

无子刺梨总黄酮的超声辅助提取优化及其抗氧化活性

但汉龙^{1,2},李娜¹,罗旭璐¹,刘云¹,张德国²,阚欢¹,李永和²,赵平^{1*}¹西南林业大学 西南山地森林资源保育与利用省部共建教育部重点实验室;²西南林业大学 云南生物多样性研究院,昆明 650224

摘要:采用超声辅助乙醇法从无子刺梨果实中提取黄酮,通过单因素试验考察了提取时间、料液比、乙醇体积分数和提取次数4个因素对无子刺梨黄酮得率的影响,并采用响应面法确定无子刺梨黄酮的最佳工艺条件为:提取时间70 min、料液比1:22.39、乙醇体积分数52.2%、提取次数4次,在此优化条件下无子刺梨黄酮的理论提取率可达到0.828%。依实际试验情况,将其修正为提取时间70 min、料液比1:23、乙醇体积分数52%、提取次数4次,经验证此条件下无子刺梨黄酮的提取率为0.817%,与理论值较为接近,表明采用响应面法分析优化无子刺梨黄酮超声辅助提取工艺的方法可行。以Vc为阳性对照,采用DPPH和ABTS自由基清除活性测试方法对该工艺制备所得无子刺梨总黄酮的抗氧化活性进行了测定。无子刺梨总黄酮对DPPH和ABTS自由基的半清除浓度(SC₅₀)分别为6.75 ± 0.54 μg/mL和11.43 ± 0.17 μg/mL,表明其具有明显优于Vc的抗氧化活性。

关键词:无子刺梨;黄酮;超声辅助提取;响应面法;抗氧化活性

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.S.032

Optimization of Ultrasound-assisted Extraction and Antioxidant Activities of Total Flavonoids from the Fruits of *Rosa sterilis*

DAN Han-long^{1,2}, LI Na¹, LUO Xu-lu¹, LIU Yun¹, ZHANG De-guo², KAN Huan¹, LI Yong-he², ZHAO Ping^{1*}¹Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Use in the Southwest Mountains of China,Ministry of Education, Southwest Forestry University; ²Yunnan Academy of

Biodiversity, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

Abstract: The ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from the fruits of *Rosa sterilis* was carried out. The effects of extraction time, material-liquid ratio, ethanol concentration and extraction number on the extraction rate of total flavonoids were investigated by single factor experiment, and the extraction process were optimized using response surface methodology. The results showed that the optimal extraction conditions were 70 min of extraction time, 1:22.39 of material-liquid ratio, 52.2% of ethanol concentration, and 4 times of extraction number. Under this optimal condition, the theoretic extraction rate of total flavonoids could reach to 0.828%. According to the actual experiment, the optimum parameters were modified as: extraction time 70 min, material-liquid ratio 1:23, ethanol concentration 52% and extraction number 4 times, and the actual extraction rate of total flavonoids was 0.817% that is close to the theoretic value. The results showed that the response surface method to optimize the ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from the fruits of *R. sterilis* is feasible. Using Vc as a positive control, the antioxidant activities of total flavonoids obtained from above optimal condition were determined by DPPH and ABTS free radical scavenging assays. The SC₅₀ values of total flavonoids against DPPH and ABTS free radicals were 6.75 ± 0.54 μg/mL and 11.43 ± 0.17 μg/mL respectively indicated that the total flavonoids from *R. sterilis* possesses a significant antioxidant activity than Vc.

Key words: *Rosa sterilis*; flavonoids; ultrasonic-assisted extraction; response surface methodology; antioxidant activity

贵州省特有种无子刺梨(*Rosa sterilis* S. D. Shi)

与刺梨(*R. roxburghii* Tratt)同为蔷薇科(Rosaceae)蔷薇属(*Rosa*)多年生攀援小灌木,别名搭钩刺梨、光枝无籽刺梨和安顺金刺梨等^[1-3]。其果实口感清香爽口,酸甜适度,富含Vc及多种矿物营养元素,被誉为“新山珍”,鲜食加工均可^[4]。近年来,有关

收稿日期:2016-01-20 接受日期:2016-12-29

基金项目:云南省科技厅项目(2008PY021)

* 通信作者 Tel:86-871-63863022; E-mail: hypzhao@yahoo.com

刺梨的化学成分和生物活性的研究报道较多,研究表明黄酮类化合物是刺梨的主要有效成分,具有提高免疫功能^[5]、延缓衰老^[6]、抗动脉粥样硬化^[7]、抗氧化^[8]、预防癌症^[9]、降血脂^[10]等生理活性。对无子刺梨研究主要集中在其形态学与分类^[2,3]、繁殖^[11-13]、亲缘关系^[14,15]、光合生理^[16]、果实营养成分^[4]及挥发性成分^[17,18]等方面,而对无子刺梨黄酮等有效成分的研究尚未见报道。

