

张焕新, 郑 义, 殷 玲, 等. 白背三七黄酮类化合物的提取及抗氧化性评价[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(4): 933-939.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2019.04.026

白背三七黄酮类化合物的提取及抗氧化性评价

张焕新, 郑 义, 殷 玲, 董志俭

(江苏农牧科技职业学院, 江苏 泰州 225300)

摘要: 采用乙醇提取法从白背三七叶中提取具有生物活性的黄酮类化合物, 并对其抗氧化活性进行综合评价。通过正交试验, 确定了白背三七黄酮类化合物提取的最优工艺条件: 乙醇体积分数 80%, 料液比 1: 25 (质量体积比), 提取温度 65 ℃, 提取时间 120 min。在此条件下, 黄酮类化合物平均得率 3.81%; 抗氧化试验结果表明白背三七黄酮类化合物具有较强的抗氧化能力, 且呈明显的剂量效应。对 Fe^{3+} 的还原能力与 V_c 接近 ($P>0.05$), 而远高于 BHT; 对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基均具有很好的清除效果, 其 IC_{50} 值分别为 0.039 mg/ml 和 0.062 mg/ml。白背三七黄酮类化合物对 DPPH 自由基的清除能力极显著高于对照组 BHT 和 V_c ($P<0.01$), 对 ABTS 自由基清除能力显著强于 V_c , 但不如 BHT。

关键词: 白背三七; 黄酮; 抗氧化

中图分类号: S567.23+6 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2019)04-0933-07

Extraction and antioxidant evaluation of flavonoids from *Gynura divaricata* (L.) DC. leaves

ZHANG Huan-xin, ZHENG Yi, YIN Ling, DONG Zhi-jian

(*Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China*)

Abstract: Flavonoids with biological activity were extracted from *Gynura divaricata* (L.) DC. leaves by ethanol method, and their antioxidant activities were evaluated comprehensively. The extraction technique was optimized using orthogonal experiments, and the optimum extraction parameters were as follows: ethanol concentration 80%, material-liquid ratio 1: 25, extracting temperature 65 ℃, extracting time 120 min, and under these conditions, the yield of flavonoids was 3.81%. The results of antioxidant test showed that the flavonoids had strong antioxidant capacity and obvious dose effect ability of Fe^{3+} was close to that of V_c ($P>0.05$), but much higher than that of BHT. The ability of scavenging DPPH and ABTS free radical was strong, and their IC_{50} values were 0.039 mg/ml and 0.062 mg/ml, respectively. The scavenging ability of DPPH radical was significantly higher than that of BHT and V_c ($P<0.01$), and the scavenging ability of ABTS radical was significantly stronger than that of V_c , but not as good as that of BHT.

Key words: *Gynura divaricata* (L.) DC.; flavonoids; antioxidant activity

白背三七[*Gynura divaricata* (L.) DC.]为菊科

菊三七属多年生草本植物, 又名白子菜、明月草、大肥牛等, 原产于广西、福建一带潮湿的阴地上^[1]。白背三七茎叶中含有丰富的粗蛋白、粗纤维、矿物质、维生素等营养素, 中国南方民间常以白背三七为优良野菜食用。同时, 白背三七含有大量活性多糖、黄酮类、萜类、生物碱等天然有效成分^[2-4], 全草可入药。据《中药大辞典》记载, 白背三七味辛、淡, 性平, 具有清热凉血、活血止痛、止血等功效, 对高血

收稿日期: 2018-10-16

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31502020); 江苏省“青蓝工程”项目(20160418); 泰州市“311”人才培养工程项目; 江苏农牧科技职业学院院级课题(NSF201505-2)

作者简介: 张焕新(1972-), 男, 河南叶县人, 博士, 教授, 主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究。hxinzh@hotmail.com

