

基于 BP 神经网络结合响应面法优化香芹菜叶总黄酮提取工艺及其应用

郭善才, 张 瑱, 林建原*

(浙江万里学院 生物与环境学院 浙江宁波 315100)

摘要 以宁波当地四季小香芹菜叶为原料,采用超声辅助乙醇-硫酸铵双水相提取法,借助响应面分析法(RSM)和 BP 神经网络相结合的手段优化芹菜叶中黄酮提取工艺。研究 4 个主要因素对总黄酮提取率的影响,采取中心组合设计试验,以响应面输出的数据样本作为 BP 神经网络的输入样本,利用其交互算法具有的特点进行优化拟合,达到 BP 神经网络与响应面相结合优化其提取工艺的目的。结果表明,在超声时间 52.25 min,超声温度 52.5 °C,料液比 1:44,乙醇质量分数 61.47% 条件下芹菜叶总黄酮提取率可达 6.62%,芹菜叶总黄酮对 DPPH·、·OH 和 ·O²⁻ 有清除作用,最大清除率分别达 88.2%,86.1%,84.3%,且对细菌的抑制效果良好,尤其对单核细胞增生李斯特菌抑制效果显著,可作为一类细菌抑制剂。经 LC-MS 分析,样品提取物中木犀草素和芹菜素含量相对较高。

关键词 芹菜叶; 黄酮; 双水相; 响应面; BP 神经网络

文章编号 1009-7848(2023)08-0263-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.08.027

芹菜(*Apium graveolens* L.)属伞形花科^[1],原产于地中海沿岸的沼泽地带,汉代作为观赏植物引进我国^[2],唐朝便有芹菜作为菜肴被广泛食用的记载。经近代研究证明芹菜叶中富含多种黄酮类化合物,具有抗炎、降血压,防止动脉硬化等功效^[3]。目前对芹菜叶的利用价值尚未有效合理开发,加强对其的开发利用具有一定的实际意义和商业价值^[4]。

近年来有学者通过微波辅助提取法^[5]、超声提取法^[6]、大孔树脂吸附法^[7]以及酶辅助法^[8]研究芹菜总黄酮的提取工艺。双水相提取技术^[9]可利用总黄酮在两相的溶解度不同,以达到分离和提取目标产物的目的。近年来在研究芹菜叶总黄酮的提取方面使用双水相提取法鲜有报道。本研究采用超声辅助乙醇-硫酸铵双水相体系提取芹菜叶总黄酮,借助响应面法对其工艺进行优化,并应用 BP

神经网络高效数据拟合性和预测特性^[10],探究芹菜叶中总黄酮最佳提取工艺。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

宁波本地四季小香芹,取叶烘干粉碎过筛干燥密封保存;芦丁标品,阿拉丁试剂(上海)有限公司;大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)均来自中国典型培养物保藏中心;其余试剂均为分析纯级。

1.2 仪器与设备

HW-10 型远红外线干燥箱,北京兴争仪器设备厂;LHS-150SC 恒温培养箱,巩义市宏华仪器设备工贸有限公司;UV-3200PCS 型紫外-可见分光光度计,翱艺仪器(上海)有限公司;Bruker VERTRX70 傅里叶红外光谱仪,德国 Bruker 公司;Agilent Infinity Lab 液质联用仪,安捷伦科技(中国)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 芹菜叶总黄酮提取率测定 参考文献[11]的方法,采用亚硝酸钠-硝酸铝比色法,在波长 510 nm 处测定芹菜叶提取液吸光度。绘制总黄酮

收稿日期: 2022-08-09

基金项目: 浙江省基础公益计划研究项目(LGN18H300001);浙江省一流学科“生物工程”学生创新项目(CX2021059);宁波市公益类科技计划项目(202002N3112);国家级大学生创新创业训练计划项目(202110876035,202210876046)

第一作者: 郭善才,男,本科

通信作者: 林建原 E-mail: linjianyuan33@163.com

含量与吸光度的标准曲线。取样品溶液 1.00 mL 于比色皿中,同上述方法测吸光度,计算芹菜叶总黄酮提取率^[12]。

$$\text{总黄酮提取率}(\%) = \frac{C \times V \times N}{m} \times 100 \quad (1)$$

式中, C ——总黄酮质量浓度,mg/mL; V ——

提取液体积,mL; N ——稀释倍数; m ——样品重量,g。

1.3.2 双水相体系的构建 参考文献[13]的方法,构建去离子水、硫酸铵和无水乙醇双水相体系。

1.3.3 单因素实验及响应面试验设计 单因素实验设计如表 1 所示。

表 1 单因素条件设计表

Table 1 Single factor conditional design table

基础条件	单因素条件	水平
料液比 1:40,超声温度 50 ℃,超声时间 40 min	乙醇质量分数/%	50,60,70,80,90
超声温度 50 ℃,乙醇质量分数 60%,超声时间 40 min	料液比	1:35,1:40,1:45,1:50
料液比 1:40,乙醇质量分数 60%,超声温度 50 ℃	超声时间/min	10,20,30,40
料液比 1:40,乙醇质量分数 60%,超声时间 40 min	超声温度/℃	30,40,50,60

