

响应面法优化超声波提取蓝靛果 花色苷及其抗炎活性的研究

李旭¹, 高博¹, 赵丽华², 孙尧¹, 尉松瑶¹, 王庆波¹, 高冷^{1*}, 高晓晨^{3*}
(1. 长春工业大学化学与生命科学学院, 吉林 长春 130012; 2. 长春金荷药业有限公司, 吉林 长春 130600; 3. 长春中医药大学吉林省人参科学研究院, 吉林 长春 130117)

摘要: 以蓝靛果为原料, 超声波提取法提取其中的花色苷, 通过单因素实验和响应面法优化提取条件, 确定最佳的提取工艺; 采用高效液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS/MS)对花色苷组成进行分析; 并评价其抗炎活性。试验结果表明: 蓝靛果花色苷最优提取条件为超声功率160 W、超声时间55 min、乙醇体积分数85%、料液比1:35 g/mL, 此时花色苷含量为(298.22±1.13)mg/100 g。HPLC-MS/MS结果显示提取物中含有4种花色苷, 主要为矢车菊-3-葡萄糖苷(68.971%)。蓝靛果花色苷提取物能够抑制对脂多糖(LPS)诱导的小鼠单核巨噬细胞(RAW264.7)释放炎症因子一氧化氮(NO)和前列腺素E₂(PGE₂), 具有较强的抗炎活性。

关键词: 蓝靛果; 花色苷; 响应面法; 高效液相色谱-质谱联用; 抗炎活性

中图分类号: R 284.2 文献标志码: A 文章编号: 1005-9989(2021)03-0176-08

DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2021.03.030

Optimization of the Ultrasonic-Assisted Extraction of Anthocyanins from *Lonicera Edulis* by Response Surface Methodology and Its Anti-Inflammatory Activities

LI Xu¹, GAO Bo¹, ZHAO Lihua², SUN Yao¹, WEI Songyao¹, WANG Qingbo¹, GAO Leng^{1*}, GAO Xiaochen^{3*}

(1. School of Chemistry and Life Science, Changchun University of Technology, Changchun 130012, China; 2. Changchun Jinhe Pharmaceutical Co., Ltd., Changchun 130600, China; 3. Jilin Institute of Ginseng Science, Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

Abstract: The anthocyanins were extracted from the fruit of *Lonicera edulis* by ultrasonic wave. The extraction conditions were optimized by single factor and response surface test. High-performance liquid chromatography-electrospray ionization/mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was used to identify the anthocyanin compounds, its anti-inflammatory activity was evaluated. The results showed that the optimal extraction conditions for the anthocyanins from *Lonicera edulis* was as follows: ultrasonic power 160

收稿日期: 2020-10-29

*通信作者

基金项目: 吉林省产学研引导基金项目(20171227)。

作者简介: 李旭(1995—), 男, 吉林长春人, 硕士研究生, 研究方向为天然产物与功能食品。

W, ultrasonic time 55 min, material liquid ratio at 1:35 g/mL, and the ethanol volume fraction 85%. The extraction of anthocyanins from *Lonicera edulis* was (298.22±1.13)mg/100 g. Four individual anthocyanins were found by HPLC-MS/MS, with cyanidin-3-glucoside (68.971%) being the major anthocyanin. The anthocyanins of *Lonicera edulis* could inhibit release nitric oxide (NO) and prostaglandin E₂ (PGE₂) from RAW264.7 LPS-induced. The anthocyanins from *Lonicera edulis* revealed a protective effect to reduce the secretion of inflammatory mediators.

Key words: *Lonicera edulis*; anthocyanins; response surface methodology; high-performance liquid chromatography-electrospray ionization/mass spectrometry; anti-inflammatory activity

蓝靛果忍冬(*Lonicera edulis* Turcz)又名蓝靛果, 属茜草目忍冬科忍冬属, 是一种新兴的浆果资源^[1-2]。果实中不但富含多种营养物质如氨基酸、糖类、维生素、矿物质等, 而且还有花色苷、黄酮、儿茶素等多种活性物质, 其中花色苷含量显著高于其他浆果^[3]。研究表明, 蓝靛果忍冬具有降血压、抗氧化、抗炎、抗肿瘤、促进血液循环、预防心血管病、缓解视觉疲劳等多种功效^[4], 在食品、医药等工业有着重要的应用价值与广阔的开发前景。

花色苷是花色素与糖以糖苷键结合而成的一类化合物, 在水果与蔬菜中广泛存在, 因此呈现出多种颜色^[5]。蓝靛果中花色苷不仅可以作为天然色素良好的来源^[6], 还具有抗氧化、清除自由基、降血脂、抗炎、预防心血管疾病等多种生物活性^[7-9], 因此, 研究蓝靛果花色苷的组成与探究其生物活性, 对相关产品的开发具有重要意义。

