

马兰黄酮类化合物的提取及其抗氧化活性

张灿, 张海晖, 武妍, 段玉清^{*}, 张瑞, 邵婷婷, 陈杰华

(江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013)

摘要: 为了探索以亚临界水萃取马兰黄酮类化合物的效果, 以得率为指标, 通过单因素和正交试验, 优选其萃取工艺参数, 并对所得黄酮类化合物的抗氧化性能进行测定。结果表明, 在压力为 5.0 MPa, 温度 160℃、提取时间 25 min、水料比为 20:1 mL/g 的条件下马兰黄酮类化合物的得率为 9.01%。与水 and 乙醇回流提取法(马兰黄酮类化合物得率分别为 5.12%和 7.13%)相比, 亚临界水萃取在提取时间和得率方面均有明显的优势, 所得马兰黄酮类化合物在一定浓度范围内具有较强的清除自由基和抗氧化能力。研究结果为马兰黄酮类化合物的开发提供参考。

关键词: 提取, 优化, 农产品, 马兰, 黄酮类化合物, 抗氧化

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2011.z2.059

中图分类号: Q949.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2011)-Supp.2-0307-05

张灿, 张海晖, 武妍, 等. 马兰黄酮类化合物的提取及其抗氧化活性[J]. 农业工程学报, 2011, 27(增刊2): 307-311.
Zhang Can, Zhang Haihui, Wu Yan, et al. Extraction and antioxidant activities of flavonoids from *Kalimeris indica*[J]. Transactions of the CSAE, 2011, 27(Supp.2): 307-311. (in Chinese with English abstract)

0 引言

马兰(*Kalimeris indica*)是菊科马兰属多年生草本植物, 嫩茎叶常作蔬菜食用, 全草可入药。马兰广泛分布于中国东部、中部、西部、南部以及东北以南地区^[1]。研究表明, 马兰富含黄酮、挥发油、多糖、维生素、氨基酸和矿物质等多种营养成分^[2-4], 其中黄酮类化合物具有抗炎、抗氧化、抗衰老、抗癌防癌和抗病毒等功效^[5]。目前国内外有关马兰黄酮类化合物的提取研究还相对较少, 只有以水或乙醇为提取剂的浸提法和回流提取法, 如姜显光等^[6]采用体积分数 60%乙醇回流提取和纤维素酶辅助热水浸提两种方式提取马兰叶干粉中的黄酮, 提取液中黄酮质量分数分别为 17.41、30.60 mg/g; 王贵军等^[7]以体积分数 75%乙醇回流法提取, 测得马兰叶粉中黄酮的得率为 2.83%; 郑和权等^[8]采用超声波辅助体积分数 70%乙醇回流提取, 测得马兰地上部分总黄酮的质量分数为 12.75%, 提取效率是普通回流提取法的 1.625 倍。然而上述方法都存在提取时间长、工艺复杂、提取效率低等不足。

亚临界水也被称为过热水、高温水、高压热水或热液态水, 是指在一定压力下, 将水加热到 100℃以上临界温度 374℃以下的液态水, 通过对亚临界水温度和压力的控制可以改变水的极性、表面张力和黏度^[9]。Ramos 等^[10]报道亚临界水萃取技术与溶剂萃取法和超临界二氧化碳萃取法相比, 有更加宽泛的极性范围, 通过程序升温可以选择性分类萃取目标成分。近年来, 亚临界水萃取技术因其提取时间短、效率高、环境友好等优势备受关注, 并被大量应用于挥发油、黄酮、多酚、萜烯及萜醌等植物有效成分的提取和有机污染物的萃取等领域^[11-16], 但有关亚临界水萃取马兰黄酮的研究目前尚未见报道。因此本试验以马兰为原料, 用亚临界水提取马兰黄酮类化合物, 旨在为马兰黄酮类化合物的提取提供一种绿色高效的新型技术, 并对其抗氧化性能进行测定, 以期为进一步揭示马兰黄酮类化合物的生物活性提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试剂

