

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.90081

艾草黄酮提取工艺优化及抗氧化活性研究

Optimization of extraction process and antioxidant activity of flavonoids from *Artemisia argyi*

王 娜^{1,2,3} 张昊宇^{1,2} 宁灿灿^{1,2}WANG Na^{1,2,3} ZHANG Hao-yu^{1,2} NING Can-can^{1,2}范允涛⁴ 王林青^{2,5} 余秋颖^{1,2,3}FAN Yun-tao⁴ WANG Lin-qing^{2,5} YU Qiu-ying^{1,2,3}

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南 郑州 450002; 2. 郑州市营养与健康食品重点实验室, 河南 郑州 450002; 3. 农业农村部大宗粮食加工重点实验室, 河南 郑州 450002; 4. 北京丰森源林业科技有限公司, 北京 102100; 5. 郑州师范学院分子生物学重点实验室, 河南 郑州 450044)

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China; 2. Zhengzhou Nutrition and Health Food Laboratory, Zhengzhou, Henan 450002, China; 3. Key Laboratory of Bulk Grain Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou, Henan 450002, China; 4. Fengsenyuan Forestry Technology Co., Ltd., Beijing 102100, China; 5. Key Laboratory of Molecular Biology, Zhengzhou Normal University, Zhengzhou, Henan 450044, China)

摘要:目的:优化艾草黄酮提取工艺,并评价艾草黄酮抗氧化活性。方法:以艾草总黄酮得率、DPPH 自由基清除率、OH 自由基清除率为指标,确定艾草黄酮的提取方法;在单因素试验和 Plackett-Burman 试验基础上,通过响应面试验优化了超声—微波辅助水提法提取艾草黄酮的工艺条件。结果:最佳提取工艺条件为 60 ℃ 水浴 40 min, 340 W 超声 27 min, 600 W 微波 120 s, 料液比 1:30 (g/mL);该条件下艾草总黄酮得率可达 87.93 mg/g, DPPH 自由基清除率为 80.84%, OH 自由基清除率为 77.92%。结论:该提取方法艾草黄酮的得率显著优于传统煎煮和水浴加热提取法 ($P < 0.05$), 且具有较好的抗氧化活性。

关键词:超声波辅助水提法;艾草黄酮;抗氧化活性

Abstract; Objective: To optimize the extraction process of flavonoids from *Artemisia argyi* and evaluate the antioxidant activity in vitro. **Methods:** The ultrasonic-microwave combined water extraction method of *Artemisia flavonoids* was determined,

and the extraction process was studied with the yield of total flavonoid, DPPH radical scavenging rate and $\cdot\text{OH}$ radical scavenging rate of *Artemisia argyi*. Based on the single factor experiment, the factors with greater influence were screened through Plackett-Burman design, then optimized extraction process by response surface test. **Results:** The best extraction process was ultrasonic power 340 W, ultrasonic time 27 min, microwave power 600 W, microwave time 120 s, solid-liquid ratio 1:30 (g/mL). Under these conditions, the yield of total flavonoids can reach 87.93 mg/g, DPPH radical scavenging rate is 80.84%, $\cdot\text{OH}$ radical scavenging rate is 77.92%. **Conclusion:** The yield of flavonoids by this method is significantly better than the traditional boiling and water bath extraction ($P < 0.05$), and the antioxidant activity of *Artemisia argyi* is better.

Keywords: ultrasonic-microwave combined water extraction; flavonoid of *Artemisia argyi*; antioxidant activity

基金项目:“十三五”国家重点研发专项(编号:2019YFC1605700);河南省科技攻关项目(编号:212102110324)

作者简介:王娜,女,河南农业大学副教授,博士。

通信作者:余秋颖(1987—),女,河南农业大学讲师,博士。

E-mail: 810960781@qq.com

收稿日期:2021-11-16

艾草(*Artemisia argyi*),又称艾蒿、香艾、冰台等,为菊科多年生草本植物^[1],在中国已有 2 000 余年药食两用历史。艾草主要化学成分包括挥发油类、黄酮类、三萜类、多糖以及微量元素^[2-4]等。黄酮类物质是艾草主要成分,天然植物中黄酮类物质抗炎特性目前已有报道,黄酮类物质作为有效的抗氧化剂,能够清除机体内的各类自由基并抑制其形成^[5-7]。

