

响应面法优化茵陈总黄酮提取工艺 及成分结构的初步表征

冯艺飞,李文钊*,王兆燃,张莎莎,王 强,曹 壮

(天津科技大学食品工程与生物技术学院,天津 300457)

摘 要:本文优化了茵陈总黄酮的超声辅助提取工艺并对其成分结构表征进行了研究。在考察提取时间、提取温度、乙醇浓度、液料比对茵陈总黄酮得率影响的基础上,采用 Box-Behnken 响应面法对提取工艺进行优化,模拟得到二次多项式回归方程的预测模型。采用红外光谱(FT-IR)及液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)鉴定了 NKA-9 树脂纯化后的茵陈黄酮类化合物。结果显示:响应面法优化得到茵陈总黄酮提取的最优工艺为提取温度 61 ℃、乙醇浓度 48%、液料比 30:1 (mL/g),在此条件下,总黄酮得率可达 24.89 mg/g。通过对比茵陈提取纯化物与芦丁标准品的 FT-IR 谱图,表明茵陈提取纯化物中含有 C=C、羟基、酚羟基等多种特征官能团的振动吸收峰,是黄酮类化合物的典型结构,并可能含有芦丁单体。通过 LC-MS 分析茵陈黄酮提取物组成时,通过对比 m/z 值、保留时间,可推断提取物中含芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和香叶木苷等成分。响应面法建立的回归数据模型优化得到的茵陈总黄酮提取工艺实际有效,同时发现提取物中可能含有芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和香叶木苷等成分,以期对茵陈提取物的进一步研究提供参考。

关键词:茵陈,黄酮,响应面优化,红外光谱,液质联用

Optimization of Extraction Technology by Response Surface Methodology and Preliminary Structural Characterization of the Composition in Flavonoids from *Artemisia capillaris*

FENG Yi-fei, LI Wen-zhao*, WANG Zhao-ran, ZHANG Sha-sha, WANG Qiang, CAO Zhuang

(College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The ultrasound-assisted extraction technology of the flavonoids from *Artemisia capillaris* was optimized and its structural characterization of the composition were studied in this paper. On the basis of investigating the effect of extraction time, extraction temperature, ethanol concentration and liquid-to-material ratio on the yield of the flavonoids from *Artemisia capillaris*, the Box-Behnken response surface method was used to optimize the extraction process, and the prediction model of two polynomial regression equations was simulated. The compounds in extract purified by NKA-9 resin were identified by FT-IR and LC-MS. As a result, the optimal extraction process was as follows: extraction temperature of 61 ℃, ethanol concentration of 48%, liquid-to-material ratio of 30:1 (mL:g). Under these conditions, the total flavonoids content was 24.89 mg/g. By comparing the FT-IR spectra of the purified extracts of *Artemisia capillaris* and the standard rutin, it showed that vibrational absorption peaks of C=C, hydroxyl group, phenolic hydroxyl group and other characteristic functional groups were found in the purified extracts of *Artemisia capillaris*, which indicated that the extracts had the typical structure of flavonoids and the existence of rutin monomers. LC-MS was used to analyze the constituents of flavonoids in the extract. It was inferred that the extract contained rutin, hyperin, isoquercetin, isorhamnetin-3-O-glucoside and diosmin by comparing m/z value and retention time. The optimal extraction process of total flavonoids from *Artemisia capillaris* which were established by the regression data model of response surface methodology was practical and effective. It was also found that the extracts might contain rutin, hyperin, isoquercetin, isorhamnetin-3-O-glucoside and diosmin, which can provide reference for the further study of the extract of *Artemisia capillaris*.

Key words: *Artemisia capillaries*; flavonoids; response surface methodology; FT-IR; LC-MS

中图分类号: TS201.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2019)21-0192-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2019.21.031

引文格式: 冯艺飞,李文钊,王兆燃,等. 响应面法优化茵陈总黄酮提取工艺及成分结构的初步表征[J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 192-197, 215.

收稿日期: 2019-02-18

作者简介: 冯艺飞(1993-),女,硕士研究生,研究方向:食品加工技术, E-mail: fengyifei323@qq.com。

* 通讯作者: 李文钊(1970-),女,博士,副教授,研究方向:食品加工技术, E-mail: liwenzhao@tust.edu.cn。

茵陈为菊科植物滨蒿 (*Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.) 或茵陈蒿 (*Artemisia capillaris* Thunb) 的干燥地上部分^[1]。在中医中,茵陈主要用于治疗黄疸、肝胆疾病,如清热利湿、消黄^[2]。一些含茵陈的复方对糖尿病、高脂血症、肝硬化和肝源性糖尿病都有很好的疗效^[3]。茵陈中还含有多种功效成分,主要有黄酮、绿原酸、挥发油等。其中黄酮是茵陈中重要的生物活性成分,如具有良好的抑菌、抗氧化、抗肿瘤等功效^[4]。

