

◆植物科学◆

通脱木黄酮提取工艺及抗氧化活性研究*

邹蓉¹, 孙菲菲^{1,2}, 邱德全^{1,3}, 蒋运生^{1**}, 蒙美清^{1,3}, 梁敏玲^{1,3}

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西桂林 541006; 2. 桂林医学院药学院, 广西桂林 541199; 3. 百色学院农业与食品工程学院, 广西百色 533000)

摘要:本研究利用单因素试验和响应面法探究超声波法辅助提取通脱木 *Tetrapanax papyrifer* 黄酮的最佳工艺, 在此基础上分别对采自广西壮族自治区百色市乐业县拉雅、拉雅二沟和河池市南丹县峨嵋村 3 个地区的通脱木茎髓、叶的黄酮含量进行测定分析, 并研究黄酮体外抗氧化活性。结果表明: 通脱木黄酮在超声波功率 300 W、频率 40 kHz 条件下, 最佳提取条件为料液比 1:50 (g/mL), 乙醇浓度 20%, 提取温度 70℃, 提取时间 70 min, 黄酮提取率为 1.62%。拉雅二沟黄酮含量和抗氧化能力均高于其他两个地区, 其对·OH、DPPH·、O₂⁻·的消除率分别为 19.35%、63.21%、55.65%, 同时该地区通脱木茎髓中的黄酮含量显著高于叶子。本研究为通脱木黄酮资源的开发利用提供了数据参考。

关键词:通脱木 黄酮提取 响应面法 抗氧化性 超声波辅助提取

中图分类号: Q5-3 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2022)01-0045-09

DOI: 10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20220421.002

通脱木 *Tetrapanax papyrifer*, 又名通草、木通树、天麻子等^[1], 因其茎髓经干燥后呈白色而被称为“白通草”, 经加工切成薄片后又被称为“通草纸”^[2]。通脱木属常绿灌木或小乔木植物, 主要生长在 2 800 m 以下向阳肥沃的土壤上, 在我国主要分布于陕西、广东、广西、云南、四川、贵州、湖南、湖北、江西等地^[3]。

随着生活水平的提高, 人们越来越关注身体健康, 对保健食品的需求也日益增长, 因而通脱木药用价值的开发也越来越受到重视。目前通脱木的药用

功能主要有清热解毒、利尿、益气、通乳等^[4]。通脱木全身都是宝, 其花、叶、果实含有丰富的三萜类化合物、三萜皂苷类化合物、甾类化合物和神经酰胺类等物质^[5], 对炎症、癌症、脂肪肝以及艾滋病等有一定的治疗作用^[6-9]。此外, 通脱木中还富含黄酮化合物。因分子结构特殊, 黄酮化合物具有很多药用价值^[10,11], 已被广泛应用于临床制药和保健食品等领域^[12]。目前有不少文献报道了分心木、异叶梁王茶、黄花倒水莲、黄根等植物体内黄酮提取及其抗氧化活

收稿日期: 2021-06-17

* 河池科技计划项目(河科 AB198807, 河科 AB210306)和广西植物研究所基本业务费项目(桂植业 19002)资助。

【作者简介】

邹蓉(1982-), 女, 副研究员, 主要从事药用植物学和保护生物学研究。

【**通信作者】

蒋运生(1966-), 男, 研究员, 主要从事药用植物引种栽培研究, E-mail: 175183030@qq.com。

【引用本文】

邹蓉, 孙菲菲, 邱德全, 等. 通脱木黄酮提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 广西科学院学报, 2022, 38(1): 45-52, 60.

ZOU R, SUN F F, QIU D Q, et al. Study on Extraction Technology and Antioxidant Activity of Flavonoids from *Tetrapanax papyrifer* [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2022, 38(1): 45-52, 60.

性研究^[13-16],但未见相关的通脱木黄酮提取报道,且从通脱木中提取黄酮类化合物的工艺条件尚未明确。因此,探讨通脱木黄酮的提取工艺具有重要的研究意义。

本研究采用单因素试验方法分析提取时间、提取温度和乙醇浓度等因素对通脱木黄酮提取率的影响,再利用响应面法优化通脱木黄酮提取的最佳工艺条件,然后测定通脱木茎髓、叶中的黄酮含量,同时分析其体外抗氧化活性,比较通脱木茎髓、叶中黄酮含量的差异,为通脱木中黄酮的开发和利用提供数据参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料

通脱木分别采自广西壮族自治区百色市乐业县拉雅(24°49'20" N, 106°16'59" E)、拉雅二沟(24°55'33" N, 106°33'42" E)和河池市南丹县峨嵋村(24°57'1.88" N, 107°29'48.30" E) 3个地区。3个地区都属于中亚热带季风气候区,地处云贵高原向广西丘陵过渡的山原地带。每个地区选取不同年份(一年生、两年生、三年生)健壮树苗各10株。试验所使用的叶片、茎髓(茎中的白色髓)需烘干粉碎,过60目筛。

