

响应面法优化扁桃斑鸠菊黄酮提取及抗氧化活性研究*

唐健民¹, 朱成豪^{1,2}, 许景堂^{1,3}, 刘卓杰^{1,3}, 莫 炜^{1,3}, 蒋运生¹, 韦记青^{1**}

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西桂林 541006; 2. 桂林医学院药学院, 广西桂林 541004; 3. 百色学院食品与农业工程学院, 广西百色 533000)

摘要:为探讨提取扁桃斑鸠菊(*Vernonia amygdalina* Del.)黄酮及自由基的最佳提取工艺,以扁桃斑鸠菊的叶片为试材,运用单因素和响应面试验相结合的方法,通过超声波辅助对其总黄酮的提取进行优化,并对其黄酮含量进行测定与抗氧化活性分析。研究表明:扁桃斑鸠菊黄酮最佳提取条件为超声波功率409.6 W,超声频率35 kHz,乙醇浓度100%,料液比为1:48.5 g/mL,提取温度61.9℃,提取时间20 min,黄酮得率为5.7%。当扁桃斑鸠菊黄酮浓度为2 mg/mL时,其对·OH、DPPH·和O₂⁻·的最大清除率分别为54.7%、79.2%和32%,并具有很好的还原能力。通过热溶剂浸提超声波辅助提取法提取扁桃斑鸠菊中的黄酮类化合物,所用时间短,要求温度低,提取率好,方法简单易行,具有明显的优势。

关键词:扁桃斑鸠菊 响应面法 总黄酮 抗氧化

中图分类号:R913 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2009)01-0061-10

0 引言

扁桃斑鸠菊(*Vernonia amygdalina* Del.)别名桃叶斑鸠菊、杏叶斑鸠菊、神奇叶、尖尾凤、肝连、苦树、苦胆叶、苦叶、苦茶叶、南非树等,原产于热带非洲,在尼日利亚等地被当作一种蔬菜^[1]。在我东南沿海地区被称为“将军叶”,这是由于它生长能力强,四季皆宜种。另外,它又俗称苦茶^[2]。扁桃斑鸠菊作为药食两用特色植物,其叶味苦涩性凉,具有功能散热、凉血和清热解毒的功效,适用于降血压、降胆固醇、风热性或血热性皮肤病,对闪光、老花

眼、近视及青光眼也有显著的功效^[3]。东南亚民间常用扁桃斑鸠菊水煎剂治疗发热、疟疾、腹泻、痢疾、咳嗽、头痛和胃痛等疾病,该水煎剂具有抗氧化性、保肝、促胃酸分泌、降血脂、抗疟原虫^[4]等功效,扁桃斑鸠菊水煎剂中含有的倍半萜内酯和斑鸠菊苷都有很强的抗癌药理活性^[5-6]。医学研究表明,黄酮类物质能通过多种途径发挥较强的抗肿瘤作用,其主要机理包括:调节免疫功能^[7-8]、降低细胞黏附和促进细胞间信号传递^[9]、促进细胞凋亡^[10]、清除自由基和抗氧化作用^[11-12]等机制。因此,研究扁桃斑鸠菊的黄酮含量和抗氧化在卫生保健和医药领域

*广西自然科学基金项目(2017GXNSFBA198011),广西创新驱动项目(桂科-AA17204056-1),广西植物研究所基本业务费项目(桂植业18013和桂植业18014),柳州市科技攻关项目(2016B050202)和广西教育厅科研项目(201012MS189)资助。

【作者简介】

唐健民(1988—),男,硕士研究生,助理研究员,主要从事药用植物与保护生物学研究,E-mail:690814668@qq.com。

【**通信作者】

韦记青(1968—),女,研究员,主要从事植物营养研究,E-mail:weijq@gxib.cn。

【引用本文】

DOI:10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20190131.003

唐健民,朱成豪,许景堂,等.响应面法优化扁桃斑鸠菊黄酮提取及抗氧化活性研究[J].广西科学院学报,2019,35(1):61-70.

TANG J M,ZHU C H,XU J T,et al.Optimization of flavonoids extraction and antioxidant activity of *Vernonia amygdalina* Del. by response surface methodology[J].Journal of Guangxi Academy of Sciences,2019,35(1):61-70.

具有广泛的前景。

扁桃斑鸠菊目前的研究主要集中在化学成分提取^[13]、结构分析^[14]和快速繁殖^[15]等方面,而运用响应面分析法优化总黄酮的提取及抗氧化性的研究报道较少。由于取材的不同,提取条件的选择差异使得扁桃斑鸠菊总黄酮发挥的作用也不尽相同^[16]。本研究拟运用单因素和响应面试验相结合,通过超声波辅助对扁桃斑鸠菊总黄酮的提取工艺进行优化,通过紫外可见分光光度法^[16]对黄酮含量进行测定并研究了其体外抗氧化活性,确定扁桃斑鸠菊黄酮提取的最佳工艺,从而为其进一步开发利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

