

响应面法优化低共熔溶剂提取蒲公英绿原酸及其抗氧化活性研究

邓龙航*, 秦路丹, 姜家美, 王江华, 杜红艳

贵州工程应用技术学院, 化学工程学院, 贵州 毕节

收稿日期: 2025年11月3日; 录用日期: 2025年12月10日; 发布日期: 2025年12月19日

摘 要

本研究基于单因素实验筛选关键参数, 采用响应面法(RSM)优化低共熔溶剂(DES)提取蒲公英绿原酸的工艺。确定最优条件为: 液料比21:1 mL/g、超声时间108 min、温度80℃, 绿原酸提取率达8.41%, 显著优于传统溶剂法。抗氧化活性实验表明, 蒲公英绿原酸对DPPH自由基、ABTS⁺自由基以及羟基自由基有一定的清除能力, 当浓度达到20 mg/L的时候, 对于这三种自由基的清除率分别达到了80.63%、87.35%和86.49%, 表现出优异的抗氧化能力。本研究不仅优化了蒲公英绿原酸的绿色高效提取工艺, 还证实了DES提取物在天然抗氧化剂开发中的应用潜力, 为功能性食品及医药领域提供了理论依据。

关键词

蒲公英, 绿原酸, 低共熔溶剂, 响应面法, 抗氧化活性

Optimization of Deep Eutectic Solvent Extraction of Chlorogenic Acid from Dandelion Using Response Surface Methodology and Its Antioxidant Activity

Longhang Deng*, Ludan Qin, Jiamei Jiang, Jianghua Wang, Hongyan Du

School of Chemical Engineering, Guizhou University of Engineering Science, Bijie Guizhou

Received: November 3, 2025; accepted: December 10, 2025; published: December 19, 2025

*通讯作者。

文章引用: 邓龙航, 秦路丹, 姜家美, 王江华, 杜红艳. 响应面法优化低共熔溶剂提取蒲公英绿原酸及其抗氧化活性研究[J]. 有机化学研究, 2025, 13(4): 435-445. DOI: 10.12677/jocr.2025.134042

Abstract

Based on single-factor experiments to screen key parameters, this study employed response surface methodology (RSM) to optimize the extraction process of chlorogenic acid from dandelion using a deep eutectic solvent (DES). The optimal conditions were determined as follows: liquid-to-solid ratio of 21:1 mL/g, ultrasonic time of 108 min, and temperature of 80°C. Under these conditions, the chlorogenic acid extraction rate reached 8.41%, significantly outperforming traditional solvent extraction methods. Antioxidant activity experiments demonstrated that dandelion chlorogenic acid exhibited certain scavenging capabilities against DPPH free radicals, ABTS⁺ free radicals, and hydroxyl free radicals. At a concentration of 20 mg/L, the scavenging rates for these three free radicals reached 80.63%, 87.35%, and 86.49%, respectively, indicating excellent antioxidant capacity. This study not only optimizes a green and efficient extraction process for dandelion chlorogenic acid but also confirms the potential of DES extracts in the development of natural antioxidants, providing a theoretical foundation for applications in functional foods and pharmaceuticals.

Keywords

Dandelion, Chlorogenic Acid, Deep Eutectic Solvent, Response Surface Methodology, 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. 引言

蒲公英(*Taraxacum officinale*)又名婆婆丁, 是菊科蒲公英属广布性药用植物, 有着清热解毒、利尿通淋等功效。现代植物化学研究证实, 蒲公英含有多元生物活性物质, 包括黄酮类、多糖、酚酸类、萜类及植物甾醇等。而绿原酸(CGA), 因其具有抑菌、抗氧化、抗肿瘤、抗炎等药理作用而被人们熟知。目前, 传统 CGA 提取方法有乙醇回流法、超声波法及酶解法等, 但存在着提取效率低、溶剂消耗量大、技术能耗高等缺点。因此, 迫切需要一种方法高效提取蒲公英中绿原酸[1]-[3]。

低共熔溶剂(Deep Eutectic Solvents, DES)是最近几年被人们所关注的新型的绿色提取溶剂, 其通过氢键供体(HBD)与受体(HBA)组装形成氢键, 具备低毒性、生物可降解性及超强溶解能力[4] [5]。卢娟等[6]采用氯化胆碱-柠檬酸溶剂组合, 使得蒲公英绿原酸提取率达到 2.86%。因此, 为提高蒲公英绿原酸的提取率, 采用响应面法优化超声辅助氯化胆碱-柠檬酸提取蒲公英绿原酸, 并评估其抗氧化活性。为蒲公英资源的高效利用提供了环保的提取方法, 推动绿原酸在医药领域的应用。

