香露兜叶总黄酮的提取及抗氧化活性评估

黄玉华[1]，张猛猛[2*]，辛璇[1,3]，白卫东[1,3*]，汪薇[1,3]，任文彬[1,3]，赵文红[1,3]，李佳蔚[1]
（1.仲恺农业工程学院轻工食品学院，广东广州 510225）（2.仲恺农业工程学院化学化工学院，广东广州 510225）
（3.广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室，广东广州 510225）

摘要：香露兜黄酮类成分被认为具有较好的生理活性和应用潜力。为探索香露兜叶中总黄酮的提取工艺和组成成分及其抗氧化活性，该研究采用超声波-微波辅助提取技术，通过单因素试验和响应面法确定了香露兜叶总黄酮提取的最佳工艺，高效液相色谱串联质谱法分析提取物的组成。并通过 DPPH、$ABTS^+$自由基清除、氧化自由基和细胞内抗氧化实验评估总黄酮提取物的抗氧化活性。结果表明，香露兜叶总黄酮最佳提取工艺条件为：乙醇体积分数 74%（*V/V*）、液料比 10.5:1 mL g^{-1}、提取温度 61 ℃、微波功率 530 W、超声功率 350 W、超声时间 20 min、微波时间 20 min、静置提取时间 25 min，在此条件下提取量达到 12.14 mg g^{-1}。从提取物中鉴定出 22 种黄酮类化合物，如槲皮素、芦丁、川陈皮素等。香露兜叶中黄酮提取物具备较好的抗氧化性能，对 DPPH、$ABTS^+$自由基均能起到很好的清除效果，其 IC_{50} 分别为 54.4、141.3 μg mL^{-1}。香露兜叶黄酮还能够较好减缓自由基猝灭和细胞内活性氧的产生。该实验为香露兜叶黄酮提取和应用提供技术支撑。

关键词：香露兜；总黄酮；超声波辅助提取；微波辅助提取；抗氧化活性

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.7.0564

Extraction and Antioxidant Activity Evaluation of Total Flavonoids from *Pandanus amaryllifolius* Roxb.Leaf

HUANG Yuhua[1], ZHANG Mengmeng[2*], XIN Xuan[1,3], BAI Weidong[1,3*], WANG Wei[1,3], REN Wenbin[1,3], ZHAO Wenhong[1,3], LI Jiawei[1]

(1.College of Light Industry and Food Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China) (2.College of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China) (3.Guangdong Provincial Key Laboratory of Lingnan Specialty Food Science and Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: *P. amaryllifolius Roxb.* flavonoids are considered to have better biological activity and potential for application. To explore the extraction process and composition and antioxidant activity of total flavonoids from *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaf, this experiment employed ultrasound microwave assisted extraction technology. The optimal extraction conditions were determined using single-factor experiments combined with response surface methodology, the composition of extracts total flavonoids were analyzed by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The antioxidant activity of the extracted flavonoids were evaluated through DPPH and $ABTS^+$ radical scavenging assays, oxidative radical scavenging tests, and intracellular antioxidant assays. The results indicated that the optimal extraction conditions were: ethanol concentration of 74% (*V/V*), liquid-to-material ratio of 10.5:1 mL g^{-1}, extraction temperature of 61 ℃, microwave power of 530 W, ultrasonic power of 350 W, ultrasound and microwave time of 20 min, and total extraction time of 25 min. Under these conditions, the extraction yield reached 12.14 mg g^{-1}. It was identified to contain 22 flavonoids, such as quercetin, rutin, and nobiletin. The flavonoids from *P. amaryllifolius* Roxb. leaf exhibited potent antioxidant capacity, effectively scavenging both DPPH and $ABTS^+$ radicals, with IC_{50} values of 54.4 and 141.3 μg mL^{-1} respectively. Additionally, the flavonoids from *P. amaryllifolius* Roxb. leaf showed significant potential in mitigating radical-induced oxidative stress and reducing intercellular reactive oxygen species. This experiment provides technical support for the

收稿日期：2025-04-22；修回日期：2025-07-08；接受日期：2025-07-12

基金项目：广东省重点领域研发计划项目（2022B0202050003）；广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室项目（KA2104501）；广东省基础与应用基础研究基金项目（2022A1515110710）；广东省农村科技特派员项目（KTP20240981）

作者简介：黄玉华（1999-），女，硕士研究生，研究方向：天然产物功能活性，E-mail：960578751@qq.com

通讯作者：白卫东（1967-），男，博士，教授，研究方向：食品生物化学，E-mail：whitebai2001@163.com；共同通讯作者：张猛猛（1989-），男，博士，副研究员，研究方向：天然产物的开发与应用，E-mail：zhangmengmengscut@126.com

extraction and application of *P. amaryllifolius* Roxb. leaf flavonoids.

Key words: *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaf; total flavonoids; ultrasonic-assisted extraction; microwave-assisted Extraction; antioxidant activity

香露兜（*Pandanus amaryllifolius* Roxb.），又名斑兰，是一种广泛分布于东南亚地区（如印度、马来西亚、新加坡）及中国海南、广东等地的热带芳香植物，属露兜树科[1]。其叶片因富含叶绿素和独特的宜人香气，常作为天然香料应用于烘焙、饮料等食品加工领域[2]。研究表明，香露兜含有甾体、生物碱、黄酮、多酚等多种生物活性成分[3]，赋予其显著的抑菌[1]、抗氧化[4]、抗炎[5]、降血脂[6,7]等药理功效。黄酮类化合物作为植物中重要的活性物质，具有广泛的生物活性和药理价值。其显著的抗氧化活性在预防多种疾病中扮演着关键角色[3]。因此，深入研究香露兜黄酮的高效提取工艺及其抗氧化活性，对于充分挖掘其功能价值并拓展应用具有重要意义。

目前，香露兜黄酮的提取研究多集中于传统溶剂法和单一辅助技术。Son 等[8]报道，采用乙醇溶液在料液比 1:10、提取 24 h 的条件下，黄酮含量可达 130 mg QE/g。近年来，多种物理辅助提取技术（如超声波、微波、红外波、高压放电、脉冲电场等）因其高效、快速的特点被广泛应用于植物黄酮提取[9]。这些技术能有效破坏植物细胞壁，促进成分溶出，提高提取效率[10]。例如，Djenar 等[3]采用微波辅助水提法（450 W，20 min，91 ℃），但所得香露兜叶黄酮含量为 0.41%。值得注意的是，王颖等[11]研究发现，超声微波协同辅助提取技术在杜仲叶黄酮提取中表现出优于单一超声或微波的提取率。此外，一些新型辅助方法如离子液体[12]和超声波耦合双水相[13]也展现出潜力，但其工艺参数在不同植物基质中的普适性和优化仍需深入探索。尽管香露兜黄酮及其多酚的提取已有一定研究[4]，但将超声-微波协同辅助技术应用于其黄酮提取的系统研究尚未见报道，工艺优化及提取物活性评价仍较缺乏。

基于此，本研究采用超声-微波协同辅助提取技术对香露兜叶总黄酮进行提取，系统优化其关键工艺参数（如溶剂浓度、液料比、超声功率等）。同时，对优化条件下获得的提取物进行成分鉴定，并评价其体外抗氧化活性。本研究旨在为香露兜资源在食品、保健品和医药等领域的应用提供理论依据，并为其高值化产品的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

香露兜叶，购于海南；无水乙醇，永大试剂；氢氧化钠、硝酸铝、过硫酸钾、维生素 C、2,2-偶氮二（2-甲基丙基咪）二盐酸盐、荧光素钠，上海市麦克林化学试剂厂；芦丁标准品、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical，DPPH）、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐（2,2’-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)，ABTS），上海源叶生物科技有限公司；$HepG_2$ 细胞株，实验室保存；2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯荧光探针（2',7'-Dichlorodihydrofluorescein，DCFH-DA），大连美仑生物技术有限公司；偶氮二异丁脒盐酸盐（2,2'-Azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride，AAPH），萨恩化学技术（上海）有限公司；DMEM 高糖培养基、胎牛血清，美国赛默飞世尔科技公司；胰酶、青霉素/链霉素，美国 GIBCO；二甲基亚砜、Cell Counting Kit-8（CCK-8）溶液，上海碧云天生物技术股份有限公司；所有试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