1.1.2 试剂

芦丁标准品(批号:Y16M9S61523,上海源叶生物科技有限公司),蒸馏水,乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、Vc、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、邻二氮菲、磷酸盐缓冲溶液(PBS)、硫酸亚铁、H₂O₂、氯化铁、铁氰化钾、磷酸盐缓冲液、三氯乙酸均为分析纯试剂,均购自桂林卓一生物有限公司。

1.1.3 试验仪器

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),KQ-300E型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司),HN-8型数显恒温水浴锅(上海力辰邦西仪器科技有限公司),电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

1.2 方法

1.2.1 黄酮标准曲线的制作

称量经真空干燥至恒重的芦丁标准品13.2 mg,用60%乙醇溶解并定容至25 mL容量瓶作为标准溶液(0.528 mg/mL)^[14]。分别准确吸取0 mL,0.4 mL,0.8 mL,1.2 mL,1.6 mL,2.0 mL的芦丁标准

品溶液置于25 mL的容量瓶内,分别加入2.0 mL,1.6 mL,0.8 mL,0.4 mL,0 mL的60%乙醇溶液,再加入5%亚硝酸钠溶液0.5 mL,混匀静置6 min;随后加入10%硝酸铝溶液0.5 mL,静置6 min;最后加入4%氢氧化钠溶液4.0 mL,用60%乙醇定容至刻度,摇匀后静置15 min;在510 nm的波长下测定吸光度,绘制回归曲线,回归方程为 $Y = 12.029x + 0.0095$, $R^2 = 0.9992$,芦丁标准溶液在0-0.06 mg/mL时与吸光度呈现出良好的线性关系。

1.2.2 供试品溶液的配制

按照通脱木粉末与乙醇的质量体积比1:50,称取0.5 g样品通脱木粉末与20%乙醇混合,在70℃条件下水浴70 min。然后用功率300 W、频率40 kHz的超声波辅助提取,过滤溶液,再用20%乙醇定容至50 mL,即得供试品溶液。

1.2.3 通脱木黄酮提取工艺的优化试验

①单因素试验。

称取通脱木样品粉末0.5 g,进行黄酮提取工艺的单因素试验,分别考察温度(40℃、50℃、60℃、70℃、80℃)、溶剂(乙醇)浓度(20%、40%、60%、80%、100%)、料液比(样品:乙醇,1:30 g/mL,1:40 g/mL,1:50 g/mL,1:60 g/mL,1:70 g/mL)、超声提取时间(10 min、30 min、50 min、70 min、90 min)对通脱木黄酮提取效果的影响。设置通脱木黄酮提取的基本条件:提取温度60℃、溶剂(乙醇)浓度60%(V:V)、料液比1:30(g/mL)、超声提取时间30 min、超声功率300 W、超声波频率40 kHz。优化当前影响因素时,以不同水平替代基本条件中相应因素的参数,其他因素的参数设置不变。待提取结束后,对浆液进行过滤,留取上清液,定容至50 mL,按照芦丁标准曲线的步骤进行加样,测定吸光度,按公式(1)^[16]计算通脱木黄酮提取率。每个处理进行5个重复。

$$\text{黄酮提取率}(\%) = \frac{C \times V}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

式中,C为提取液中黄酮的含量,mg/mL;V为提取液的体积,mL;M为样品的粉末质量,mg。

②响应面优化。

根据单因素试验结果,以提取温度、提取时间及料液比3个因素为考察因子,黄酮提取率(Y)为响应值,采用Design Expert 11软件的Box-Behnken中心组合设计三因素三水平试验方案(表1)^[17-20],考察通脱木黄酮提取率。

表 1 响应面试验的因素与水平表

Table 1 Factors and levels table of response surface test

水平 Levels	因素 Factors		
	A 提取温度(°C) A Extraction temperature (°C)	B 料液比(g/mL) B Material- liquid ratio (g/mL)	C 提取时间(min) C Extraction time (min)
-1	60	1:40	50
0	70	1:50	70
1	80	1:60	90

1.2.4 通脱木黄酮的体外抗氧化试验

①通脱木黄酮对·OH的清除作用。

向试管内先加入 1 mL 0.75 mol/L 的邻二氮菲和 2 mL pH 值为 7.45 的磷酸盐缓冲液(PBS)、1 mL 蒸馏水、1 mL 0.75 mol/L FeSO₄ 溶液和 1 mL 0.01% H₂O₂, 搅拌均匀后置于 37℃ 恒温水浴锅中水浴 1 h。用蒸馏水作为参比, 利用紫外分光光度计在 536 nm 处测定吸光度, 记为 A_p; 用等体积的蒸馏水代替 0.01% H₂O₂, 测定在同波长下的吸光度, 记为 A_b; 换等体积的样液替代蒸馏水, 测其吸光度, 记为 A_s。每组试验设置 3 次平行。·OH 清除率(%)按公式(2)^[21]计算, 用 V_c 作对照。

