

DOI:10.11937/bfyy.201623030

# 正交实验法优化野胡萝卜总黄酮提取工艺及其抗氧化活性

杨申明, 王振吉, 范树国, 王彩莲

(楚雄师范学院 化学与生命科学学院, 云南 楚雄 675000)

**摘要:**以野胡萝卜为试材,采用正交实验法优化野胡萝卜总黄酮的超声波辅助提取工艺,同时以分光光度法测定提取物对 1,1-二苯基-2-苦基肼基自由基(DPPH·)和羟基自由基(·OH)的清除作用。结果表明:野胡萝卜总黄酮的最佳提取工艺条件为超声提取时间 60 min,超声温度 40 ℃,料液比 1:50 g·mL<sup>-1</sup>,乙醇体积分数 80%,此时总黄酮提取率为 27.46%;总黄酮质量浓度为 0.445 mg·mL<sup>-1</sup>时,对 DPPH·和·OH 的清除率分别达到 89.65%和 37.05%。表明其具有良好的抗氧化作用,可作为天然抗氧化剂进一步开发和利用。

**关键词:**野胡萝卜;总黄酮;正交实验法;超声波辅助提取;抗氧化活性

**中图分类号:**TQ 914.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)23-0134-05

野胡萝卜(*Daucus carota* Linn)属伞形科胡萝卜属(*Daucus* L.)草本植物<sup>[1]</sup>,又名鹤虱草、山萝卜等,主要生长在田边、路旁和旷野草丛中,我国各地均有分布。它营养价值较高,除含糖类、胡萝卜素及多种维生素等外,还富含人体必需的微量元素 Zn、Cu、Mn、Fe 等<sup>[2]</sup>。野胡萝卜的嫩叶可炒食或调味食用,茎叶、根和果实均可入药,在《四川中药志》分类草药性中均有记载。可见,野胡萝卜是一种药食兼用,具有较大开发价值的野生植物资源。

目前,有关野胡萝卜资源的开发利用研究正引起科研工作者的重视。ROSSI 等<sup>[3]</sup>研究表明野胡萝卜挥发油对空肠弯曲菌的生长有抑制作用;冯俊霞等<sup>[2]</sup>研究表明野胡萝卜中含有丰富的人体必需的微量元素 Zn、Cu、Mn、Fe,尤其 Fe 的含量较高;秦巧慧等<sup>[4]</sup>研究表明野胡萝卜果实精油对蚊幼虫有较强的毒杀效果;李美等<sup>[5]</sup>研究表明野胡萝卜花挥发油具有抗菌抑癌的作用;强磊等<sup>[6]</sup>

研究表明野胡萝卜籽精油对 7 种病原真菌有很强的抑制作用;陶俊杰等<sup>[7]</sup>研究表明野胡萝卜水浸提液对野燕麦及早雀麦具有一定的化感效应。其它有关野胡萝卜资源的开发利用研究鲜见报道,大部分野胡萝卜被当作杂草丢弃,既浪费了资源,又给环境造成一定的污染。如果能从野胡萝卜中提取其有效成分,对其进行开发利用,既综合利用了野胡萝卜资源,变资源优势为经济优势,又减少了对环境污染,具有一定的经济意义和价值。

黄酮类化合物(flavonoids)是自然界尤其是植物界中分布较广泛的一大类天然酚性化合物,具有较强的抗氧化性、抗癌抗肿瘤、抗炎、抗心脑血管疾病、免疫调节、抑菌抗病毒、降血糖降血脂等多种生物活性及药理作用<sup>[8-9]</sup>,其应用范围在不断扩大。因此,寻找可开发的原料,是开发和利用黄酮类化合物的关键。目前,对野胡萝卜中黄酮类化合物的提取及抗氧化性的研究鲜见相关报道。因此,现以野胡萝卜为试材,采用超声波辅助提取野胡萝卜中总黄酮,利用 Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-NaNO<sub>2</sub> 比色法测定了其含量,通过正交实验法优化提取工艺条件。同时,以维生素 C 为对照,对所提取的总黄酮从清除 DPPH·和·OH 的能力 2 个方面评价其抗氧化性,以期对野胡萝卜的综合开发利用提供理论参考,也为天然抗氧化剂的开发提供新的植物资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试的野胡萝卜采于楚雄师范学院校园内,经鉴定为伞形科胡萝卜属(*Daucus* L.)野胡萝卜(*Daucus carota*

