

超声波辅助提取筋菜粉黄酮的工艺优化及其抗氧化活性研究

方桂婷, 黎俏灵*, 林厚存, 陈 芊, 李春兰, 李 锐

岭南师范学院食品科学与工程学院, 广东 湛江

收稿日期: 2025年1月20日; 录用日期: 2025年2月27日; 发布日期: 2025年3月6日

摘 要

以广东恩平的筋菜粉作为原料, 采用单因素和正交试验方法优化超声波辅助提取筋菜粉黄酮的工艺条件, 并进行抗氧化活性的测定。结果表明乙醇浓度为70%, 超声时间为50 min, 料液比为1:80, 超声功率为450 w时, 筋菜粉黄酮提取率为 $5.65\% \pm 0.41\%$ 。体外抗氧化活性试验表明随着筋菜粉黄酮浓度增高, DPPH自由基清除率越高, 证明提取的筋菜粉黄酮具有较好的抗氧化性活性。

关键词

筋菜粉, 黄酮提取, 正交试验, 抗氧化活性

Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Flavonoids from *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. and Study on Its Antioxidant Activity

Guiting Fang, Qiaoling Li*, Houcun Lin, Qian Chen, Chunlan Li, Rui Li

School of Food Science and Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang Guangdong

Received: Jan. 20th, 2025; accepted: Feb. 27th, 2025; published: Mar. 6th, 2025

Abstract

Using leaves of *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. from Enping, Guangdong, the process conditions for ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Acanthopanax trifoliatum* tea flour were optimized

*通讯作者。

文章引用: 方桂婷, 黎俏灵, 林厚存, 陈芊, 李春兰, 李锐. 超声波辅助提取筋菜粉黄酮的工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品与营养科学, 2025, 14(2): 153-160. DOI: 10.12677/hjfn.2025.142020

through single-factor and orthogonal experiments, and their antioxidant activity was assessed. Results showed that the optimal conditions were 70% ethanol concentration, 50 minutes of ultrasonic time, a solid-to-liquid ratio of 1:80, and 450 watts of ultrasonic power, yielding a flavonoid extraction rate of $5.65\% \pm 0.41\%$. *In vitro* antioxidant activity tests demonstrated that the DPPH radical scavenging rate increased with flavonoid concentration, indicating good antioxidant activity of the extracted flavonoids from *Acanthopanax trifoliatum* tea flour.

Keywords

Acanthopanax trifoliatum (L.) Merr., Flavonoids Extraction, Orthogonal Test, Antioxidant Activity

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

箭菜(*Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr.), 又称苦刺、三加皮、三叶五加、鹅掌箭等, 味苦, 性微寒, 属于五加科(Araliaceae)五加属(*Camtho panax*)的一种多年生野生蔬菜, 广泛分布于我国中部及南部, 尤其以广东、广西、海南等地为主[1]。研究表明, 箭菜含有的黄酮类、多酚类及挥发油等活性物质, 具有清热解毒、凉血止血、舒筋活络等功效, 是民间常用的一种药食两用植物, 在民间有着悠久的历史 and 广泛的应用。其中黄酮类化合物有显著的抗氧化、抗炎、抗菌等多种生物活性, 能够清除自由基、抑制氧化应激反应、保护细胞免受氧化损伤等, 对维护人体健康具有重要意义[2] [3]。

超声波技术是一种利用超声波的空化效应、机械效应和热效应等原理来加速植物活性成分释放的技术。与传统的提取方法相比, 超声波辅助提取技术具有提取效率高、提取时间短、能耗低、操作简便等优点[4]。近年来, 超声波辅助提取技术在植物活性成分的提取中得到了广泛应用, 并取得了显著的研究成果。但现研究关于超声波辅助提取箭菜粉黄酮还相对较少, 因此本实验选取超声波辅助提取箭菜粉的总黄酮, 在单因素实验的基础上, 通过正交试验分析法对总黄酮的提取工艺进行优化, 得到最佳提取工艺条件, 并考察其抗氧化活性, 以为箭菜粉的进一步开发利用提供参考[5] [6]。

