0.67
8	1	0	-1	1	52.44±0.12
9	1	1	0	-1	57.09±0.37
K1	160.11	155.44	158.37	161.21	
K2	160.74	158.86	162.64	160.40	
K3	161.71	168.26	161.55	160.94	
k1	53.37	51.81	52.79	53.74	
k2	53.58	52.95	54.21	53.47	
k3	53.90	56.90	53.85	53.65	
R	0.54	4.28	1.43	0.18	

表 4 正交试验结果方差分析

Table 4 Analysis of variance of orthogonal experiments

来源	平方和	df	均方和	F 值	显著性
A	1.31	2	0.65	1.78	0.196
B	88.19	2	44.09	120.44	0.000
C	9.87	2	4.94	13.48	0.000
D	0.34	2	0.17	0.47	0.634
误差	6.59	18	0.37		

正交试验结果如表 3 所示。由该表可知, 极差 R 值  $B>C>A>D$ , 即对辣木叶提取液总抗氧化物质提取的影响主次因素为提取温度>料液比>乙醇体积分数>提取时间。由 k 值可得出最佳提取组合为  $A_1B_1C_0D_{-1}$ , 即提取温度为 90 °C, 料液比为 1:30, 乙醇体积分数为 60%, 提取时间为 1.5 h。

由表 4 可以看出, 正交试验中提取温度和料液比 2 个因素对试验结果都有极大的显著性, 显著性水平均低于 0.001, 乙醇体积分数和提取时间影响不显著。表 3 中实验 9 满足最佳提取工艺条件, 辣木叶提取液对 DPPH 自由基的清除率为  $57.09\pm0.37\%$ 。

### 2.2.2 实验结果验证

为评估最优提取工艺的可靠性, 准确称取 3 份辣木叶粉, 每份质量为 1.0 g, 按照最佳提取工艺参数进行提取, 三次平行试验所测定 DPPH 自由基清除率分别为 57.98%、57.70%和 57.81%, 即 DPPH 自由基清除率为  $57.83\pm0.14\%$ , 数值接近, 差异较小, 说明该提取工艺较为可靠有效, 可考虑作为扩大生产的提取条件, 测定结果见表 5。

表 5 最优工艺参数的验证结果

Table 5 Verification result for optimum technological conditions

实验号	DPPH 自由基清除率/%
1	57.98
2	57.70
3	57.81

### 2.3 辣木叶粗提物中黄酮、多酚成分含量的分析

多酚类物质广泛存在于植物的叶、花以及种子组织中<sup>[21]</sup>。本研究优化辣木叶中总抗氧化物质提取条件, 测得辣木叶中多酚含量为  $69.36\pm0.58$  mg/g, 黄酮含量为  $53.72\pm0.48$  mg/g。多酚类化合物可以显著地提高植物粗提取物清除自由基或分解氧化物的能力, 具有协同效应<sup>[22]</sup>。高秋玉<sup>[23]</sup>等人认为黄酮类物质是辣木叶抗氧化有效成分之一。

### 2.4 辣木叶抗氧化粗提取物的抗氧化活性

由图 2 可得出, 在质量浓度为 0.025 mg/mL~0.4 mg/mL 范围内, 辣木叶粗提取的 DPPH 自由基清除率随着质量浓度的增加而增加, 清除率从 18.54%上升至 76.15%, 当质量浓度达到最大值 0.2 mg/mL 时, 其清除能力是同质量浓度条件下阳性对照 BHT 的 98.26%, 这说明辣木叶粗提物的 DPPH 自由基清除能力较强, 经计算后, 辣木粗提物清除 DPPH 自由基的半数清除