常见的艾草总黄酮传统提取工艺包括加压溶剂法、浸

提法、索氏抽提法等,但是艾草总黄酮得率相对较低(提取率 $\leq 6\%$),且提取时间较长^[8-10]。近年来利用微波、超声波及超声—微波协同提取艾草活性物质的研究已有报道^[11-13],但多数研究仅关注艾草总黄酮得率,并未同时考察艾草黄酮抗氧化活性。研究拟以艾草总黄酮得率和抗氧化活性为考察指标,优化艾草黄酮的提取工艺条件以期艾草黄酮进一步的应用研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

艾草:品种宛艾(一年贮存期内),产地北京延庆,水分含量 25%;

芦丁标准品:纯度 $\geq 95.0\%$,北京索莱宝科技有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)标准品:纯度 $\geq 97.0\%$,福州飞净生物科技有限公司;

无水乙醇:分析纯,天津富宇精细化工有限公司;

亚硝酸钠、硝酸铝、硫酸亚铁、水杨酸:分析纯,天津市大茂化学试剂厂;

30%过氧化氢溶液:分析纯,烟台市双双化工有限公司。

1.2 仪器与设备

双光束紫外可见分光光度计:TU-1901 型,北京普析通用仪器有限责任公司;

微孔板分光光度计:BioTek/epoc 型,美国 BioTek instruments 公司;

微波光波超声波萃取仪:Sientz-IIDM 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

高速多功能粉碎机:HC-200T 型,武义海纳电器有限公司;

台式低速离心机:TD-5A 型,湖南赫西离心机仪器有限公司;

电子分析天平:FA1204 型,宁波力辰科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 芦丁标准曲线绘制 取芦丁标准品 10 mg,置于 50 mL 容量瓶中,使用 60%乙醇定容得到 0.2 mg/mL 的芦丁标准品溶液,分别取 0.0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL 芦丁标准品溶液于 10 mL 具塞试管中,按照亚硝酸钠—硝酸铝—氢氧化钠法显色后使用 60%乙醇定容至 10 mL,参照文献^[14]进行线性关系考察,以芦丁浓度(c)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程: $A = 12.666c + 0.0095$, $R^2 = 0.9992$,在芦丁标准品浓度 0.00~0.05 mg/mL 范围内线性关系良好。

1.3.2 艾草黄酮提取方法选择

(1) 超声—微波辅助水提:参考王琴等^[15]的方法,稍作修改。干艾草 10.0 g,粉碎 30 s,按 $m_{\text{干艾草}} : V_{\text{水}} = 1 : 30$ (g/mL)加去离子水,混匀,60 °C 水浴处理 40 min 后将料液置于微波光波超声波萃取仪中,设置超声功率

460 W、超声时间 30 min、微波功率 600 W、微波时间 120 s,提取后将料液过滤,5 000 r/min 离心 10 min 取上清液,得到艾草黄酮提取液。

(2) 超声—微波辅助醇提:干艾草 10.0 g,粉碎 30 s,按 $m_{\text{干艾草}} : V_{\text{乙醇}} = 1 : 30$ (g/mL)加入体积分数 60%的乙醇溶液,混匀,将样品置于微波光波超声波萃取仪中,设置超声功率 460 W、超声时间 30 min、微波功率 600 W、微波时间 120 s,提取后将料液过滤,5 000 r/min 离心 10 min 取上清液,得到艾草黄酮提取液^[13]。

(3) 传统煎煮:参考朱瑜等^[16]的方法,稍作修改。干艾草 10.0 g,粉碎 30 s,按 $m_{\text{干艾草}} : V_{\text{水}} = 1 : 30$ (g/mL)加去离子水,混匀,将料液煮沸 10 min 后过滤,滤渣加入相同比例的水进行二次煎煮,合并滤液,5 000 r/min 离心 10 min,得到艾草黄酮提取液。

(4) 水浴加热提取:参考郑云展等^[17]的方法,稍作修改。干艾草 10.0 g,粉碎 30 s,按 $m_{\text{干艾草}} : V_{\text{水}} = 1 : 30$ (g/mL)加去离子水,混匀,95 °C 水浴处理 120 min 后将料液过滤,5 000 r/min 离心 10 min,得到艾草黄酮提取液。