**第一作者简介:**杨申明(1976-),男,云南双柏人,本科,高级实验师,现主要从事天然有机产物化学研究及教学等工作。E-mail:ysm@cxtc.edu.cn.

**责任作者:**王振吉(1983-),男,辽宁绥中人,博士,副教授,现主要从事天然产物化学等研究工作。E-mail:wangzj@cxtc.edu.cn.

**基金项目:**国家自然科学基金青年资助项目(31300370);云南省高校科技创新团队支持计划资助项目(IRTSTYN);云南省省级重点学科建设基金资助项目“生物学”(05YJJSXK03);楚雄师范学院教改资助项目(1510)。

**收稿日期:**2016-09-29

Linn)。样品洗净、晒干后粉碎过 60 目,得干粉,备用。

芦丁标准品(纯度 $\geq 98\%$ )、1,1-苯基-2-苦肼基(DPPH)、维生素 C、无水乙醇、氢氧化钠、亚硝酸钠、硝酸铝、浓盐酸、硫酸亚铁、Tris 试剂、双氧水、焦性没食子酸、水杨酸等均为分析纯。

Alpha-1502 紫外分光光度计(上海谱元仪器有限公司)、SK8210HP 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)、CP224C 电子天平(奥豪斯仪器上海有限公司)、HWS-26 型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司)、102 型电热鼓风干燥箱(威瑞科教仪器有限公司)等。

## 1.2 试验方法

1.2.1 野胡萝卜总黄酮含量测定 参考卢帅等<sup>[10]</sup>的方法,以芦丁为对照品,采用  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2$  比色法测定总黄酮含量。所得线性回归方程  $A = 1.073C + 0.5735$ ,  $R^2 = 0.9997$ 。结果表明,芦丁质量浓度在  $0.01 \sim 0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  与吸光度呈线性关系。因此,可用于野胡萝卜总黄酮含量测定。提取率计算公式:提取率( $\%$ ) =  $C \times N \times V \times 10^{-3} / M \times 100$ 。式中: $C$  为根据回归方程计算出的总黄酮质量浓度( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ); $N$  为稀释倍数; $V$  为定容体积( $\text{mL}$ ); $M$  为野胡萝卜干粉的质量( $\text{g}$ )。

1.2.2 野胡萝卜总黄酮提取工艺流程 野胡萝卜经粉碎后过 60 目筛,准确称取  $1.00 \text{ g}$  野胡萝卜粉末,加  $50 \text{ mL}$  体积分数  $80\%$  乙醇,超声波辅助提取(超声温度  $40^\circ\text{C}$ ,超声提取时间  $60 \text{ min}$ ),减压抽滤,滤液定容至  $50 \text{ mL}$ ,测量吸光度,计算提取率。

1.2.3 野胡萝卜总黄酮提取工艺单因素试验 在前期大量预试验的基础上,分别考察以下单因素影响:1)选择超声时间分别为  $40, 50, 60, 70, 80 \text{ min}$  的条件下进行比较,超声温度  $40^\circ\text{C}$ ,乙醇体积分数  $70\%$ ,料液比为  $1:40 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;2)确定了超声时间  $60 \text{ min}$  提取效果较好,分别在超声温度  $20, 30, 40, 50, 60^\circ\text{C}$  的条件下进行比较,乙醇体积分数  $70\%$ ,料液比为  $1:40 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;3)确定了超声温度  $50^\circ\text{C}$  提取效果较好,分别选择料液比  $1:30, 1:35, 1:40, 1:45, 1:50 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  进行比较,乙醇体积分数  $70\%$ ,超声时间  $60 \text{ min}$ ;4)确定了料液比  $1:45 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  提取效果较好,选择乙醇体积分数分别在  $50\%, 60\%, 70\%, 80\%, 90\%$  条件下进行比较,超声时间  $60 \text{ min}$ ,超声温度  $50^\circ\text{C}$ ,从而确定各因素的影响作用。