近年来,国内学者采用单因素试验^[19]或正交试验法^[20],或结合微波辅助提取法^[21]和超声辅助提取法^[22,23]对刺梨黄酮提取工艺开展了一些研究,研究发现超声辅助提取法的提取效率明显优于其他传统提取方法。与传统的正交试验法相比较,响应面法作为一种工艺条件优化的有效设计分析方法,在食品、农业、医药和生物等领域得到了广泛应用^[24]。本研究以无子刺梨果实为原料,采用超声辅助法提取无子刺梨总黄酮,在单因素试验基础上选取提取时间、液料比、乙醇体积分数和提取次数4个因素进行中心组合设计,采用响应面法优化无子刺梨黄酮的超声辅助提取工艺。并采用DPPH和ABTS自由基清除活性测试方法对该工艺制备所得无子刺梨总黄酮的抗氧化活性进行评价,以期对无子刺梨黄酮的进一步开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

材料和试剂:无子刺梨新鲜果实于2014年10月采自贵州省兴仁县回龙镇狮子村,由贵州绿荫河农业发展有限公司提供,经西南林业大学李永和教授鉴定为蔷薇科蔷薇属无子刺梨果实。果实洗净自然晾干后置于50℃烘箱烘干至恒重,粉碎过40目筛后备用。芦丁对照品购自中国药品生物制品检定所,1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)和2,2'-连氮-二(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)购自Sigma公司,亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、乙醇、甲醇和丙酮均为分析纯,水为重蒸馏水。

仪器:CP224C电子天平(奥豪斯仪器有限公司);UV-2500紫外分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司);四两装高速中药粉碎机(浙江瑞安市永历制药机械有限公司);SG250HDT超声波仪(上海冠特超声仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线绘制

参考梁倩等^[25]的方法,精密称取芦丁对照品5.000 mg,用60%乙醇配成0.2 mg/mL的标准溶液。分别取0,1,2,3,4,5 mL标准溶液于10 mL容量瓶中,然后依次加入1 mL的5%亚硝酸钠溶液,6 min后,加入1 mL的10%硝酸铝溶液,6 min后再加入3 mL的4%氢氧化钠溶液,最后定容至10 mL,摇匀反应15 min,以空白试管中溶液作为空白对照,测510 nm处的吸光度值,重复三次。计算回归方程为 $y = 10.174x - 0.0214$ ($R^2 = 0.9996$),线性范围9.5 ~ 47.5 $\mu\text{g/mL}$,线性关系良好。

1.2.2 总黄酮含量测定及其提取率计算

精密称取1.000 g无子刺梨果实粉末,在不同条件下进行超声提取,过滤,滤液定容于100 mL容量瓶中,取0.5 mL溶液于10 mL容量瓶,之后操作按1.2.1所示方法进行操作,将测得的样品吸光度值带入上述回归方程,并结合稀释倍数求得提取液中的总黄酮质量(g),按下式计算样品在不同提取条件下的总黄酮提取率:黄酮提取率/% = [黄酮含量(g)/无子刺梨质量(g)] × 100%。

1.2.3 提取溶剂选择

精密称取1.000 g无子刺梨果实粉末,以料液比1:20分别加入体积分数为20%、40%、60%、80%和100%的甲醇、乙醇和丙酮超声提取1次,时间50 min,所得各提取液按1.2.2方法测定并计算总黄酮提取率,以确定最佳提取溶剂。

1.2.4 单因素试验

精密称取1.000 g无子刺梨果实粉末,利用超声波辅助乙醇提取法,分别考察不同超声提取时间(30、40、50、60、70 min)、料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30)、提取次数(1、2、3、4、5次)和乙醇体积分数(30%、40%、50%、60%、70%)对总黄酮提取率的影响,每组试验重复三次,以确定各因素的恰当范围。

1.2.5 响应面曲线试验

根据单因素试验结果,选取提取时间、液料比、乙醇体积分数、提取次数4个因素,利用Design-Expert V8.0.6软件,按照中心组合试验设计原理,以总黄酮提取率为响应值,设计4因素5水平共30个试验点的响应面分析试验,每组重复三次。使用上述软件进行数据分析,求出数学模型,以确定无子刺梨总黄酮的最佳提取工艺条件。

