

苦菜多酚的提取及其抗氧化性研究

郑翠萍¹, 田呈瑞^{1*}, 马婷婷¹, 权美平^{1,2}

1(陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安, 710062)

2(渭南师范学院 多河流湿地重点实验室, 陕西 渭南, 714000)

摘要 采用响应面法优化了苦菜多酚提取工艺,对苦菜多酚成分进行了分析,并测定了其抗氧化活性。以单因素试验为基础,选择提取温度、乙醇体积分数和料液比为自变量,以苦菜多酚得率为响应值,进行3因素3水平响应面分析。得到苦菜多酚的最佳提取条件为,提取温度77℃,乙醇体积分数56%,提取时间45 min,在此条件下,苦菜多酚的得率可达到14.72%;应用高效液相色谱法分析其成分,结果显示:苦菜多酚主要成分为芦丁、绿原酸、咖啡酸、芹菜素、原儿茶素;苦菜多酚、Vc和BHT清除DPPH自由基的 IC_{50} 分别为0.097、0.113和0.258 mg/mL,苦菜多酚清除能力大于Vc和BHT;原能力大于BHT,但小于Vc;β-胡萝卜素/亚油酸漂白试验中,苦菜多酚抗氧化能力大于Vc,但小于BHT,三者的抑制率分别为77.2%、28.49%、69.59%。

关键词 苦菜;多酚;响应曲面法;HPLC;抗氧化活性

苦菜(*Sonchus oleraceus* L.)为菊科苦苣菜属多年生草本植物,除西南和青藏地区外全国均有分布,资源十分丰富。苦菜作为中药始载于《神农本草经》,药名为“败酱草”,不仅是一种营养丰富的野菜,也是一种良好的中药材,药用历史悠久。现代医学研究表明,苦菜还具有抗癌抗肿瘤、保肝治肝炎和抗菌抗病毒等功效^[1-3],药理作用非常广泛。目前,关于苦菜的研究主要有苦菜的成分分析、分离鉴定、生物活性作用^[4-8],其中生物活性主要以苦菜黄酮类物质研究为主,但针对苦菜多酚的研究很少。本实验通过响应面法优化苦菜多酚的提取工艺,高效液相色谱法对苦菜多酚进行成分鉴定,同时采用3种体外抗氧化体系测定了其抗氧化活性。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

苦菜,榆林市东方红食品开发有限责任公司提供。

没食子酸、DPPH、没食子酸、原儿茶素、绿原酸、芦丁、芹菜素,购于Sigma公司;福林酚试剂、丙酮、甲醇、乙醇、石油醚、三氯甲烷、BHT、Vc、 $K_3Fe(CN)_6$ 、三氯乙酸、 $FeCl_3$ 、无水 Na_2CO_3 、β-胡萝卜素、亚油酸、Tween-20等均为分析纯。

第一作者:硕士研究生(田呈瑞教授为通讯作者)。

收稿日期:2015-07-30,改回日期:2015-09-29

1.1.2 主要仪器设备

电子天平(AL204),梅特勒-托利多仪器有限公司;恒温振荡器(SHA-C),金坛市富华仪器有限公司;台式离心机(TDL80-2B),上海安亭科学仪器厂制造;可见分光光度计(722型),上海光谱仪器有限公司制;造旋蒸发蒸发器(RE-52A),上海亚荣生化仪器厂;Breeze1525 高效液相色谱仪,美国Waters公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品总酚含量的测定

移取0.2 mL样液,依次加入0.5 mL福林酚,1.5 mL的 Na_2CO_3 (17.5%),蒸馏水定容至10 mL摇匀,暗室反应90 min,765 nm测定吸光度(A)。配制不同浓度没食子酸标准溶液,同方法测定吸光值,以没食子酸标准溶液质量浓度(g/mL)为横坐标X、吸光度(A)为纵坐标绘制标准曲线,标准曲线方程为: $Y = 1.0889X + 0.0878$,相关系数 $R^2 = 0.9976$ 。

