

荔枝壳多酚超声辅助双水相提取工艺优化及其体外抗氧化活性研究

郑亚男¹, 蔡 旭^{2,3*}, 邓艾平^{1*}

(1. 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院药学部, 湖北 武汉 430014; 2. 武汉大学中南医院医学科学研究中心, 湖北 武汉 430065; 3. 清华大学工程物理系, 北京 100084)

摘要: **目的** 优化双水相体系提取荔枝壳多酚工艺, 并考察其抗氧化活性。**方法** 制备 6 种双水相体系提取荔枝壳多酚, 筛选最佳的双水相提取体系。通过单因素试验、响应面法对乙醇体积分数、硫酸铵浓度、液料比、超声时间、提取温度进行考察, 获得最佳提取工艺参数。结合体外抗氧化活性及其稳定性评价, 探讨双水相提取荔枝壳多酚的技术优势。**结果** 最佳条件为乙醇体积分数 31%, 料液比 22 : 1, 超声时间 42 min, 荔枝壳多酚得率为 8.54%, 含量高达 88.2%。消化前后, 乙醇-硫酸铵双水相提取的荔枝壳多酚具有良好的 DPPH、羟自由基清除能力。虽然乙醇-硫酸铵双水相提取的荔枝壳多酚结构不稳定, 但其含量、抗氧化活性更高, 优于乙醇提取的荔枝壳多酚。**结论** 乙醇-硫酸铵双水相体系对抗氧化活性较强的荔枝壳多酚具有良好的提取能力, 是一种高效快速提取天然活性成分的方法。

关键词: 荔枝壳; 多酚; 超声辅助双水相提取工艺; 体外抗氧化活性; 响应面法

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)12-4102-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.12.042

荔枝来源于无患子科荔枝属荔枝 *Litchi chinensis* Sonn. 的果实, 其果肉、种子、果壳均具有较高的药用、食用价值, 为药食两用资源^[1-2]。荔枝壳性味苦、寒, 具有除湿止痢、止血的功效^[3]。研究表明, 荔枝壳含有丰富的多酚类、酚酸、多糖类等物质^[4], 具有抗氧化^[5]、抗炎^[6]、调节免疫^[7]等作用。多酚类成分是荔枝壳的主要活性成分, 被开发为奥力高乐、糕点、洗发水等功能食品、日用品。

双水相体系由 2 个互不相溶的体系组成, 利用组分在双水相体系内的分配系数差异进行高效的提取与纯化^[8]。双水相提取条件温和, 可保留分子的生物活性, 适用于蛋白质、多肽、核酸等大分子的提取分离, 如聚乙二醇-柠檬酸钠提取 *Bacillus subtilis* D3d 木聚糖酶^[9]、甲醇-麦芽糊精提取醋酸格拉替雷^[10]、聚乙二醇-磷酸氢二钾分离质粒 DNA^[11]等。双水相体系也常用于提取中药多糖、活性小分子的研究, 如湖北海棠多糖^[12]、陈皮黄酮^[13]、巴戟天游离蒽醌^[14]等。相较于传统的溶剂提取方法, 双水相提取效率高, 活性成分含量高, 避免了反复低效的提取和萃取操作^[15]。本实验拟通过单因素实验、响应面法优化超声辅助双水相提取荔枝壳多酚, 获得最佳提取工艺, 并评价其体外抗氧化活性, 为进一步开发利用荔枝壳资源提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 Varioskan LUX 多功能酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); TGL-16M 台式高速冷冻离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); 多功能粉碎机 (皇代

电器有限公司); KQ5200DE 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 电子精密天平 (万分之一、十万分之一, 瑞士 Mettler-Toledo 公司); FD-1D-50 真空冷冻干燥机 (上海达洛科学仪器有限公司); Gen Pure 超纯水系统 (德国 TKA 公司)。

1.2 试剂与药物 硫酸铵、磷酸二氢钾、无水碳酸钠 (纯度 $\geq 98\%$, 上海麦克林生化科技有限公司); 没食子酸、维生素 C、水杨酸、硫酸亚铁、1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (纯度 $\geq 98\%$, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 福林酚试剂、胃蛋白酶 (纯度 $\geq 60\%$, 上海源叶生物科技有限公司); 正丙醇、丙酮、无水乙醇、盐酸 (分析纯, 北京市通广精细化工公司); H_2O_2 (济南嘉阳化工有限公司); 磷酸缓冲盐水溶液、Tris-HCl 缓冲溶液、蒸馏水为自制。荔枝于 2022 年 2 月购于武汉, 经湖北中医药大学陈科力教授鉴定为正品, 除去果肉及种子, 得荔枝壳, 经清洗冻干、粉碎、过筛后备用, 编号为 LZK20220210, 保存于华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院药学部。

2 方法

2.1 双水相体系制备 称取同质量的硫酸铵或磷酸二氢钾, 置于锥形瓶中, 按比例加水溶解, 逐渐滴加有机试剂, 获得澄清透明的双水相体系, 见表 1。

2.2 荔枝壳多酚提取 称取荔枝壳粉末 M_1 , 置入锥形瓶中, 加不同双水相体系摇匀, 超声提取 (功率 300 W)。将液料比 20 : 1、超声时间 30 min、提取温度 40 $^{\circ}C$ 作为初始提取条件, 70% 乙醇作为对照组 M7, 提取完成后过滤, 静