2. 材料与方法

2.1. 材料

2.1.1. 试验仪器

KH-600KDE 超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)、TG16 高速离心机(长沙迈佳森仪器设备有限公司)、V-5800 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司)。

2.1.2. 试验试剂

蒲公英采摘自贵州工程应用技术学院; 氯化胆碱购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 柠檬酸

购自天津市致远化学试剂有限公司自由基试剂；自由基试剂(DPPH、ABTS⁺)及抗坏血酸购自上海麦克林生化科技股份有限公司；抗坏血酸购自比克曼生物科技有限公司；H₂O₂ 购自成都金山化学试剂有限公司。

2.2. 方法

2.2.1. 绿原酸标准曲线的绘制

精确称取 5.5 mg 绿原酸标准品，经无水乙醇溶解后定容至 100 mL，配制成标准储备液。分别移取储备液 1、3、5、7 和 9 mL 至 5 支 10 mL 容量瓶中，乙醇定容，静置 15 min。乙醇为空白对照，于 326 nm 波长处测定吸光度值(三次平行实验均值) [7]。以绿原酸浓度(C, μg/mL)为横坐标，吸光度(A)为纵坐标建立标准曲线，得到绿原酸标准曲线为 $y = 0.03346x - 0.05889$ ， $R^2 = 0.9997$ 。

2.2.2. 样品预处理

蒲公英全草经去离子水清洗、阴干后粉碎，过 50 目筛，密封储存于干燥器中备用。

2.2.3. 蒲公英绿原酸的提取

精密称取上述粉末 1.00 g 置于锥形瓶中，按一定料液比加入 DES 溶剂。放入超声波清洗机中，按照设定的超声功率、提取温度和提取时间提取，随后以 3000 r/min 离心 20 min，上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤。取 1 mL 滤液，用无水乙醇梯度稀释后，于 326 nm 波长下测定吸光度。绿原酸提取率(Y, %)按式(1.1)计算[7]：

$$\eta = \frac{C \times V \times n}{m} \times 100\% \quad (1.1)$$

式中： η ：蒲公英中绿原酸的提取率(%)；C：超声后提取液的浓度(μg/mL)；V：离心后上清液的体积(mL)；n：稀释倍数；m：蒲公英粉末的质量(g)。

2.2.4. 条件优化实验

采用单因素轮换法评估关键工艺参数的影响，分别考察低共熔溶剂摩尔比(1:1、1:2、1:3、3:1、2:1)、低共熔溶剂含水量(10%、30%、50%、70%、90%)、液料比(10 g/mL、15 g/mL、20 g/mL、25 g/mL、30 g/mL)、超声时间(40 min、60 min、80 min、100 min、120 min)和超声温度(40℃、50℃、60℃、70℃、80℃)对蒲公英绿原酸提取率的影响。

2.2.5. 响应面实验设计

根据单因素实验的结果，选取 3 个对绿原酸提取率影响较大的因素：提取液料比 A、超声时间 B、超声温度 C，以绿原酸提取率为响应值，进行响应面优化设计，如表 1 所示。

Table 1. Box-Behnken experimental design factors and levels

表 1. Box-Behnken 试验设计因素与水平

水平	A: 液料比(mL/g)	B: 超声时间(min)	C: 超声温度(℃)
-1	15	80	70
0	20	100	75
1	25	120	80

2.2.6. 体外抗氧化活性检测分析

(1) DPPH 自由基清除试验

取 2 mL 0.2 mmol/L DPPH-乙醇溶液，与不同浓度的绿原酸提取液混合，避光反应 30 min。于 517 nm

波长测定样品组吸光度 A_1 ，以蒸馏水替代样品作为空白对照组 A_2 ，蒸馏水替代 DPPH 溶液为背景组 A_0 [8]。

(2) ABTS⁺自由基清除试验

将 ABTS 溶液(7 mmol/L)与过硫酸钾溶液(140 mmol/L)按体积比 1:1 混合，避光反应 12 h 生成 ABTS⁺储备液。经无水乙醇稀释至 734 nm 波长处吸光度为 0.70 ± 0.05 ，即得工作液。取 2 mL 工作液，分别加入不同浓度的蒲公英提取液，避光反应 10 min 后，在 734 nm 波长下的吸光度 A_1 。同时设置对照实验组，以等体积蒸馏水替代样品为对照组，并用蒸馏水替代 ABTS⁺溶液为空白组获取空白参考值 A_0 [8]。

