

# 恰玛古黄酮的提取纯化及抗氧化活性分析

刘子萌<sup>1</sup>, 刘颖琪<sup>1</sup>, 高炎明<sup>1</sup>, 周鑫<sup>1</sup>, 马欣宜<sup>1</sup>, 王方方<sup>1</sup>, 付清泉<sup>1</sup>, 史学伟<sup>1,2\*</sup>, 王斌<sup>1,2\*</sup>

(1. 农业农村部特色农产品加工与质量安全控制重点实验室(部省共建), 石河子大学食品学院, 新疆石河子 832000)(2. 兵团食品营养与安全控制重点实验室, 新疆特色果蔬贮藏加工教育部工程研究中心, 石河子大学食品学院, 新疆石河子 832000)

**摘要:** 为了探索一种高效环保的新疆恰玛古黄酮提取方法, 该研究制备并对比了 5 种不同的低共熔溶剂 (Deep Eutectic Solvents, DES), 采用超声波辅助 DES 提取法, 确定了最佳提取工艺。通过单因素试验考察摩尔比、含水量、超声时间、超声温度、料液比对恰玛古黄酮含量的影响, 并采用响应面法进一步优化提取条件。在此基础上, 利用 AB-8 大孔吸附树脂纯化恰玛古提取液, 考察恰玛古黄酮体外抗氧化活性。结果表明, 提取恰玛古黄酮的最佳提取工艺条件为: DES 组成为氯化胆碱-丙三醇、DES 摩尔比 1:2、DES 含水量 20%、超声时间 41 min, 超声温度 40 °C, 料液比 1:40, 在此条件下恰玛古黄酮含量达到 9.66 mg/g, 经纯化后达到 11.32 mg/g, 提高了 17.18%。当恰玛古黄酮纯化液质量浓度为 100 µg/mL 时, ABTS 和 DPPH 自由基清除率达到 48.24% 和 35.20%, IC<sub>50</sub> 值为 124.41 和 272.98 µg/mL, 吸光度达到 0.45, 表明抗氧化能力和总还原能力较强。本研究为恰玛古黄酮作为功能活性成分在食品行业中的应用提供科学依据。

**关键词:** 恰玛古; 黄酮类化合物; 低共熔溶剂; 响应面法; 抗氧化活性

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.0894

## Extraction, Purification and Antioxidant Activity Analysis of Qamgur Flavonoids

LIU Zimeng<sup>1</sup>, LIU Yingqi<sup>1</sup>, GAO Yanming<sup>1</sup>, ZHOU Xin<sup>1</sup>, MA Xinyi<sup>1</sup>, WANG Fangfang<sup>1</sup>, FU Qingquan<sup>1</sup>, SHI Xuewei<sup>1,2</sup>, WANG Bin<sup>1,2\*</sup>

(1.Key Laboratory of Agricultural Product Processing and Quality Control of Specialty(Co-construction by Ministry and Province), School of Food Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832000, China) (2.Key Laboratory for Food Nutrition and Safety Control of Xinjiang Production and Construction Corps, Engineering Research Center of Storage and Processing of Xinjiang Characteristic Fruits and Vegetables, Ministry of Education, School of Food Science and Technology Shihezi University, Shihezi 832000 China)

**Abstract:** In order to explore an efficient and environment-friendly extraction method of flavonoids from qamgur, Xinjiang, five different deep eutectic solvents (DES) were prepared and compared, and the best extraction process was determined by ultrasonic-assisted DES extraction. The effects of DES molar ratio, DES water content, ultrasonic time, ultrasonic temperature and material-liquid ratio on the content of flavonoids in qamgur were made an on-the-spot investigation by single factor test, and response surface methodology was used to further optimize the extraction conditions. On this basis, the extractive of qamgur was purified by AB-8 macroporous adsorption resin, and the antioxidant activity of qamgur flavonoids in vitro was investigated. The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: DES composition of choline chloride-glycerol, DES molar ratio of 1:2, DES water content of 20%, ultrasonic time of 41 min, ultrasonic temperature of 40 °C and solid-liquid ratio of 1:40. Under these conditions, the content of qamgur flavonoids reached 9.66 mg/g, and it reached 11.32 mg/g after purification, which increased by 17.18%. When the mass concentration of purified qamgur flavonoids solution was 100 µg/mL, the radical scavenging rates of ABTS and DPPH reached 48.24% and 35.20%, the IC<sub>50</sub> values were 124.41 and 272.98 µg/mL, and the absorbance reached 0.45, which indicated that the antioxidant capacity and total reducing capacity were strong. This study provides scientific basis for the application

收稿日期: 2024-06-25; 修回日期: 2024-10-02; 接受日期: 2024-10-09

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目 (2022B01058); 国家大学生创新创业训练项目 (202310759048)

作者简介: 刘子萌 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物提取, E-mail: liuzimenglemon@163.com

通讯作者: 王斌 (1985-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物提取及微生物代谢调控, E-mail: binwang0228@shzu.edu.cn

of qamgur flavonoids as functional active ingredients in food industry.