收稿日期: 2022-12-14

作者简介: 郑亚男 (1988—), 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为中药资源开发。E-mail: 273088845@qq.com

* 通信作者: 邓艾平 (1969—), 女, 硕士, 主任药师, 研究方向为临床药学分析。E-mail: 1986818536@qq.com

蔡 旭 (1989—), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向为中药学。E-mail: 616112135@qq.com

表 1 不同组分双水相体系组成

编号	有机试剂及其占比	无机盐及其质量浓度	水体积占比/%
ATPS1	乙醇 30%	硫酸铵 0.35 g/mL	70
ATPS2	丙酮 30%	硫酸铵 0.35 g/mL	70
ATPS3	正丙醇 30%	硫酸铵 0.35 g/mL	70
ATPS4	乙醇 30%	磷酸二氢钾 0.35 g/mL	70
ATPS5	丙酮 30%	磷酸二氢钾 0.35 g/mL	70
ATPS6	正丙醇 30%	磷酸二氢钾 0.35 g/mL	70
M7	70% 乙醇		30

置分层，取上层溶液，冻干后获得荔枝壳多酚提取物，称重 M_2 。精确称取荔枝壳多酚提取物，置于量瓶中，加水超声溶解，稀释至刻度，摇匀，制成样品溶液，记录体系体积 V 。

2.3 线性关系、方法学考察

2.3.1 对照品溶液制备 精密称取 5.0 mg 没食子酸对照品，置于量瓶中，加水超声溶解，稀释至刻度，摇匀，配制成 1.0 mg/mL 原液，精密吸取适量，重复上述操作，配制成 0.1~1.0 mg/mL，冷藏备用。

2.3.2 线性关系考察 没食子酸对照品溶液分别取 0.2 mL，置于 24 孔板中，并滴加 0.4 mL 福林酚试剂，摇匀，静置反应 6 min，随后加入 1.2 mL 7% Na_2CO_3 溶液，摇匀，避光，静置反应 2 h。反应完成后，测定溶液的吸光度，波长 760 nm。以没食子酸质量浓度 X 、吸光度 A 分别为横、纵坐标，绘制方程 $A = 2.859\ 2X + 0.362\ 6$ ($R^2 = 0.992\ 8$)，在 0.1 ~ 1.0 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 取没食子酸对照品溶液 1 份，按“2.3.2”项下方法平行测定 6 次，测得吸光度 RSD 为 1.52%，表明该方法精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取样品溶液 1 份，常温放置 0、2、4、6、8 h 后按“2.3.1”项下方法测定，测得吸光度 RSD 为 1.47%，表明在 8 h 内溶液稳定性良好。

2.3.5 重复性试验 取样品溶液 6 份，按“2.3.1”项下方法测定，测得吸光度 RSD 为 1.16%，表明该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 称取含量已知的样品 9 份各 10 mg，分别加入不同剂量没食子酸（0.5、0.75、1.0 mg），分为低、中、高剂量组，按“2.3.2”项下方法提取，测得总多酚加样回收率、RSD 分别为 101%、2.31%。

2.4 双水相体系选择 考察不同双水相体系对荔枝壳多酚含量、得率的影响，并以荔枝壳多酚得率为主要指标。

2.5 单因素试验 选择 ATPS1 作为提取溶剂，按“2.2”项下提取条件进行单因素试验，考察乙醇体积分数（10%~50%）、硫酸铵质量浓度（0.2~0.4 g/mL）、液料比（10：1~30：1）、超声时间（20~60 min）、提取温度（30~70 ℃）对荔枝壳多酚得率的影响。

2.6 响应面法 在单因素试验基础上，选取乙醇体积分数、液料比、超声时间作为影响因素，设计三因素三水平响应面试验，因素水平见表 3。

2.7 荔枝壳多酚含量测定 按“2.3.2”项下方法测定样

表 3 因素水平

因素	水平		
	1	0	-1
乙醇/%	35	30	25
液料比	25：1	20：1	15：1
超声时间/min	50	40	30

品溶液吸光度，计算多酚质量浓度 C 、荔枝壳多酚得率 Y_2 $\left(\frac{C \times V}{M_1} \times 100\%\right)$ 、荔枝壳多酚含量 Y_3 $\left(\frac{C \times V}{M_2} \times 100\%\right)$ ，其中 M_1 、 M_2 、 V 分别为荔枝壳粉末质量、荔枝壳多酚提取物质量、样品溶液体积。

2.8 抗氧化活性测定

2.8.1 DPPH 自由基清除作用 精密称取“2.6”项下荔枝壳多酚提取物（ATPS7 组）、荔枝壳多酚乙醇提取物（M7 组），制成样品溶液（质量浓度 10~1 000 $\mu\text{g/mL}$ ），维生素 C 作为阳性对照组。采用 DPPH 自由基清除实验^[16]，测定双水相体系提取的荔枝壳多酚抗氧化活性，取上述样品溶液 1.0 mL，分别与 2.0 mL DPPH 溶液（0.1 $\mu\text{mol/mL}$ ）混匀，避光反应 30 min。将上述反应后的混合溶液置于 515 nm 波长处测定吸光度 A_s ，计算 DPPH 清除率 I_1 $\left[\frac{A_b - (A_s - A_c)}{A_b} \times 100\%\right]$ ，其中 A_b 、 A_c 分别是 DPPH 溶液、样品溶液吸光度。

