

## 溶剂浸提油橄榄鲜果多酚及抗氧化活性分析

刘捷<sup>1</sup>, 王寒冬<sup>1</sup>, 王碧霞<sup>1</sup>, 徐洲<sup>1</sup>, 周莉君<sup>1</sup>, 苏光烂<sup>2</sup>, 丁春邦<sup>1\*</sup><sup>1</sup>四川农业大学生命科学学院, 雅安 625014; <sup>2</sup>凉山州中泽新技术开发有限责任公司, 西昌 615000

**摘要:**以油橄榄鲜果为研究对象,通过响应面法优化油橄榄鲜果中多酚的溶剂浸提工艺,并测定多酚提取液的抗氧化活性。在单因素试验的基础上,以多酚提取率为响应值,选择料液比、浸提时间、浸提温度进行 Box-Behnken 试验设计,建立二次回归模型,油橄榄鲜果多酚的最佳提取工艺条件为:料液比 1:25( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、浸提时间 4.5 h、浸提温度 46 °C,该条件下多酚提取率为  $5.14 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,与理论预测值的相对误差为 1.84%;以 DPPH 自由基清除率和铜离子螯合率来评价多酚提取液的抗氧化活性,油橄榄多酚提取液对 DPPH 自由基最大清除率和铜离子最大螯合率分别为 82.96% 和 44.23%。结果表明,利用响应面法优化油橄榄鲜果中多酚的溶剂浸提工艺稳定可行,具有实用价值,多酚提取液具有较强的抗氧化能力。

**关键词:**油橄榄;多酚;溶剂浸提;抗氧化活性

中图分类号:TS201.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.S.012

## Organic Solvent Extraction and Antioxidant Capacity of Polyphenols from Olive Fruits

LIU Jie<sup>1</sup>, WANG Han-dong<sup>1</sup>, WANG Bi-xia<sup>1</sup>, XU Zhou<sup>1</sup>, ZHOU Li-jun<sup>1</sup>, SU Guang-can<sup>2</sup>, DING Chun-bang<sup>1\*</sup><sup>1</sup>College of Life Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China;<sup>2</sup>Liang Shan Zhong Ze New Tech Development Co. Ltd, Xichang 615000, Sichuan, China

**Abstract:** Response surface methodology (RSM) was employed to optimize the solvent extraction of polyphenols from fresh olive fruits. Moreover, the antioxidant activity of polyphenols extracts was determined. Based on the results of single factor experiment, a quadratic regression model was established with the extraction yield of polyphenols as dependent variable and the material-liquid ratio, extractive temperature and extractive time as independent variables, according to the Box-Behnken experimental design. The scavenging rate of DPPH free radical and the chelating rate of  $\text{Cu}^{2+}$  were used to evaluate the antioxidant activity of polyphenols. The optimum polyphenols extraction process of solvent from fresh olive fruits were obtained as follows: solid-liquid ratio 1:25 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), the extractive time 4.5 h, the extractive temperature 46 °C. Under the optimal process conditions, the yield of polyphenols was  $5.14 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  and the relative error was 1.84% compared to the predictive value. The determination of polyphenols from fresh olive fruits on maximum scavenging rate of DPPH free radical and chelating rate of  $\text{Cu}^{2+}$  were 82.96% and 44.23%. The solvent extraction of polyphenols from fresh olive fruits by response surface methodology was reliable, feasible and practical. Polyphenol extracts from olive had strong antioxidant ability.

**Key words:** olive; polyphenols; organic solvent extraction; antioxidant activity

油橄榄 (*Olea europaea* L.) 为木犀科木犀榄属常绿乔木,是世界著名的木本油料兼果用树种,其果实中的橄榄油因含有丰富的不饱和脂肪酸、微量元素、维生素、角鲨烯、黄酮类物质和多酚化合物等而素有“液体黄金”的美誉<sup>[1]</sup>。油橄榄鲜果中的多酚类化合物主要有橄榄苦苷、羟基酪醇、没食子酸、槲

皮素、芦丁、木犀草素、毛蕊花糖苷、对香豆酸等<sup>[2]</sup>,为橄榄油的主要活性成份之一,具有降低冠心病、动脉粥样硬化的发生率<sup>[3]</sup>,以及延缓骨质疏松和抗肿瘤等多种功能<sup>[4,5]</sup>,对橄榄油的风味和稳定性也有重要影响,其含量是评价橄榄油品质的指标之一<sup>[6]</sup>。