1.3.3 单因素试验设计 由于试验所用微波光波超声波萃取仪处于恒温模式的仪器无法恒定微波功率和工作时间,同时恒温模式控温不精准。故提取过程中不对温度进行控制,艾草总黄酮提取液在提取结束后的温度约为 70~75 °C。

(1) 超声时间:取样品 10.0 g,固定超声功率 340 W,微波时间 120 s,微波功率 600 W,料液比 1 : 30 (g/mL),考察超声时间(20,25,30,35,40 min)对艾草总黄酮得率及抗氧化活性的影响。

(2) 超声功率:取样品 10.0 g,固定超声时间 30 min,微波时间 120 s,微波功率 600 W,料液比 1 : 30 (g/mL),考察超声功率(220,280,340,400,460 W)对艾草总黄酮得率及抗氧化活性的影响。

(3) 微波时间:取样品 10.0 g,固定超声时间 30 min,超声功率 340 W,微波功率 600 W,料液比 1 : 30 (g/mL),考察微波时间(60,90,120,150,180 s)对艾草总黄酮得率及抗氧化活性的影响。

(4) 微波功率:取样品 10.0 g,固定超声时间 30 min,超声功率 340 W,微波时间 120 s,料液比 1 : 30 (g/mL),考察微波功率(300,400,500,600,700 W)对艾草总黄酮得率及抗氧化活性的影响。

(5) 料液比:取样品 10.0 g,固定超声时间 30 min,超声功率 340 W,微波时间 120 s,微波功率 600 W,考察料液比[1 : 10,1 : 20,1 : 30,1 : 40,1 : 50 (g/mL)]对艾草总黄酮得率及抗氧化活性的影响。

1.3.4 Plackett-Burman 试验设计 以单因素试验设计为基础,将超声时间、超声功率、微波时间、微波功率和料液比 5 个试验因素分别设置高、低 2 个水平,以艾草总黄酮

得率为响应值,共设计 12 组试验,筛选出对艾草总黄酮得率影响较高的因素进行响应面试验。

1.3.5 响应面试验设计 以超声功率、超声时间和料液比 3 个对响应值影响显著的因素为自身变量,以艾草总黄酮提取率为响应值,利用 Design-Expert 12.0 软件进行响应面试验设计。

1.3.6 艾草总黄酮得率测定 采用紫外分光光度法^[14]测定总黄酮含量,按式(1)计算艾草总黄酮得率。

$$Y = \frac{c \times n \times V}{m}, \quad (1)$$

式中:

Y ——艾草总黄酮得率,mg/g;

c ——供试品溶液的艾草总黄酮浓度,mg/mL;

n ——稀释倍率;

V ——艾草提取液体积,mL;

m ——艾草质量,g。

1.3.7 抗氧化活性指标的测定

(1) 艾草总黄酮清除 DPPH 自由基能力:参考文献[18],按式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$Q = \left[1 - \frac{(A_i - A_j)}{A_c} \right] \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

Q ——DPPH 自由基清除率,%;

A_i ——2 mL 样品溶液 + 2 mL 0.1 mol/L DPPH 溶液的吸光度;

A_j ——2 mL 样品溶液 + 2 mL 无水乙醇的吸光度;

A_c ——2 mL 无水乙醇 + 2 mL 0.1 mol/L DPPH 溶液的吸光度。

(2) 艾草总黄酮清除羟自由基能力:参考文献[19],按式(2)计算羟自由基清除率。

$$Q = \left[1 - \frac{(A_1 - A_2)}{A_0} \right] \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

Q ——羟自由基清除率,%;

A_1 ——2 mL 9 mmol/L FeSO_4 溶液 + 2 mL 9 mmol/L 水杨酸—乙醇 + 2 mL 9 mmol/L H_2O_2 + 2 mL 样品溶液的吸光度;

A_2 ——2 mL 9 mmol/L FeSO_4 溶液 + 2 mL 9 mmol/L 水杨酸—乙醇 + 2 mL 样品溶液的吸光度;