供试材料:扁桃斑鸠菊原材料于2018年9月采自广西植物研究所喀斯特药用植物园,取其完整叶片,烘干、粉碎后过60目筛备用。

供试试剂:芦丁标准品(批号: MUST-12040302,中国药品生物制品检定所);蒸馏水;乙醇、5%亚硝酸钠、10%硝酸铝、4%氢氧化钠、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 NaNO_2 、 NaOH 、VC、铁氰化钾、磷酸盐缓冲液、三氯乙酸、三氯化铁、DPPH、Tris-HCL、邻苯三酚、HCl、邻二氮菲、PBS、 FeSO_4 、 H_2O_2 均为分析纯试剂,均购自桂林卓一生物有限公司。

1.2 仪器与设备

TU-1901型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);DL-720E智能超声波;电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标准曲线的制备

精密称取真空干燥至恒重的芦丁标准品20 mg,无水乙醇溶解制成0.4 mg/mL的对照品溶液^[17]。分别取制备好的对照品溶液0.0 mL,0.1 mL,0.2 mL,0.4 mL,0.6 mL,0.8 mL,1.0 mL及提取液1.0 mL,置于25 mL容量瓶中。加50%乙醇至10 mL,加5%亚硝酸钠1 mL,混匀,静置6 min;加10%硝酸铝溶液1 mL,混匀,静置6 min;加4%氢氧化钠溶液10 mL,50%乙醇调至刻度,混匀,得空白液、对照品溶液及样品供试液;静置15 min后在190~900 nm处进行光谱扫描,确定选用510 nm作为测定波长。以吸光度为纵坐标,总黄酮浓度为横坐标绘制回归曲

线,回归方程为 $y=0.2038x-0.0078$, $R^2=0.9992$,总黄酮浓度为0.0013~0.013 mg/mL,线性关系良好。

1.3.2 供试品溶液的制备

称取扁桃斑鸠菊样品粉末0.5 g,按照料液比为1:48.5 g/mL加无水乙醇24.5 mL,61.9℃水浴提取20 min,超声波频率为35 kHz,超声波功率为409.6 W,提取结束后过滤,洗涤液合并,定容至50 mL,即得供试品溶液。

1.3.3 扁桃斑鸠菊黄酮提取工艺优化试验

1.3.3.1 单因素试验

(1)超声波频率对扁桃斑鸠菊黄酮得率的影响

准确称取0.5 g样品粉末,按照料液比1:20 g/mL加入50%乙醇10 mL,40℃水浴中提取30 min,超声波功率为180 W,超声波频率分别为高频(61 kHz)和低频(35 kHz),过滤,定容至50 mL,取1 mL移至25 mL容量瓶中。

(2)超声波功率对扁桃斑鸠菊黄酮得率的影响

准确称取样品粉末0.5 g,按料液比1:20 g/mL加入50%乙醇10 mL,40℃水浴中提取30 min,超声波功率分别为60 W、180 W、300 W、420 W、540 W,超声波频率为高频(61 kHz),过滤,定容至50 mL,按照制备芦丁标准曲线步骤加样,测定吸光度,计算总黄酮含量。

(3)提取温度对扁桃斑鸠菊黄酮得率的影响

准确称取样品粉末0.5 g,按料液比1:20 g/mL加入50%乙醇10 mL,分别在30℃、50℃、60℃、70℃、90℃水浴中提取30 min,超声波功率分别为420 W,超声波频率为高频(61 kHz),过滤,定容至50 mL,按照制备芦丁标准曲线步骤加样,测定吸光度,计算总黄酮含量。

(4)乙醇浓度对扁桃斑鸠菊黄酮得率的影响

准确称取样品粉末0.5 g,按料液比1:20 g/mL,分别加入20%、40%、60%、80%、无水乙醇10 mL,在60℃水浴中提取30 min,超声波功率为420 W,超声波频率为高频(61 kHz),过滤,定容至50 mL,按照制备芦丁标准曲线步骤加样,测定吸光度,计算总黄酮含量。

(5)料液比对扁桃斑鸠菊黄酮得率的影响

准确称取样品粉末0.5 g,分别按料液比1:20 g/mL、1:30 g/mL、1:40 g/mL、1:50 g/mL、1:60 g/mL,加入无水乙醇V mL,在60℃水浴中提取30 min,超声波功率为420 W,超声波频率为高频(61 kHz),过

滤, 定容至 50 mL, 按照制备芦丁标准曲线步骤加样, 测定吸光度, 计算总黄酮含量。

(6) 提取时间对扁桃斑鸠菊黄酮得率的影响

准确称取样品粉末 0.5 g, 按料液比 1:20 g/mL, 加入无水乙醇 10 mL, 在 60℃ 水浴中分别提取 10 min、30 min、60 min、90 min、120 min, 超声波功率为 420 W, 超声波频率为高频(61 kHz), 过滤, 定容至 50 mL, 按照制备芦丁标准曲线步骤加样, 测定吸光度, 计算总黄酮含量。

1.3.3.2 黄酮得率的计算方法

黄酮得率(%)=(C*V)/M*100%,

式中^[18]: C为提取液中黄酮的含量(mg/mL); V为提取液体积(mL), M为样品粉末质量(g)。

1.3.3.3 响应面分析

采用 Design Expert 8.0.6 软件设计响应面试验。根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理, 从单因素试验中选取对提取结果影响比较大的 4 个因素: 料液比(A)、超声功率(B)、提取温度(C)、提取时间(D)为自变量, 黄酮得率为响应值, 共计 29 个试验点进行组合试验^[19-22]。因素与水平见表 1。