1.2.6 验证试验

根据实际试验操作需要,对 1.2.5 响应面实验所得的最佳理论提取工艺条件进行适当修正后,精密称取 1.000 g 无子刺梨果实粉末进行三次重复验证试验,通过实际所得的总黄酮提取率与回归方程优化所得的理论预测值进行比较,以验证响应面法所得的试验参数是否准确可靠。

1.2.7 抗氧化活性测定

参照 DPPH 自由基清除活性测试方法^[26],用 70% 的乙醇配制成浓度为 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液备用。按上述优化条件提取所得的无子刺梨总黄酮用 70% 乙醇溶解配制成不同浓度的溶液,并各取 2 mL 不同质量浓度的溶液于棕色小瓶中,分别加入 0.2 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液 2 mL,在避光条件下混匀,反应 20 min 后,在波长 517 nm 处测定吸光度。以 70% 乙醇调零,用 70% 乙醇 2 mL 加入 0.2 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液 2 mL 作为空白对照。按如下公式计算供试样品的 DPPH 自由基清除率。DPPH 自由基清除率(%) = $[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$ 。式中: A_1 为供试样品溶液加入 DPPH 自由基溶液反应后的吸光度; A_0 为空白对照溶液的吸光度。根据供试样品的 DPPH 自由基清除曲线,计算它们的 SC_{50} 值(清除率为 50% 时所需供试样品的质量浓度)。以 Vc 作为阳性对照,测定时每个样品进行 3 次平行重复实验。

参照 ABTS 自由基清除活性测试方法^[27],称取 38.5 mg 的 ABTS,6.6 mg 的过硫酸钾用 70% 乙醇溶解定容于 10 mL 的棕色容量瓶,避光反应 12 ~ 16 h 之后,用 70% 乙醇稀释,使其在 734 nm 处的吸光度值为 0.70 ± 0.02 ,即得 ABTS 工作液。无子刺梨总黄酮用 70% 乙醇溶解配制成不同浓度的溶液,取 0.1 mL 不同质量浓度的溶液于棕色小瓶中,分别加入 ABTS⁺ 工作液 3.9 mL,在避光条件下混匀,反应 6 min 后,在波长 734 nm 处测定吸光度。以 70% 乙醇调零,用 70% 乙醇 0.1 mL 加入 ABTS 工作液 3.9 mL 作为空白对照。按如下公式计算供试样品的 ABTS 自由基清除率。ABTS 自由基清除率(%) = $[(AX_0 - AX) / AX_0] \times 100$ 。式中:AX 为供试样品溶液加入 ABTS 工作液反应后的吸光度; AX_0 为空白对照溶液的吸光度。根据供试样品的 ABTS 自由基清除曲线,计算它们的 SC_{50} 值(清除率为 50% 时所需供试样品的质量浓度)。以 Vc 作为阳性对照,测定时每个样品进行 3 次平行重复实验。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂选择

不同体积分数甲醇、乙醇和丙酮对无子刺梨总黄酮提取率的影响结果见图 1。由图 1 可知,体积分数较低的丙酮提取所得的总黄酮提取率略高于相同体积分数乙醇和甲醇所得的提取率,体积分数在 60% 时,三种溶剂的提取率几乎相同,80% 的丙酮和乙醇所得的提取率较为接近,但略低于甲醇。综合考虑溶剂成本和毒性等因素,选择 60% 乙醇作为本实验的提取溶剂。

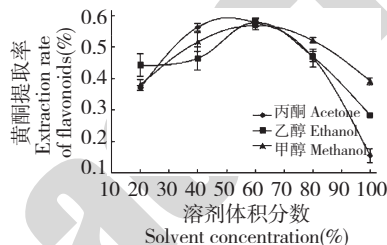


图 1 不同提取溶剂对无子刺梨总黄酮提取率的影响

Fig. 1 Effects of different extraction agents on the extraction rate of total flavonoids from *R. sterilis*