**Key words:** qamgur; flavonoids; deep eutectic solvents; response surface method; antioxidant activity

恰玛古(学名羌薹,别称萝卜)是十字花科、芸薹属二年生草本植物<sup>[1]</sup>。恰玛古在世界范围内被广泛种植,在中国主产于西藏、新疆、青海、云南、甘肃等地海拔2 800~5 600米的山坡、灌丛、高山碎石滩和石缝中<sup>[2]</sup>。其中,新疆阿克苏地区柯坪县阿恰乡出产的恰玛古品质地道,产业初具规模,被称为“恰玛古之乡”。恰玛古是一种传统药食同源植物,被用作维药,有较长的食用历史,深受我国西北地区各民族人民的青睐<sup>[3]</sup>。现代医学已研究表明,恰玛古中含有的生物活性物质对人体健康有积极的正面影响<sup>[4]</sup>,值得人们开发利用。

前期研究表明,黄酮是恰玛古最重要活性物质之一,具有很强的抗氧化活性。黄酮是以2-苯基色原酮-4-酮为基本骨架的黄酮类化合物<sup>[5]</sup>,可被分为十五种亚类<sup>[6]</sup>。天然黄酮类化合物普遍存在于植物中,它不仅毒性低、种类多,且具有多种有益的生物活性功能<sup>[7]</sup>,是人体保持健康必需的营养成分,被冠以“植物黄金”的美称<sup>[8]</sup>。因人体内只能从外界摄取黄酮类化合物,所以食品中黄酮类化合物的含量及活性是决定其内在品质的重要指标之一<sup>[8]</sup>。

目前,植物黄酮类物质提取的大众方法,如有机溶剂提取法、酶提取法等,这些方法使用的溶剂绝大多数为甲醇、乙醇这些普遍的有机溶剂,一般都有毒性且污染空气<sup>[9]</sup>。随着“绿色化学”与“环境友好型化学”的兴起和发展,低共熔溶剂(Deep Eutectic Solvent, DES)为活性成分的提取提供了新思路,具有成本低、操作简单、可降解、绿色安全等优势,更加适合生物活性成分的提取<sup>[10]</sup>。本研究以新疆恰玛古为研究对象,以黄酮含量为指标,优化超声辅助DES提取恰玛古黄酮的工艺条件,经AB-8大孔树脂纯化,探究其抗氧化活性,为恰玛古黄酮作为功能活性成分在食品行业中的应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

芦丁,源叶科技有限公司;丙三醇、乙二醇、无水乙醇,富宇精细化工有限公司;氯化胆碱、亚硝酸钠、硝酸铝、AB-8大孔树脂,山东科源生化有限公司;柠檬酸,天津市鑫铂特化工有限公司;尿素、葡萄糖,天津市盛奥化学试剂有限公司;稀盐酸标准溶液,深圳市钺远科技有限公司;2,2-联苯基-1-苦基胍基、2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐、维生素C,麦克林生化科技有限公司;过硫酸钾,致远化学试剂有限公司。

MFJ-W153型多功能磨粉机,北京利仁科技有限公司;BS224S型分析天平,Mettler Toledo公司;LC-FD-03H型冷冻干燥机,上海力辰仪器科技有限公司;SK5200BT型超声清洗器,上海科导超声仪器有限公司;ZG18MM型高速离心机,上海卓光仪器科技有限公司;UVmini-1240型紫外分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;EON型酶标仪,美国BIOTEK公司;SHZ-B型恒温振荡器,上海博远医疗生物仪器有限公司;2.5×50 cm层析柱,北京化玻站;KXP100型智能蠕动泵,卡川尔流体科技有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 样品预处理

恰玛古,购于新疆阿克苏市,切片放于冷冻干燥机干燥后经多功能磨粉机粉碎过60目筛,放置于4℃下保藏。

#### 1.2.2 DES的制备

本试验DES选用的氢键受体(Hydrogen-bond Acceptor, HBA)为氯化胆碱,筛选的氢键供体(Hydrogen-bond Donor, HBD)为五种不同类型的物质:丙三醇、乙二醇、尿素、柠檬酸、葡萄糖。将二者以一定摩尔比混合,使用磁力搅拌器进行均匀加热、待到试剂颗粒完全溶解,溶液呈均一稳定透明的状态即可停止,随后冷却到室温进行试验<sup>[11]</sup>。

#### 1.2.3 总黄酮的提取与测定

采用超声辅助DES的方法提取恰玛古黄酮。使用离心管为容器,精确称取冷冻干燥后的恰玛古粉末1 g,以料液比为1:40加入配制好的DES(含水量30%、摩尔比1:2),进行超声处理(温度40℃,功率100 W),50 min后进行高速离心,时间10 min,转速为8 000 r/min,试验进行三次重复操作,合并上清液进行下一步试验。

采用亚硝酸钠-硝酸铝比色法测定<sup>[12]</sup>。以芦丁为对照品,绘制标准曲线,黄酮含量计算公式如下:

$$W = \frac{X \times V_0 \times V_2}{m \times V_1} \quad (1)$$

式中:

X——黄酮质量浓度, mg/mL;

$V_0$ ——提取液定容后的体积, mL;

$V_1$ ——测吸光值使用的提取液体积, mL;

$V_2$ ——提取液总体积, mL;

m——恰玛古粉质量, g;

W——为黄酮含量, mg/g。

#### 1.2.4 提取工艺优化

参考文献进行<sup>[13-15]</sup>HBD的筛选。以氯化胆碱为HBA,按1:2的摩尔比,含水量30%分别与5种HBD丙三醇、乙二醇、尿素、柠檬酸、葡萄糖配制DES,料液比1:40,提取时间为50 min,超声提取温度为40℃,提取恰玛古黄酮,确定最优DES。