1.2.4 野胡萝卜总黄酮提取工艺参数优化 在单因素试验的基础上,选择超声时间、超声温度、液料比和乙醇体积分数为主要影响因素,以野胡萝卜总黄酮提取率为评价指标,通过正交实验  $L_9(3^4)$  优化超声辅助乙醇回流提取野胡萝卜总黄酮的最佳工艺条件,正交实验因素和水平见表 1。

表 1 正交实验因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平 Level	因素 Factor			
	A 超声时间 Ultrasonic time /min	B 超声温度 Ultrasonic temperature / $^\circ\text{C}$	C 料液比 Solid-liquid ratio /( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	D 乙醇体积分数 Volume fraction of ethanol/ $\%$
1	50	40	1:40	60
2	60	50	1:45	70
3	70	60	1:50	80

## 1.3 项目测定

将超声辅助提取得到的野胡萝卜总黄酮溶液分别配制成  $0.005, 0.115, 0.225, 0.335, 0.445 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  5 种质量浓度,研究其体外抗氧化性。

1.3.1 野胡萝卜总黄酮对 DPPH· 的清除作用 参考文献<sup>[11-12]</sup>的测定方法,稍作改动。向  $2.5 \text{ mL}$  DPPH 乙醇溶液( $2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )中分别加入不同质量浓度的野胡萝卜总黄酮溶液  $1.0 \text{ mL}$ ,混匀后避光保存  $30 \text{ min}$ ,在波长  $517 \text{ nm}$  处测吸光度记为  $A_1$ ,同时测定  $2.5 \text{ mL}$  DPPH 乙醇溶液( $2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )与  $1.0 \text{ mL}$  乙醇溶液混合液的吸光度记为  $A_c$ ,及  $2.5 \text{ mL}$  无水乙醇与不同质量浓度的野胡萝卜总黄酮溶液  $1.0 \text{ mL}$  混合液的吸光度记为  $A_b$ 。同时,以相同质量浓度的维生素 C 溶液作阳性对照,清除率计算公式: $\text{DPPH} \cdot \text{清除率}(\%) = (1 - (A_1 - A_b) / A_c) \times 100$ 。

1.3.2 野胡萝卜总黄酮对  $\cdot\text{OH}$  的清除作用 参考文献<sup>[13-14]</sup>的测定方法,稍作改动。取不同质量浓度的野胡萝卜总黄酮溶液  $1.0 \text{ mL}$  于  $25 \text{ mL}$  比色管中,分别加  $\text{FeSO}_4$  溶液( $9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、水杨酸-乙醇溶液( $9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、 $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液( $8.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )各  $2.0 \text{ mL}$ ,最后用蒸馏水容至  $10 \text{ mL}$ ,在  $37^\circ\text{C}$  的水浴中恒温反应  $30 \text{ min}$ ,以蒸馏水为参比,在波长  $510 \text{ nm}$  处测定吸光度值记为  $A_x$ ,用水代替野胡萝卜总黄酮溶液,其它按上述加入试剂量后,测定吸光度值记为  $A_0$ ;用水代替  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液,加入试剂量后,按上述方法测定吸光度值记为  $A_{x0}$ 。同时,以相同质量浓度的维生素 C 溶液作阳性对照,清除率计算公式: $\cdot\text{OH}$  清除率( $\%$ ) =  $(A_0 - A_x + A_{x0}) / A_0 \times 100$ 。