在单因素实验的基础上^[14],利用 Minitab 19 统计方法中的响应曲面创造响应曲面设计,连续因子为 4,仿行数为 1,总试验次数为 27 次。如表 2 所示,筛选最佳提取条件。

1.3.4 BP 神经网络设计 利用 Matlab R2018b 设计了层次为 3 的 BP 神经网络(如图 1),分别是输入层、隐含层和输出层。以响应面试验的 27 组数据为训练样本^[15],超声时间、超声温度、料液比和乙醇质量分数作为输入层,优化指标为输出层,通过不断训练以达到一个满足模型精度的节点数^[16]。可改变已构建完成的预测模型的节点数和隐含层数,来比较不同情况下的均方误差(MSE)的大小^[17-18]。神经网络结构图如图 1 所示。

1.3.5 芹菜叶总黄酮的抗氧化作用 参照何兰香等^[19]的试验方法测定芹菜叶总黄酮对 DPPH· 的清除作用。以参考文献[20]中的方法研究样品中总黄酮对羟自由基($\cdot\text{OH}$)的清除能力。参考黄丽华等^[21]和肖丽宏等^[22]的方法稍作改进,在波长 320 nm 处测吸光度,计算芹菜叶总黄酮对 $\cdot\text{O}_2^-$ 的抑制率。

1.3.6 色谱和质谱条件 色谱条件:C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:水(A)-甲醇(B)梯度洗脱,0~5 min,20% B;5~10 min,20%~25% B;10~28 min,25%~28% B;28~35 min,28%~35% B;35~55 min,35%~40% B;55~60 min,40%~60% B;柱温 30 ℃;检测器:DAD 检测器;流速:1 mL/min;检测波长:270 nm;进样量:10 μL。

质谱条件:扫描范围:200~1 000 u;干燥气温

表 2 响应面条件设计表

Table 2 Response surface condition design table

因素	水平		
	-1	0	1
超声时间(A)/min	45	50	55
超声温度(B)/℃	45	50	55
料液比(C)	1:43	1:45	1:47
乙醇质量分数(D)/%	55	60	65

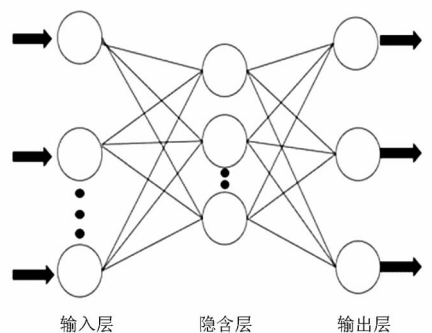


图 1 神经网络结构图

Fig.1 Neural network structure diagram

度:350 ℃;干燥气流速:10.0 L/min;雾化室压力:2.7579×10⁵ Pa;电喷雾电压:3 000 V;离子模式:ESI(+)

2 结果与分析

2.1 芦丁标准曲线的绘制

采用 1.3.1 节所述比色法绘制标准曲线,回归

方程为: $Y = 6.3901X - 0.0162, R^2=0.9999$ 。

2.2 单因素实验结果分析

由图 2 可知, 芹菜叶总黄酮的提取率先随料液比减小而增大, 到达一极值后降低, 因为降低料液比会使杂质溶出而不利于黄酮的提取。分析图

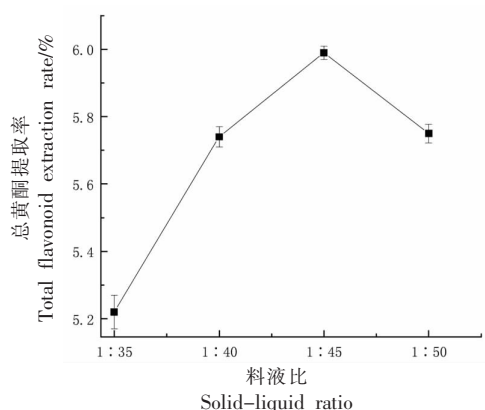


图 2 料液比对芹菜叶总黄酮提取率的影响

Fig.2 Effects of solid-liquid ratio on extraction rate of total flavonoids from celery

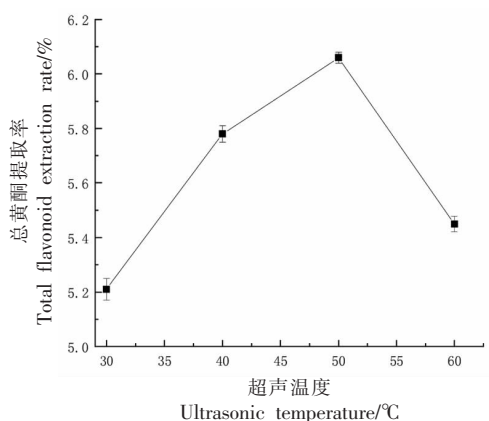


图 4 超声温度对芹菜叶总黄酮提取率的影响

Fig.4 Effects of ultrasonic temperature on extraction rate of total flavonoids from celery

2.3 响应面优化分析

利用 Minitab 19 统计方法响应曲面中的自定义响应曲面进行分析设计, 将表 3 中的因素作为连续因子, 总黄酮提取率作为输入响应值, 对响应曲面试验结果进行分析^[23]。