马兰: 新鲜板叶红根马兰, 全草高约 4~10 cm, 于 2009 年 3 月采自扬中市神农野生蔬菜专业合作社, 阴干, 粉碎过 20 目筛, 乙醚脱脂, 干燥得脱脂马兰粉, 密封, -20℃冰箱保存, 备用。所用乙醚、乙醇、NaNO₂、Al(NO₃)₃、硫酸、硫代硫酸钠、碘化钾、三氯化铁、三氯乙酸、铁氰化钾、H₂O₂、水杨酸等试剂购于国药集团化学试剂有限公司, 均为分析纯。芦丁(纯度 99.1%)购于中国药品生物制品检定所。DPPH 购于美国 Sigma 公司。

1.2 方法

1.2.1 马兰黄酮类化合物亚临界水提取工艺

脱脂马兰粉 2.0 g、一定量的蒸馏水→加入萃取釜→5.0 MPa 下提取(控制适当温度和时间)→冷却→过滤

收稿日期: 2010-12-03 修订日期: 2011-01-26

基金项目: 国家自然科学基金(309700309); 国家博士后基金(20100471379); 江苏大学人才基金(05JDG013, 128300289); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 张灿(1979-), 女, 湖南衡阳人, 博士, 讲师, 主要从事农产品活性因子提取分离新技术研究。镇江 江苏大学食品与生物工程学院, 212013。Email: zhangcan@ujs.edu.cn

*通信作者: 段玉清(1973-), 女, 吉林永吉人, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事农产品加工与贮藏工程研究。镇江 江苏大学食品与生物工程学院, 212013。Email: dyq101@ujs.edu.cn

→滤液定容至 100 mL→测定黄酮质量→按公式计算马兰黄酮类化合物的得率, 公式为

$$\text{得率}(\%) = (m/W) \times 100$$

式中, m 为黄酮质量, g ; W 为马兰粉质量, g 。

1.2.2 水为溶剂回流提取马兰黄酮

脱脂马兰粉 2.0 g→加入 60 mL 蒸馏水→100℃回流提取 90 min→过滤→滤液定容至 100 mL→测定黄酮质量→按 1.2.1 公式计算马兰黄酮类化合物的得率^[6]。

1.2.3 乙醇为溶剂回流提取马兰黄酮

脱脂马兰粉 2.0 g→加入 60 mL 体积分数 70%乙醇→70℃回流提取 90 min→过滤→滤液定容至 100 mL→测定黄酮质量→按 1.2.1 公式计算马兰黄酮类化合物的得率^[7]。

1.3.4 超声波辅助乙醇提取马兰黄酮

脱脂马兰粉 2.0 g→加入 60 mL 体积分数 70%乙醇→70℃回流提取 90 min→60℃下超声(300 W)辅助提取 30 min→过滤→滤液→定容至 100 mL→测定黄酮质量→计算马兰黄酮类化合物的得率^[8]。

1.2.5 黄酮类化合物的含量测定

吸取上述方法制备的提取液 2.0 mL, 加入 0.6 mL 质量分数 5% NaNO_2 , 摇匀并静置 6 min, 再加入 0.6 mL 的质量分数 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 充分混匀静置 6 min, 随后加入 4 mL 的质量分数 4% NaOH , 摇匀后静置 10 min 后, 以相应的空白溶剂作对照, 于 510 nm 处测定吸光度, 以芦丁为标准对照品, 据标准曲线 ($y=1.2283x+0.0054$, $R^2=0.9995$, 其中 y 为吸光度; x 为芦丁的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$) 求得样品中黄酮类化合物的质量, 并计算黄酮类化合物得率(按干质量计)。

1.2.6 亚临界水萃取马兰黄酮类化合物的单因素试验

温度: 称取马兰粉 1.0 g, 加入水料比 20:1 mL/g 的蒸馏水于萃取釜中, 控制压力为 5.0 MPa, 浸提 30 min, 考察不同浸提温度(120、140、160、180、200℃)对马兰黄酮类化合物提取效果的影响。

时间: 称取马兰粉 1.0 g, 加入水料比 20:1 mL/g 的蒸馏水, 压力为 5.0 MPa, 萃取温度为 160℃, 考察不同浸提时间(10、15、20、25、30、40、50、60 min)对马兰黄酮类化合物提取效果的影响。