本文通过超声波提取法提取蓝靛果中的花色苷, 相较于酶解法, 具有操作简便、更好地保护花色苷不被破坏的作用; 相较于溶剂提取法, 其提取时间短、提取效率高。通过响应面法优化提取工艺, 确定蓝靛果花色苷提取的最佳工艺。并利用高效液相色谱串联质谱法(HPLC-MS/MS)对蓝靛果花色苷进行分析鉴定, 建立以LPS诱导的RAW264.7体外细胞炎症模型, 通过检测NO和PGE₂的分泌量, 对蓝靛果花色苷进行抗炎活性的测定, 为蓝靛果花色苷活性物质的开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

野生蓝靛果: 长春金荷药业有限公司; 小鼠巨噬细胞RAW264.7: 中国科学院上海细胞研究所; 无水乙醇(分析纯)、盐酸(分析纯)、乙腈(色谱纯)、氯化钾、乙酸钠等: 哈尔滨盛达生化仪器有限公司; 二甲基亚砜(DMSO)、脂多糖(LPS)、青

霉素-链霉素、四甲基偶氮唑蓝(MTT): 美国Sigma公司; 胎牛血清、高糖DMEM培养液: 赛默飞世尔生物化学制品有限公司; 一氧化氮(NO)、前列腺素E₂(PGE₂)测定试剂盒: 南京建成生物工程研究所。

1.2 主要仪器与设备

PHS-3C型pH计: 上海雷磁仪器厂; TU-1800PC型紫外-可见分光光度计: 北京普析通用仪器有限责任公司; MJ-BL25C3搅拌机: 广东美的电器制造公司; RE-3000旋转蒸发器: 上海亚荣生化仪器厂; HX2002T型电子天平: 慈溪市天东衡器厂; FreeZone 2.5台式冷冻干燥机: 美国Labconco公司; Biotek Elx808酶标仪: 美国Bio-Tek公司; 高效液相色谱、质谱仪: 美国Agilent公司; HERAcell150i培养箱: 美国Thermo公司。

1.3 实验方法

1.3.1 蓝靛果花色苷的提取 将冷冻的蓝靛果于常温下解冻, 用搅拌机对其破碎匀浆。称取5.00 g蓝靛果匀浆, 加入料液比为1:35 g/mL的85%乙醇溶液在40 °C、160 W超声功率下对其进行超声提取55 min, 经抽滤后得到蓝靛果花色苷粗提取液。

1.3.2 蓝靛果花色苷单因素实验 选取超声功率、超声时间、乙醇体积分数、料液比4个因素进行单因素实验, 准确称取蓝靛果匀浆5.00 g, 温度为40 °C, 在超声功率50、100、150、200、250 W, 超声时间0、30、50、70、90 min, 乙醇体积分数50%、60%、70%、80%、90%, 料液比1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 g/mL条件下超声波提取, 得到的提取液经抽滤后计算花色苷含量。

1.3.3 蓝靛果花色苷含量测定 花色苷的测定采用pH示差法^[10]。取2 mL蓝靛果花色苷提取液加入KCl-HCl(1.86 g KCl与980 mL蒸馏水混合, 浓HCl校正至pH1.0, 定容至1 L)缓冲液, 20 mL容量瓶定容, 静置60 min后测定A₅₄₀和A₇₀₀。配制CH₃COONa-HCl(32.82 g乙酸钠与960 mL蒸馏水混

合, 浓HCl校正至pH4.5, 定容至1 L)缓冲液同前操作。根据下式计算花色苷含量:

$$\text{花色苷含量}(\text{mg}/100 \text{ g}) = \Delta A \cdot M \cdot DF \cdot V \times 100 / (m \cdot \epsilon \cdot L)$$

式中: $\Delta A = (A_{540} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{540} - A_{700})_{\text{pH}4.5}$;

A_{540} 为蓝靛果花色苷在540 nm的吸光值;

A_{700} 为蓝靛果花色苷在700 nm的吸光值;

M为Cyd-3-Glu(矢车菊-3-葡萄糖苷)相对分子质量, 449.2 g/mol;

DF为蓝靛果花色苷的稀释倍数;

V为提取液总体积, mL;

m为蓝靛果质量;

ϵ 为Cyd-3-Glu摩尔消光系数, 26900;

L为比色皿的光距, 数值为1 cm。

1.3.4 响应面法优化实验 运用Box-Behnken响应面法设计优化实验, 以超声功率、超声时间、乙醇体积分数、料液比为响应值, 进行4因素3水平优化实验, 确定最佳的提取方案。实验因素水平设计见表1。

表1 响应面法分析因素及水平

水平	因素			
	超声功率/ W A	超声时间/min B	乙醇体积分数 /% C	料液比/ (g/mL) D
-1	100	30	70	1:20
0	150	50	80	1:30
1	200	70	90	1:40