由表 3 及图 6~11 结果分析可知, 此回归方程为提取率 $Y = 0.00612 + 0.00086A - 0.00003D - 0.00063C + 0.00175B - 0.00211A^2 - 0.0036D^2 - 0.00321C^2 - 0.00368B^2 + 0.0002AD + 0.00039AC +$

3~5 可知, 总黄酮提取率先随超声温度升高、乙醇质量分数增大、超声时间增加而增大, 后呈下降趋势, 是因过高的温度、高水平的乙醇质量分数和长时间的浸提, 破坏了芹菜叶中的黄酮类物质或导致其它杂质流出。

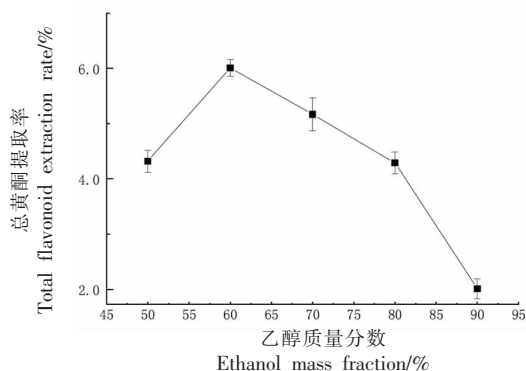


图 3 乙醇质量分数对芹菜叶总黄酮提取率的影响

Fig.3 Effects of ethanol mass fraction on extraction rate of total flavonoids from celery

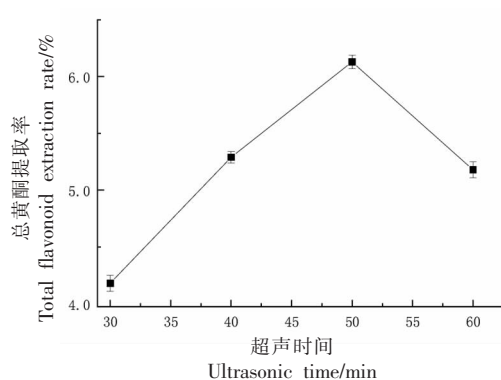


图 5 超声时间对芹菜叶总黄酮提取率的影响

Fig.5 Effect of ultrasonic time on extraction rate of total flavonoids from celery

$0.00059AB - 0.00176DC - 0.00117DB - 0.00059BC$, 对芹菜叶总黄酮提取率影响最大的因素是超声温度, 影响因素大小顺序为超声温度(°C)>超声时间(min)>料液比>乙醇质量分数(%)。

模型 MSE 为 $0.8223 < 1$, 模型具有很好的拟合效果, 见图 12~13。相较于响应面, 神经网络优化后提取率更高, 误差更小仅为 0.882%, 如表 4 所示。

表3 响应面试验结果表
Table 3 Response surface experimental results table

序号	因素				总黄酮 提取率/ %	序号	因素				总黄酮 提取率/ %
	A	B	C	D			A	B	C	D	
1	1	0	0	-1	5.90	15	0	0	-1	-1	5.78
2	0	0	0	0	6.26	16	0	-1	0	1	6.67
3	1	1	0	0	5.76	17	0	1	-1	0	6.70
4	1	0	1	0	6.67	18	0	-1	1	0	5.62
5	0	-1	-1	0	5.89	19	-1	1	0	0	5.96
6	-1	0	0	-1	5.78	20	0	1	1	0	5.73
7	0	1	0	1	5.97	21	0	0	0	0	7.31
8	0	0	-1	1	5.82	22	-1	0	-1	0	5.81
9	0	-1	0	-1	5.81	23	-1	0	0	1	6.15
10	0	1	0	-1	5.57	24	1	0	-1	0	6.25
11	0	0	1	1	5.61	25	-1	0	1	0	6.08
12	0	0	1	-1	5.79	26	0	0	0	0	6.26
13	-1	-1	0	0	6.01	27	1	0	0	1	6.51
14	1	-1	0	0	5.73						