质量浓度 ( $EC_{50}$ ) 为 86  $\mu$ g/mL。

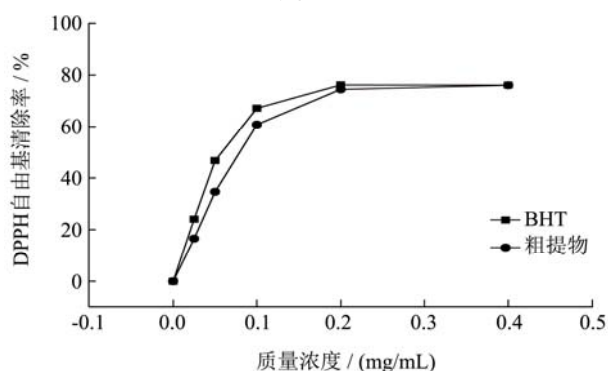


图 2 辣木叶粗提物对 DPPH 自由基的清除能力

Fig.2 Effects of the crude extracts obtained from *Moringa oleifera* leaves on the DPPH free radicals scavenging ability

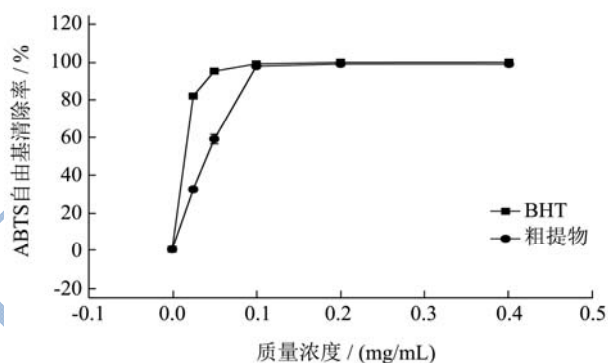


图 3 辣木叶粗提物对 ABTS 自由基的清除能力

Fig.3 Effects of the crude extracts obtained from *Moringa oleifera* leaves on the ABTS free radicals scavenging ability

由图 3 可知, 辣木叶总抗氧化物质与 BHT 清除 ABTS 自由基的  $EC_{50}$  分别为 31  $\mu$ g/mL 和 8.4  $\mu$ g/mL。随着粗提物质量浓度的升高, ABTS 自由基清除率呈逐渐升高的趋势, 并趋于平缓, 其清除率从 32.06% 上升到 98.76%, 在浓度为 0.1 mg/mL 时, ABTS 清除率高达 97.60%, 达到同质量浓度 BHT 的 ABTS 清除率的 98.75%, 之后其清除率趋于平缓。

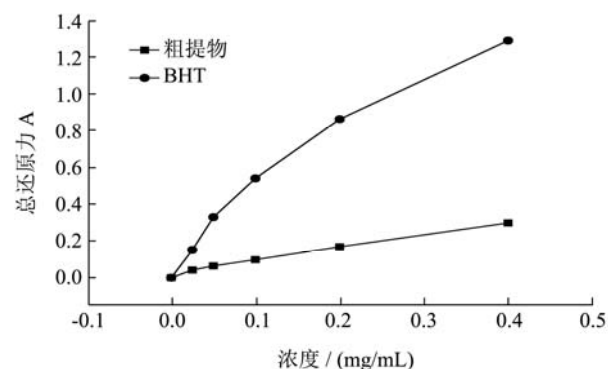


图 4 辣木叶粗提物总还原能力

Fig.4 Reducing power of the crude extracts obtained from *Moringa oleifera* leaves

辣木叶粗提取物的总还原力见图 4, 随着质量浓

度的增加,其还原能力呈上升趋势,呈剂量依赖性。这与 Singh<sup>[24]</sup>等人的报道一致,认为辣木叶粗提取物具有一定的还原能力,原因可能是辣木叶粗提取物多酚物质是一种电子供体,终止自由基链反应,将自由基转变成稳定物质。Thirugnanasampandan<sup>[25]</sup>等人报道发现植物粗提取物的还原能力与多酚类物质存在一定关系。