表 1 响应面试验因素与水平表

Table 1 The factor and level table of response surface experiment

水平 Level	因素 Factor			
	A(g/mL)	B(W)	C(°C)	D(min)
-1	1:30	180	50	10
0	1:40	300	60	30
1	1:50	420	70	60

1.3.4 体外抗氧化活性试验

1.3.4.1 对·OH的清除作用

试管中加入 1 mL 0.75 mol/L 邻二氮菲, 2 mL pH 值为 7.45 的 PBS 溶液、1 mL 蒸馏水、1 mL 0.75 mmol/L FeSO₄ 溶液, 1 mL 0.01% H₂O₂, 充分混匀后于 37℃ 下恒温水浴 1 h。536 nm 处测定其吸光度 A_p; 用 1 mL 水代替 H₂O₂, 测定其吸光度 A_b; 用 1 mL 样液代替 1 mL 水, 测定其吸光度 A_s^[23]。以 VC 做对照。

·OH 清除率(%)=(A_s-A_p)/(A_b-A_p)×100%。

1.3.4.2 对 DPPH·的清除作用

不同浓度的黄酮样液与 DPPH·溶液等体积混合, 30 min 后用无水乙醇作参比, 在 517 nm 处测定其吸光度 A₁, 测定不同浓度的样液与无水乙醇等体

积混合液的吸光度 A₂, 以及 DPPH·溶液与无水乙醇等体积混合液的吸光度 A₀。取 3 次平行试验结果根据下列公式计算不同浓度的黄酮样液对 DPPH·的清除率^[24]。以 VC 做对照。

DPPH·清除率(%)=[A₀-(A₁-A₂)]/A₀×100%。

1.3.4.3 对 O₂·的清除作用

取 5 mL 0.05 mol/L, pH 值为 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液 25℃ 水浴预热 20 min, 分别加入 1 mL 样液, 0.5 mL 25 mmol/L 的邻苯三酚, 混匀后 25℃ 水浴准确反应 4 min, 立即加入 2 滴 8 mol/L HCl 终止反应。299 nm 处测定吸光度 A'₁, 空白对照组的吸光度 A'₀。将邻苯三酚溶液用 0.5 mL 蒸馏水代替, 得到吸光度 A'₂。取 3 次平行试验结果计算样液对 O₂·的清除率^[25]。以 VC 做对照。

O₂·清除率(%)=[A'₀-(A'₁-A'₂)]/A'₀×100%。

1.3.4.4 总还原力的测定

1.0 mL 样液加入 2.5 mL 的 1% 铁氰化钾溶液和 2.5 mL 的 0.22 mol/L 磷酸盐缓冲液, 混合均匀后于 50℃ 水浴中反应 30 min, 迅速冷却加入 10% 三氯乙酸 2.5 mL, 在 4 000 r/min 下离心 10 min。最后取 2.5 mL 上清液, 加 2.5 mL 蒸馏水和 2.5 mL 0.1% 三氯化铁溶液, 混匀后静置 10 min 测定 700 nm 处的吸光度值^[26]。以 VC 做对照。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 提取温度的选择

如图 1 所示, 在超声处理中, 扁桃斑鸠菊中总黄酮的得率随水浴温度的升高先增加后降低, 在 70℃ 时, 所提取的总黄酮得率达到最高值 3.89%。继续

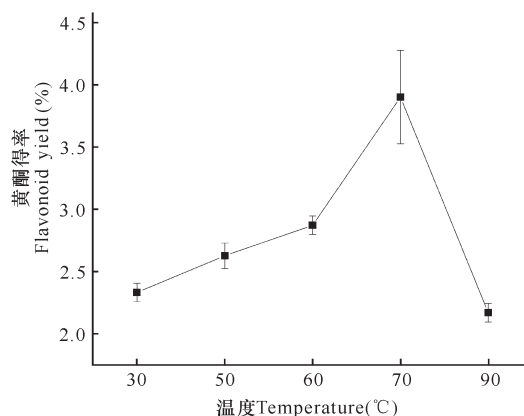


图 1 温度对黄酮提取率的影响

Fig.1 Effect of different temperature on yield of flavonoid

升高温度,总黄酮提取率逐渐降低。这可能是在高温情况下,样品粉末中其他物质析出,影响了总黄酮的提取;也可能是温度过高使得黄酮化合物的结构被破坏,导致得率降低。按照单因素试验条件选择,应暂以70℃为宜。