2.8.2 羟自由基清除作用 取“2.8.1”项下样品溶液，测定双水相体系提取的荔枝壳多酚抗氧化活性；取 9.0 $\mu\text{mol/mL}$ 水杨酸乙醇溶液、9.0 $\mu\text{mol/mL}$ 硫酸亚铁溶液、样品溶液各 1.0 mL，混匀后加入 1.0 mL H_2O_2 溶液反应 15 min。将上述反应后的混合溶液置于 510 nm 波长处测定吸光度 A_s ，计算羟自由基清除率 I_2 $\left[\frac{A_b - (A_s - A_c)}{A_b} \times 100\%\right]$ ，其中 A_b 、 A_c 分别空白溶液、样品溶液吸光度^[16]。

2.9 体外模拟消化实验 采用体外模拟消化方法^[17]，取“2.8”项下 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 样品溶液 1.0 mL，加入氯化钠溶液（质量浓度 10.0 mg/mL）稀释，滴加盐酸调节 pH 值至 1.5，随后加入 4.0 mL 胃液（0.4 g 胃蛋白酶溶于 0.01 mol/L 盐酸溶液中），混匀，在 37 ℃、120 r/min 下避光反应 2 h，12 000 r/min 离心 15 min，取上清液，冻干，用于多酚含量、抗氧化活性测定。

3 结果

3.1 双水相体系的选择 双水相体系通过有机体系和盐对

水分子的激烈竞争，形成双水相。利用体系与溶质的表面性质、电荷、离子键等作用，破坏了溶剂效应，使得活性成分可在两相体系中进行高效的溶出与分配，达到快速提取分离的效果^[18-19]。因此，不同类型有机相和无机盐组成的双水相体系具有不同的物理化学特性，可选择性提取，提高活性成分得率及其含量。如图 1 所示，不同类型 ATPS 对荔枝壳多酚的得率不同，其得率和含量均高于 70% 乙醇。

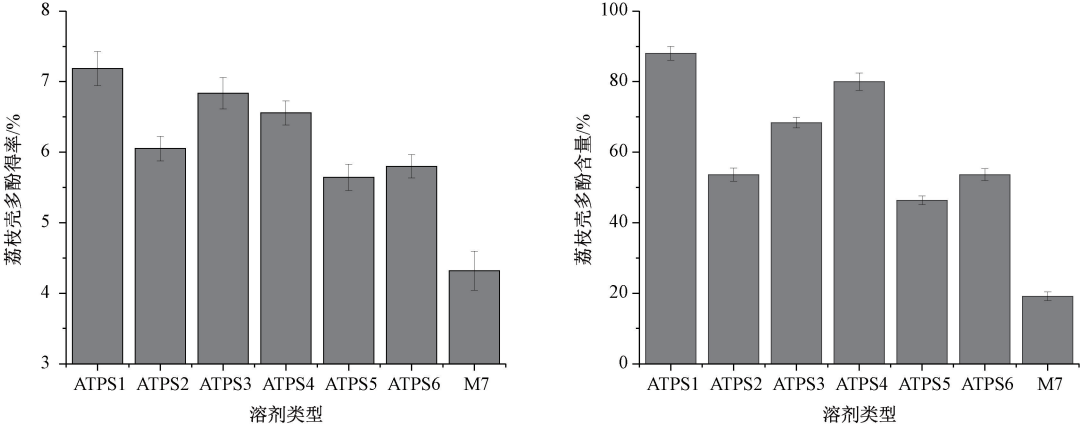


图 1 不同双水相体系对荔枝壳多酚得率、含量的影响

3.2 单因素试验

3.2.1 乙醇体积分数对荔枝壳多酚得率的影响 乙醇作为有机相，是乙醇-硫酸铵双水相体系重要的组成部分。乙醇分子含有的亲水基团，可与水无限互溶。然而，乙醇分子与无机盐离子间的排斥作用，可竞争性均衡盐离子和水分子之间的静电作用，促使体系分层^[20]。因此，适当增加乙醇体积分数是乙醇-硫酸铵双水相体系形成分相的必要条件。当乙醇体积分数过低时，乙醇分子与盐离子间的斥力无法平衡乙醇分子与水分子的亲和力，电势差较小，使得体系体系无法分相。当乙醇体积分数过高时，上相脂溶性增加，极性减小，会降低对水溶性成分多酚的提取率^[21]。如图 2 所示，当乙醇体积分数为 10% 时，体系无法分相；随着乙醇体积分数增加枝壳多酚得率呈先增加后迅速降低的趋势，最高为 7.2%，故选择乙醇体积分数为 30%。

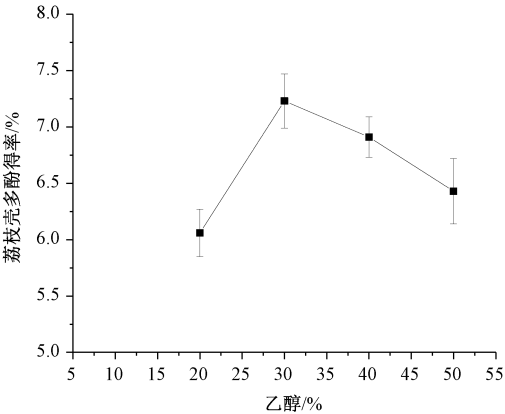


图 2 乙醇体积分数对荔枝壳多酚得率的影响

3.2.2 硫酸铵质量浓度对荔枝壳多酚得率的影响 硫酸铵

乙醇-硫酸铵体系提取荔枝壳多酚得率最高为 6.43%，多酚含量为 88.1%；70% 乙醇提取荔枝壳多酚得率仅为 4.31%，多酚含量为 19.1%。荔枝壳多酚水溶性较强，丙酮对其提取能力有限。丙酮-磷酸二氢钾体系荔枝壳多酚得率为 4.72%，多酚含量为 46.5%。因此，选择乙醇-硫酸铵体系作为提取荔枝壳多酚的提取体系。