通讯作者: 郑 义, (E-mail) Zysm76@163.com

压、糖尿病、高血脂等症状能起到良好的改善作用。由于具有良好的食、药两用特性,且扦插繁殖系数高、生长迅速,近年来,长江中下游地区陆续出现白背三七大面积的种苗生产和栽培。黄酮类化合物是植物在生长过程中产生的一类次生代谢产物,主要贮藏在叶片之中,是药用植物主要活性成分之一。现代医学研究表明,黄酮类化合物具有抗氧化、抑制癌细胞增殖,消除炎症,降低血糖血脂等生理活性^[5-11],是制备功能性食品和开发高效低毒天然药物的重要原材料。白背三七叶中富含黄酮类化合物,其降血糖功效受到较多关注^[12-14],但提取工艺优化和抗氧化特性鲜有文献报道^[15-16]。

本研究以乙醇水溶液为溶剂,采用正交试验设计优化白背三七黄酮类化合物的提取工艺,并以铁氰化钾 $[K_3Fe(CN)_6]$ 、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH·)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐自由基(ABTS $^{+}$)作为氧化剂,抗氧化剂维生素 C、二丁基羟基甲苯(BHT)为对照,评价白背三七黄酮类化合物的抗氧化活性,旨在为白背三七黄酮类化合物的提取、功能性成分分析及深加工提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与主要试剂

白背三七叶于 2017 年 8 月采自江苏农牧科技职业学院实训基地,芦丁标准品为 TLC 纯,由上海伊卡生物技术有限公司生产;1,1-二苯基-2-苦味酰基苯肼(DPPH·)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS) HPLC 纯,由默克生命科学(上海)有限公司生产;维生素 C 标准品,由上海阿拉丁生化科技股份有限公司生产;二丁基羟基甲苯(BHT)标准品,由美国 Sigma 公司生产;铁氰化钾、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠,无水乙醇,过硫酸钾为分析纯,由医药集团上海化学试剂有限公司生产。试验所用水均为蒸馏水。

1.2 主要仪器及设备

AL204-型分析天平由梅特勒-托利多仪器上海有限公司生产,THZ-82A 水浴恒温振荡器由苏荣华仪器制造有限公司生产,6L-冷冻干燥机由美国 LABCONCO 公司生产,SP-2100UV 紫外分光光度计由上海光谱仪器有限公司生产,ELTA-320 精密 pH 计由梅特勒-托利多中国有限公司生产,TGL-16MB 高速

离心机由长沙湘智离心机仪器有限公司生产,TF101-2 电热鼓风干燥箱由苏州同福烘箱制造有限公司生产。

1.3 试验方法

1.3.1 提取工艺 白背三七鲜叶低温烘干(45℃, 12 h)后,粉碎过 60 目筛。准确称取一定量样品粉末于锥形瓶中,按不同料液比加入乙醇溶液,水浴振荡提取一定时间后过滤,将滤液真空浓缩至黏稠态,冷冻干燥后即得白背三七黄酮类化合物冻干粉,置冰箱冷藏备用^[17]。

1.3.2 工艺优化 在单因素试验基础上,确定单因素的水平范围,以黄酮类化合物得率为考察指标,采用四因素三水平正交试验设计 $L_9(3^4)$ 优化黄酮类化合物提取的最佳工艺组合,各因素与水平见表 1。

表 1 正交因素水平

Table 1 Factors and levels in orthogonal experiment

水平	因 素			
	醇体积 分数(%)	料液比 (g : ml)	提取时间 (min)	提取温度 (℃)
1	60	1 : 20	110	60
2	75	1 : 25	120	65
3	80	1 : 30	130	70

1.3.3 白背三七黄酮类化合物的测定

1.3.3.1 标准曲线的制作 配制不同质量浓度芦丁标准液,以亚硝酸钠-硝酸铝为显色剂,采用比色法($\lambda = 510 \text{ nm}$)测定吸光度^[18]。以芦丁质量浓度为 X 轴、吸光度为 Y 轴,绘制标准曲线;标准曲线的回归方程为: $A = 11.436 0C + 0.000 6$ (C: 芦丁质量浓度, mg/ml; A: 吸光度), $R = 0.999 5$,黄酮类物质在质量浓度为 0~0.06 mg/ml,有良好的线性关系(图 1)。