1.2.2 苦菜多酚提取工艺流程

苦菜(干燥)→粉碎→过60目筛→物料与溶剂混合→浸提→离心→取上清液

1.2.3 苦菜多酚提取单因素试验

按照1.2.1的总酚测定方法和1.2.2的提取工艺,分别考察了不同体积分数的甲醇、乙醇和丙酮溶剂,提取温度,提取时间及料液比对苦菜多酚得率的影响。

1.2.4 响应面法优化苦菜多酚提取试验

应用Box-Behnken模型,以提取温度(℃)、料液比(mL:g)、乙醇体积分数(%)3个显著性影响因素

为考察因子(自变量),以苦菜多酚得率 Y 为响应值,利用 Design-ExpertV. 7.0 软件设计了 3 因素 3 水平的响应曲面法试验,共有 17 个试验点,编码结果见表 1。

表 1 Box-Benhnken 试验设计因素和水平
Table 1 Factors and levels of Box-Benhnken experiment design

因素	编码水平		
	-1	0	+1
提取温度/℃	70	80	90
乙醇体积分数/%	50	60	70
液料比(mL:g)	30	35	40

1. 2. 5 HPLC 分析

Diamonsil C_{18} 色谱柱(5 μ m,250 mm \times 4.6 mm);柱温:30 $^{\circ}$ C;检测波长:280 nm;进样量:20 mL;流速:1 mL/min;流动相 A:体积分数 0.1% 的甲酸高纯水;B 相:体积分数 0.1% 的甲酸乙腈;梯度洗脱程序:0 min,8% B;20 min,18% B;25 min,22% B;40 min,50% B。

1. 2. 6 苦菜多酚的体外抗氧化活性研究

1. 2. 6. 1 DPPH 自由基清除能力的测定

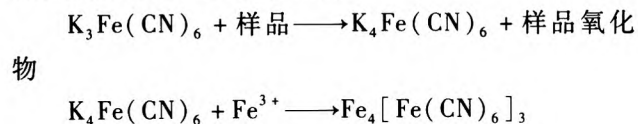
参照 BUBONJA-SONJE 等^[9]的方法并稍作修改。配制 DPPH 乙醇溶液 0.1 mmol/L,取 0.1 mL 不同浓度的苦菜多酚溶液与 3.9 mL DPPH 溶液充分混匀,30 min 室温避光反应,515 nm 处测定其吸光度。相同浓度浓度梯度的 BHT 和 Vc 作为对照组,水为空白组,同方法测定吸光值。3 次平行实验,取平均值。清除率计算公式为:

$$I/\% = (1 - A_t/A_0) \times 100 \tag{1}$$

其中: I , 自由基清除率,%; A_t , 样品溶液和 DPPH 溶液混合液的吸光值; A_0 , DPPH 溶液的吸光度值。

1. 2. 6. 2 还原能力的测定

参考 VAQUERO 等^[10]的方法并做调整。分别取 1 mL 不同浓度的样品,加入 2 mL 磷酸缓冲液(0.2 mol/L, pH = 6.6)和 2 mL 质量分数为 1% 的 $K_3Fe(CN)_6$,混匀,50 $^{\circ}$ C 反应 20 min,反应液中加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸,4 000 r/min 离心 10 min,移取上清液 2 mL,与 2 mL 蒸馏水,0.2 mL 质量分数 0.1% 的 $FeCl_3$ 充分混匀。避光反应 10 min,在波长 700 nm 处测定其吸光值。反应原理为:



混合液的吸光度越高表示黄苦菜多酚提取液的还原能力越强。

1. 2. 6. 3 β -胡萝卜素/亚油酸体系中抗氧化能力的测定

根据 SIDDHURAJU 等^[11]的方法并稍作修改。5 mg β -胡萝卜素中加入 10 mL 三氯甲烷,0.125 mL 亚油酸和 2 mL Tween-20,50 $^{\circ}$ C 旋转蒸发 4 min,加入 500 mL 蒸馏水充分混匀形成反应液。取 0.5 mL 各浓度样液和 20 mL 反应液混匀,50 $^{\circ}$ C 水浴,每隔 25 min 测反应液在 470 nm 处的吸光值。抗氧化能力按公式(2)计算:

$$S/\% = [1 - (A_0 - A_t)/(A_0' - A_t')] \times 100 \tag{2}$$

其中: S ,样品的抗氧化能力,%; A_0 ,样品溶液在零反应时刻的吸光值; A_0' ,空白对照溶液在零反应时刻的吸光值; A_t ,样品溶液在 t 反应时刻的吸光值; A_t' ,空白对照溶液在 t 反应时刻的吸光值。