茵陈黄酮的提取方法有溶剂提取法、酶解法及超声辅助提取法等。综合比较,传统的溶剂萃取法提取技术高耗能、低产率,且酶解法对反应条件要求较高,因此选用低成本、高提取率、绿色安全的超声提取技术^[5-8]。由于植物次生代谢物丰度较低且具有化学多样性,需要高灵敏度及选择性的分析方法鉴定组分结构。近年来红外光谱在中药鉴别研究中的应用受到越来越多的关注,但未见茵陈提取物的整体结构解析与鉴定的研究^[9]。同时用 LC-MS 进行药用植物成分的定性和定量分析在过去几年中稳步增加,但主要集中于茵陈蒿汤及配方颗粒的成分研究^[10-11]。本文以干燥后的茵陈粉末为原料,利用超声辅助提取茵陈黄酮类化合物,采用响应面法优化浸提工艺,通过红外光谱及液质联用技术对提取物组分初步鉴定,以期对茵陈的综合利用和开发提供一定的理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

茵陈(采收于5月) 河北省南和县;芦丁 中国药品生物制品检定所;甲醇 色谱纯,天津市康科德科技有限公司;乙腈 色谱纯,天津市康科德科技有限公司。

UV1102 II 紫外-可见分光光度计 上海天美科学仪器有限公司;HNY-200B 恒温培养振荡器 天津市欧诺仪器仪表有限公司;RE-2000A 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;YP 型电子精密天平 奥豪斯(上海)公司;SK2510LHC 超声波清洗机 上海科导超声仪器有限公司;amaZon SL 离子阱液相色谱质谱联用仪 美国 BRUKER 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 茵陈总黄酮提取工艺 将新鲜茵陈用流水清洗,将植株的根部去除,于 50 ℃ 烘箱中烘干至恒重,粉碎磨粉过筛(60 目),将粉末样品包装在聚乙烯袋中,实验期间在 4 ℃ 的冰箱中储存。取 1.0 g 茵陈粉末,精密称定,在超声功率 200 W,及一定的乙醇浓度、提取时间、提取温度及液料比条件下进行超声辅助提取。

1.2.2 黄酮含量的测定 取 5.0 mg 芦丁标准品,精密称定,置于 25 mL 容量瓶中,加适量 30% 乙醇溶液使之溶解,定容摇匀,得到 0.20 mg/mL 芦丁标准溶液。精密吸取芦丁标准溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,置于 25.0 mL 比色管中,加入 30% 的乙醇溶液补充到 10 mL,加入 1.0 mL 5% 亚硝酸钠溶液,摇匀后静置 6 min,加入 1.0 mL 10% 硝酸铝溶液,摇匀

后静置 6 min,加入 10 mL 4% 的氢氧化钠溶液,再加 30% 的乙醇溶液至刻度,摇匀后静置 15 min。以试剂为空白作为参比液,在最大吸波长 510 nm 处测定吸光度,以芦丁质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线^[12]。得回归方程: $y = 11.172x + 0.0075$,其中 y 为样品的吸光度值, x 为样品浓度 ($R^2 = 0.99818$)。根据 1.2.3 单因素实验及 1.2.4 响应面优化实验中设计的不同方法制备提取液,过滤后将滤液定容于 50 mL 容量瓶中,吸取适量提取液采用比色法测定其吸光值,根据回归方程,计算茵陈提取液中总黄酮质量浓度。根据式(1)计算茵陈总黄酮得率。

$$Y = \frac{C \times V_2}{V_1 \times M} \quad \text{式(1)}$$

式中: Y : 茵陈总黄酮得率, mg/g; C : 为根据标准曲线得到的提取液中总黄酮质量浓度; V_1 : 为测定用溶液体积, mL; V_2 : 为样品溶液总体积, mL; M : 为样品茵陈粉末质量, g。

1.2.3 单因素实验 采用超声辅助提取法提取茵陈黄酮类化合物,取 1 g 茵陈粉末,精密称定,其他条件保持相同(提取温度 50 ℃,液料比 1:20,乙醇浓度 40%,提取时间 40 min),分别考察提取时间 10、20、30、40、50 min,提取温度 40、50、60、70、80 ℃,液料比 10:1、20:1、30:1、40:1、50:1 (mL/g),乙醇浓度 30%、40%、50%、60%、70%,4 个因素对茵陈总黄酮得率的影响。

1.2.4 响应面实验设计 根据单因素实验分析结果,选取乙醇浓度(A)、液料比(B)、提取温度(C)三个因素,以黄酮得率为考察指标,根据 Box-Behnken 模型的实验设计原理,用 Design-Expert 软件安排实验组合,确定最优提取工艺。

表1 响应面实验自变量因素水平及编码
Table 1 Factors and levels in response surface analysis

因素	水平		
	-1	0	1
A 乙醇浓度(%)	40	50	60
B 液料比(mL/g)	20:1	30:1	40:1
C 提取温度(℃)	50	60	70

1.2.5 茵陈提取物的纯化 NKA-9 大孔树脂纯化茵陈黄酮粗提物的工艺条件:以 10 g NKA-9 大孔吸附树脂进行湿法装柱,120 mL 0.8 mg/mL (pH=5) 茵陈提取物为上样液,以流速为 2 BV/h 上样,用 60 mL 80% 乙醇溶液 (pH=6) 为洗脱剂,以 2 BV/h 的速率洗脱,将洗脱液旋转蒸发得浸膏状,冻干得纯化茵陈黄酮提取物。

