

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240818002

# 响应面法优化沙棘叶中总黄酮提取工艺

罗慧馨, 苏婷婷\*

(喀什大学生命与地理科学学院, 喀什 844000)

**摘要:** **目的** 通过 Box-Behnken 设计-响应面法确定超声波辅助提取中国沙棘叶总黄酮的最佳工艺参数, 并探究其体外抗氧化活性。**方法** 以中国沙棘叶为原料, 通过单因素实验(料液比、乙醇浓度和超声时间)及响应面实验优化其黄酮提取工艺。**结果** 最佳提取工艺条件为: 料液比 1:14 (g:mL), 乙醇浓度 69%, 超声时间 19 min。在此条件下, 黄酮提取量最高, 为 3.876 mg RE/g。所得沙棘提取液的总酚含量为 4.457 mg GAE/g, 并且具有较强的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除能力和铁离子还原能力(ferric ion reducing antioxidant power, FRAP)。**结论** 优选出的工艺稳定可行, 且具有良好的体外抗氧化活性, 为中国沙棘叶的开发利用提供一定的理论依据。

**关键词:** 中国沙棘叶; 总黄酮; 超声辅助提取; 响应面优化; 体外抗氧化活性

## Optimization of total flavonoids extraction process from *Hippophae rhamnoides* L. leaves based on response surface methodology

LUO Hui-Xin, SU Ting-Ting\*

(College of Life and Geographic Sciences, Kashi University, Kashi 844000, China)

**ABSTRACT: Objective** To determine the optimal process parameters for ultrasound assisted extraction of total flavonoids from Chinese *Hippophae rhamnoides* L. leaves using Box-Behnken design response surface methodology, and investigate its *in vitro* antioxidant activity. **Methods** The flavonoid extraction process of Chinese *Hippophae rhamnoides* L. leaves was optimized by one-way test (solid-liquid ratio, ethanol concentration and ultrasound time) and response surface test. **Results** The results showed that the suitable process parameters for extracting flavonoids from the leaves of the *Hippophae rhamnoides* L. were determined as follows: Solid-liquid ratio of 1:14 (g:mL), ethanol concentration of 69%, and ultrasound time of 19 min. Under these process conditions, the maximum amount of flavonoids extracted was reached at 3.876 mg RE/g. In addition, the total phenolic content of the ultrasound-assisted extracted *Hippophae rhamnoides* L. leaves was 4.457 mg GAE/g and showed strong 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity and ferric ion reducing antioxidant power (FRAP). **Conclusion** The preferred process is stable and feasible, and the extract has good *in vitro* antioxidant activity, which provides certain theoretical basis for the development and utilization of *Hippophae rhamnoides* L. leaves in China.

**KEY WORDS:** Chinese *Hippophae rhamnoides* L. leaves; total flavonoids; ultrasound-assisted extraction; response surface optimization; *in vitro* antioxidant activity

\*通信作者: 苏婷婷, 硕士, 主要研究方向为果蔬活性成分。E-mail: sutt0217@163.com

\*Corresponding author: SU Ting-Ting, Master, College of Life and Geographic Sciences, Kashi University, Kashi 844000, China. E-mail: sutt0217@163.com

## 0 引言

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)是胡颓子科沙棘属的一种多刺的落叶灌木或小乔木<sup>[1]</sup>。我国沙棘资源极其丰富,占全球沙棘的 93%以上<sup>[2]</sup>,位居世界第一。中国沙棘是沙棘属的重要亚种,约占中国沙棘总量的 85%,主要分布在我国黄土高原、内蒙古高原、青藏高原等地,青藏高原因其独特的地理位置(高海拔、低纬度、强紫外线辐射环境)为沙棘的次生代谢(黄酮)提供了天然优势<sup>[3]</sup>。作为一种药食同源的植物,沙棘的根、茎、叶、花和种子中都蕴含着丰富的营养物质和生物活性物质<sup>[4]</sup>。研究表明,沙棘叶富含黄酮类<sup>[5]</sup>、多酚类、氨基酸、微量元素<sup>[6]</sup>、维生素等物质,具有多种生物活性功能<sup>[7]</sup>,如抗氧化、抗瘤变、保护肝脏<sup>[8]</sup>、降血糖等,因此,广泛应用于医药<sup>[9]</sup>及动物饲料<sup>[10]</sup>等领域。

近年来,沙棘叶中黄酮的提取方法多采用传统溶剂法,该方法虽提取成本较低,但耗时长,提取率不高<sup>[11]</sup>。如刘馨雨等<sup>[12]</sup>对延安市沙棘干叶分别采用常规溶剂萃取和超声波辅助提取黄酮,其黄酮提取量分别为 29.36 mg/g 和 32.6 mg/g。封可欣<sup>[13]</sup>对甘肃地区沙棘叶采用超声波辅助提取黄酮,其提取量为 66.006 mg/mL。超声提取作为一种新型辅助溶剂提取的技术,具有节能、操作简单等特点,使其快速从植物材料中提取生物活性化合物<sup>[14]</sup>。其主要利用超声波产生强烈的振动作用和空化效应,能够使植物的有效成分与溶剂得到充分的混合<sup>[15]</sup>,进而可提高其样品的提取效率。该技术成本低廉且耗时短,还能阻止不耐热的黄酮类化合物受到破坏<sup>[16]</sup>,从而确保提取物的高质量。此外,超声波辅助提取也广泛应用于枇杷叶<sup>[17]</sup>、紫苏叶<sup>[18]</sup>等黄酮含量的提取。UPADHYAY 等<sup>[19]</sup>证明沙棘叶黄酮具有较强的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基清除能力和铁离子还原能力(ferric ion reducing antioxidant power, FRAP)。