1.3.5 蓝靛果花色苷的纯化 利用优化工艺提取的蓝靛果花色苷粗提取液旋转蒸发去除乙醇得到花色苷浓缩液。使用D101型大孔树脂, 湿法装柱, 选择3/4树脂体积的花色苷浓缩液为泵入量, 静置吸附2 h, 使花色苷被树脂充分吸附。然后用蒸馏水冲洗去除花色苷中水溶性杂质, 加入无水乙醇对花色苷进行洗脱, 收集洗脱液。通过旋转蒸发去除乙醇后冷冻干燥, 得到的蓝靛果花色苷粉末在-20 °C下贮藏备用。

1.3.6 蓝靛果花色苷组成成分分析 准确称取10 μg 样品, 加入2 mL色谱级甲醇, 经过0.45 μm 膜过滤备用。

HPLC条件: 1100高效液相色谱仪, 配DAD检测器; 色谱柱为C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相A为乙腈; 流动相B为0.1%甲酸水溶液; 梯度洗脱程序: 0~45 min, 0~45%A; 45~50

min, 0%A。流速: 0.7 mL/min; 柱温: 25 °C; 进样量: 20 μL ; 检测波长: 520 nm。

质谱条件: 正离子模式, 全自动二级质谱扫描, 扫描范围m/z 50~1000; 干燥气压力207 kPa; 流速12 L/min; 温度350 °C, 毛细管电压3500 V。

1.3.7 细胞培养与MTT法测定细胞生存率 RAW 264.7细胞用DMEM培养液(含10%胎牛血清与1%青-链霉素双抗液)于37 °C、5% CO₂下湿化培养^[11]。当细胞贴壁生长至培养皿的80%时开始传代, 取对数期细胞备用。用含LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的DMEM培养液制备细胞模型24 h。选取生长至对数生长期的RAW264.7细胞, 以 1×10^5 cfu接种到96孔板(细胞悬液100 $\mu\text{L}/\text{孔}$), 培养24 h后分组。空白对照组: 完全培养基; 给药组: 不同浓度(50、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$)蓝靛果提取液, 培养24 h。弃掉旧培养基, 加入100 μL 的MTT试剂(0.5 mg/mL), 培养4 h后弃上清液, 每孔加入100 μL DMSO, 避光振荡30 min。测定490 nm处吸光度。

$$\text{细胞生存率}(\%) = (\text{OD}_{\text{给药组}} / \text{OD}_{\text{正常组}}) \times 100$$

1.3.8 NO和PGE₂释放能力的测定 取对数生长期RAW264.7细胞, 以 1×10^5 cfu接种到96孔板上, 每孔100 μL , 培养24 h后, 移去培养基加入200 μL LPS和蓝靛果提取液并进行分组处理^[12]。空白组; LPS组: 加入LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$); LPS+给药组: 加入LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与不同浓度(50、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$)蓝靛果提取液; 阳性对照组: LPS+罗非昔布(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。每组3个复孔, 相同条件下孵育24 h。收集培养液用于测定, 根据NO和PGE₂试剂盒说明书操作, NO单位表示为 $\mu\text{mol}/\text{L}$, PGE₂单位表示为pg/mL。

1.4 数据统计分析

进行平行实验3次, 实验设计与统计分析采用Origin 8.0软件、SPSS 22.0软件、Design-Expert 8.1统计软件。

2 结果与分析

2.1 超声波提取花色苷的单因素实验结果

2.1.1 超声功率对花色苷提取量的影响 不同的超声功率对花色苷提取量的影响见图1。超声功率在50~150 W范围内, 随着功率的增加, 蓝靛果花色苷提取量随之增加, 在150 W处达到最大值293.17 mg/100 g, 继续增加功率后出现下降。这可能由

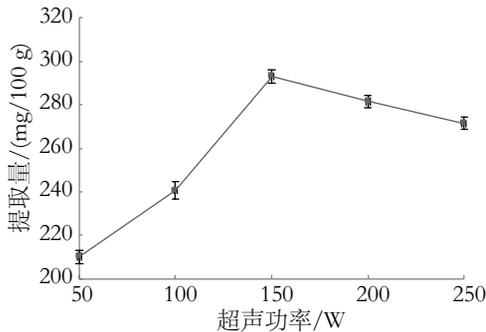


图1 超声功率对蓝靛果花色苷提取量的影响

于超声功率的逐渐增加体系温度也随之升高，加快了分子运动速度，加速了花色苷的溶出；当功率超过150 W时产生更强的热效应，导致花色苷结构被破坏，杂质随之溶出，花色苷提取量下降^[13]。因此，选择超声功率100~200 W作为响应面参数范围。