1.2.6 茵陈提取物组分分析

1.2.6.1 红外光谱分析 0.6 mg 冻干样品及标准品与 150 mg KBr 混合均匀,放到玛瑙乳钵中迅速研磨成粉,在油压机上以 10 t/cm² 的压力,得到直径为 13 mm 的透明圆片。红外光谱在 Nicolet iS50 FT-IR 傅立叶变换红外光谱仪上扫描测定,扫描波段 4000 ~ 400 cm⁻¹,扫描次数 16,分辨率为 4 cm⁻¹。

1.2.6.2 液质联用分析 色谱条件:色谱柱为

Kromasil 100-5C18(150 mm×4.6 mm,5.0 μm);流动相:乙腈-0.1%乙酸(乙腈为B相,0.1%乙酸水溶液为A相);检测波长:340 nm柱温 25℃;进样量 5 μL;流速:0.2 mL/min;梯度洗脱条件梯度洗脱程序:0~5 min,5%乙腈;5~15 min,乙腈由 5% 增加到 15%;15~35 min,乙腈由 15% 增加到 18%;35~42 min,乙腈由 18% 增加到 25%;42~45 min,乙腈由 25% 减少到 5%;45~90 min 清洗色谱柱。将 1 mg/mL提取纯化物的甲醇溶液,0.22 μm 滤膜除杂,340 nm 波长下进行高效液相色谱分析^[13]。

质谱条件:质谱离子扫描范围为 200~1000;ESI 离子源,正离子模式,雾化器 1.5 L/min,干燥气 115.0 kPa,离子源温度 200℃。

1.3 数据处理

所有实验均一式三份,数据以平均值±标准差表示。数据使用 Microsoft Office Excel 2007 进行统计处理,采用 SPSS 18.0 软件进行实验数据的差异性分析,利用 Origin 9.0 绘制图像。

2 结果与讨论

2.1 茵陈黄酮提取工艺优化

2.1.1 单因素实验

2.1.1.1 提取时间对总黄酮得率的影响 如图 1(A)所示,随着提取时间从 10 min 增加到 30 min,得率明显提高,从(18.5±0.3) mg/g 增加到(23.44±0.32) mg/g。当提取时间较短时,茵陈黄酮类化合物不能充分溶解出来,但时间过长会导致部分黄酮类化合物氧化而损失,应在保证较高得率的基础上,选取尽量短的提取时间。确定了茵陈黄酮类化合物适宜超声提取时间为 30 min。

2.1.1.2 提取温度对总黄酮得率的影响 如图 1(B)所示,随着提取温度的增加,总黄酮得率迅速增加,然后减慢并达到平衡浓度。溶剂温度由 40℃ 提高

到 70℃,得率由(22.51±0.18) mg/g 提高到(24.79±0.17) mg/g。分析其原因,可能由于温度升高而导致分子运动增加,从而增加了溶解度^[14]。然而,较高的温度可能导致提取物的降解或转化,或其他负面影响。因此,初步选择提取温度为 60℃。

2.1.1.3 液料比对总黄酮得率的影响 如图 1(C)所示,随着液料比从 10:1 (mL/g) 增至 30:1 (mL/g),总黄酮提取率有增加的趋势,从(18.57±0.18) mg/g 增至(24.42±0.25) mg/g。这可能是由于较高的液料比导致更多的溶剂进入细胞,更多的黄酮溶出至溶剂中。当液料比大于 30:1 (mL/g) 时,总黄酮的提取率急剧下降,这可能是由于萃取剂过量导致传质速率降低所致。因此,初步选择液料比为 30:1 (mL/g)。

2.1.1.4 乙醇浓度对总黄酮得率的影响 如图 1(D)所示,在乙醇浓度为 50%~70% 时,黄酮类化合物得率较高。溶剂的极性对黄酮类化合物的提取有很大影响。极性溶剂比非极性溶剂能更有效地萃取类化合物,且溶液比溶剂更有效。较高的乙醇浓度可以通过降低破坏水分布所需的介电常数和能量来增加酚类化合物的溶解度。此外,在溶剂中存在适量的水可以促进植物材料的膨胀并增加植物基质与提取溶剂之间的表面积,从而提高提取效率^[15]。因此初步选择适宜乙醇浓度为 50%。