尽管已有不同提取溶剂或提取方法对沙棘叶的黄酮提取率影响的相关报道,但对甘肃省甘南沙棘叶黄酮含量的提取的研究报道较少。本研究以中国沙棘叶为原料,乙醇作为提取溶剂,利用超声波辅助提取沙棘叶黄酮,探究料液比、乙醇浓度、超声时间 3 个因素对沙棘叶黄酮提取量的影响,通过响应面实验优化确定沙棘叶黄酮的最佳提取工艺参数,同时对优化后的沙棘叶提取液进行总黄酮、总酚及体外抗氧化活性测定,以期对沙棘叶黄酮的理论研究提供有价值的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

中国沙棘叶于 2023 年 8 月采自甘肃省甘南藏族自治

州碌曲县,放入蓄冷保温箱(2 kg/箱),快递运抵本实验室待用。

氢氧化钠、无水乙醇、甲醇、三氯化铝(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);福林酚(分析纯,北京酷来博科技有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

IKA A11 basic 研样机(上海坤权生物科技有限公司);5910R 台式高速冷冻离心机(北京宏达恒业科技有限公司);KQ5200DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);UV-1800 紫外-可见分光光度计[岛津仪器(苏州)有限公司]。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 沙棘叶样品处理

选择无霉变的沙棘叶,将其置于室温下阴干,然后用研样机将其磨成粉末,装入 50 mL 离心管中,置于 4 °C 冰箱中备用。

#### 1.3.2 沙棘叶黄酮含量的测定

##### (1) 单因素实验设计

准确称取 1 g 预处理后的沙棘粉,加入不同体积、不同浓度的乙醇进行超声波辅助提取黄酮。以不同料液比、乙醇浓度、超声时间进行单因素实验,考察不同因素对沙棘叶黄酮的提取量的影响,除变化量外,实验固定料液比 1:20 (g:mL)、乙醇浓度 60%、超声时间为 30 min,分别研究料液比[1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 (g:mL)],乙醇浓度(40%、50%、60%、70%、80%)和超声时间(10、20、30、40、50 min)对沙棘叶黄酮提取量的影响,然后离心(3000 r/min, 30 min, 4 °C),取上清液置于 10 mL 离心管,放于 4 °C 冰箱待用。

##### (2) 总黄酮含量的测定

参照李港等<sup>[20]</sup>采用的氯化铝方法并稍作调整。准确吸取 1 mL 上清液置于 10 mL 离心管中,后加入 1 mL 氯化铝溶液,再加 3 mL 的 70%乙醇溶液,摇匀使其各试剂充分混合,避光静置 30 min 后,于 510 nm 波长下测定溶液的吸光度。总黄酮含量以芦丁(rutin equivalents, RE)为标准品建立标准曲线,结果以 mg RE/g 表示。

#### 1.3.3 响应面优化实验

超声波辅助提取沙棘叶中黄酮的最佳工艺条件确定为以料液比(A)、乙醇浓度(B)、超声时间(C)为实验因素,以黄酮提取量作为考察指标,进行 3 因素 3 水平的响应面实验,其因素水平见表 1。

表 1 响应面实验因素与水平  
Table 1 Response surface test factors and levels

水平	因子		
	A(料液比) (g:mL)	B(乙醇浓度) /%	C(超声时间) /min
-1	1:10	60	10
0	1:15	70	20
1	1:20	80	30

### 1.3.4 沙棘叶总酚含量的测定

参考 WEI 等<sup>[21]</sup>的方法, 取 300  $\mu\text{L}$  优化后的沙棘叶提取液, 加入 1200  $\mu\text{L}$  超纯水于 10 mL 离心管中混合均匀, 随后吸取 300  $\mu\text{L}$  福林酚试剂, 各试剂充分混匀后, 反应 6 min。最后再加 2.4 mL 的超纯水和 3 mL 7% 的碳酸钠于离心管中, 混合摇匀, 避光静置 1.5 h, 在 765 nm 处测定溶液的吸光度。以没食子酸(gallic acid equivalents, GAE)为标准品绘制其标准曲线, 含量以 mg GAE/g 表示。

### 1.3.5 体外抗氧化活性的测定

#### (1) DPPH 自由基清除能力的测定

参考 訾玉祥等<sup>[22]</sup>的方法并稍作调整。准确配制 0.025 g/L DPPH 储液(无水乙醇), 并将其置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中备用。吸取 400  $\mu\text{L}$  优化后的沙棘提取液和 600  $\mu\text{L}$  DPPH 储备液, 混匀, 放置在室温 25  $^{\circ}\text{C}$  下避光静置 30 min, 3000 r/min 离心 5 min, 吸取 600  $\mu\text{L}$  至比色皿中, 无水乙醇调零, 在波长 517 nm 处测定溶液的吸光度值, 并记为  $A_1$ ; 空白对照组吸取 400  $\mu\text{L}$  80% 甲醇溶液和 600  $\mu\text{L}$  DPPH 储备液混匀, 其吸光值记为  $A_0$ 。DPPH 自由基清除率计算公式如(1):

$$R/\% = (1 - \frac{A_0}{A_1}) \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $R$ , DPPH 自由基清除率, %;  $A_0$ , 空白对照组的吸光度值;  $A_1$ , 优化后沙棘提取液的吸光度值。

#### (2) FRAP 抗氧化能力的测定

采用苏州科铭生物技术有限公司提供的试剂盒进行测定, 按说明书依次加入试剂, 在 593 nm 下测定吸光值。用水溶性维生素 E (Trolox) 做标准曲线, 结果以  $\mu\text{mol}$  Trolox/mg 表示。

## 1.4 数据处理

上述各项数据测定均重复 3 次。所有数据均通过 Microsoft Excel 2021 计算平均值及标准误差, 并使用 Origin 2018 和 Design Expert 13 软件进行图表绘制。此外, 利用 SPSS 26.0 进行 Duncan's 显著性分析( $P < 0.05$ )。