易溶于水，主要以离子形式，存在于乙醇-硫酸铵双水相体系的下相。硫酸根离子、铵离子与乙醇分子对水分子存在激烈竞的关系，并与乙醇分子产生静电作用，易使体系体系分层^[20]。然而，当盐离子浓度过高时，无机盐饱和析出，无法发挥促进分相的作用，浪费资源；同时，高浓度盐离子使得下相极性增加，使水溶性荔枝壳多酚更多的溶解于下相^[22]。因此，合适的硫酸铵质量浓度有利于乙醇-硫酸铵双水相体系提取、富集荔枝壳多酚。如图 3 所示，随着硫酸铵质量浓度的增加荔枝壳多酚得率呈先增加后略微降低的趋势，最高为 7.7%，故选择硫酸铵质量浓度为 0.3 g/mL。

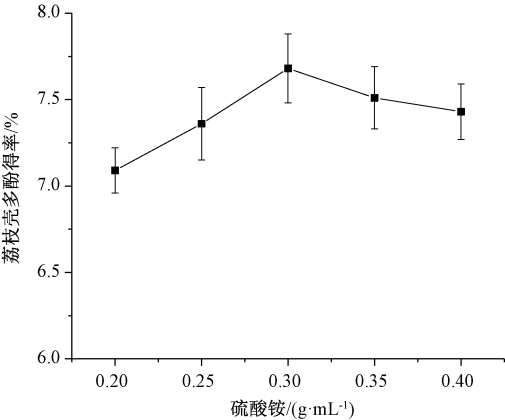


图 3 硫酸铵质量浓度对荔枝壳多酚得率的影响

3.2.3 液料比对荔枝壳多酚得率的影响 植物细胞壁含有丰富的纤维素、木质素、果胶等，具有较好的韧性和延展性。当提取溶剂过少，原料偏多，组织细胞无法充分吸收体系产生溶胀、破裂，使活性成分溶出、得率降低。当提

取体系较多时，体系的提取能力未能充分挖掘，浪费溶剂，又易促使多糖、蛋白质、氨基酸等杂质的溶出^[23]。因此，溶剂的提取能力是有限的。通过优化液料比提升中药活性成分得率，是充分利用中药资源的重要手段。如图 4 所示，随着液料比增加荔枝壳多酚得率呈先快速增加后降低的趋势，最高为 7.2%，故选择液料比为 20 : 1。

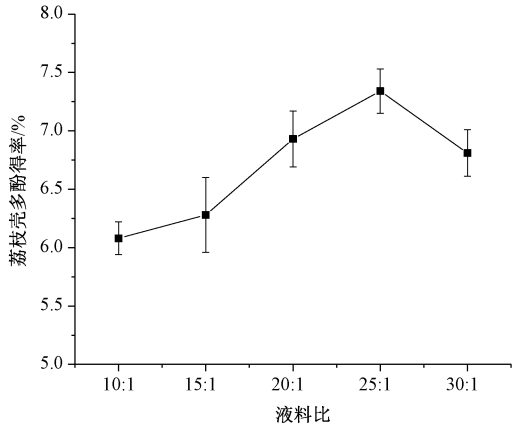


图 4 液料比对荔枝壳多酚得率的影响

3.2.4 超声时间对荔枝壳多酚得率的影响 超声是一项可破坏细胞壁的技术，将其与双水相提取技术有机结合，有利于中药成分的提取与富集，如陈皮黄酮^[13]、橘红花总黄酮^[21]、吊石苣苔黄酮^[23]。但是，花青素、没食子酸、儿茶素作为荔枝壳多酚的活性成分，结构不稳定，受热易分解^[24]。超声时间过长会消耗大量的能量，促使荔枝壳多酚成分分解，降低多酚得率^[4]。如图 5 所示，随着超声时间增加荔枝壳多酚得率呈先大幅增加后缓慢降低的趋势，最高为 7.5%，故选择超声时间为 40 min。

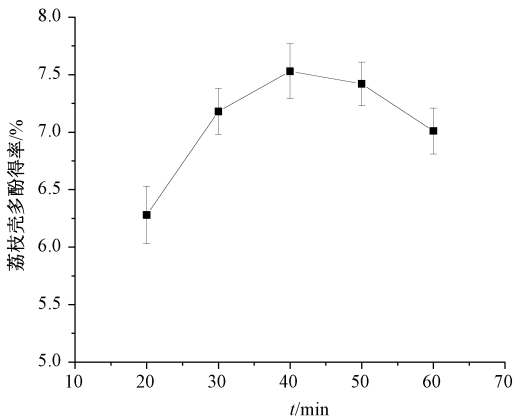


图 5 超声时间对荔枝壳多酚得率的影响

3.2.5 提取温度对荔枝壳多酚得率的影响 提取温度可加剧分子热运动，有利于活性成分充分溶出。然而，乙醇作为是乙醇-硫酸铵双水相体系的有机相，易挥发，过高的提取温度不利于其提取。同时，过高的提取温度也加快了花青素、没食子酸、儿茶素等不稳定荔枝壳多酚的分解^[24]。另外，在双水相成相点附近，温度对双水相体系的相图、提取能力的影响较显著。因此，选择合适的提取温度是必