2.1.2 响应面优化

2.1.2.1 响应面优化实验结果 根据单因素实验结果,选择因素与水平并设计响应面优化实验,其中超声波辅助提取茵陈总黄酮得率响应面优化实验设计及结果见表 2。

2.1.2.2 模型建立与显著性分析 应用 Design-Expert 软件对所得实验结果进行回归分析,获得综合评分对乙醇浓度、液料比、提取温度的二次多项回归

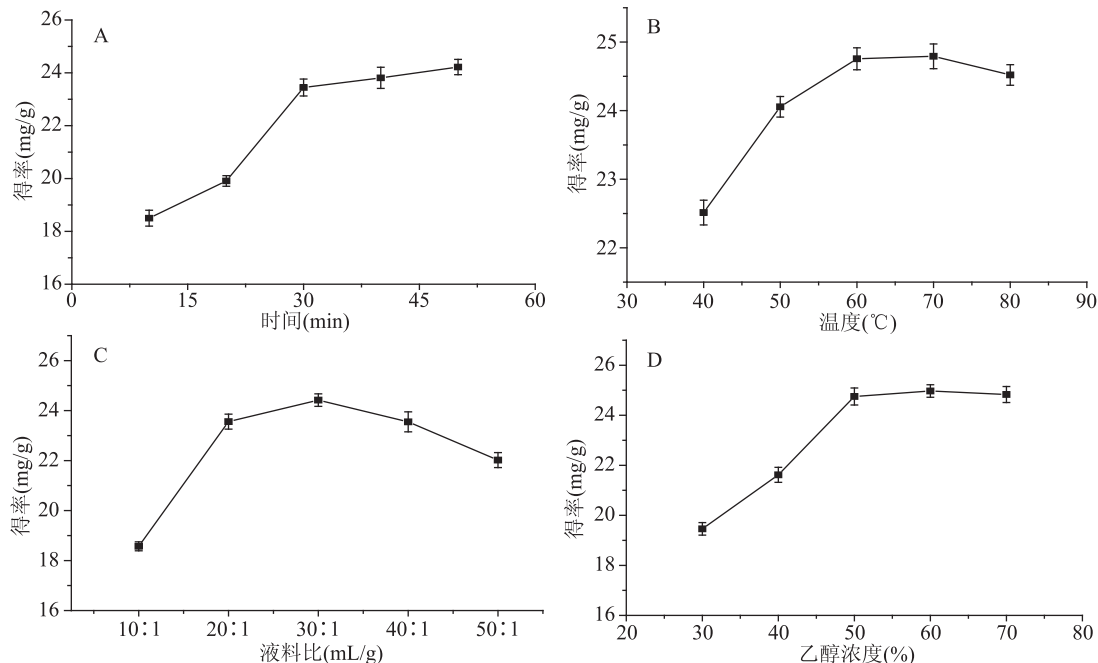


图1 时间、温度、液料比、乙醇浓度对提取率的影响

Fig.1 Effect of time, temperature, ratio of liquid to solid, concentration ethanol on the extraction yields

表2 响应面优化实验结果

Table 2 Results of response surface optimization experiment				
试验号	A 乙醇浓度 (%)	B 液料比 (mL: g)	C 提取温度 (℃)	Y 得率 (mg/g)
1	-1	0	-1	21.13
2	-1	1	0	22.95
3	0	0	0	24.61
4	1	1	0	23.34
5	0	1	1	21.34
6	0	-1	1	21.94
7	0	0	0	24.69
8	1	0	-1	21.82
9	0	0	0	24.55
10	-1	-1	0	23.42
11	1	-1	0	22.39
12	1	0	1	21.42
13	0	-1	-1	20.45
14	0	0	0	24.53
15	0	1	-1	21.12
16	-1	0	1	22.64
17	0	0	0	24.13

方程式:

$$Y = 24.50 - 0.15A + 0.069B + 0.35C + 0.36AB - 0.48AC - 0.32BC - 0.47A^2 - 1.01B^2 - 2.28C^2$$

该模型的方差分析结果见表3,该回归模型 *P* 值 <0.0001,说明了该方程模型极显著,模型失拟项 *P* 值 >0.05,说明失拟不显著,因而该模型拟合程度好;回归方程的拟合程度可通过决定系数 *R*² 和调整决定系数 *R*_{Adj}² 来验证,模型的预测值与试验真实值之间的相关性 *R*² =0.9921 (*R*² >0.9)、调整决定系数 *R*_{Adj}² =0.9819,说明该方程能解释 98.19% 响应值的变化,可以利用该模型预测茵陈黄酮的最高得率;从方差结果可以看出,乙醇浓度、液料比对茵陈黄酮得率影响不显著 (*P* >0.05),提取温度对茵陈黄酮

得率影响极显著 (*P* <0.01),乙醇浓度与液料比、乙醇浓度与提取温度、液料比与提取温度的交互作用对茵陈黄酮得率影响显著,乙醇浓度二次项对得率影响显著,液料比二次项与提取温度二次项对茵陈黄酮得率影响及显著 (*P* <0.01),说明乙醇浓度 (A)、液料比 (B)、提取温度 (C) 三个因素对得率的影响不只是简单的线性关系,交互项、二次项也有一定的影响。

2.1.2.3 响应面交互作用分析 应用 Design-Expert 软件对上述实验结果进行响应面分析,可以得到该模型的响应面图和等高线图,结果如图2所示。

从图2响应面及等高线图来看,响应面有极大值,最优配方在实验范围内,等高线均为椭圆形,说明乙醇浓度与液料比,乙醇浓度与提取温度,液料比与提取温度的交互作用对茵陈黄酮提取率影响显著。以得率的最高值为优化目标得最优工艺为乙醇浓度 47.8%、液料比 29.8:1 (mL/g) 及提取温度 61℃,根据现实操作的方便性,对工艺参数进行了修正:乙醇浓度 48%、液料比 30:1 (mL/g)、提取温度 61℃,所得得率平均值为 24.89 mg/g,预测值 24.53 mg/g,误差为 1.49%。此结果验证响应面优化模型的可靠性。