2. 材料及方法

2.1. 实验材料与仪器

箭菜粉: 广东省恩平市响山茶; 芦丁分析标准品(98%): 上海源叶生物科技有限公司; 亚硝酸钠、无水乙醇: 分析纯, 西陇科学股份有限公司; 氢氧化钠、九水硝酸铝、L-抗坏血酸、1,1-二苯基-2-苦基胍自由基试剂(DPPH·): 分析纯, 麦克林化学试剂有限公司。

FA3204C 型电子分析天平; FW-100 型高速粉碎机; KQ-500DE 型超声波清洗器; V-5000 型可见分光光度计; SHZ-D111 型循环水式真空泵。

2.2. 实验方法

2.2.1. 芦丁标准曲线绘制

参考唐婷范[7]等人的硫酸铝显色法方法: 将 108 mg 芦丁标准品(98%)溶于 80 mL 60%乙醇中, 待其温度降到室温后移至 100 mL 容量瓶, 并用 60%乙醇定容至 100 mL, 震荡均匀得到 1.08 mg/mL 的芦丁标准储备液。取 7 个 50 mL 棕色的容量瓶依次加入 0.00 mL、0.40 mL、0.80 mL、1.20 mL、1.60 mL、2.00

mL、2.40 mL 的标准储备液，再各加 20 mL 30%乙醇和 2.0 mL 亚硝酸钠，静置 5 min 后加入 2.0 mL 硝酸铝溶液，再次静置 5 min。随后加入 1 mol/L 的氢氧化钠溶液 20 mL，蒸馏水定容置 100 mL，摇匀静置 10~15 min，在 500 nm 的波长下测定吸光度。

2.2.2. 单因素对蒽菜粉提取的影响

设计 4 个单因素来考察其对蒽菜粉黄酮提取得率的影响，四个因素范围选取分别为：提取液乙醇体积分数选择 40%、50%、60%、70%、80%；超声波时间选择 10 min、20 min、30 min、40 min、50 min；固液比选择 1:40、1:60、1:80、1:100、1:120 g/ml；超声波功率选择分别为：300 w、350 w、400 w、450 w、500 w。

2.2.3. 正交试验优化蒽菜粉提取工艺

基于单因素试验的结果，采用正交试验法优化蒽菜粉中黄酮化合物的最佳提取工艺，并测定最优提取率以及在最优工艺的基础上提取更多的蒽菜粉黄酮用于 DPPH 自由基抗氧化活性的测定。

2.2.4. DPPH 自由基清除法测定抗氧化活性

参考谭富耀[8]等人关于 DPPH 自由基清除法，以抗坏血酸为对照组，将蒽菜粉黄酮提取液用蒸馏水分别配制成浓度为 0.50 mg/mL、1.00 mg/mL、1.50 mg/mL、2.00 mg/mL 的待测液，分别取 4.0 mL 待测样液和 4.0 mL 0.2 mmol/L DPPH·溶液于试管中，充分摇匀，并于室温下避光反应 30 min 后测定反应样液在 517 nm 处的吸光度 A_1 ；然后用 4.0 mL 无水乙醇代替 DPPH·溶液，测定吸光度 A_2 ；此外，以 4.0 mL 无水乙醇替代待测液，测定空白吸光度 A_0 。DPPH 自由基清除率的计算如公式(1)：

$$S_{\text{DPPH}}(\%) = \left[1 - \frac{(A_1 - A_2)}{A_0} \right] \times 100\% \quad (1)$$