1.3.3.2 黄酮类化合物得率测定 准确称取一定量白背三七黄酮类化合物,用质量体积分数为 30% 的乙醇溶液定容于 25 ml 比色管中,混合均匀,于波长 $\lambda = 510 \text{ nm}$ 处测定吸光度。按公式(1)计算白背三七黄酮类化合物得率。

$$\text{白背三七黄酮类化合物得率} = (N \times X) / (M \times 100\%) \quad (1)$$

式中: M 为白背三七叶干粉质量(g); N 为提取物的质量(g); X 为提取物中黄酮类化合物含量(%)。

1.3.4 白背三七黄酮类化合物抗氧化试验 准确称取白背三七黄酮类化合物 10.0 mg,放入 100 ml

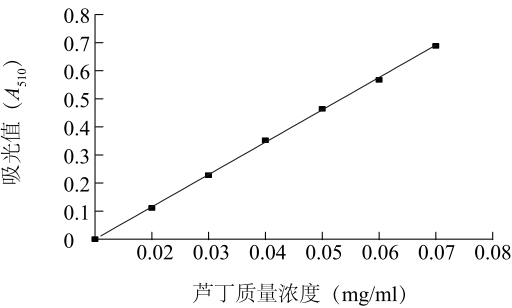


图1 芦丁标准曲线
Fig.1 Standard curve of rutin

棕色容量瓶中,以 65%乙醇溶液溶解定容。分别吸取 0 ml、2.0 ml、4.0 ml、6.0 ml、8.0 ml、10.0 ml 样液于 10 ml 棕色容量瓶中,用乙醇溶液定容,即得质量浓度为 0 mg/ml、0.02 mg/ml、0.04 mg/ml、0.06 mg/ml、0.08 mg/ml、0.10 mg/ml 白背三七黄酮类化合物样液。同样配置相同质量浓度梯度的 V_c 和 BHT 标准液作为对照,评价白背三七黄酮类化合物的抗氧化性能,同一试验重复 3 次^[19]。

1.3.4.1 还原力测定 取不同质量浓度白背三七黄酮类化合物样液 1.0 ml,先后加入 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 2.5 ml 和质量分数为 1% 的 K₃Fe(CN)₆ 溶液 2.5 ml,50 ℃ 水浴反应 20 min,迅速冷却后加入质量分数 10% 的三氯乙酸(TCA)溶液 2.5 ml,振荡均匀后 3 000 r/min 离心处理 10 min,取上清液 2.5 ml,分别加入 0.5 ml 0.1% FeCl₃ 和 2.5 ml 蒸馏水,混合均匀后,置波长 700 nm 处测定吸光度^[20]。吸光度大小表明样品抗氧化活性的强弱。

1.3.4.2 清除 DPPH 自由基试验 参照 Heo 等^[21] 的方法,取不同质量浓度白背三七黄酮类化合物样液 2.0 ml,滴加 0.2 mmol/L DPPH·乙醇溶液 2.0 ml,摇匀后避光反应 30 min。以无水乙醇调零,置波长 517 nm 处测定样品吸光值。同时,分别测定样品溶液和无水乙醇混合液、DPPH·溶液与无水乙醇混合液在 517 nm 处的吸光值^[21]。白背三七黄酮类化合物对 DPPH·清除率按公式(2)计算:

DPPH 自由基清除率=(1- $\frac{A \times A_0}{A_1}$)×100% (2)

式中:A 为黄酮类化合物样液和 DPPH·反应后的吸光值,A₀为样品溶液和无水乙醇混合液的吸光值,A₁为 DPPH·溶液和无水乙醇混合液的吸光值。

1.3.4.3 清除 ABTS 自由基试验 准确称取 0.384 1 g ABTS 和 0.066 2 g K₂S₂O₈ 于烧杯中,用蒸馏水定容

至 100 ml,使 ABTS 和 K₂S₂O₈ 浓度分别为 7.00 mmol/L 和 2.45 mmol/L,将该混合溶液于室温下避光反应 12~16 h。将生成的 ABTS^{•+}溶液用 0.01 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4)稀释至波长 734 nm 处的吸光值为 0.7^[22]。取不同质量浓度白背三七黄酮类化合物样液 0.1 ml,加入 4.9 ml ABTS^{•+}溶液,振荡摇匀,静置 10 min,待反应完全后在 734 nm 处测定反应液的吸光值。白背三七黄酮类化合物对 ABTS^{•+}清除率按公式(3)计算:

ABTS 自由基清除率=(1- $\frac{A_0}{A}$)×100% (3)

式中:A 为黄酮类化合物样液和 ABTS^{•+}反应后的吸光值,A₀为 ABTS^{•+}溶液的吸光值。

2 结果与分析

2.1 提取工艺参数优化

采用四因素三水平 L₉(3⁴) 正交试验对不同因素、水平进行组合,以黄酮类化合物得率为考察指标,优化白背三七黄酮类化合物提取工艺,试验结果与分析见表 2。

表 2 正交试验设计组合及试验结果
Table 2 Arrangement of orthogonal array design and the experimental results

试验组	因 素				黄酮类化合物得率 (%)
	A (乙醇体积分数)	B (料液比)	C (提取时间)	D (提取温度)	
1	1	1	1	1	2.08
2	1	2	2	2	2.78
3	1	3	3	3	2.64
4	2	1	2	3	3.15
5	2	2	3	1	2.89
6	2	3	1	2	3.25
7	3	1	3	2	3.48
8	3	2	1	3	3.61
9	3	3	2	1	3.18
K1	7.50	8.71	8.94	8.15	
K2	9.29	9.28	9.11	9.51	
K3	10.27	9.07	9.01	9.40	
k1	2.50	2.90	2.98	2.72	
k2	3.10	3.09	3.04	3.17	
k3	3.42	3.02	3.00	3.13	
R	0.92	0.19	0.06	0.45	
最优水平	A3	B2	C2	D2	

对不同因素水平组合条件下所得黄酮类化合物得率进行极差分析。由表 2 可知,在试验确定水平范围内,各因素对黄酮类化合物得率的影响大小依次为:A(乙醇体积分数)>D(提取温度)>B(料液比)>C(提取时间);乙醇法提取白背三七黄酮类化合物最优工艺组合为:A3B2C2D2,即:乙醇体积分数 80%,料液比 1:25(质量体积比),提取时间 120 min,提取温度 65℃。在此条件下可以从白背三七中获得最高得率的黄酮类化合物。

在试验选定的水平范围内,提取时间对白背三七黄酮类化合物得率的影响较小(极差最小),以其作误差项,采用 SPSS16.0 对正交试验结果进行方差

分析,结果见表 3。由表 3 可知,试验模型 F 值为 119.94,产生误差的可能性只有 0.008,具有显著性。决定系数 $R^2=0.997$,说明试验模型与实际试验结果具有高度的拟合性($P<0.05$),可以用此模型来预测和分析白背三七黄酮类化合物提取得率与影响因素之间的关系^[23];提取过程中,料液比对黄酮类化合物得率影响较小($P>0.05$);乙醇体积分数和提取温度对黄酮类化合物得率均具有显著影响($P<0.05$),其中乙醇体积分数对黄酮类化合物得率影响达到极显著水平($P<0.01$)。由此可知,白背三七黄酮类化合物提取过程中,适宜的乙醇体积分数是获得高得率的关键因素。

表 3 正交试验方差分析

Table 3 Variance analysis of the orthogonal experiment

变异来源	偏差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
校正模型	1.751	6	0.292	119.94	0.008	极显著($P<0.01$)
A(乙醇体积分数)	1.315	2	0.658	270.26	0.004	极显著($P<0.01$)
B(料液比)	0.055	2	0.028	11.38	0.081	不显著($P>0.05$)
D(提取温度)	0.380	2	0.190	78.18	0.013	显著($P<0.05$)
误差	0.005	2	0.002			

