

沙棘果总黄酮提取工艺及抗氧化性研究

林继辉,陈琳榕,冯庆玲,谢三都,戴玉梅
(闽南科技学院 生命科学与化学学院,福建 南安 362332)

摘要:以沙棘果为原料,乙醇溶液为主要溶剂,沙棘果总黄酮提取量为评价指标,采用超声波辅助法在单因素实验基础上结合响应面分析法,综合考察了超声提取时间、提取温度、提取液(乙醇)体积分数、液料比4因素对沙棘果总黄酮的提取量影响。结果表明,沙棘果中总黄酮的最佳提取条件为:超声提取时间34 min、提取温度77℃、提取液(乙醇)体积分数60%、料液比22.8:1。在此工艺条件下沙棘果总黄酮得率为5.694 mg/g,与理论预测值5.770 mg/g的RSD值为1.33%,小于5%,模型拟合性良好。对制得的沙棘果总黄酮提取物粗品,采用清除DPPH自由基法与羟自由基法,以同浓度的维生素C溶液作为阳性对照,进行体外抗氧化活性测定。按清除DPPH自由基法得到的维生素C、沙棘果提取物的 IC_{50} 值分别为0.13、2.32 mg/mL,按羟自由基法得到的 IC_{50} 值分别为0.11、0.45 mg/mL,说明沙棘果总黄酮具有较好抗氧化活性。

关键词:沙棘果;超声波提取;总黄酮;响应面分析法;抗氧化

中图分类号:TS255.36 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-8513(2024)02-0178-08

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)属药、食同源植物,广泛分布于我国的西部与北部地区,营养丰富^[1]。研究发现沙棘中富含百余种活性物质(沙棘果油、生育酚、类胡萝卜素、黄酮、多酚、等),部分活性物质在食品、保健、医疗方面具有很高应用前景^[1-2]。目前市场上关于沙棘的产品主要为一些饮料制品和沙棘果食用油,但在功能性食品及药品领域研究报道较少^[3]。有研究报道作为重要的活性物质之一的沙棘果黄酮,具有抗氧化^[4]、消炎抗菌^[5]、降糖降脂^[6]、调节肠道微生态改善肥胖^[3]、保护血管内皮细胞^[7]、抑制癌细胞扩散^[7-9]的作用;在非小细胞肺癌中,黄酮类化合物对顺铂等一些化疗药物有增敏作用^[8]。作为我国西部地区的生态治理优选植物,研究沙棘果黄酮提取工艺的优化,对我国沙棘资源的利用具有较高的理论与实践意义。

沙棘果黄酮提取工艺目前常用的方法有:回流提取法^[10]、超声辅助提取法^[11]、酶辅助提取法^[12]、微波辅助提取法^[13]、超临界流体萃取法、高压脉冲电场辅助提取法等^[14],超声波辅助提取技术是近些年发展较快的一种提取方法,其操作性与实用性都优于常规回流提取。本研究以干制沙棘果为原料,以乙醇溶液为提取剂,使用超声辅助提取技术,在单因素实验的基础上采用响应面分析法优化沙棘果黄酮的提取工艺,可以为沙棘果中其它功能性成分提取研究提供理论参考,间接拓宽了沙棘果的综合利用价值;同时采用DPPH自由基清除法、羟自由基清除法对沙棘果黄酮粗提物进行抗氧化探讨,为沙棘果黄酮的体外功能性研究及评价提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

沙棘果昆明再春堂医药有限公司;芦丁(纯度 $\geq 98\%$)合肥博美生物公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH 纯度 $\geq 98\%$)上海麦克林生化有限公司;维生素C 上海国药试剂有限公司;无水乙醇、亚硝酸钠、氢

收稿日期:2022-08-07.

基金项目:福建省教育厅中青年教师教育科研项目(JT180826);福建省食品科学与工程省级教学团队项目(JXTD-2018-01);国家级大学生创新项目(201812992001)。

作者简介:林继辉(1983-),硕士,讲师。主要从事天然产物提取及应用。

通信作者:戴玉梅(1972-),博士,教授。主要从事配位化学及功能性食品化学。

氧化钠、硝酸铝、石油醚(60~90℃)、过氧化氢(纯度≥30%)、水杨酸,硫酸亚铁均为西陇科学股份有限公司,分析纯试剂.

1.2 仪器

KQ-400E型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;多功能粉碎机,永康市铂欧五金制品有限公司;集热式恒温加热磁力搅拌器,郑州长城科工贸有限公司;V-100D型可见光分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;HH-8数显恒温水浴锅,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;SHB-III循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;等.