$$\cdot\text{OH 清除率}(\%) = \frac{A_s - A_p}{A_b - A_p} \times 100\% \quad (2)$$

②通脱木黄酮对 DPPH· 的清除作用。

取不同产地的黄酮粗提液分别与 0.1 mmol/L 的 DPPH· 溶液进行等体积混合, 放置 30 min 后用无水乙醇作为参比, 利用紫外分光光度计在 517 nm 处测定吸光度 A₁。使用同样方法测定不同产地的黄酮粗提液与无水乙醇等体积混合液的吸光度 A₂, DPPH· 溶液与无水乙醇等体积混合液的吸光度 A_d, 每组试验设置 3 次平行。根据公式(3)^[22]计算样液对 DPPH· 的清除率(%), 用 V_c 作对照。

$$\text{DPPH}\cdot \text{清除率}(\%) = \frac{A_d - (A_1 - A_2)}{A_d} \times 100\% \quad (3)$$

③通脱木黄酮对 O₂⁻· 的清除作用。

将 5 mL 0.05 mol/L pH 值为 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液放置于 25℃ 水浴锅中预热 20 min, 然后分别加入 1 mL 不同产地的黄酮粗提取液、0.5 mL 25 mmol/L 浓度的邻苯三酚, 混匀后置于 25℃ 水浴锅中准确反应 4 min, 最后加入 2 滴 8 mol/L HCl 终止

反应。以蒸馏水作参比, 利用紫外分光光度计在 299 nm 处测定吸光度 A_e。用等体积蒸馏水代替粗提液样品的吸光度为 A₀, 用 0.5 mL 蒸馏水代替邻苯三酚溶液的吸光度为 A_b。每组试验设置 3 次平行。根据公式(4)^[23]计算 O₂⁻· 的清除率, 用 V_c 作对照。

$$\text{O}_2^-\cdot \text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_e - A_b)}{A_0} \times 100\% \quad (4)$$

④通脱木黄酮总还原力的测定。

取 1.0 mL 的黄酮粗提液, 加入 2.5 mL 1% 铁氰化钾溶液和 2.5 mL 0.22 mol/L 磷酸盐缓冲液, 混匀后置于 50℃ 水浴锅中反应 30 min, 迅速冷却并加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸, 在 4 000 r/min 的条件下离心 10 min, 取 2.5 mL 的上清液, 加入 2.5 mL 蒸馏水和 2.5 mL 0.1% 三氯化铁溶液, 混合后静置 10 min, 以蒸馏水作参比, 利用紫外分光光度计测定其在 700 nm 处的吸光度。吸光值越高, 还原力越大^[23]。用 V_c 作对照。

1.2.5 数据分析

应用 Excel 对试验数据进行统计预处理, 然后用 SPSS 17.0 统计软件对相关数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

当提取温度为 70℃ 时, 通脱木黄酮的提取率达到最高值 1.25%, 但继续升高温度, 黄酮提取率降低, 这可能是由于温度过高导致杂质溶出, 同时高温极易使黄酮结构发生改变, 因此黄酮的提取率降低[图 1(a)]。随着乙醇浓度的提升, 黄酮提取率变化不明显, 表明乙醇浓度对黄酮提取率影响不大, 因此以 20% 乙醇作为提取溶剂, 同时不再将乙醇浓度作为下一步优化试验的影响因素[图 1(b)]。当料液比为 1:50 (g/mL) 时, 黄酮提取率达到最大, 但继续提高料液比反而使提取率呈下降趋势, 这可能是由于料液比过高时, 溶剂(乙醇)吸收了较多的超声波能量, 使通脱木粉末吸收的超声波能量减少, 导致黄酮提取率降低[图 1(c)]。当提取时间为 70 min 时, 黄酮提取率最高, 但提取时间大于 70 min 时, 黄酮提取率呈现下降趋势, 这是因为超声波的空化效应和热效应破坏了黄酮结构, 从而降低了黄酮提取率[图 1(d)]。