将极差最小的因素 C 作为误差项;决定系数 = 0.997(校正后的决定系数 = 0.989)。

2.2 验证试验

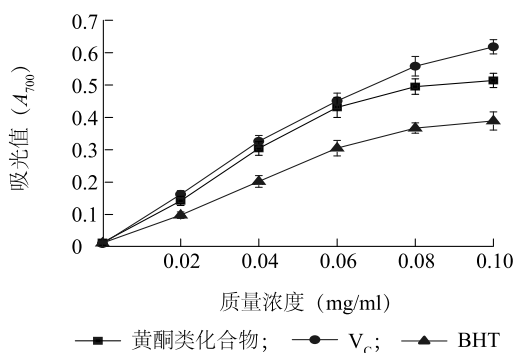
根据优化后最佳工艺条件:乙醇体积分数 80%,料液比 1:25(质量体积比),提取温度 65℃,时间 120 min,做 3 组验证性试验,测得白背三七黄酮类化合物得率分别为 3.82%、3.78%、3.83%,黄酮类化合物平均得率为 3.81%,平均误差为 0.525%,说明采用正交试验法优化得到的白背三七黄酮类化合物提取工艺参数准确可靠。

2.3 白背三七黄酮类化合物抗氧化活性

2.3.1 还原力 人体组织内的氧化反应可产生自由基,自由基不稳定,可与体内生物大分子作用生成过氧化物,对细胞膜产生损害进而影响细胞的正常功能。大多数非酶抗氧化作用(自由基的清除、脂质过氧化的抑制)受氧化还原反应的调节,还原力越强,表明该物质抗氧化活性潜力越大。 Fe^{3+} 可被抗氧化剂还原为二价铁形式,溶液呈普鲁士蓝色,并于波长 700 nm 处具有最大吸光度,吸光度越大表明还原力越强^[24]。如图 2 所示,3 种抗氧化剂均随着质量浓度的增加,吸光度值逐渐增大,表明对铁离子还原能力逐渐升高。通过方差分析可知,当质量浓

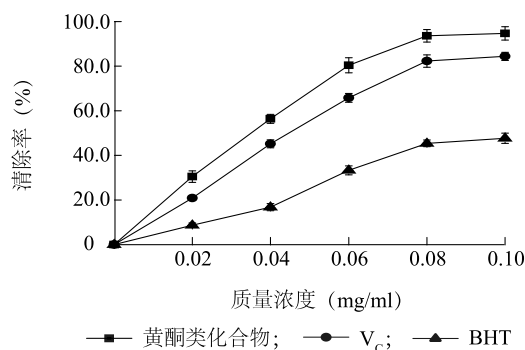
度为 0.02 mg/ml 时,黄酮类化合物与 V_c 、BHT 之间还原力并无显著差异($P>0.05$);当质量浓度为 0.02~0.08 mg/ml 时,黄酮类化合物与 V_c 无显著差异,但二者的还原力均显著大于 BHT($P<0.05$);当质量浓度为大于 0.08 mg/ml 时,三者之间均存在显著差异。由此可知:3 种抗氧化剂对 Fe^{3+} 还原能力大小依次为: $\text{V}_c>$ 黄酮类化合物>BHT,黄酮类化合物还原力在质量浓度为 0.02~0.08 mg/ml 时与 V_c 非常接近,而远高于 BHT($P<0.01$)。表明白背三七黄酮类化合物对 Fe^{3+} 具有显著的供电子特性,而还原反应的结果通常是终止某些对人体有害的自由基反应^[25],由此可以推断白背三七黄酮类化合物具有潜在的有益于人体的生物活性。

2.3.2 清除 DPPH 自由基的能力 DPPH· 在乙醇溶液中是一种稳定的自由基,其孤对电子在 517 nm 附近有较强吸收。如果反应体系中具有供氢能力的抗氧化剂存在,还原态氢能与孤对电子进行配对, DPPH· 被还原成 DPPH-H,使光吸收消失或减弱^[26]。所以,反应体系中抗氧化剂供氢能力越强,清除 DPPH· 的能力也就越强,表现为吸光值下降