2.1.2 超声时间对花色苷提取量的影响

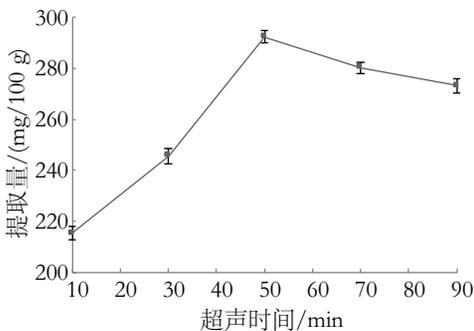


图2 超声时间对蓝靛果花色苷提取量的影响

由图2可知，超声时间在10~50 min时间内，花色苷溶出导致提取量上升，由于超声波会使蓝靛果细胞壁破裂，结构被破坏，加速了花色苷的溶出，在50 min处达到最大值292.53 mg/100 g，随后出现下降。可能由于时间增加体系温度升高，热敏性花色苷活性被破坏发生降解，花色苷提取量降低^[14]，因此，超声时间选择30~70 min作为响应面参数范围。

2.1.3 乙醇体积分数对花色苷提取量的影响

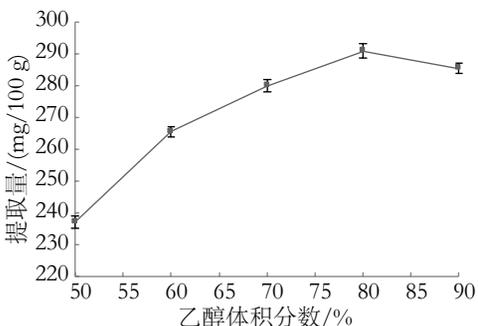


图3 乙醇体积分数对蓝靛果花色苷提取量的影响

不同的乙醇体积分数对花色苷提取量的影响见图3。在乙醇体积分数在50%~80%时，花色苷提取量逐渐上升，可能由于相似相溶的原理，随着极性增加，溶解度也在增加^[15]，在乙醇体积为80%时与花色苷极性接近而达到最大290.78 mg/100 g；当高于80%后醇溶性杂质溶出，花色苷提取量下降。因此选择70%~90%的乙醇体积分数作为响应面参数范围。

2.1.4 料液比对花色苷提取量的影响

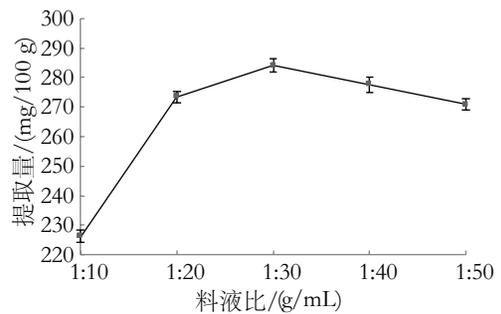


图4 料液比对蓝靛果花色苷提取量的影响

由图4可知，在料液比1:10~1:30时，蓝靛果花色苷提取量随溶剂的增加花色苷成分也随之溶出，当料液比为1:30 g/mL时达到最大284.12 mg/100 g，随后出现下降的趋势。可能由于料液比逐渐增加，蓝靛果细胞产生浓度差，促进了花色苷向溶剂中扩散，当料液比超过1:30 g/mL时，大部分花色苷已经溶出，并且干扰杂质逐渐溶出，影响花色苷提取量，继续增大料液比也会造成浪费^[16]，因此，料液比选择1:20~1:40 g/mL作为响应面参数范围。

2.2 响应面法优化实验结果

2.2.1 响应面法优化实验分析 以花色苷提取量为响应值，超声功率A、超声时间B、乙醇体积分数C与料液比D为自变量进行响应面法优化分析，具体设计结果见表2，对表2进行回归分析得方差分析表3，并建立回归方程：花色苷提取量(mg/100 g) = 292.14 + 3.90A + 12.78B + 9.37C + 15.32D - 5.03AB + 10.94AC + 1.95AD + 2.64BC + 4.27BD + 2.36CD - 16.19A² - 35.15B² - 15.55C² - 11.28D²。

由表3回归方差分析结果表明，该模型P值小于0.0001(极显著)，失拟项P值为0.0848(不显著)，因此可判断此回归方程拟合性良好。此外，模型的决定系数R²=0.9904，说明实验数据与回归方程的相关度良好，实验值与预测值的差异性不大；校正决定系数R²_{Adj}=0.9808，说明能正确反映98.08%

表2 响应面法分析实验方案与结果

实验号	因素				花色苷提取量/ (mg/100 g)
	A	B	C	D	
1	-1	-1	0	0	215.73
2	1	-1	0	0	233.71
3	-1	1	0	0	255.53
4	1	1	0	0	253.40
5	0	0	-1	-1	241.51
6	0	0	1	-1	255.97
7	0	0	-1	1	267.52
8	0	0	1	1	291.43
9	-1	0	0	-1	248.71
10	1	0	0	-1	250.57
11	-1	0	0	1	279.67
12	1	0	0	1	289.31
13	0	-1	-1	0	225.99
14	0	1	-1	0	243.41
15	0	-1	1	0	238.97
16	0	1	1	0	266.96
17	-1	0	-1	0	255.93
18	1	0	-1	0	243.79
19	-1	0	1	0	252.81
20	1	0	1	0	284.41
21	0	-1	0	-1	223.51
22	0	1	0	-1	239.21
23	0	-1	0	1	241.31
24	0	1	0	1	274.11
25	0	0	0	0	295.19
26	0	0	0	0	292.15
27	0	0	0	0	291.71
28	0	0	0	0	290.73
29	0	0	0	0	290.94