2.1.2 乙醇浓度的选择

由图2可知,随乙醇浓度的增加,总黄酮的提取率也随之增加。在无水乙醇条件下,所提取总黄酮得率达到9.02%。

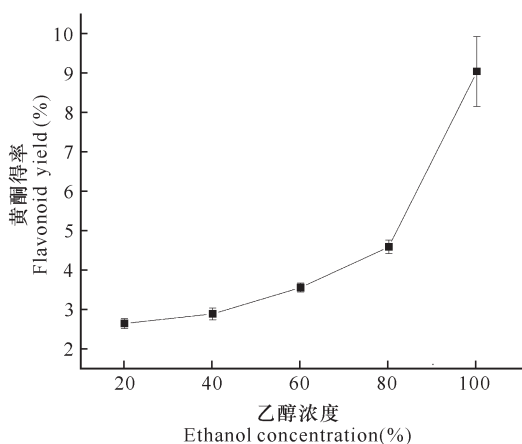


图2 乙醇浓度对黄酮提取得率的影响

Fig.2 Effect of different ethanol concentration on yield of flavonoid

2.1.3 料液比的确定

由图3可知,随着料液提取液的增多,黄酮的提取率呈现先升高再降低再升高的趋势,在料液比1:40 (g/mL)处,所提取的扁桃斑鸠菊中黄酮得率达10.34%。随着提取液剂量增加,得率虽有增加但并没有达到1:40 (g/mL)的水平,且继续增大溶剂量既浪费溶剂又不易回收,所以料液比1:40 (g/mL)为宜。

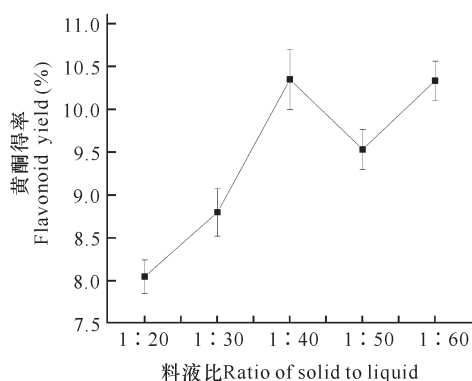


图3 料液比对黄酮提取率的影响

Fig.3 Effect of different ratio of solid to liquid on yield

of flavonoid

2.1.4 超声功率的选择

由图4可知,随着超声功率的增大,总黄酮的得率也相应增加。在超声波功率达到420 W时,所提取的扁桃斑鸠菊中黄酮得率达到最高值2.65%。继续增大超声功率,黄酮物质提取率开始降低。这可能是超声波功率的增大导致黄酮的结构被破坏,所以超声功率以420 W为宜。

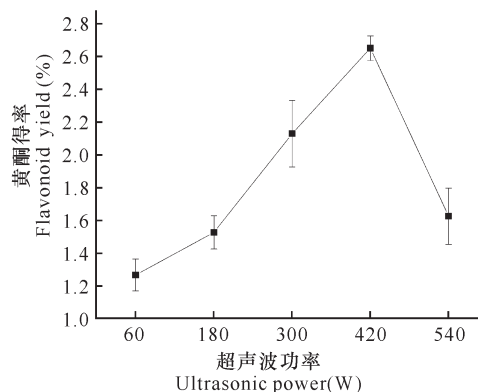


图4 超声功率对黄酮提取率的影响

Fig.4 Effect of different ultrasonic power on yield of flavonoid

2.1.5 提取时间的确定

由图5可知,在10~90 min内扁桃斑鸠菊中总黄酮的得率随着时间的延长而增大,在90 min时黄酮提取率达到最高值10.93%。时间继续增加黄酮得率开始降低,这可能是因为时间太长,会使黄酮类化合物的结构遭到破坏,也可能是由于长时间提取会使粉末溶出其他杂质,使得总黄酮提取率降低。所以为保证黄酮物质的提取率以及减短提取周期,以90 min为宜。

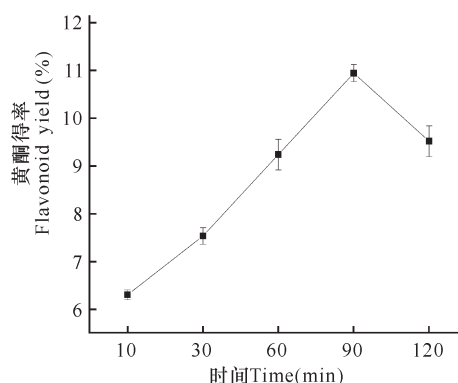


图5 时间对黄酮提取得率的影响

Fig.5 Effect of different time on yield of flavonoid

2.1.6 超声波高低频的选择

如图6所示,当超声频率为低频(35 kHz)时,总黄酮的提取率达到1.23%,优于高频(61 kHz)。所以在超声辅助提取时选用低频(35 kHz)即可。

2.2 响应面试验结果

2.2.1 试验结果

根据表1设定的水平和因素,共设29个试验点,其中24个为析因点,5个为零点。得到各个试验条件的黄酮得率,试验结果见表2、表3。

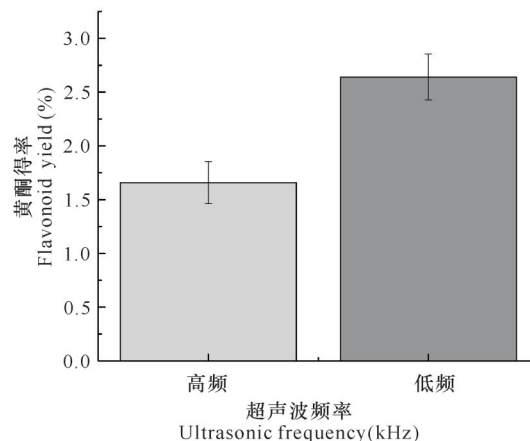


图6 超声频率对黄酮提取率的影响

Fig.6 Effect of different ultrasonic frequency on yield of flavonoid

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 The design and result of response surface experiment