在此基础上,DES含水量(10%、20%、30%、40%、50%)、考察DES摩尔比(1:1、1:2、1:3、1:4、1:5)、超声时间(20、30、40、50、60 min),超声温度(40、50、60、70、80℃)、料液比(1:10、1:20、1:30、1:40、1:50)对恰玛古黄酮提取率的影响。

在单因素实验的基础上,选择对恰玛古黄酮提取率影响较显著的含水量(A)、摩尔比(B)、超声时间(C)为考察因素,以黄酮含量为评价指标,进行响应面实验,每组实验重复3次,进一步优化恰玛古黄酮的提取工艺。

#### 1.2.5 大孔树脂纯化

将D101、AB-8、S-8、NKA-9四种极性各不相同的大孔树脂进行预处理,随后烘干备用<sup>[16]</sup>。参考文献方法并加以修改<sup>[17]</sup>,通过静态吸附-解析试验来进行大孔树脂筛选。在50 mL恰玛古黄酮提取液中准确加入四种树脂各1 g,转移到恒温振荡器,设定温度25℃,转速120 rpm,吸附与解吸各10 h,解吸液为80 mL 70%的乙醇。参考文献的方法<sup>[17]</sup>计算出四种树脂的吸附率与解吸率,从而筛选出最优大孔树脂。

使用最优大孔树脂,通过动态吸附-解析试验来进行纯化。参考文献方法<sup>[17,18]</sup>并加以修改,采用长度50 cm,外径2.5 cm的层析柱,加入预处理好的AB-8大孔树脂20 g。加入60 mL恰玛古黄酮提取液,上样流量为1 mL/min,完成后用足够的去离子水对杂质进行洗脱,随后采用100 mL浓度为70%的乙醇进行洗脱,洗脱流速为3 mL/min,收集洗脱液。

#### 1.2.6 抗氧化活性鉴定

将恰玛古提取液、纯化液和Vc溶液进行稀释,使质量浓度达到20~100 μg/mL,此为待测样品。参照文献方法<sup>[19,20]</sup>加以改进,测定样品对ABTS和DPPH的自由基清除能力。参照赵明慧<sup>[18]</sup>的方法加以修改,测定总还原能力。每组实验重复3次,综合评价恰玛古黄酮纯化前后的抗氧化活性。

#### 1.2.7 统计分析

采用Origin 2022对提取恰玛古黄酮单因素实验和抗氧化活性实验结果进行数据处理并绘制图形。使用Design Expert 13对响应面优化试验结果进行统计和分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 恰玛古黄酮提取单因素试验

#### 2.1.1 DES不同氢键供体的筛选

DES是一种新兴绿色反应溶剂,主要通过HBA和HBD形成的分子间氢键和静电相互作用来增加它们的溶解度,从而使植物中的生物活性物质更好的溶出,提取效率增高<sup>[10]</sup>。近年来,氯化胆碱已广泛被用作氢键受体,氢键供体主要包括醇、酰胺、羧酸、糖类等物质<sup>[21]</sup>。不同的HBD会影响DES的物理化学性质,从而影响提取效率,因此选择以下五种物质作为HBD进行筛选。

由图1可看出,HBD为丙三醇时,恰玛古黄酮含量最高,达到9.61 mg/g,其次是尿素,达到9.57 mg/g。丙

三醇与乙二醇这两种醇类物质中有许多游离羟基会使 DES 中氢键强度变大, 从而形成更加稳定的 DES 溶液, 而烷基链的延伸增加了 DES 的疏水性, 从而导致 DES 接触黄酮类化合物时疏水相互作用增强<sup>[22]</sup>, 因此丙三醇对恰玛古黄酮的提取更加有利。尿素中的胺基、柠檬酸中的羧基与葡萄糖中的羟基, 均有形成氢键的机会<sup>[23,24]</sup>, 但效果不如丙三醇, 因此采用 DES 为氯化胆碱-丙三醇进行后续实验。

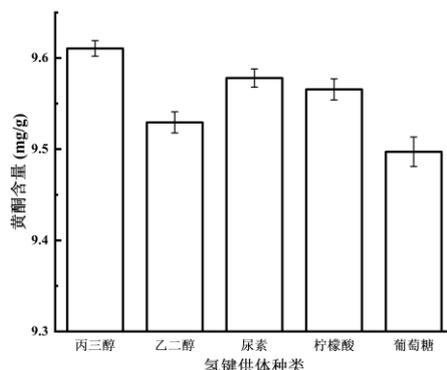


图1 氢键供体的筛选

Fig.1 Screening of hydrogen bond receptors

### 2.1.2 DES 含水量对恰玛古黄酮提取的影响

DES 是由 HBA 和 HBD 结合形成的两组分混合物, 加入水后, 水带来的较强的氢键效应便成了其中重要的组成部分, 氢键相互作用的强度能够直接影响 DES 的理化性质和和对目标物的溶解性<sup>[25]</sup>。因此, 含水量是影响 DES 提取恰玛古黄酮的重要因素之一。