## 1.4 数据分析

所有试验均 3 次重复,结果取平均值,试验数据采用 Excel 2007 软件作图和分析处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 超声时间对野胡萝卜总黄酮提取效果的影响

在超声温度  $40^\circ\text{C}$ 、料液比  $1:40 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、乙醇体积分数  $70\%$  的条件下,考察超声时间对野胡萝卜总黄酮提取效果的影响。由图 1 可知,随着超声时间的延长,总黄酮的提取率迅速增大,当超声时间延长到  $60 \text{ min}$  时,提取率最高达到  $24.03\%$ ;之后随超声时间的继续延长,野胡萝卜总黄酮的提取率逐渐降低。这说明野胡萝卜总

黄酮的提取过程与超声时间密切相关,超声时间较短,产物不充分溶解;超声时间过长又会造成黄酮糖苷类的水解,导致总黄酮检出量减少,从而导致提取率下降<sup>[10]</sup>。故选择超声时间为 50、60、70 min 3 个水平进行正交实验。

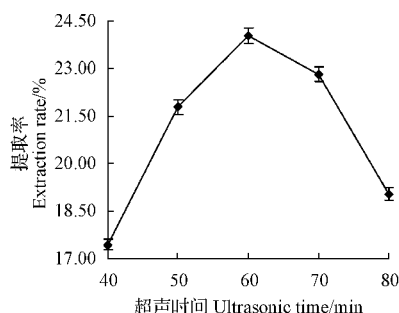


图1 超声提取时间对总黄酮提取效果的影响

Fig. 1 Effect of ultrasonic extraction time on the extraction yield of total flavonoids

## 2.2 超声温度对野胡萝卜总黄酮提取效果的影响

在超声时间 60 min、料液比 1:40 g·mL<sup>-1</sup>、乙醇体积分数 70% 的条件下,考察超声温度对野胡萝卜总黄酮提取效果的影响。由图 2 可知,超声温度为 20~50 ℃ 时,野胡萝卜总黄酮提取率随超声温度的升高而增大,当超声温度为 50 ℃ 时,提取率最高达到 25.83%;之后随超声温度的继续升高,野胡萝卜总黄酮提取率下降。这可能是由于在超声条件下过高的温度破坏了黄酮类化合物的分子结构,导致总黄酮提取率下降。故选择超声温度为 40、50、60 ℃ 3 个水平进行正交实验。

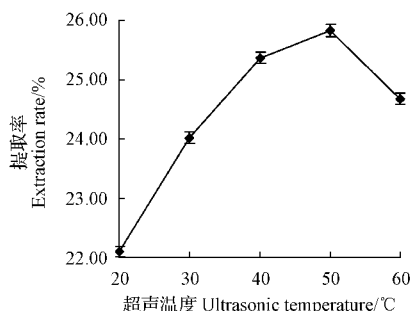


图2 超声提取温度对总黄酮提取效果的影响

Fig. 2 Effect of ultrasonic extraction temperature on the extraction yield of total flavonoids

## 2.3 料液比对野胡萝卜总黄酮提取效果的影响

在超声时间 60 min、超声温度 50 ℃、乙醇体积分数 70% 的条件下,考察料液比对野胡萝卜总黄酮提取效果的影响。由图 3 可知,料液比为 1:30~1:45 g·mL<sup>-1</sup> 时,野胡萝卜总黄酮提取率随提取溶剂用量的增大而增大,当料液比为 1:45 g·mL<sup>-1</sup> 时,提取率最高达到 24.08%;之后随提取溶剂用量的继续增大,野胡萝卜总