(3) 羟基自由基清除试验

取 2.0 mL 不同浓度蒲公英提取液与 2.0 mL H₂O₂、2.0 mL 无水乙醇混匀，避光反应 30 min 后于 326 nm 测定吸光度 A_1 ；同法测定未加 H₂O₂ 的样品本底吸光度 A_2 。对照组以 2.0 mL H₂O₂ 与 4.0 mL 50% 乙醇溶液混合测 A_0 [8]。

上述三种自由基清除作用均以抗坏血酸作阳性对照，且清除率的计算公式如下：

$$x = \frac{A_0 - A_1 + A_2}{A_0} \times 100\% \quad (1.2)$$

3. 结果与分析

3.1. 低共熔溶剂摩尔比对提取率的影响

图 1 显示，提取率随氯化胆碱-柠檬酸摩尔比呈先增后降趋势。当摩尔比为 1:3 时达到最大值 5.78%，较 1:1 比例提高 32%；而当摩尔比增至 3:1 时，提取率反而降低至 4.52%。此现象可能是因为，当低摩尔比为 1:3 时，柠檬酸含量提供足量羧基，通过与绿原酸分子形成致密氢键网络，显著增强其溶解性；反之，高胆碱比例破坏氢键供受体平衡，削弱溶剂-溶质分子作用力。

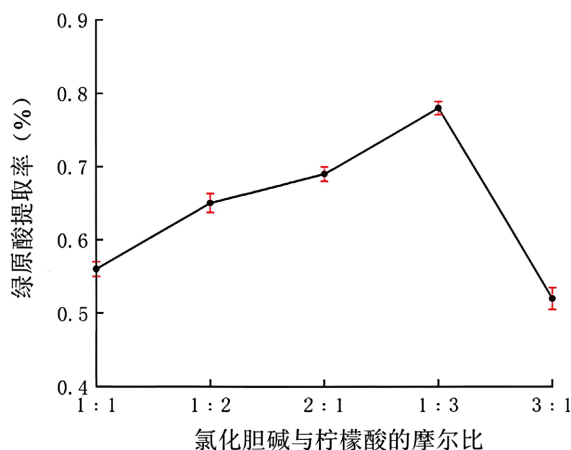


Figure 1. Influence of DES molar ratio on chlorogenic acid extraction yield

图 1. 低共熔溶剂摩尔比对绿原酸提取率的影响

3.2. 低共熔溶剂含水量对提取率的影响

图 2 显示，提取率随低共熔溶剂含水量增加先增后减，70% 达到最大值为 5.07%。当含水量大于 70% 时，提取率显著下降至 4.21%。其原因可能是适量水分可增强溶剂极性和传质效率，利于提取，但过量水

会稀释溶剂活性成分,降低提取能力。此外,含水量低,溶剂黏度过大,会阻碍溶剂在植物细胞间的渗透和绿原酸的扩散。

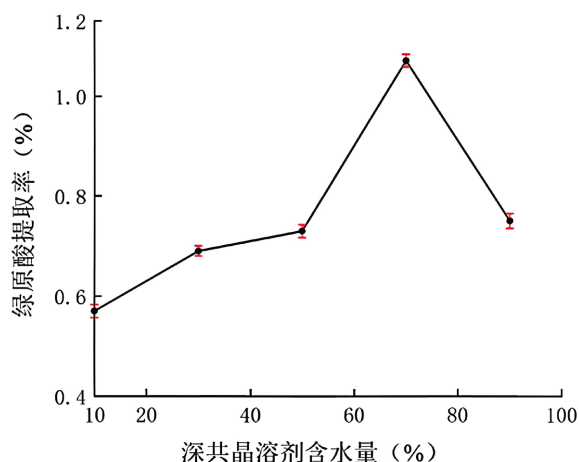


Figure 2. Influence of DES water content on chlorogenic acid extraction yield from dandelion

图 2. 低共熔含水量对蒲公英中绿原酸提取率的影响

3.3. 液料比对提取率的影响

图 3 显示,提取率随液料比增大而显著提升,在 20 mL/g 时达到最大值 5.74%。当液料比在 20:1 mL/g 后,提取率呈现下降趋势。低液料比溶剂传质效率受限,导致溶质扩散动力不足,而限制溶出,因此,适量溶剂提高效率。因此,响应面试验选取 15 mL/g、20 mL/g、25 mL/g。