水料比: 称取马兰粉 1.0 g, 加入蒸馏水, 压力为 5.0 MPa, 160℃下浸提 20 min, 考察不同水料比(5:1, 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1 mL/g)对马兰黄酮类化合物提取效果的影响。

pH 值: 称取脱脂马兰粉 1.0 g, 分别加入水料比 15:1 mL/g 的蒸馏水, 控制压力为 5.0 MPa, 160℃下浸提 20 min, 考察不同 pH 值(4.0、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0)对马兰黄酮类化合物提取得率的影响。

1.2.6 亚临界水萃取马兰黄酮类化合物的正交试验

在单因素试验的基础上, 对影响马兰黄酮类化合物提取得率的主要因素温度、提取时间和水料比按表 1 设计因素水平表 $L_9(3^4)$ 进行正交试验, 优化工艺参数。

表 1 正交试验因素水平表
Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	A 温度/℃	B 提取时间/min	C 水料比/(mL·g ⁻¹)
1	140	15	10
2	160	20	15
3	180	25	20

1.2.8 抗氧化活性研究

抗氧化值 (artillery observation vehicle, AOV) 的测定: 分别取 50~200 $\mu\text{g/mL}$ 的马兰黄酮提取液 10 mL 于三角瓶中, 加入 0.25 mL 的 1 mol/L 硫酸和 5 mL 0.25 mol/L 的 H_2O_2 , 室温下反应 10 min 再加入质量分数 10% 碘化钾溶液 20 mL, 静置 5 min 后用 0.05 mol/L 硫代硫酸钠滴定, 以质量分数为 1% 淀粉溶液指示终点, 同时用空白做对照, 按下式计算 AOV 值 (mg/g)。

$$\text{AOV} = (V_0 - V_1) \times M \times 34 / 0.1$$

式中, V_0 为空白溶液, mL; V_1 为样品溶液消耗硫代硫酸钠的体积, mL; M 为硫代硫酸钠的摩尔浓度 0.05 mol/L; 34 为双氧水的摩尔浓度; 0.1 为常数。

还原能力测定: 取 1.0 mL 50~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的马兰黄酮提取液加入 2.5 mL pH 值为 6.6 的磷酸盐缓冲溶液和 2.5 mL 质量分数 1% 的铁氰化钾溶液, 摇匀, 在 50℃ 保温 20 min 后取出, 加入 2.5 mL 质量分数为 10% 的三氯乙酸, 混合后离心 (3000 r/min) 10 min, 取上清液 2.5 mL 加入 2.5 mL 蒸馏水和 0.5 mL 质量分数 0.1% 三氯化铁溶液, 混匀后在 700 nm 处测定吸光度, 吸光度越大表明样品还原能力越强。

DPPH· 自由基清除作用: 参照文献[17-18]方法并加以改进, 取 3 mL 质量浓度为 50~200 mg/L 的提取物乙醇溶液, 与 3 mL 浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$ 的 DPPH· 乙醇溶液混合, 使 DPPH· 终浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$, 将其充分混匀置暗处孵育 30 min, 在 517 nm 处测定吸光度。按下式计算 DPPH· 自由基清除率 (I)。

$$I(\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

式中, A_0 为不加样品的空白吸光值; A_1 为加样品后的吸光值。

羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 清除率的测定: 参照文献[17-18]的方法并加以改进, 取若干 10 mL 离心管, 按表 2 依次加入 16.0 mmol/L FeSO_4 , 0.04 mmol/L H_2O_2 , 6.0 mmol/L 水杨酸及 50~200 mg/L 浓度的样品。37℃ 反应 30 min, 流水冷却, 各管分别加入 0.9 mL 蒸馏水, 使体系终体积为 6.0 mL, 2 000 r/min 离心 10 min, 取出于 510 nm 处比色测定吸光度, 按下式计算 $\cdot\text{OH}$ 清除率。

$$\cdot\text{OH} \text{ 清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100$$

式中, A_0 为不加样品的空白的吸光值; A_1 为加样品后的吸光值; A_2 为水杨酸试剂空白的吸光值。

1.3 数据处理方法

采用 SAS 统计软件, 进行 t 检验数据处理和方差分析。所有试验均设 3 个重复。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 温度对萃取得率的影响