A_0 ——2 mL 9 mmol/L FeSO_4 溶液 + 2 mL 9 mmol/L 水杨酸—乙醇 + 2 mL 9 mmol/L H_2O_2 吸光度。

1.4 统计分析

采用 SPSS 22.0 进行方差分析;Design-Expert 12.0 进行响应面试验设计和结果分析。

2 结果与分析

2.1 艾草总黄酮提取方法选择

预试验发现,超声提取法艾草总黄酮得率 47.90 mg/g,

DPPH 自由基清除率 79.81%,羟自由基清除率 61.65%;微波提取法艾草总黄酮得率为 42.53 mg/g,DPPH 自由基清除率 78.52%,羟自由基清除率 53.64%,两种提取方法的得率明显偏低,抗氧化活性方面优势不明显,故筛选艾草总黄酮提取方法时未将上述两种提取方法纳入比较。

由表 1 可知,各提取方法间艾草总黄酮得率有显著性差异($P < 0.05$),传统煎煮法的艾草总黄酮得率最高,超声—微波辅助水提法次之;水浴加热提取法的 DPPH 自由基清除率最高,但与超声—微波辅助水提法差异不显著;超声—微波辅助水提法的 OH 自由基清除率最高,且与其他方法差异显著($P < 0.05$)。由于传统煎煮法与水浴加热提取法耗时较长,同时综合考虑黄酮得率及抗氧化活性,确定超声—微波辅助水提法作为艾草总黄酮的理想提取方法,并优化其提取工艺。

2.2 单因素试验

2.2.1 超声处理时间对总黄酮得率和抗氧化活性的影响

由表 2 可知,超声时间 30,40 min 时艾草总黄酮得率和羟自由基清除率同其他组差异显著($P < 0.05$),超声 30 min 时 DPPH 自由基清除率最高且与其他组差异显著($P < 0.05$)。综合考虑,超声时间选择 30 min。

2.2.2 超声功率对总黄酮得率和抗氧化活性的影响 由表 3 可知,超声功率 340 W 时艾草总黄酮得率最高,与其他组差异显著($P < 0.05$);超声功率 340,460 W 的 DPPH

表 1 提取方法对总黄酮得率与抗氧化活性的影响[†]

Table 1 Effects of different extraction methods on flavonoid yield and antioxidant activity

提取方法	总黄酮得率/ (mg · g ⁻¹)	DPPH 自由基 清除率/%	羟自由基 清除率/%
超声—微波辅助水提	82.00 ± 0.97 ^b	81.98 ± 1.07 ^{ab}	65.65 ± 1.51 ^a
超声—微波辅助醇提	71.98 ± 0.07 ^d	81.99 ± 0.27 ^{ab}	57.04 ± 2.63 ^b
传统煎煮	84.36 ± 0.99 ^a	80.62 ± 0.16 ^b	56.68 ± 3.60 ^d
水浴加热	78.61 ± 0.48 ^c	82.80 ± 0.08 ^a	56.99 ± 0.79 ^c

[†] 同列上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

表 2 超声时间对总黄酮得率和抗氧化活性的影响[†]

Table 2 The effects of ultrasonic time on flavonoid yield and antioxidant activity

超声时间/ min	总黄酮得率/ (mg · g ⁻¹)	DPPH 自由基 清除率/%	羟自由基 清除率/%
40	82.00 ± 0.42 ^a	69.42 ± 0.97 ^d	66.35 ± 4.92 ^a
35	50.91 ± 0.41 ^c	75.59 ± 0.57 ^b	64.26 ± 6.61 ^a
30	82.00 ± 0.97 ^a	81.98 ± 1.53 ^a	65.65 ± 1.51 ^a
25	50.38 ± 0.14 ^c	73.11 ± 1.10 ^c	47.59 ± 0.53 ^b
20	79.33 ± 0.42 ^b	67.15 ± 0.57 ^e	54.25 ± 6.34 ^b

[†] 同列上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

表 3 超声功率对总黄酮得率和抗氧化活性的影响[†]
Table 3 The effects of ultrasonic power on theyield and antioxidant activity