1. 2. 7 数据统计与分析

试验数据均采用 DPS 软件、Excel 2007 进行数据处理、分析及绘图,以平均值 \pm 标准偏差来表示。

2 结果与分析

2. 1 水浴振荡提取苦菜多酚的单因素结果

2. 1. 1 不同浓度的不同溶剂对苦菜多酚提取量的影响

准确称取一定量的苦菜粉,按照 1:35(g:mL)的料液比分别加入水、不同浓度(体积分数 40%、50%、60%、70%、80%)的丙酮、甲醇和乙醇,60 $^{\circ}$ C 下水浴振荡提取 2h。多酚提取效果如图 1 所示。

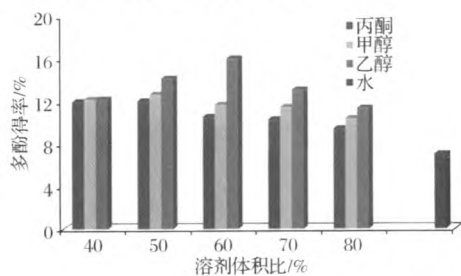


图 1 浸提溶剂对多酚得率的影响

Fig. 1 Influence of the king of solvent on yield of polyphenol

由图 1 可知,苦菜多酚的提取效果是乙醇 > 甲醇 > 丙酮 > 水。乙醇组中,乙醇体积分数在 40% ~ 80% 内,多酚得率随着乙醇浓度的增加先增加后下降,在 60% 时,多酚得率达到最大值。根据相似相溶原理,60% 的乙醇溶液与苦菜多酚的极性最接近,因

此,选择 60% 作为后续试验的乙醇浓度。

2.1.2 温度对苦菜多酚得率的影响

按照乙醇体积分数 60%、提取时间 2h、料液比 1:35,温度为 40、50、60、70、80、90 ℃ 各条件下提取苦菜多酚,多酚得率结果见图 2。由图 2 可知,在 40 ~ 90℃ 内,苦菜多酚得率先增加后降低,在 80℃ 时,多酚得率最大。这与多酚物质的热稳定性有关,温度过高,多酚物质被氧化,故多酚得率在 90℃ 条件下降低。

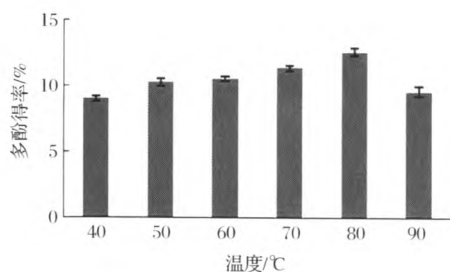


图 2 温度对多酚得率的影响

Fig. 2 Influence of the temperature on yield of polyphenol

2.1.3 料液比对多酚得率的影响

按照温度 80 ℃,乙醇体积分数 60%,料液比分别为 1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:50 (g:mL),水浴振荡提取 2h,多酚得率如图 3 所示。由图 3 可知,料液比在 1:20 ~ 1:35,多酚得率随着溶剂添加量的增加而增加,当料液比在 1:35 ~ 1:50,多酚得率变化不明显。这是因为在样品量一定时,料液比在一定范围内,增加溶剂量,可以降低样品在溶剂中的浓度,提高样品颗粒与溶剂的接触面积,从而提高样品在溶剂中的溶出效果^[12]。但溶剂添加量过高,会增加提取成本,也会造成资源浪费,后续分离纯化试验量过大。综合考虑,料液比为 1:35 (g:mL) 适宜。

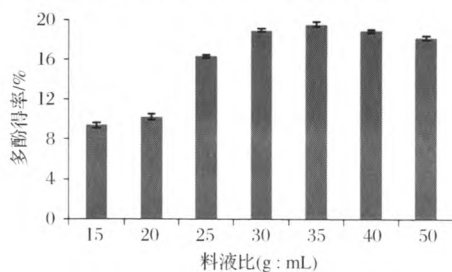


图 3 料液比对多酚得率的影响

Fig. 3 Influence of solid-to-solvent ratio on yield of polyphenol

2.1.4 提取时间对多酚得率的影响

按照乙醇体积分数 60%、提取温度 80 ℃、料液比 1:35,提取时间分别为 30、50、70、90、110 min 条件

下水浴振荡提取苦菜多酚,多酚得率结果见图 4。图 4 分析可得,在 30 ~ 110 min,苦菜多酚得率随时间的延长先增加后降低,在 50 min 时,苦菜多酚得率最大。这是因为加热时间过长,有效成分因热不稳定而发生降解或氧化,故 50 min 提取时间最佳。