图 1a 为亚临界水萃取温度对马兰黄酮类化合物萃取得率的影响。由图 1 可见，随温度升高马兰黄酮类化合物的得率也逐渐增加，当温度为 160℃ 时得率最高。此后随着提取温度的升高，黄酮类化合物得率反而下降，这可能是升高温度可使水的极性减弱从而接近黄酮类化合物的极性，有利于提取，但当温度过高，其中热稳定性差的成分就会发生热降解，反而降低了黄酮类化合物的得率。因此，选择提取温度在 160℃ 左右为宜。

2.1.2 时间对萃取得率的影响

提取时间对马兰黄酮类化合物得率的影响见图 1b。理论上提取时间越长，萃取越好，但实际并非如此。从图 1b 可以看出，马兰黄酮类化合物在提取过程中，随着

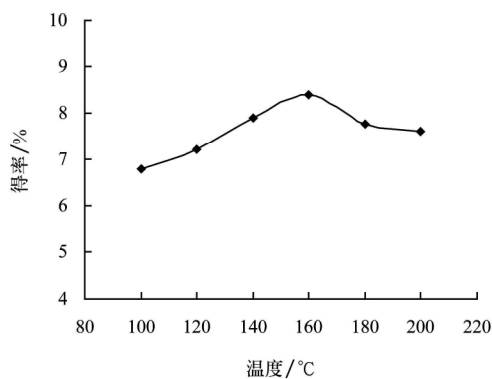
时间延长，得率也随之增大，在 20 min 时达到最大值；之后随着时间延长，得率下降，有可能提取时间的延长导致杂质溶出量增加，使得黄酮类化合物得率呈现下降趋势。故提取时间以 20 min 左右为宜。

2.1.3 水料比对萃取得率的影响

图 1c 是水料比对马兰黄酮类化合物得率的影响。从图 1c 可以看出，随着水料比的增加，黄酮类化合物得率逐渐增高，当水料比为 15:1 mL/g 时，黄酮类化合物得率达到最大值，并趋于平衡。考虑到提取液体积过大不利用后续处理，本研究选择水料比为 15:1 mL/g 左右。

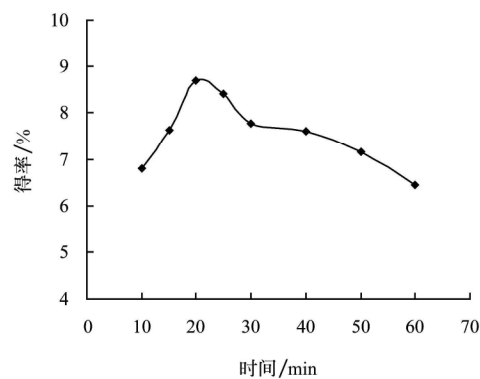
2.1.4 pH 值对萃取得率的影响

pH 值对马兰黄酮类化合物萃取得率的影响见图 1d。从图 1d 可见，当提取压力，温度、水料比和提取时间一定时，提取体系的 pH 值在 4.0~7.0 之间时对马兰黄酮类化合物萃取得率影响较小。因蒸馏水的 pH 值为 6.8 左右，故本试验对体系的 pH 值不做调整。



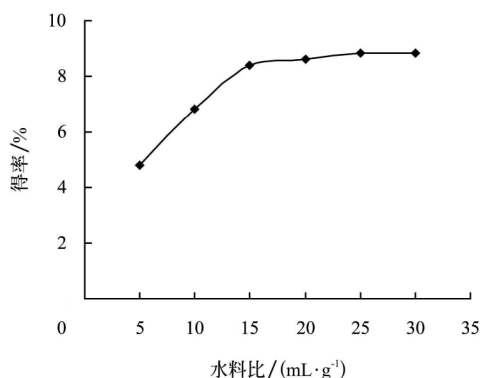
注：控制萃取釜压力 5.0 MPa，水料比 20:1 mL/g，萃取时间 30 min