2.2 单因素试验结果

不同提取时间、料液比、乙醇体积分数和提取次数等因素对无子刺梨黄酮提取率的影响结果见图 2 所示。

由图 2a 可知,提取时间在 30 ~ 60 min 内,无子刺梨总黄酮的提取率随着时间的增加而快速上升,并在提取时间为 60 min 时,提取率达到最高,之后提取率随提取时间的延长而缓慢上升并趋于平衡。因此,确定最佳的超声提取时间为 60 min。由图 2b 可知,料液比在 1:10 ~ 1:20 区间内,总黄酮提取率随料液比的增加而上升。当料液比在 1:20 时,黄酮提取率达到最高,因此确定料液比为 1:20。由图 2c 可知,随着乙醇体积分数的增加,总黄酮提取率呈先升后降的趋势,当乙醇体积分数达到 50% 时,提取率达到最高,因此选择乙醇体积分数为 50%。由图 2d 可知,提取次数在 1 ~ 3 次之间,总黄酮提取率随提取次数的增加而显著上升,提取次数超过 3 次后,黄酮提取率的上升幅度趋于相对平缓。考虑到节约成本等因素,选择提取次数为 3 次。

2.3 响应面分析试验

2.3.1 响应曲面试验设计及结果

在单因素试验结果基础上,根据中心组合试验

设计原理,以无子刺梨总黄酮提取率为响应值,乙醇体积分数(A)、料液比(B)、超声时间(C)和提取次

数(D)4 因素为自变量,每个因素取 5 个水平以(-2,-1,0,1,2)为编码,见表 1 所示。中心组合试验设

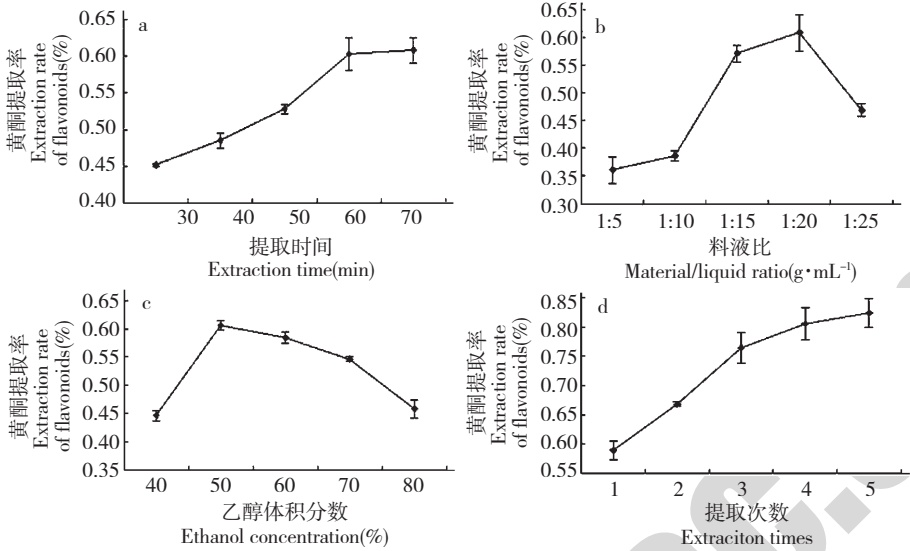


图 2 提取时间(a)、料液比(b)、乙醇体积分数(c)和提取次数(d)对无子刺梨总黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effects of extraction time (a), material-liquid ratio (b), concentration of ethanol (c) and extraction times (d) on the ex- traction rate of total flavonoids from *R. sterilis*

计方案及结果见表 2 所示,本次试验共 30 个试验点,6 个中心点,总计 25 个分析因子,各个试验点以随机顺序进行,每个点重复试验 3 次,取平均值作为结果。

表 1 响应曲面条件优化试验因素水平表

Table 1 Factors and levels in the central composite design

水平 Level	A 提取时间 Extraction time (min)	B 料液比 Material-liquid ratio (g/mL)	C 乙醇体积分数 Ethanol concentration (%)	D 提取次数 Extraction number
2	80	1: 30	70	5
1	70	1: 25	60	4
0	60	1: 20	50	3
-1	50	1: 15	40	2
-2	40	1: 10	30	1

2.3.2 回归模型的建立及显著性检测

经回归拟合后,回归模型方差分析结果见表 3 所示,实验因子对响应值影响的回归方程为:提取率(%) = -0.41587 + 6.35 x 10⁻³A + 0.042317B + 0.012883C + 0.035167D - 2.375 x 10⁻⁵AB - 8.0625 x

10⁻⁵AC + 6.81125 x 10⁻⁴AD - 2.2125 x 10⁻⁴BC + 2.8625 x 10⁻³BD + 3.1875 x 10⁻⁴CD - 9.13542 x 10⁻⁵A² - 1.42042 x 10⁻³B² - 2.05104 x 10⁻⁴C² - 8.76042 x 10⁻³D²。