黄酮提取率下降。出现这种趋势的原因可能是随提取溶剂用量的增大,野胡萝卜中总黄酮质量浓度越低,传质推动动力越大,提取速度增加,提取率增大;当提取溶剂用量继续增大达到一定时,总黄酮的提取率缓慢降低,这可能是因为有大量的杂质溶出,影响了总黄酮的浸出率,也可能是由于已浸出的大量总黄酮对剩余总黄酮有协同浸提的作用<sup>[15]</sup>。故选择料液比为 1:40、1:45、1:50 g·mL<sup>-1</sup> 3 个水平进行正交实验。

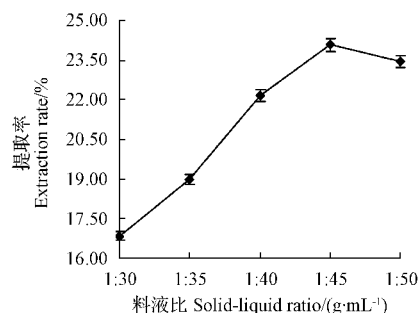


图3 料液比对总黄酮提取效果的影响

Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on the extraction yield of total flavonoids

## 2.4 乙醇体积分数对野胡萝卜总黄酮提取效果的影响

在超声时间 60 min、超声温度 50 ℃、料液比 1:45 g·mL<sup>-1</sup> 的条件下,考察料液比对野胡萝卜总黄酮提取效果的影响。由图 4 可知,乙醇体积分数为 50%~70% 时,野胡萝卜总黄酮提取率随乙醇体积分数的增大而提高。当乙醇体积分数为 70% 时,提取率达到最高为 25.44%;之后随乙醇体积分数的增大,野胡萝卜总黄酮提取率有下降趋势。这可能是乙醇体积分数太大,野胡萝卜中的色素、脂溶性物质等大量溶出,影响野胡萝卜总黄酮的溶出,从而导致提取率下降。故选择体积分数 60%、70%、80% 3 个水平进行正交实验。

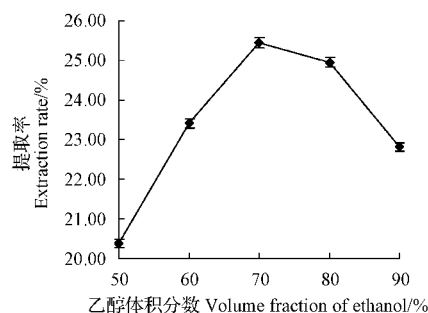


图4 乙醇体积分数对总黄酮提取效果的影响

Fig. 4 Effect of the volume fraction of ethanol on the extraction yield of total flavonoids

## 2.5 提取工艺参数优化正交实验结果

由表 2 可知,影响野胡萝卜总黄酮提取率的主次顺序依次为 B>A>D>C,即超声温度>超声时间>乙醇

体积分数>料液比。野胡萝卜总黄酮的最佳提取工艺参数为  $A_2B_1C_3D_3$ , 即超声提取时间为 60 min, 超声温度为 40 ℃, 料液比为 1:50  $g \cdot mL^{-1}$ , 乙醇体积分数为 80%。由于正交实验中没有出现优化的最优组合, 故在优化后的最佳提取工艺参数条件下进行验证性试验, 重复 5 次, 测得野胡萝卜总黄酮平均提取率为 27.46%, 大于正交实验结果中的最高提取率 25.83%, 相对标准偏差(RSD)值为 0.75%, 表明该方法重复性良好, 适合于野胡萝卜总黄酮的提取和含量测定。

表 2 正交实验结果及直观分析

Table 2 Range analysis of orthogonal experiment results

试验序号 Test No.	水平 Level				提取率 Extraction rate/%
A	B	C	D		
1	1	1	1	1	25.54
2	2	1	2	2	25.83
3	3	1	3	3	25.30
4	1	2	2	3	24.37
5	2	2	3	1	24.08
6	3	2	1	2	18.95
7	1	3	3	2	24.55
8	2	3	1	3	25.30
9	3	3	2	1	23.61
$K_1$	24.82	25.56	23.26	24.41	
$K_2$	25.07	22.45	24.60	23.11	
$K_3$	22.62	24.49	24.64	24.99	
R	2.45	3.11	1.38	1.88	
因素主次 Primary and secondary factors					$B>A>D>C$
最优方案 Optimal scheme					$A_2B_1C_3D_3$