由图 2 可知, 当 DES 含水量为 0~50%时, 恰玛古黄酮含量表现为先升高后降低的趋势, 含水量为 20%时, 黄酮含量达到了峰值。这是因为水含量的增加会导致 DES 粘度下降, 加速了恰玛古植物细胞内外溶剂的渗透, 同时改变溶液的极性, 影响黄酮类物质的提取<sup>[26]</sup>。但水含量过高可能会破坏 DES 体系, 导致其中的氢键损失<sup>[27]</sup>, 使得恰玛古黄酮含量下降。因此采用含水量为 20%来进行实验。

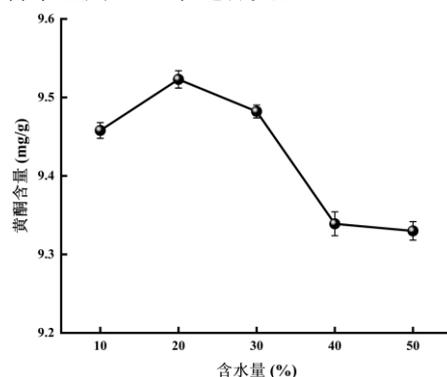


图2 DES 含水量对恰玛古黄酮含量的影响

Fig.2 Effect of DES water content on flavonoids content in qamgur

### 2.1.3 DES 摩尔比对恰玛古黄酮提取的影响

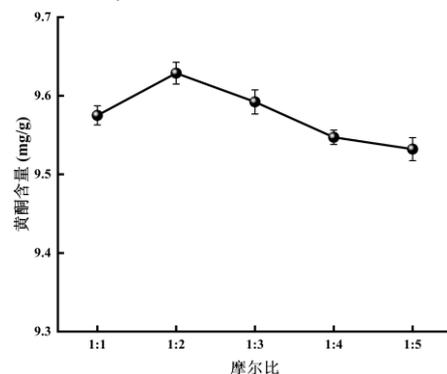


图3 DES 摩尔比对恰玛古黄酮含量的影响

Fig.3 Effect of DES molar ratio on flavonoids content in qamgur

DES 有多优点, 例如有较强导电性、自然界中易降解、稳定性好<sup>[28]</sup>, 因此在许多不同的化学反应和分离领域中被进行广泛研究与应用。由于 DES 的可设计性, 通过改变 HBA 和 HBD 类型, 或者以不同的摩尔比结合, 都会一定程度内影响 DES 的某些理化性质的改变, 这与阴阳离子之间的相互作用有关<sup>[29]</sup>。因此, DES 摩尔比重要的影响着提取恰玛古黄酮的效率。

由图 3 可知, 当氯化胆碱与丙三醇的摩尔比为 1:1~1:5 时, 恰玛古黄酮含量的趋势为先升高后降低, 摩尔比为 1:2 时, 黄酮含量最高。摩尔比不同, 制备的 DES 各理化性质不同, 溶剂所产生的氢键数目与位置不同。摩尔比过高, DES 中含有更多的丙三醇组分, 使得溶剂粘度变高, 导致恰玛古黄酮向溶剂中的传质变少<sup>[30]</sup>。因此采用摩尔比为 1:2 来进行实验。

#### 2.1.4 超声时间对恰玛古黄酮提取的影响

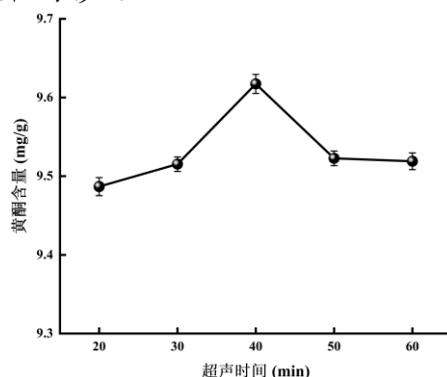


图 4 超声时间对恰玛古黄酮含量的影响

Fig.4 Effect of ultrasonic time on flavonoids content in qamgur

由于超声波强烈的空化效应可以显著破坏植物细胞壁, 因此有效的加速植物细胞内目标物质的溶出, 增高提取效率。与其他常见方法相比较, 超声波提取法有效缩短提取时间的特点更容易获得人们的青睐, 并且减少溶剂消耗, 从而增高提取率<sup>[31]</sup>。超声时间在提取恰玛古黄酮的过程中发挥着至关重要的作用。

由图 4 可知, 当提取时间为 20~60 min 时, 恰玛古黄酮含量的趋势为先升高后降低, 时间为 40 min 时, 恰玛古黄酮含量最高。提取时间延长会使得植物细胞壁分解得更彻底, 加速黄酮类物质溶出<sup>[32]</sup>, 但时间过长, 这种效应可能会破坏黄酮结构, 导致提取含量下降。因此采用提取时间 40 min 来进行实验。

#### 2.1.5 超声温度对恰玛古黄酮提取的影响

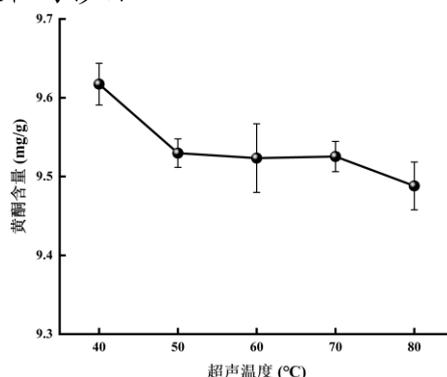


图 5 超声温度对恰玛古黄酮含量的影响

Fig.5 Effect of ultrasonic temperature on flavonoids content in qamgur

在提取恰玛古黄酮的过程中超声温度的不同也会对黄酮含量的高低有影响。超声温度影响着体系内分子的运动状态, 在某个合适的温度下, 溶剂能更好的渗透进提取物内部, 从而使得提取效率更高<sup>[33]</sup>。