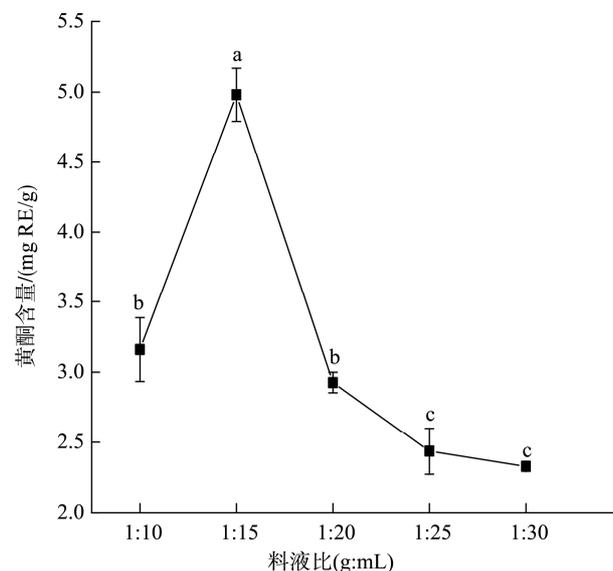
## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果

#### 2.1.1 料液比对沙棘叶黄酮提取量的影响

由图 1 可得, 随着料液比的增加, 沙棘叶黄酮的提取量呈现先增长后降低的趋势。当料液比在 1:10~1:15 (g:mL) 范围内, 黄酮的提取量迅速增加, 并在料液比为 1:15 (g:mL) 时黄酮提取量达到最高(4.98 mg RE/g)。这表明适当提高料液比, 能够使原料充分地浸没在乙醇溶液中, 从而有助于沙棘叶中黄酮提取成分的溶出, 进而提高其提取率。但随料液比进一步增加, 提取量却开始快速下降。这可能因料液比大于 1:15 (g:mL) 时, 沙棘叶中黄酮的溶出量

已达到饱和状态, 继续增加乙醇用量对黄酮提取量无明显影响, 甚至可能导致黄酮提取量下降。因此, 后续响应面实验优化应选择料液比为 1:10、1:15、1:20 (g:mL) 进行。



注: 不同小写字母表示具有显著性差异( $P < 0.05$ ), 图 2、3 同。

图 1 料液比对沙棘叶黄酮提取量的影响

Fig.1 Effects of solid-liquid ratio on the extraction of flavonoids from *Hippophae rhamnoides* L. leaves

#### 2.1.2 乙醇浓度对沙棘叶黄酮提取量的影响

由图 2 可知, 当乙醇浓度在 60%~70% 范围内, 沙棘叶黄酮的提取量从 1.583 mg RE/g 逐渐增至 2.337 mg RE/g; 当乙醇浓度再继续增加至 80% 时, 黄酮的提取量急剧下降至 1.20 mg RE/g。这可能是由于沙棘叶中黄酮类化合物呈苷元和糖苷两种形态, 其中苷元的极性相对较弱且水溶性较差; 而糖苷则具有较强的极性和水溶性, 所以过高或过低的乙醇浓度都会干扰沙棘叶黄酮的提取效果<sup>[23]</sup>, 使其提

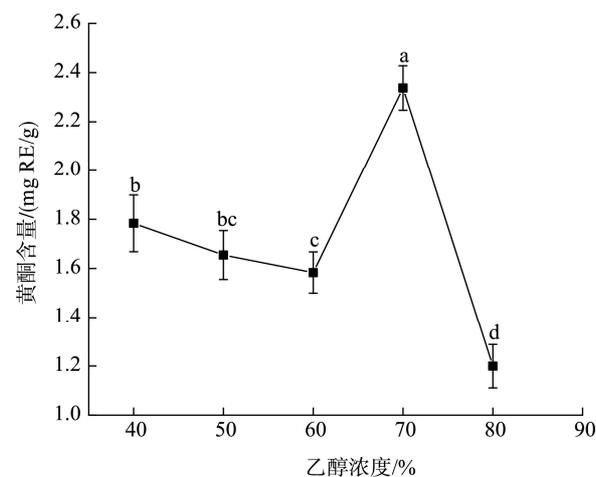


图 2 乙醇浓度对沙棘叶黄酮提取量的影响

Fig.2 Effects of ethanol concentration on the extraction of flavonoids from *Hippophae rhamnoides* L. leaves

取量受到影响。由此可知,当乙醇浓度为 70%时,黄酮中的苷元和糖苷可以最大限度地溶出,其黄酮类物质含量最高,则后续的响应面实验优化应选择 60%、70%、80%进行。

### 2.1.3 超声时间对沙棘叶黄酮提取量的影响

由图 3 可知,在 10~30 min 范围内,随着超声时间的延长,沙棘叶黄酮含量呈现先增加后降低的趋势,在 20 min 时达到峰值,为 4.783 mg RE/g。在 30~50 min 内,随着超声时间的增加,黄酮含量先逐渐升高后降低,且在 40 min 时,出现次高峰,黄酮含量为 4.242 mg RE/g。这可能是由于乙醇渗透性强,沙棘中的黄酮类物质可在一定时间内溶出而达到溶解平衡<sup>[24]</sup>,在 20 min 时,沙棘中的黄酮类物质已基本溶出,在一定程度上持续延长超声时间会造成黄酮类物质的氧化,进而使黄酮含量呈下降趋势。因此选择 10、20、30 min 进行后续响应面实验优化。

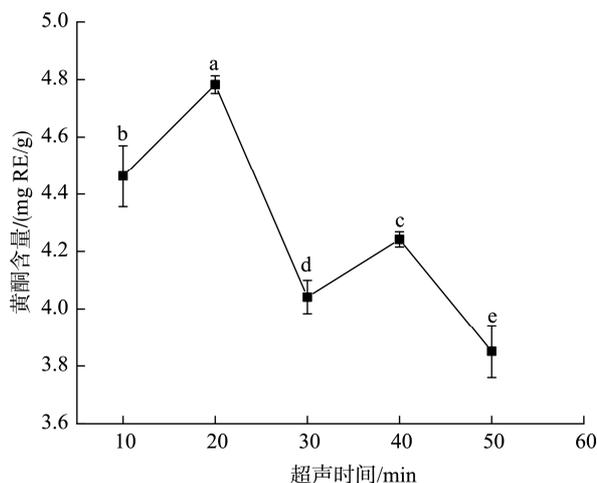


图 3 超声时间对沙棘叶黄酮提取量的影响

Fig.3 Effects of ultrasound time on the extraction of flavonoids from *Hippophae rhamnoides* L. leaves