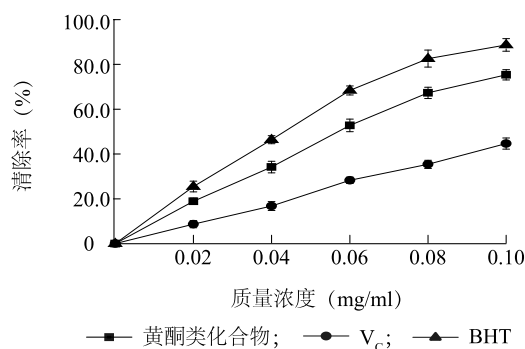
图2 不同浓度黄酮类化合物、V_c和BHT的还原能力Fig. 2 Reducing ability of flavonoids, BHT and V_c in different concentrations

越剧烈, IC_{50} 值 (IC_{50} 为清除率为 50% 时所需抗氧化剂的质量浓度, 所需质量浓度越低, 表明该物质抗氧化性越强) 越小。如图 3 所示, 3 种抗氧化剂对 DPPH· 清除率均随着质量浓度的增加而增大。在质量浓度为 0~0.08 mg/ml 时, 3 种抗氧化剂对 DPPH· 的清除率和质量浓度均呈较好的线性关系。黄酮类化合物、V_c、BHT 对 DPPH· 最大清除率分别为 94.72%, 84.47%, 47.74%。当质量浓度大于 0.08 mg/ml 时, 清除率增加趋缓, 表明此时抗氧化剂对 DPPH· 的清除能力不能客观反映其抗氧化活性。因此, 在质量浓度 0~0.08 mg/ml 时, 分别以样品质量浓度为自变量, DPPH· 清除率为因变量进行线性拟合, 计算得到 3 种抗氧化剂 IC_{50} 值为: 黄酮类化合物 0.039 mg/ml, V_c 0.047 mg/ml, BHT 0.094 mg/ml, 黄酮类提取物与 BHT 和 V_c 之间均存在极显著差异 ($P < 0.01$)。由此可知: 3 种抗氧化剂对 DPPH· 的清除能力大小依次为: 黄酮类化合物 > V_c > BHT。

2.3.3 清除 ABTS 自由基能力 ABTS 可被 $K_2S_2O_8$ 氧化, 生成蓝绿色的自由基阳离子 $ABTS^{\cdot+}$, 在波长 734 nm 处有强吸收^[27]。ABTS^{·+} 是兼具亲水、亲脂的两性化合物, 比 DPPH· 更容易与抗氧化剂发生反应。与供氢清除 DPPH· 不同, 抗氧化剂清除 ABTS^{·+} 是电子转移过程。如果反应体系中存在具有供电子能力的抗氧化剂 (如酚类物质), ABTS^{·+} 与之反应, 生成没有颜色的 ABTS, 使光吸收消失或减弱, 抗氧化剂供电子能力越强, 清除 ABTS^{·+} 能力越强。黄酮类化合物作为抗氧化剂, 通过酚羟基与自由基反应生成较稳定的半醌式自由基, 从而终止自

图3 不同浓度黄酮类化合物、BHT和V_c对DPPH自由基的清除能力Fig. 3 Scavenging capacity of flavonoids, BHT and V_c with different concentrations on DPPH free radical

由链式反应是其最主要的机制^[28]。如图 4 所示, 在 ABTS^{·+} 清除试验中清除率随着抗氧化剂质量浓度的增加呈较好的线性增加, 分别以样品质量浓度为自变量, ABTS^{·+} 清除率为因变量进行线性拟合, 计算得到 3 种抗氧化剂清除 ABTS^{·+} IC_{50} 值为: 黄酮类化合物 0.062 mg/ml, V_c 0.118 mg/ml, BHT 0.049 mg/ml, 黄酮类提取物 IC_{50} 与 BHT 和 V_c 之间均存在极显著差异 ($P < 0.01$)。3 种抗氧化剂对 ABTS^{·+} 的清除能力大小依次为: BHT > 黄酮类化合物 > V_c。

图4 不同质量浓度的黄酮类化合物、BHT和V_c对ABTS自由基的清除能力Fig. 4 Scavenging capacity of flavonoids, BHT and V_c with different concentrations on ABTS free radical