由图 5 可知, 当超声温度为 40~80 °C 时, 恰玛古黄酮含量不断的降低, 温度为 40 °C 时最高。温度过高可能使黄酮被破坏, 或者高温影响了 DES 的结构与稳定性, 因此黄酮含量下降<sup>[34]</sup>。采用超声温度 40 °C 来进行实验。

#### 2.1.6 料液比对恰玛古黄酮提取的影响

料液比在生物活性物质的提取中也是一个常见的研究对象。料液比过低, 目标物质无法被完全提取; 料液比

过高，面临着试剂的浪费。料液比的多少影响着恰玛古黄酮是否能被充分提取<sup>[35]</sup>，进而决定了恰玛古黄酮含量的高低。

由图 6 可知，当料液比为 1:10~1:50 时，恰玛古黄酮含量先上升，到 1:40 时达到最高，持续平稳不变。随着提取液用量增多，恰玛古粉末与溶液接触面积增大，因此提取效率增加，但当达到一定程度时，猜测恰玛古黄酮已接近被完全提取溶出，所以黄酮含量保持不变<sup>[36]</sup>。采用料液比 1:40 来进行实验。

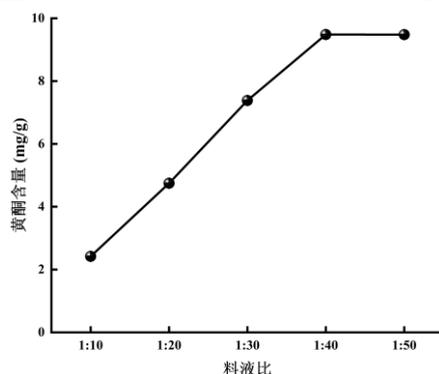


图 6 料液比对恰玛古黄酮含量的影响

Fig.6 Effect of solid-liquid ratio on flavonoids content in qamgur

## 2.2 响应面工艺优化

### 2.2.1 响应面试验结果

表 1 响应面的因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface

试验号	A 含水量/%	B 摩尔比	C 超声时间/min
-1	10	1:1	30
0	20	1:2	40
+1	30	1:3	50

表 2 响应面试验结果

Table 2 Response surface test results

试验号	A 含水量/%	B 摩尔比	C 超声时间/min	黄酮提取量/mg/g
1	20	1:3	50	9.51
2	10	1:3	40	9.50
3	10	1:1	40	9.53
4	30	1:1	40	9.50
5	20	1:3	30	9.42
7	20	1:2	40	9.67
8	20	1:1	30	9.44
9	10	1:2	30	9.44
10	10	1:2	50	9.49
11	30	1:2	50	9.50
12	20	1:2	40	9.66
13	20	1:2	40	9.67
14	20	1:1	50	9.51
15	30	1:2	30	9.47
16	20	1:2	40	9.70
17	30	1:3	40	9.55

在单因素试验的基础上结合响应面试验对提取恰玛古黄酮的条件进一步优化，响应面设计方案及试验结果见

表 1。含水量、摩尔比和超声时间对恰玛古黄酮含量的拟合方程:

$$Y=9.86+0.006 5A-0.000 1B+0.029 8C+0.020 4AB-0.006 9AC+0.003 6BC-0.078 8A^2-0.085 1B^2-0.128 7C^2$$

### 2.2.2 回归模型及方差分析

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Regression model variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	
模型	0.149	9	0.016 6	67.07	<0.000 1	**
A	0.003	1	0.000 3	1.35	0.284 1	
B	2.379×10 <sup>-8</sup>	1	2.379×10 <sup>-8</sup>	0.000 1	0.992 5	
C	0.007 1	1	0.007 1	28.75	0.001 1	**
AB	0.001 7	1	0.001 7	6.73	0.035 8	*
AC	0.000 2	1	0.000 2	0.779 0	0.406 7	
BC	0.000 1	1	0.000 1	0.210 1	0.660 6	
A <sup>2</sup>	0.026 1	1	0.026 1	105.37	<0.000 1	**
B <sup>2</sup>	0.030 5	1	0.030 5	123.08	<0.000 1	**
C <sup>2</sup>	0.069 8	1	0.069 8	281.56	<0.000 1	**
残差	0.001 7	7	0.000 2			
失拟项	0.001 0	3	0.000 3	1.75	0.295 0	不显著
纯误差	0.000 8	4	0.000 2			
总回归	0.153 1	16				

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

由表 3 可知,  $P < 0.01$ , 为极显著, 失拟项  $P=0.295 0$  ( $P > 0.05$ ) 为不显著, 表明该模型有效。  $R^2=0.988 5$ ,  $R^2Adj=0.973 8$ , 二值接近于 1, 代表着实际值与理论值相近度极高, 各方面未知因素干扰试验结果的可能较小。从方差结果可以看出影响极显著的为 C、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup>、( $P < 0.01$ ), 影响显著的为 AB ( $P < 0.05$ )。由 F 值大小显示, 超声时间对恰玛古黄酮含量影响最大, 其次是含水量、摩尔比。