试验号 Number	料液比 Ratio of solid to liquid	功率 Power (W)	提取温度 Temperature (°C)	提取时间 Time (min)	黄酮得率 Flavonoid yield (%)
1	1:50	420	60	30	9.951
2	1:50	180	60	30	9.755
3	1:40	300	50	10	8.429
4	1:40	180	60	60	10.245
5	1:40	300	60	30	8.222
6	1:40	420	60	10	10.196
7	1:30	300	50	30	8.724
8	1:40	300	60	30	8.823
9	1:30	300	60	10	7.694
10	1:40	420	70	30	11.865
11	1:40	300	60	30	8.823
12	1:40	180	50	30	10.491
13	1:40	300	70	60	8.479
14	1:30	300	70	30	8.675
15	1:30	300	60	60	8.675
16	1:30	420	60	30	8.626
17	1:50	300	50	30	9.804
18	1:40	300	70	10	10.540
19	1:50	300	60	10	9.460
20	1:40	180	70	30	9.068
21	1:30	180	60	30	9.362
22	1:40	420	50	30	8.430
23	1:40	420	60	60	9.902
24	1:40	180	60	10	9.460
25	1:40	300	50	60	8.479
26	1:40	300	60	30	8.822
27	1:40	300	60	30	8.823
28	1:50	300	70	30	11.030
29	1:50	300	60	60	10.540

表3 回归模型的方法分析

Table 3 The analysis of variance of regression model

方差来源 Source of variance	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of square	均方 Mean square	F值 F value	P值 P value	显著性 Significant
模型 Model	14	20.84	1.49	4.91	0.002 6	**
A	1	6.43	6.43	21.21	0.000 4	**
B	1	0.029	0.029	0.095	0.762 0	
C	1	2.34	2.34	7.72	0.014 8	*
D	1	0.024	0.024	0.08	0.780 8	
AB	1	0.22	0.22	0.72	0.411 6	
AC	1	0.041	0.041	1.34	0.266 3	
AD	1	0.002 45	0.002 45	0.008	0.929 6	
BC	1	5.90	5.90	19.46	0.000 6	**
BD	1	0.29	0.29	0.96	0.343 8	
CD	1	1.11	1.11	3.68	0.075 9	
A ²	1	0.11	0.11	0.37	0.554 8	
B ²	1	3.77	3.77	12.45	0.003 3	**
C ²	1	0.77	0.77	2.56	0.132 2	
D ²	1	0.073	0.073	0.24	0.630 9	
残差 Residual	14	4.24	0.30			
失拟误差 Misfit error	10	4.24	0.42	14 150	<0.000 1	**
纯误差 Pure error	4	0.001 2	0.003			
总差 Total difference	28	25.09				

注:* $P<0.05$,显著;** $P<0.01$,极其显著

Note:* $P<0.05$, significant;** $P<0.01$, extremely significant

由软件分析得到回归方程为

$$Y=8.82 + 0.73A + 0.049B + 0.44C + 0.045D + 0.23AB + 0.32AC + 0.025AD + 1.21BC-0.27BD + 0.53CD+0.13A^2+0.76B^2+0.35C^2+0.11D^2,$$

其中 Y 为扁桃斑鸠菊黄酮含量的预测值。该模型的预测复相关系数 $R^2=0.830 8$,修正系数 $Adj R^2=0.661 7$,说明试验的实际值和预测值拟合度比较

好。由图3可以看出, $P<0.000 1$,说明该模型极其显著,在统计学上是有意义的。A和C两个因素所模拟的一次项小于0.05,说明因变量和所选自变量之间的线性关系显著,该回归方程能代替试验真实点分析试验结果。模拟的二次项 $B^2(P<0.01)$,表明B因素对扁桃斑鸠菊黄酮的提取率达到极其显著的水平,交互项BC的 $P<0.05$,达到显著水平,由此可

知, 料液比与超声功率、超声功率与提取时间、提取温度与提取时间这些因素之间都存在一定的交互作用, 并且它们之间的交互作用会对扁桃斑鸠菊中黄酮的提取率产生显著影响。

2.2.2 响应面交互作用分析

通过 Design-Expert 8.0.6 软件, 将 AB、BD、CD 交互进行分析比较, 做出响应面曲线图, 见图 7。由响应面三维图 7 可知, 当各因素在一定范围内增大时, 对应的响应值也增大; 但当响应值达到最高点, 各因素的值继续增大时, 其响应值却不断减小。等高线图的中心点在 3D 图上的投影即最高点, 表明该点的提取率最高。

2.2.3 优化与验证试验

依据以上响应面试验模型和结果分析, 得出最佳提取条件下的扁桃斑鸠菊中总黄酮的提取率为 5.8%, 料液比 1:48.5 g/mL, 超声功率 409.6 W, 提取温度 61.9°C, 提取时间 20 min。在此最佳条件下, 进

行平行验证试验, 重复 5 次, 获得扁桃斑鸠菊黄酮提取率的平均值为 5.7%。实际所测得提取率的平均值较预测值少 0.1%, 表明该模型的可靠性较高, 并且提取工艺的重复性良好, 在后续试验中可选取以上条件进行抗氧化活性研究。