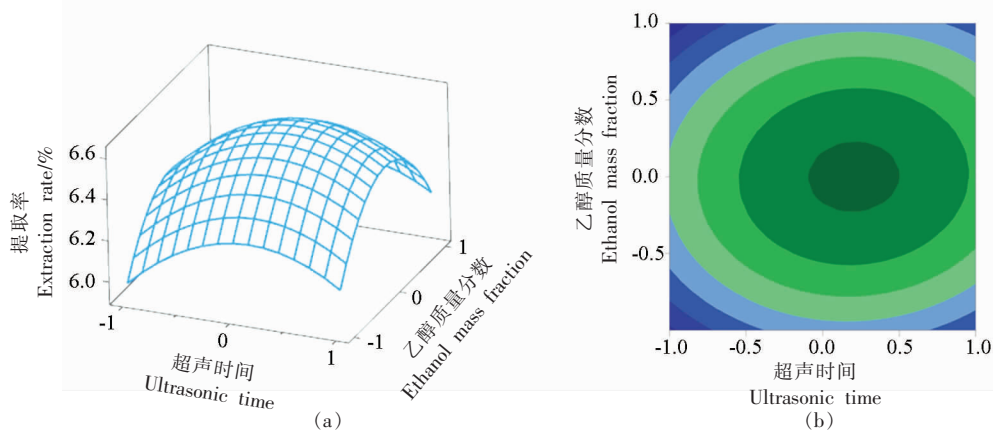


图6 超声时间、乙醇质量分数对提取率的影响

Fig.6 Effects of ultrasonic time and ethanol mass fraction on extraction rate

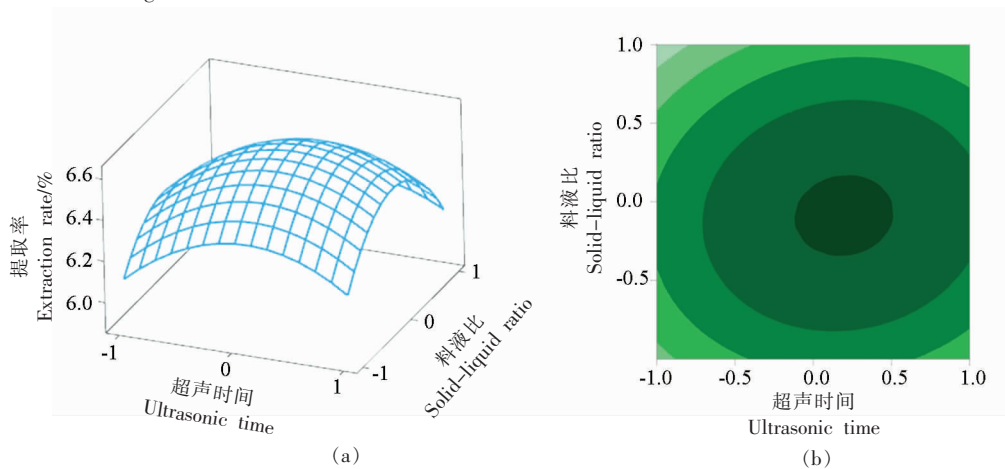


图7 超声时间、料液比对提取率的影响

Fig.7 Effects of ultrasonic time and solid-liquid ratio on extraction rate

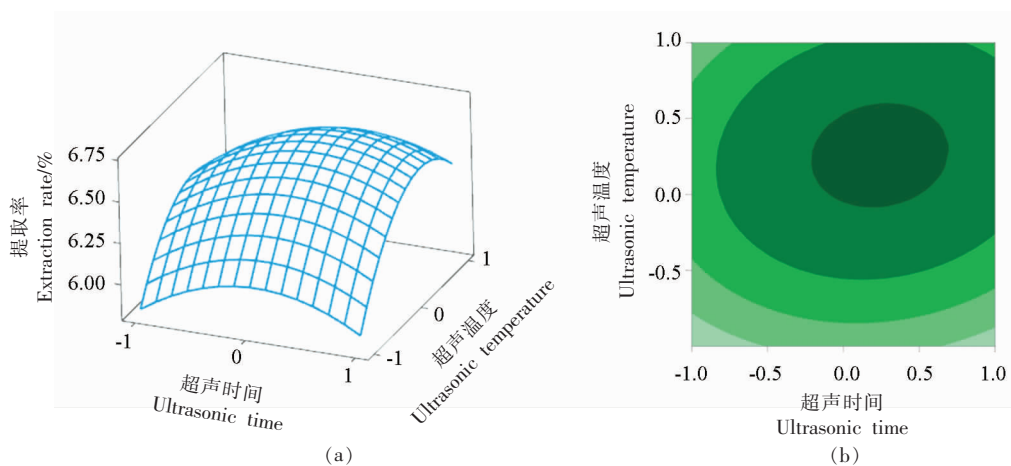


图 8 超声时间、超声温度对提取率的影响

Fig.8 Effects of ultrasonic time and temperature on extraction rate

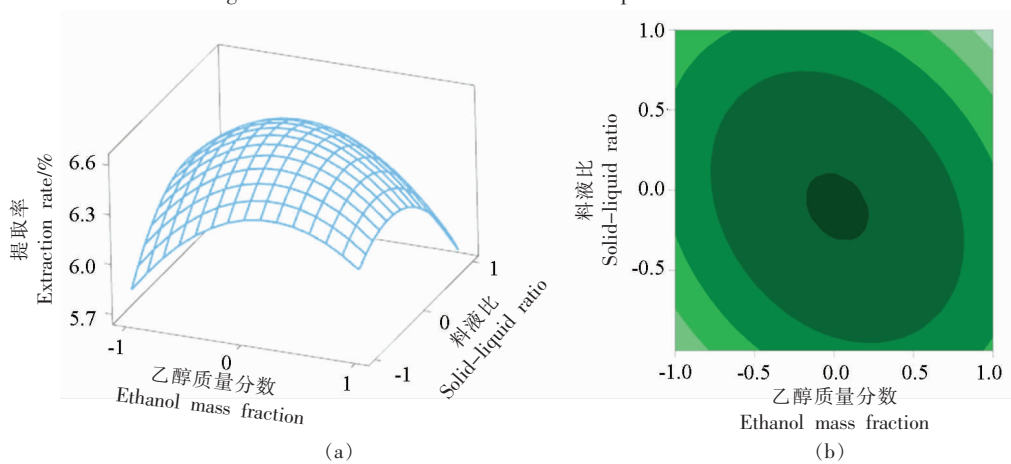


图 9 乙醇质量分数、料液比对提取率的影响