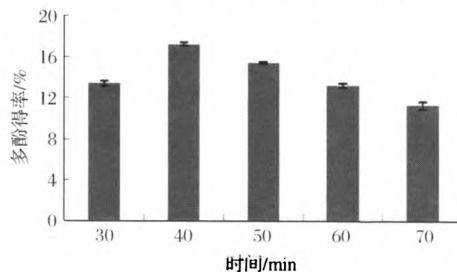


图 4 时间对多酚得率的影响

Fig. 4 Influence of time on yield of polyphenol

2.2 响应面优化试验结果与分析

2.2.1 模型的建立与方差分析

根据 2.1 中所得试验结果,选择提取温度(A),乙醇体积分数(B),提取时间(C)进行 3 因素 3 水平的 Box-Behnken 试验中心组合试验。响应面分析方案与结果见表 2。利用 Design-Expert 7.0 软件对表 2 试验结果进行分析,得到响应值为苦菜多酚得率的回归方程:

$$Y = 1.47 - 0.028A - 0.032B - 0.026C + 0.049AB - 0.016AC - 0.4750E - 0.03BC - 0.081A^2 - 0.052B^2 - 0.039C^2$$

表 2 苦菜多酚得率响应面方案及结果

Table 2 Design and results of RSM for the yield of polyphenol

试验号	各因素水平			得率实际值/ (g · mL ⁻¹)	得率预测值/ (g · mL ⁻¹)
	A	B	C		
1	70	50	50	14.42	14.51
2	90	60	70	12.7	12.85
3	80	50	70	13.95	13.93
4	80	60	50	14.65	14.75
5	70	70	50	12.75	12.88
6	70	60	30	14.08	13.93
7	80	70	30	13.8	13.82
8	80	60	50	14.81	14.75
9	80	70	70	13.27	13.21
10	90	70	50	13.4	13.31
11	80	60	50	14.76	14.75
12	90	60	30	13.61	13.68
13	70	60	70	13.79	13.72
14	80	60	50	14.68	14.75
15	80	50	30	14.29	14.36
16	80	60	50	14.83	14.75
17	90	50	50	13.09	12.97

由表 3 分析数据可知,该回归模型为极显著水平 ($P < 0.000\ 1$),失拟项差异不显著 ($P = 0.055\ 9 > 0.05$),表示该方程对苦菜多酚提取试验拟合效果好。该回归模型决定系数 $R^2 = 0.983\ 0$,校正决定系数 $\text{Adj. } R^2 = 0.961\ 1$,说明该模型拟合程度良好,且总变异中只有 3.99% 不能用此模型解释。预测决定系数 $\text{Pred } R^2 = 0.771\ 4$,说明预测值和真实值之间相关

性高,实验误差小。比较 F 值的大小可知,对苦菜多酚得率的影响顺序为:提取温度 > 提取时间 > 乙醇浓度。一次项 A 、 B ,交互项 AB ,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 ,对多酚得率的影响都达到了极显著水平 ($P < 0.001$);而一次项 C 为显著水平 ($P < 0.01$);交互项 AC 和 BC 对试验结果影响不显著。

表 3 响应面回归模型 ANOVA 分析结果
Table 3 ANOVA for response surface quadratic model analysis of variance table

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.081	9	8.970E-003	44.90	<0.000 1	***
A	6.272E-003	1	6.272E-003	31.39	0.000 8	***
B	8.001E-003	1	8.001E-003	40.05	0.000 4	***
C	5.356E-003	1	5.356E-003	26.81	0.001 3	**
AB	9.801E-003	1	9.801E-003	49.06	0.000 2	***
AC	9.610E-003	1	9.610E-003	4.81	0.064 4	
BC	9.025E-003	1	9.025E-005	0.45	0.523 1	
A ²	0.027	1	0.027	137.17	<0.000 1	***
B ²	0.012	1	0.012	57.92	0.000 1	***
C ²	6.545E-003	1	6.545E-003	32.76	0.000 7	***
残差	1.398E-003	7	1.998E-004			
失拟项	1.149E-003	3	3.831E-004	6.15	0.055 9	
纯误差	2.492E-003	4	6.230E-005			
总和	0.082	16				