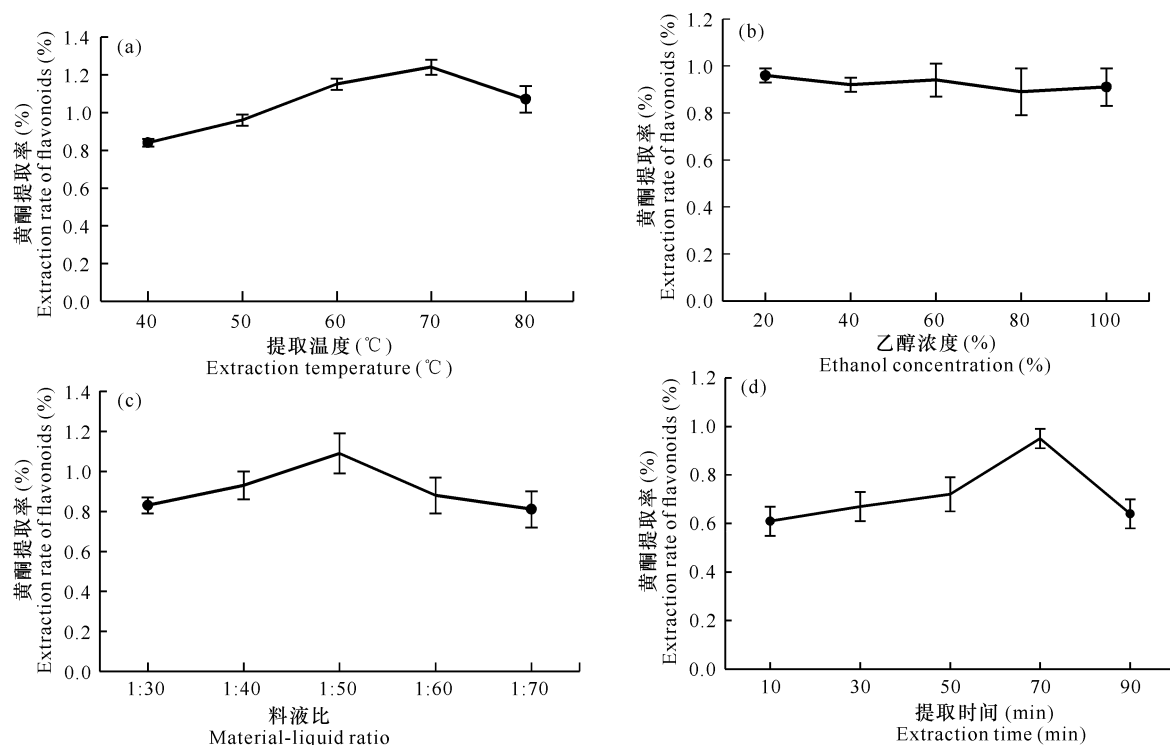


图1 提取温度(a)、乙醇浓度(b)、料液比(c)和提取时间(d)对黄酮提取率的影响

Fig. 1 Effect of extraction temperature (a), ethanol concentration (b), material-liquid ratio (c) and extraction time (d) on the extraction rate of flavonoids

2.2 响应面试验结果与分析

2.2.1 响应面试验结果

表2为17个试验组合的通脱木黄酮提取率结果。当提取温度为70℃、提取时间为70 min,料液比为1:50 (g/mL)时,获得最大通脱木黄酮提取率为1.62%(试验13)。利用实验数据建立黄酮提取率的响应面最佳拟合模型,二次回归方程为

$$Y = 1.56 + 0.00525A - 0.002B + 0.056C + 0.076AB - 0.019AC + 0.12BC - 0.24A^2 - 0.14B^2 - 0.082C^2,$$

式中, Y 为预测的通脱木黄酮提取率(%), A 为提取温度(℃)、 B 为提取时间(min)、 C 为料液比(g/mL)。模型相关系数 $R^2 = 0.9657$,校正的决定系数 $Adj R^2 = 0.9084$,说明模型的预测值和实际值在试验中拟合度较好,试验结果可靠。方差分析表明(表3),回归方程中 $F = 130.76$, $P < 0.0001$,表明回归模型极显著;失拟误差 $P = 0.6543 > 0.05$,表明回归模型能够显著拟合提取温度(A)、提取时间(B)、料液比(C)对通脱木黄酮率的影响。因此,本研究所建立的回归方程能对试验结果进行准确的预测分析。

表2 响应面的设计与结果

Table 2 Design and results of response surface

试验序号 Test serial number	A 提取温度 (℃) A Extraction temperature (℃)	B 提取时间 (min) B Extraction time (min)	C 料液比 (g/mL) C Material-liquid ratio (g/mL)	黄酮提取率 (%) Extraction rate of flavonoids (%)
1	70	50	1:40	1.11
2	60	70	1:40	1.23
3	70	90	1:40	1.16
4	70	90	1:60	1.14
5	60	50	1:50	1.23
6	80	70	1:60	1.33
7	70	70	1:50	1.57
8	60	70	1:60	1.24
9	80	70	1:40	1.26
10	60	90	1:50	1.20
11	80	90	1:50	1.22
12	70	70	1:50	1.57
13	70	70	1:50	1.62
14	80	50	1:50	1.29
15	70	70	1:50	1.61
16	70	70	1:50	1.61
17	70	50	1:60	1.21