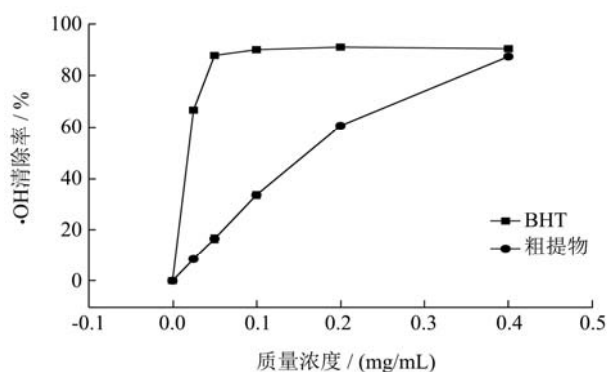


图5 辣木叶粗提取物对·OH自由基的清除能力

Fig.5 Effects of the crude extracts obtained from *Moringa oleifera* leaves on the ·OH free radicals scavenging ability

由图5可知,在0.025 mg/mL至0.4 mg/mL浓度范围内,辣木叶抗氧化粗提取物的·OH清除率曲线几乎呈线性上升的趋势,其清除率从8.48%增加到87.29%,在此浓度范围内,粗提物对·OH的清除效果与其浓度存在量效关系,在浓度为0.4 mg/mL时,粗提物的·OH清除率是BHT的96.63%。经计算得出,辣木叶粗提物与BHT清除·OH的EC<sub>50</sub>分别为140和2.3 μg/mL。

Moyo<sup>[18]</sup>等人比较辣木叶丙酮提取物与水提取物的抗氧化能力,结果表明其丙酮提取物的DPPH与ABTS自由基清除能力强于水提取物,在浓度为1.0 mg/mL时,丙酮提取物对DPPH和ABTS自由基清除率分别达到相同质量浓度BHT的99.61%和96.75%,对DPPH清除能力强于ABTS自由基清除能力,Sreelatha<sup>[10]</sup>等人研究发现辣木叶甲醇提取物可以显著地减少DPPH自由基,但其DPPH自由基清除能力弱于丙酮提取物;本实验以乙醇为提取溶剂,在辣木粗提物浓度为0.4 mg/mL时,对DPPH和ABTS自由基清除率便可分别高达相同质量浓度BHT的98.26%和99.04%,对ABTS自由基清除能力强于DPPH清除能力,这与Moyo<sup>[18]</sup>的研究结果不一致,存在这种差异性的原因可能是提取溶剂极性或者植物生长环境的不同<sup>[10]</sup>。从EC<sub>50</sub>值看,辣木叶粗提物对3种自由基的清除能力由高到低依次为ABTS>DPPH>·OH,这说明粗提物对不同自由基的清除能力不同,这可能与辣木叶粗提取物中黄酮、多酚类等成分芳环结构上羟基结构有关<sup>[26]</sup>。由图2和图3可知,辣木叶乙醇提取液具有较强的清除DPPH、

ABTS自由基的能力, Lu<sup>[27]</sup>等人研究发现DPPH自由基清除率与多酚浓度具有高度相关性,这说明在辣木叶乙醇提取液中,其多酚类成分含量较高。虽然不同实验条件和提取溶剂会影响植物中抗氧化活性<sup>[28]</sup>,但在本研究方法的基础上,乙醇毒性小,安全系数高,是提取辣木叶中抗氧化活性物质的理想溶剂。

Vongsak<sup>[9]</sup>等人以辣木鲜叶或干叶为原料,采用压榨、高温浸提、常温浸渍以及索氏回流等方式提取辣木叶中抗氧化物质,研究结果表明以常温浸渍的方式处理辣木干叶可以有效促进抗氧化物质的溶出,但常温浸渍方式耗时长,效率低;超临界二氧化碳萃取<sup>[29]</sup>、超声-微波辅助萃取<sup>[30]</sup>等现代提取技术已应用到天然植物中活性成分的提取,虽然这些技术具有时间短、低温提取以及溶出率高等优点,但是漩涡振荡回流提取技术操作简单、性价比高,符合企业的现实需求,更易于工业化生产的推广。