3. 结果与分析

3.1. 芦丁标准曲线

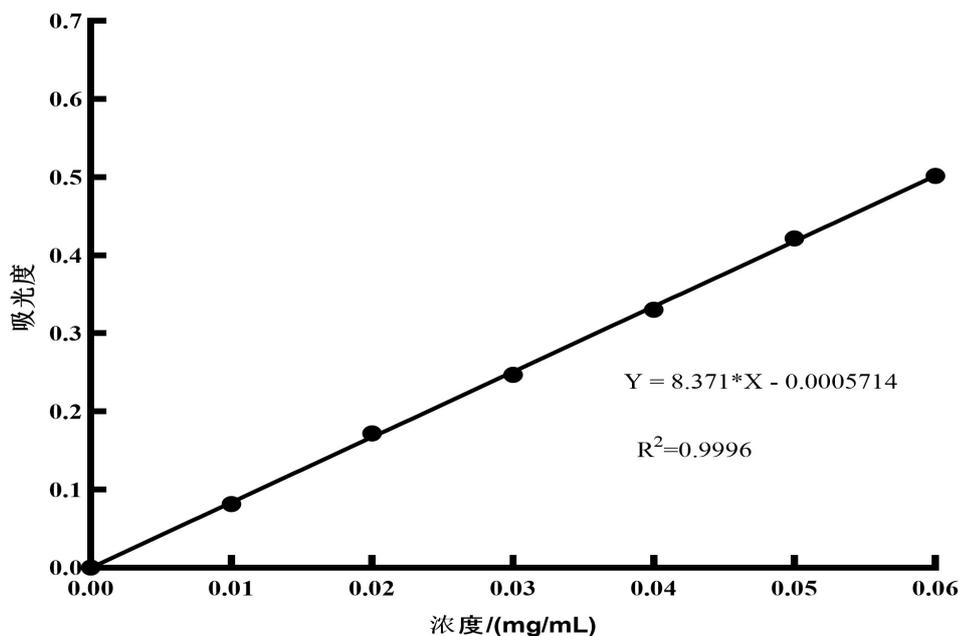


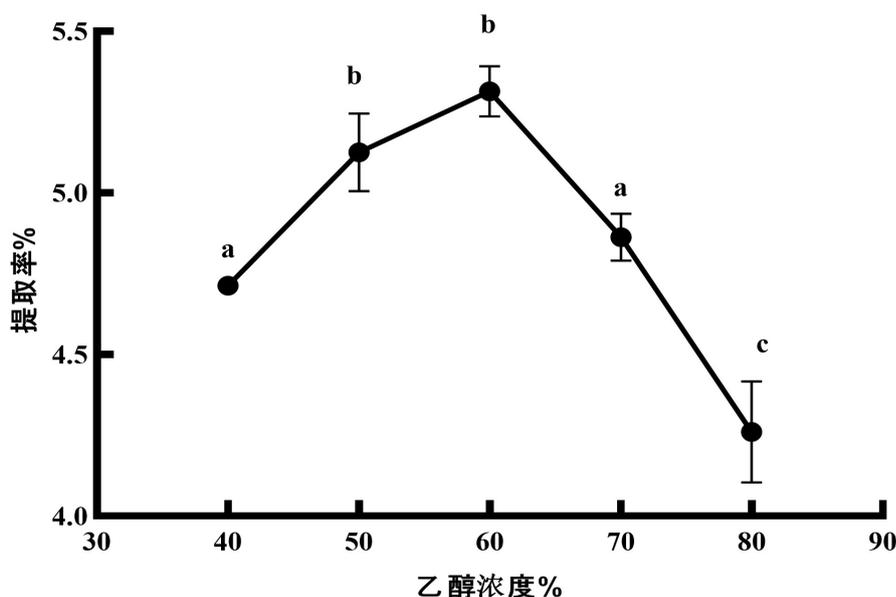
Figure 1. Standard curve of rutin
图 1. 芦丁标准曲线

由图 1 所示, 芦丁的质量浓度(mg/mL)和所测定得的吸光度的标准曲线回归方程为 $Y = 8.371 * X - 0.0005714$, 相关系数 $R^2 = 0.9996$ 。由此可见, 在芦丁标准样品配制的标准溶液在 0~0.0508 mg/mL 的范围内具有良好的线性关系, 可用于测定筋菜粉中黄酮的含量。