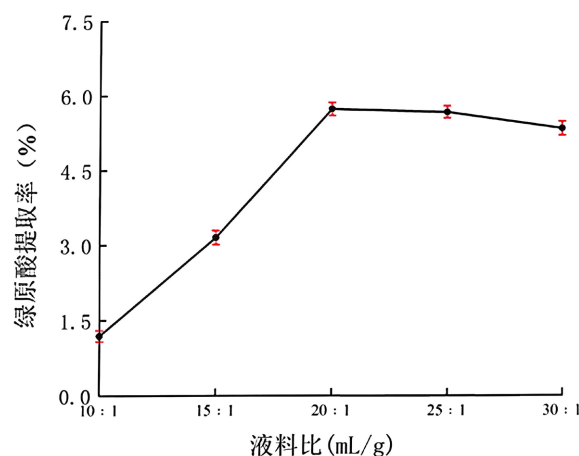


Figure 3. Influence of liquid-to-solid ratio on chlorogenic acid extraction rate

图 3. 液料比对绿原酸提取率的影响

3.4. 超声时间对提取率的影响

图 4 显示,提取率在 40~100 min 内随超声时间延长呈上升趋势,于 100 min 达到最大值为 8.66%,此后显著下降。可能原因是时间不足时溶出不完全,延长有利于溶出;但过长时间可能导致绿原酸降解或溶剂饱和,反而降低效率。因此,响应面试验选取 80 min、100 min、120 min。

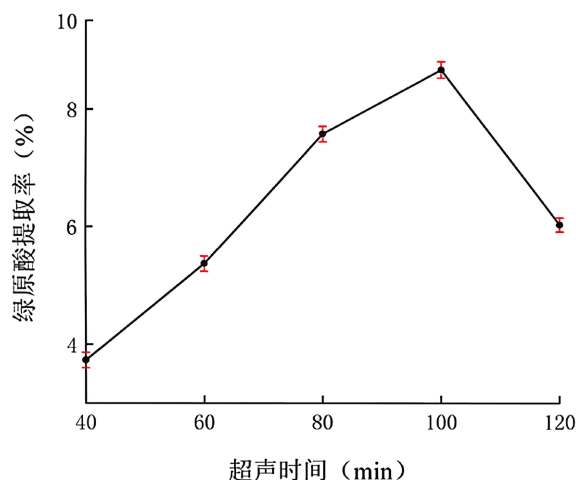


Figure 4. Influence of ultrasonic time on chlorogenic acid extraction rate

图 4. 超声时间对绿原酸提取率的影响

3.5. 超声温度对提取率的影响

图 5 显示, 在超声温度从 40℃ 到 80℃ 的范围内, 随着超声温度的升高, 提取率呈现出逐渐上升的趋势。当温度处于较低水平时, 提取率上升相对较缓; 而当温度进一步升高, 提取率的上升速度有所加快, 整体呈现出随温度升高而提取率逐步提高的变化规律。

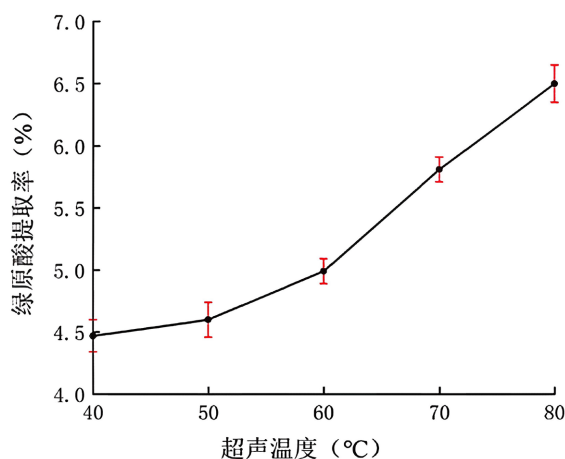


Figure 5. Influence of ultrasonic temperature on chlorogenic acid extraction rate

图 5. 超声温度对绿原酸提取率的影响

3.6. 响应面试验

3.6.1. 响应面回归模型建立

在单因素实验的基础上, 以绿原酸提取率为响应指标, 采用 Design Expert 12.0.3 软件进行响应面分析。依据 Box-Behnken 设计原则, 对三因素三水平进行实施实验设计, 相关数据详见表 2。