## 2.6 野胡萝卜中总黄酮抗氧化性分析

### 2.6.1 野胡萝卜总黄酮清除 DPPH· 能力评价

DPPH· 是一种以氮为中心的稳定自由基, 当待测溶液中含有抗氧化物时, 抗氧化物能提供一个孤对电子与 DPPH· 配对, 使 DPPH· 特征紫色逐渐消失, 可根据 DPPH· 的褪色程度来间接评价抗氧化物的抗氧化能力<sup>[16]</sup>。由图 5 可知, 当野胡萝卜总黄酮质量浓度为 0.005~0.445  $mg \cdot mL^{-1}$  时, 随着野胡萝卜总黄酮质量浓度的增加, 其清除 DPPH· 的能力逐步增强, 即清除率

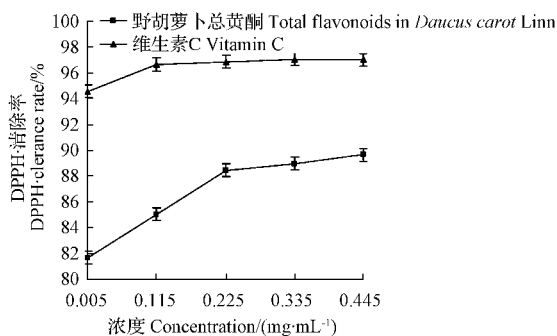


图 5 不同浓度野胡萝卜总黄酮与维生素 C 对 DPPH· 的清除效果

Fig. 5 Scavenging ability of different concentration of total flavonoids from *Daucus carota* Linn and vitamin C on DPPH·

与黄酮质量浓度间存在一定的量效关系。当野胡萝卜总黄酮质量浓度为 0.445  $mg \cdot mL^{-1}$  时, 对 DPPH· 的清除率达到 89.65%, 虽然野胡萝卜总黄酮清除 DPPH· 的能力稍弱于维生素 C, 但是野胡萝卜总黄酮依然表现出较强的清除 DPPH· 的能力。

2.6.2 野胡萝卜总黄酮清除 ·OH 的能力评价 ·OH 是目前已知活性氧中对生物体毒性最强、危害最大的一种自由基, 几乎能与细胞内各类有机物发生反应, 且反应速度很快<sup>[17]</sup>。利用 Fenton 反应产生 ·OH, 水杨酸法检测羟基及物质清除 ·OH 的能力。在此法中, ·OH 进攻水杨酸分子的苯环, 产生能用分光光度法测量的羟基化合物 2,3-二羟基苯甲酸, 于是, 可用该产物生成的多少来描述羟基的量及待测物质清除 ·OH 的能力<sup>[18]</sup>, 清除 ·OH 的能力是评价抗氧化物的重要指标<sup>[19]</sup>。由图 6 可知, 当野胡萝卜总黄酮质量浓度在 0.005~0.445  $mg \cdot mL^{-1}$  时, 随着野胡萝卜总黄酮质量浓度的增加, 清除 ·OH 的能力逐步增强, 即清除率与黄酮质量浓度间也存在一定的量效关系。野胡萝卜总黄酮质量浓度在 0.005~0.115  $mg \cdot mL^{-1}$  时, 对 ·OH 的清除率大于维生素 C; 野胡萝卜总黄酮质量浓度在 0.115~0.445  $mg \cdot mL^{-1}$  时, 对 ·OH 的清除率弱于维生素 C, 但野胡萝卜总黄酮仍然表现出一定的清除 ·OH 的能力。