超声功率/W	总黄酮得率/ (mg · g ⁻¹)	DPPH 自由基 清除率/%	羟自由基 清除率/%
460	82.00±0.97 ^b	81.98±1.53 ^a	65.65±1.51
400	67.84±1.04 ^c	77.60±0.20 ^c	74.36±3.45
340	88.36±0.70 ^a	81.61±0.17 ^a	74.97±2.21
280	59.02±0.21 ^d	80.21±0.26 ^b	74.77±5.60
220	55.16±0.98 ^c	80.42±0.23 ^{ab}	74.46±5.60

† 同列上标字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

自由基清除率较高且二者差异不显著。综合考虑,超声功率选择 340 W。

2.2.3 微波处理时间对总黄酮得率和抗氧化活性的影响
由表 4 可知,微波时间 180 s 时艾草总黄酮得率最高,微波时间 120 s 时次之。由于微波时间 120 s 时 DPPH 自由基与羟自由基清除率均最高,因此选择微波时间 120 s。

表 4 微波处理时间对总黄酮得率和抗氧化活性的影响[†]
Table 4 The effects of microwave treatment time on the yield and antioxidant activity

微波时间/s	总黄酮得率/ (mg · g ⁻¹)	DPPH 自由基 清除率/%	羟自由基 清除率/%
180	98.20±1.07 ^a	77.08±3.01	51.20±4.75 ^b
150	71.48±0.28 ^d	80.71±4.10	48.97±3.43 ^b
120	88.36±0.70 ^b	81.61±0.17	74.97±2.21 ^a
90	39.90±0.20 ^c	77.60±0.95	50.92±1.95 ^b
60	74.20±0.21 ^c	78.76±3.01	36.27±5.61 ^c

† 同列上标字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

2.2.4 微波功率对总黄酮得率和抗氧化活性的影响 由表 5 可知,微波功率 600 W 时艾草总黄酮得率与 DPPH 自由基清除率最高,与其他组间差异显著($P<0.05$)。微波功率 500,600 W 的羟自由基清除率较高,且二者差异不显著。综合考虑,选择微波功率 600 W。

2.2.5 料液比对总黄酮得率和抗氧化活性的影响 由表 6 可知,料液比 1 : 20 (g/mL)时艾草总黄酮得率最高,与其他各组间差异显著($P<0.05$),料液比 1 : 30 (g/mL) 时次之。料液比 1 : 30 (g/mL)时 DPPH 自由基清除率和羟自由基清除率最高。综合考虑,选择料液比 1 : 30 (g/mL)。

2.3 Plackett-Burman 试验

Plackett-Burman 试验设计及结果见表 7、表 8,试验结果方差分析见表 9。

由表 9 可知,超声时间、超声功率和料液比 3 个因素

表 5 微波功率对总黄酮得率和抗氧化活性的影响[†]
Table 5 The effects of microwave power on the flavonoid yield and antioxidant activity

微波功率/W	总黄酮得率/ (mg · g ⁻¹)	DPPH 自由基 清除率/%	羟自由基 清除率/%
700	73.50±0.48 ^c	71.06±2.93 ^c	65.28±1.06 ^{bc}
600	88.36±0.70 ^a	81.61±0.17 ^a	74.97±2.21 ^a
500	51.05±0.42 ^d	78.64±0.14 ^b	77.59±3.47 ^a
400	74.26±0.42 ^c	80.12±0.07 ^{ab}	69.49±1.41 ^b
300	81.52±0.49 ^b	80.32±0.20 ^{ab}	72.13±3.48 ^{ab}

† 同列上标字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

表 6 料液比对总黄酮得率和抗氧化活性的影响[†]
Table 6 The effects of solid-liquid ratio on flavonoid yield and antioxidant activity

料液比 (g/mL)	总黄酮得率/ (mg · g ⁻¹)	DPPH 自由基 清除率/%	羟自由基 清除率/%
1 : 50	75.67±0.76 ^d	67.88±6.69 ^c	56.23±3.76 ^b
1 : 40	80.62±3.52 ^c	71.64±2.59 ^{bc}	56.62±5.83 ^b
1 : 30	88.36±0.70 ^b	81.61±0.17 ^a	74.97±2.21 ^a
1 : 20	92.31±1.99 ^a	71.38±0.46 ^b	64.87±10.32 ^{ab}
1 : 10	52.22±1.73 ^c	77.48±0.52 ^{ab}	72.92±8.49 ^a