Fig.9 Effects of ethanol mass fraction and solid-liquid ratio on extraction rate

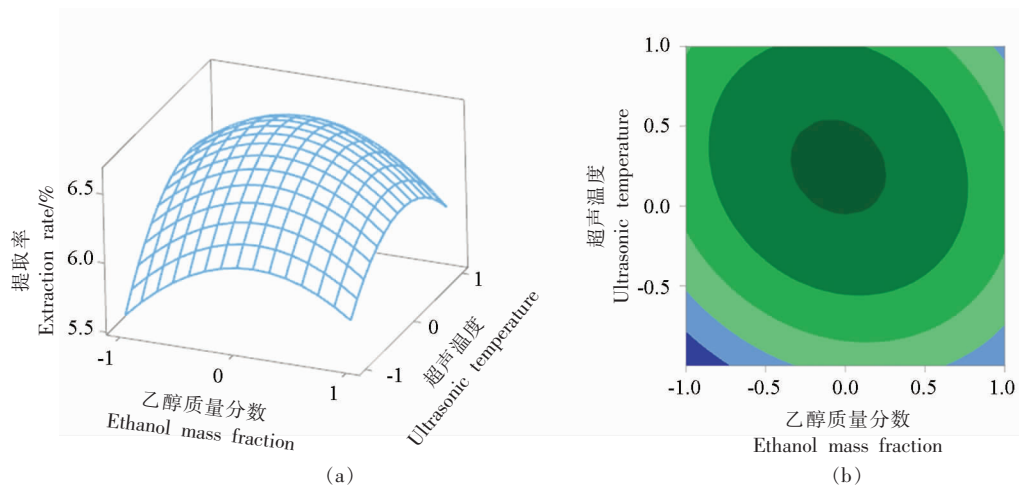


图 10 乙醇质量分数、超声温度对提取率的影响

Fig.10 Effects of ethanol mass fraction and ultrasonic temperature on extraction rate

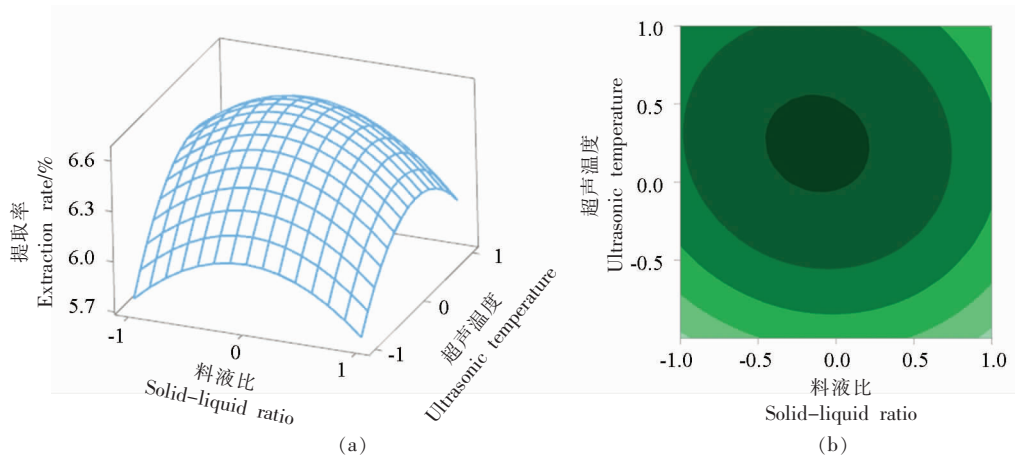
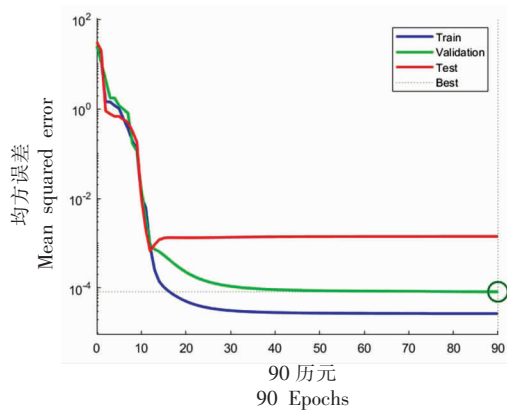


图 11 料液比、超声温度对提取率的的影响

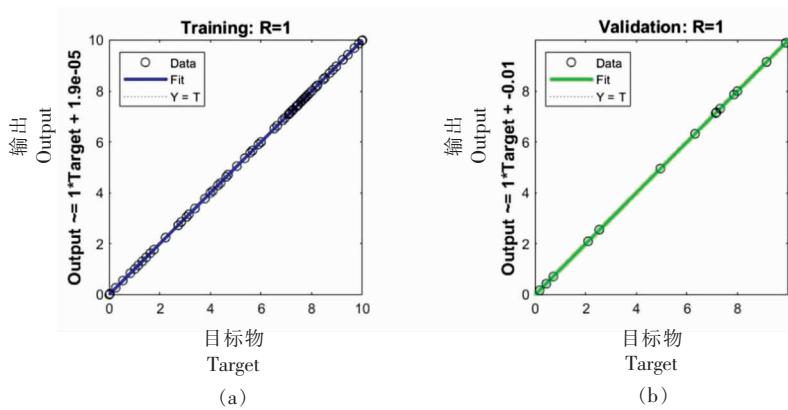
Fig.11 Effects of solid-liquid ratio and ultrasonic temperature on extraction rate