2.2 茵陈总黄酮组分结构初步表征

2.2.1 红外光谱分析 当样品处于频率连续变化的红外线辐照时,其分子吸收了某些频率的光波,获得能量后分子产生振动或由基态向激发态进行能级跃迁,使得被吸收波段的透射光强度减弱,从而进行对应官能团分析。红外光谱扫描结果见图3(A)芦丁标准品在 1655 cm⁻¹处有烯烃 C=C 伸缩振动峰,在 1601、1505、1456 cm⁻¹处有芳烃的 C=C 骨架振动峰,808 cm⁻¹为芳烃的 C-H 面外弯曲振动,1296 cm⁻¹为醇和酚的 C-O 伸缩振动,727 cm⁻¹为酚和醇的 O-H 面外弯曲峰。2938 cm⁻¹为烷烃的 C-H 伸缩振动峰,1362 cm⁻¹为烷烃的 C-H 弯曲振动峰。

表3 响应面设计二阶回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for the second-order regression model						
方差来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	显著性
模型	33.91	9	3.57	97.53	<0.0001	**
A	0.17	1	0.17	4.68	0.0673	
B	0.038	1	0.038	1.03	0.3431	
C	0.99	1	0.99	27.18	0.0012	**
AB	0.5	1	0.5	13.78	0.0075	**
AC	0.91	1	0.91	24.94	0.0016	**
BC	0.4	1	0.4	11.03	0.0128	*
A ²	1.13	1	0.92	25.27	0.0015	**
B ²	4.72	1	4.28	117.09	<0.0001	**
C ²	22.88	1	21.91	599.01	<0.0001	**
残差	0.084	7	0.037			
失拟	0.068	3	0.023	0.48	0.7149	
纯误差	0.016	4	0.047			
总和	33.99	16				