表3 响应面回归模型分析

Table 3 Response surface regression model analysis

方差来源 Source of variance	平方和 Square source	自由度 Freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significant
模型 Model	0.53	9	0.059	130.76	< 0.000 1	* *
A	4.950E-003	1	4.950E-003	10.89	0.013 1	*
B	1.711E-003	1	1.711E-003	3.77	0.093 5	-
C	3.042E-003	1	3.042E-003	6.70	0.036 1	*
AB	4.000E-004	1	4.000E-004	0.88	0.379 3	-
AC	1.056E-003	1	1.056E-003	2.32	0.171 2	-
BC	3.540E-003	1	3.540E-003	7.79	0.026 9	*
A ²	0.064	1	0.064	140.54	< 0.000 1	* *
B ²	0.23	1	0.23	501.58	< 0.000 1	* *
C ²	0.18	1	0.18	390.96	< 0.000 1	* *
残差 Residual	3.181E-003	7	4.544E-004			
失拟误差 Mismatch error	9.737E-004	3	3.246E-004	0.59	0.654 3	-
纯误差 Pure error	2.207E-003	4	5.517E-004			
总差 Total difference	0.54	16				

注: * 表示差异显著, $P < 0.05$; * * 表示差异极显著, $P < 0.01$; “-”表示差异不显著

Note: * indicates significant difference, $P < 0.05$; * * indicates extremely significant difference, $P < 0.01$; “-” indicates that the difference is not significant

2.2.2 响应面分析

通过对模型系数的分析可得各影响因素的主效应关系为提取温度(A) > 料液比(C) > 提取时间(B), 表明提取温度对通脱木黄酮提取率的影响最大。该结论与宋越冬等^[24]对荞麦叶黄酮的研究结论(超声时间 > 超声温度 > 乙醇体积分数)存在一定差异, 这可能是不同材料之间的性质差异所致。

此外, 交互项 AB、AC、BC 的 P 值分别为 0.379 3, 0.171 2, 0.026 9, 交互项 AB、AC 对提取率没有显著性影响($P > 0.05$), BC 交互作用显著($P = 0.026 9$), 表明 BC 交互作用对通脱木中黄酮的提取率会产生显著的影响。比较分析 AB、AC、BC 的交互作用, 获得响应曲面及等高线(图 2)。在 AB 交互作用中[图 2(a)], 固定 B 值, 提取率随 A 值增加呈上升的趋势, 当 A 接近 70℃ 时, 曲面达到顶点, 有最大

提取率; 固定 A 值, 提取率也随着 B 值增加而增大, 当 B 接近 70 min 时达到最高。因此, 在 A 接近 70℃、B 接近 70 min 的区域有最大提取率。在 AC 交互作用中[图 2(b)], 固定 A 值, 提取率随着 C 值的升高而增大, 当 C 值超过 1:50 时, 提取率增加不明显; 固定 C 值, 提取率随 A 值的增加而增大, A 值接近 70℃ 时提取率最大。因此, 在 A 接近 70℃、C 接近 1:50 的区域, 模型预测有最大黄酮提取率。在 BC 的交互作用中[图 2(c)], 固定 B 值, 提取率随 C 的增加而增大, 当 C 值接近 1:50 时有最大提取率; 固定 C 值, 提取率随 B 值的增加而增大, 当 B 接近 70 min 时, 提取率最大。因此, 在 B 接近 70 min、C 接近 1:50 的区域有最大提取率。进一步结合模型预测, 可获得通脱木黄酮的最佳提取条件为乙醇浓度 20% (单因素优化结果)、料液比 1:50.54 (g/mL)、提取