$R^2 = 0.983\ 0$ $\text{Adj. } R^2 = 0.961\ 1$ $\text{CV}/\% = 1.01$ $\text{Pred}R^2 = 0.771\ 4$

注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

2.2.2 响应面分析

根据回归方程得出不同因子的响应面和等高线结果见图 5 ~ 图 7。

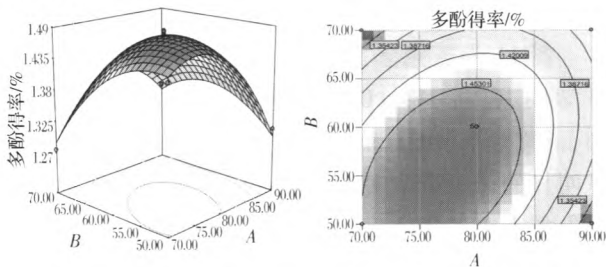


图 5 提取温度和乙醇体积分数对得率的影响
Fig. 5 RSM analysis for interactive effects of extraction temperature and alcohol concentration

如图 5 ~ 图 7 所示,响应面图和等高线均可阐明该模型。在响应曲面图中,单因素影响效果与曲面陡峭相关,曲面越陡峭,影响越显著。等高线图与响应面图相对应,响应值越大曲线越接近中心。各因素交互作用与等高线形状相关,圆形则为不显著,椭圆为显著^[14]。

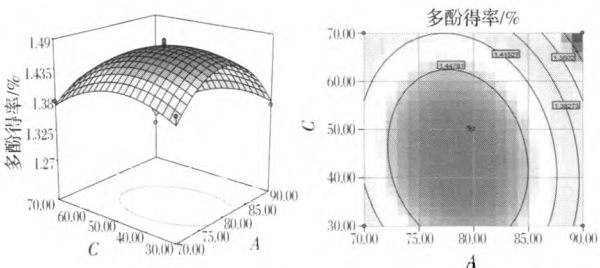


图 6 提取温度和时间对得率的响应面分析
Fig. 6 RSM analysis for interactive effects of extraction temperature and time

图 5 为温度和乙醇分数的交互作用对苦菜多酚得率的影响效果图。从图 5 可知,响应曲面陡峭,影响为显著,等高线为椭圆形,交互作用显著。图 6 为温度和时间对苦菜多酚得率的影响。由图 6 可知,响应曲面陡峭,影响为显著,但等高线接近圆形,相互作用不显著 ($P = 0.064\ 4$)。图 7 为乙醇分数和时间的交互作用对苦菜多酚得率的影响。响应曲面陡峭,影响显著,等高线近似圆形,交互作用不显著 ($P = 0.523\ 1$)。

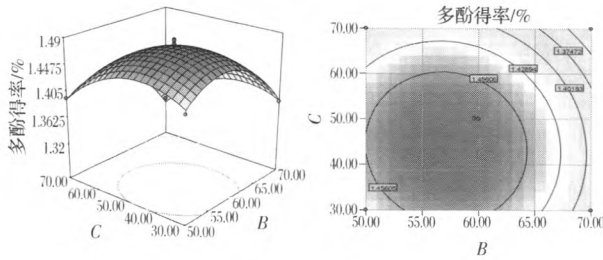


图7 乙醇体积分数和时间对得率的响应面分析

Fig. 7 RSM analysis for interactive effects of alcohol concentration and time

Design-Expert 7.0 分析可得,苦菜多酚最佳提取条件为,温度 77.20℃、乙醇体积分数 55.77%、提取时间 45.04 min,苦菜多酚得率预测可达到 14.88%。为实际操作方便,将上述最优提取条件简化为提取温度 77℃、乙醇体积分数 56%、提取时间 45 min。在该条件下进行 3 次试验验证,苦菜多酚得率平均值为 14.72%,与预测值的误差仅为 1.07%,表明该模型可靠性高。