3.2. 单因素对筋菜粉黄酮提取的影响

3.2.1. 乙醇浓度对筋菜粉黄酮提取的影响

由图 2 可知, 在乙醇浓度为 40%~60% 的范围内, 筋菜粉黄酮的提取率随着乙醇浓度的增大而提升, 并于 60% 乙醇浓度时达到最大。当乙醇浓度继续增加至 60%~80% 区间内, 筋菜粉黄酮的提取率逐渐下降。出现此现象的原因可能是由于随着乙醇浓度的增大, 溶液极性与黄酮极性相近, 促进黄酮类物质的溶出, 黄酮的得率逐渐增大; 但是当乙醇浓度过高时, 水含量减小, 表面活性剂溶解度下降, 降低了筋菜粉与乙醇的接触, 导致黄酮得率减少[9]。



注: 不同字母表示具有显著性差异($P < 0.05$); 图 2~5 同。

Figure 2. Effect of ethanol concentration on the extraction rate of flavonoids from *Acanthopanax trifoliatum* flour
图 2. 乙醇浓度对筋菜粉黄酮提取率的影响

3.2.2. 超声时间作为单因素的分析

由图 3 可知, 超声时间在 10~40 min 区间范围内, 随着超声时间的延长, 黄酮物质更加充分地提取出来, 导致提取率不断上升, 在 40 min 时达到最高提取率。但超过 40 min 后, 随着超声提取时间延长, 筋菜粉黄酮提取率反而下降, 这可能是因超声时间过长随之造成的溶液温度升高, 进而可能引发黄酮类化合物内部结构遭到破坏或发生降解, 导致提取率下降[10]。

3.2.3. 固液比作为单因素的分析

由图 4 可知, 筋菜粉黄酮的提取率随着固液比的增加呈现出先增后减的趋势。当固液比为 1:40 时, 提取率达到最高, 为 5.64%。当固液比在 1:60~1:20 范围内时, 提取率开始下降。其原因可能是当固液比为 1:60 时, 黄酮类物质已完全溶出, 再增加乙醇溶剂的用量, 因溶液中浓度差使得黄酮的损失率提高, 从而导致提取率而下降[11]。由此可见, 在提取有机物的过程中原料与溶剂的比例也是十分关键的因素。

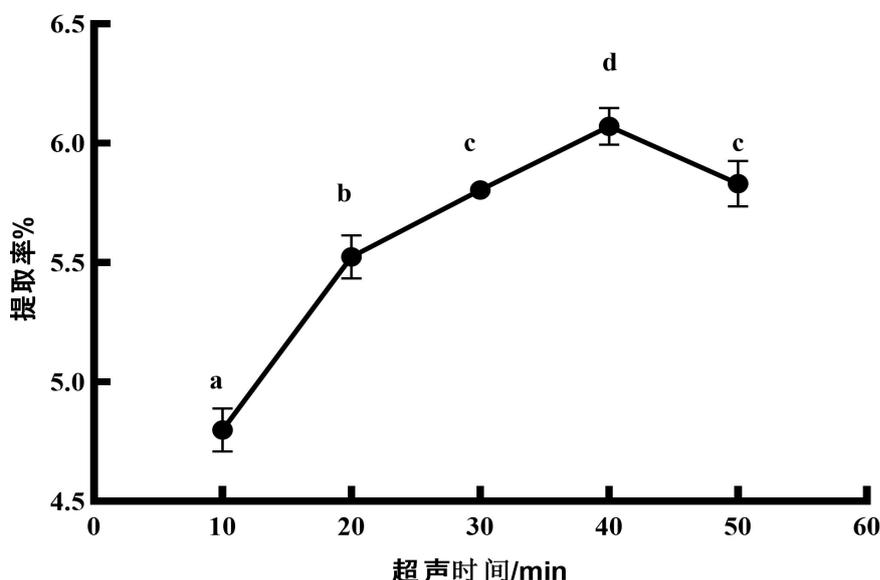


Figure 3. Effect of ultrasonic time on the extraction rate of flavonoids from *Acanthopanax trifoliatum* flour