## 2.2 响应面提取优化实验结果

### 2.2.1 响应面实验方案及结果

依据 2.1 的实验结果,利用 Box-Behnken 响应面实验对沙棘叶黄酮进行工艺条件优化,实验共 17 组,其实验设计及结果见表 2。

表 2 响应面实验结果

Table 2 Test results of response surface

实验号	A(料液比) (g:mL)	B(乙醇浓度) /%	C(超声时间) /min	Y(提取量) /(mg RE/g)
1	1:10	80	20	2.081
2	1:10	60	20	2.645
3	1:15	70	20	3.787
4	1:20	60	20	2.157
5	1:10	70	30	2.241
6	1:15	60	10	2.462
7	1:20	80	20	1.868
8	1:15	80	10	1.662
9	1:15	70	20	4.054
10	1:20	70	10	2.157
11	1:15	70	20	3.566
12	1:15	80	30	1.723
13	1:15	60	30	1.883
14	1:15	70	20	3.772
15	1:10	70	10	2.195
16	1:15	70	20	3.688
17	1:20	70	30	1.548

### 2.2.2 回归模型的建立与方差分析

依据 Design Expert 13 软件对所得 17 组响应面实验的结果进行拟合回归分析处理,得出以沙棘叶黄酮提取量为目标函数的二次回归方程:  $Y = -43.157 + 0.823A + 1.107B + 0.322C + 0.0014AB - 0.0033AC + 0.0016BC - 0.030A^2 - 0.0084B^2 - 0.01C^2$ , 见表 3。

表 3 回归方程系数显著性分析

Table 3 Significance analysis of regression equation coefficients

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	11.63	9	1.29	69.06	<0.0001	**
A	0.26	1	0.26	13.69	0.0076	**
B	0.41	1	0.41	21.95	0.0022	**
C	0.15	1	0.15	7.80	0.0268	*
AB	0.02	1	0.02	1.01	0.3484	
AC	0.11	1	0.11	5.73	0.0479	*
BC	0.10	1	0.10	5.47	0.0519	
A <sup>2</sup>	2.31	1	2.31	123.66	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	3.00	1	3.00	160.31	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	4.18	1	4.18	223.46	<0.0001	**
残差	0.13	7	0.02			
失拟项	0.002	3	0.0006	0.02	0.9960	
净误差	0.13	4	0.03			
总离差	11.77	16				

注: \*\*表示  $P < 0.01$  差异极显著; \*表示  $0.01 < P < 0.05$  差异显著。

由表 3 可知, 模型  $F=69.06$ , 说明该模型具有较高的精确度。模型  $P<0.0001$ , 显著证明了该模型的精确性与可靠性。决定系数  $R^2=0.989$ , 说明该模型预测值与实际值拟合良好; 校正系数  $R^2_{adj}=0.975$ , 表明该模型可以预测大多数变异, 因此该模型适用于本实验数据的分析和预测。在此情况下, 一次项  $A$ 、 $B$  是影响模型的重要因素; 交互项  $AC$  对该模型有一定的影响, 而  $AB$ 、 $BC$  对模型的影响较小。失拟项  $P>0.05$  不显著, 说明该响应面模型误差较小, 因此二次模型较为合理, 可以进一步用于后续数据分析。综上所述, 该模型设计的参数适用于沙棘叶黄酮提取。

### 2.2.3 两两因素间交互作用的响应面分析结果

3D 响应面图和等高线作为一种可视化工具, 能够直

观地揭示 3 个因素(液料比、乙醇浓度、超声时间)对黄酮提取量的影响。其曲面的陡峭程度反映了实验因素对黄酮提取量的影响程度: 越陡峭的曲面表明其对实验因素的影响越大, 说明其具有越显著的交互作用<sup>[25]</sup>; 等高线的形状可以反映出交互作用的强弱<sup>[26]</sup>, 形状越椭圆表明两因素间的交互作用越显著, 而趋向于圆形则表明交互作用相对较弱。由图 4 中的(a)、(b)、(c)所示, 液料比与超声时间之间的等高线图呈现为椭圆形, 表明这两因素间的交互作用显著; 而液料比与乙醇浓度、乙醇浓度与超声时间呈现的椭圆程度较小, 表明这两两因素间的交互作用相对较弱。则乙醇浓度和液料比的曲线与超声时间相比较为陡峭, 这说明乙醇浓度和液料比对提取沙棘叶黄酮的作用更为显著。