1.3 实验方法

1.3.1 沙棘果粉脱脂

将沙棘果放入恒温鼓风干燥箱中60℃干燥至恒重,研磨成粉末,放入干净的无纺布袋中用石油醚(60~90℃)在索式提取器中脱脂^[15];脱脂3次每次3h;最后将脱脂后的沙棘果粉置于恒温鼓风干燥箱中干燥至恒重,过筛备用.

1.3.2 建立标准曲线

采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠络合显色体系进行测验^[16-17].准确称取芦丁标准品5.0mg以体积分数为70%的乙醇溶液将其完全溶解并定容至25mL,即质量浓度为0.2mg/mL.分别量取0、1、2、3、4、5和6mL置于25mL容量瓶中加70%乙醇溶液至10mL,各加入5%亚硝酸钠溶液1mL静置6min,加10%硝酸铝溶液1mL,混匀静置6min,加4%氢氧化钠溶液10mL静置15min反应结束后以蒸馏水定容至25mL,在波长510nm处以空白组做参比,测定吸光度(A).以吸光度(A)为纵坐标,芦丁质量浓度(C)为横坐标绘制标准曲线并求得线性回归方程.

1.3.3 沙棘果粉中总黄酮的提取与测定

取1.3.1中干燥后的沙棘果粉,过0.13mm不锈钢筛.准确称取2.0g试样,并加入一定浓度的乙醇溶液,按照确定超声提取时间、提取温度、提取液浓度和液料比进行提取并趁热过滤,滤液用等浓度的乙醇溶液定容于100mL具塞试管中.准确移取1.00mL上述提取液于10mL具塞试管中按照1.3.2中的步骤依次加入其它试剂,再测定吸光度值;利用公式(1)计算样品中总黄酮的提取量,实验过程每组实验数据平行测量3次.

$$R = \frac{CVn}{m} \quad (1)$$

式中: R 为沙棘果总黄酮提取量(mg/g); C 为提取液中总黄酮质量浓度(mg/mL); V 为提取液体积(mL); n 为样品稀释倍数; m 为沙棘果粉质量(g).

1.3.4 单因素实验

按1.3.3提取方法,采用控制变量法分别考察超声提取时间(10、20、30、40、50、60和70min)、提取温度(20、30、40、50、60、70和80℃)、提取液(乙醇)浓度(30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%)、液料比(10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1)对沙棘果总黄酮提取量的影响,实验过程每组实验数据平行测量3次.

1.3.5 响应面优化实验

根据响应面Box-Behnken实验设计理论^[18],结合单因素实验结果,选择影响沙棘果总黄酮提取量的4个重要因素:超声提取时间(A)、液料比(B)、提取液(乙醇)浓度(C)、提取温度(D)进行4因素3水平响应面设计实验,设计结果见表1.

表1 响应面设计因素水平表

水平	因素			
	A 超声提取时间/min	B 液料比/(mL·g ⁻¹)	C 提取液度/%	D 提取温度/℃
-1	30	15	50	60
0	40	20	60	70
1	50	25	70	80

1.3.6 抗氧化实验

1) DPPH · 清除法

DPPH 在甲醇或乙醇溶液中呈暗紫红色,且在 517 nm 处有最大吸收峰^[19]. 自由基中所带的孤对电子会与加入自由基清除剂进行配对,使暗紫红色的溶液被还原褪色成为黄色溶液,其变色程度与接受的电子数成线性关系,由此可以得到待测物抗氧化性能指数^[19-21]. 利用可见分光光度计在 517 nm 处测定其吸光度,可以计算出待测物的 DPPH 自由基清除率.

精确称取 Vc 对照品和黄酮粗提取物各 500 mg,分别置于 100 mL 容量瓶中,加入一定量的乙醇溶液将其稀释至刻度,摇匀,得到 5 mg/mL 的样品原液,再将其配置成 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mg/mL 的系列质量浓度溶液.

取上述不同溶度的 2.0 mL 沙棘黄酮样液按照参考文献[22]方法,加入 2 mmol DPPH 溶液 2 mL,在常温条件下避光反应 30 min,在 517 nm 处分别测定吸光度值记为 A_1 ;取 2.0 mL 样品液 + 2.0 mL 乙醇于相同波长下测其吸光值记为 A_2 ;取 2.0 mL 2 mmol DPPH 溶液 + 2.0 mL 乙醇溶液记为 A_0 ,利用 Vc 为阳性对照实验. DPPH · 清除率计算公式为:

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A_1 为 2.0 mL 样品 + 2.0 mL 2 mmol DPPH · 吸光度; A_2 为 2.0 mL 样品 + 2.0 mL 乙醇吸光度; A_3 为 2.0 mL 2 mmol DPPH 溶液 + 2.0 mL 乙醇吸光度.