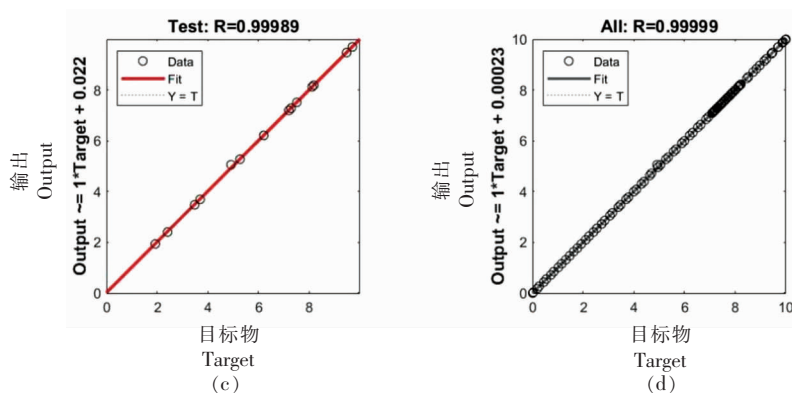


注:epoch 90 时验证性能达到最佳为 8.2233×10^{-5} ;Train 为训练误差,即神经网络在每次训练迭代中在训练集上的误差;Validation 为验证误差,即神经网络在每次训练迭代中在验证集上的误差;Test 为测试误差,即神经网络在独立的测试集上的误差;Best 为最佳误差,即在训练过程中达到的最佳误差值。

图 12 BP 神经网络误差曲线

Fig.12 BP neural network error curve





注 :a 图中,输出=1×目标+1.9×10⁻⁵;b 图中,输出=1×目标+0.01;c 图中,输出=1×目标+0.022;d 图中,输出=1×目标+0.00023。图例中 Data 代表原始数据,Fit 代表拟合结果,Y=T 代表目标输出。

图 13 BP 神经网络拟合图

Fig.13 BP neural network fitting diagram

表 4 响应面与 BP 神经网络优化结果

Table 4 Optimization results of response surface and BP neural network

	超声时间/min	超声温度/℃	料液比	乙醇质量分数/%	黄酮提取率/%	误差/%
响应面	52.00	52.0	1:44	61.00	6.58	1.460
BP 神经网络	52.25	52.5	1:44	61.47	6.62	0.882

2.4 抗氧化活性及抑菌活性评价

2.4.1 抗氧化性分析^[24] 由图 14 线性走势可得,芹菜叶总黄酮和 VC 对 DPPH· 的清除作用总体呈上升趋势,芹菜叶总黄酮对 DPPH· 的清除率最高可达 88.2%,半抑制浓度为 0.033 mg/mL。根据图 15 可以得出,样品对·OH 的半抑制浓度为 0.062 mg/mL,清除效果和 VC 的趋势较一致且清除率总体上呈上升趋势,样品对·OH 的清除作用弱于 VC,当样品质量浓度高于 0.12 mg/mL 时,样品对·OH 的清除率下降,可以看出芹菜叶总黄酮具

有一定的清除羟自由基的能力。芹菜叶总黄酮对·O₂⁻清除作用如图 16 所示,其虽接近 VC 对·O₂⁻清除效果,但仍微弱于 VC,清除率可达 84.3%,半抑制浓度为 0.064 mg/mL,证明了芹菜叶总黄酮具有清除·O₂⁻的作用。

2.4.2 抑菌性能分析 以枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌及单增李斯特菌为研究对象,考察不同质量浓度芹菜叶总黄酮对测试菌株的抑制作用^[25-26]。