蓝靛果花色苷提取量的变化，可以用于超声波提取蓝靛果花色苷的理论预测。各因素影响花色苷提取量强弱顺序为：料液比(D)>超声时间(B)>乙醇体积分数(C)>超声功率(A)。其中，一次项A、B、C、D，二次项A²、B²、C²、D²和交互项AB、AC对响应值极显著(P<0.01)；而交互项BD对响应值影响显著(P<0.05)。

2.2.2 响应面因素交互影响 使用Design-Expert软件绘制的响应曲面图见图5，每个3D分析图都代表其中2个因素保持在0水平时，另外2个因素之间的交互作用。由图5可知，料液比对蓝靛果花色苷提取量的影响最为明显，其曲线陡峭程度最高；其次是超声时间、乙醇体积分数，超声功率影响最小。根据等高线可知交互效应的大小，椭圆形

表3 回归模型方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	15765.79	14	1126.13	102.90	0.0001**
A	182.60	1	182.60	16.69	0.0011**
B	1960.96	1	1960.96	179.19	0.0001**
C	1052.81	1	1052.81	96.21	0.0001**
D	2817.35	1	2817.35	257.45	0.0001**
AB	101.10	1	101.10	9.24	0.0088**
AC	478.30	1	478.30	43.71	0.0001**
AD	15.13	1	15.13	1.38	0.2592
BC	27.93	1	27.93	2.55	0.1324
BD	73.10	1	73.10	6.68	0.0216*
A ²	1699.58	1	1699.58	155.31	0.0001**
B ²	8015.68	1	8015.68	732.47	0.0001**
C ²	1567.59	1	1567.59	143.25	0.0001**
D ²	825.26	1	825.26	75.41	0.0001**
残差	153.21	14	10.94		
失拟项	140.29	10	14.03	4.34	0.0848
纯误差	12.92	4	3.23		
综合	15919.00	28			
R ²	0.9904				
R ² _{Adj}	0.9808				

注：**表示极显著(P<0.01)；*表示显著(P<0.05)。

表示交互作用显著，圆形表示交互作用不显著。从等高线可以看出超声功率与乙醇体积分数和超声功率与超声时间的交互作用对花色苷提取量的影响最为显著，在图像中表现为等高线分布最密集并呈现椭圆形；超声时间与料液比的交互作用较为显著。而超声时间与料液比和超声时间与乙醇体积分数之间的交互作用相较并不明显。

通过Design-Expert软件预测得到的最优提取方案为：超声功率164.84 W、超声时间54.55 min、乙醇体积分数84.85%、料液比1:37.98 g/mL，花色苷提取量为302.573 mg/100 g。考虑实际可操作性选取超声功率160 W、超声时间55 min、乙醇体积分数85%、料液比1:35 g/mL，此条件下进行3次实验得到花色苷提取量为(298.22±1.13)mg/100 g，与理论值仅相差1.5%，说明模型能较好预测花色苷提取量。

2.3 蓝靛果花色苷成分分析

通过HPLC-MS/MS对蓝靛果花色苷的组成进行分析，得到色谱图(图6)及质谱图(图7、图8)。结合各物质的保留时间、分子离子峰和碎片离子峰，以峰4物质质谱图例进行详细分析，由参考