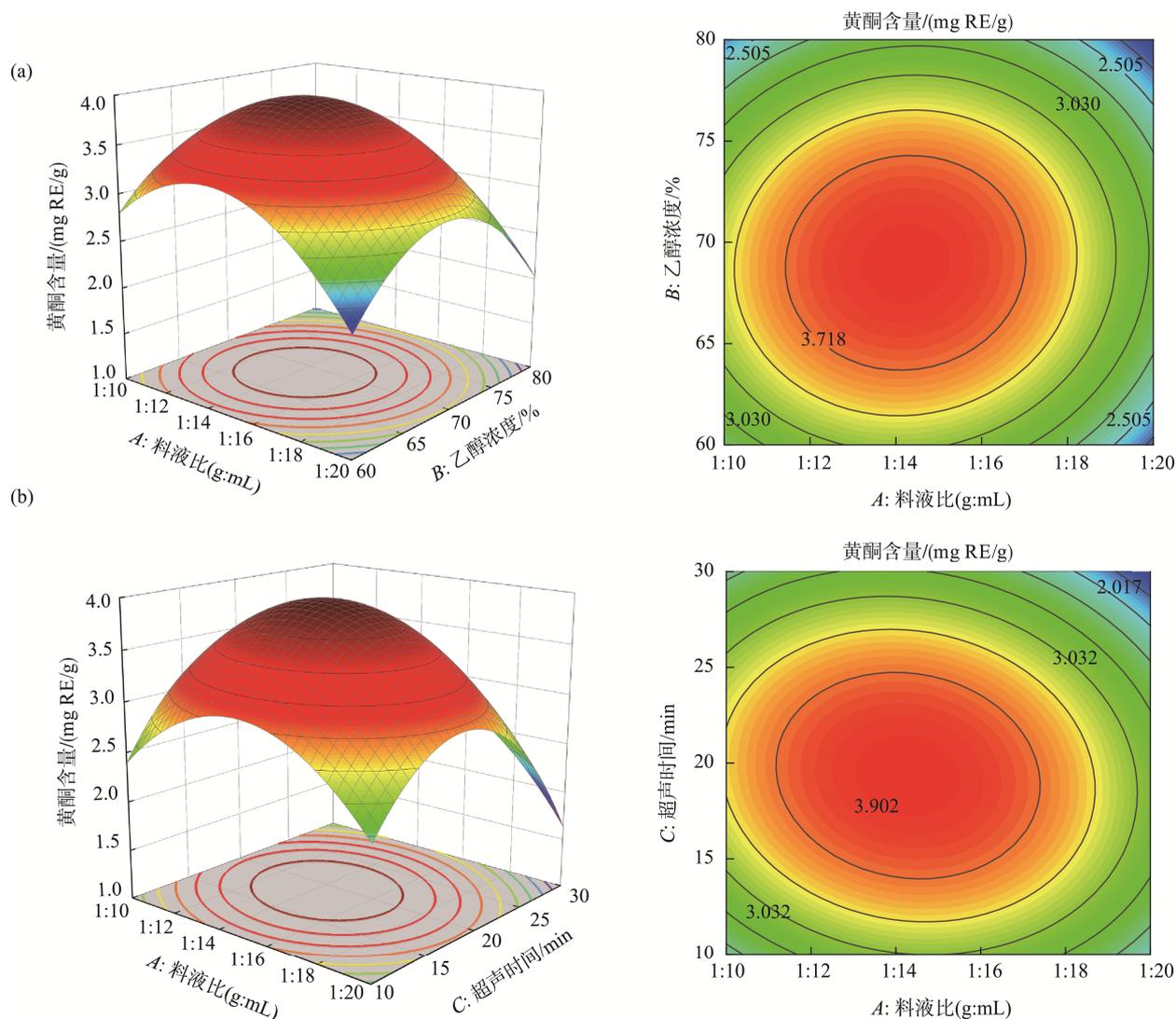


图 4 各因素间交互作用对黄酮提取量的影响

Fig.4 Effects of interaction of various factors on the extraction amount of flavonoids

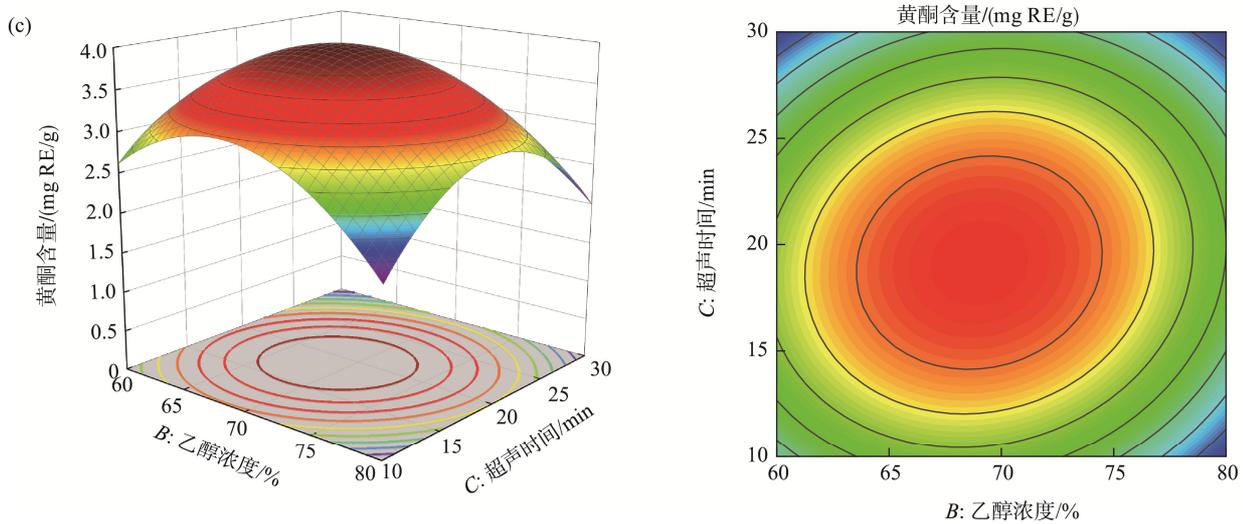


图 4(续) 各因素间交互作用对黄酮提取量的影响

Fig.4 Effects of interaction of various factors on the extraction amount of flavonoids

#### 2.2.4 验证实验结果

通过 Design Expert 13 软件的分析, 确定沙棘叶黄酮提取量最佳工艺参数为: 料液比 1:14.402 (g:mL)、乙醇浓度 68.549%、超声时间 19.308 min, 沙棘叶黄酮提取量的理论值为 3.803 mg RE/g。考虑到实际操作的方便性, 对其最佳工艺参数略微改动: 料液比 1:14 (g:mL)、乙醇浓度 69% 和超声时间 19 min。在此条件下, 验证实验所得黄酮提取量为 3.876 mg RE/g。这一结果与理论值 3.803 mg RE/g 相近, 差异较小且重复性好, 这表明响应面法优化黄酮提取工艺是可行的。