2) 羟自由基清除法

准确配置 5 mmol/L 的 FeSO_4 水溶液、0.1% 的 H_2O_2 溶液、5 mmol/L 的水杨酸乙醇溶液. 按 1.3.6.1 的方法准确配制 5 mg/mL 的 Vc 与沙棘果黄酮粗提取物样品原液,再将其配置成 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL 的系列浓度溶液. 按照参考文献[22-24]方法依次加入不同溶液于 530 nm 处测定其吸光度,利用相同方法测定 Vc 的 OH · 清除率,根据下列公式计算沙棘果黄酮和 Vc 的 OH · 清除率:

$$\text{OH} \cdot \text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \times 100\right)$$

式中: A_1 为样品吸光值(2.0 mL 样品 + 2.0 mL 硫酸亚铁 + 2.0 mL 双氧水 + 2 mL 水杨酸乙醇溶液吸光值); A_2 为样品对照吸光值(2.0 mL 样品 + 2.0 mL 蒸馏水 + 2.0 mL 双氧水 + 2.0 mL 水杨酸乙醇溶液吸光值); A_0 为空白对照组吸光值(蒸馏水 + 2.0 mL 硫酸亚铁 + 2.0 mL 双氧水 + 2.0 mL 水杨酸乙醇溶液吸光值).

2 结果与分析

2.1 芦丁标准曲线的绘制

芦丁标准曲线见图 1,由图可知在质量浓度为 0 ~ 0.05 mg/mL 时,吸光度与浓度之间具有较好的线性关系;线性回归方程为: $y = 15.455x - 0.0005$, $R^2 = 0.9977$,在测试浓度范围内线性关系良好.

2.2 单因素实验结果与分析

由图 2A、B、C、D 可知沙棘果总黄酮的提取量,随提取时间、料液比、提取液溶度以及提取温度,总体呈现先增高后降低的变化趋势;在提取时间为 40 min、液料比 20:1、提取液溶度 60%、提取温度 70 °C 时提取量达到最大;图 2A,当提取时间大于 40 min 沙棘果总黄酮的提取量随时间增加反而下降可能原因是黄酮与溶液中其它物质发生反应^[25]或者是由于时间过长导致部分黄酮物质发生分解而使提取量降低,因此选择最佳提取时间为

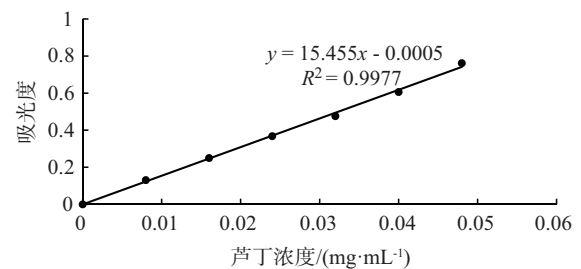


图 1 芦丁标准曲线

40 min;由图 2B 可知在液料比大于 20 时总黄酮提取量开始缓慢降低可能原因是在有限的提取物^[22-23]中总黄酮的溶出近乎最大值^[25],其溶出量的增加值远小于溶液的增加,所以提取量表现出反而下降的过程,因此选择最佳液料比为 20;由图 2C 可知,当乙醇浓度大于 60% 时总黄酮提取反而下降,这可能是随着乙醇溶度

的增加,提取液极性降低有利于黄酮物质溶出,但同时也会增加其它物质的溶出间接阻碍了黄酮物质的溶出,导致黄酮提取量降低,因此选择最佳乙醇提取浓度为 60%;由图 2D 可知,当提取温度为 70℃时,黄酮提取量达最高,随后随温度升高提取量反而下降,这是由于适当的温度增加了溶液内部分子运动的动能使黄酮分子溶出增加,但过高的温度会导致溶液中乙醇的损失一方面不利于黄酮的溶出增加;另一方面过高的温度可能会破坏了黄酮的结构,使其发生损耗导致提取量降低,因此最佳提取温度选择为 70℃.