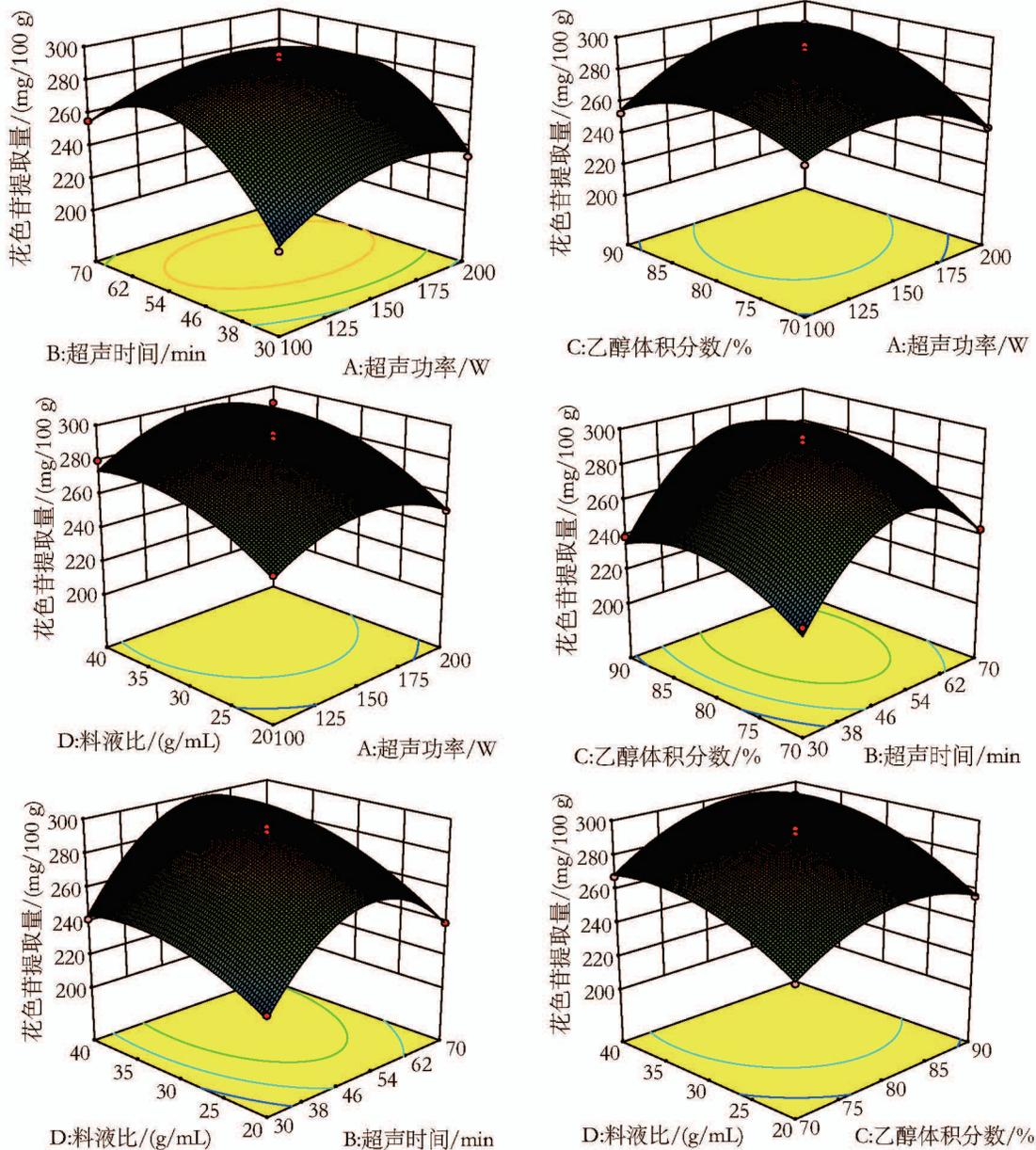


图5 各因素交互作用对花色苷提取量影响的响应面

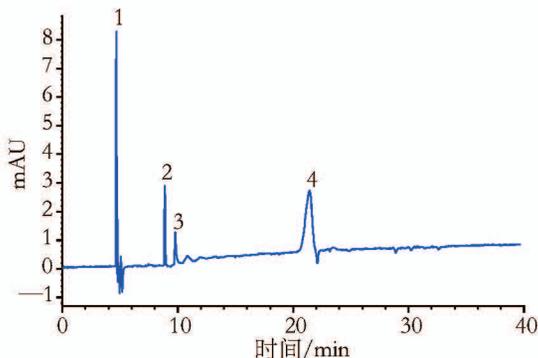


图6 蓝靛果提取物中花色苷HPLC图

文献[17-18]可知离子碎片 m/z 286.9为矢车菊素 m/z 287离子峰, 分子碎片 m/z 449为矢车菊-葡萄糖苷。峰4物质为矢车菊-葡萄糖苷(m/z 449)失去一

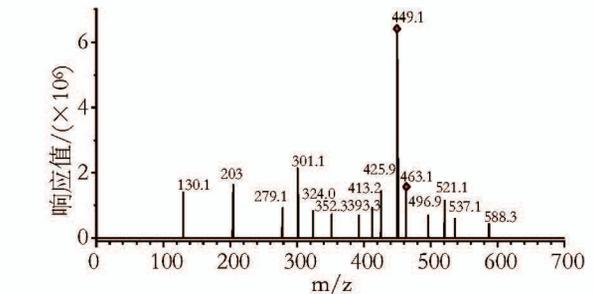


图7 矢车菊-3-葡萄糖苷的一级质谱图(峰4物质)

分子葡萄糖 $[M-162]^+$, 综合保留时间可得峰4物质为矢车菊-3-葡萄糖苷。鉴定得到蓝靛果花色苷4种, 分别为矢车菊-3-己糖苷衍生物、矢车菊-3-己糖苷聚合物、矢车菊-3,5-二己糖苷、矢车菊-3-