要的考虑因素。如图 6 所示，随着提取温度增加荔枝壳多酚得率呈先快后慢的增加趋势，但超过 60 ℃时快速下降，最高为 7.8%，故选择提取温度为 50 ℃。

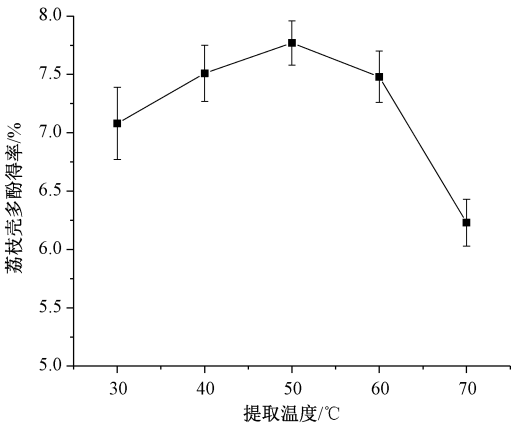


图 6 提取温度对荔枝壳多酚得率的影响

3.3 响应面法 选择乙醇体积分数 (A)、液料比 (B)、超声时间 (C) 作为影响因素，荔枝壳多酚得率 (Y) 作为评价指标，共 17 组试验，结果见表 4，方差分析见表 5。

表 4 试验设计与结果

试验号	A 乙醇/%	B 液料比	C 超声时间/min	Y 得率/%
1	25	20 : 1	30	6.7
2	30	20 : 1	40	8.5
3	30	20 : 1	40	8.7
4	35	20 : 1	50	7.5
5	30	25 : 1	50	7.7
6	30	15 : 1	30	6.5
7	25	25 : 1	40	6.8
8	25	20 : 1	50	7.0
9	35	20 : 1	30	6.7
10	30	15 : 1	50	6.3
11	35	25 : 1	40	7.7
12	30	20 : 1	40	8.7
13	30	25 : 1	30	6.6
14	35	15 : 1	40	7.0
15	25	15 : 1	40	6.9
16	30	20 : 1	40	8.8
17	30	20 : 1	40	8.6

表 5 方差分析

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	12.51	9	1.39	51.36	<0.000 1
A	0.28	1	0.28	10.39	0.014 6
B	0.55	1	0.55	20.36	0.002 8
C	0.5	1	0.5	18.47	0.003 6
AB	0.16	1	0.16	5.91	0.045 3
AC	0.063	1	0.063	2.31	0.1725
BC	0.42	1	0.42	15.61	0.005 5
A ²	1.95	1	1.95	71.92	<0.000 1
B ²	3.26	1	3.26	120.45	<0.000 1
C ²	4.25	1	4.25	157.09	<0.000 1
残差	0.19	7	0.027	—	—
失拟项	0.14	3	0.046	3.53	0.127 5
纯误差	0.052	4	0.013	—	—
总变异	12.7	16	—	—	—

利用 Design-expert 12.0 软件对表 4 数据进行多项式回归拟合, 得方程为 $Y=35.3+0.85A+0.74B+0.76C-0.025AB+0.17AC+0.7BC-2.03A^2-2.35B^2-2.25C^2$, 其中 A 、 B 、 C 、 AB 、 BC 、 A^2 、 B^2 、 C^2 影响显著 ($P<0.05$), AC 影响不显著 ($P>0.05$)。由表 5 可知, 模型 $P<0.01$, 失拟项 $P_{失拟项}>$

0.05 , $F_{失拟项}>0.5$, 表明模型具有高度显著性, 拟合度较好; 回归系数 $R^2=0.985\ 1$, $R_{adj}^2=0.965\ 9$, 表明模型可用于预测分析; 各因素影响程度依次为液料比 (B) $>$ 超声时间 (C) $>$ 乙醇体积分数 (A)。响应面分析见图 7。