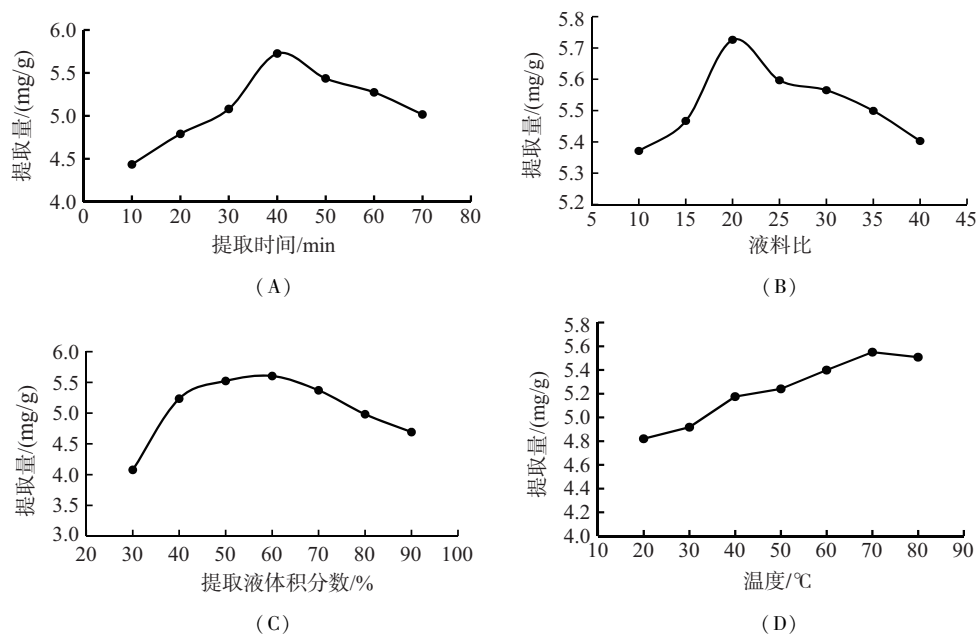


图 2 单因素对沙棘果总黄酮提取量的影响

2.3 响应面设计实验结果及分析

2.3.1 响应面结果

结合上述单因素实验结果,选择影响沙棘果总黄酮提取量(R)的 4 个主要因素:超声提取时间(A),液料比(B),提取液(乙醇)体积分数(C),提取温度(D)进行组合,并确定 4 因素 3 水平的最佳参数进行响应面分析.实验因素及水平编码见表 1,具体实验结果见表 2,方差分析见表 3.

表 2 响应面实验设计结果

实验号	A	B	C	D	总黄酮提取量/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	0	0	1	1	5.241
2	0	0	-1	1	5.560
3	0	0	0	0	5.791
4	1	0	1	0	5.015
5	1	0	0	-1	5.467
6	0	0	1	-1	5.273
7	0	0	-1	-1	5.306
8	1	-1	0	0	5.371
9	0	0	0	0	5.629
10	-1	0	-1	0	5.371
11	0	-1	1	0	5.112
12	0	0	0	0	5.823
13	-1	1	0	0	5.565
14	0	0	0	0	5.629
15	0	-1	1	0	5.338
16	-1	0	0	-1	5.112
17	0	1	0	-1	5.403

续表 2

实验号	A	B	C	D	总黄酮提取量/(mg·g ⁻¹)
18	0	-1	0	-1	5.410
19	1	1	0	0	5.358
20	1	0	0	1	5.144
21	0	1	-1	0	5.341
22	0	0	0	0	5.726
23	0	1	0	1	5.629
24	0	-1	0	1	5.350
25	0	1	1	0	5.468
26	-1	-1	0	0	5.403
27	-1	0	1	0	5.390
28	-1	0	0	1	5.615
29	0	-1	-1	0	5.532

表 3 回归统计分析结果

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.11	14	0.079	24.07	<0.000 1	**
A	0.053	1	0.053	16.01	0.001 3	**
B	0.027	1	0.027	8.09	0.013 0	*
C	0.079	1	0.079	23.82	0.000 2	**
D	0.030	1	0.030	9.19	0.009 0	**
AB	0.009 506	1	0.009 506	2.88	0.111 7	
AC	0.033	1	0.033	10.04	0.006 8	**
AD	0.19	1	0.19	56.18	<0.000 1	**
BC	0.075	1	0.075	22.67	0.000 3	**
BD	0.020	1	0.020	6.20	0.026 0	*
CD	0.020	1	0.020	6.20	0.026 0	*
A ²	0.27	1	0.27	81.57	<0.000 1	**
B ²	0.081	1	0.081	24.52	0.000 2	**
C ²	0.35	1	0.35	104.74	<0.000 1	**
D ²	0.16	1	0.16	49.58	<0.000 1	**
残差	0.046	14	0.003 299			
失拟	0.014	10	0.001 394	0.17	0.988 8	Not significant
纯差	0.032	4	0.008 062			
总误差	1.15	28				

注: $p < 0.05$ 为显著; $p < 0.01$ 为极显著, $p > 0.05$ 为不显著.