† 同列上标字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

对艾草总黄酮得率影响极显著($P<0.01$),选择以上 3 个因素进行响应面优化设计试验。微波时间和微波功率两个因素对艾草总黄酮提取影响较低,后续试验中将其固定为 120 s 和 600 W。

2.4 响应面优化试验

2.4.1 试验设计及结果 响应面试验优化水平设计见表 10。

利用 Design-Expert 12.0 对表 11 的数据进行方差分析和回归分析,对试验结果进行拟合。以超声功率、超声时间和料液比为自变量,拟合得到回归方程:

$$Y=-549.88+3.08A+3.66B+4.12C-0.000\ 6AB+0.002\ 7AC+0.024BC-0.004\ 6A^2-0.077B^2-0.091C^2。$$
(4)

2.4.2 方差分析 由表 12 可知,回归模型高度显著($P<0.01$),相关决定系数 $R^2=0.980\ 2$,校正系数 $R^2_{adj}=0.954\ 8$,失拟项检验不显著($P=0.06>0.05$),说明模型

表 7 Plackett-Burman 试验设计
Table 7 Experimental design of Plackett-Burman design

水平	超声时 间/min	超声功 率/W	微波功 率/W	微波时 间/s	料液比 (g/mL)
-1	25	280	500	90	1 : 20
1	35	400	700	150	1 : 40

表 8 Plackett-Burman 试验结果

Table 8 Results of Plackett-Burman design

试验号	超声 时间	超声 功率	微波 功率	微波 时间	料液比	总黄酮得率/ (mg · g ⁻¹)
1	1	1	1	-1	-1	72.83
2	1	1	1	1	1	67.98
3	-1	-1	1	1	-1	51.08
4	1	-1	1	-1	-1	60.94
5	-1	1	-1	-1	-1	65.02
6	1	-1	-1	1	-1	57.14
7	1	-1	-1	-1	1	46.07
8	-1	1	1	-1	1	50.95
9	-1	-1	1	1	1	43.45
10	-1	1	-1	1	-1	57.43
11	-1	-1	-1	-1	1	42.04
12	1	1	-1	1	1	59.94

表 9 Plackett-Burman 试验结果方差分析表[†]

Table 9 Analysis of variance of Plackett-Burman design

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	975.90	5	195.18	15.51	0.002	* *
A	251.44	1	251.44	19.98	0.004	* *
B	449.33	1	449.33	35.70	0.001	* *
C	31.98	1	31.98	2.54	0.160	
D	0.06	1	0.06	0.00	0.950	
E	243.09	1	243.09	19.32	0.005	* *
残差	75.51	6	12.56			
总离差	1051.41	11				

[†] * 代表差异显著 ($P < 0.05$), * * 表示差异极显著 ($P < 0.01$); $R^2 = 0.928\ 2$, $R^2_{\text{adj}} = 0.868\ 3$ 。

表 10 响应面试验设计因素及水平表

Table 10 Factors and levels of response surface design

水平	A 超声功率/W	B 超声时间/min	C 料液比(g/mL)
-1	280	20	1 : 20
0	340	30	1 : 30
1	400	40	1 : 40

拟合性较好。超声时间对艾草总黄酮得率影响显著 ($P < 0.05$),对艾草总黄酮得率的影响顺序为 $B > C > A$ 。二次项 A^2 、 C^2 对艾草总黄酮得率影响达到高度显著水平 ($P < 0.01$); B^2 对艾草总黄酮提取率影响达到显著水平 ($P < 0.05$)。

2.4.3 最佳工艺的修订及验证实验 通过 Design-Expert 12.0 得到最佳提取工艺为:超声功率 339.83 W、超声 27.08 min、料液比 1 : 31.14 (g/mL),艾草总黄酮得率达到最大值 87.70 mg/g。考虑实际操作,工艺参数调整为:

表 11 响应面试验设计及结果

Table 11 Experimental design and results of response surface design

序号	A	B	C	总黄酮提取率/(mg · g ⁻¹)
1	-1	-1	0	67.66
2	-1	1	0	61.09
3	-1	0	-1	74.70
4	-1	0	1	64.93
5	0	-1	-1	79.43
6	0	1	-1	62.87
7	0	-1	1	72.31
8	0	1	1	65.25
9	0	0	0	88.43
10	0	0	0	87.97
11	0	0	0	85.98
12	0	0	0	85.09
13	0	0	0	86.74
14	1	-1	0	64.46
15	1	1	0	56.42
16	1	0	-1	53.79
17	1	0	1	70.61

表 12 响应面试验结果方差分析表[†]

Table 12 Analysis of variance of response surface design

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	2 233.89	9	248.210 0	10.590 0	0.002 6	* *
A	1.20	1	1.200 0	0.051 3	0.830 0	
B	182.69	1	182.690 0	7.790 0	0.030 0	*
C	62.22	1	62.220 0	2.650 0	0.150 0	
AB	0.54	1	0.540 2	0.0230	0.880 0	
AC	10.86	1	10.860 0	0.463 2	0.520 0	
BC	22.56	1	22.560 0	0.962 7	0.360 0	
A ²	1 173.71	1	1 173.710 0	50.080 0	0.000 2	* *
B ²	252.14	1	252.140 0	10.760 0	0.010 0	*
C ²	351.63	1	351.630 0	15.000 0	0.006 1	* *
残差	164.06	7	23.440 0			
失拟方差	34.29	3	11.430 0	6.000 0	0.060 0	
误差	7.62	4	1.900 0			
总和	2 397.95	16				

[†] * 代表差异显著 ($P < 0.05$), * * 表示差异极显著 ($P < 0.01$); $R^2 = 0.980\ 2$, $R^2_{\text{adj}} = 0.954\ 8$,模型拟合优度 $R^2 = 0.735\ 6$,精度为 17.30。

料液比 1 : 30 (g/mL)、60 ℃ 水浴 40 min、超声功率 340 W、超声时间 27 min、微波功率 600 W、微波处理 120 s,进行 3 组平行验证实验,其艾草总黄酮得率均值为 87.93 mg/g,与预测值(87.70 mg/g)相差 0.03%,相对标

准偏差为 0.61%, 接近模型预测值, 说明预测模型可靠。

2.5 最佳工艺与传统煎煮、水浴热提取的比较

由表 13 可知, 试验所得最佳提取工艺在艾草总黄酮得率和羟自由基清除率方面显著优于传统煎煮法、水浴加热提取法。

表 13 最佳工艺与传统方法的艾草总黄酮得率与抗氧化活性比较[†]

Table 13 Comparison of flavonoid yield and antioxidant activity between optimal process and traditional process

试验方法	总黄酮得率/ (mg · g ⁻¹)	DPPH 自由基 清除率/%	羟自由基 清除率/%
最佳提取工艺	87.93±0.53 ^a	80.84±0.45 ^a	77.92±1.92 ^a
传统煎煮	84.34±0.99 ^b	80.62±0.15 ^a	66.17±3.97 ^b
水浴加热	78.61±0.48 ^c	78.14±0.25 ^b	71.38±1.99 ^c

[†] 同列上标字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

3 结论

以艾草总黄酮得率、DPPH 自由基清除率、羟自由基清除率为指标, 采用 Plackett-Burman 试验及响应面优化超声—微波辅助水提工艺, 结果表明, 艾草黄酮的最佳提取工艺为 60 °C 水浴 40 min, 超声 340 W 处理 27 min, 微波 600 W 处理 120 s, 料液比 1 : 30 (g/mL), 此时艾草总黄酮得率可达 87.93 mg/g, DPPH 自由基清除率为 80.84%, 羟自由基清除率为 77.92%, 其艾草总黄酮得率和羟自由基清除率显著优于传统煎煮和水浴加热法。试验未进一步探究艾草黄酮物质组成及各组分生物活性, 后续将以大孔树脂纯化艾草总黄酮后使用高效液相—质谱联用法对艾草总黄酮纯度以及组成成分等进行分析研究。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典: 第一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 11.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's republic of China: Vol 1 [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 11.