BSA124S 分析天平，赛多利斯科学仪器北京有限公司；XO-SM100 超声微波联用仪，南京先欧仪器制造有限公司；RE-2000A/2000B 旋转蒸发仪，上海亚荣生化仪器厂；18N 冷冻干燥机，上海力辰仪器科技有限公司；HWS-28 恒温水浴锅，上海一恒科学仪器有限公司；VL0000A Varioskan LUX 酶标仪，赛默飞世尔科技公司；Thermo Fisher Scientific 超高效液相色谱仪，赛默飞世尔科技公司；CHT210R 二氧化碳培养箱，湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；BSC 生物安全柜，北京东联哈尔仪器制造有限公司；TS2 倒置显微镜，Nikon 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 原料预处理

香露兜干叶放入高速粉碎机中粉碎后过 200 目筛。装入黑色避光自封袋中置于阴凉干燥处贮存。

1.3.2 香露兜叶总黄酮的提取工艺流程

称取一定量的香露兜叶粉，使用乙醇水溶液作为溶剂，利用不同功率和不同时间（超声功率 200 W、超声时间 10 min、微波功率 200 W、微波时间 10 min 等）进行超声微波协同处理，然后在一定温度的水浴锅中静置（静置提取温度 30 ℃、提取时间 10 min 等）。进行抽滤至无滤渣，取得提取液备用。将提取液利用旋转蒸发仪旋蒸 1 h 除去乙醇水溶液，置于-40 ℃冷冻干燥机中 48 h 得到总黄酮冻干粉。将冻干粉贮存于-20 ℃避光备用。

1.3.2.1 芦丁标准曲线的绘制

参照朱嘉杰等[14]方法进行改进。称取 5 mg 芦丁标准品于具塞比色管中，加入 55%（*V*/*V*）乙醇溶液 25 mL 配置成 0.2 mg mL^{-1} 的芦丁标准溶液。移取 0、2、4、6、8、10 mL 标准溶液于 25 mL 比色管中，加入 5 wt.% $NaNO_2$ 溶液 1 mL，充分混匀后静置 6 min，再加入 10 wt.% $Al(NO_3)_3$ 溶液 1 mL，充分混匀后静置 6 min。最后加入 4 wt.% NaOH 溶液 10 mL 后静置 15 min，用 55%（*V*/*V*）乙醇溶液定容至 25 mL。在 510 nm 处测定吸光度，每组平行测定 3 次，以芦丁浓度 C 为横坐标，吸光度 A 为纵坐标绘制芦丁标准曲线。拟合得到标准曲线回归方程为 Y=0.272 7c+0.043 9，相关系数 R^2=0.998 8，线性范围 0.1~1.2 mg mL^{-1}。

1.3.2.2 总黄酮提取量的测定

准确移取“1.3.2”中提取到的总黄酮提取液 1 mL 于 25 mL 比色管中，按照“1.3.2.1”方法进行测定吸光度，根据上述标准曲线方程计算出提取液中总黄酮的质量浓度后再代入下式中。总黄酮提取量计算公式如下：

$$S_I = \frac{CVN}{m} \quad (1)$$

式中：

S_I——总黄酮提取量，mg g^{-1}；

C——提取液中总黄酮的质量浓度，mg mL^{-1}；

V——总黄酮提取液体积，mL；

N——提取液的稀释倍数；

m——香露兜粉的质量，g。

1.3.3 单因素实验

根据“1.3.2”中提取工艺分别考察乙醇体积分数（50%、60%、70%、80%、90%，*V*/*V*）、液料比（5:1、10:1、20:1、30:1、40:1、50:1 mL g^{-1}）、超声功率（200、250、300、350、400 W）、超声时间（10、15、20、25、30 min）、微波功率（200、300、400、500、600 W）、微波时间为（10、15、20、25、30 min）、提取温度（30、40、50、60、70 ℃）、提取时间（10、15、20、25、30 min）。将制备得到的黄酮提取液抽滤至无明显滤渣，测定提取液总黄酮含量。得出八个单因素对香露兜叶总黄酮提取量的影响，最终根据单因素实验结果确定响应面试验的因素和水平。

1.3.4 响应面试验优化试验设计

在单因素实验结果基础上，选取乙醇体积分数（A）、液料比（B）、提取温度（C）和微波功率（D）因素为自变量，香露兜总黄酮提取量（Y）为响应值利用 Box-Behnken 设计响应面实验。采用 Design-Expert 设计 4 因素 3 水平试验优化香露兜叶总黄酮提取的工艺参数。因素水平见表 1。

表 1 响应面试验设计因素与水平

Table 1 Design factors and levels of response surface experiment

	因素			
水平	A（乙醇体积分数）/%	B（液料比）/(mL g^{-1})	C（提取温度）/℃	D（微波功率）/W
-1	60	5: 1	50	400
0	70	10: 1	60	500
1	80	20: 1	70	600

1.3.5 香露兜叶黄酮提取物的成分分析

通过液相色谱串联质谱（HPLC-MS/MS）技术分析提取物中成分组成，色谱条件：C18 色谱柱（2.1 mm×50 mm，2.6 μm），流动相为 0.01%乙酸水溶液+异丙醇：乙腈（1:1，*V*/*V*），流量为 0.3 mL min^{-1}，梯度洗脱，柱温为 25 ℃，自动进样器温度 4 ℃，进样体积为 2 μL。质谱条件：加热器温度 350 ℃，鞘气流速 15 L min^{-1}，辅助气流速 4.5 L min^{-1}，吹扫气流速 0.3 L min^{-1}，电喷雾电压 3.8 kV，毛细管温度 320 ℃，全 MS 分辨率：60 000，MS/MS 分辨率为 15 000，

碰撞能量：SNCE20/30/40。采用正、负检测模式。原始数据经 Proteo Wizard 软件转成 mz XML 格式后使用 R 语言包进行化合物鉴定，所用数据库为 Biotree DB（V3.0）和 BT-Plant（V1）6 进行分析。

1.3.6 香露兜叶黄酮提取物 DPPH 清除率的测定

参照朱嘉杰等[14]方法进行改进。用无水乙醇溶解香露兜叶黄酮提取物冻干粉，配置成不同质量浓度的溶液待测。吸取不同浓度样液 100 μL 于 96 孔板中，加入 100 μL DPPH-乙醇工作液，避光放置 30 min。随后在酶标仪波长为 517 nm 处检测样品吸光度，平行测定三组并取平均值。配置同等浓度的 Vc 作为阳性对照组。利用 GraphPad Prism 9.5 软件结合质量浓度和清除率计算 IC_{50}，将质量浓度转换为对数形式后进行非线性回归分析，拟合曲线后查看 IC_{50}。DPPH 清除率按以下公式计算：

$$S_2=[1-\frac{A_1-A_2}{A_3}]\times 100\% \quad (2)$$

式中：

S_2——DPPH 自由基清除率，%;

A_1——加入提取物的吸光值;

A_2——本底吸收的吸光值;