植物多酚的提取方法主要有溶剂浸提法、生物酶解提取法、微波辅助提取法、超临界流体萃取法、膜技术提取法和超声波辅助提取法等,其中有机溶

剂浸提法因不需要特殊仪器,具有提取效率高、成本低、便于工业化生产等优点而得到广泛应用<sup>[7]</sup>。目前油橄榄叶、果及果渣中的多酚物质主要利用微波辅助提取<sup>[8-9]</sup>,采用 DPPH 法、还原金属离子( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ )法评价其抗氧化活性<sup>[10-11]</sup>,而有机溶剂浸提法提取油橄榄鲜果多酚并评价其抗氧化活性鲜有报道。因此本试验采用溶剂浸提法提取油橄榄鲜果中多酚,通过响应面法(response surface methodology, RSM)优化工艺,并分析多酚提取液的抗氧化活性,为油橄榄果中多酚化合物的进一步研究提供一定的理论基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

油橄榄鲜果 采自四川省凉山州国家油橄榄良种基地,品种为皮瓜尔,去离子水洗净,-20 °C 冷冻储存备用; $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、甲醇、没食子酸、福林酚显色试剂、 $\text{CuSO}_4$ 、邻苯二酚紫、 $\text{EDTANa}_2$ ,均为分析纯,购自成都市科龙化工试剂厂;2,2-二苯基-1-苦味基肼(DPPH)购自美国 Sigma 公司。

### 1.2 仪器设备

微量移液枪、BT-124S 电子天平德国 Sartorius 公司;RM-220 超纯水机四川沃特尔科技发展有限公司;HH-6 数显恒温水浴锅常州市瑞华仪器制造有限公司;高速冷冻离心机美国 Thermo 公司;UV-1750 紫外分光光度计日本岛津公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 油橄榄鲜果多酚浸提方法

将去核油橄榄鲜果放入研钵,加液氮迅速研磨成粉末,准确称取 2.0 g 油橄榄鲜果粉末,加 80% 甲醇溶剂水浴浸提,高速冷冻离心,收集上清液,定容至 100 mL。

#### 1.3.2 油橄榄鲜果多酚含量的测定

多酚含量的测定采用 Folin-Ciocalteu 法<sup>[12]</sup>,取提取液上清液 100  $\mu\text{L}$ ,加 3 mL 蒸馏水摇匀,再加 0.2 mL 福林酚试剂,约 5 min 后加 0.8 mL 10% 碳酸钠溶液,蒸馏水定容至 5 mL,避光反应 1 h,在 765 nm 波长处检测吸光值。标准曲线为  $Y = 0.0029X + 0.0094$ ,  $R^2 = 0.9989$ ,式中  $X$  为多酚质量浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ), $Y$  为吸光值。

多酚提取率( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) =  $X \times L/m/1000$ ,式中  $X$  为提取液中多酚质量浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), $L$  为样品液体积(mL), $m$  为称取的油橄榄鲜果粉末质量(g)。

#### 1.3.3 单因素试验

分别考察浸提时间(1、2、3、4、5、6 h)、浸提温度(30、40、50、60、70 °C)和料液比(1:5、1:10、1:15、1:20、1:25、1:30  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )对油橄榄多酚提取率的影响。

#### 1.3.4 响应面法优化试验设计

根据 Box-Behnken 试验设计原理,设计三因素三水平响应面试验(表 1)。在单因素试验结果的基础上,选择料液比( $A$ )、浸提温度( $B$ )和浸提时间( $C$ )作为考察对象,以多酚提取率为响应值,获取油橄榄鲜果多酚溶剂浸提的最佳工艺参数。

表 1 因素与水平编码表

Table 1 Code table of factors and levels

水平 Level	因素 Factors		
	料液比( $A$ ) Material-liquid ratio( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	浸提温度( $B$ ) Extractive temperature( $^{\circ}\text{C}$ )	浸提时间( $C$ ) Extractive time(h)
-1	1:10	30	3
0	1:20	40	4
1	1:30	50	5