2.3 HPLC 分析苦菜多酚成分分析鉴定

苦菜多酚粗提物的 HPLC 色谱图如图 9 所示。通过与图 8 各标准品的吸收峰保留时间相对比,确定了 5 种多酚类成分,其中以芦丁为主要成分,含量为 120.987 9 mg/g(每克干物质的量),其后依次为绿原酸 7.047 mg/g、咖啡酸 0.677 1 mg/g、芹黄素 0.423 1 mg/g、原儿茶酸 0.115 1 mg/g。

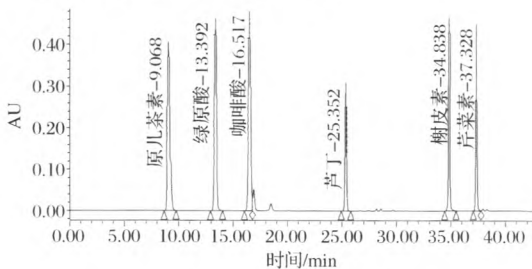


图8 混合标准品溶液的 HPLC 图谱

Fig. 8 HPLC chromatogram of mixed standard solution

2.4 苦菜多酚的抗氧化活性分析

2.4.1 清除 DPPH 自由基的能力

苦菜多酚和阳性对照组 BHT、Vc 清除 DPPH 自由基能力如图 10 所示。从图 10 可以得出,苦菜多酚样品清除 DPPH 自由基的能力在 0.042 ~ 0.168 mg/mL 浓度范围内量效关系增加明显,但在 0.209 mg/mL 时清除能力增加较为平缓;Vc 在整个浓度范围内清除能力随着浓度的增加而增加,且成线性相关;BHT

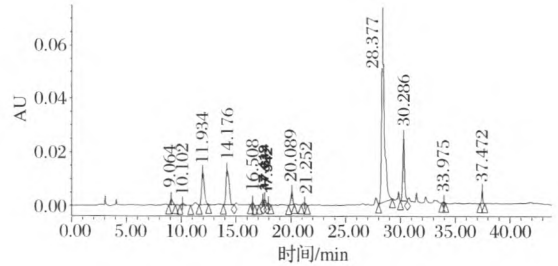


图9 苦菜多酚粗品的 HPLC 图谱

Fig. 9 HPLC chromatogram of crude extracts

在浓度范围内也呈线性相关,但 BHT 清楚能力明显弱于样品和 Vc。苦菜多酚样品、Vc 和 BHT 清楚 DPPH 自由基的 IC_{50} 分别为 0.097、0.113 和 0.258 mg/mL,苦菜多酚样品对 DPPH 自由基清除能力大于阳性对照组 Vc 和 BHT,故苦菜多酚有较强的抗氧化能力。

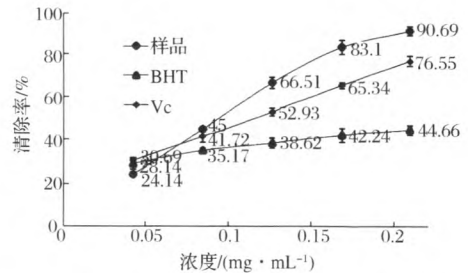


图10 苦菜多酚样品、BHT 和 Vc 对 DPPH 自由基的清除效果

Fig. 10 Scavenging effects of polyphenols from *Ixeris Sonchifolia*, BHT and VC on DPPH radical

2.4.2 还原能力的测定

图 11 为苦菜多酚、BHT 和 Vc 的还原能力。图 11 表明,在 0.042 ~ 0.209 mg/mL 内,随着浓度的增加,苦菜多酚、BHT 和 Vc 的还原能力也不断增强,且呈明显的剂量依耐关系。在相同浓度的条件下,还原能力的大小顺序为 $V_c >$ 样品 $>$ BHT。