A_3——空白溶液的吸光值。

1.3.7 香露兜黄酮提取物 $ABTS^+$ 清除率的测定

参照朱嘉杰等[14]方法进行改进。吸取不同质量浓度样液 100 μL 于 96 孔板中，加入 100 μL $ABTS^+$工作液，避光放置 10 min。在酶标仪波长为 734 nm 处检测样品吸光强度，平行测定三组并取平均值，其吸光度记为 As。以含样品的蒸馏水溶液设置为对照组，其吸光度记为 Ac，以蒸馏水和 $ABTS^+$工作液的混合溶液设置为空白对照组，其吸光度记为 Ab。以 Vc 作为阳性对照，IC_{50} 计算方法同上。$ABTS^+$清除率按以下公式计算：

$$S_3=[1-\frac{As-Ac}{A_b}]\times 100\% \quad (3)$$

式中：

S_3——$ABTS^+$自由基清除率，%;

As——样品和 ABTS 反应后的吸光度;

Ac——蒸馏水代替 ABTS 的吸光度;

A_b——蒸馏水代替样品的吸光度。

1.3.8 氧自由基清除能力

参照 He 等[15]方法进行改进。用 PBS 溶液配置 6.17 mmoL L^{-1} 荧光素钠和 0.05 moL L^{-1} 的 AAPH 工作液备用。在黑色 96 孔板各微孔中加入 20 μL 一系列不同质量浓度的样液和 Trolox 溶液后加入 50 μL 荧光素钠工作液，37 ℃温育 15 min，再加入 130 μL 500 μmol·L^{-1} AAPH，设置+AAPH 孔为加入荧光素钠工作液和 AAPH 工作液，-AAPH 孔为只加入荧光素钠工作液作为对照。最后将 96 孔板放入预热到 37 ℃的荧光酶标仪中设置激发波长 485 nm，发射波长 538 nm，每隔 10 min 记录一次荧光，持续 120 min。将测量的荧光值归一化处理后得到荧光衰退曲线。以相对荧光强度作为纵坐标，以反应时间作为横坐标，描绘荧光探针随时间的衰减曲线。

1.3.9 细胞抗氧化活性测定

1.3.9.1 细胞毒性试验

将 HepG2 复苏至细胞培养皿中，放置于 37 ℃、5%（φ）的 CO_2 培养箱中培养。培养 24 h 后当细胞密度生长至 80%~90%左右用胰酶消化后进行传代。取处于对数生长期的 HepG2 细胞，以 5×10^5 个/孔的数量接种于 96 孔板，用 DMEM 培养液（1%双抗、10%胎牛血清）在培养箱中培养 24 h。弃除上清液，加入 100 μL 含不同质量浓度的香露兜叶黄酮提取物新鲜培养液。再培养 24 h 后弃培养液，加入 100 μL 含 10% CCK-8 试剂的培养液，继续培养 2 h。最后，通过酶标仪在 450 nm 处测定其吸光值 As。细胞存活率按以下公式计算：

$$S_4=[\frac{A_4-A_5}{A_6-A_5}]\times 100\% \quad (4)$$

式中：

S_4——细胞存活率，%;

A_4——样品组吸光值;

A_5——空白组吸光值;

A_6——对照组吸光值。

1.3.9.2 香露兜叶黄酮提取物在细胞中的抗氧化能力

参照吴正双等[16]方法进行改进。取 100 μL HepG2 细胞稀释液以每毫升 8×10^4 个接种于黑色 96 孔细胞培养板中，并在 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中培养 24 h。培养结束后，弃除培养基，用 PBS 缓冲溶液清洗各孔一次。将含有不同质量浓度的香露兜叶黄酮提取物培养液或纯 DMEM 培养基（空白组）分别与 DCFH-DA 溶液（50 μmol·L^{-1}）等比例混匀加入细胞培养板，继续培养 1 h。然后，弃去上清，PBS 清洗 3 次后，每孔加入 100 μL 的 100 μmol·L^{-1} AAPH 溶液（对照组用 PBS 代替）。最后将 96 孔板放入预热到 37 ℃的荧光酶标仪中设置激发波长 485 nm，发射波长 538 nm，每隔 10 min 记录一次荧光，持续 60 min。将测量的荧光值归一化处理后得到荧光衰退曲线。

1.4 数据处理

采用 IBM SPSS Statistics 软件进行显著性差异分析，Design-Expert 8.0.6.1 软件对结果进行响应面分析，应用 Origin Pro 2021 软件作图。所有试验均进行三次重复并取平均值，P<0.05 被设定为差异显著。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

由图 1A 可知，随着乙醇体积分数（*V*/*V*）的增加黄酮含量逐渐提高，在 70%（*V*/*V*）时，黄酮含量最高为 10.77 mg g^{-1}，显著高于其他条件下的总黄酮含量（P＜0.05）。但添加 80%（*V*/*V*）乙醇时，出现下降趋势，这可能由于香露兜叶黄酮的极性较高，且在高浓度乙醇中溶解度较低，并且使得醇溶性杂质增加[17]。

由图 1B 可知，随着提取溶剂的增多，在液料比为 10:1 时黄酮含量最高为 10.75 mg g^{-1}。随后提取量呈下降趋势。这可能由于在物料量固定时，适量增加提取剂可增大其与原料的接触面积，促进黄酮类成分扩散至溶剂中，使反应更充分。但随着溶剂用量过大，溶质占比降低，黄酮类成分在溶剂中的比例减少，无法提升提取率且损耗提取剂，增加成本[18]。

由图 1C 可知，随着超声功率由 200~350 W 时黄酮含量最高为 11.67 mg g^{-1}。当超声功率 400 W 时呈现下降的趋势。这可能是当超声功率增大时，提取液中的小气泡会在超声作用下发生共振、增大并使细胞破裂，释放成分。但超声功率越大时释放的高温能量和共振效果就越强，这会对黄酮类化合物的结构造成裂解，使提取效率逐渐降低，所以选择超声功率为 350 W[17]。

由图 1D 可知，黄酮含量随着超声时间的增加逐渐呈现上升趋势，在 20 min 时最高为 11.47 mg g^{-1}，而后呈现出缓慢的下降趋势。这可能由于在提取完全后，持续加热会使杂质的溶出率增加导致提取率下降，选择超声时间 20 min[17]。

由图 2A 可知，微波功率为 200~400 W 时黄酮含量有所增加，增加较为平稳，变化不显著（P＞0.05）。虽然微波对植物细胞壁产生一定的破坏，但是黄酮类化合物还未较多释放。当微波功率 500 W 时提取量最大为 10.90 mg g^{-1}。当微波功率较高时，黄酮类化合物可能会发生糖苷键断裂、羟基脱水等，还可能会引起黄酮分子极化和振动，改变化学键的稳定性导致化合物稳定性降低造成黄酮类化合物的降解[19]。

由图 2B 可知，随着微波时间的延长，黄酮含量呈现先逐渐上升而后下降的趋势，在 20 min 时最高为 11.14 mg g^{-1}。植物细胞长时间吸收过多微波能量，结构被过度破坏，导致细胞内其他成分大量溶出。同时可能引发副反应使黄酮类化合物结构破坏、降解，从而降低黄酮含量，所以选择微波时间 20 min[10]。

由图 2C 可知，在 30~60 ℃时随着提取温度不断升高，黄酮含量也逐渐提升，在 60 ℃时提取量最高为 11.53 mg g^{-1}，70 ℃时开始下降，这可能由于高温使提取溶剂挥发较快造成溶剂损失。另外，高温也会影响黄酮类化合物的稳定性，使其发生降解和氧化以此影响提取量[20]。

由图 2D 可知，当提取时间 25 min 时提取量最高为 11.67 mg g^{-1}。这可能与黄酮类物质长时间在高温下发生分解和提取液中其它物质变性造成凝聚从而阻碍提取溶剂和黄酮类物质之间的作用有关，所以选择提取时间为 25 min[18]。

根据单因素试验结果，确定香露兜叶总黄酮提取的超声功率为 350 W、超声时间为 20 min、微波时间为 20 min 以及提取温度为 60 ℃。在此基础上以提取效率、节约时间和成本等因素进行综合考虑，进一步选取乙醇体积分数、液料比、提取温度和微波功率这四种因素进行响应面分析。