2.3.2 响应面回归方程建立及方差分析

采用 Design - Expert 8.0.6 软件对各因素进行回归拟合,得到下列沙棘果总黄酮提取量回归方程:

$$R = 5.72 - 0.066A + 0.047B - 0.081C + 0.050D - 0.049AB - 0.091AC - 0.22AD + 0.14BC + 0.072BD - 0.071CD - 0.22A^2 - 0.11B^2 - 0.23C^2 - 0.16D^2.$$

模型可靠性可从方差分析与相关系数说明考察.由表 3 可知 p 值 $< 0.000 1$,表示该项指标为极显著. $F_{\text{回归值}} = 20.65$ 说明该回归模型显著,即各因素(超声提取时间、液料比、提取液(乙醇)浓度、提取温度)与总黄酮提取量之间的线性关系显著,实验模型是可靠的,可以用来分析和预测沙棘果的总黄酮提取量; $R^2 = 0.960 1$ 、 $R_{\text{adj}}^2 = 0.920 2$,同时失拟差项 $F_{\text{失拟值}} = 0.26$, $p > 0.05$,表明失拟项不显著,这些共同说明该模型具有较好的稳定性,实验误差较小,该模型对实验拟合良好^[25].由各组 p 值可以看出二次项 A²、C²、D² 和交互项 AC、AD、BC 均对沙棘果总黄酮提取量的实验结果影响显著;并且二次项系数都小于零说明曲线开口向下

且存在最大值^[26];交互项 AB($p > 0.05$)对实验结果影响不显著;由单因素 F 值以及回归方程一次项系数的模值大小 C(0.081)、A(0.066)、D(0.050)、B(0.047)比较可知单因素对沙棘果总黄酮提取得率的影响顺序依次为:C > A > D > B,即提取液(乙醇)体积分数 > 超声提取时间 > 提取温度 > 液料比。

2.3.3 各因素对沙棘果总黄酮提取量影响的响应面立体图分析

图3(A~E)为各个因素交互关系对沙棘果总黄酮提取量影响的响应面图,由图可以直观地看出各响应面最大值所对应的因素水平,也可以由响应曲面的曲率可知各因素交互作用的强弱;由图3可知所有曲面都为凸型面,即所选范围内,响应值存在最大值(同时从回归方程的二次项系数都为负数说明响应面图形开口向下亦可说明其存在最大值)。由图3A可知,在提取液浓度与提取温度一定时,随着超声提取时间(A)和液料比(B)的增大,总黄酮提取量呈现先增大后减小;从图形中各因素边缘曲线的陡峭程度可知超声提取时间大于液料比对总黄酮提取量的影响大小关系;同理从图3B可知,在液料比与提取温度一定的条件下,随着超声提取时间(A)和提取液体积分数(C)的增大,总黄酮提取量先增大后减小;由投影图等高线的疏密及椭圆形状可知两因素之间的交互关系对总黄酮提取量的影响是显著的且从图形边缘曲线的陡峭程度可以获知对总黄酮提取量影响大小为提取液浓度(C)大于超声提取时间(A)。图3C、3D、3E、3F分别为超声提取时间(A)和提取温度(D)、液料比(B)和提取液体积分数(C)、液料比(B)和提取温度(D)、提取液浓度(C)和提取温度(D)对总黄酮提取量影响的交互关系图,在固定其它另外2个因素的条件下,图形曲面显示总黄酮提取量总体都呈先增大后减小的变化关系;由投影图等高线的疏密及椭圆形状可知两因素之间的交互关系对总黄酮提取量的影响是显著的且从图形边缘曲线的陡峭程度可以获知对总黄酮提取量影响大小为分别为:超声提取时间(A) > 提取温度(D)、提取液体积分数(C) > 液料比(B)、液料比(B) > 提取温度(D)、提取液体积分数(C) > 提取温度(D)。