图 3. 超声时间对筋菜粉黄酮提取率的影响

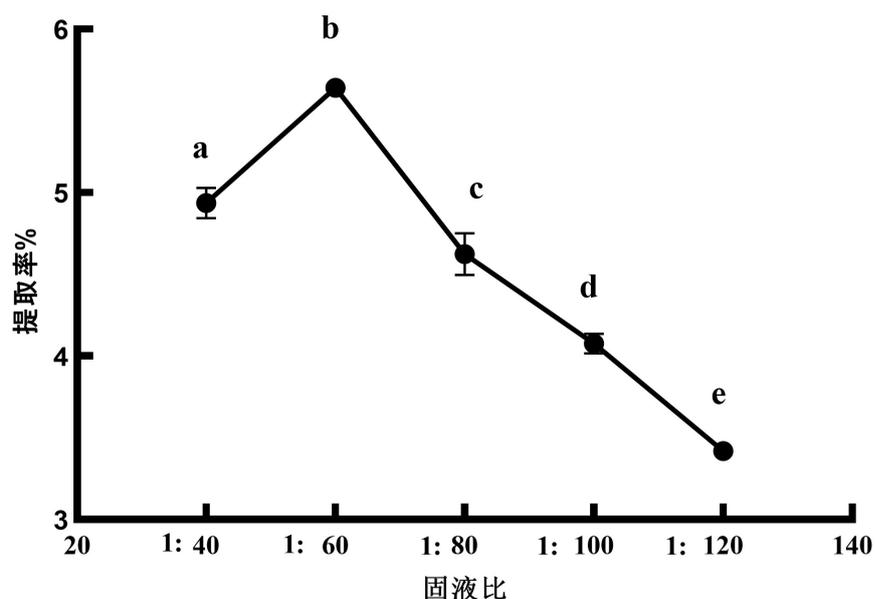


Figure 4. Effect of solid liquid ratio on the extraction rate of flavonoids from *Acanthopanax trifoliatum* flour

图 4. 固液比对筋菜粉黄酮提取率的影响

3.2.4. 超声功率作为单因素的分析

由图 5 可知, 筋菜粉黄酮提取率在超声功率 300~450 W 范围内呈现上升趋势, 而当功率在 450~500 W 区间内, 筋菜粉黄酮提取率随着超声功率增大而降低。其原因可能是超声波在物料内部引发的振动效应。当超声功率在 300~450 W 时, 超声波功率较小对植物细胞和分子间的作用较小, 随着超声功率增大, 空化效应更强烈, 因此筋菜粉黄酮提取率增大; 然而当功率超过 450 W 时, 强烈的超声波功率可能导致黄酮结构受损, 从而引起提取率的降低[12]。因此, 为获得最高筋菜粉黄酮提取率, 需将超声功率控制在 450 w 左右, 以优化筋菜粉黄酮的提取效果。

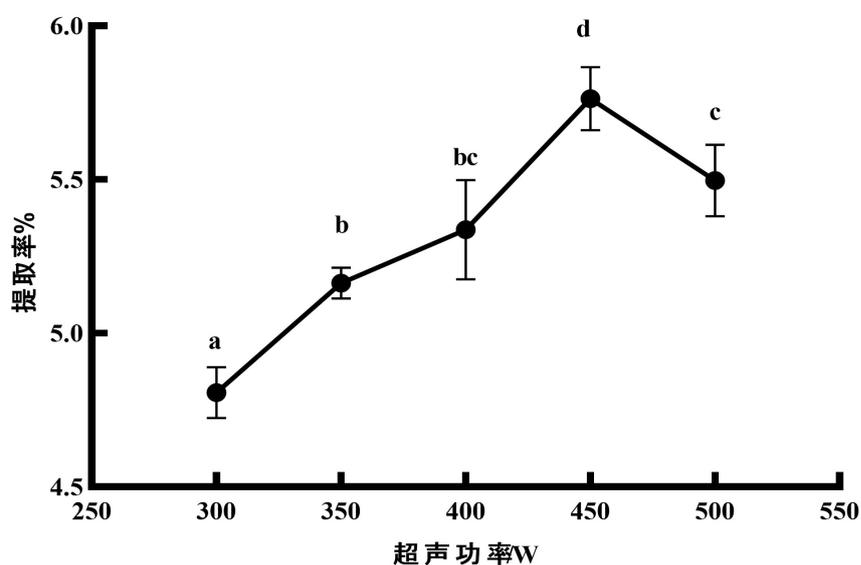


Figure 5. Effect of ultrasonic power on the extraction rate of flavonoids from *Acanthopanax trifoliatum* flour
图 5. 超声功率对筋菜粉黄酮提取率的影响