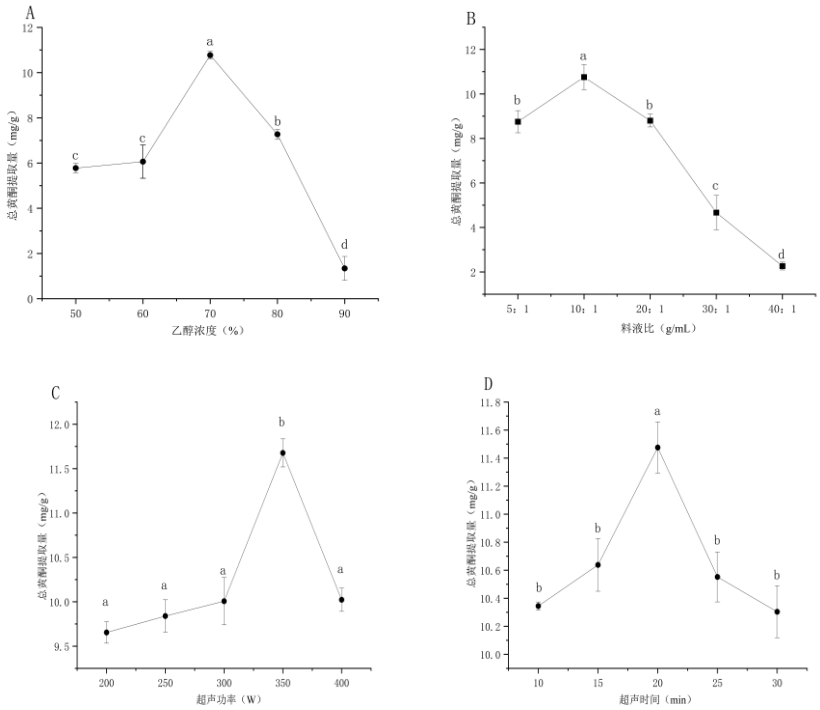


图 1 乙醇体积分数、液料比、超声功率和超声时间对香露兜叶提取物中黄酮含量的影响

Fig.1 Effect of different factors on the flavonoid content in the extracts of *Pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf

注：图中 a、b、c、d 表示不同因素对香露兜叶提取物中黄酮含量影响的差异显著性（$P<0.05$），下同。

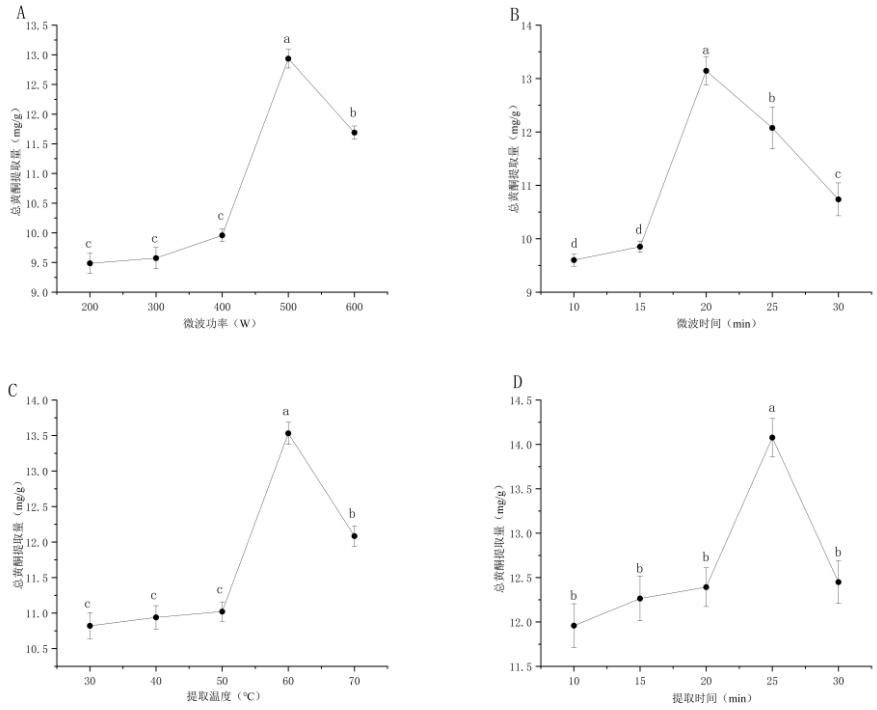


图 2 微波功率、微波时间、提取温度和提取时间对香露兜叶提取物中黄酮含量的影响

Fig.2 Effect of different factors on the flavonoid content in the extracts of *Pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf

2.2 响应面实验与结果分析

2.2.1 响应面实验设计结果和交互作用分析

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对响应面实验数据进行分析，结果见表 2。香露兜叶总黄酮提取量的拟合回归方程为：

$Y=11.52+0.78A-1.13B+0.44C+0.8D+1.08AB+1.26AC-0.32AD+0.28BC+0.02BD+0.7CD-1.61A^2-0.69B^2-0.002C^2-0.69D^2$。该模型的方差分析结果和系数显著性检验如表 3 所示。由表 3 可知，F 回归为 19.75，$P<0.0001$，表明该模型极显著；失拟项 $P=0.135\ 6>0.05$，模型失拟度不显著；校正决定系数 $R^2_{adj}=90.38\%$，说明该模型拟合程度良好。一次项 A、B、C、D 影响极显著（$P<0.01$）；交互项 AB、AC 影响极显著（$P<0.01$），CD 显著（$P<0.05$）；A^2、B^2、D^2 影响极显著（$P<0.01$）。决定系数 $R^2=0.951\ 9$，该模型拟合的情况良好，能较好地反映各因素间的关系，可以用来预测总黄酮提取量，且根据 F 值可判断各响变量对香露兜叶总黄酮提取量的影响大小为：液料比>微波功率>提取温度>乙醇体积分数。

乙醇体积分数（A）、液料比（B）、提取温度（C）和微波功率（D）因素的交互作用对总黄酮提取量影响的响应面曲线图如图 3 所示。由图可知 A 和 B、A 和 C、C 和 D 之间的等高线密集，说明二者交互作用对响应值的影响明显，与方差分析结果相对应。其中 A 和 B、B 和 C 等高线趋向于椭圆形，表明这两因素交互作用显著性较强。适当的乙醇体积分数可以确保溶剂具有足够的极性来溶解黄酮类化合物，液料比则可以确保溶剂与原料之间存在足够的浓度梯度，从而促进黄酮类化合物的扩散[17]。所以乙醇体积分数和液料比条件在香露兜黄酮提取工艺中体现出较强的相互作用。

表 2 响应面试验设计和结果

Table 2 Response surface experimental design and results

实验号	因素				总黄酮提取量/(mg g^{-1})
	A（乙醇体积分数）/%	B（液料比）/(mL g^{-1})	C（提取温度）/℃	D（微波功率）/W	
1	1	1	1	0	12.12±0.19
2	0	-1	-1	0	11.40±0.32
3	-1	0	0	0	6.05±0.15
4	0	1	1	-1	9.78±0.02
5	0	-1	1	0	11.78±0.79
6	0	0	-1	0	9.28±0.15
7	1	1	0	1	10.97±0.72
8	1	1	0	-1	9.99±0.02
9	0	1	0	0	11.05±0.30
10	1	-1	0	0	10.15±0.72
11	0	1	-1	1	10.15±0.72
12	0	1	0	-1	6.83±0.45
13	0	1	0	0	11.55±0.30
14	-1	1	-1	0	10.54±0.36
15	-1	1	1	0	8.47±0.16
16	0	0	0	1	9.90±0.13
17	0	-1	0	-1	10.74±0.35
18	0	0	1	0	10.78±0.06
19	0	0	0	-1	8.25±0.36
20	-1	1	0	1	9.06±0.21
21	0	-1	0	1	12.31±0.35
22	0	1	1	1	12.79±0.86
23	0	1	0	0	11.70±0.30
24	-1	-1	0	0	11.00±0.38