2.3 扁桃斑鸠菊总黄酮体外抗氧化活性

由图 8 可以看出, 扁桃斑鸠菊中黄酮对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2\cdot^-$ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 均能够起到清除作用, 并且在试验浓度范围内, 对自由基的清除能力呈现量效关系。当扁桃斑鸠菊黄酮浓度为 2 mg/mL 左右时, 对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2\cdot^-$ 和 $\text{DPPH}\cdot$ 的最大清除率分别为 54.7%、79.2% 和 32%。在试验浓度范围内, 扁桃斑鸠菊总黄酮和 VC 的还原力均随浓度的增大而增大 (图 8d), 线性关系较好, 其中 2 mg/mL 的扁桃斑鸠菊黄酮与 0.67 mg/mL 的 VC 几乎均等, 可见其黄酮体外抗氧化活性较好。

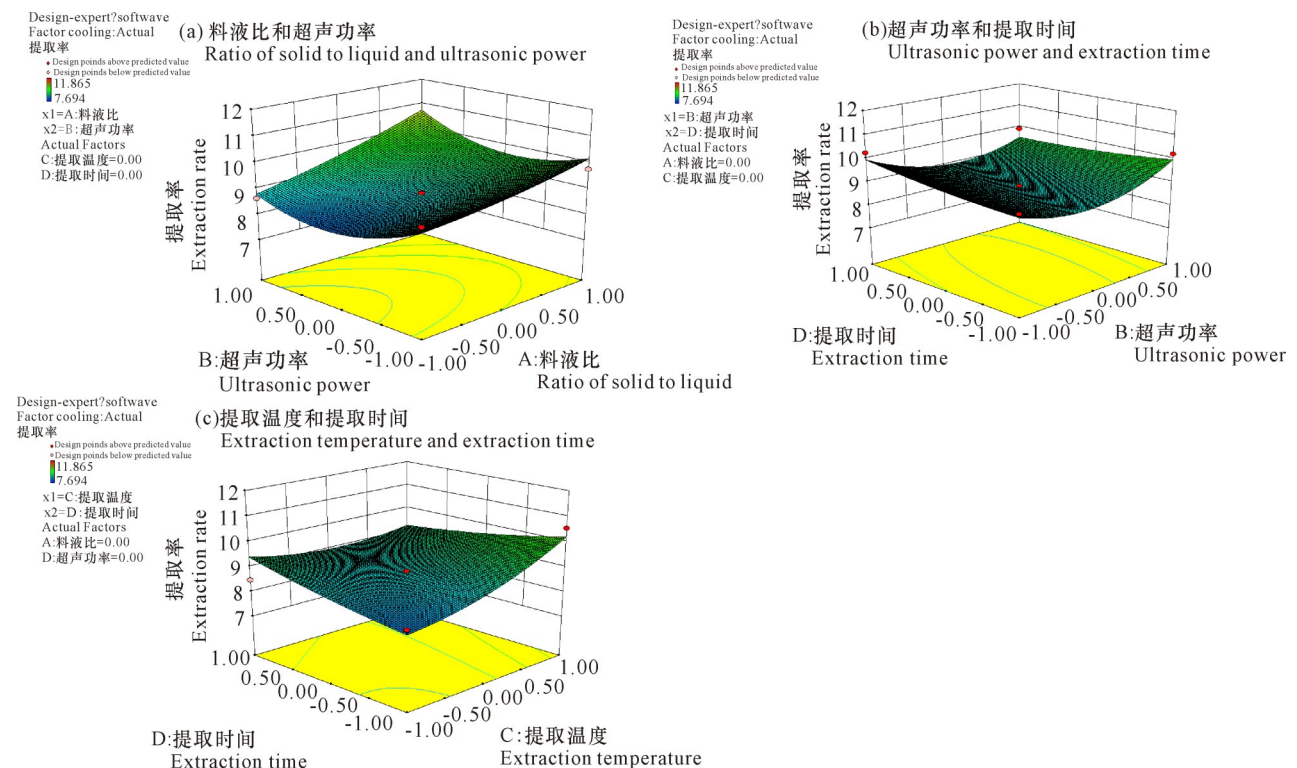
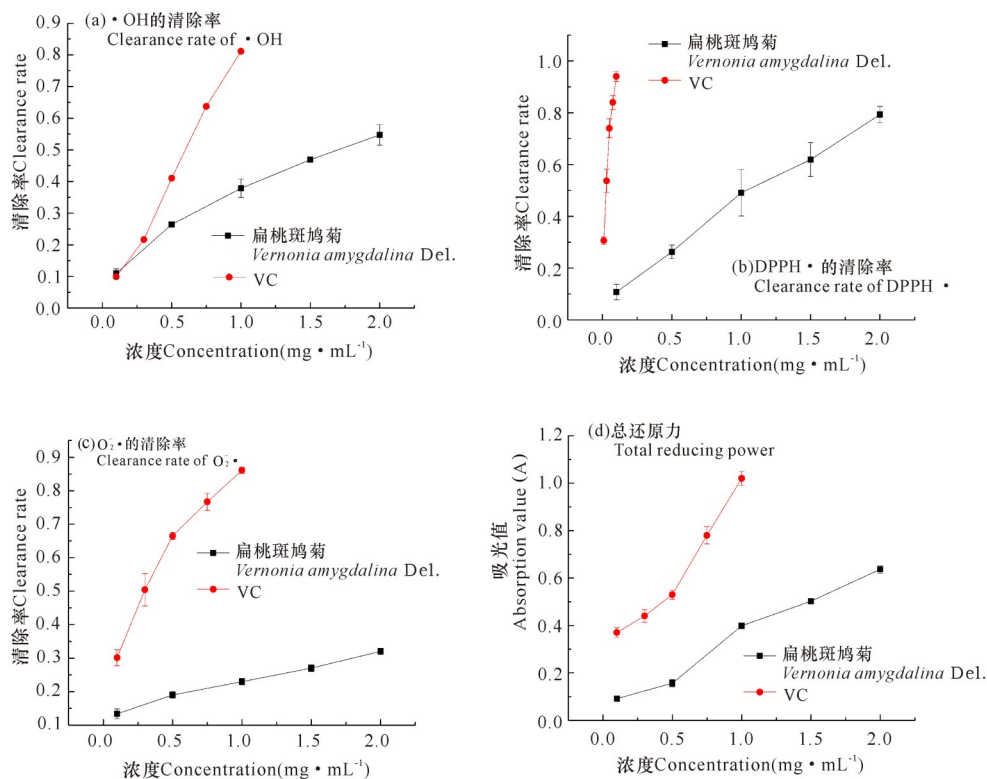