### 2.2.3 响应面交互作用分析

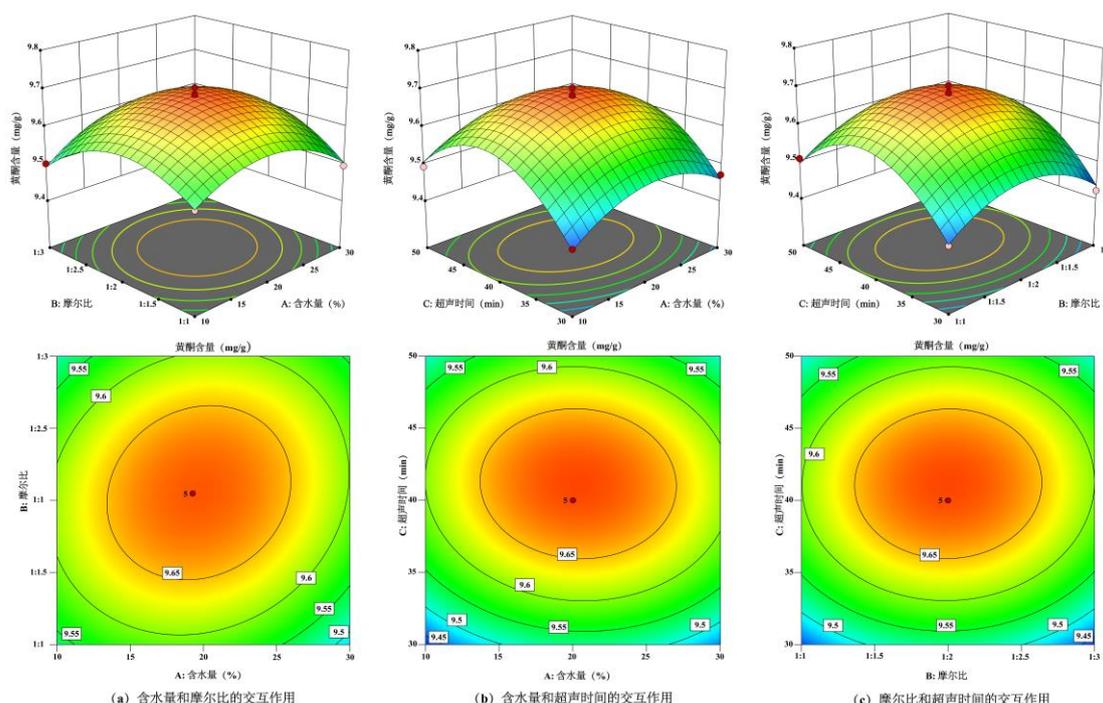


图 7 各因素交互作用对恰玛古黄酮含量的响应曲面与等高线图

Fig.7 Response surface and contour map of ethanol interaction between factors on the extraction amount of flavonoids from qamgur

响应面 3D 曲线越弯曲凸起, 代表着两个因素之间交互作用越强。等高线 2D 图越密集以及越近似椭圆, 表明两个因素间交互作用越显著<sup>[37]</sup>。基于此分析图 7 可知, A (含水量) B (摩尔比)、A (含水量) C (超声时间)、B (摩尔比) C (超声时间) 各因素间有较强的交互作用, 对于恰玛古黄酮含量影响较大。

### 2.2.4 验证试验

利用拟合模型进行恰玛古黄酮最优提取工艺优化, 得到: DES 含水量 20.37%、DES 摩尔比 1:2.01、超声时间 41.15 min, 此时恰玛古黄酮含量的理论预测值为 9.69 mg/g。结合实际操作调整为: 含水量 20%、DES 摩尔比 1:2、超声时间 41 min, 在此优化工艺条件下重复操作 3 次试验, 得到恰玛古黄酮含量为 9.66 mg/g。

## 2.3 大孔树脂的筛选 (这部分也为蓝色)

表 4 树脂的种类及性质

Table 4 Types and properties of resins

树脂的种类	极性	吸附率/%	解吸率/%
D101	非极性	40.77±1.16	88.21±0.47
AB-8	弱极性	50.14±1.06	93.12±1.03
S-8	中极性	37.34±1.17	77.65±0.60
NKA-9	极性	47.75±0.70	90.17±0.77

由表 4 可知, 四种大孔树脂对恰玛古黄酮的吸附率与解吸率由高到低依次为: AB-8、NKA-9、D101、S-8。AB-8 大孔树脂展示出最佳的效果, 吸附率 50.14%, 解吸率 93.12%, 高于其他各树脂, 因此选用 AB-8 大孔树脂进行实验。