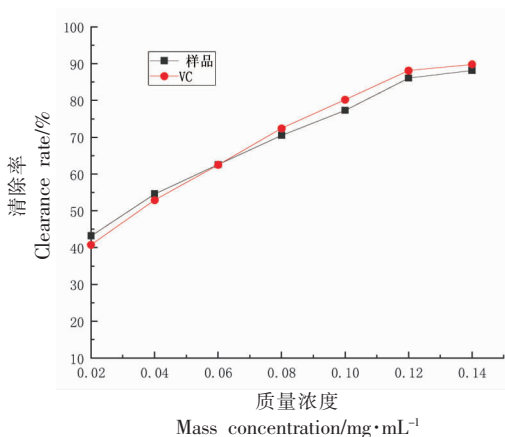


图 14 样品对 DPPH· 的清除作用

Fig.14 Scavenging effect of samples on DPPH·

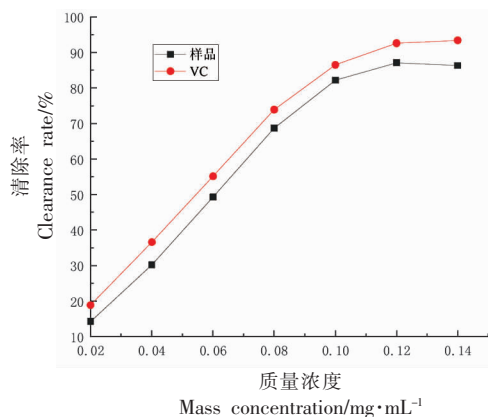


图 15 样品对·OH 的清除作用

Fig.15 Scavenging effect of samples on ·OH

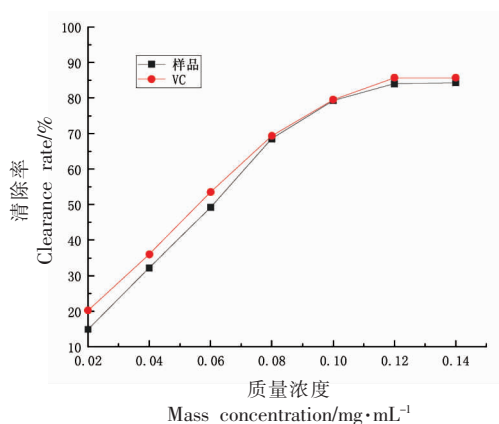
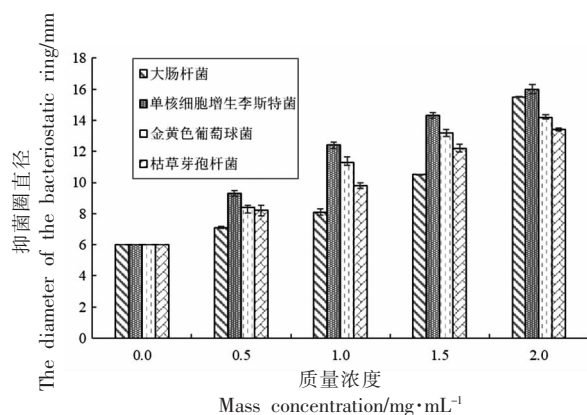
图 16 样品对 $\cdot\text{O}_2^-$ 清除作用

Fig.16 Scavenging effect of samples on superoxide anion

样品对测试菌株增值均有不同程度的抑制效果,尤其是对单核细胞增生李斯特菌的抑菌作用优于其它3种菌,且抑菌圈的大小随着样品质量浓度的增加而增加。因芹菜叶总黄酮的pH值呈偏酸性,可使测试所用菌株的蛋白质变性,破坏其细胞膜完整性以至死亡,提示芹菜叶总黄酮是一



注:对照组的总黄酮质量浓度为0 mg/mL。

图 17 芹菜叶总黄酮对测试菌株增值的影响

Fig.17 Effects of total flavonoids from celery leaves on the growth of tested strains

类良好的细菌抑制剂。

2.5 LC-MS 分析

利用最佳的条件对样品提取物进行 LC-MS 检测分析,得出提取物中主要含有黄酮类化合物木犀草素和芹菜素,结果如表 5 所示。

表 5 芹菜叶提取物保留时间等参数表

Table 5 Table of retention time and parameters of celery leaf extract

分析物	保留时间/min	前体离子(m/z)	分布电位/V	碰撞能量/eV
木犀草素	6.00	285.041	3 000	-20
芹菜素	6.61	269.046	3 000	-20

3 结论

以四季小香芹叶为原料,采用超声辅助乙醇-硫酸铵双水相法提取芹菜叶总黄酮,并且利用响应面和 BP 神经网络优化后,得到芹菜叶总黄酮的最佳提取工艺为超声时间 52.25 min, 超声温度 52.5 ℃, 料液比 1:44, 乙醇体积分数 61.47%, 在此条件下黄酮提取率为 6.62% (预测总黄酮的得率为 6.60%), 表明利用 BP 神经网络模型与响应面相结合能很好地预测工艺条件。

根据抗氧化活性及抑菌活性试验可知,芹菜叶总黄酮具有良好的自由基清除能力,其对 $\cdot\text{O}_2^-$ 、DPPH \cdot 和 $\cdot\text{OH}$ 的最大清除率分别可达 84.3%, 88.2%和 86.1%。芹菜叶总黄酮对细菌的抑制效果良好,对单核细胞增生李斯特菌的抑制效果尤其明显,可作为一类细菌抑制剂。经 LC-MS 分析,样

品中木犀草素和芹菜素含量相对较高。此研究为芹菜叶总黄酮的提取加工提供了参考。

参 考 文 献

- [1] KOOTI W, DARAEI N. A review of the antioxidant activity of celery (*Apium graveolens* L.)[J]. Journal of Evidence-based Complementary & Alternative Medicine, 2017, 22, 1029-1034.
- [2] 陈旭蕊. 芹菜叶茶加工技术研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
CHEN X R. Celery leaf tea study on processing technology of celery leaf tea[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2017.
- [3] 张晓. 芹菜泡菜的盐渍及发酵新技术研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2013.
ZHANG X. Study on salinization and new fermented