图7 各个因子交互作用的响应面图

Fig.7 Response surface diagram for interaction of every two factors

图8 扁桃斑鸠菊总黄酮的 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、DPPH \cdot 清除率及还原力Fig.8 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、DPPH \cdot clearance rate and reducing power of *Vernonia amygdalina* Del. flavonoids

3 结论

本研究采用响应面法优化扁桃斑鸠菊黄酮的提取工艺条件,然后在最佳提取条件下测定其含量,并研究了其体外抗氧化活性。试验获得的最优提取工艺条件为超声波功率 409.6 W,超声频率 35 kHz,无水乙醇,料液比 1:48.5 g/mL,提取温度 61.9 $^{\circ}\text{C}$,提取时间 20 min,总黄酮得率为 5.7%。试验获得扁桃斑鸠菊黄酮对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、DPPH \cdot 均能够起到清除作用,当其浓度为 2 mg/mL 左右时,对它们的最大清除率分别为 54.7%、79.2%和 32%。浓度为 2 mg/mL 的扁桃斑鸠菊黄酮与 0.67 mg/mL VC 的吸光值几乎均等,可见其黄酮体外抗氧化活性较好。通过热溶剂浸提超声波辅助提取法提取扁桃斑鸠菊中的黄酮类化合物,所用时间短、要求温度低、提取率好,方法简单易行,具有明显的优势。本研究采用响应面法确定该方法的最佳提取工艺,以期为药食两用植物扁桃斑鸠菊进一步产业化及开发天然抗氧化剂和保鲜剂提供理论基础。

参考文献

- [1] 杨早. 南非叶化学成分及药理作用研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2013, 29(4): 397-400.
- [2] SANI A A, ALEMKA E T, ABDULRAHEEM R O, et al. A study review of documented phytochemistry of *Vernonia amygdalina* (family asteraceae) as the basis for pharmacologic activity of plant extract[J]. Journal of Natural Sciences Research, 2012, 2(7): 1-8.
- [3] JISAKA M, KAWANAKA M, SUGIYAMA H, et al. Antischistosomal activities of sesquiterpene lactones and steroid glucosides from *Vernonia amygdalina*, possibly used by wild chimpanzees against parasite-related diseases[J]. Bioscience Biotechnology Biochemistry, 1992, 56(5): 845-846.
- [4] OBASEIKI-EBOR E E, ODUKOYA K, TELIKEPALLI H, et al. Antimutagenic activity of extracts of leaves of four common edible vegetable plants in Nigeria (west Africa) [J]. Mutation Research Letters, 1993, 302(2): 109-117.