#### 1.3.5 抗氧化活性试验

##### 1.3.5.1 油橄榄多酚样品的制备

在最佳工艺条件下提取多酚,定容至 100 mL 后测出总酚浓度,得油橄榄多酚粗提液,备用。

##### 1.3.5.2 DPPH 自由基清除率的测定

采用分光光度法<sup>[13]</sup>,取 400  $\mu\text{L}$  不同浓度梯度的多酚提取液,加入 2.0 mL 0.15  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DPPH

溶液混匀,室温避光反应 30 min,517 nm 波长处检测吸光值。以同浓度  $V_c$  作为阳性对照,试验重复 3 次。

DPPH 自由基清除率( $\%$ ) =  $(1 - A_i/A_j) \times 100\%$   
式中, $A_i$  为加入样品的反应液吸光值, $A_j$  为用 80% 甲醇替代样品的反应液吸光值。

##### 1.3.5.3 $\text{Cu}^{2+}$ 螯合能力的测定

参照 Megías 等<sup>[14]</sup>的方法,并适当改进。取 400  $\mu\text{L}$   $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$   $\text{CuSO}_4$  溶液,加入 100  $\mu\text{L}$   $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的邻苯二酚紫溶液,再加入 200  $\mu\text{L}$  不同浓度的油橄榄多酚溶液,室温反应 20 min 后于 5000 rpm 离心 10 min,632 nm 波长处检测吸光值。以同浓度  $\text{EDTANa}_2$  作为阳性对照,试验重复 3 次。

$$\text{Cu}^{2+} \text{ 螯合率}(\%) = (1 - A_i/A_j) \times 100\%$$

式中, $A_i$  为加入样品的反应液吸光值, $A_j$  为用甲醇替代样品的反应液吸光值。

### 1.3.6 数据分析处理

所有试验均重复 3 次。运用 Microsoft Excel 2010、Design-expert 8.0 软件对试验数据进行分析处理以及作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 浸提温度对多酚提取率的影响

在不同浸提温度下,按料液比 1:20 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 加入浓度为 80% 的甲醇溶液浸提 3 h,结果如图 1A 所示。当温度低于 40  $^{\circ}\text{C}$  时,多酚提取率随温度升高而增加,40  $^{\circ}\text{C}$  时达到最高  $5.06 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ;而当温度高于 40  $^{\circ}\text{C}$  后,提取率随温度升高而下降后逐渐趋于平

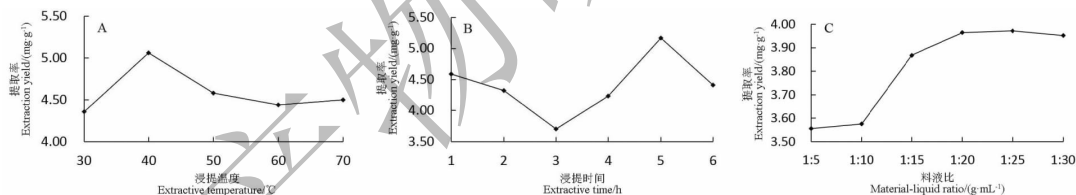


图 1 浸提温度(A)、浸提时间(B)和料液比(C)对多酚提取率的影响

Fig. 1 Effects of extractive temperature(A), extractive time(B) and material-liquid ratio(C) on extraction yield of polyphenols

### 2.2 响应面法优化油橄榄多酚提取工艺

#### 2.2.1 响应面试验设计与结果

响应面试验结果如表 2 所示,利用 Design-Expert 8.0 软件对试验数据进行二次多元回归拟合,

稳。由于高温可使部分热不稳定的多酚类物质分解<sup>[12]</sup>,所以当温度大于 40  $^{\circ}\text{C}$  时,多酚提取率开始减少。因此,优化油橄榄多酚浸提温度选为 30、40、50  $^{\circ}\text{C}$ 。

#### 2.1.2 浸提时间对多酚提取率的影响

在浸提温度 40  $^{\circ}\text{C}$  的条件下,按照料液比 1:20 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 加入浓度 80% 的甲醇溶液进行浸提,不同浸提时间对油橄榄多酚提取率的影响结果如图 1B,当浸提时间少于 3 h 时,多酚提取率随时间延长而降低,在 3 h 之后又开始升高,到 5 h 时,多酚提取率达到最大值  $5.16 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  后再下降。因此,优化提取时间选为 4、5、6 h。