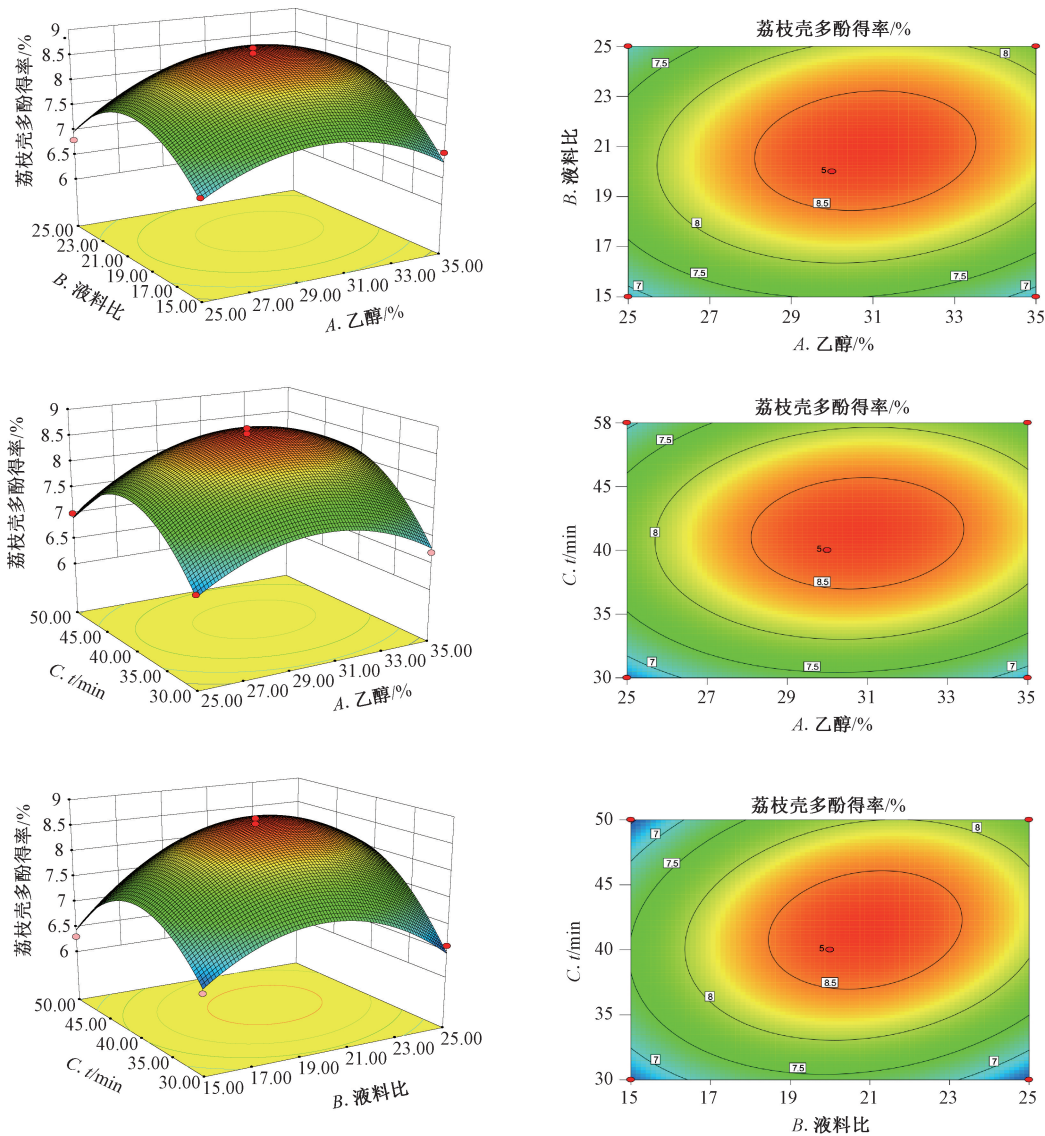


图 7 乙醇体积分数 (A)、液料比 (B)、超声时间 (C) 响应面图

最终确定, 最优工艺为乙醇体积分数 30.91%, 料液比 21.01 : 1, 超声时间 41.69 min, 荔枝壳多酚得率为 8.72%, 考虑实验可操作性, 将其修正为乙醇体积分数 31%, 料液比 22 : 1, 超声时间 42 min, 即 ATPS7 组。在上述最优工艺下, ATPS7 组荔枝壳多酚得率为 8.54%, 近似于预测值 8.72%, 远高于 M7 组乙醇提取的荔枝壳多酚得率 4.31%。多酚含量测定显示, ATPS7 组荔枝壳多酚含量为 88.2%, 远高于 M7 组多酚含量 16.8%, 表明该模型适用于荔枝壳多酚提取, 乙醇-硫酸铵双水相体系是提取荔枝壳多酚的有效溶剂体系。

3.4 抗氧化活性测定 荔枝壳多酚是荔枝壳提取物主要活性成分, 具有良好的抗氧化^[5]、抗炎^[6]、调节免疫^[7]等生

物活性, 常用于护肤、美白、抗衰老等。体外抗氧化活性评价结果如图 8 所示, ATPS7 组、M7 组清除 DPPH 自由基半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 33.8、236.2 $\mu\text{g/mL}$, 清除羟自由基 IC_{50} 分别为 23.4、65.2 $\mu\text{g/mL}$, 表明 ATPS7 组荔枝壳多酚抗氧化活性更强。

3.5 体外消化试验 荔枝壳多酚的成分结构复杂, 稳定性较差, 易受温度、氧气、酸碱等因素破坏, 从而失去活性。经体外消化后, ATPS7 组、M7 组多酚含量分别为 51.9%、12.6%, 降低了 41.5%、25.0%。体外抗氧化活性评价结果如图 9 所示, ATPS7 组、M7 组清除 DPPH 自由基 IC_{50} 分别为 51.8、139.5 $\mu\text{g/mL}$, 清除羟自由基 IC_{50} 分别为 30.4、48.7 $\mu\text{g/mL}$, 表明相对于 M7 组荔枝壳多酚, 经体外消化