### 3 结论

本试验以DPPH自由基清除率为评价指标,采用单因素试验和正交试验确定了辣木叶中总抗氧化物质提取工艺参数,最佳提取条件为提取温度为90℃、料液比为1:30、乙醇体积分数为60%、提取时间为1.5 h。其中提取温度和料液比两个因素对DPPH自由基清除率影响较大,具有极显著水平。在此条件下,辣木叶提取液DPPH自由基清除能力为57.83±0.14%。辣木叶抗氧化物质粗提物具有较好的清除自由基的能力,总还原力较弱,其清除DPPH、ABTS和·OH自由基的EC<sub>50</sub>分别为86、31和140 μg/mL,且具有较好的剂量依赖性,这将为高抗氧化性辣木产品的开发提供了理论依据。

### 参考文献

- [1] 江慎华,王书源,马海乐,等.丁香活性物质提取工艺优化与抗氧化活性研究[J].农业机械学报,2010,41(1):132-138  
JIANG Shen-hua, WANG Shu-yuan, MA Hai-le, et al. Extracting technology and antioxidant activity of bioactive components from Clove [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(1): 132-138
- [2] 彭芍丹,李积华,唐永富,等.菠萝蜜不同部位抗氧化性的研究[J].热带作物学报,2013,34(9):1737-1741  
PENG Shao-dan, LI Ji-hua, TANG Yong-fu, et al. Antioxidant property of different parts from jackfruit [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(9): 1737-1741
- [3] 李瑞,夏秋瑜,赵松林,等.原生态椰子油体外抗氧化活性[J].热带作物学报,2009,30(9):1369-1373