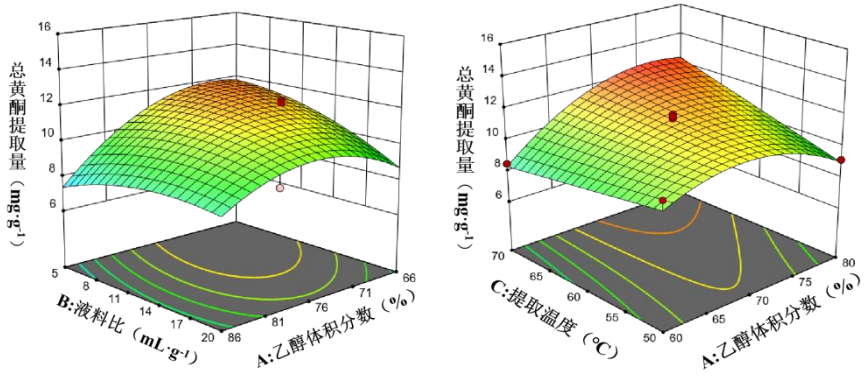
25	1	0	0	0	9.24±0.86
26	1	1	-1	0	9.14±0.02
27	0	1	-1	-1	9.34±0.37
28	0	1	0	0	11.43±0.30
29	0	1	0	0	11.84±0.30

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for regression simulation

变异来源	平方和	df	均方	F 值	*P* 值	显著性
模型	66.27	14	4.73	19.79	<0.000 1	显著
A	7.31	1	7.31	30.57	<0.000 1	**
B	15.41	1	15.41	64.44	<0.000 1	**
C	2.32	1	2.32	9.69	0.007 6	**
D	7.77	1	7.77	32.47	<0.000 1	**
AB	4.66	1	4.66	19.49	0.000 6	**
AC	6.38	1	6.38	26.66	0.000 1	**
AD	0.4	1	0.4	1.66	0.218 4	
BC	0.32	1	0.32	1.32	0.269 5	
BD	0.001 6	1	0.001 6	0.006 6	0.936 4	
CD	1.94	1	1.94	8.13	0.012 8	*
A^2	16.88	1	16.88	70.58	<0.000 1	**
B^2	3.13	1	3.13	13.08	0.002 8	**
C^2	0.000 035 9	1	0.000 036	0.000 15	0.990 4	
D^2	3.05	1	3.05	12.74	0.003 1	**
残差	3.35	14	0.24			
失拟项	2.98	10	0.3	3.22	0.135 6	不显著
纯误差	0.37	4	0.093			
总和	69.62	28				
决定系数 R^2	0.951 9					
调整 R^2_{Adj}	0.903 8					

注：**，*P*<0.01，差异极显著；*，*P*<0.05，差异显著。



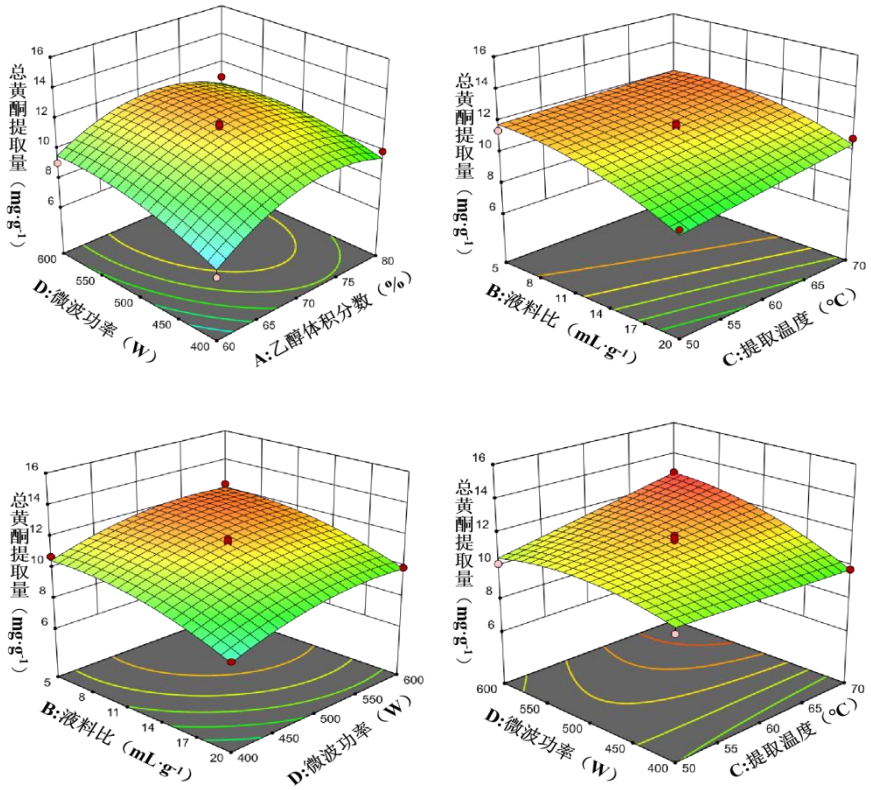


图 3 各因素交互下香露兜叶总黄酮提取量的响应面图

Fig.3 Response surface plot showing the interactive effects of total flavonoids from *Pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf

2.2.2 验证试验

对实验模型中数据进行分析后通过 Design Expert 软件优化后得到最佳提取工艺为：乙醇体积分数为 74.04%（*V*/*V*）、液料比为 10.52:1、提取温度为 61.37 ℃、微波功率为 527.22 W，理论提取量 11.99 mg g^{-1}。结合实际条件，在进行验证时将工艺参数调整乙醇体积分数为 74%（*V*/*V*）、液料比为 10.5:1、提取温度为 61 ℃、微波功率为 530 W。在此条件下总黄酮含量为 12.14 mg g^{-1}，与软件模拟预测值误差为 0.15%，验证了模型的有效性。Son 等[8]在室温下用乙醇溶液浸提 24 h 提取出 130 mg QE/g（槲皮素当量）的香露兜总黄酮。由于检测黄酮含量的方法不同，因此该研究的黄酮含量无法与本实验进行直接比较。但这种方法浸提时间较长，增加时间成本，而室温提取的提取率会随季节与地点的变化产生较大差异，难以进行质控，不利于工业生产，这进一步体现出超声波和微波辅助提取的黄酮类物质的优势。超声波的局部高温高压加速细胞壁破裂，微波快速加热促进超声空化，两者协同使细胞壁破裂更彻底[20]。

2.3 提取物的黄酮类化合物分析鉴定

将冷冻离心沉淀后的上清液进行 UPLC-MS/MS 分析，电喷雾正和负离子模式下的质谱信息见图 4 和图 5。提取液中物质通过与标准品和数据库分析匹配出 256 种化合物，含有脂肪酰类、有机氧化合物、羧酸及衍生物、黄酮类和生物碱类等物质。其中黄酮类化合物有 22 种（见表 4），分子量在 268~740 之间。这些化合物为香露兜叶提取物发挥抗氧化活性奠定一定的物质基础。

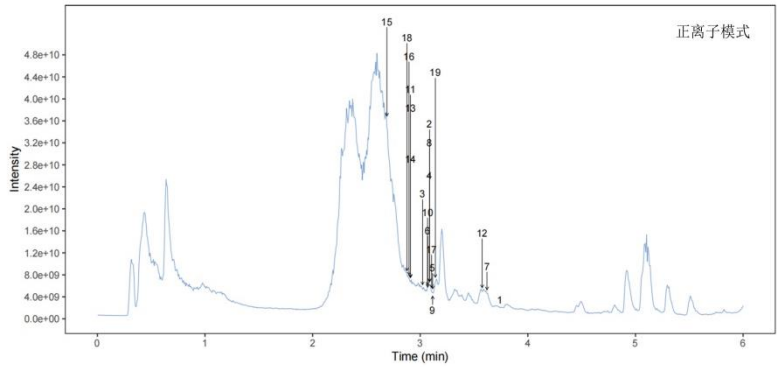


图 4 香露兜叶黄酮提取物总离子流图（正离子模式）

Fig.4 TIC chromatogram of flavonoids extracts from *Pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf（[M+H]$^+$）