[2] 任小菊, 徐皓, 陈文强. 艾蒿主要化学成分和药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(6): 112-114.
REN Xiao-ju, XU Hao, CHEN Wen-qiang. Research progress on main chemical composition and pharmacological action of *Artemisia argyi*[J]. J Anhui Agr Sci, 2017, 45(6): 112-114.

[3] ZIMMERMANN-KLEMD A M, REINHARDT J K, MORATH A, et al. Immunosuppressive activity of *Artemisia argyi* extract and isolated compounds[J]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 11: 402.

[4] SONG X W, WEN X, HE J W, et al. Phytochemical components and biological activities of *Artemisia argyi*[J]. Functional Foods, 2019, 52(4): 648-662.

[5] SOHEILA J M, JESUS F C, BEATRIZ C. Anti-inflammatory effects of flavonoids[J]. Food Chemistry, 2019, 299(11): 125124.

[6] CHEN G L, FAN M X, WU J L, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from lotus plumule[J]. Food Chemistry, 2019, 277(3): 706-712.

[7] FATOKUN A A, TOME M, SMITH R A, et al. Protection by the flavonoids quercetin and luteolin against peroxide- or menadione-induced oxidative stress in MC3T3-E1 osteoblast cells [J]. Natural Product Research, 2015, 29(12): 1 127-1 132.

[8] 李华生, 骆航, 孙兴力, 等. 加压同步萃取艾叶挥发油、总黄酮和多糖的工艺研究[J]. 中国食品添加剂, 2016(10): 83-89.
LI Hua-sheng, LUO Hang, SUN Xing-li, et al. Study on pressurized extraction of volatile oil, total flavonoids and polysaccharides from *Artemisia argyi*[J]. China Food Additives, 2016(10): 83-89.

[9] 卫星星, 曹琛, 高慧, 等. 正交试验优选艾叶总黄酮索氏提取工艺[J]. 氨基酸和生物资源, 2016, 38(3): 45-47.
WEI Xing-xing, CAO Chen, GAO Hui, et al. Optimization of the soxhlet extraction technology of total flavonoids from mugwort leaves by orthogonal test[J]. Biotic Resources, 2016, 38(3): 45-47.

[10] 吴娜, 张瑞巧, 孙智达. 艾蒿中黄酮类化合物的提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2008(1): 230-232.
WU Na, ZHANG Rui-qiao, SUN Zhi-da. Study on flavonoid extraction from *Artemisia argyi*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008(1): 230-232.

[11] 黄艳玲, 熊建文, 蔡锦源, 等. 响应面法优化微波辅助提取艾叶总黄酮的工艺研究[J]. 轻工科技, 2019, 35(2): 40-43.
HUANG Yan-ling, XIONG Jian-wen, CAI Jin-yuan, et al. Optimization of microwave assisted extraction of total flavonoids from *Artemisia argyi* leaves by response surface methodology[J]. Light Ind Sci Tech, 2019, 35(2): 40-43.

[12] 王婷婷, 杨雯雯, 李岩, 等. 响应面法优化艾蒿黄酮的微波提取工艺的研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(19): 31-35.
WANG Ting-ting, YANG Wen-wen, LI Yan, et al. Optimization of the microwave-assisted extraction technology of flavonoids from *Artemisia argyi* using response surface methodology[J]. Food Research and Development, 2014, 35(19): 31-35.

[13] 黄艳玲, 蔡锦源, 梁水娇. 响应面法优化微波—超声波辅助提取艾叶总黄酮的工艺研究[J]. 粮食科技与经济, 2019, 44(12): 91-94.
HUANG Yan-ling, CAI Jin-yuan, LIANG Shui-jiao. Optimization of microwave assisted extraction of total flavonoids from *Artemisia argyi* leaves by response surface methodology[J]. Grain Science and Technology and Economy, 2019, 44(12): 91-94.

[14] 李杰, 杨育儒, 王庆芬, 等. 紫外—可见分光光度法测定防暑清热饮中总黄酮和总多糖含量[J]. 药学实践杂志, 2020, 38(1): 63-66.
LI Jie, YANG Yu-ru, WANG Qing-fen, et al. Content determination of total flavones and polysaccharides in Fangshu Qingre mixture by UV-Vis spectrophotometry[J]. Journal of Pharmaceutical Practice, 2020, 38(1): 63-66.

(下转第 240 页)