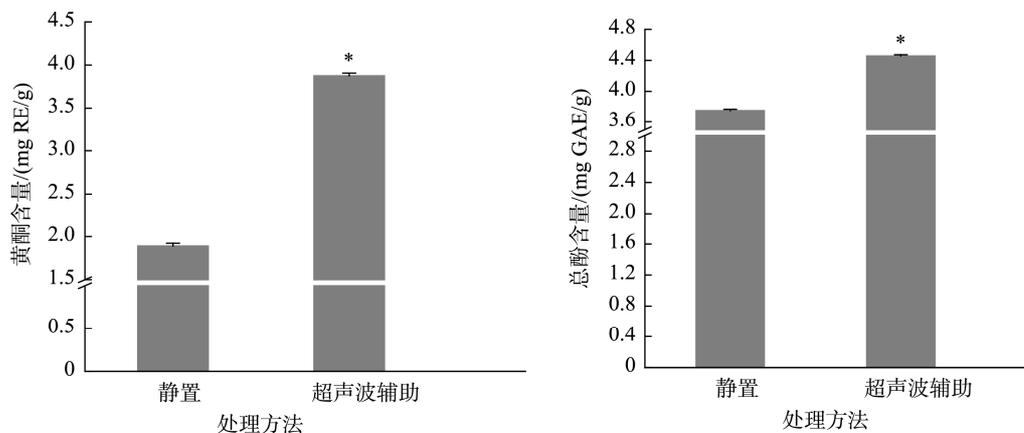
#### 2.3 沙棘叶提取液的总黄酮和总酚含量

由图 5 可知, 超声辅助提取沙棘叶黄酮含量为 3.876 mg RE/g, 而有机溶剂静置提取的总黄酮含量仅为 1.891 mg RE/g。超声波辅助提取的黄酮含量是静置时的

2.1 倍。同样, 超声辅助提取的沙棘叶总酚含量高达 4.457 mg GAE/g, 是有机溶剂静置提取(3.753 mg GAE/g)的 1.2 倍。上述结果表明, 超声辅助提取有助于沙棘叶黄酮和酚类物质的溶出, 进而提高了总黄酮和总酚的含量。

#### 2.4 沙棘叶提取液的体外抗氧化活性

由图 6 可知, 超声辅助提取的沙棘叶提取液对 DPPH 自由基清除率高达 80%, 而采用有机溶剂静置提取的仅为 30%。与有机溶剂静置提取相比, 超声波辅助提取显著提高了 1.7 倍( $P<0.05$ )。同样, 沙棘叶提取液对 FRAP 具有较强的抗氧化能力, 超声波辅助提取沙棘叶提取液对 FRAP 抗氧化能力为 0.346  $\mu\text{mol Trolox/mL}$ , 高出有机溶剂静置提取(0.123  $\mu\text{mol Trolox/mL}$ )的 1.8 倍。上述结果表明, 超声辅助提取显著提高了沙棘叶的 DPPH 自由基清除能力和 FRAP 的抗氧化能力( $P<0.05$ )。



注: \*表示组间具有显著性差异( $P<0.05$ ), 下同。

图 5 沙棘叶中总黄酮和总酚含量

Fig.5 Total flavonoid and total phenolics content in *Hippophae rhamnoides* L. leaves

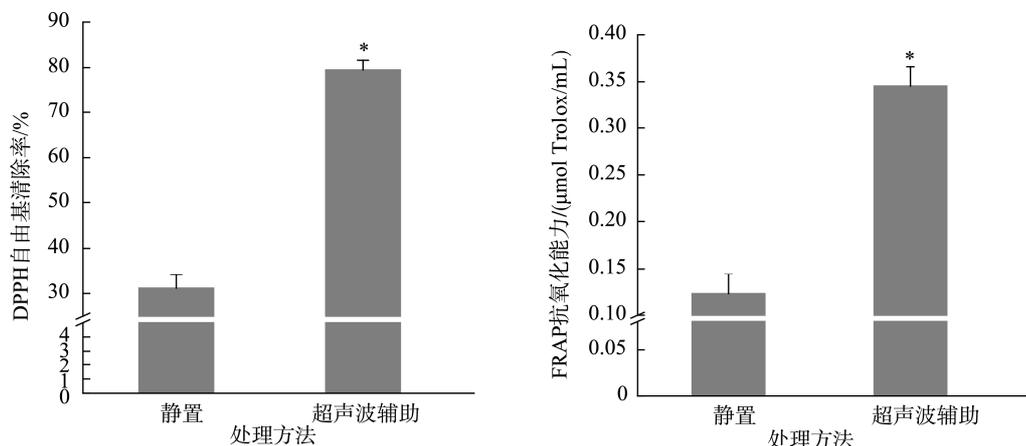


图 6 沙棘叶对 DPPH 自由基的清除能力和 FRAP 抗氧化能力

Fig.6 DPPH free radical scavenging capacities and FRAP antioxidant capacities of *Hippophae rhamnoides* L. leaves

### 3 讨论

本研究通过响应面优化, 沙棘叶黄酮的最佳提取工艺参数为: 料液比 1:14 (g:mL)、乙醇浓度 69%、超声时间 19 min, 此时沙棘叶黄酮提取量达到了 3.876 mg RE/g。吴翠芳等<sup>[27]</sup>对新疆沙棘全果冻干粉采用超声波辅助法提取黄酮, 最优工艺参数为: 料液比 1:20 (g:mL)、乙醇浓度 50%、超声时间 23 min, 此时黄酮得率 2.316 mg/g。白生文等<sup>[28]</sup>对甘肃张掖沙棘果渣进行超声波提取黄酮, 确定其最佳工艺条件为: 料液比 1:50 (g:mL)、乙醇浓度 60%、超声时间 40 min, 此时沙棘果渣中总黄酮提取率为 2.55%, 造成这些差异可能跟沙棘品种、生长环境、采摘时间、提取方式等因素有关。通过超声辅助提取后, 沙棘叶总黄酮和总酚含量显著高于有机溶剂静置, 这可能是由于静置主要靠溶剂和样品之间的渗透和接触, 使黄酮从样品中溶解出来较慢, 而超声提取则利用超声波强烈的振动和空化作用, 能够迅速破坏样品细胞的壁, 使得溶剂更容易渗透到细胞内部, 从而能加速其有效成分的溶解<sup>[29]</sup>。此外, 经由超声辅助处理的沙棘叶的 DPPH 自由基清除率和 FRAP 抗氧化能力分别提高了 1.7 倍和 1.8 倍。唐婷范等<sup>[30]</sup>对广东省陈皮采用超声波辅助法, 其陈皮对 DPPH 自由基清除率为 82.94%, 这可能是由于通过超声波处理可以促进黄酮和酚类物质的溶出, 进而增强其抗氧化活性。