#### 2.1.3 料液比对多酚提取率的影响

在浸提温度为 40  $^{\circ}\text{C}$  条件下,按照不同料液比加入浓度 80% 的甲醇溶液浸提 3 h,结果如图 1C 所示。当料液比在 1:5 ~ 1:20 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 范围内时,随着料液比的增加,多酚提取率也逐步增加,但当料液比达到 1:20 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 及以上时,则不再增加而趋于平稳。这可能是料液比为 1:20 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 时,材料中多酚基本已经溶出,溶液趋于饱和<sup>[15]</sup>。考虑节约成本和后续浓缩工作等因素<sup>[16]</sup>,优化料液比应取为 1:10、1:20、1:30 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。

得到油橄榄多酚提取率( $Y$ )对料液比( $A$ )、浸提温度( $B$ )、浸提时间( $C$ )的二次多项回归模型为:

$$Y = 4.73 + 0.24A + 0.42B + 0.24C - 0.098AB + 0.41AC + 0.096BC - 0.56A^2 - 0.12B^2 - 0.3C^2$$

表 2 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2 Box-Behnken design and result

编号 No.	因素 Factor			多酚提取率 Yield of polyphenols ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
	A	B	C	
1	1:20	40	4	4.782
2	1:30	50	4	4.582
3	1:20	50	5	5.017
4	1:10	30	4	3.328
5	1:20	30	3	3.743

续表 2 (Continued Tab. 2)

编号 No.	因素 Factor			多酚提取率 Yield of polyphenols (mg · g <sup>-1</sup> )
	A	B	C	
6	1: 30	30	4	3.971
7	1: 10	40	3	3.715
8	1: 10	40	5	3.441
9	1: 20	30	5	3.963
10	1: 20	40	4	5.093
11	1: 30	40	5	4.776
12	1: 20	40	4	4.864
13	1: 20	40	4	4.464
14	1: 20	50	3	4.415
15	1: 20	40	4	4.471
16	1: 30	40	3	3.415
17	1: 10	50	4	4.330

### 2.2.2 回归模型的方差分析和显著性检验

为了检验回归模型的有效性,对拟合的多元二次方程进行方差分析(analysis of variance, ANOVA)(表 3),结果表明,模型极显著( $P < 0.01$ ),模型的失拟项不显著( $P > 0.05$ ),可信度较高;相关系数  $R^2 = 0.9438$ ,校正  $R^2 = 0.8713$ ,说明该模型对试验拟合度较好,预测值与试验值相关性较高,可选用该模

型对油橄榄多酚提取率进行分析和预测。模型的变异系数为 4.88%,说明试验结果具有重复性。 $B$ 、 $AC$ 、 $A^2$  影响极显著, $A$ 、 $C$ 、 $C^2$  影响显著。因此,各因素对于多酚的提取率是相互作用相互影响的。三个因素对油橄榄多酚提取率的影响大小依次为料液比 > 温度 > 时间。

表 3 回归模型方差分析和显著性检验

Table 3 Estimated regression coefficients and analysis of variance (ANOVA) for the model

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 DOF	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
模型	5.07	9	0.56	13.04	0.0013	**
A	0.47	1	0.47	10.77	0.0135	*
B	1.39	1	1.39	32.22	0.0008	**
C	0.46	1	0.46	10.53	0.0141	*
AB	0.038	1	0.038	0.88	0.3787	
AC	0.67	1	0.67	15.45	0.0057	**
BC	0.037	1	0.037	0.84	0.3886	
A <sup>2</sup>	1.34	1	1.34	31.04	0.0008	**
B <sup>2</sup>	0.058	1	0.058	1.34	0.2852	
C <sup>2</sup>	0.47	1	0.47	10.80	0.0134	*
残差	0.30	7	0.043			
失拟项	0.013	3	4.310E-003	0.060	0.9785	
纯误差	0.29	4	0.027			
总和	5.38	16				
变异系数	4.88%					

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

Note: \* difference significant ( $P < 0.05$ ), \*\* difference was extremely significant ( $P < 0.01$ ).