表 2 中心组合试验方案及结果

Table 2 Central composite design matrix and experimental results

编号 No.	A 提取时间 Extraction time (min)	B 料液比 Material-liquid ratio (g/mL)	C 乙醇体积分数 Ethanol concentration (%)	D 提取次数 Extraction number	提取率 Extraction ratio (%)
1	50	1: 15	40	2	0.618
2	70	1: 15	40	2	0.625

编号 No.	A 提取时间 Extraction time (min)	B 料液比 Material-liquid ratio (g/mL)	C 乙醇体积分数 Ethanol concentration (%)	D 提取次数 Extraction number	提取率 Extraction ratio (%)
3	50	1:25	40	2	0.595
4	70	1:25	40	2	0.572
5	50	1:15	60	2	0.613
6	70	1:15	60	2	0.635
7	50	1:25	60	2	0.613
8	70	1:25	60	2	0.623
9	50	1:15	40	4	0.736
10	70	1:15	40	4	0.721
11	50	1:25	40	4	0.717
12	70	1:25	40	4	0.754
13	50	1:15	60	4	0.673
14	70	1:15	60	4	0.739
15	50	1:25	60	4	0.751
16	70	1:25	60	4	0.788
17	40	1:20	50	3	0.706
18	80	1:20	50	3	0.754
19	60	1:10	50	3	0.526
20	60	1:30	50	3	0.723
21	60	1:20	30	3	0.668
22	60	1:20	70	3	0.701
23	60	1:20	50	1	0.589
24	60	1:20	50	5	0.874
25	60	1:20	50	3	0.776
26	60	1:20	50	3	0.777
27	60	1:20	50	3	0.754
28	60	1:20	50	3	0.721
29	60	1:20	50	3	0.743
30	60	1:20	50	3	0.751

由表3 方差分析结果可知,回归模型的回归效果极显著 ($P < 0.0001$),线性系数较好 ($R^2 = 0.9026$),且失拟项 P 值为 0.0946 (>0.05),说明失拟项相对于绝对误差不显著,回归方程对试验拟合情况较好,表明建立的数学模型可以较好地描述试验结果,可用于分析和预测响应值。同时,表3 中的

P 值大小可判断各因素对响应值的影响,结果表明提取时间(A)、料液比(B)、乙醇体积分数(C)、提取次数(D)4 个因素对响应值的影响大小顺序为 $D > B > A > C$ 。同时, B^2 、 C^2 的 P 值均在 0.01 以下,表明料液比和乙醇体积分数对总黄酮提取率的影响高度显著。

表 3 回归模型方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis of regression model

方差来源 Source	总和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
Model	0.16	14	0.012	9.93	<0.0001	* * *
A	2.340×10^{-3}	1	2.340×10^{-3}	2.02	0.1759	
B	8.325×10^{-3}	1	8.325×10^{-3}	7.18	0.0172	*

方差来源 Source	总和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
C	1.107×10^{-3}	1	1.107×10^{-3}	0.95	0.3441	
D	0.100	1	0.10	86.86	<0.0001	* * *
AB	2.256×10^{-5}	1	2.256×10^{-5}	0.019	0.8909	
AC	1.040×10^{-3}	1	1.040×10^{-3}	0.90	0.3587	
AD	7.426×10^{-4}	1	7.426×10^{-4}	0.64	0.4361	
BC	1.958×10^{-3}	1	1.958×10^{-3}	1.69	0.2135	
BD	3.278×10^{-3}	1	3.278×10^{-3}	2.83	0.1135	
CD	1.626×10^{-4}	1	1.626×10^{-4}	0.14	0.7134	
A ²	2.289×10^{-3}	1	2.289×10^{-3}	1.97	0.1804	
B ²	0.035	1	0.035	29.82	<0.0001	* * *
C ²	0.012	1	0.012	9.95	0.0066	* *
D ²	2.105×10^{-3}	1	2.105×10^{-3}	1.81	0.1979	
残差	0.017	15	1.160×10^{-3}			
失拟项	0.015	10	1.517×10^{-3}	3.40	0.0946	
纯误差	2.231×10^{-3}	5	4.463×10^{-3}			
总误差	0.1800	29				

注: * * * $P < 0.001$; * * $P < 0.01$; * $P < 0.05$ 。Note: * * * $P < 0.001$; * * $P < 0.01$; * $P < 0.05$ 。