a. 温度

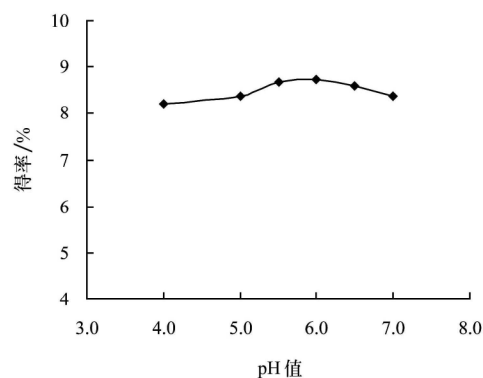


注：控制萃取釜压力 5.0 MPa，水料比 20:1 mL/g，萃取温度为 160℃

b. 时间



注：控制萃取釜压力 5.0 MPa，萃取温度为 160℃，萃取时间 20 min



注：控制萃取釜压力 5.0 MPa，萃取温度为 160℃，水料比 15:1 mL/g

图 1 不同因素对马兰黄酮类化合物得率的影响

Fig.1 Effect of different factors on flavonoids yield from *Kalimeris indica*

2.2 正交试验结果与分析

在单因素试验的基础上，称取脱脂马兰粉 1.0 g，在提取压力为 5.0 MPa，pH 值为 6.8 的条件下，选温度、提取时间和水料比进行三因素三水平正交试验。

通过正交试验确定亚临界水萃取马兰黄酮类化合物的优化工艺条件，正交试验结果见表 3。表 3 极差分析表

明，当提取压力为 5.0 MPa，提取温度、提取时间和水料比对马兰黄酮类化合物的萃取得率均有不同程度的影响，各种因素对马兰黄酮类化合物萃取得率影响的大小顺序为： $A > C > B$ 。亚临界水法提取的较优条件为 $A_2B_3C_3$ ，即提取温度 160℃，提取时间 25 min，水料比 20:1 mL/g。

验证试验中，较优组合下 $A_2B_3C_3$ 马兰黄酮类化合物

的得率为 9.01%，均高于正交表的任意组合。

表 3 正交试验结果
Table 3 Results of orthogonal test

序号	因素				得率/%
	温度/A	提取时间/B	水料比/C	空白列	
1	1	1	1	1	6.82
2	1	2	2	2	6.92
3	1	3	3	3	7.68
4	2	1	2	3	8.24
5	2	2	3	1	8.91
6	2	3	1	2	8.37
7	3	1	3	2	7.67
8	3	2	1	3	7.22
9	3	3	2	1	7.51
K_1	7.140	7.577	7.470	7.747	
K_2	8.507	7.683	7.557	7.653	
K_3	7.467	7.853	8.087	7.713	
R	1.367	0.276	0.617	0.094	
优化组合	A_2	B_3	C_3		

2.3 对比试验结果

考虑到马兰的品种、不同部位，以及采集月份等因素都会对其总黄酮含量的测定产生影响，现有文献报道的数据差异很大，不利于提取方法的比较。本试验按报道方法^[6-8]，分别以去离子水和体积分数 70%的乙醇为浸提剂进行普通回流提取和超声波辅助提取试验，以比较不同提取方法的优劣，试验结果见表 4。由表 4 可看出，亚临界水萃取法优于单纯以水和乙醇为溶剂的回流提取法，其提取物中马兰黄酮类化合物的得率分别为水回流提取法的 1.76 倍，乙醇回流提取法的 1.26 倍，与超声波辅助乙醇提取法的得率相当；而亚临界水提取时间仅为 25 min，其他提取方法则需要 90 min 以上，提取时间大大缩短；同时从经济角度考虑，亚临界水提取采用纯水作为溶剂，成本低于其它 2 种方法，且无毒无害，更符合环保经济的要求，操作简单便于工业化生产。由此可见，亚临界水提取是一种非常有效的提取黄酮类化合物的技术。

常规的提取方法存在有机溶剂残留等不安全因素，对人体健康有潜在威胁，而水是一种绿色环保、资源丰富的溶剂，将亚临界水提取技术用于马兰黄酮类化合物的提取上，不仅可以避免有机溶剂对黄酮类化合物的污染，而且成本低，有利于工业化生产，这对马兰黄酮的生产利用具有十分重要的意义。

表 4 提取方法对马兰黄酮类化合物得率的影响

Table 4 Effect of extraction methods on flavonoids yield from *Kalimeris indica*

提取方法	温度/°C	液料比/(mL·g ⁻¹)	时间/min	得率/%
水回流提取法	100	30:1	90	5.12
乙醇回流提取法	70	30:1	90	7.13
超声波辅助提取法	60	30:1	30	8.97
亚临界水萃取法	160	20:1	25	9.01