### 2.2.3 响应面分析

根据试验结果,利用 Design-Expert 8.0 软件中的 Model Graph 作图,得到三个因素之间交互作用的响应曲面图,可以较为直观反映实验因素的交互作用<sup>[17]</sup>。图中等高线的形状可以反映出交互作用的强弱,椭圆形表示交互作用显著,而圆形则与之相反,同时闭合的椭圆形或圆形表示有最大值<sup>[18,19]</sup>。由图 2 可知,当浸提温度为 40 °C 时,随着料液比的增加,多酚提取率先升高后降低,随着浸提时间的延长,多酚提取率先升高后降低;等高线呈椭圆形,说明料液比和浸提时间两者交互作用较显著。由图 3 可知,浸提时间为 4 h 时,随着料液比的增加,多酚提取率先升高后降低,随着浸提温度的升高,多酚提取率先升高后降低;等高线呈椭圆形,说明料液比和

浸提温度两者交互作用是显著的。由图 4 可知,料液比为 1:20 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 时,随着浸提温度的升高,多酚提取率逐步升高,随着浸提时间的延长,多酚提取率先升高后降低。在一定范围内,浸提时间和浸提温度的增加会促进多酚溶出,导致多酚的提取率升高。等高线是圆形的,即说明浸提时间和浸提温度的交互作用较不显著。

### 2.2.4 验证试验

通过 Design-Expert 8.0 软件的优化,得到提取油橄榄多酚的最佳工艺条件是:料液比 1:24.3 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、浸提时间 4.5 h、浸提温度 46.3 °C,在此条件下的多酚提取率为  $5.09 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

考虑到实际操作的可行性,将优化的最佳提取工艺修改为:料液比 1:25 ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、浸提时间 4.5

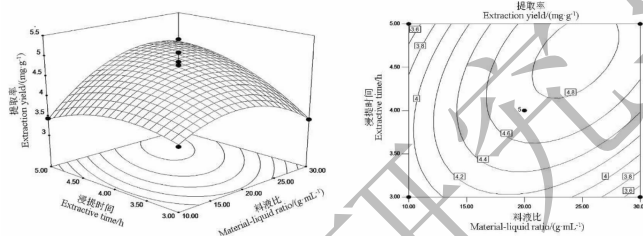


图 2 料液比和浸提时间对多酚提取率影响的响应面图及等高线图

Fig. 2 Response surface graph and contour graph showing the effects of material-liquid ratio and extractive time on the extraction yield of polyphenols

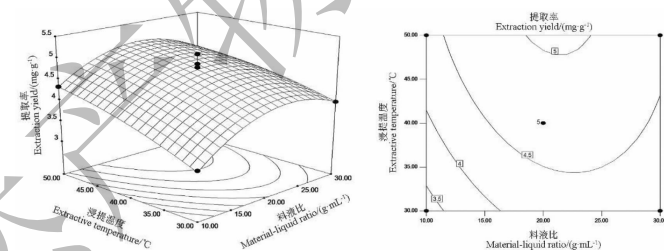


图 3 料液比和浸提温度对多酚提取率影响的响应面图及等高线图

Fig. 3 Response surface graph and contour graph showing the effects of material-liquid ratio and extractive temperature on the extraction yield of polyphenols

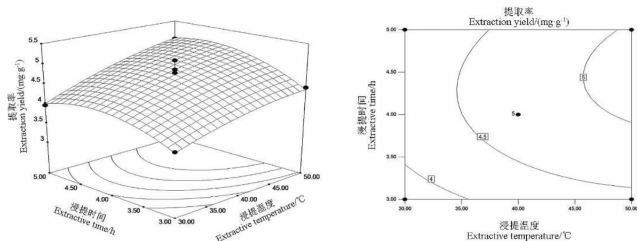


图 4 浸提时间和浸提温度对多酚提取率影响的响应面图及等高线图

Fig. 4 Response surface graph and contour graph showing the effects of extractive time and extractive temperature on the extraction yield of polyphenols

h、浸提温度 46 °C,在此条件下进行 3 次验证试验,多酚平均提取率为 5.14 mg · g<sup>-1</sup>。与理论预测值的相对误差为 1.84%,说明响应面优化最佳提取工艺参数具有实际可行性。

## 2.3 抗氧化活性分析

### 2.3.1 多酚提取液 DPPH 自由基清除能力

由图 5A 可知,油橄榄多酚提取液和 V<sub>C</sub> 对 DPPH 自由基的清除能力随反应浓度的增加而逐渐增强。当样品浓度小于 15% 时,多酚对 DPPH 自由基的清除能力与 V<sub>C</sub> 无显著差别;多酚浓度为 35% 时,