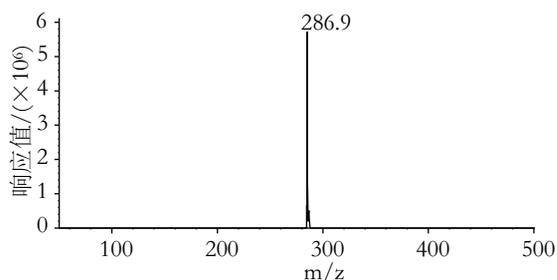


图8 矢车菊-3-葡萄糖苷的二级质谱图(峰4物质)

葡萄糖苷(表4), 其中峰4物质矢车菊-3-葡萄糖苷的含量最高为68.971%。

表4 蓝靛果提取物中花色苷的成分组成

峰号	保留时间/min	峰面积比例/%	分子离子(m/z)	碎片离子(m/z)	花色苷名称
1	4.669	14.497	737	575、287	矢车菊-3-己糖苷衍生物
2	8.669	7.395	897	735、573	矢车菊-3-己糖苷聚合体
3	9.767	6.137	611	449、287	矢车菊-3,5-二己糖苷
4	21.427	68.971	449	287	矢车菊-3-葡萄糖苷

2.4 蓝靛果提取物对RAW264.7细胞增殖的影响

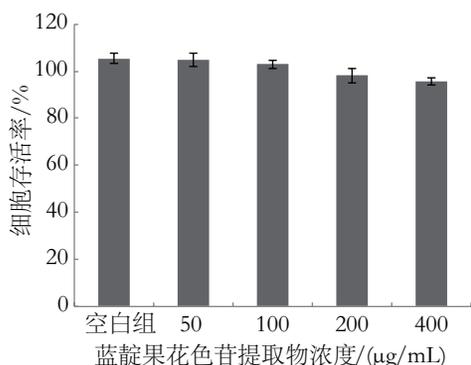


图9 不同浓度蓝靛果提取物对LPS诱导Raw264.7细胞存活率的影响

如图9所示, RAW264.7细胞分别与蓝靛果花色苷提取物(50、100、200 µg/mL和400 µg/mL)共同培养后发现, 相比对照组, 蓝靛果花色苷提取物对RAW264.7细胞存活率无明显变化, 细胞存活率维持在90%以上。表明样品对细胞无毒害作用。

2.5 蓝靛果提取物对RAW264.7细胞释放NO和PGE₂的影响

在炎症反应中, NO拥有一定毒性, 对NO介导的组织也会产生损伤作用, 发生水肿和血渗出等现象^[19]。使用NO测定试剂盒检测蓝靛果花色苷对LPS诱导的RAW264.7细胞产生NO的影

响, 如图10所示。与空白组相比, 经LPS诱导的RAW264.7细胞NO分泌量显著增加($P < 0.05$), 相较LPS模型组, 蓝靛果花色苷各剂量组对LPS诱导的RAW264.7细胞NO释放量均有显著抑制作用($P < 0.05$), 且呈现剂量依赖关系。PGE₂也是一种炎症介质, 参与多种炎症反应, 抑制PGE₂可以减轻炎症反应^[20]。RAW264.7小鼠巨噬细胞经过LPS刺激后, 与空白组比较, 如图11所示, 在未受刺激状态下PGE₂少量表达, 经LPS处理后PGE₂释放量显著增加($P < 0.05$)。剂量组随着蓝靛果花色苷的增加PGE₂呈现下降趋势, 400 µg/mL时达到最小值。综上, 蓝靛果花色苷提取物能够抑制LPS诱导RAW264.7细胞炎症模型NO和PGE₂的释放, 说明蓝靛果花色苷具有抗炎活性。

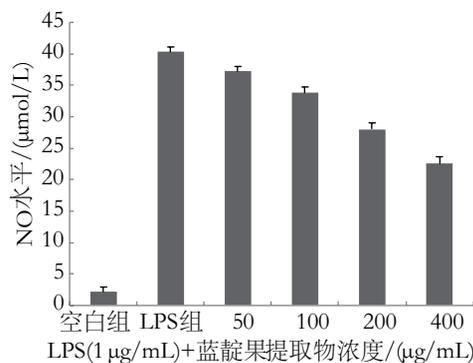


图10 不同浓度蓝靛果提取物对Raw264.7细胞NO释放率的影响

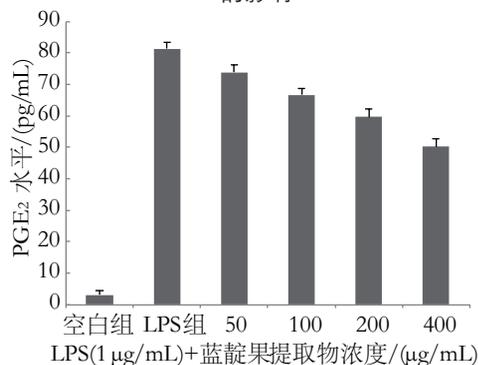


图11 不同浓度蓝靛果提取物对LPS诱导Raw264.7细胞PGE₂释放量的影响

3 结论

本文采用超声波提取蓝靛果花色苷, 通过单因素和响应面法优化实验, 确定蓝靛果花色苷最佳的提取工艺参数为超声功率160 W、超声时间55 min、乙醇体积分数85%、料液比1:35 g/mL, 在此提取条件下得到花色苷的含量为(298.22 ± 1.13) mg/100 g, 对花色苷提取量影响大小的因素主次