- [5] KUPCHAN S M, HEMINGWAY R J, KARIM A, et al. Tumor inhibitors. XLVII. Vernodalol and vernomygdin, two new cytotoxic sesquiterpene lactones from *Vernonia amygdalina* Del. [J]. Journal of Organic Chemistry, 1969, 34(12):3908-3911.
- [6] TADESSE A, GEBRE-HIWOT A, ASRES K, et al. The *in vitro* activity of *Vernonia amygdalina* on *Leishmania aethiopica* [J]. Ethiopian Medical Journal, 1993, 31(3): 183-189.
- [7] 闫鑫, 李青旺, 李健. 蕨菜总黄酮对宫颈癌作用的研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医: 科技版, 2009(21):95-97.
- [8] BUNTRU A, ROTH A, NYFFENEGGER-JANN N J, et al. HemITAM signaling by CEACAM3, a human granulocyte receptor recognizing bacterial pathogens [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2012, 524(1): 77-83.
- [9] 木合布力·阿布力孜, 王永波, 徐方野, 等. 新疆光果甘草黄酮对人肝癌 Bel-7402 细胞增殖的抑制活性研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2013, 36(12): 1744-1748.
- [10] 胡旭娇, 刘彩霞, 杨仙, 等. miR-21 在山核桃叶总黄酮抑制人脐静脉内皮细胞增殖中的作用研究 [J]. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(5): 613-616, 640.
- [11] 孟庆华, 于晓霞, 张海凤, 等. 天然黄酮类化合物清除自由基机理及其应用进展 [J]. 云南民族大学学报: 自然科学版, 2012, 21(2): 79-83.
- [12] 郭志芳, 马川兰, 贾娟. 蜂胶中黄酮类化合物清除自由基性能研究 [J]. 食品研究与开发, 2014, 35(7): 17-19.
- [13] 江燕, 林翠梧, 柴桦, 等. 扁桃斑鸠菊挥发性化学成分的顶空固相萃取-气相色谱-质谱法分析 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(11): 2884-2886.
- [14] 陆阳. 从扁桃斑鸠菊中分得两种新皂甙 [J]. 国外医药: 植物药分册, 1996, 11(3): 125-126.
- [15] 王华宇, 陈乃明, 杨利平, 等. 药用植物扁桃斑鸠菊的离体快速繁殖技术研究 [J]. 湖北农业科学, 2016, 55(19): 5087-5090.
- [16] 柳建军, 许立松, 刘锡葵. 野生食用蔬菜甜菜树的抗氧化活性研究 [J]. 食品科学, 2008, 29(8): 125-127.
- [17] 史艳财, 邹蓉, 韦记青, 等. 黄花倒水莲总黄酮提取工艺研究 [J]. 北方园艺, 2014(12): 134-137.
- [18] 赵娟娟. 分心木黄酮超声-微波协同提取及抗氧化性研究 [J]. 食品研究与开发, 2018, 39(18): 70-76.
- [19] 许静雅, 苏小军, 李清明, 等. 响应面法优化淮山中总黄酮提取工艺的研究 [J]. 中国酿造, 2016, 35(5): 115-118.
- [20] 李云龙, 李红梅, 胡俊君, 等. 响应面法优化苦荞酒糟黄酮提取工艺的研究 [J]. 中国酿造, 2013, 32(7): 38-42.
- [21] 邓梦琴, 何夏怡, 何慕怡, 等. 响应面法优化菠萝蜜果皮黄酮提取工艺 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(5): 222-227.
- [22] 焦文静, 林洁荣, 叶健军, 等. 响应面分析法优化紫象草花青素提取工艺 [J]. 黑龙江畜牧兽医: 科技版, 2015(19): 11-15, 20, 294.
- [23] 蔡碧琼. 稻壳黄酮类化合物的提取、精制及抗氧化活性研究 [D]. 福州: 福建师范大学, 2008.
- [24] 朱会霞. 覆盆子黄酮抗氧化活性研究 [J]. 现代食品科技, 2012, 28(10): 1302-1305.
- [25] 吴玉兰. 金樱子总黄酮对氧化损伤 HUVEC 保护作用的研究 [D]. 衡阳: 南华大学, 2012.
- [26] 高行恩, 王洪新. 不同提取方法对山药多糖含量及其体外抗氧化活性的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(7): 256-262.

Optimization of Flavonoids Extraction and Antioxidant Activity of *Vernonia amygdalina* Del. by Response Surface Methodology

TANG Jianmin¹, ZHU Chenghao^{1,2}, XU Jingtang^{1,3}, LIU Zhuojie^{1,3}, MO Wei^{1,3}, JIANG Yunsheng¹, WEI Jiqing¹

(1. Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China; 2. College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi, 541004, China; 3. College of Food and Agricultural Engineering, Baise University, Baise, Guangxi, 533000, China)

Abstract: In order to explore the optimal extraction process of flavonoids and free radicals from *Vernonia amygdalina* Del., the leaves of *Vernonia amygdalina* Del. were used as test materials. The combination of single factor and response surface test was used to optimize the extraction of total flavonoids by ultrasonic assist, and the flavonoid content was determined and the antioxidant activity was analyzed. The results showed that the optimal extraction conditions of *Vernonia amygdalina* Del. flavonoids were that ultrasonic power was 409.6 W, ultrasonic frequency was 35 kHz, ethanol concentration was 100%, solid-liquid ratio was 1:48.5 g/mL, extraction temperature was 61.9°C, extraction time was 20 min, and the flavonoid yield was 5.7%. When the concentration of flavonoids was 2 mg/mL, the maximum clearance rates of $\cdot\text{OH}$, $\text{DPPH}\cdot$ and $\text{O}_2\cdot^-$ were 54.7%, 79.2% and 32%, respectively, they had good reducing ability. The flavonoids in *Vernonia amygdalina* Del. were extracted by ultrasonic assisted extraction with hot solvent extraction. The extraction time was short, the required temperature was low, and the extraction rate was good. This method was simple and easy to operate, which had obvious advantages.

Key words: *Vernonia amygdalina* Del., response surface method, total flavonoids, antioxidant

责任编辑:陆 雁



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱: gxkxyxbjb@126.com

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkxyxb/ch>