3.3. 正交实验法探究最优提取工艺条件

为探究提取筋菜粉黄酮的最佳工艺条件，以单因素实验所得的最佳条件及其相邻两个条件作为参考作 L₉(3⁴)正交实验。选择单因素实验中所确定的乙醇浓度(A)、超声时间(B)、固液比(C)、超声功率(D)4个因素，每个因素选择了3个水平，具体如表1所示：

Table 1. Orthogonal experiment level table

表 1. 正交实验水平表

水平	单因素			
	乙醇浓度(A)/%	超声时间(B)/min	固液比(C)	超声功率(D)/w
1	50	30	1:40	400
2	60	40	1:60	450
3	70	50	1:80	500

以表中的各个单因素水平，对单因素间互相交错进行实验，共计9组实验，分别进行正交优化试验，并根据标准曲线公式计算黄酮提取率，结果如表2所示：

Table 2. Analysis table of orthogonal experiment

表 2. 正交实验分析表

试验号	A	B	C	D	黄酮提取率/%
1	1	1	1	1	3.03
2	1	2	2	2	4.16
3	1	3	3	3	5.29
4	2	1	2	3	4.56
5	2	2	3	1	4.47

续表

6	2	3	1	2	6.19
7	3	1	3	2	5.57
8	3	2	1	3	5.19
9	3	3	2	1	5.41
均值 1	4.160	4.387	4.803	4.303	
均值 2	5.073	4.607	4.710	5.307	
均值 3	5.390	5.630	5.110	5.013	
R	1.230	1.243	0.400	1.004	

根据表 2 的实验数据分析, 各因素对箭菜粉黄酮含量影响的大小顺序为: B (超声时间) > A (乙醇浓度) > D (超声功率) > C (固液比)。通过正交试验优化得到的最佳工艺参数组合为 A₃B₃C₃D₂, 具体为乙醇浓度 70%, 超声时间 50 min, 固液比 1:80, 以及超声功率 450 W, 提取率效果达到最佳。以最佳实验进行 3 次平行实验, 得到箭菜粉黄酮的提取率为 5.65% ± 0.41%

3.4. 抗氧化活性测定

由图 6 可知, 随着抗坏血酸和箭菜粉黄酮样品溶液浓度的增加, 其 DPPH 自由基清除率也随之增大。在相同浓度条件下, 尽管箭菜粉黄酮的总还原能力不及维生素 C, 但箭菜粉黄酮样品溶液的 DPPH 自由基清除率均保持在 80% 以上, 显示出优异的抗氧化性能[13]。