注：1: 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮；2: 木犀草素 7-O-新橙皮苷；3: 6-羟基木犀草素-7-葡萄糖苷；4: 山柰酚-3-新橙皮糖苷；5: 假荆芥甙；6: 异鼠李素-3-O-新橙皮苷；7: 川陈皮素；8: 山柰酚-3-O-芸香糖苷；9: 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷；10: 水仙苷；11: 刺槐素；12: 异芒柄花黄素；13: 蝶豆素；14: 罗汉果黄素；15: 维采宁-II；16: 三色堇黄苷；17: 槲皮素；18: 异牡荆素 2'-O-葡萄糖苷；19: 山柰酚。

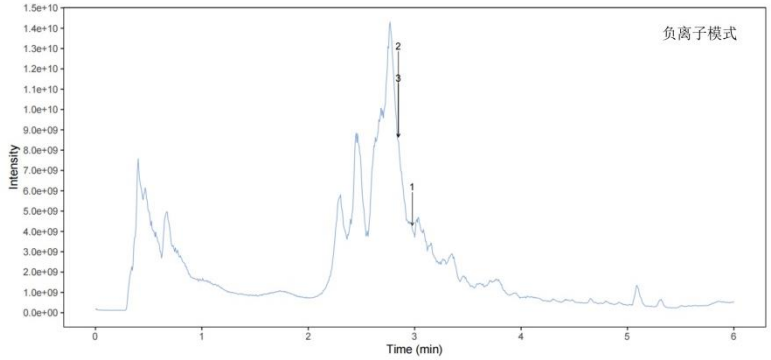


图 5 香露兜叶黄酮提取物总离子流图（负离子模式）

Fig.5 TIC chromatogram of flavonoids extracts from *Pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf（[M+H]$^-$）

注：1: 芦丁；2: 异夏佛托苷；3: 维采宁-III。

表 4 黄酮类化合物成分解析

Table 4 Identification of flavonoids constituents

编号	保留时间/min	分子离子峰	质荷比 m/z	鉴定结果	分子式	CAS	相对分子质量
1	2.69	$[M+H]^+$	595.1675	维采宁-II	$C_{27}H_{30}O_{15}$	23666-13-9	594.51
2	2.84	$[M-H]^-$	563.1389	异夏佛托苷	$C_{26}H_{28}O_{14}$	52012-29-0	564.49
3	2.84	$[M-H]^-$	563.1389	维采宁-III	$C_{26}H_{28}O_{14}$	59914-91-9	564.49
4	2.87	$[M+H]^+$	595.1682	异牡荆素 2'-O-葡萄糖苷	$C_{27}H_{30}O_{15}$	60767-80-8	594.52
5	2.89	$[M+H]^+$	579.1732	三色堇黄苷	$C_{27}H_{30}O_{14}$	40581-17-7	578.52
6	2.90	$[M+H]^+$	741.2265	蝶豆素	$C_{33}H_{40}O_{19}$	55804-74-5	740.66
7	2.90	$[M+H]^+$	741.2265	罗汉果黄素	$C_{33}H_{40}O_{19}$	156980-60-8	740.66
8	2.90	$[M+H]^+$	741.2265	刺槐素	$C_{33}H_{40}O_{19}$	301-19-9	284.26
9	2.97	$[M-H]^-$	609.1447	芦丁	$C_{27}H_{30}O_{16}$	153-18-4	286.32
10	3.02	$[M+H]^+$	465.1044	6-羟基木犀草素-7-葡萄糖苷	$C_{21}H_{20}O_{12}$	54300-65-1	448.38
11	3.06	$[M+H]^+$	625.1784	水仙苷	$C_{28}H_{32}O_{16}$	604-80-8	624.56
12	3.06	$[M+H]^+$	625.1784	异鼠李素-3-O-新橙皮苷	$C_{28}H_{32}O_{16}$	55033-90-4	624.54
13	3.08	$[M+H]^+$	595.1675	木犀草素 7-O-新橙皮苷	$C_{27}H_{30}O_{15}$	25694-72-8	594.52

14	3.08	$[M+H]^+$	595.1675	山柰酚 3-新橙皮糖苷	$C_{27}H_{30}O_{15}$	32602-81-6	594.52
15	3.08	$[M+H]^+$	595.1675	山柰酚-3-O-芸香糖苷	$C_{27}H_{30}O_{15}$	17650-84-9	594.52
16	3.10	$[M+H]^+$	303.0515	槲皮素	$C_{15}H_{10}O_7$	117-39-5	302.23
17	3.11	$[M+H]^+$	479.1202	假荆芥甙	$C_{22}H_{22}O_{12}$	569-90-4	478.41
18	3.11	$[M+H]^+$	479.1202	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷	$C_{22}H_{22}O_{12}$	5041-82-7	478.40
19	3.14	$[M+H]^+$	287.056	山柰酚	$C_{15}H_{10}O_6$	520-18-3	286.23
20	3.57	$[M+H]^+$	269.0793	异芒柄花黄素	$C_{16}H_{12}O_4$	486-63-5	268.26
21	3.62	$[M+H]^+$	403.1402	川陈皮素	$C_{21}H_{22}O_8$	478-01-3	402.39
22	3.74	$[M+H]^+$	433.1508	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	$C_{22}H_{24}O_9$	1178-24-1	432.42

2.4 香露兜叶黄酮提取物的抗氧化性

2.4.1 DPPH 自由基清除能力

由图 6 所示，香露兜叶黄酮提取物的 DPPH 自由基清除能力与质量浓度呈现量效关系。质量浓度在 300 μg mL^{-1} 时清除率较为平稳。虽然总体清除率低于 Vc，但其在 5 000 μg mL^{-1} 清除率达到近 95%。由此说明香露兜叶黄酮提取物具有一定的清除 DPPH 自由基作用。香露兜叶总黄酮对 DPPH 自由基清除率的 IC_{50} 为 54.4 μg mL^{-1}，而使用乙醇溶液在常温下浸提 24 h 所得的香露兜叶总黄酮提取物清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 为 900 μg mL^{-1}[8]。此外，还有研究表明用乙醇溶液提取 72 h 香露兜醇提物清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 为 110 μg mL^{-1}[21]。这可能由于采用超声波和微波协同使更多黄酮类化合物溶出，提高了提取物清除 DPPH 自由基的能力。

研究表明槲皮素、芦丁、木犀草素、山柰酚和川陈皮素等在清除 DPPH 自由基中都具有较低的 IC_{50}[22]。这些化合物中的 3'和 4'-羟基能够提供氢原子，形成稳定的半醌自由基中间体来增强抗氧化能力，使 DPPH 自由基的吸收峰逐渐减弱。而羰基及双键能促进电子的转移，电子供体基团能够通过共振效应稳定黄酮类化合物的氧化态[23]。此外，还可以通过转移质子和电子来起到中和自由基的作用。香露兜叶提取物清除 DPPH 自由基活性可能与这些黄酮醇类和异黄酮类化合物有关。

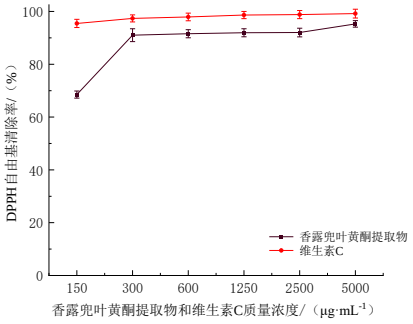


图 6 香露兜叶黄酮提取物 DPPH 自由基清除能力

Fig.6 Inhibitory effect on DPPH free radical of flavonoids extracts from *Pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf