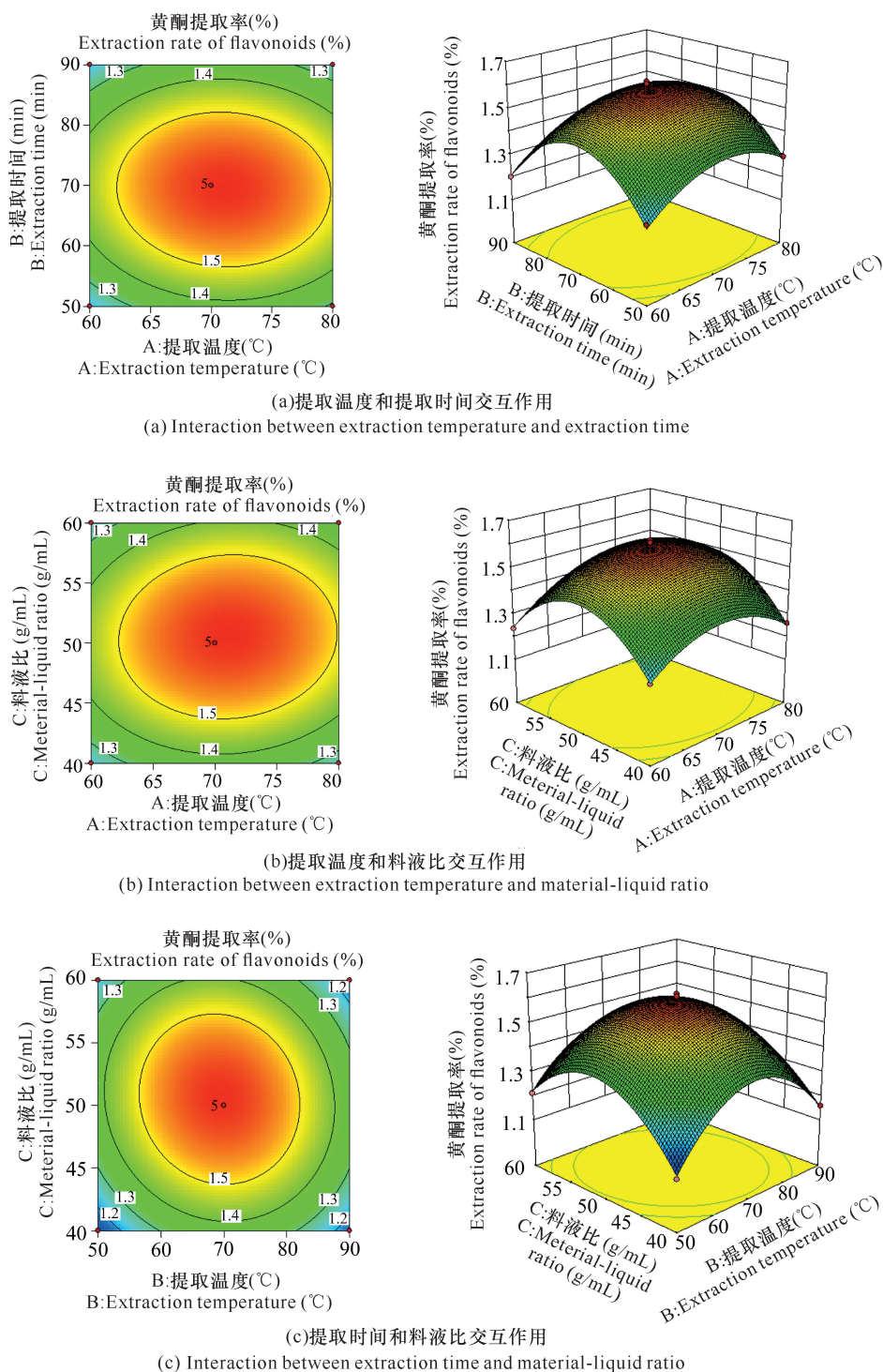


图2 提取温度、提取时间、料液比3个因子的交互作用

Fig. 2 Interaction of extraction temperature, extraction time and material-liquid ratio

温度 71.06℃、提取时间 69.26 min, 预测的最佳黄酮提取率为 1.60%, 与实际值 (试验 13, 提取率为 1.62%) 接近, 进一步表明该预测模型的可靠性。但考虑到实际操作的简便性以及结合单因素试验分析的结果, 本研究确定通脱木黄酮提取工艺条件为乙醇浓度 20%、料液比 1:50 (g/mL)、提取温度 70℃、提

取时间 70 min。

2.3 不同地区通脱木不同部位黄酮含量比较

利用响应面优化后的提取工艺, 分别对广西百色市乐业县拉雅(LY)、拉雅二沟(EG)和河池市南丹县峨嵋村(EM) 3个地区不同年份(一年生、两年生、三年生)的通脱木黄酮进行提取, 并计算提取率, 结果如

表4所示。不同地区的通脱木黄酮提取率有所差别,其中以广西百色市乐业县拉雅二沟山脉的通脱木黄酮较多,无论是叶子还是茎髓的提取率都比其他两个地区的高,表明拉雅二沟地区的生态环境比较适宜通脱木的生存。此外,所有地区茎髓中黄酮含量均高于其叶子的黄酮含量,且两年生的茎髓黄酮含量更高,这可能是由于物质运输在茎髓部位比叶片更易储存。这一结果对开发利用通脱木不同植株部位黄酮有

一定的指导意义。

2.4 不同地区通脱木茎髓中黄酮体外的抗氧化活性

如图3所示,不同地区通脱木茎髓中黄酮对于 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 、 $\text{O}_2^-\cdot$ 的清除作用都比较明显。其中,拉雅二沟地区的通脱木黄酮对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 、 $\text{O}_2^-\cdot$ 的消除率最高,分别为19.35%、63.21%、55.65%,总还原力达到对照(Vc)的50%以上,表明通脱木黄酮的体外抗氧化性较强。