2.3.3 双因素间的交互作用

利用 Design-expert V8.0.6 统计软件,对表 3 中响应面试验中无子刺梨总黄酮提取率进行二次多元回归拟合,获得二次回归方程的响应面 3D 图(图 3)。由图 3 响应面 3D 图剖面曲线的陡峭程度结合表 3 中的 P 值大小,可反映两因素交互作用对无子刺梨总黄酮提取率的影响。由表 3 可知 $P_{AB} > P_{CD} > P_{AD} > P_{AC} > P_{BC} > P_{BD} > 0.05$,说明各两因素二者交互作用均不明显。比较各两因素的 P 值大小,可以看出提取时间与料液比的交互作用对总黄酮提取率的影响最小,而料液比与提取次数的交互作用对总黄酮提取率的影响最大。

由图 3a 和图 3b 可知,无子刺梨总黄酮提取率随着提取时间的增加变化不大,随着料液比或乙醇体积分数的增加对黄酮提取率的增加也较缓慢。由图 3c 可看出,总黄酮提取率随着提取时间的增大变化缓慢,而随提取次数的增加上升明显。由图 3d 可知,总黄酮提取率随着液料比的增加先上升后趋于平缓,而随着乙醇体积分数的增加先升后降。由图 3e 可看出,总黄酮提取率随着料液比增加先上升后趋于平稳,而随着提取次数的增加上升较快。由图 3f 可知,乙醇体积分数不变时,总黄酮提取率随着提取次数的增加变化较大,而当提取次数不变时,总黄酮提取率随着乙醇体积分数的增加呈现先升后降

趋势。

2.3.4 最佳工艺条件的确定及验证

通过 Design-Expert V8.0.6 软件对回归方程的优化计算,得到超声辅助提取无子刺梨总黄酮的最佳工艺条件为:提取时间 70 min、料液比 1:22.39、乙醇体积分数 52.23%、提取次数 4 次。在此优化条件下,无子刺梨总黄酮提取率的理论预测值为 0.828%。

为检验响应面法优化无子刺梨黄酮提取工艺的可靠性,根据实际试验情况,将上述优化条件修正为提取时间 70 min、料液比 1:23、乙醇体积分数 52%、提取次数 4 次,在此条件下提取无子刺梨总黄酮,并做三组重复试验,得到平均实际提取率为 0.817%,与理论预测值较为接近(仅相差 0.011%),表明运用响应面分析法优化得到的模型参数准确可靠。

2.4 抗氧化活性结果

无子刺梨总黄酮对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的清除率测定结果见图 4 所示。从图中可知,无子刺梨总黄酮对 DPPH 自由基(图 4a)和 ABTS 自由基(图 4b)的最大清除率分别达到 78.21% 和 90.06%,它们的半清除浓度(SC_{50})分别为 $6.75 \pm 0.54 \mu\text{g/mL}$ 和 $11.43 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$,明显低于阳性对照 Vc 对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的半清除浓度($SC_{50} = 15.96 \pm 0.28 \mu\text{g/mL}$ 和 $81.61 \pm$