注: *: *P* <0.05 说明模型或因素影响显著; **: *P* <0.01 说明影响极显著。

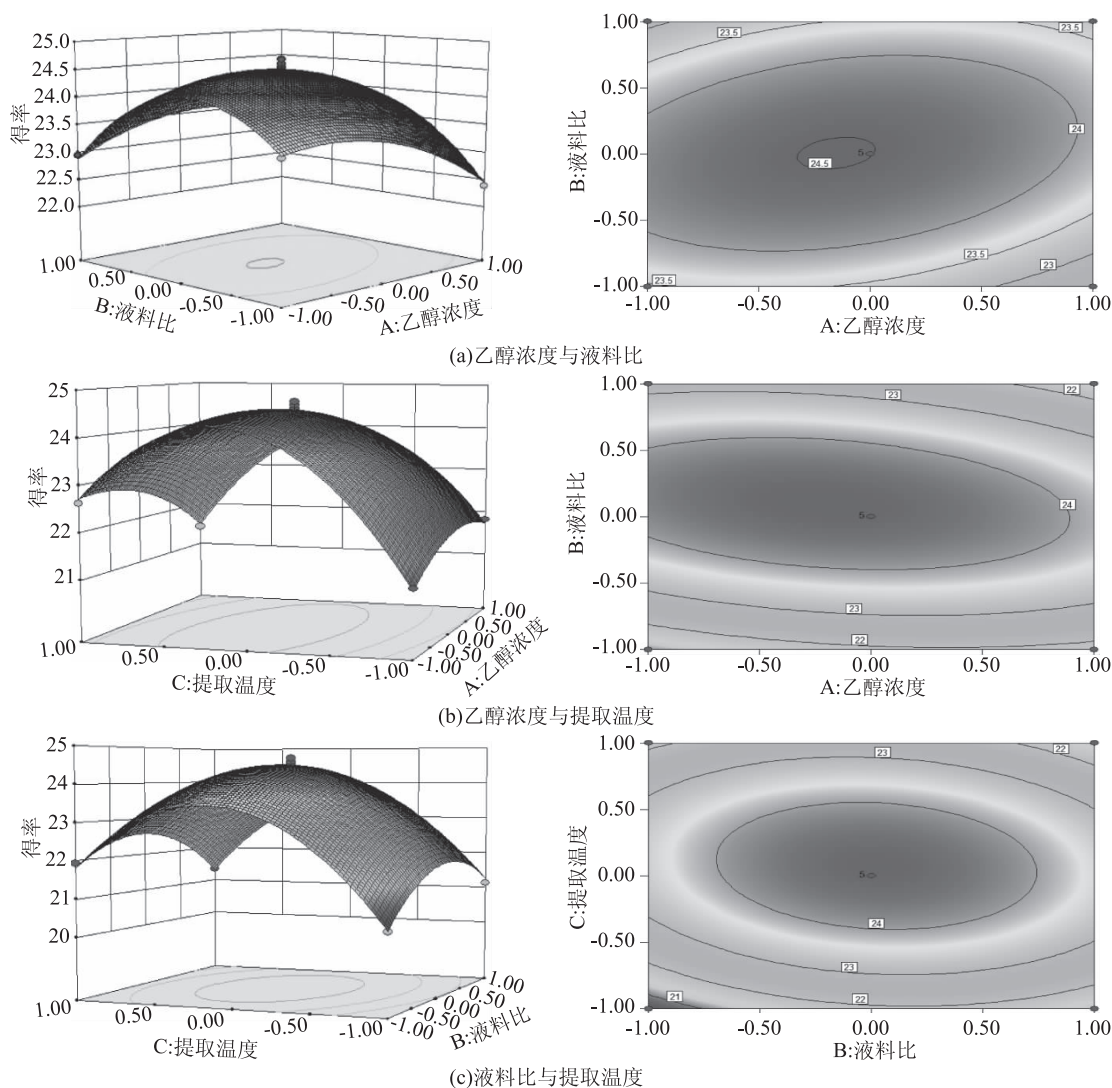


图2 各因素交互作用的响应面和等高线图

Fig.2 Response surface and contour plot curve of interaction of various factors

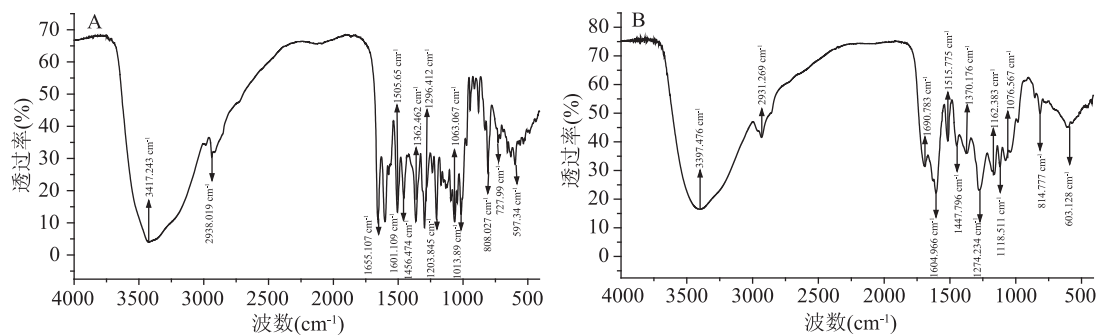


图3 芦丁和茵陈黄酮类化合物红外光谱扫描图

Fig.3 Infrared spectra of rutin and flavonoids from *Artemisia capillaris*

由图3(B)可知 $4000\sim 500\text{ cm}^{-1}$ 范围内,有明显多个吸收峰。茵陈黄酮的单体物质中含有以下官能团: 3397 cm^{-1} ($3500\sim 3200\text{ cm}^{-1}$)为分子间氢键O-H伸缩振动,且吸收峰较宽, 1274 、 1162 、 1118 cm^{-1} 为醇和酚的C-O伸缩振动,说明有酚羟基的存在, 1515 cm^{-1} 为芳烃的C=C骨架振动峰, 814 cm^{-1} 为C-H的面外弯曲振动峰; 2931 cm^{-1} 为-CH₃的伸缩振动峰, 1370 cm^{-1} 为-CH₃的弯曲振动峰,证明-CH₃的存在,初步推测茵陈黄酮含有芦丁等含-CH₃的黄酮

单体^[16]。

2.2.2 LC-MS测定黄酮类化合物的组成成分 茵陈黄酮类化合物液相色谱图如图4所示,液相色谱-质谱分析如表4所示,通过对比 m/z 值、保留时间(Tr),确定或初步表征了这些黄酮类化合物。

通过查阅文献^[17-20],峰1(Tr=28.4 min),分子离子峰为 $[M+H]^+$ ($m/z\ 611.19$),因此可确定化的相对分子质量 m/z 为610。在二级质谱中出现明显的 $m/z\ 465$ 碎片峰及 $m/z\ 303$ 碎片峰,表明 $[M+H]^+$ 依

表4 液相色谱-质谱分析
Table 4 Analysis of LC-MS

峰	Tr	分子量	MS	MS2	鉴定与推定
1	28.4	610	611.19	302.68	芦丁
2	29.1	464	465.17	302.66	金丝桃苷
3	30	464	465.18	302.7	异槲皮苷
4	38.4	478	479.2	316.93	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷
5	39.9	608	609.22	300.7/463.16	香叶木苷

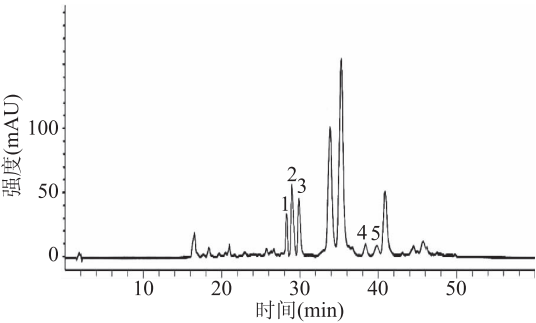


图4 茵陈黄酮类化合物液相色谱图
Fig.4 Liquid chromatogram of flavonoids
from *Artemisia capillaris*

次失去质量数 146 u 鼠李糖基碎片及 162 u 葡萄糖基碎片,说明该化合物含芸香糖,生成槲皮素离子碎片,可确定该化合物为槲皮素 3-O-芸香糖苷,即芦丁^[21-22]。

峰 2 (Tr = 29.1 min) 和峰 3 (Tr = 30 min), 正离子模式下分子离子峰 [M + H]⁺ 均为 465, 推测其可能为槲皮素-3-O-β-D-吡喃半乳糖苷, 槲皮素-3-O-葡萄糖苷或五羟基黄酮-3-鼠李糖苷, 进一步分析二级质谱上出现明显的 m/z 302.66 的碎片峰, 为糖苷丢失糖基形成的苷元离子, 确定峰 2, 峰 3 可能为金丝桃苷或异槲皮苷。主要二级裂解碎片均有 302.66 [M - glc]⁺, 由于这两个同分异构体结构非常相似, 裂解规律相近, 故进一步通过保留时间的不同, 推测峰 2 为槲皮素-3-O-β-D-吡喃半乳糖苷, 即金丝桃苷, 峰 3 为槲皮素-3-O-葡萄糖苷, 即异槲皮素^[23-24]。