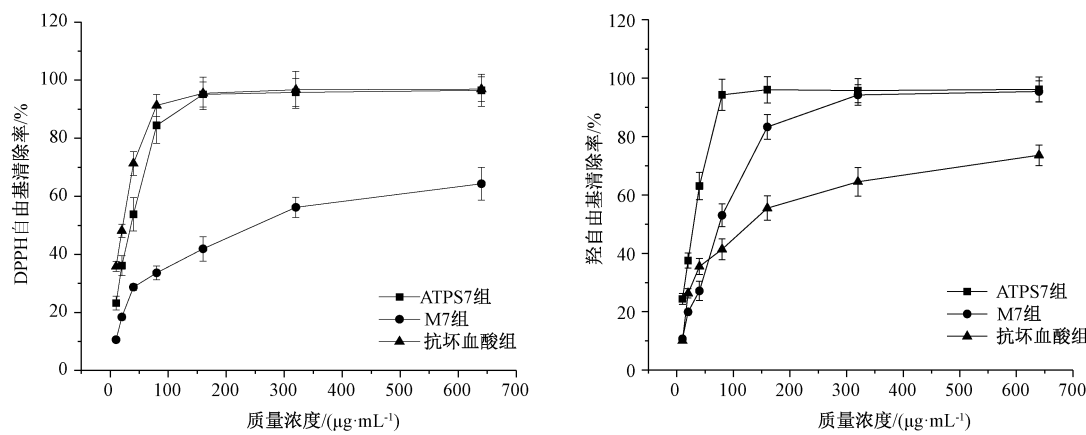


图 8 ATPS 组、M7 组体外抗氧化活性实验结果

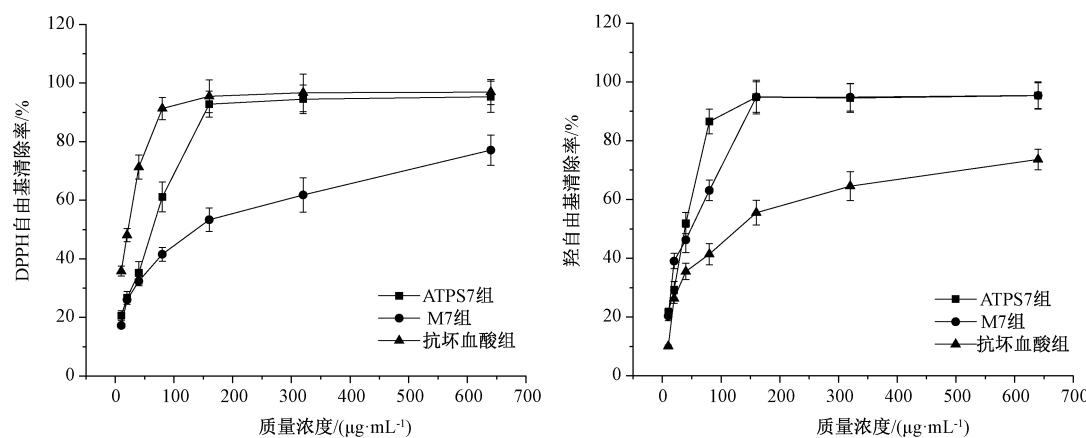


图 9 体外模拟消化后 ATPS 组、M7 组抗氧化活性实验结果

后 ATPS7 组荔枝壳多酚的含量与活性显著降低，即其不稳定性较强。

4 讨论

双水相体系是一种新型提取方法，条件温和，操作简单，提取效率高，避免了反复低效的萃取过程。然而，中药活性成分的提取易受多种因素影响，如溶剂类型、液料比、提取温度、时间等。本实验制备了 6 种不同的双水相体系用于提取荔枝壳多酚，乙醇-硫酸铵双水相体系提取效果最佳，故将其作为荔枝壳多酚的提取溶剂。Box-Behnken 响应面法是一种多因素非线性试验条件优选方法，可评估多因素的非线性影响，有效地筛选多因素间的最优组合，预测能力优越。结果显示，最佳提取工艺为乙醇体积分数 31%，料液比 22：1，超声时间 42 min，荔枝壳多酚得率为 8.54%，多酚含量达 88.2%。与常规的乙醇提取方法比较，乙醇-硫酸铵双水相体系提取荔枝壳多酚操作简单，效率高，且多酚含量高，不需繁琐的纯化富集过程^[25]。

荔枝壳多酚含有花青素、没食子酸、儿茶素等成分，活性强，但结构不稳定，易分解从而失去活性^[4,24]。荔枝壳多酚的应用前景与多酚的稳定性、消化前后的抗氧化活性密切相关。抗氧化活性结果显示，乙醇-硫酸铵双水相体系提取的荔枝壳多酚 DPPH、羟自由基 IC₅₀ 分别为 33.8、23.4 μg/mL；经体外消化后，其 DPPH、羟自由基 IC₅₀ 分别

为 51.8、35.4 μg/mL，多酚含量为 51.9%。实验结果表明，虽然乙醇-硫酸铵双水相提取的荔枝壳多酚结构不稳定更显著，但多酚含量高，抗氧化活性更佳，优于乙醇提取的荔枝壳多酚。综上所述，采用乙醇-硫酸铵双水相体系提取荔枝壳多酚是一种高效快速的提取方法，有利于荔枝壳多酚的提取纯化，进一步开发与利用荔枝资源。

参考文献：

[1] 蒋依辉, 朱慧莉, 刘 伟, 等. 基于广泛代谢组学的荔枝果肉营养代谢物综合解析[J]. 食品科学, 2022, 43 (16): 269-278.