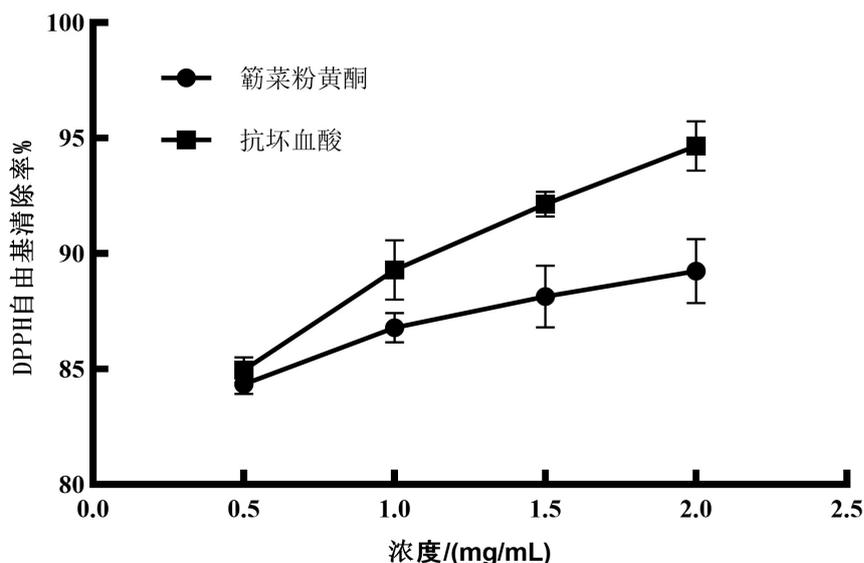


Figure 6. Comparison of DPPH free radical scavenging rates of ascorbic acid and flavonoid sample
图 6. 抗坏血酸与黄酮样品 DPPH 自由基清除率的比较

4. 结论

本试验采用超声辅助提取箭菜粉黄酮类化合物, 并对其抗氧化活性进行探究。基于单因素试验的结果, 采用正交设计优化了箭菜粉黄酮提取条件, 确定了最佳工艺参数是: 乙醇浓度 70%, 超声时间为 50 min, 料液比为 1:80, 超声功率为 450 W。在此最优条件下, 箭菜粉黄酮的提取效率达到了 5.65% ± 0.41%。

DPPH 自由基清除率抗氧化实验研究表明, 苋菜粉黄酮具有良好的抗氧化性能。苋菜作为两广地区特有的一种草本资源, 具有非常高的地域独特性, 加上其内含的多种活性物质都对生物体有裨益, 具有很高的研究价值和应用前景。加强对苋菜的研究, 不仅有助于补充我国在相关方面的资料空白, 同时对自然资源的开发利用也有着长远的意义。

基金项目

省级大学生创新创业训练计划项目(S202310579002)。

参考文献

- [1] 江森, 何燕, 李冬利, 等. 一种苋菜凉茶的研制及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(20): 33-37.
- [2] 程书朋, 张焜, 武文敬, 等. 苋菜叶提取物中总黄酮含量及其抑菌活性研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(18): 36-39.
- [3] 吴俊洪, 梁少瑜, 徐丹丹, 等. 苋菜化学成分和药理活性的研究进展[J]. 今日药学, 2024, 34(8): 619-629.
- [4] 王佰灵, 陈雅焱, 谢家星, 等. 超声波辅助纤维素酶提取金荞麦总黄酮工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(4): 123-128.
- [5] 郭蒙, 黄绍敏, 石慧丽, 等. 超声辅助提取苋菜茶绿原酸的工艺优化[J]. 茶叶通讯, 2020, 47(3): 472-477.
- [6] 黎禹君, 陈艺锋, 禰玮淼. 恩平市恩城街道米仓村驻村第一书记张涛: 用“一棵菜”勾“苋”和美乡村图景[N]. 江门日报, 2024-12-25(A02).
- [7] 唐婷范, 徐紫薇, 李霞清, 等. 超声波辅助提取广陈皮黄酮的工艺优化及其抗氧化活性的研究[J]. 中国调味品, 2024, 49(3): 15-19.
- [8] 谭富耀, 盛赵越, 胡婷, 等. 超声波辅助提取麻城福白菊总黄酮工艺优化及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 154-159.
- [9] 章烨雯, 臧青民, 陈荣, 等. 表面活性剂辅助超声波提取橘红胎总黄酮工艺优化及其抗氧化活性[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(9): 83-90.
- [10] 张佰荣, 刘翰轩, 邓钧尉. 超声波辅助酶法提取向日葵花盘总黄酮及其抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂, 2024, 37(9): 119-123+128.
- [11] 孔芳, 姚志豪, 赵世光. 超声波辅助提取黄粉虫黄酮及其抗氧化活性的研究[J]. 徐州工程学院学报(自然科学版), 2020, 35(1): 78-84.
- [12] 谢彬, 张红静, 冯志强, 等. 超声波辅助提取紫苏叶中总黄酮及其抗运动疲劳活性的研究[J]. 饲料研究, 2024, 47(5): 66-71.
- [13] 张焜, 程书朋, 武文敬, 等. 苋菜化学成分、生物活性及其安全性研究进展[J]. 海峡药学, 2017, 29(4): 1-5.