根据 Design Expert 12.0.3 响应面软件对表 2 结果进行回归分析, 得到 3 个因素的编码值二次回归方程为: $Y = 6.29 + 0.7072A - 0.2063B + 1.40C + 0.2422AB - 0.8437AC + 0.0271BC - 1.83A^2 - 1.49B^2 + 1.32C^2$ 。

Table 2. Response surface test design and results**表 2.** 响应面试验设计与结果

模型	A: 液料比(mL/g)	B: 超声时间(min)	C: 超声温度(℃)	绿原酸提取率(%)
1	15	80	75	2.83
2	25	80	75	3.74
3	15	120	75	1.86
4	25	120	75	3.74
5	15	100	70	2.74
6	25	100	70	5.86
7	15	100	80	7.41
8	25	100	80	7.15
9	20	80	70	5.07
10	20	120	70	4.67
11	20	80	80	7.65
12	20	120	80	7.36
13	20	100	75	6.39
14	20	100	75	6.61
15	20	100	75	6.30
16	20	100	75	6.19
17	20	100	75	5.97

3.6.2. 响应面回归模型方差分析

通过 Design Expert 10.0.3 软件进行方差分析, 结果见表 3。

Table 3. Analysis of variance for the regression model**表 3.** 回归模型的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	
模型	52.55	9	5.84	138.47	<0.0001	significant
A	4.00	1	4.00	94.89	<0.0001	
B	0.3403	1	0.3403	8.07	0.0250	
C	15.78	1	15.78	374.30	<0.0001	
AB	0.2346	1	0.2346	5.56	0.0504	
AC	2.85	1	2.85	67.52	<0.0001	
BC	0.0029	1	0.0029	0.0695	0.7996	
A ²	14.05	1	14.05	333.31	<0.0001	
B ²	8.56	1	8.56	202.90	<0.0001	
C ²	7.35	1	7.35	174.30	<0.0001	
残差	0.2952	7	0.0422			
失拟项	0.0702	3	0.234	0.4163	0.7513	not significant

续表

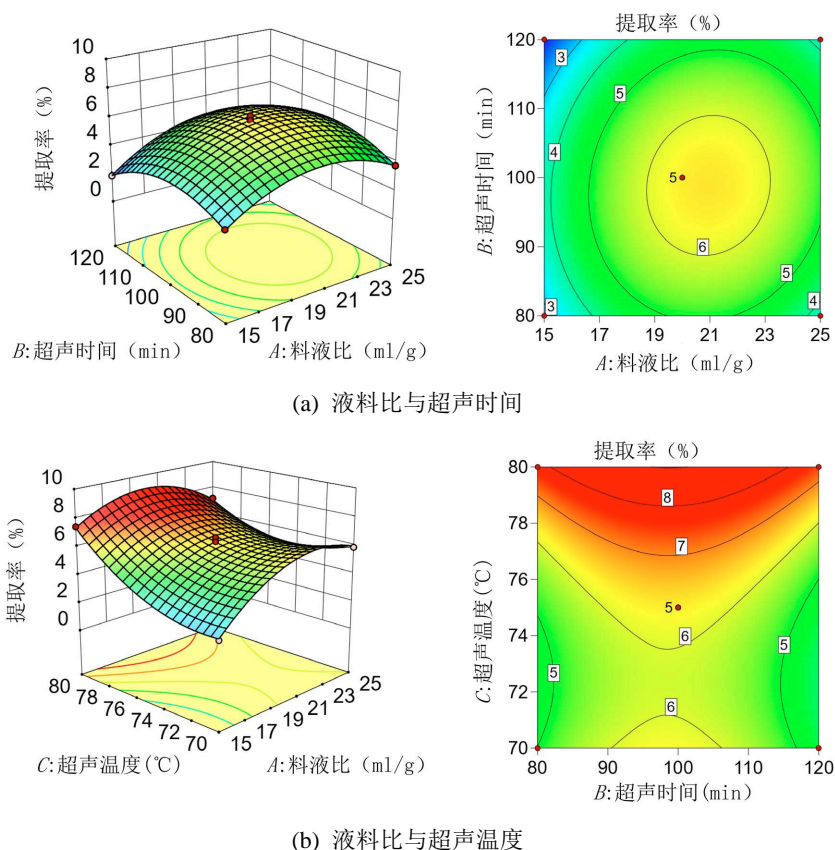
纯差	0.2249	4	0.0562
总误差	52.84	16	
$R^2 = 0.9944$			
$R^2_{Adj} = 0.9721$			