2.4.2 ABTS$^+$自由基清除能力

由图 7 所示，香露兜叶黄酮提取物的 ABTS$^+$自由基清除能力随着质量浓度的增加呈现明显上升趋势，与浓度呈现量效关系，在 5 000 μg mL^{-1} 时与 Vc 较为接近。黄酮提取物对 ABTS$^+$自由基清除率的 IC_{50} 为 141.3 μg mL^{-1}。在玫瑰叶、乌榄叶和木橘叶的黄酮提取物中对 ABTS$^+$自由基清除率的 IC_{50} 分别为 10、158、282 μg mL^{-1}[24-26]。由此说明黄酮提取物具有较好清除 ABTS$^+$自由基作用。其中，玫瑰叶黄酮 IC_{50} 更低的原因一方面可能是原料中黄酮含量、组成成分和不同成熟度导致其清除 ABTS$^+$自由基的差异。另一方面采用甲醇溶剂进行索式萃取可以提取出极性高的黄酮醇类、二氢黄酮类和黄酮苷类化合物[24]。尽管甲醇能够溶解更多极性成分，但也会溶解更多杂质，导致提取物纯度较低，而且后续需要更多的纯化步骤。此外，甲醇毒性较大高，不利于在提取加工和生产中应用。

在清除 ABTS$^+$自由基中香露兜叶提取物中黄酮类化合物的酚羟基向 ABTS 自由基提供氢原子，其还可以作为电子供体，通过单电子转移过程将电子传递给 ABTS$^+$自由基使其还原为无色的 ABTS，酚羟基还易形成酚氧负离

子，从而增强电子转移能力[27]。此外，提取物中黄酮类化合物的抗氧化能力还与酚羟基的解离能有关，较低的解离能更易通过氢原子转移机制清除自由基。提取物中鉴定出的槲皮素、川陈皮素和芦丁等都具有较强的抗氧化效果，这可能与其在 5 000 μg mL^{-1} 时对 ABTS^{+}自由基清除能力与 Vc 相当存在一定的关系。

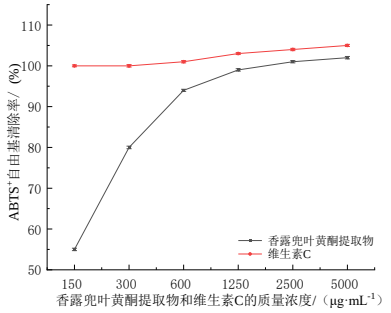


图 7 香露兜叶黄酮提取物 ABTS^{+}自由基清除能力

Fig.7 Scavenging ability on ABTS^{+} free radical of flavonoids extracts from *Pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf

2.4.3 氧化自由基吸收能力

不同浓度香露兜叶黄酮提取物对荧光猝灭的影响如图 8 所示。通过测定黄酮提取物与 AAPH 诱导产生的荧光猝灭强度衰减速率来反映其抗氧化能力。随着黄酮提取物质量浓度的增加，荧光衰退曲线速率逐渐减缓，与浓度呈现量效关系。在 625~2 500 μg mL^{-1} 时表现出明显减缓的现象，2 500 μg mL^{-1} 的黄酮提取物具有较好减缓荧光猝灭的效果。以 Trolox（μmol·L^{-1}）当量表示提取物的抗氧化能力，625、1 250 和 2 500 μg mL^{-1} 的 ORAC 值分别为 10.9、15.1、16.5 μmol TE mL^{-1}。提取物的氧自由基吸收能力可能与其黄酮类物质所含有的酚羟基数量有关[28]。黄酮类化合物通过酚羟基提供氢原子，易与 AAPH 产生的过氧自由基发生氢原子转移反应，使自由基转化为更稳定的物质。在鉴定出的黄酮类化合物中，槲皮素、6-羟基木犀草素、异芒柄花黄素和川陈皮素均含有 5 个酚羟基；山柰酚 3-新橙皮糖苷和山柰酚-3-O-芸香糖苷和山柰酚含有 3 个酚羟基；其余化合物均含有 4 个酚羟基。这些物质可能与香露兜叶黄酮提取物具有一定的氧化自由基吸收能力有关。

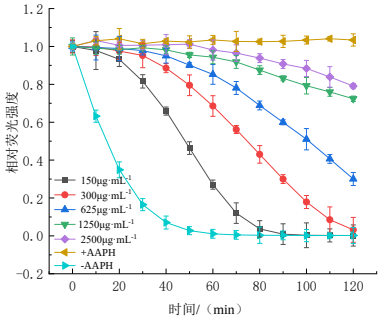


图 8 香露兜叶黄酮提取物对荧光猝灭的影响

Fig.8 Effect of adding flavonoids extracts from *Pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf on fluorescence quenching

注：+AAPH：实验组中加入 500 μmol·L^{-1} AAPH；-AAPH：实验组中不加入 AAPH。

2.4.4 香露兜叶黄酮提取物的细胞抗氧化活性

2.4.4.1 细胞毒性

不同质量浓度香露兜叶黄酮提取物对 HepG2 细胞的存活率影响如图 9 所示，37~1 250 μg mL^{-1} 的黄酮提取物对 HepG2 细胞无明显毒性作用，不影响 HepG2 细胞的生长，当浓度增加到 2 500 μg mL^{-1} 时，细胞存活率显著（P<0.05）降低到 40%。细胞存活率在 5 000 μg mL^{-1} 时达到基本无存活的状态。这可能在高浓度下的黄酮提取物与 HepG2 细胞膜上脂质和蛋白质发生强烈的相互作用，会破坏细胞膜的完整性和通透性使细胞内离子浓度紊乱，进而影响细胞的正常生理功能，最终导致其死亡[29]。为了在 HepG2 细胞状态较好时能体现其在细胞内抗氧化的最佳效果，所以选择对 625~1 250 μg mL^{-1} 的黄酮提取物进行试验。

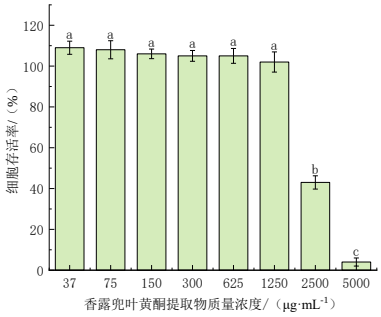


图 9 香露兜叶黄酮提取物对 HepG2 细胞存活率的影响

Fig.9 Effect of flavonoids extracts from *Pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf on the survival rate of HepG2 cell

2.4.4.2 细胞内抗氧化活性测定

不同质量浓度香露兜叶黄酮提取物对细胞荧光强度的影响如图 10 所示。细胞内抗氧化法是一种评价天然产物提取物中抗氧化活性的重要方法，比化学法更接近生物机体水平，可以在细胞水平上发挥抗氧化反应的潜力[25]。在 60 min 时 625 μg mL^{-1} 的提取物相对荧光强度为 7.6，1 250 μg mL^{-1} 为 3.79。细胞荧光强度随黄酮提取物质量浓度的增加而下降，且加入黄酮提取物的细胞荧光强度与+AAPH 相比具有明显差异，625 μg mL^{-1} 的提取物具有减缓荧光强度增加的趋势，1 250 μg mL^{-1} 提取物的抗氧化效果最好。这表明提取物能在一定程度上抑制 AAPH 诱导产生的 ROS，体现出良好的细胞内抗氧化能力。槲皮素、芦丁、川陈皮素、山奈酚等都是一种有效 ROS 清除剂，可以保护机体免受氧化应激，香露兜叶黄酮提取物对细胞内 ROS 的清除作用可能与这些物质有关[30]。