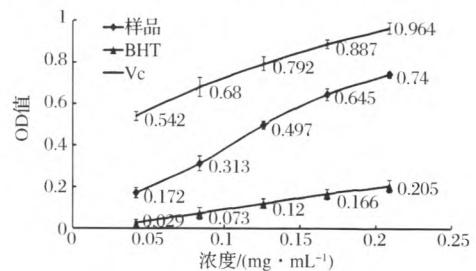


图11 苦菜多酚样品、BHT 和 Vc 的还原能力

Fig. 11 Reducing power of polyphenols from *Ixeris Sonchifolia*, BHT and VC

2.4.3 β -胡萝卜素/亚油酸体系中的抗氧化能力

苦菜多酚、Vc、BHT 作为抗氧化剂在 β -胡萝卜素/亚油酸体系中抗氧化能力如图 12 所示。由图 12 可知,在 0~6h 内,0.209 mg/mL BHT > 同浓度苦菜多酚样品 > 0.168 mg/mL 苦菜多酚样品 > 0.209 mg/mL Vc。这是因为 Vc 是一种亲水性抗氧化剂,而 β -胡萝卜素/亚油酸体系为水包油型乳化体系,根据相似相溶原理,所以 Vc 在该体系中抗氧化能力小,相反,苦菜多酚和 BHT 作为亲脂性抗氧化剂具有较强的抗氧化能力。所以,苦菜多酚在 β -胡萝卜素/亚油酸体系中具有较强的抗氧化能力,这与 BECKER K. 等^[15]的研究结果一致。图 13 为不同质量浓度的苦菜多酚、Vc 和 BHT 在 β -胡萝卜素/亚油酸体系中反应 6h 后的抗氧化能力结果。从图 13 可知,抗氧化能力最强为 BHT,在该体系中达到 77.2%,同浓度苦菜多酚为 69.59%,低浓度苦菜多酚为 59.72%,Vc 抗氧化能力最小,仅为 28.49%。所以,苦菜多酚样品在该体系中具有较强的抗氧化能力。

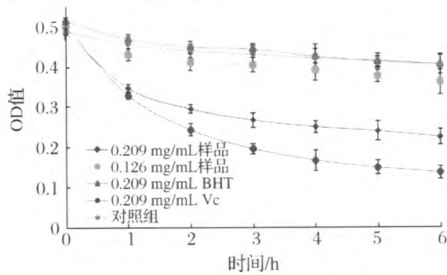


图 12 苦菜多酚样品、BHT 和 Vc 在 β -胡萝卜素/亚油酸体系中的抗氧化能力

Fig. 12 Antioxidant activity of polyphenols from *Ixeris Sonchifolia*, BHT and VC by β -carotene-linoleate model system

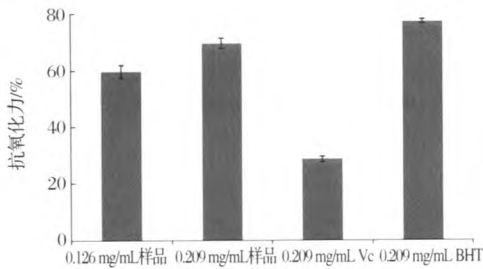


图 13 苦菜多酚样品、BHT 和 Vc 对 β -胡萝卜素漂白的抑制效果

Fig. 13 Bleaching inhibitory effect of polyphenols from *Ixeris Sonchifolia*, BHT and VC on the β -carotene

3 结论

(1) 响应面法优化苦菜多酚提取条件为温度 77℃、乙醇体积分数 56%,时间 45 min。在此条件下,苦菜多酚得率为 14.72%,与预测值 14.75% 基本一致。单因素影响苦菜多酚得率为,提取温度 > 提取时间 > 乙醇体积分数。其中提取时间与提取温度、乙醇体积分数与提取时间的交互作用均不显著,而温度和乙醇体积分数交互作用显著。

(2) 通过高效液相色谱分析苦菜多酚主要组成成分,确定了 5 种多酚类成分,芦丁、绿原酸、咖啡酸、芹菜素、原儿茶素。

(3) 本文分别采用 3 种抗氧化体系对苦菜多酚抗氧化活性进行综合评价。结果表明,苦菜多酚具有较强的清除 DPPH 自由基的能力、较好的还原能力和抗氧化能力,DPPH 指标比 Vc 和 BHT 两个阳性指标都好。因此,苦菜多酚的抗氧化活性较强,可进一步开发利用。