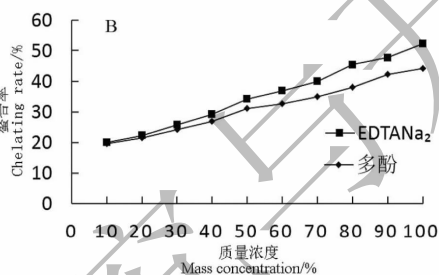
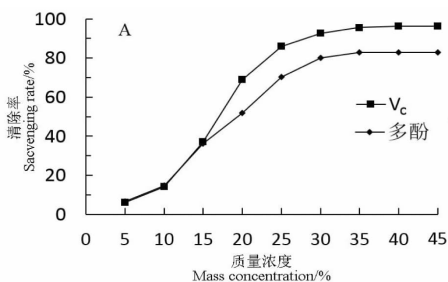


图 5 多酚提取液和 V<sub>C</sub> 对 DPPH 自由基的清除能力 (A) 及多酚提取液和 EDTANa<sub>2</sub> 对 Cu<sup>2+</sup> 离子的螯合能力 (B)

Fig. 5 The scavenging ability of DPPH free radical on polyphenol extracts (A) and V<sub>C</sub> and the chelating force of Cu<sup>2+</sup> on polyphenol extracts and EDTANa<sub>2</sub> (B)

## 3 结论

在提取工艺优化的单因素试验中,浸提时间对油橄榄多酚提取率的影响最大,其次是料液比,浸提温度是影响最小的因素。响应面试验中,交互作用最为显著的是料液比和浸提时间,其次是料液比和浸提温度,浸提时间和浸提温度较不显著。最终优化后的最佳提取工艺是:料液比 1:25 (g · mL<sup>-1</sup>),浸提时间 4.5 h,浸提温度 46 °C,在此条件下重复试验 3 次,多酚平均提取率为 5.14 mg · g<sup>-1</sup>,与理论预测值的相对误差为 1.84%。说明优化模型拟合度好,工艺参数稳定可靠,具有实用价值。

按此最佳提取工艺提取油橄榄多酚,考察油橄榄多酚的抗氧化活性,在测定多酚提取液清除 DPPH 自由基的清除率试验中,多酚的清除率高达 82.96%,IC<sub>50</sub> 值仅为 0.077 mg · mL<sup>-1</sup>;测定多酚提取液对 Cu<sup>2+</sup> 螯合率的试验中,提取液的最大螯合率为 44.23%,与对照组 EDTANa<sub>2</sub> 的最大螯合率较为接近,两者均表明油橄榄鲜果中的多酚具有较强的抗氧化活性。

### 参考文献

1 Deng MQ (邓明全), Yu N (俞宁). The Introduction and

DPPH 自由基的清除率达到 82.96% 后趋于平缓,清除能力略弱于 V<sub>C</sub> 溶剂,IC<sub>50</sub> 为 0.077 mg · mL<sup>-1</sup>,表明油橄榄多酚具有较强的自由基清除能力。

### 2.3.2 多酚提取液对 Cu<sup>2+</sup> 螯合能力

从图 5B 可知,油橄榄多酚和 EDTANa<sub>2</sub> 对 Cu<sup>2+</sup> 螯合能力随着质量浓度的增加而增加。在测定的浓度范围内,EDTANa<sub>2</sub> 对 Cu<sup>2+</sup> 螯合率最高达到 52.30%,多酚对 Cu<sup>2+</sup> 螯合率为 44.23%,说明油橄榄多酚的还原能力较强。

Cultivation Techniques (油橄榄引种栽培技术). Beijing: China Agricultural Publishing House, 2011. 10-16.