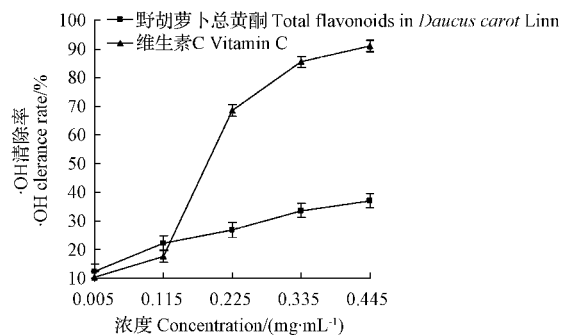


图 6 不同浓度野胡萝卜总黄酮与维生素 C 对 ·OH 的清除效果

Fig. 6 Scavenging ability of different concentration of total flavonoids from *Daucus carota* Linn and vitamin C on hydroxyl radical

## 3 结论与讨论

该试验结果表明, 影响总黄酮提取率的因素主次为超声温度>超声时间>乙醇体积分数>料液比。经过正交实验优化后得到的最佳提取工艺参数为超声提取时间 60 min, 超声温度 40 ℃, 料液比 1:50  $g \cdot mL^{-1}$ , 乙醇体积分数 80%。在此最佳提取工艺条件下进行验证性试验, 得到超声波辅助提取野胡萝卜总黄酮平均提取率为 27.46%, 相对标准偏差(RSD)为 0.75%。说明该

提取方法准确度和提取率较高,重复性良好,可用于野胡萝卜总黄酮的提取。

该研究利用分光光度法分别从清除 DPPH· 和 ·OH 2 个方面测定了野胡萝卜总黄酮的抗氧化性。结果表明,野胡萝卜总黄酮对 DPPH· 和 ·OH 有较强的清除能力,当野胡萝卜总黄酮质量浓度在 0.005~0.445 mg·mL<sup>-1</sup> 时,对 DPPH· 和 ·OH 的清除能力随野胡萝卜总黄酮质量浓度的增加而增强,并且有量效关系;野胡萝卜总黄酮质量浓度为 0.445 mg·mL<sup>-1</sup> 时,对 DPPH· 和 ·OH 的清除率可分别达到 89.65% 和 37.05%,说明野胡萝卜总黄酮具有较强的体外抗氧化活性,可以作为一种天然的抗氧化剂进行开发利用。

该研究结果表明,野胡萝卜中含有丰富的黄酮类化合物,野胡萝卜总黄酮具有较强的抗氧化活性,相关研究结果不仅为野胡萝卜总黄酮的研究提供了基础的理论数据,而且还为野胡萝卜的进一步开发利用提供了参考依据。但该研究仅对野胡萝卜总黄酮进行了体外抗氧化性评价,今后有必要在此基础上对野胡萝卜总黄酮的体内抗氧化性进行研究,为开发安全性高的天然抗氧化剂提供科学依据。野胡萝卜作为一种药食两用的植物,若能在保健功效和药用价值等方面进行开发利用,其应用前景将更加广阔。开发野胡萝卜资源,变资源优势为经济优势,推动地方经济的发展,使野胡萝卜这种药食两用的资源产生更大的经济效益与社会效益。