0.63 $\mu\text{g/mL}$),表明无子刺梨总黄酮具有明显优于

Vc 的 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基清除能力。

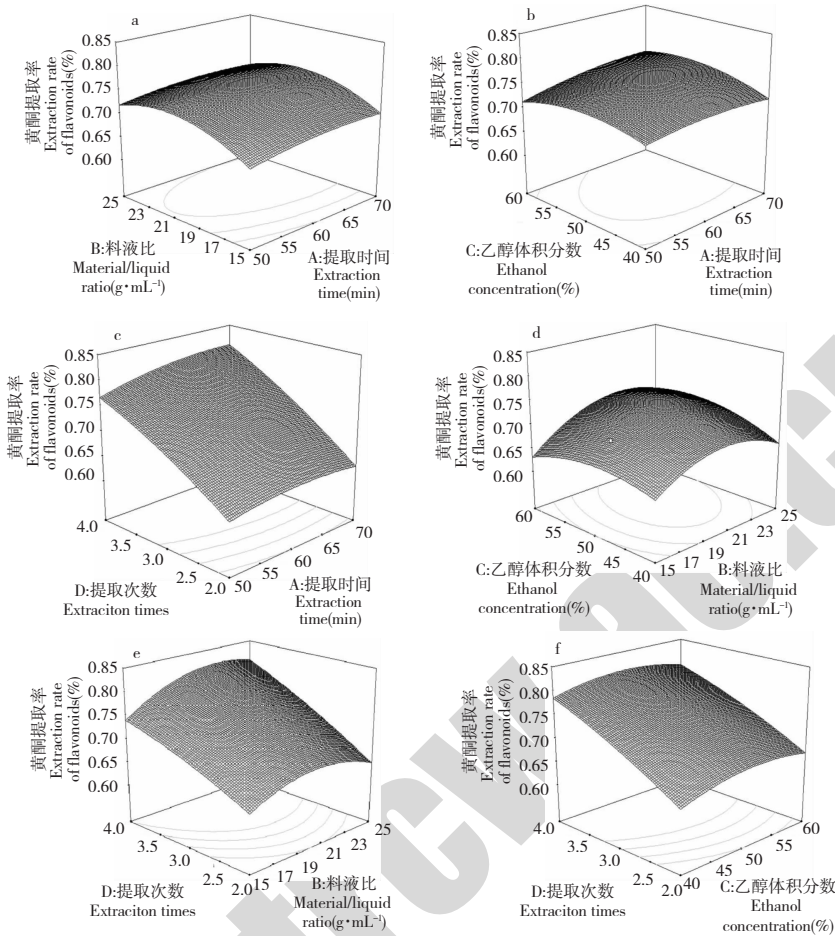


图3 无子刺梨总黄酮提取率的响应面立体分析图和等高线图

Fig. 3 Response surface and contour for the interactive effects of different factors on extraction rate of total flavonoids from *R. sterilis*

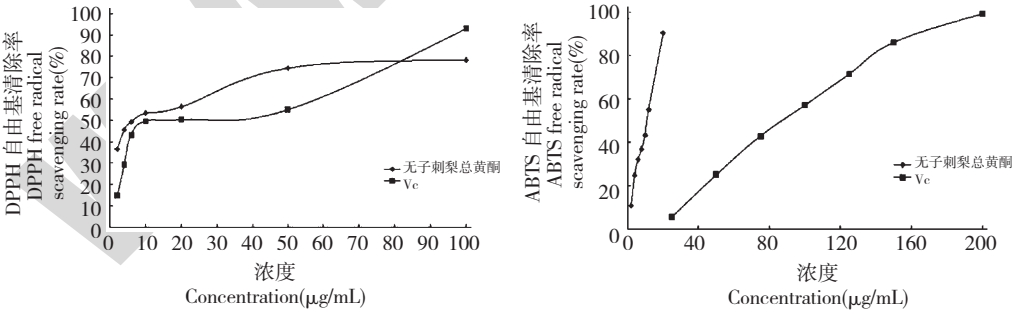


图4 无子刺梨总黄酮的 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除率

Fig. 4 DPPH and ABTS free radical Scavenging rates of total flavonoids from *R. sterilis*

3 结论

本研究通过单因素试验和响应面分析,确定了影响超声辅助提取无子刺梨总黄酮4个因素的主次关系为:提取次数>提取时间>乙醇浓度>料液比,

其最佳的理论工艺条件为:提取时间 70 min、料液比 1:22.56、乙醇体积分数 52.23%、提取次数 4 次。在此优化条件下,无子刺梨总黄酮提取率的理论预测值可达到 0.828%。根据实际实验操作需要,将工艺条件修正为:提取时间 70 min、料液比 1:23、乙

醇体积分数 52%、提取次数 4 次。经验证在此条件下无子刺梨总黄酮的实际提取率为 0.817%,与理论预测值较为接近,表明采用响应面法分析优化无子刺梨总黄酮超声辅助提取工艺的方法可行。DP-PH 自由基和 ABTS 自由基的清除活性测定结果表明无子刺梨总黄酮具有明显优于 Vc 的抗氧化活性,为其进一步的开发利用提供了参考。