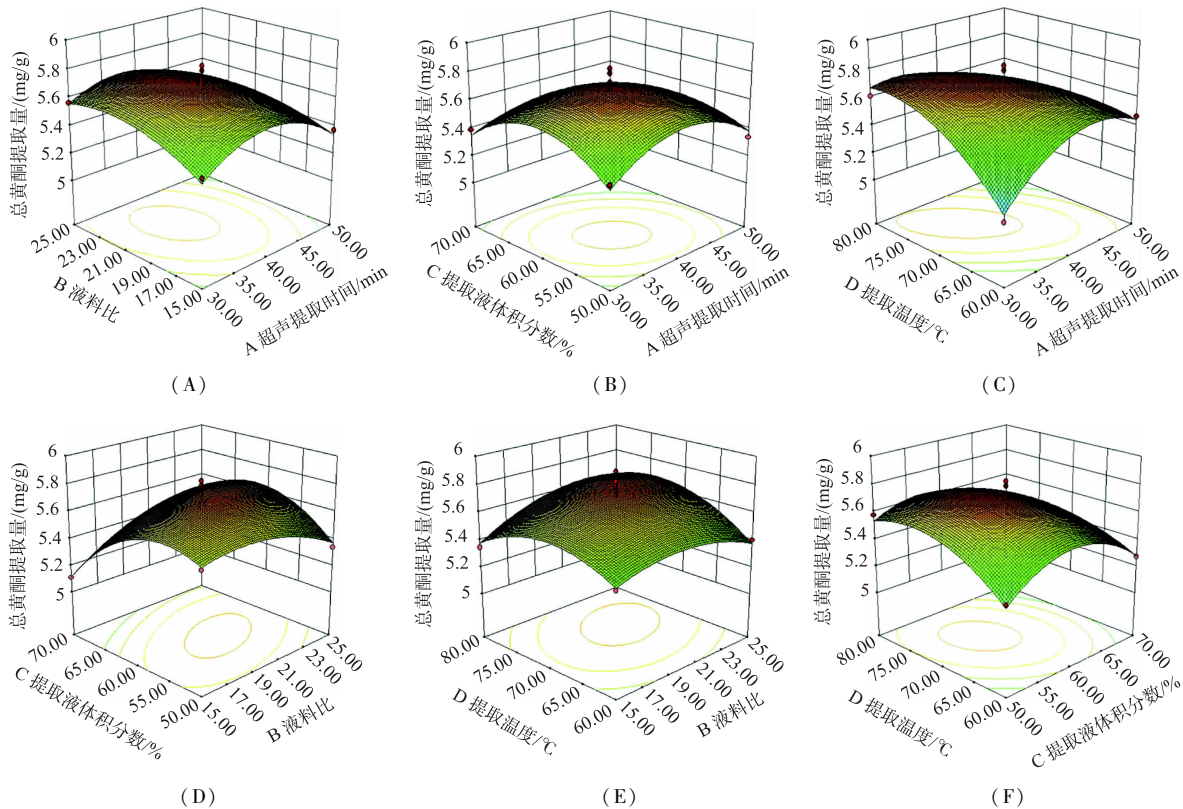


图3 各因素对沙棘果总黄酮提取量影响的响应面图

2.3.4 验证试验

结合响应面模型分析结果,利用软件 Design - Expert 8.0.6 对所求极值与边界值分析可得出沙棘果总黄酮提取工艺的最佳参数为:超声提取时间 34.07 min、液料比为 22.76:1 (mL:g) 提取液(乙醇)体积分数为 60.01%、提取温度为 76.85 °C,在此工艺条件下,沙棘果总黄酮提取量为 5.770 mg/g。考虑到实验工艺的可操作性,所以将工艺条件修正为:超声提取时间 34 min、液料比 22.8:1 (mL:g)、提取液(乙醇)体积分数

60%、提取温度 77 ℃. 以此工艺参数进行试验,得到沙棘果总黄酮提取量为 5.694 mg/g. 与模型模拟理论值 5.770 mg/g 非常接近,这说明该数学模型对于优化沙棘果黄酮提取工艺是切实可行的.

2.4 抗氧化实验结果与分析

2.4.1 沙棘果黄酮 DPPH 和羟基自由基清除实验结果与分析

由图 4A、4B 可知随着沙棘果总黄酮粗提取物的质量浓度不断增大,DPPH· 和 ·OH 的清除率也在不断增大. 当阳性对照 Vc、沙棘果黄酮提取物浓度达到 3.5 mg/mL 时,DPPH· 清除率分别可以达到 97.1%、77.51%,其 IC₅₀ 值分别为 2.32、0.13 mg/mL;当阳性对照 Vc、沙棘果黄酮提取物浓度达到 5 mg/mL 时,羟基自由基清除率可以达到 99.94%、82.03%,其 IC₅₀ 值分别为 0.45、0.11 mg/mL.