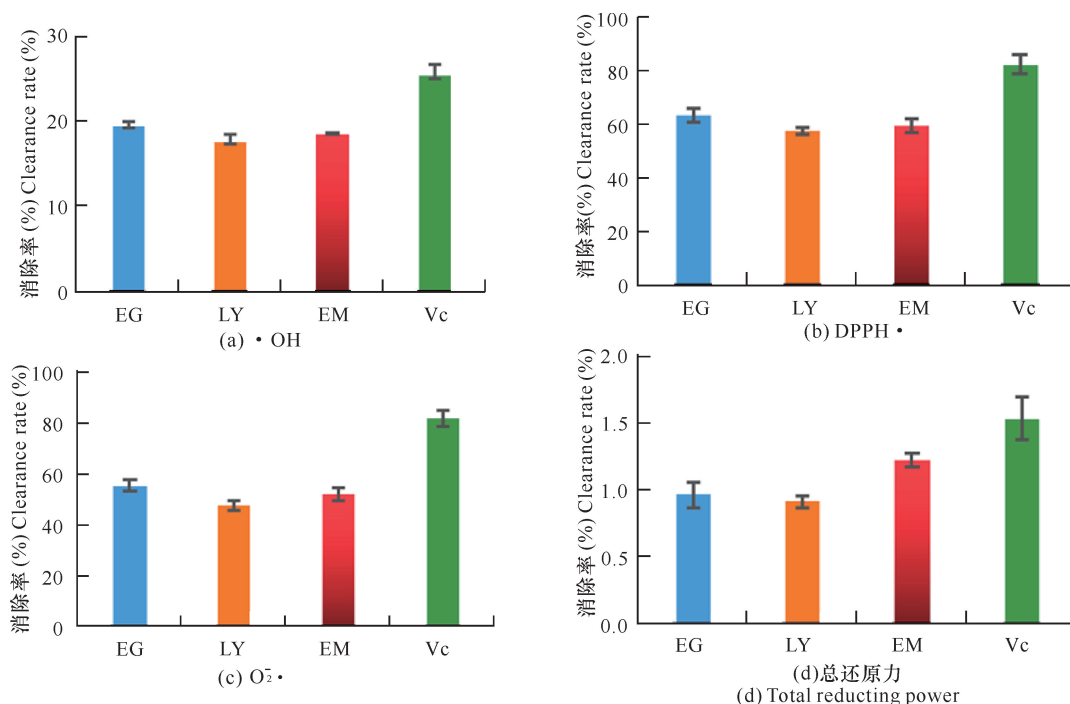
表4 不同地区、不同年份和不同部位的通脱木黄酮提取率(%)

Table 4 Extraction rate of flavonoids from *Tetrapanax papyrifer* in different regions, different years and different parts (%)

地点 Areas	茎髓黄酮提取率 Extraction rate of flavonoids from stem pith			叶黄酮提取率 Extraction rate of flavonoids from leaves		
	一年生 One-year old	两年生 Two-year old	三年生 Three-year old	一年生 One-year old	两年生 Two-year old	三年生 Three-year old
	拉雅二沟 EG	1.410 ± 0.031ab	1.438 ± 0.017a	1.424 ± 0.011ab	1.29 ± 0.044b	1.375 ± 0.007b
拉雅 LY	1.315 ± 0.024bc	1.355 ± 0.014ac	1.321 ± 0.008bc	1.216 ± 0.025b	1.234 ± 0.034b	1.223 ± 0.011b
峨嵋 EM	1.348 ± 0.004b	1.391 ± 0.027ab	1.371 ± 0.007b	1.238 ± 0.009a	1.248 ± 0.007a	1.279 ± 0.019a

注:字母 a,b,c 代表在 $P=0.05$ 水平上差异显著

Note: Letters a, b and c represent significant differences at level of $P=0.05$



EG 表示拉雅二沟, LY 表示拉雅, EM 表示峨嵋

EG stands for Laya Ergou, LY stands for Laya, EM means Emei

图3 不同地区通脱木茎髓中黄酮的还原力以及 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 、 $\text{O}_2^-\cdot$ 的清除率

Fig. 3 Reducing power of flavonoids and the clearance rates of $\cdot\text{OH}$, $\text{DPPH}\cdot$, $\text{O}_2^-\cdot$ in different areas of *Tetrapanax papyrifer* rhizome

3 结论

本研究通过单因素试验和响应面试验获得的通脱木黄酮最佳提取工艺为乙醇浓度 20%, 料液比 1:50 (g/mL), 提取温度 70°C, 提取时间 70 min, 此工艺下通脱木黄酮提取率可达 1.62%。此外, 通脱木黄酮的体外抗氧化性较强, 其最佳药用部位为茎髓, 且两年生的茎髓黄酮含量更高。