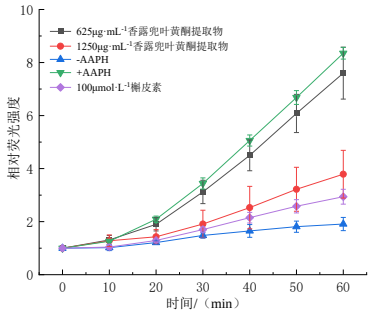


图 10 香露兜叶黄酮提取物对细胞荧光强度的影响

Fig.10 Effect of flavonoids extracts from *pandanus amaryllifolius* Roxb.leaf on cellular fluores cence intensity

注：+AAPH：实验组中加入 100 μmol·L^{-1} AAPH；-AAPH：实验组中不加入 AAPH。

3 结论

该研究采用超声波-微波辅助提取香露兜叶总黄酮，在最佳提取工艺条件下香露兜叶总黄酮提取量为 12.14 mg g^{-1}。在提取物中共鉴定出 22 种黄酮类化合物，其中包括槲皮素、芦丁、川陈皮素和 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮等。香露兜叶总黄酮提取物在抗氧化活性测试中表现出一定的 DPPH 和 ABTS^{+}自由基清除能力，且与质量浓度呈量效关系。此外，在氧化自由基吸收和细胞水平上也展现出良好的抗氧化活性，这意味着其有作为天然抗氧化剂的潜力。该试验为香露兜叶总黄酮的提取提供一种绿色高效的工艺参考，并提高总黄酮的提取含量，解析提取物中黄酮类化合物的组成进一步对香露兜资源高值化开发和利用提供参考。在后续研究中可对香露兜叶黄酮化合物进行分离纯化等，并深入研究其在体内和体外的生理活性作用。

参考文献

[1] WANG W Y, REN Z Y, ZHENG S, et al. Botany, Phytochemistry, pharmacology, and applications of *Pandanus amaryllifolius* Roxb.: A review [J]. Fitoterapia, 2024, 177: 106144.

[2] 郭培培.热带特色香料香露兜资源评价与产品工艺研发[D].雅安:四川农业大学,2020.

[3] DJENAR N S, MULYONO E W S, SAPUTRA T R. The effect of microwave power variations on phytochemical characteristic of pandan leaves (*Pandanus Amaryllifolius*) using the Microwave-Assisted Extraction (MAE)[C]//Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing, 2020, 1450(1): 012007.

[4] GHASEMZADEH A, JAAFAR H Z. Optimization of reflux conditions for total flavonoid and total phenolic extraction and enhanced antioxidant capacity in pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) using response surface methodology [J]. The Scientific World Journal, 2014, 2014(1): 523120.

[5] DONCHEVA T, KOSTOVA N, TOSHKOVSKA R, et al. Alkaloids from *Pandanus amaryllifolius* and *Pandanus tectorius* from Vietnam and their anti-inflammatory properties[C]//Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences. 2022, 75(6): 812-820.

[6] THOI N D N, CODE Q. Hypolipidemic effect of ethanolic extract from *Pandanus amaryllifolius* leaves on triton WR-1339-induced hyperlipidemia in mice [J]. IJPR, 2018, 8(12): 131-136.

[7] WANG G Z, WANG Y H, YAO L I, et al. Pharmacological activity of quercetin: an updated review [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2022, 1: 3997190.

[8] SON H L, LUYNH B N C, MINH T V. Effect of different drying methods on the total phenolic and flavonoid content and DPPH free-radical scavenging activity of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Planted in Mekong Delta [J]. Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology, 2023, 9(2): 36-45.

[9] 李伟.黄酮类化合物提取方法概述[J].农产品加工,2023,14:75-78.

[10] WANG N N, ZHU H G, WANG M H, et al. Recent advancements in Microwave-Assisted extraction of flavonoids: A Review [J]. Food and Bioprocess Technology, 2025, 18(3): 2083-2100.

[11] 王颖,李荣,姜子涛,等.超声-微波协同提取杜仲树皮及树叶中的黄酮类化合物[J].食品工业科技,2018,39(12):154-163.

[12] 闫平,王诗媛,张彦,等.离子液体辅助微波提取紫苏梗中的黄酮[J].食品工业,2024,45(2):31-37.

[13] 王海云.超声波耦合双水相提取藜麦种子中总黄酮工艺优化及其抗氧化性测定[J].中外食品工业,2024,2:4-7.

[14] 朱嘉杰,林捷,刘军,等.慈竹总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性分析[J].食品科技,2024,49(10):247-256.

[15] HE P, ZHANG Y Y, ZHANG Y Y, et al. Isolation, identification of antioxidant peptides from earthworm proteins and analysis of the structure–activity relationship of the peptides based on quantum chemical calculations [J]. Food Chemistry, 2024, 431: 137137.

[16] 吴正双,董捷,张红城,等.应用细胞模型研究蜂胶醇提物的抗氧化活性[J].食品科学,2010,31(19):190-193.

[17] 王云仙,樊莹润,范江平,等.合欢花黄酮超声辅助提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J].中国食品添加剂,2024,35(10):1-10.

[18] 曾俊美,郑启翔,刘杰凤,等.响应面法优化超声波-微波协同提取龙眼壳总黄酮[J].食品工业科技,2018,39(9):154-158.

[19] 熊建文,李俊琦,梁莹,等.大叶千斤拔叶黄酮的超声--微波协同提取工艺及其抗氧化活性研究[J].南方农业学报,2021,52(1):198-205.

[20] 林海生,饶梦微,秦小明,等.红江橙果皮黄酮提取物对 α-葡萄糖苷酶和胰脂肪酶的抑制作用[J].现代食品科技,2023,39(10):89-96.

[21] SUWANNAKUL S, CHAIBENJAWONG P, SUWANNAKUL S. Antioxidant Anti-Cancer and Antimicrobial Activities of Ethanol *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaf extract (*In Vitro*)-A potential medical application [J]. Journal of International Dental & Medical Research, 2018, 11(2): 383-389.

[22] TIAN C L, LIU X, CHANG Y, et al. Investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin [J]. South African Journal of Botany, 2021, 137: 257-264.

[23] APAK R A, ÖZYÜREK M, GÜÇLÜ K, et al. Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2016, 64(5): 997-1027.

[24] GHAZGHAZI H, MIGUEL M, HASNAOUI B, et al. Leaf essential oil, leaf methanolic extract and rose hips carotenoids from *Rosa sempervirens L*. growing in North of Tunisia and their antioxidant activities [J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2012, 6(4): 574-579.

[25] 袁燕,崔雪惠,张立夏,等.乌榄叶黄酮类化合物体内外抗氧化活性的研究[J].食品研究与开发,2019,40(7):46-54.

[26] KUMAR S, BODLA R B, BANSAL H. Antioxidant activity of leaf extract of *Aegle marmelos Correa ex* Roxb [J]. Pharmacognosy Journal, 2016, 8(5): 447-450.

[27] APAK R A, ÖZYÜREK M, GÜÇLÜ K, et al. Antioxidant activity/capacity measurement. 2. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed-mode (electron transfer (ET)/HAT), and lipid peroxidation assays [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(5): 1028-1045.

[28] 申子佳,陈飞龙,贾朝玉,等.酸豆外果皮黄酮类成分及其抗氧化活性评价[J].天然产物研究与开发,2023,35(11):1877-1886.

[29] FONTANA R, CAPRONI A, SICURELLA M, et al. Effects of flavonoids and phenols from moringa oleifera leaf extracts on biofilm processes in *Xanthomonas campestris pv. Campestris* [J]. Plants, 2023, 12(7): 1508.

[30] WANG D D, GAO F J, HU F Y, et al. Nobiletin alleviates astrocyte activation and oxidative stress induced by hypoxia *in vitro* [J]. Molecules, 2022, 27(6): 1962.