注: $P < 0.05$ 表示影响显著, $P < 0.01$ 表示影响极显著。

由表 3 可知, F 模型 = 138.47, P 模型 < 0.0001 , 表明模型整体高度显著。失拟项 $P = 0.7513$, 为不显著, 证实模型未遗漏关键变量且拟合充分。模型决定系数 $R^2 = 0.9944$, 调整 $R^2 = 0.9721$, 表明 99.44% 的响应值变异可被解释, 拟合优度优良。在因素影响中, 液料比(A)、超声温度(C)的 $P < 0.0001$, 为极显著; 超声时间(B) $P = 0.0250 < 0.05$, 为显著。在交互项中, AC 的 P 值 < 0.0001 , 为极显著, 表明 AC 协同效应极强($F = 67.52$), 是工艺优化的核心交互项; AB 的 P 值 = 0.0504 接近 0.05, 有一定影响趋势, 表明 AB 存在微弱协同作用; 但 BC 的 P 值 = 0.7996, 为不显著, 表明二者独立作用于响应值。二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 均 $P < 0.0001$, 极显著。根据 F 值与 P 值判断, 蒲公英中绿原酸的提取率受各因素的影响大小依次为: C: 超声温度 $>$ A: 液料比 $>$ B: 超声时间[8]。

3.6.3. 响应面分析

为了研究各种因素之间的相互影响对蒲公英中绿原酸提取率的影响, 采用 Design Expert 12.0.3, 绘制等高线图和 3D 图, 如图 6 所示。当等高线图是圆形时, 表示这两个因素的交互作用比较弱, 当等高线图是椭圆形时, 表示这两个因素的交互作用比较强。



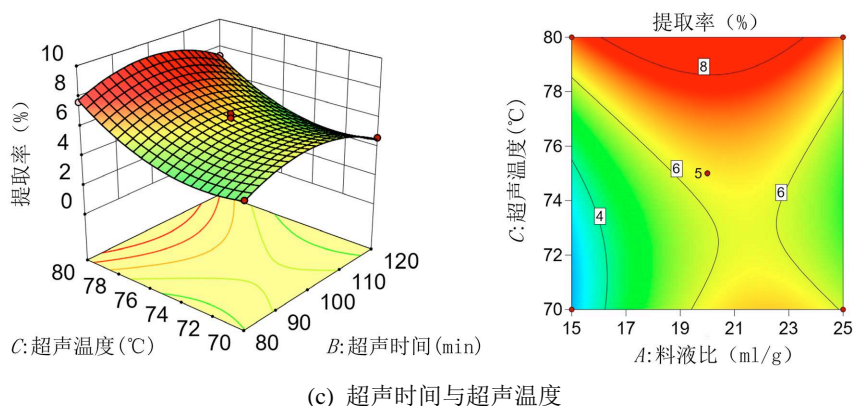


Figure 6. Effect of two-factor interaction on chlorogenic acid extraction rate in dandelion
图 6. 两因素交互作用对蒲公英中绿原酸提取率的影响

如图 6 所示, 液料比(A)对绿原酸提取率呈显著主导效应: 其响应曲面曲率变化剧烈, 且等高线密度分布特征(图 6(a))表明提取率随 A 值变动波动幅度达 12.7%~38.4%。超声时间(B)与温度(C)次之, 其中 AC 交互项表现出强协同作用($P < 0.01$), 体现为曲面陡变区与等高线椭圆偏转(长短轴比 > 2.5); AB 交互呈弱关联趋势($P = 0.062$), 而 BC 交互无统计学意义($P > 0.05$), 对应等高线近圆形分布[9]。

3.6.4. 验证性试验

采用 Design Expert 13 软件构建响应面模型优化绿原酸提取工艺。模型预测显示: 当液料比 21:1 (mL/g)、超声时间 108 min、温度 80°C 时, 理论提取率达 8.42%。固定上述参数进行三次重复验证, 实测平均提取率为 8.41% (相对误差 0.12%), 证实模型具有良好预测精度与工艺重现性[10]。