#### 参考文献

- [1] 汪劲武. 种子植物分类学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1985: 174.
- [2] 冯俊霞, 付国永, 戚秀菊. 原子吸收光谱法测定野胡萝卜中的微量元素[J]. 广东微量元素科学, 2009, 16(2): 57-59.
- [3] ROSSI P G, BAO L, LUCIANI A, et al. (E)-Methylisoeugenol and elemicin; antibacterial components of *Daucus carota* L. essential oil against *Campylobacter jejuni*[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2007, 55(18): 7332-7336.
- [4] 秦巧慧, 彭映辉, 何建国, 等. 野胡萝卜果实精油对蚊幼虫的毒发活性[J]. 中国生物防治学报, 2011, 27(3): 418-422.
- [5] 李美, 邵邻相, 徐玲玲, 等. 野胡萝卜花挥发油成分分析及生物活性研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(9): 112-115.
- [6] 强磊, 康振生, 邵红军. 野胡萝卜籽精油对植物病原真菌的抑制活性研究[J]. 陕西农业科学, 2013, 59(4): 41-44.
- [7] 陶俊杰, 李玮, 郭青云. 野胡萝卜水浸提液对两种禾本科杂草的化感作用[J]. 江西农业大学学报, 2014, 36(6): 1270-1274.
- [8] 范菁华, 徐怀德, 李钰金, 等. 超声波辅助提取花椒叶总黄酮及其体外抗氧化性研究[J]. 中国食品学报, 2010, 10(6): 22-27.
- [9] 于善凯. 食源性材料中黄酮类化合物的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2001, 22(3): 37-39.
- [10] 卢帅, 索菲娅, 王傲立, 等. 新疆孜然黄酮超声提取及其抗氧化作用研究[J]. 中国农学通报, 2013, 29(27): 215-220.
- [11] 王敏, 魏益民, 高锦明. 苦荞黄酮的抗脂质过氧化和红细胞保护作用研究[J]. 中国食品学报, 2006, 6(3): 278-283.
- [12] SHE G M, XU C, LIU B, et al. Polyphenolic acids from mint (the aerial of *Mentha haplocalyx* Briq.) with DPPH radical scavenging activity[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(4): 359-362.
- [13] 刘玉芬, 夏海涛. 响应面法优化碱黄酮提取工艺及其体外抗氧化作用[J]. 食品科学, 2012, 33(12): 63-68.
- [14] 杨申明, 范树国, 王振吉, 等. 乙醇回流法提取伸筋草总黄酮工艺及其体外抗氧化活性[J]. 北方园艺, 2016(6): 116-120.
- [15] CACACE J E, MAZZA G. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol[J]. Journal of Food Science, 2003, 68(1): 240-248.
- [16] 张汇, 鄢嫫, 聂少平, 等. 黑灵芝不同部位多糖成分分析及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2011, 32(1): 56-61.
- [17] 张昊, 任发政. 羟基和超氧自由基的检测研究进展[J]. 光谱与光谱分析, 2009, 29(4): 1093-1099.
- [18] 徐怀德, 秦盛华. 超声波辅助提取光皮木瓜多糖及其体外抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 106-111.
- [19] 殷军, 葛青, 毛建卫, 等. 竹叶多糖的组成及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2013, 34(2): 100-103.

## Optimization for Extraction Process of *Daucus carota* Linn Total Flavonoids and Determination of Antioxidant Activity Based on Orthogonal Test

YANG Shenming, WANG Zhenji, FAN Shuguo, WANG Cailian

(Department of Chemistry and Life Science, Chuxiong Normal University, Chuxiong, Yunnan 675000)

**Abstract:** *Daucus carota* Linn was used as test material, total flavonoids was extracted by ultrasound-assisted extraction technology based on orthogonal test, and antioxidant activities on scavenging 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH·) and hydroxyl radical (·OH) were studied. The results showed that the optimum extraction parameters were ultrasonic extraction time was 60 minutes, ultrasonic temperature was 40 °C, ratio of solid to liquid was 1 : 50 g·mL<sup>-1</sup>, and the volume fraction of ethanol was 80%. Under the optimal condition, the average yield of total flavonoids was 27.46%. At a flavonoids concentration of 0.445 mg·mL<sup>-1</sup>, the percentage scavenging of DPPH· and ·OH were 89.65% and 37.05%. The *Daucus carota* Linn total flavonoids with good antioxidant activity had the potential to be further developed and utilized as a natural antioxidant.

**Keywords:** *Daucus carota* Linn; total flavonoids; orthogonal test method; ultrasonic assisted extraction; antioxidant activity