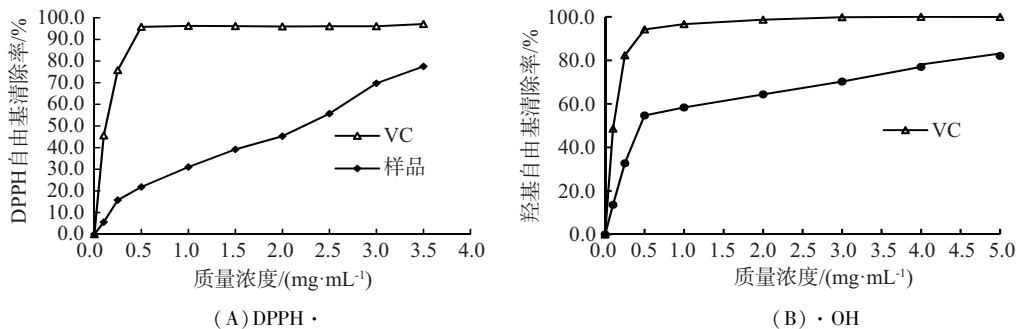


图 4 沙棘果总黄酮粗提取物对 DPPH· (A) 和 ·OH (B) 的清除作用

3 结语

本课题对沙棘果黄酮的提取工艺进行了优化并对其抗氧化活性进行探究,得到如下结论:

(1) 采用超声提取法提取沙棘果总黄酮,在单因素实验基础上通过响应面优化得到影响沙棘果总黄酮提取量的四元二次回归模拟方程:总黄酮提取量 (mg/g) = 5.72 - 0.066A + 0.047B - 0.081C + 0.050D - 0.049AB - 0.091AC - 0.22AD + 0.14BC + 0.072BD - 0.071CD - 0.22A² - 0.11B² - 0.23C² - 0.16D²;模型的可靠性可以为沙棘果黄酮提取工艺中各因素的选取、大小设定提供理论参考.

(2) 最佳提取工艺条件分别为:超声提取时间 34 min、液料比 22.8:1 (mL:g)、提取液(乙醇)体积分数 60%、提取温度 77 ℃. 在此工艺条件下进行 3 次实验得总黄酮平均提取量为 5.694 mg/g,与理论预测值的 RSD 值为 1.31%,说明模型是可靠的.

(3) 对沙棘果黄酮提取物的抗氧化活性进行探究,研究表明沙棘果黄酮对 DPPH· 和 ·OH 都具有较好的清除作用,其 IC₅₀ 值分别为 2.32 和 0.45 mg/mL 说明其具有较好的抗氧化作用;其抗氧化作用可以为其在功能性食品、药品领域中的应用提供可能.

参考文献:

- [1] 董诗婷,陈云,高群玉. 沙棘果生物活性成分及其功能的研究进展[J]. 中国酿造,2020,39(2):26-30.
- [2] 加列西·马那甫,王建华,阿依孜克热·伊斯马衣,等. 沙棘果黄酮和多糖的降解条件优化及动力学分析[J]. 现代食品科技,2021,37(03):124-131.
- [3] 王萌,王子纯,黄京美,等. 沙棘黄酮类物质提取纯化及功能活性研究进展[J]. 食品工业科技,2023,44(2):487-496.
- [4] HAN J R, DU Y N, YAN J N. Effect of non-covalent binding of phenolic derivatives with scallop (*Patinopecten yessoensis*) gonad protein isolates on protein structure and in vitro digestion characteristics[J]. Food Chemistry. 2021,357:129690.
- [5] 王宁宁,郑文惠,张凯雪,等. 沙棘的化学成分、药理作用研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志. 2021,46(21):5522-5532.
- [6] 冯淦熠,刘莹莹,李颖慧,等. 桑叶黄酮降糖、降脂作用与机制及其在动物生产中的应用[J]. 动物营养学报,2020,32(1):48-53.
- [7] 白鹭,李鸿,覃琴,等. 黄酮类化合物对血管内皮细胞损伤的保护作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(12):203-211.
- [8] 贾丛,杜亚蓉,孙坤. 沙棘总黄酮抑制肺癌 A549 增殖和迁移作用及机理[J]. 天然产物研究与开发,2020,32(6):937-945+952.