参 考 文 献

- [1] 沈德凤,杨波,李进京. 黄花败酱总皂苷提取物抗肿瘤作用的实验研究[J]. 黑龙江医药科学, 2007, 30 (3): 35 - 41.
- [2] 卢新华,陈虎云,戴俊,等. 苦菜总黄酮对实验性肝损伤的保护作用[J] 中国现代医学杂志, 2002, 12 (3): 8 - 9.
- [3] SEO S W, PARK C S, HONG S H, et al. Inhibitory effect of *Patrinia scabiofolia* on acute pancreatitis[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12 (7): 1110 - 1114.
- [4] 郑冉. 长裂苦苣菜化学成分的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2006.
- [5] 权洪峰,付雪艳,董琳,等. HPLC 法测定苦苣菜中槲皮素和木犀草素的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2009, 22 (6): 60 - 62.
- [6] GARCÍA-HERRERA P, SÁNCHEZ-MATA M C, CÁMARA M, et al. Nutrient composition of six wild edible Mediterranean Asteraceae plants of dietary interest[J]. Journal of Food Composition and Analysis. 2014, 34 (2): 163 - 170.
- [7] 芦佳琨. 败酱草中黄酮类化合物的提取及其抗氧化活性、抑制生物被膜作用的研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2013.
- [8] RADES, THOMAS, MCPowell, et al. Anti-Ageing Effects of *Sonchus oleraceus* L. (puha) leaf extracts on H₂O₂-induced cell senescence [J]. Molecular

Plant. 2015, 20: 4 548 – 4 564.

- [9] BUBONJA-SONJE M, GIACOMETTI J, ABRAM M. Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols [J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 4 548 – 4 564.
- [10] VAQUERO M J R, SERRAVALLE L R T, de NADRA M C M, et al. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions [J]. Food Control, 2010, 21(5): 779 – 785.
- [11] SIDDHURAJU P, BECKER K. Studies on antioxidant activities of mucuna seed (*Mucuna pruriens* var *utilis*) extract and various non-protein amino/imino acids through in vitro models [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2003, 83(14): 1 517 – 1 524.
- [12] 于亚莉, 高峰, 刘静波, 等. 声波法提取花生壳中多酚类物质的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 257 – 260.
- [13] 石珂心, 赵武奇, 朱远棋, 等. 超声波辅助提取石榴籽多酚工艺的响应面优化[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2014, 42(2): 104 – 108.
- [14] BECKER K, SIDDHURAJU P. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2003, 51(8): 2 144 – 2 155.

Response surface methodology for optimization of extracting polyphenol from *Sonchus oleraceus* L. and antioxidant evaluation

ZHENG Cui-ping¹, TIAN Cheng-rui^{1*}, MA Ting-ting¹, QUAN Mei-ping^{1,2}

1(College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

2(Key Lab of Wet Land Ecology and Environment of Duoheliu of Shanxxi Province, Weinan 714000, China)

ABSTRACT Response surface methodology (RSM) was employed to optimize the extraction conditions of Polyphenol from *Sonchus oleraceus* L. and the chemical composition. Antioxidant activity of the polyphenols are also analyzed. Based on single-factor tests, Box-Behnken center composite experiment was carried out with three factors, including extraction temperature, alcohol concentration, extracting time. RSM was used to determine the effect of prime factors on the yield of polyphenol. Results showed that the optimum extraction conditions were: 77 °C, ethanol concentration 56%, and extraction time 45 min. Under these conditions, the extraction yield of polyphenol was 14.72%. The results of chromatography analysis with HPLC show that rutin, chlorogenic acid, caffeic acid, apigenin and original catechins are the main components existing in polyphenols. The IC₅₀ of the polyphenol extracts, Vitamin C and BHT against DPPH radicals were 0.097 mg/mL, 0.113 mg/mL and 0.258 mg/mL, respectively. The scavenging impact of the radical was more effective than that of BHT and vitamin C at the same concentration. The total reducing power was more than BHT but lower than vitamin C. Furthermore, β -carotene/linoleic bleaching test showed that the antioxidant ability was decreased in the order: BHT > the polyphenol extracts > vitamin C with the amount (%) of 77.2%, 69.59% and 28.49%, respectively.

Key words *Sonchus oleraceus* L.; polyphenol; response surface methodology; HPLC; antioxidant activity