3.7. 抗氧化活性试验

3.7.1. DPPH 自由基清除作用

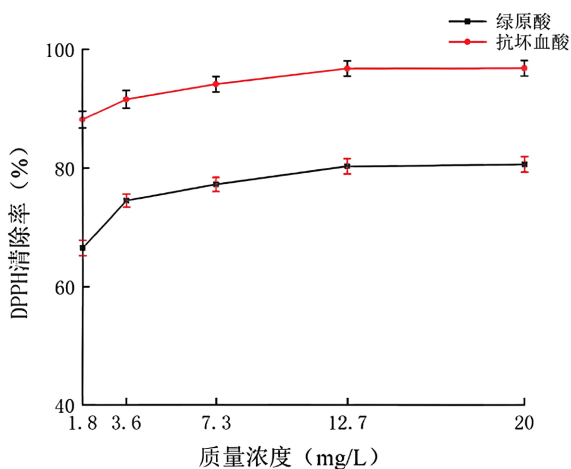


Figure 7. Greenish acid's DPPH radical scavenging capacity in dandelion
图 7. 蒲公英中绿原酸对 DPPH 自由的基清除能力

DPPH 自由基(溶于乙醇呈特征性紫色)在抗氧化剂作用下发生褪色反应, 其清除率与吸光度变化呈正相关[11][12]。图 7 显示, 当蒲公英绿原酸浓度达 20 mg/L 时, DPPH 清除率达 80.63%, 表明该化合物具

有显著自由基清除效能，但其活性仍显著低于抗坏血酸。

3.7.2. ABTS⁺自由基清除作用

ABTS⁺自由基由过硫酸钾氧化生成，其无水乙醇溶液呈特征性蓝绿色(最大吸收波长 734 nm)。当加入抗氧化剂时，电子转移反应导致体系褪色(蓝绿→淡黄)，吸光度降低值与清除率呈正相关，此变化可定量表征抗氧化活性[13] [14]。图 8 显示，20 mg/L 绿原酸对 ABTS⁺自由基的清除率达 87.35%，证实其具有显著自由基清除能力，但该活性仍低于抗坏血酸。

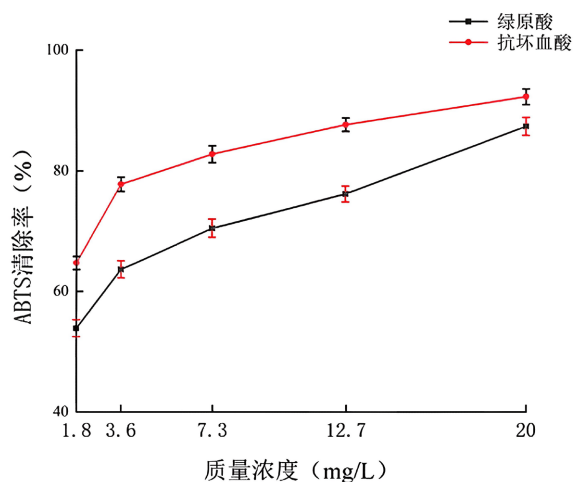


Figure 8. Greenish acid in dandelion's capacity to neutralize ABTS free radicals

图 8. 蒲公英中绿原酸对 ABTS 自由基的清除能力

3.7.3. 羟基自由基清除作用

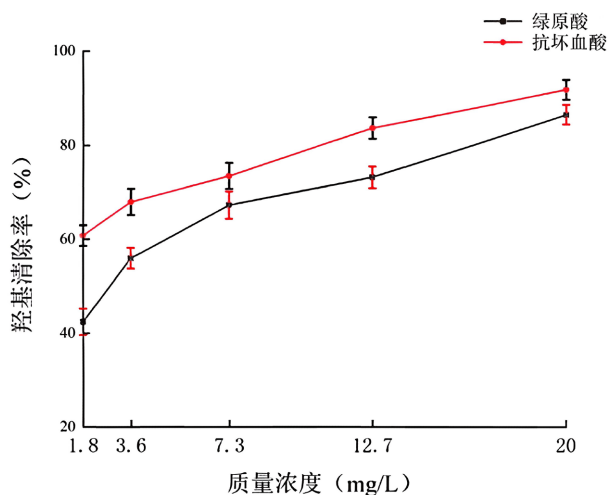


Figure 9. Hydroxyl radical scavenging capacity of chlorogenic acid in dandelion

图 9. 蒲公英中绿原酸对羟基自由基的清除能力

羟基自由基($\cdot\text{OH}$)活性强、破坏力大，清除难度高[15]。图 9 显示，当绿原酸浓度达 20 mg/L 时，清除率为 86.49%，证实其具有显著自由基清除能力；而抗坏血酸在所有测试浓度下均表现出更强的清除效能。