## 2.4 抗氧化活性分析

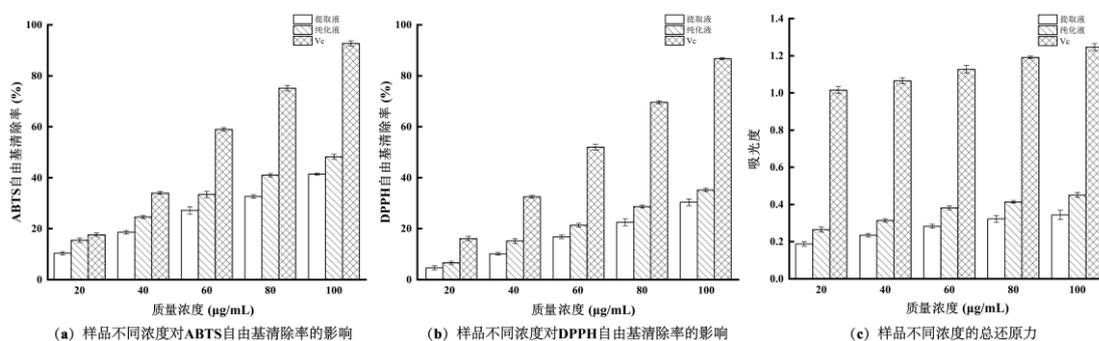


图 8 恰玛古黄酮抗氧化活性分析

Fig.8 Analysis of antioxidant activity of flavonoids from qamgur

表 5 恰玛古黄酮的抗氧化活性

Table 5 Antioxidant activity of flavonoids from qamgur

抗氧化体系	ABTS IC <sub>50</sub> /(µg/mL)	DPPH IC <sub>50</sub> /(µg/mL)	总还原能力吸光度
恰玛古黄酮提取物	189.69±13.32	457.83±58.7	0.34±0.03
恰玛古黄酮纯化物	124.41±6.64	272.98±1.66	0.45±0.01
Vc	46.24±0.17	50.44±0.07	1.25±0.02

恰玛古黄酮提取物经 AB-8 大孔树脂纯化后, 通过测定吸光度计算含量, 由 9.66 mg/g 达到了 11.32 mg/g, 提高了 17.18%, 是传统微波乙醇萃取法的 1.78 倍<sup>[38]</sup>。从图 8 和表 5 中可以看出, 经纯化后, 抗氧化活性也增加: 黄酮质量浓度为 100 µg/mL 时, ABTS 和 DPPH 自由基清除率由 41.43% 和 30.36% 分别提升到 48.24% 和 35.20%; IC<sub>50</sub> 值 189.69 µg/mL 和 457.83 µg/mL 降低至 124.41 µg/mL 和 272.98 µg/mL, 均高于 Vc, 在同等条件下 IC<sub>50</sub> 值越低抗氧化性能越高; 吸光度由 0.34 达到了 0.45。恰玛古黄酮抗氧化活性和 Vc 相比稍有逊色, 但是也具有较弱的抗氧化能力和总还原能力。

### 3 结论

以恰玛古黄酮含量为评价指标,采用单因素试验和响应面法优化了恰玛古黄酮提取工艺,通过筛选后,利用 AB-8 大孔树脂进行纯化并综合测定恰玛古黄酮的抗氧化活性。结果表明,最优提取工艺为:DES 组成为氯化胆碱-丙三醇、DES 含水量 20%、DES 摩尔比 1:2、超声时间 41min,超声温度 40 °C,料液比 1:40。在此条件下恰玛古黄酮含量达到 9.66 mg/g,经纯化后达到 11.32 mg/g,提高了 17.18%。当恰玛古黄酮纯化液质量浓度为 100 µg/ml 时,ABTS 自由基清除率和 DPPH 自由基清除率达到了 48.24% 和 35.20%,IC<sub>50</sub> 值为 124.41 µg/mL 和 272.98 µg/mL,吸光度达到了 0.45,具有较强的抗氧化能力和总还原能力。该工艺绿色环保、比传统黄酮提取工艺效率高,是传统微波乙醇萃取法的 1.78 倍。该工艺的应用,能够为新疆恰玛古资源的开发利用提供参考,让新疆药食同源植物的营养与医药价值进一步放大。在此基础上进一步研究,可以将恰玛古黄酮提取物加工生产为黄酮保健品,使其真正进入市场。