- 2 Franco MN, Galeano-Díaz T, López ó, et al. Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil. *Food Chem*, 2014, 163: 289-298.
- 3 Jia SP (贾淑平), Zeng R (曾睿), Dan WH (但卫华), et al. Study on the pharmacological action of plant polyphenols and its application. *Chin Pharm (中国药房)*, 2009, 20: 953-955.
- 4 Yang CT (杨成涛), Zhao YL (赵云令), Sun Y (孙云), et al. Effect of plant polyphenols on anti-osteoporosis. *Sci Technol Food Ind (食品工业科技)*, 2014, 35: 386-389.
- 5 Chirumbolo S. Quercetin in cancer prevention and therapy. *Integr Cancer Ther*, 2013, 12: 97-102.
- 6 Gallardo G, Gandul R, Roca M, et al. Effect of storage on the original pigment profile of Spanish virgin olive oil. *J Am Oil Chem Soc*, 2005, 82: 33-39.
- 7 Chen L (陈亮), Li YM (李医明), Chen KX (陈凯先), et al. Research progress in extraction and isolation of plant polyphenols. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2013, 44: 1501-1507.
- 8 Kong WB (孔维宝), Li Y (李阳), Bai WM (白万明), et al. Extractions of ployphenols from the pomace of olive with microwave assist. *Food Fermen Ind (食品与发酵工业)*,

- 2011, 37:233-237.
- 9 Geng SX (耿树香), Ning DL (宁德鲁), Li YJ (李勇杰), *et al.* Extraction of polyphenols from the leaves and pomace of different olive varieties with microwave assist. *J W Chin For Sci* (西部林业科学), 2014, 4:27-30.
- 10 Wang HD (王寒冬), Liu J (刘静), Liu L (刘露), *et al.* Study on the microwave-assisted extraction and antioxidant capacity of polyphenols from olive fruits. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2015, 36:204-209.
- 11 Ziogas V, Tanou G, Molassiotis A, *et al.* Antioxidant and free radical-scavenging activities of phenolic extracts of olive fruits. *Food Chem*, 2010, 120:1097-1103.
- 12 Li YC (李颖畅), Zhang X (张笑), Lv YF (吕艳芳), *et al.* Response surface optimization ultrasonic-assisted extraction of polyphenols from laver. *J Chin Inst Food Sci Tech* (中国食品学报), 2014, 14:82-89.
- 13 Braca A, De-Tommasi N, Di-Bari L, *et al.* Antioxidant principles from *Bauhinia tarapotensis*. *J Nat Prod*, 2001, 64:892-895.
- 14 Megías C, Pastor C, Torres F, *et al.* Chelating, antioxidant and antiproliferative activity of *Vicia sativa* polyphenol extracts. *Eur Food Res Technol*, 2009, 230:353-359.
- 15 Wei RB (韦睿斌), Yang Q (杨全), Pang YX (庞玉新), *et al.* A comparative study on antioxidant activity of total phenolic acid and flavonoids from different parts of *Blumea balsamifera*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27:1242-1247.
- 16 Xiong CH (熊春华), Zhou SG (周苏果), Shen C (沈忱), *et al.* Study on extraction of flavonoids and antioxidant activity in Jumi by response surface methodology. *J Chin Inst Food Sci Tech* (中国食品学报), 2014, 14:118-123.
- 17 Wang X, Wu Q, Wu Y, *et al.* Response surface optimized ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Sparganii* rhizoma and evaluation of their *in vitro* antioxidant activities. *Molecules*, 2012, 17:6769-6783.
- 18 Wang LY (王立英), Wang YZ (王艳珍), Wu LY (吴丽艳), *et al.* Optimization of supercritical carbon dioxide extraction conditions of *Semen Cassiae* volatile oil using response surface method and the research of its antimicrobial activity. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2016, 36:594-601.
- 19 Wang DW (王大为), Du CX (杜彩霞), Zhou QT (周清涛), *et al.* Optimization of twin-screw extrusion of corn spermoderm fiber by response surface methodology. *Food Sci* (食品科学), 2011, 32:6-10.
- (上接第 355 页)
- 16 Zhang W, Zhu D, Fan HJ, *et al.* Simultaneous extraction and purification of alkaloids from *Sophoraflavescens* Ait. by microwave-assisted aqueous two-phase extraction with ethanol/ammonia sulfate system. *Sep Purif Technol*, 2015, 141:113-123.
- 17 Dang YY, Zhang H, Xiu ZL. Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of phenolics from grape (*Vitisvinifera*) seed. *J Chem Technol Biot*, 2014, 89:1576-1581.
- 18 Bi PY, Chang L, Mu YL, *et al.* Separation and concentration of baicalin from *Scutellaria Baicalensis Georgi* extract by aqueous two-phase flotation. *Sep Purif Technol*, 2013, 116:454-457.
- 19 GB/T8313-2008 Determination of Total Polyphenols and Catechins Content in Tea (茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法). Beijing(北京):China Standards Press, 2008.