- LI Rui, XIA Qiu-yu, ZHAO Song-lin, et al. *In vitro* antioxidant activity of virgin *Coconut* oil [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(9): 1737-1741
- [4] 李洋,马文平,倪志婧.宁夏枸杞体外抗氧化机理研究[J].食品科学,2014,35(1):79-84
- LI Yang, MA Wen-ping, NI Zhi-jing. Mechanism underlying the *in vitro* antioxidant capacity of *Goji Berries* (*Lycium barbarum* L.) [J]. Food Science, 2014, 35(1): 79-84
- [5] 岳秀洁,李超,扶雄.超声提取辣木叶黄酮优化及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2016,37(1):226-231
- YUE Xiu-jie, LI Chao, FU Xiong. Optimization of ultrasonic extraction of flavonoids from *Moringa stenopetala* leaves and their antioxidant activities [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(1): 226-231
- [6] Oluduro O A, Aderiyee B I, Connolly J D, et al. Characterization and antimicrobial activity of 4-(beta-D-Glucopyranosyl-1->4-alpha-L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl thiocarboxamide: a novel bioactive compound from *Moringa oleifera* seed extract [J]. Folia Microbiologica, 2010, 55(5): 422-426
- [7] McBurney R P H, Griffin C, Paul A A, et al. The nutritional composition of African wild food plants: from compilation to utilization [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2004, 17(3): 277-289
- [8] Gupta R, Mathur M, Bajaj V K, et al. Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of *Moringa oleifera* in experimental diabetes [J]. Journal of Diabetes, 2012, 4(2): 164-171
- [9] Vongsak B, Sithisarn P, Mangmool S, et al. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method [J]. Industrial Crops & Products, 2013, 44(1): 566-571
- [10] Sreelatha S, Padma P R. Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2009, 64(4): 303-311
- [11] Tiloke C, Phulukdaree A, Chuturgoon A A. The antiproliferative effect of *Moringa oleifera* crude aqueous leaf extract on human esophageal cancer cells [J]. Journal of Medicinal Food, 2016, 19(4): 398-403
- [12] Mbikay M. Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronichyperglycemia and dyslipidemia: a review [J]. Frontiers in Pharmacology, 2012, 3(24): 1-12
- [13] Stohs S J, Hartman M J. Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera* [J]. Phytotherapy Research, 2015, 29(6): 796-804
- [14] 陈瑞娇,朱必凤,王玉珍,等.辣木叶总黄酮的提取及其降血糖作用[J].食品与生物技术学报,2007,26(4):42-45
- CHEN Rui-jiao, ZHU Bi-feng, WANG Yu-zhen, et al. Extraction and hypoglycemic effect of the total flavonoid from leaves of *Moringa oleifera* [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2007, 26(4): 42-45
- [15] Yassa H D, Tohamy A F. Extract of *Moringa oleifera* leaves ameliorates streptozotocin-induced diabetes mellitus in adult rats [J]. Acta Histochemica, 2014, 116(5): 844-854
- [16] Gupta A, Gautam M K, Singh R K, et al. Immunomodulatory effect of *Moringa oleifera* Lam extract on cyclophosphamide induced toxicity in mice [J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2010, 48(11): 1157-1160
- [17] Chuang P H, Lee C W, Chou J Y, et al. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam [J]. Bioresource Technology, 2007, 98(1): 232-236
- [18] Moyo B, Oyedemi S, Masika P J, et al. Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake [J]. Meat Science, 2012, 91(4): 441-447
- [19] 张黎明,李瑞超,郝利民,等.响应面优化玛咖叶总黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2014, 40(4):233-239
- ZHANG Li-ming, LI Rui-chao, HAO Li-min, et al. Response surface methodology for optimization of extracting total flavonoids from *Maca* leaves and antioxidant evaluation [J]. Modern Food science and Technology, 2014, 40(4): 233-239
- [20] 王星天,李桂水,程丽君,等.响应面试验优化桑叶茶中游离氨基酸与多酚的提取工艺[J].食品科学,2015,36(24):83-88
- WANG Xing-tian, LI Gui-shui, CHENG Li-jun, et al. Optimization of the extraction process free amino acids and polyphenols from *Mulberry* leaf tea by response surface methodology [J]. Food Science, 2015, 36(24): 83-88
- [21] Siddhuraju P, Becker K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2003, 51(8): 2144-2155
- [22] Adedapo A A, Jimoh F O, Koduru S. Antibacterial and antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Calpurnia aurea* [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2008, 8(1): 53

- [23] 高秋玉,邓小宽,刘丽琼,等.辣木叶抗氧化活性研究及活性成分含量测定[J].食品工业科技,2016,37(23):324-327  
GAO Qiu-yu, DENG Xiao-kuan, LIU Li-qiong, et al. Research of antioxidative activity and determination of active ingredients in *Moringa oleifera* Lam leaves [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(23): 324-327
- [24] Singh B N, Singh B R, Singh R L, et al. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera* [J]. Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2009, 47(6): 1109-1116
- [25] Thirugnanasampandan R, Mahendran G, Bai V N. Antioxidant properties of some medicinal *Aristolochiaceae* species [J]. African Journal of Biotechnology, 2008, 7(4): 357-361
- [26] Bobilya D J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2002, 13(10): 572-584
- [27] Liu F, Ng T B. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs [J]. Life Sciences, 2000, 66(8): 725-735
- [28] Bimakr M, Rahman R A, Taip F S, et al. Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves [J]. Food & Bioproducts Processing, 2011, 89(1): 67-72
- [29] 吕晓亚,白新鹏,伍曾利,等.辣木叶水溶性蛋白的超声-微波萃取及其性质研究[J].食品工业科技,2016,37(5):212-216, 221  
LV Xiao-ya, BAI Xin-peng, WU Zeng-li, et al. Extraction and physicochemical properties of soluble protein from *Moringa* leaves by ultrasonic and microwave [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(5): 212-216, 221
- [30] Frankel E N, Meyer A S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2000, 80(80): 1925-1941