2.4 马兰黄酮类化合物抗氧化活性

从表 5 可以看出马兰黄酮类化合物具有一定的抗氧化能力。马兰黄酮类化合物自身可作为优良供氢体，向活泼自由基提供氢后，通过共振杂化与其它自由基结合成稳定二聚体，AOV 值越大表明供氢能力越强，即还原能力越强，越能发挥抗氧化作用。马兰黄酮类化合物的还原能力测定与 AOV 值结果一致的，具有还原能力的马兰黄酮类物质供应的电子除可以还原氧化性物质外，也可与自由基反应成为稳定的物质。马兰黄酮类化合物对 DPPH·和·OH 自由基清除作用表明，马兰黄酮类化合物具有降低羟自由基、烷自由基或过氧自由基和阻断脂质过氧化链反应的作用，而且这种作用与其浓度存在正相关。以上结果均表明马兰黄酮类化合物具有很强的供氢能力，在一定浓度范围内具有较强的抗氧化能力。

表 5 马兰黄酮类化合物的清除自由基能力和抗氧化活性
Table 5 Scavenging free radicals and antioxidant activities of flavonoids from *Kalimeris indica*

马兰黄酮质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	抗氧化值/AOV($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	还原能力/ A_{700}	DPPH·清除率/%	·OH清除率/%
50	2.1±0.13	0.25±0.02	15.2±1.9	38.5±2.6
100	3.8±0.15	0.63±0.04	34.7±2.4	49.7±2.9
150	5.2±0.12	0.78±0.03	53.6±2.1	65.2±3.8
200	6.5±0.24	0.84±0.05	67.8±3.3	74.8±3.6

3 结论

1) 通过单因素和正交试验，在压力为 5.0 MPa 的条件下，优化出亚临界水萃取马兰黄酮类化合物的较佳工艺条件为：提取温度 160°C、提取时间 25 min、水料比为 20:1 mL/g，在此条件下马兰黄酮类化合物的得率为 9.01%。

2) 亚临界水萃取马兰黄酮类化合物同传统的提取方法相比具有得率高(9.01%)、快速(25min)、无污染(以蒸馏水为溶剂)和易于操作等优势。

3) 马兰黄酮类化合物在一定浓度范围内具有清除自由基和抗氧化能力。

[参 考 文 献]

- [1] 吕丽爽, 谢天飞, 樊玉洁. 马兰提取物抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(13): 122-126.
Lü Lishuang, Xie Tianfei, Fan Yujie. Antioxidant and free radical scavenging activities of extract from *Kalimeris indica* (L.) Sch-Bip[J]. Food Science, 2010, 31(13): 122-126. (in Chinese with English abstract)
- [2] 程莉君, 石雪萍. 野菜马兰营养、药理作用及其加工利用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(4): 189-191.
Cheng Lijun, Shi Xueping. Research progress on the nutrition, pharmacological effect, process and utilization of the *Kalimeris indica* (L.) SCH-BIP[J]. Food research and development. 2008, 29(4): 189-191. (in Chinese with English abstract)
- [3] 李义, 陈星, 李红霞, 等. 马兰水溶性粗多糖提取工艺的研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(1): 161-163.
Li Yi, Chen Xing, Li Hongxia, et al. Technology for