顺序为：料液比>超声时间>乙醇体积分数>超声功率。通过HPLC-MS/MS鉴定出4种花色苷，分别为矢车菊-3-己糖苷衍生物、矢车菊-3-己糖苷聚集体、矢车菊-3,5-二己糖苷、矢车菊-3-葡萄糖苷，其中矢车菊-3-葡萄糖苷含量最高为68.971%。抗炎活性实验结果表明，蓝靛果花色苷对LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞释放炎症因子NO和PGE₂的抑制效果显著，说明蓝靛果花色苷具有抗炎活性，可为蓝靛果的后续开发提供理论依据。

参考文献：

- [1] 刘德江,杜汉军,申健.蓝靛果花色苷研究进展[J].内蒙古农业科技,2012,(4):44-45.
- [2] 霍俊伟.蓝靛果忍冬(*Lonicera L. subsect.Caeruleae*)生物学特性及种质资源的RAPD研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2004.
- [3] KUCHARSKA A Z, SOKÓ-LETOWSKA A, OSZMIA Ń SKI J, et al. Iridoids, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Edible Honeysuckle Berries (*Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* Sevast.)[J]. *Molecules*,2017,22(3):405.
- [4] BECKER R, SZAKIEL A. Phytochemical characteristics and potential therapeutic properties of blue honeysuckle *Lonicera caerulea L.(Caprifoliaceae)*[J]. *Journal of Herbal Medicine*,2019,16.
- [5] RAUDSEPP P, KOSKAR J, ANTON D, et al. Antibacterial and antioxidative properties of different parts of garden rhubarb, blackcurrant, chokeberry and blue honeysuckle[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019,99(5):2311-2320.
- [6] 李英福,汪宗仁.浅谈蓝靛果新品种——“蓓蕾”新技术[J].农村实用科技信息,2015,(8):3.
- [7] FENG C, SU S, WANG L, et al. Antioxidant capacities and anthocyanin characteristics of the black-red wild berries obtained in Northeast China[J]. *Food Chemistry*,2016,204: 150-158.
- [8] JURIKOVA T, ROP O, MLCEK J, et al. Phenolic profile of edible honeysuckle berries (*genus Lonicera*) and their biological effects[J]. *Molecules*,2011,17(1):61-79.
- [9] ZHOU L P, WANG H, YI J J, et al. Anti-tumor properties of anthocyanins from *Lonicera caerulea* ‘Beilei’ fruit on human hepatocellular carcinoma: In vitro and in vivo study[J]. *Biomedicine Pharmacotherapy*,2018,104:520-529.
- [10] 李凤凤,张秀玲,柳晓晨,等.响应面优化微波辅助提取蓝靛果花色苷工艺及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2019,40(2):195-200.
- [11] 宋家乐,钱波,任源,等.紫菜藎总花色苷对脂多糖诱导RAW264.7细胞炎症反应的影响[J].食品科技,2019,44(1): 248-254.
- [12] 谭兵,庞琪期,钱波,等.紫甘蓝总花色苷提取物抑制脂多糖诱导RAW264.7细胞的炎症反应[J].现代食品科技, 2018,34(11):8-14.
- [13] 蒋海伟,杨婷婷,李佳桥,等.响应面法优化红米花色苷微波辅助提取工艺及其抗氧化活性研究[J].中国食品学报, 2015,15(5):74-81.
- [14] 陈钢,黄立山,徐静,等.黑莓花色苷的超声波提取与抗氧化性活性研究[J].食品科学,2012,33(24):117-121.
- [15] 秦晶晶,钱慧琴,赵媛,等.柿叶总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2020,41(13):32-38.
- [16] 叶红玲,姚军,刘冬,等.蓝莓果渣花青素的超声提取及组成分析[J].食品研究与开发,2019,40(10):105-108.
- [17] 张美娇,田密霞,韦艳双.蓝莓果实花色苷成分组成鉴定及分析[J].保鲜与加工,2017,17(3):107-110.
- [18] 孙丹,陈为凯,何非,等.HPLC-MS/MS法测定甜樱桃花色苷与非花色苷酚的组成与含量[J].食品科学,2017,38(4):181-186.
- [19] 张娜,李琳,高向晖,等.宁夏枸杞对代谢综合征患者TNF- α 、NF- κ B和iNOS水平的影响[J].中华疾病控制杂志, 2014,18(4):286-289.
- [20] 高擎,任颖朗,葛亚中,等.植物组方提取物M的抗炎功效研究[J].现代食品科技,2017,33(8):18-23.