峰 4 (Tr = 38.4 min), [M + H]⁺ 峰为 m/z 479.2, 推测其分子量为 m/z 478, 在正离子模式下二级质谱主要碎片为 m/z 316.93, 推测为失去 162 u 的葡萄糖基碎片, 推测其为异鼠李素-3-O-葡萄糖苷^[25]。

峰 5 (Tr = 39.9 min), [M + H]⁺ 峰为 m/z 609.22, 推测其分子量为 m/z 608, 在正离子模式下二级质谱主要碎片为 m/z 463、m/z 301, 推测为 [M + H]⁺ 峰依次丢失鼠李糖基碎片 (-m/z 146)、葡萄糖基碎片 (-m/z 162), 说明该化合物中含有芸香糖, 可初步推测该化合物为香叶木苷^[26]。

茵陈黄酮类化合物通过液相色谱电喷雾质谱联用法进行简单的鉴定及分析工作, 由于类黄酮的结构极为相似, 母核裂解的规律也接近一致, 其他响应值较高的峰的二级质谱信息有限, 未能判断推理其结构, 需通过进一步的分离纯化, 并通过更为细致的碎片离子信息及核磁共振技术才可准确的鉴定黄酮

苷元确切的结构。

3 结论

通过超声辅助提取茵陈黄酮类化合物, 确定其最佳工艺为提取温度 61 ℃、乙醇浓度 48% 和液料比 30: 1 (mL/g) 条件下, 总黄酮得率最高, 可达 24.89 mg/g。红外光谱扫描显示, 茵陈黄酮提取物中存在羟基的伸缩振动和弯曲振动、苯环的骨架振动及苯环上 C-H 面外变形振动、C = C 的伸缩振动, 具有黄酮类化合物的典型结构。LC-MS 分析表明, 黄酮提取物中含有芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷和香叶木苷, 说明其为一种具有开发利用价值的天然功能食品原料, 茵陈中黄酮含量及种类丰富, 因此, 作为一种极具潜力的提取黄酮类物质的资源, 以茵陈为原料探索新型的应用领域, 加大其在保健食品、医学及工业用品领域的研究力度, 促进茵陈制品的开发研究, 对提高茵陈资源的综合经济效益具有重要意义。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (2015 版) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 239-240.
[2] Sang H H, Sang H S, Lee J H, et al. The aqueous extract from *Artemisia capillaris* thunb. inhibits lipopolysaccharide - induced inflammatory response through preventing NF - κB activation in human hepatoma cell line and rat liver [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2004, 13 (5) : 717-720.
[3] Kim H T, Kim D D, Ku S K, et al. Anti - obestic effects of *Artemisiae capillaris* herba, *Artemisia capillaris* stem aqueous extracts on the high fat diet supplied mice [J]. Journal of Veterinary Clinics, 2010, 27 (4) : 348-365.
[4] 张婉君, 冯彬, 谢笔钧, 等. 白肉番石榴总黄酮提取工艺优化及体外抗氧化活性分析 [J]. 食品工业科技, 2019, 40 (8) : 196-201.
[5] 萨茹丽. 沙葱黄酮提取工艺优化、结构鉴定及其相关生物活性研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
[6] 王占一, 廖成斌, 公金艳, 等. 复合酶提取石榴幼果总黄酮工艺优化及其抑制 α-葡萄糖苷酶活性 [J/OL]. 食品工业科技, 1-12.
[7] 董科, 冷云, 何方婷, 等. 植物多酚及其提取方法的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40 (2) : 326-330.
[8] 闫蕊, 赵桦. 黄花油点草总黄酮超声提取工艺的响应面优化及抗氧化性分析 [J]. 食品工业科技, 2018, 39 (10) : 190-196, 203.

(下转第 215 页)

- of onions[J]. Journal of Food Science, 2010, 71(9): E351-E357.
- [9] Wang B, Khir R, Pan Z, et al. Effective disinfection of rough rice using infrared radiation heating [J]. Journal of Food Protection, 2014, 77(9): 1538-1545.
- [10] 蒋婧, 张玉明, 全俊成, 等. 远红外辐照对大米黄曲霉孢子及其产毒能力的影响[J]. 食品与机械, 2018, 34(4): 75-79, 220.
- [11] Bingol G, Yang J, Brandl M T, et al. Infrared pasteurization of raw almonds [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(3): 387-393.
- [12] Venkitasamy C, Zhu C, Brandl M T, et al. Feasibility of using sequential infrared and hot air for almond drying and inactivation of *Enterococcus faecium*, NRRL B-2354 [J]. LWT, 2018, 95: 123-128.
- [13] 张鑫, 曲文娟, 马海乐, 等. 脱水菠菜的催化式红外辐射灭菌研究[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 133-137.
- [14] 文家雄. 红外加热技术及其在食品杀菌中的应用研究进展[J]. 食品与机械, 2016, 32(3): 243-246.
- [15] 赵兴, 吴本刚, 马海乐, 等. 香葱催化式红外干燥特性及品质研究[J]. 现代食品科技, 2018, 34(9): 182-189.
- [16] 易志, 潘忠礼, 马海乐, 等. 食品红外辐射杀菌技术的应用与展望[J]. 食品工业, 2014, 35(10): 230-235.
- [17] 中国国家卫生和计划生育委员会. GB/T4789.2-2016 食