在上述试验中, 相同质量浓度白背三七黄酮类化合物与 V_c、BHT 对 2 种自由基清除率之间均存在极显著差异 ($P < 0.01$)。黄酮类化合物对 DPPH·、ABTS^{·+} 清除能力显著强于 V_c, 对 DPPH· 清除能力显著高于 BHT, 但对 ABTS^{·+} 清除能力不如 BHT, 由此表明白背三七黄酮类化合物是一种优越的兼具供

氢和供电子能力的抗氧化剂,但供氢能力强于供电子能力,这可能与其特殊的分子结构有关^[29]。黄酮类化合物较强抗氧化作用机制是分子中含有较多具有供氢或供电子能力的酚性羟基,可以将氢供给脂类化合物自由基,自身转变成酚基自由基;酚基自由基的稳定性降低了自动氧化链反应的传递速度,从而引起了抑制脂类进一步被氧化的作用^[30-31]。此外,抗氧化作用的强弱不仅与抗氧化剂的结构有关,与其所处的体系也有很大的关系,同种抗氧化剂在不同体系中的抗氧化活性也不尽相同。

3 结论

通过正交试验,确定了白背三七黄酮类化合物提取的最优工艺条件:乙醇体积分数 80%,料液比 1:25(质量体积比),提取温度 65℃,提取时间 120 min,黄酮类化合物平均得率 3.81%;抗氧化试验结果表明白背三七黄酮类化合物具有较强的抗氧化能力,且呈明显的剂量效应。对 Fe^{3+} 还原能力与 V_c 接近($P>0.05$),而远高于 BHT;对 DPPH· 和 ABTS^{·+} 具有较强的清除能力,其 IC_{50} 值分别为 0.039 mg/ml 和 0.062 mg/ml,其中白背三七黄酮类化合物对 DPPH· 的清除能力极显著高于对照组 BHT 和 V_c ($P<0.01$),对 ABTS^{·+} 清除能力显著强于 V_c ,但不如 BHT。优化后的提取工艺操作简单,重现性好,适宜于工业化生产和应用。同时,研究结果表明白背三七黄酮类化合物具有较好的抗氧化能力,为白背三七深加工和综合开发提供参考和依据。

参考文献:

- [1] 杨 暹,刘厚诚. 白子菜的特征特性及栽培技术[J]. 广东农业科学, 1998(5):16-17.
- [2] WANG Z Z, ZHANG Q Q, HAO X, et al. Isolation, purification and identification of polysaccharides from *Gynura divaricata*. [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(8): 1497-1502.
- [3] ROEDER E, ECKERT A, WIEDENFELD H. Pyrrolizidine alkaloids from *Gynura divaricata* [J]. Planta Medica, 1996, 62(4): 386-386.
- [4] WAN C, YU Y, ZHOU S, et al. Isolation and identification of phenolic compounds from *Gynura divaricata* leaves [J]. Pharmacognosy Magazine, 2011, 7(26):101-108.
- [5] LEE C H, YANG L, XU J Z, et al. Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides [J]. Food Chemistry, 2005, 90(4):735-741.
- [6] 王 波,张晓艳,黄 攀,等. 响应面法优化马齿苋黄酮超声波提取工艺[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(1):166-171.
- [7] 刘微微,刘 旭,曹学丽,等. 白背三七多糖的结构表征及 α -葡萄糖苷酶的抑制活性[J]. 食品科学, 2013, 34(7):115-120.
- [8] 王永立,袁 浩,樊淑华. 七叶一枝花总黄酮提取工艺优化 [J]. 南方农业学报, 2017, 48(4):698-703.
- [9] 陈贤兴. 白背三七草的诱变及抗诱变作用的初步研究[J]. 河南科学, 2002, 20(3):260-262.
- [10] 古丽巴哈尔·卡吾力,高晓黎,常占璞,等. 黑果枸杞总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(22): 213-217.
- [11] 陈 磊. 白背三七降血糖物质基础研究[D]. 上海:第二军医大学, 2009.
- [12] 俞 浩,毛斌斌,周国梁,等. 白背三七总黄酮对糖尿病大鼠的降血糖作用[J]. 食品科学, 2013, 34(15):295-298.
- [13] 姜曼花. 白背三七多糖及黄酮的提取测定与降血糖作用研究 [D]. 长沙:湖南师范大学, 2009.
- [14] TAN C, WANG Q, LUO C, et al. Yeast α -glucosidase inhibitory phenolic compounds isolated from *Gynura medica* leaf [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(2):2551-2558.
- [15] 刘 璐,付明哲,王 侠,等. 植物黄酮类化合物提取及测定方法研究进展[J]. 动物医学进展, 2011, 32(6):151-155.
- [16] 李 辉,卜晓英,陈功锡,等. 超声辅助提取白背三七总黄酮 [J]. 食品科学, 2011, 32(14):144-146.
- [17] 何晋浙,汪 钊,金再宿. 柚皮中生物类黄酮提取优化工艺研究[J]. 食品工业科技, 2002(3):39-40.
- [18] 袁尔东,王菊芳,刘本国,等. 亮叶杨桐叶类黄酮的提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(14):105-109.
- [19] RAJHA H N, DARRA N E, HOBAIKA Z, et al. Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannins from grape byproducts by response surface methodology. influence of solid-liquid ratio, particle size, time, temperature and solvent mixtures on the optimization process [J]. Food & Nutrition Sciences, 2014, 5(4):397-409.
- [20] ALMAJANO M P, DELGADO M E, GORDON M H. Changes in the antioxidant properties of protein solutions in the presence of epigallocatechin gallate [J]. Food Chemistry, 2007, 101(1): 126-130.
- [21] HEO S J, PARK E J, LEE K W, et al. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. [J]. European Food Research & Technology, 2005, 221(1/2):41-47.
- [22] CAMPOS A M, LISSI E A. Kinetics of the reaction between 2,2'-azino bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols [J]. International Journal of Chemical Kinetics, 2015, 29(3):219-224.
- [23] 刘 洁,江连洲,张景亮,等. 响应面法对 *Protamex* 酶解醇法大豆浓缩蛋白的优化[J]. 食品科学, 2009, 30(13):163-167.
- [24] SANMARTÍN-SUÁREZ C, SOTO-OTERO R, SÁNCHEZ-SELLERO I, et al. Antioxidant properties of dimethyl sulfoxide and its viability as a solvent in the evaluation of neuroprotective an-

- tioxidants [J]. Journal of Pharmacological & Toxicological Methods, 2011, 63(2):209-215.
- [25] DARGEL R. Lipid peroxidation--a common pathogenetic mechanism? [J]. Experimental & Toxicologic Pathology Official Journal of the Gesellschaft Für Toxikologische Pathologie, 1992, 44(4):169.
- [26] YAO Y, YANG X, TIAN J, et al. Antioxidant and antidiabetic activities of black mung bean (*Vigna radiata* L.) [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2013, 61(34):8104-8109.
- [27] OZGEN M, REESE R N, TULLIO A Z, et al. Modified 2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2006, 54(4):1151.
- [28] ALIAGA C, LISSI E A. Reaction of 2,2'-Azino-Bis (3-Ethyl-benzothiazoline-6-Sulfonic Acid) (ABTS) derived radicals with hydroperoxides. Kinetics and mechanism [J]. International Journal of Chemical Kinetics, 2015, 30(8):565-570.
- [29] YU S H, HSIEH H Y, PANG J C, et al. Active films from water-soluble chitosan/cellulose composites incorporating releasable caffeic acid for inhibition of lipid oxidation in fish oil emulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 32(1):9-19.
- [30] SINGANUSONG R, NIPORNRAM S, TOCHAMPA W, et al. Low power ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from mandarin (*Citrus reticulata*, Blanco cv. Sainampung) and Lime (*Citrus aurantifolia*) peels and the antioxidant [J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(5):1112-1123.
- [31] MA Y Q, YE X Q, FANG Z X, et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2008, 56(14):5682-5690.

(责任编辑:陈海霞)