参考文献

- [1] 周天宇. 通脱木具有热带风情的耐寒植物[N]. 中国花卉报, 2020-07-16(W02).
- [2] 胡献国. 一身是药通脱木[J]. 养生月刊, 2016, 37(10): 896.
- [3] 中植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 54 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1993.
- [4] 孙菲菲, 韦霄, 邹蓉, 等. 药用植物通脱木的研究进展[J]. 广西科学, 2020, 27(4): 347-355.
- [5] 陈章义. 通脱木叶的四种新的三萜化合物[J]. 国外药学: 植物药分册, 1981(4): 28.
- [6] 于晶, 郝再彬, 苍晶, 等. 黄酮类化合物的活性研究进展[J]. 东北农业大学报, 2008, 39(12): 125-130.
- [7] 林国荣, 吴磊, 吴锦程. 枇杷叶总黄酮的富集及其生物活性的研究[J]. 食品科技, 2014, 39(11): 233-237.
- [8] 庞文悦, 王莲, 张荣泉. 山楂叶总黄酮生物活性研究近况进展[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(13): 134-136.
- [9] 宋成英, 黄俊懿, 封加福, 等. 对生物黄酮生物活性的综述[J]. 化学工程与装备, 2013(4): 128-130, 133.
- [10] 吴继洲. 天然药物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [11] 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.
- [12] 张彬, 李彩侠, 吴亚卿, 等. 黄酮类化合物的研究进展[J]. 食品与机械, 2005, 21(5): 70-73.
- [13] 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.
- [14] 唐健民, 朱成豪, 秦惠珍, 等. 神木天坑两种药茶同源植物叶总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 广西科学院学报, 2020, 36(1): 101-108.
- [15] 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.
- [16] 邹蓉, 蒋运生, 史艳财, 等. 黄根总黄酮提取工艺研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2014(5): 651-655.
- [17] 韩月, 李占君, 李梦媛, 等. 响应面优化油桦中三萜类化合物提取工艺[J]. 森林工程, 2021, 37(2): 79-85.
- [18] 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.
- [19] 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, 2015(19): 11-15, 20, 294.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 朱成豪, 唐健民, 韦霄, 等. 鳞尾木中总黄酮含量测定及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(20): 168-175.
- [24] 宋越冬, 陈晓庆, 张毓敏, 等. 荞麦叶黄酮的提取工艺优化及其抗氧化性[J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 180-187.

or without seed coat, temperature, substrate, light, burial depth, and soil moisture content on its germination rate. The results showed that the germination rate of removing mesosperm was 63.33%, which was significantly higher than that without removing seed coat (43.33%). The seeds did not germinate below 25°C, and the seeds could both germinate at 30°C and 35°C. Moreover the germination process and growth rate of seedlings could be significantly accelerated at 35°C. The germination rate of seeds in humus soil was the highest with 66.67%, there was no significant difference in the germination rate of seeds sown in perlite, loess and mixed soil, while the germination rate was the lowest in sandy soil. There was no significant difference in the effect of 20% and 40% soil water content on seed germination rate of *C. miquelii* O. Warburg, but cycad seedlings treated with 40% soil water content grow better, and the seeds did not germinate under 80% water content. The seeds of *C. miquelii* O. Warburg should be harvested when they were basically matured, preserved or sowed in time after drying in shade. The best germination conditions were to remove the mesosperm from the seeds, the temperature was 30–35°C, the substrate was humus soil, and the soil moisture content was 40%. Light and burial depths were not necessary conditions for the germination of *C. miquelii* O. Warburg seeds.

Key words: endangered species; *Cycas miquelii* O. Warburg; seeds; germination characteristics; optimal conditions

责任编辑:米慧芝

(上接第 52 页 Continued from page 52)

Study on Extraction Technology and Antioxidant Activity of Flavonoids from *Tetrapanax papyrifer*

ZOU Rong¹, SUN Feifei^{1,2}, QIU Dequan^{1,3}, JIANG Yunsheng¹, MENG Meiqing^{1,3}, LIANG Minling^{1,3}

(1. Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China; 2. College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi, 541199, China; 3. College of Agriculture and Food Engineering, Baise University, Baise, Guangxi, 533000, China)

Abstract: In this study, the single factor test and response surface test were used to explore the optimal extraction process of ultrasonic assisted extraction of the flavonoids from *Tetrapanax papyrifer*. On this basis, the content of flavonoids in the stems pith and leaves of the three areas of Laya, Laya Ergou, Leye County, Baise City, and Emei Village, Nandan County, Hechi City, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China, were determined and analyzed, and the antioxidant activity of flavonoids *in vitro* was studied. The results showed that under the conditions of ultrasonic power of 300 W and frequency of 40 kHz, the optimal extraction conditions were as follows: Material-liquid ratio of 1 : 50 (g/mL), ethanol concentration of 20%, extraction temperature of 70°C, and extraction time of 70 min. The extraction rate of flavonoids was 1.62%. The flavonoids content and antioxidant capacity of Laya Ergou were higher than those of the other two regions, and the elimination rates of $\cdot\text{OH}$, $\text{DPPH}\cdot$, $\text{O}_2^- \cdot$ were 19.35%, 63.21%, 55.65%, respectively. At the same time, the flavonoids content in stem pith of *T. papyrifer* was significantly higher than that in leaves. This study provides a data reference for the development and utilization of the flavonoids resources of *T. papyrifer*.

Key words: *Tetrapanax papyrifer*; flavonoid extraction; response surface method; antioxidant; ultrasonic assisted extraction

责任编辑:米慧芝