[2] 冯 宇, 刘雪梅, 罗伟生, 等. 大孔树脂纯化荔枝枝总黄酮工艺研究[J]. 中草药, 2019, 50 (9): 2087-2093.

[3] 胡雪艳, 李焕清, 邓 红, 等. 指纹图谱与一测多评法相结合评价荔枝壳多酚提取物[J]. 中草药, 2017, 48 (3): 490-498.

[4] Miranda-Hernández A M, Muñoz-Márquez D B, Wong-Paz J E, et al. Characterization by HPLC-ESI-MS² of native and oxidized procyanidins from litchi (*Litchi Chinensis*) pericarp[J]. *Food Chem*, 2019, 291: 126-131.

[5] Sui Y, Shi J B, Cai S, et al. Metabolites of procyanidins from *Litchi chinensis* pericarp with xanthine oxidase inhibitory effect and antioxidant activity[J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 676346.

[6] 刘子源, 谭泽明, 谭佳琪, 等. 有氧运动联合荔枝壳多酚对 2 型糖尿病大鼠血管炎症的影响及其机制探讨[J]. 中南药学, 2021, 19(9): 1833-1840.

[7] Zhao L, Wang K, Wang K, *et al.* Nutrient components, health benefits, and safety of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.): A review [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2020, 19(4): 2139-2163.

[8] Ji Y W, Rao G W, Xie G F. Ultrasound-assisted aqueous two-phase extraction of total flavonoids from *Tremella fuciformis* and antioxidant activity of extracted flavonoids [J]. *Prep Biochem Biotechnol*, 2022, 52(9): 1060-1068.

[9] Hadis M, Leila J, Maryam H. Performance of *Bacillus subtilis* D3d xylanase separated through optimized aqueous two-phase system in bio-bleaching of sugar beet pulp [J]. *Process Saf Environ*, 2022, 159: 749-756.

[10] Bahareh A S, Javad R S, Gholamreza P, *et al.* Separation of glatiramer acetate and its constituent amino acids using aqueous two-phase systems composed of maltodextrin and acetonitrile[J]. *J Ind Eng Chem*, 2021, 104: 544-554.

[11] Chen Q S, Zhang Y W, Chen H, *et al.* Enhancing the sensitivity of DNA and aptamer probes in the dextran/PEG aqueous two-phase system [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(24): 8577-8584.

[12] Li P C, Xue H K, Xiao M, *et al.* Ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction and properties of water-soluble polysaccharides from *Malus hupehensis*[J]. *Molecules*, 2021, 26(8): 2213.

[13] 张琳, 周欣, 赵凤平, 等. 乙醇-硫酸铵双水相提取陈皮黄酮工艺的优化[J]. 中成药, 2018, 40(7): 1510-1514.

[14] 蔡银妮, 孙红梅, 陈亚贤, 等. 响应面法优化双水相提取巴戟天游离蒽醌[J]. 中药材, 2022, 45(5): 1197-1201.

[15] Xiang C, Chang J, Ying Y, *et al.* The application of aqueous two-phase system in the extraction of natural products from Chinese herbal medicine: a review[J]. *Curr Org Chem*, 2019, 23(6): 704-720.

[16] 张武君, 黄颖桢, 陈菁瑛, 等. 综合评分法优化金花茶叶提取工艺及抗氧化活性分析[J]. 中药材, 2020, 43(2): 408-414.

[17] 范利君, 宋安康, 王志鹏, 等. 葡萄籽多酚提取物在体外模拟消化过程中抗氧化成分及抗氧化活性的变化[J]. 食品科技, 2022, 47(6): 235-242.

[18] Alicito V W, Keycianne da C S, Aparecida B M, *et al.* Lycopene partition in new aqueous two-phase systems [J]. *J Mol Liq*, 2021, 339: 1167555.

[19] Da Silva N R, Ferreira L A, Madeira P P, *et al.* Linear relationships between partition coefficients of different organic compounds and proteins in aqueous two-phase systems of various polymer and ionic compositions[J]. *Polymers (Basel)*, 2020, 12(7): 1452.

[20] 刘绍鹏, 宗志敏, 魏晴, 等. 双水相体系中成相及有机物分配机理的初步研究[J]. 化工时刊, 2010, 24(12): 21-24.

[21] 臧青民, 李秋珊, 徐燕波, 等. 超声波辅助双水相体系优化橘红花总黄酮提取工艺及其抗氧化活性[J]. 化学试剂, 2022, 44(4): 557-563.

[22] 何媛媛, 张靖轩, 关长城, 等. 双水相萃取植物乳杆菌素及防腐保鲜的应用[J]. 食品科技, 2022, 47(7): 204-209.

[23] Zhou H, Feng X Y, Yan Y, *et al.* Optimization of an ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction method for four flavonoids from *Lysionotus pauciflorus*[J]. *Prep Biochem Biotechnol*, 2022, 52(7): 770-782.

[24] 黄浩洲, 张定堃, 姜红, 等. 中药口服液体制剂中花青素不稳定机制及稳定剂研究进展[J]. 药学报, 2017, 52(10): 1524-1532.

[25] 乔小瑞, 烟利亚, 刘兴岚, 等. 荔枝壳多酚提取工艺的响应面法优化及自由基清除活性研究[J]. 中国食品学报, 2010, 10(5): 22-30.