- [9] 杨楠,贾晓斌,张振海,等. 黄酮类化合物抗肿瘤活性及机制研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(3):373-381.
- [10] 赵静,秦艳,左巍,等. 植物来源的黄酮类化合物抗体的制备和应用研究进展[J]. 食品与发酵工业,2021,47(4):284-292.
- [11] 周坚,叶甫云. 水提法提取银杏中种皮中黄酮类物质的研究[J]. 武汉工业学院学报,1999(3):1-6.
- [12] 李亚军,梁忠厚. 黄酮类化合物提取研究进展[J]. 粮食与油脂,2021,34(11):14-17.
- [13] 严和琴,于靖,郑蔚,等. 响应面优化超声波辅助提取油茶花中总酚工艺研究[J]. 中国食品添加剂,2022,33(2):52-59.
- [14] 丁利君,吴振辉,蔡创海,等. 菊花中黄酮类物质提取方法的研究[J]. 食品工业科技,2002,23(2):20-22.
- [15] 殷丹,雷磊,陈科力. 江南卷柏提取物脱脂工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(24):24-26.
- [16] 李晓华,宋绪磊. 沙棘黄酮类物质的提取及纯化工艺[J]. 食品工业,2021,42(5):67-70.
- [17] 钱俊臻,王伯初,谭君,等. 黄酮类化合物的金属配合物及其药理作用[J]. 中国药理学通报,2012,28(8):1158-1162.
- [18] 余小翠,刘高峰. 响应面分析法在中药提取和制备工艺中的应用[J]. 中药材,2010,33(10):1651-1655.
- [19] 韦献雅,殷丽琴,钟成,等. DPPH法评价抗氧化活性研究进展[J]. 食品科学,2014,35(9):317-322.
- [20] 马玲龙,李小爽,陆仲坤,等. 芹菜素-铜(II)配合物研制及清除自由基活性[J]. 食品科技,2019,44(6):275-281.
- [21] 朱丽,马玲龙,李小爽,等. 两种黄酮类铜(II)配合物的制备及体外抗氧化活性[J]. 食品工业科技,2019,40(4):51-61.
- [22] 林继辉,陈莎莎,陈梓婷,等. 余甘子果超氧化物歧化酶提取工艺优化及抗氧化性研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2023,32(2):199-208.
- [23] 张靖鹏,翟宇晴,张得钧,等. 基于响应面法优化沙棘普洱茶粉水提工艺及体外抗氧化能力评价研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2024,33(1):31-40.
- [24] 赵淑锐,杨源,郑美青,等. 基于Fenton反应产生的羟自由基检测方法比较[J]. 实验技术与管理,2020,37(12):68-71.
- [25] 田建华,张春媛,魏璐. 沙棘果渣总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2021,33(1):65-72.
- [26] 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):22-29.

Study on extraction technology and antioxidant activity of total flavonoids from sea buckthorn fruit

LIN Ji-hui, CHEN Lin-rong, FENG Qing-lin, XIE San-du DAI Yu-mei

(College of life Science and Chemistry, Minnan Science and Technology Institute, Nan'an 362332, China)

Abstract: Taking sea buckthorn fruit as raw material, ethanol solution as main solvent, and total flavonoids extraction amount of sea buckthorn fruit as evaluation index, ultrasonic-assisted method was used on the basis of single-factor experiment combined with response surface analysis method, the study comprehensively investigates the effects of extraction time, extraction temperature, extraction solution (ethanol) and liquid-material ratio on the extraction of total flavonoids from sea buckthorn fruit. The results showed that the optimal extraction conditions for total flavonoids from sea buckthorn fruit were: ultrasonic extraction time 34min, extraction temperature 77°C, extraction solution (ethanol) concentration 60%, and solid-liquid ratio 22.8:1. Under this process condition, the total flavonoid of sea buckthorn fruit was 5.694 mg/g, and the RSD value with the theoretical prediction value (5.770 mg/g) was 1.33%, less than 5%, indicating that the model fit was good. For the prepared crude extract of total flavonoids from sea buckthorn fruit, take the vitamin C solution of the same concentration was taken as positive control, and the DPPH free radical scavenging method and the hydroxyl free radical method were used to measure the antioxidant activity in vitro. As a result, the total flavonoids of sea buckthorn fruit have good antioxidant activity, with the IC₅₀ values as 2.32 mg/mL for DPPH free radical compared to vitamin C's 0.13 and 0.45 mg/mL for the hydroxyl radical compared to vitamin C's 0.11 mg/mL, respectively.

Key words: sea buckthorn fruit; ultrasonic extraction; total flavonoids; response surface analysis; antioxidation experiment

(责任编辑 王煜丹)