参考文献

- Wei JF (韦景枫), Cheng YZ (程友忠), Meng XJ (蒙先举), et al. Observation of the biological characteristics of *Rosa sterilis*. *Forest By-Product Special China* (中国林副特产), 2012, 6: 27-29.
- Shi SD (时圣德). New taxa of *Rosa* in Guizhou. *Guizhou Sci* (贵州科学), 1985, (1): 8-9.
- Deng CY (邓朝义), Fang SN (方仕能), Huang Y (黄勇). Notes on *Rosa sterilis* S. D. Shi of endemism in Guizhou of China. *Seed* (种子), 2009, 28: 62-68.
- Wu HE (吴洪娥), Jin P (金平), Zhou Y (周艳), et al. Characteristics and main nutrition components of *Rosa roxburghii* and *Rosa sterilis* fruits. *Guizhou Agric Sci* (贵州农业科学), 2014, 42: 221-223.
- Shi YC (石玉成), Liang GY (梁光义), Ni HM (倪红梅). Lymphocyte proliferation effect of the main components from *Rosa roxburghii*. *J Guiyang College Trad Chin Med* (贵阳中医学院学报), 1991, (2): 60-64.
- Zheng ZM (郑子敏), Jin L (晋玲), Qin ZJ (覃志坚), et al. Experimental study on the anti-aging effect of *Rosa roxburghii* juice. *J Youjiang Med College For Nation* (右江民族医学院学报), 1989, 11: 1-3.
- Hu WY (胡文尧), Bai Y (白焰). Anti-Atherosclerotic Effects of *Rosa roxburghii* Tratt. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1994, (9): 529-532.
- Zhang C, Liu X, Qiang H, et al. Inhibitory effects of *Rosa roxburghii* Tratt juice on in vitro oxidative modification of low density lipoprotein and on the macrophage growth and cellular cholesteryl ester accumulation induced by oxidized low density lipoprotein. *Clin Chim Acta*, 2001, 313: 37-43.
- Lin DX (林东昕), Song PJ (宋圃菊). Cancer prevention of Cili I. Inhibitory effect of Cili (*Rosa roxburghii*) juice on endogenous formation of N-nitrosoproline in rats. *J Peking Univ, Health Sci* (北京医科大学学报), 1987, 19: 231-233.
- Wu LF (吴立夫), Yang LD (杨履端), He ZF (何照范), et al. Hypolipidemic effect of Cili juice on experimental hyperlipemia in rabbits. *J Mountain Agric Biol* (山地农业生物学报), 1992, (1): 89-93.
- Peng HC (彭华昌), Wang BZ (王秉正), Lai SB (赖上斌), et al. A preliminary study for *Rosa sterilis* raising seedlings by cutting. *Guizhou Forestry Sci Technol* (贵州林业科技), 1989, (4): 98-99.
- Tang JR (唐军荣), Zheng Y (郑元), Zhang YW (张亚威), et al. Study on in vitro Propagation of *Rosa sterilis*. *J Yunnan Agric Univ* (云南农业大学学报), 2007, 20: 24-25.
- Wei JF (韦景枫), Zhong M (钟漫), Cheng YZ (程友忠), et al. Transplanting of tube seedlings of *Rosa sterilis* and its influencing factors. *Forest By-Product and Speciality in China* (中国林副特产), 2010, (4): 30-31.
- Wen XP, Pang XM, Deng XX. Characterization of genetic relationships of *Rosa roxburghii* Tratt and its relatives using morphological traits, RAPD and AFLP markers. *J Horticult Sci Biotechnol*, 2004, 79: 189-196.
- Wen XP (文晓鹏), Pang XM (庞晓明), Deng XX (邓秀新). A comparative study of RAPD and morphological approaches to characterize relationships of *Rosa roxburghii* Tratt. and its relatives. *Acta Horticult Sinica* (园艺学报), 2003, 30: 204-206.
- Zheng Y (郑元), Wu YY (吴月圆), Xin PY (辛培尧), et al. Relationship between photosynthetic physiology diurnal dynamics of *Rosa sterilis* and environmental factors. *J West China Forestry Sci* (西部林业科学), 2013, 42: 21-27.
- Fu HX (付慧晓), Wang DP (王道平), Huang LR (黄丽荣), et al. Analysis of the volatile aroma compounds of *Rosa roxburghii* Tratt and *Rosa sterilis*. *Fine Chem* (精细化工), 2012, 29: 875-878.
- Jiang YX (姜永新), Gao J (高健), Zhao P (赵平), et al. GC-MS Analysis of volatile components from the fresh fruits of *Rosa sterilis*. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2013, 34: 91-94.
- Liu C (刘畅), Wang QH (王秋红), Fang B (方波), et al. Study on extraction of flavonoids from *Rosa roxburghii* Tratt. *Food Ind* (食品工业), 2010, 1: 52-54.
- Zhang XL (张晓玲), Qu WQ (瞿伟菁), Sun B (孙斌), et al. Extraction and purification process of total flavonoids from *Rosa roxburghii* Tratt. *Chin Trad Pat Med* (中成药), 2005, 27: 1089-1091.
- Wang ZW (王振伟), Hu XB (胡晓冰), Wang K (王恺). Optimization of microwave-assisted extraction process parameters of total flavonoids from *Rosa roxburghii* Tratt. *Chin J Spectroscopy Lab* (光谱实验室), 2012, 29: 1527-1530.
- He WP (何伟平), Liu ZN (刘振南), Chen GC (陈桂朝), et al. Extraction process of flavonoids of *Rosa roxburghii* by ultrasonication. *Guangxi J Light Ind* (广西轻工业), 2011, (10): 6-7.