4. 结论

本研究采用超声辅助低共熔溶剂法提取蒲公英中的绿原酸,在单因素试验基础上,结合响应面法对提取工艺进行优化,确定了最佳工艺参数为:液料比 21 mL/g、超声温度 80℃、超声时间 108 min。在此条件下,绿原酸的实际提取率达到 8.41%,显著高于文献报道的常规方法提取率[16],且与模型预测值吻合良好,表明该优化工艺稳定可行。抗氧化活性评价结果显示,在 20 mg/L 的质量浓度下,蒲公英绿原酸提取物对 DPPH 自由基、ABTS⁺自由基及羟基自由基三种自由基的清除率分别为 80.63%、87.35%和 86.49%,表明其具备较强的抗氧化能力,具有开发为天然抗氧化剂的良好潜力。

该提取工艺显著提高了蒲公英绿原酸的提取率,在降低能耗和溶剂用量的同时兼顾环境友好性,为蒲公英资源的高值化利用提供了新途径。所得绿原酸提取物抗氧化性能突出,可广泛应用于食品、保健品及化妆品等领域,作为天然防腐剂或功能性添加剂,符合绿色、健康的消费趋势。

基金项目

2024 年贵州省大学生创新创业训练立项项目“N-苄基-供电子取代苯甲酰胺衍生物的合成”(S2024106680564);2024 年贵州省大学生创新创业训练立项项目“N-苄基-3-卤取代苯甲酰胺类衍生物的合成”(S2024106680563)。

参考文献

- [1] 贾梅珍,冯昕.蒲公英中绿原酸的提取及抑菌活性的初步研究[J].食品工业,2013,34(10):14-17.
- [2] 冯戏雨,李萍,朱婧婧,等.超声波法提取蒲公英中绿原酸的工艺优化研究[J].保鲜与加工,2019,19(6):112-116.
- [3] 杨超,闫庆梓,唐洁,等.蒲公英挥发油成分分析及其抗炎抗肿瘤活性研究[J].中国医药学报,2018,33(7):3106-3111.
- [4] 王晶,李强,孙悦,等.低共熔溶剂在天然产物提取中的应用研究进展[J].分析测试学报,2022,41(6):921-929.
- [5] 孙伟,黄敏,李娜,等.低共熔溶剂对多酚类化合物的溶解性能研究[J].高等学校化学学报,2021,42(5):1467-1475.
- [6] 卢娟,韦新银,谭春婷,等.超声辅助低共熔溶剂提取蒲公英绿原酸的工艺优化及其抗氧化活性研究[J].山西化工,2024,44(4):3-6.
- [7] 刘海军,苗侨伟,何敏.蒲公英中绿原酸的提取工艺优化及稳定性研究[J].中国饲料,2023,1(23):54-60.
- [8] 薛站,丁鹏鹏,李居华,等.响应面法优化超声辅助提取杜仲总黄酮及其抗氧化活性研究[J].自然科学,2025,13(6):1120-1132.
- [9] 吕博威,王翠芳,霍红雁,等.响应面法优化双水相提取沙葱中总黄酮的工艺条件[J].中国调味品,2022,47(4):122-127.
- [10] 张晨,龚晓源,胡海洋,等.响应面法优化藜麦松露酒糟曲奇饼干工艺[J].食品研究与开发,2021,42(24):86-91.
- [11] 韩露.中药酚性抗氧化剂清除 DPPH 自由基机理的推断性研究[D]:[硕士学位论文].广州:广州中医药大学,2015.
- [12] 胡春霞.甘薯不同心色薯块多酚的醇溶提取条件优化及其 DPPH 清除能力[D]:[硕士学位论文].重庆:西南大学,2015.
- [13] 周孟焦.竹叶花椒中黄酮类物质提取及抗氧化性研究[D]:[硕士学位论文].绵阳:西南科技大学,2021.
- [14] 杨悦,冯靖雯,陈鸿平,等.竹叶花椒黄酮类成分含量及抗氧化活性相关性分析[J].天然产物研究与开发,2021,33(11):1809-1817+1935.
- [15] 李艳,巩士磊,车影,等.Fenton 反应考察抗坏血酸清除羟基自由基能力及动力学[J].应用化学,2015,32(8):948-954.
- [16] 吴春燕,钟丽兰,卢娟.超声波辅助响应面法优化提取蒲公英中的绿原酸及其稳定性研究[J].山西化工,2025,45(1):71-74.