(上接第 197 页)

- [9] 朱南南, 孙志蓉, 曲继旭, 等. 三种石斛及其提取物的红外光谱法整体结构解析与鉴定[J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(11): 3407-3413.
- [10] Chang-An Geng, Xiao-Yan Huang, Xing-Long Chen, et al. Three new anti-HBV active constituents from the traditional Chinese herb of Yin-Chen (*Artemisia scoparia*) [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 176: 109-117.
- [11] Han KH, Jeon YJ, Athukorala Y, et al. A water extract of *Artemisia capillaris* prevents 2, 2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride-induced liver damage in rats [J]. Journal of Medicinal Food, 2006, 9: 342-347.
- [12] 王珊珊. 茺菑黄酮的提取、分离纯化及生物活性研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2014.
- [13] 杨小慧, 石光波, 拜晓彬, 等. 文冠果落果黄酮成分分析及抑菌性评价[J]. 食品科学, 2018, 39(10): 53-58.
- [14] Kassama L S, Shi J, Mittal G S, et al. Optimization of supercritical fluid extraction of lycopene from tomato skin with central composite rotatable design model [J]. Separation & Purification Technology, 2008, 60(3): 278-284.
- [15] Han H J, Lee J S, Park S A, et al. Extraction optimization and nanoencapsulation of jujube pulp and seed for enhancing antioxidant activity. [J]. Colloids & Surfaces B Biointerfaces, 2015, 130: 93-100.
- [16] 范艳丽, 韩丽娜, 孟雪梅, 等. 枸杞叶黄酮提取物的组成及初步结构表征[J]. 食品工业科技, 2017, 38(14): 46-50.
- [17] Qiang M, Jinlan Z, Yuxin Z, et al. Analysis of isoflavonoids in *Trifolium pratense* L. by High performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. Chinese Journal of

- 品微生物学检验-菌落总数测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [18] 中国国家卫生和计划生育委员会. GB/T4789.3-2016 食品微生物学检验-大肠菌群计数[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [19] 农业部食品质量监督检验测试中心. NY5184-2002 无公害食品-脱水蔬菜标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [20] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.3-2010 食品中水分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [21] Yang J, Bingol G, Pan Z, et al. Infrared pasteurization of raw almonds [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104: 387-393.
- [22] 马宏飞, 卢生有, 韩秋菊. 紫外分光光度法测定五种果蔬中维生素 C 的含量[J]. 化学与生物工程, 2012, 29(8): 92-94.
- [23] 杨继红. 红外加热技术对大杏仁的杀菌程度及烘烤效率的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
- [24] 郝江燕, 胡文忠, 冯叙桥, 等. 食品中大肠杆菌生物检测方法的研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(15): 370-375.
- [25] 吴本刚, 钱礼顺, 刘美娟, 等. 茺菑红外杀青-热风、真空脉动干燥技术研究[J]. 食品工业, 2017, 38(6): 175-179.
- [26] 吴本刚, 肖孟超, 刘美娟, 等. 催化式红外杀青对绿茶热风干燥的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(9): 126-132.
- [27] 董月菊, 张玉刚, 戴洪义. 苹果汁中维生素 C 热降解动力学研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(4): 84-89.

Analytical Chemistry, 2006, 34(9): S247-S250.

- [18] 吴颖. 凤丹白牡丹花瓣总黄酮的分离纯化及结构鉴定研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- [19] Hsu B Y, Lin S W, Inbaraj B S, et al. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Chenopodium forosanum* koidz. (djulis) by HPLC-DAD-ESI-MS/MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017, 132: 109-116.
- [20] Yongqiang Wang, Yujie Gao, Hui Ding, et al. Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity [J]. Food Chemistry, 2017, 218: 152-158.
- [21] 马强, 张金兰, 周玉新, 等. 高效液相色谱-电喷雾质谱法测定红车轴草中异黄酮类化合物[J]. 分析化学, 2006(51): 247-250.
- [22] 杨洁, 陈纯, 邢建军, 等. 油菜蜂花粉中黄酮类化合物的提取与鉴定[J]. 食品科学, 2010, 31(22): 273-278.
- [23] 王宏伟, 高钧, 谭晓杰, 等. RP-HPLC 法同时测定茵陈中 5 种化学成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(5): 379-383.
- [24] 王卫记, 罗建光, 孔令义. HPLC-ESI-MSⁿ 分析酸枣仁有效部位的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(21): 2768-2773.
- [25] 左丽丽. 猕猴桃多酚的抗氧化与抗肿瘤效应研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013.
- [26] 党立志, 张翼鹏, 张健, 等. LC-MS 技术快速识别迷迭香中黄酮苷类化合物[J]. 云南农业大学学报: 自然科学版, 2017, 32(2): 358-365.