- extracting water-soluble coarse polysaccharides of *Kalimeris indica*[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering. 2006, 22(1): 161—163. (in Chinese with English abstract)
- [4] 张立华, 张元湖, 安春艳, 等. 石榴皮提取物的大孔树脂纯化及其抗氧化性能[J]. 农业工程学报, 2004, 13(1): 58—59.
Zhang Lihua, Zhang Yuanhu, An Chunyan, et al. Purification technology of extracts from pomegranate peel with macroporous absorbent resin and their antioxidant ability[J]. Transactions of the CSAE, 2004, 13(1): 58—59. (in Chinese with English abstract)
- [5] 蔡为荣, 顾小红, 汤 坚. 仙人掌皮黄酮提取工艺优化[J]. 农业工程学报, 2008, 24(6): 299—303.
Cai Weirong, Gu Xiaohong, Tang Jian. Optimization of processing parameters for extraction of flavonoids from *Opuntia milpa alta* peel[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(6): 299—303. (in Chinese with English abstract)
- [6] 姜显光, 侯冬岩, 回瑞华, 等. 马兰叶中黄酮的不同提取方法比较[J]. 现代农业科技, 2010, 16: 21—27.
Jiang Xianguang, Hou Dongyan, Hui Ruihua, et al. Comparison of different extraction methods on flavonoids in *Kalimeris indica* leaves determination[J]. Modern Agricultural Sciences and Technology, 2010, 16: 21—27. (in Chinese with English abstract)
- [7] 王贵军, 胡娟, 罗绮, 等. 马兰黄酮类化合物提取的研究[J]. 中国林副特产, 2007, 2: 13—14.
Wang Guijun, Hu Juan, Luo Qi, et al. Extraction of flavonoids from *Kalimeris indica* (L.)[J]. Forest By-Product and Speciality in China, 2007, 2: 13—14. (in Chinese with English abstract)
- [8] 郑和权, 周守标, 朱肖锋, 等. 超声波辅助法提取马兰总黄酮的研究[J]. 中国林副特产, 2008, 4: 14—16.
Zheng Hequan, Zhou Shoubiao, Zhu Xiaofeng et al. Ultrasonic assisted extraction of total flavone from *iris ensata*[J]. Forest By-Product and Speciality in China, 2008, 4: 14—16. (in Chinese with English abstract)
- [9] 靳洪允. 亚临界水的应用研究及进展[J]. 湿法冶金, 2005, 24(2): 66—68.
Jin Hongyun. Application and research development of subcritical water[J]. Hydrometallurgy of China, 2005, 24(2): 66—68. (in Chinese with English abstract)
- [10] Ramos L, Kristenson E M, Brinkman U A. Current use of pressurized liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 975(1): 3—29.
- [11] Khajenoori M, Haghghi Asl A, Hormozi F. Proposed models for subcritical water extraction of essential oils[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2009, 17(3): 359—365.
- [12] 丛艳波, 张永忠, 刘潇. 亚临界水提取槐角中总异黄酮的研究[J]. 中草药, 2010, 14(5): 717—720.
Cong Yanbo, Zhang Yongzhong, Liu Xiao. Study on total isoflavones from *Fructus Sophorae* by subcritical water extraction[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 14(5): 717—720. (in Chinese with English abstract)
- [13] García Marino M, Rivas Gonzalo J C, Ibáñez E, et al. Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction[J]. Anal. Chim. Acta, 563, 44-50.
- [14] Hassas Roudsari M, Chang P R, Pegg R B, et al. Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction[J]. Food Chemistry, 2009, 114(2): 717—726.
- [15] Shotipruk A, Kiatsongserm J, Pavasant P, et al. Subcritical water extraction of anthraquinones from the roots of *Morinda citrifolia*[J]. Biotechnology Progress, 2004, 20(6): 1872—1875.
- [16] Hartonen K, Inkala K, Kangas K, et al. Extraction of poly-chlorinated biphenyls with water under subcritical condition[J]. Journal of Chromatography A, 1997, 785(1/2): 219—222.
- [17] Wada L, Ou B X. Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(4): 3495—3500.
- [18] Harborne J B. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, blackberries, chokeberries and lingonberries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(9): 502—509.

Extraction and antioxidant activities of flavonoids from *Kalimeris indica*

Zhang Can, Zhang Haihui, Wu Yan, Duan Yuqing^{*}, Zhang Rui, Shao Tingting, Chen Jiehua

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: The subcritical water extraction technique for flavonoids from *Kalimeris indica* was studied, and the optimization of technological parameters were obtained by orthogonal experiments with flavonoids yield as index, and the antioxidant activities of flavonoids in the extracts were determined. The results were as follows: the flavonoids yield was 9.01% under the conditions of pressure 5.0 MPa, temperature 200°C, extraction time 25 min and the liquid-solid ratio 20 mL/g, while it was 5.12% and 7.13%, respectively by reflux extraction with water and ethanol. Compared with traditional method, subcritical water extraction method has obvious advantage in saving time and extraction rate. In addition, the flavonoids extracted from *Kalimeris indica* was found to be possessed power scavenging free radicals and antioxidant activities in the experiment concentration range. These results can provide references for the development of flavonoids extraction from *Kalimeris indica*.

Key words: extraction, optimization, agricultural products, *Kalimeris indica*, flavonoids, antioxidant activity