### 4 结论

本研究采用 Box-Behnken 设计-响应面法确定超声波辅助提取中国沙棘叶黄酮的最佳工艺参数, 并探究了其体外抗氧化活性。以中国沙棘叶为原料, 乙醇为提取溶剂, 在单因素实验的基础上, 通过响应面优化确定了沙棘叶黄酮最佳提取工艺参数为: 料液比 1:14 (g:mL)、乙醇浓度

69%、超声时间 19 min, 在此条件下, 沙棘叶黄酮提取量达到最高, 为 3.876 mg RE/g。此外, 沙棘叶还具有较强的 DPPH 自由基清除能力和 FRAP 抗氧化能力。综上可知, 超声辅助提取技术对优化沙棘叶黄酮的提取工艺是可行的, 实验结果稳定可靠, 并且沙棘叶具有一定的抗氧化能力, 为沙棘叶黄酮在食品和药用领域的开发提供了有利的理论支持。

### 参考文献

- [1] 任婧楠, 贾潇, 张智锋, 等. 新鲜沙棘果汁和沙棘原浆的风味和营养品质分析[J]. 食品科学, 2024, 45(4): 164-170.  
REN JN, JIA X, ZHANG ZF, *et al.* Analysis of flavor and nutritional quality of fresh sea buckthorn juice and sea buckthorn pulp [J]. Food Sci, 2024, 45(4): 164-170.
- [2] 李月, 刘青, 王悦, 等. 沙棘叶的应用及现代研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(6): 1326-1332.  
LI Y, LIU Q, WANG Y, *et al.* Application of sea buckthorn leaves and progress of modern research [J]. Chin J Tradit Chin Med, 2021, 46(6): 1326-1332.
- [3] ZHAO JM, JIANG YM, BI Y, *et al.* Antioxidant and stress resistance properties of flavonoids from Chinese sea buckthorn leaves from the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Antioxidants, 2024, 13(7): 763.
- [4] 王璇, 张志伟, 陈志玺, 等. 沙棘果食品开发利用研究进展与发展对策[J]. 保鲜与加工, 2024, 24(1): 75-82.  
WANG X, ZHANG ZW, CHEN ZX, *et al.* Progress of research on the development and utilization of sea buckthorn fruit food and development countermeasures [J]. Storage Process, 2024, 24(1): 75-82.
- [5] 张瑞刚, 王超越. 沙棘叶茶多糖提取工艺优化及体外降脂活性研究[J]. 北方园艺, 2024(1): 93-99.  
ZHANG RG, WANG CY. Optimization of extraction process and *in vitro* hypolipidemic activity of tea polysaccharides from sea buckthorn