### 参考文献

- [1] GAO J T, LI N, XUAN Z Y, et al. Genetic diversity among "Qamgur" varieties in China revealed by SSR markers [J]. *Euphytica*, 2017, 213(9): 14.
- [2] 王张,张艺,周林,等. 蔓菁抗疲劳作用的量效关系初步研究[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(5): 128-130.
- [3] XUE Y L, CHEN J N, HAN H T, et al. Multivariate analyses of the physicochemical properties of turnip (*Brassica rapa* L.) chips dried using different methods [J]. *Dry Technol*, 2020, 38(4): 411-419.
- [4] 郭君婷,赵婷婷,叶斯木 塔拉甫别克,等. 基于 Nrf2/HO-1 信号通路调控的恰玛古多糖抗多柔比星心肌毒性的机制研究[J]. *药理学报*, 2024, 59(4): 930-938.
- [5] 万明,宋永钢,杨波. 黄酮类化合物的药理作用及其在食品工业中的应用[J]. *江西食品工业*, 2007, 3: 47-49+46.
- [6] STALIKAS C D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids [J]. *J Sep Sci*, 2007, 30(18): 3268-3295.
- [7] 沈茜安,侯英泽,赵耀焜,等. 中草药中黄酮类化合物的提取工艺及药理作用研究进展[J]. *微量元素与健康研究*, 2023, 40(6): 66-68.
- [8] 徐赫. 菜心总黄酮提取纯化工艺的优化及不同菜心种质总黄酮含量的差异比较[D]. 广州: 广州大学, 2022.
- [9] 施雅娜,伍振煌,王俊龙. 植物黄酮类化合物的提取工艺、生物活性功能及在畜禽生产中应用研究进展[J]. *饲料研究*, 2022, 45(11): 128-133.
- [10] 张艺欣,郭旭然,何若菡,等. 天然低共熔溶剂萃取酚类物质研究进展[J]. *食品与机械*, 2022, 38(11): 212-216+240.
- [11] ABBOTT A P, CAPPER G, DAVIES D L, et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures [J]. *Chem Commun*, 2003, 1: 70-71.
- [12] MTO H, KHAT-UDOMKIRI N. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from coffee pulp using propylene glycol as a solvent and their antioxidant activities [J]. *Ultrason Sonochem*, 2022, 89: 13.
- [13] 孙平,董萍萍,董丹华,等. 超声波辅助低共熔溶剂提取野菊花总黄酮的工艺研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(20): 147-152.
- [14] 付佳乐,耿直,郭亚敏,等. 银杏叶总黄酮绿色提取工艺及抗氧化活性研究[J]. *化学与生物工程*, 2024, 41(1): 40-5.
- [15] 刘秀敏,单春会,张雪,等. 超声波辅助提取红枣中黄酮类物质的研究[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(17): 107-113.
- [16] 童珊珊. 三种车前属植物总黄酮的提取、纯化及其抗氧化活性分析[D]. 雅安: 四川农业大学, 2018.
- [17] 杨馥溪. 深度共熔溶剂提取花青素及其抗氧化性能评估和微胶囊制备的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- [18] 赵明慧. 沙棘黄酮的提取纯化工艺优化及应用研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2024.
- [19] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 26(9-10): 1231-1237.
- [20] WANG B N, LIU H F, BIN ZHENG J, et al. Distribution of phenolic acids in different tissues of Jujube and Their Antioxidant Activity [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(4): 1288-1292.
- [21] KENNY P W. Hydrogen-bond donors in drug design [J]. *J Med Chem*, 2022, 65(21): 14261-14275.
- [22] EL ACHKAR T, GREIGE-GERGES H, FOURMENTIN S. Basics and properties of deep eutectic solvents: a review [J]. *Environ Chem Lett*, 2021, 19(4): 3397-3408.
- [23] RAKIPOV I T, PETROV A A, AKHMADIYAROV A A, et al. Thermochemistry of Solution, Solvation, and Hydrogen Bonding of Cyclic

- Amides in Proton Acceptor and Donor Solvents. Amide Cycle Size Effect [J]. *Molecules*, 2021, 26(5).
- [24] 王卉.低共熔溶剂提取火龙果皮色素的研究及薄膜应用[D].天津:天津科技大学,2023.
- [25] 刘伟,王晓雨,周玉溪,等.低共熔溶剂在植物多糖提取中的应用研究进展[J].*食品工业科技*,2023,44(24):1-11.
- [26] BI W T, TIAN M L, ROW K H. Evaluation of alcohol-based deep eutectic solvent in extraction and determination of flavonoids with response surface methodology optimization [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1285: 22-30.
- [27] ZHANG L J, WANG M S. Optimization of deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 95: 675-681.
- [28] 李琪琪,李杨,胡德计,等.基于低共熔溶剂离子凝胶在储能方面的研究进展[J].*化学工业与工程*,2023,40(5):94-104.
- [29] 刘成,张连红.低共熔溶剂及其应用的研究进展[J].*现代化工*,2022,42(4):43-47.
- [30] LU W D, LIU S J. Choline chloride-based deep eutectic solvents (Ch-DESs) as promising green solvents for phenolic compounds extraction from bioresources: state-of-the-art, prospects, and challenges [J]. *Biomass Convers Biorefinery*, 2022, 12(7): 2949-2962.
- [31] HAO Y, PEI F X, HUANG J J, et al. Application of deep eutectic solvents on extraction of flavonoids [J]. *J Sep Sci*, 2024, 47(9-10): 17.
- [32] 田建华,张春媛,魏璐.沙棘果渣总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性研究[J].*天然产物研究与开发*,2021,33(1):65-72.
- [33] 林宝妹,张帅,吴水金,等.香蕉果皮总黄酮提取工艺优化及抗氧化研究[J].*粮食与油脂*,2023,36(8):95-100.
- [34] 罗蓉,蔡旭,薛宏坤,等.响应面法优化超声辅助低共熔溶剂提取山楂总黄酮工艺[J].*食品工业科技*,2022,43(22):229-237.
- [35] 梁泳仪,肖冬悦,王宏,等.化橘红黄酮深共熔溶剂提取工艺优化及抗氧化活性研究[J].*食品与机械*,2024,40(7):192-199.
- [36] 额尔敦巴雅尔,王琦铭,云雪艳,等.棉籽中黄酮的提取、纯化及主要成分分析[J].*中国油脂*,2021,46(6):108-113+145.
- [37] 樊旭,周鸿立.响应面法优化沙棘黄酮的提取和抗氧化活性的研究[J].*河南工业大学学报(自然科学版)*,2018,39(4):85-90.
- [38] 马菁,幸让新,王华强,等.恰玛古中类黄酮的提取工艺研究[J].*食品科技*,2010,35(5):208-213.