- leaves [J]. North Hortic, 2024(1): 93–99.
- [6] 王宁宁, 高岩, 张梅, 等. 基于 HPLC 指纹图谱的沙棘叶黄酮类功效成分研究[J]. 中国现代中药, 2023, 25(10): 2078–2083.
- WANG NN, GAO Y, ZHANG M, *et al.* Study on flavonoid efficacy components of sea buckthorn leaves based on HPLC fingerprinting [J]. China Mod Chin Med, 2023, 25(10): 2078–2083.
- [7] 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.
- WANG M, WANG ZC, HUANG JM, *et al.* Research progress on extraction and purification of flavonoids and functional activity of sea buckthorn [J]. Sci Technol Food Ind, 2023, 44(2): 487–496.
- [8] 王颖, 张智锋, 任婧楠, 等. 沙棘活性成分及功能特性的研究进展[J]. 现代食品科技, 2024, 1: 1–10.
- WANG Y, ZHANG ZF, REN JN, *et al.* Research progress on active components and functional properties of sea buckthorn [J]. Mod Food Sci Technol, 2024, 1: 1–10.
- [9] 黄瑜, 张锡宇, 赵海桃, 等. 沙棘叶提取物的体外抗氧化及乙酰胆碱酯酶抑制能力[J]. 精细化工, 2024, 41(2): 391–400.
- HUANG Y, ZHANG XY, ZHAO HT, *et al.* *In vitro* antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory capacity of sea buckthorn leaf extracts [J]. Fine Chem, 2024, 41(2): 391–400.
- [10] 卢俊. 沙棘叶黄酮的提取方法及其在动物生产中应用的研究进展[J]. 饲料研究, 2022, 45(18): 153–155.
- LU J. Research progress on the extraction method of sea buckthorn leaf flavonoids and its application in animal production [J]. Feed Res, 2022, 45(18): 153–155.
- [11] 许铭芯. 沙棘叶黄酮的超声波微波协同提取及成分、活性研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2020.
- XU MX. Ultrasonic-microwave synergistic extraction of flavonoids from sea buckthorn leaves and studies on composition and activity [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2020.
- [12] 刘馨雨, 张海生, 许铭芯, 等. 超声波微波协同提取沙棘叶黄酮及其组成和活性研究[J]. 核农学报, 2022, 36(7): 1381–1390.
- LIU XY, ZHANG HS, XU MX, *et al.* Ultrasonic-microwave synergistic extraction of sea buckthorn leaf flavonoids and their composition and activity [J]. J Nucl Agric, 2022, 36(7): 1381–1390.
- [13] 封可欣. 超声波辅助提取沙棘叶黄酮及其生物活性的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2023.
- FENG KX. Ultrasound-assisted extraction of flavonoids from sea buckthorn leaves and their bioactivities [D]. Changchun: Jilin University, 2023.
- [14] 王兆丰, 杜石勇, 代华, 等. 超声波辅助低共熔溶剂提取甜樱桃色素及其功能特性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(13): 113–123.
- WANG ZF, DU SY, DAI H, *et al.* Ultrasound-assisted low eutectic solvent extraction of sweet cherry pigments and their functional characterization [J]. J Food Saf Qual, 2024, 15(13): 113–123.
- [15] 苏海兰, 魏娟, 毕阳, 等. 超声波辅助提取中国沙棘浆果多酚的工艺优化及其成分分析[J]. 食品与发酵科技, 2017, 53(6): 34–41.
- SU HL, WEI J, BI Y, *et al.* Process optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from Chinese sea buckthorn berries and its compositional analysis [J]. Food Ferment Ind, 2017, 53(6): 34–41.
- [16] 闫帅帅, 晋程妮, 武颖, 等. 枸杞叶多酚的超声辅助酶法提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 山西农业科学, 2023, 51(9): 1060–1068.
- YAN SS, JIN CN, WU Y, *et al.* Optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction process and analysis of antioxidant activity of polyphenols from leaves of *Lycium barbarum* [J]. Shanxi Agric Sci, 2023, 51(9): 1060–1068.
- [17] 刘慕妆, 李紫宁, 赵晨惠, 等. 广东始兴枇杷叶总黄酮提取工艺研究[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版), 2022, 40(1): 26–34.
- LIU MZ, LI ZN, ZHAO CH, *et al.* Extraction process of total flavonoids from loquat leaves of Shixing, Guangdong [J]. J Foshan Inst Sci Technol (Nat Sci Ed), 2022, 40(1): 26–34.
- [18] 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(5): 66–71.
- XIE B, ZHANG HJ, FENG ZQ, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from *Perilla frutescens* leaves and their anti-exercise fatigue activity [J]. Feed Res, 2024(5): 66–71.
- [19] UPADHYAY NK, KUMAR MSY, GUPTA A. Antioxidant, cytoprotective and antibacterial effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(12): 3443–3448.
- [20] 李港, 张季, 王新利, 等. 冬凌草黄酮分散片含量测定方法研究[J]. 神经药理学报, 2020, 10(2): 19–23.
- LI G, ZHANG J, WANG XL, *et al.* Study on the method for the determination of flavonoid content in dispersible tablets of *Cordyceps militaris* [J]. J Neuropharmacol, 2020, 10(2): 19–23.
- [21] WEI J, SU TT, SU HL, *et al.* Comparative assessment of phenolics, antioxidant and antiproliferative activities between *Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis* and *H. tibetana* leaf in Qinghai-Tibet Plateau [J]. Food Biosci, 2022, 46: 101507.
- [22] 訾玉祥, 陆兆新, 吕凤霞, 等. 紫苏叶中甘油糖脂的抗氧化活性研究[J]. 南京农业大学学报, 2021, 44(3): 561–567.
- ZAN YX, LU ZX, LV FX, *et al.* Study on the antioxidant activity of glycerol glycolipids in *Perilla frutescens* [J]. J Nanjing Agric Univ, 2021, 44(3): 561–567.
- [23] 赵卓婷. 不同沙棘黄酮的分析与抗氧化活性研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2021.
- ZHAO ZT. Analysis and antioxidant activity of different sea buckthorn flavonoids [D]. Harbin: Harbin Inst Technol, 2021.

- [24] 许晓路, 戴国庆, 韦涵峰, 等. 双水相提取金银花叶总黄酮工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 242–248.  
XU XL, DAI GQ, WEI HF, *et al.* Optimization of biphasic extraction process of total flavonoids from Honeysuckle leaves and its antioxidant activity [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2023, 44(13): 242–248.
- [25] 吕静, 杨洁茹, 朱静, 等. 核桃青皮果胶提取工艺优化及其体外降脂、抗氧化活性分析[J]. 食品与机械, 2024, 40(7): 155–162.  
LV J, YANG JR, ZHU J, *et al.* Optimization of walnut green peel pectin extraction process and its *in vitro* lipid-lowering and antioxidant activities [J]. *Food Mach*, 2024, 40(7): 155–162.
- [26] 王月, 赵彦巧, 李建颖. 超声辅助提取紫苏叶花色苷及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(4): 128–135.  
WANG Y, ZHAO YQ, LI JY. Ultrasound-assisted extraction of perilla leaf anthocyanin and its antioxidant activity [J]. *Food Res Dev*, 2022, 43(4): 128–135.
- [27] 吴翠芳, 刘雅宣, 李宇辉, 等. 沙棘中黄酮类化合物提取及抗氧化活性[J]. 安徽科技学院学报, 2024, 38(1): 88–96.  
WU CF, LIU YX, LI YH, *et al.* Extraction and antioxidant activity of flavonoids from sea buckthorn [J]. *J Anhui Inst Sci Technol*, 2024, 38(1): 88–96.
- [28] 白生文, 汤超, 田京, 等. 沙棘果渣总黄酮提取工艺及抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2015, 36(10): 59–64.  
BAI SW, TANG C, TIAN J, *et al.* Extraction process and antioxidant activity analysis of total flavonoids from sea buckthorn pomace [J]. *Food Sci*, 2015, 36(10): 59–64.
- [29] ZHAO JM, SU TT, SUN QZ, *et al.* Ultrahigh pressure enhances the extraction efficiency, antioxidant potential, and hypoglycemic activity of flavonoids from Chinese sea buckthorn leaves [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2024, 207: 116671.
- [30] 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.  
TANG TF, XU ZW, LI XQ, *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction process of flavonoids from Guang Chen Pi and its antioxidant activity [J]. *China Flavor*, 2024, 49(3): 15–19.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

## 作者简介



罗慧馨, 主要研究方向为果蔬活性成分。  
E-mail: 13357275938@163.com



苏婷婷, 硕士, 主要研究方向为果蔬活性成分。  
E-mail: sutt0217@163.com