- technology[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2013.
- [4] 黄菊, 何伟平. 响应面法优化乙醇提取芹菜中黄酮的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(14): 46-51.
- HUANG J, HE W P. Optimization of ethanol extraction of flavonoids from celery by response surface methodology[J]. Food Research and Development, 2016, 37(14): 46-51.
- [5] 曾珊. 微波辅助离子液体提取黄酮类化合物的研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2016.
- ZENG S. Study of microwave-assisted extraction of flavonoids by ionic liquids[D]. Xiangtan: Xiangtan University, 2016.
- [6] 赵刚, 顾佳丽, 励建荣. Plackett-Burman 设计及响应面法优化芹菜中总黄酮的超声提取工艺[J]. 中国食品学报, 2017, 17(8): 147-155.
- ZHAO G, GU J L, LI J R. Optimization of ultrasonic extraction conditions of total flavonoids from *Apium graveolens* by Plackett-Burman design and response surface analysis[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(8): 147-155.
- [7] 黄志强, 吴娜梅, 唐明明, 等. 水芹中芹菜素的提取纯化与抗氧化活性研究[J]. 农产品加工, 2019(2): 4-10.
- HUANG Z Q, WU N M, TANG M M, et al. Study of extraction and purification and antioxidant activity of apigenin in water dropwort[J]. Farm Products Processing, 2019(2): 4-10.
- [8] 薛晶晶, 乔婧, 高建德, 等. 酶辅助提取纯化芹菜总黄酮的工艺研究[J]. 中兽医医药杂志, 2019, 38(6): 73-76.
- XUE J J, QIAO J, GAO J D, et al. Study on enzyme-assisted extraction and purification of total flavonoids from *Apium graveolens* L.[J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 2019, 38(6): 73-76.
- [9] 张莉莉, 高静, 魏媛仪, 等. LCST型离子液体-盐双水相体系提取虾青素[J]. 中国食品学报, 2020, 20(4): 170-178.
- ZHANG L L, GAO J, WEI Y Y, et al. Extraction of astaxanthin by LCST-type ionic liquid-salt aqueous biphasic systems[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(4): 170-178.
- [10] MORSHED M N, BEHARY N, BOUAZIZI N, et al. An overview on biocatalysts immobilization on textiles: Preparation, progress and application in wastewater treatment[J]. Chemosphere, 2021, 279(1): 1-23.
- [11] LIU Z G, TANG X H, LIU C, et al. Ultrasonic extraction of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. and its antioxidant activity[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(6): 2642-2651.
- [12] 杨丽, 王昌涛, 孙啸涛, 等. 加热回流提取牡丹花粉黄酮工艺研究及其安全性评价[J]. 日用化学品科学, 2013, 36(4): 35-40.
- YANG L, WANG C T, SUN X T, et al. Reflux extraction and safety evaluation of flavonoids from peony pollen[J]. Detergent & Cosmetics, 2013, 36(4): 35-40.
- [13] 董彩文, 王浩瑾, 张明俊, 等. 双水相技术提取黄秋葵黄酮的工艺条件研究[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(10): 85-88.
- DONG C W, WANG H J, ZHANG M J, et al. Study on extraction of flavonoids from okra by aqueous two-phase technology[J]. Cereals & Oils, 2019, 32(10): 85-88.
- [14] 符群, 吴桐, 王梦丽. 负压超声法提取刺玫果黄酮及其抗氧化性研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(1): 165-172.
- FU Q, WU T, WANG M L. Study on extraction and antioxidant activity of flavonoids from *Rosa dawurica* Pall. by negative pressure ultrasound[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(1): 165-172.
- [15] 陈慧华. 县域杉林地批量评估研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2010.
- CHEN H H. Studies on mass appraisal of Chinese fir forestland in county area[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2010.
- [16] 霍丹群, 冯丹, 周荣灵, 等. BP神经网络优化荷叶黄酮提取工艺及黄酮稳定性实验的探索[J]. 食品工业科技, 2014, 35(16): 274-280.
- HUO D Q, FENG D, ZHOU R L, et al. Optimization of extraction technology of total flavonoids from lotus leaf by BP neural network and exploration of flavonoids stability[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(16): 274-280.
- [17] LEI Y, QIU X D. Evaluating the investment climate for China's cross-border e-commerce: The applica-

- tion of back propagation neural network[J]. Information, 2020, 11(11): 526.
- [18] XU S C, WAN H T, ZHAO X X, et al. Optimization of extraction and purification processes of six flavonoid components from Radix Astragali using BP neural network combined with particle swarm optimization and genetic algorithm[J]. Industrial Crops and Products, 2022, 178: 114556.
- [19] 何兰香, 丁科, 谢明华, 等. 酶法-超声提取黄精总黄酮及其抗氧化活性研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(9): 1075-1080.
- HE L X, DING K, XIE M H, et al. Study on enzymatic-ultrasonic assisted extraction of total flavonoids from *Polygonatum sibirici* and its antioxidant activities[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2019, 36(9): 1075-1080.
- [20] 颜征, 张海晖, 李亚群, 等. 莲子壳多酚的抗氧化活性和稳定性[J]. 中国食品学报, 2019, 19(12): 89-95.
- YAN Z, ZHANG H H, LI Y Q, et al. Antioxidant properties and stability of polyphenols in lotus seed hull[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(12): 89-95.
- [21] 黄丽华, 陈诗敏, 陈刚. 赭桐叶中黄酮的提取及抗氧化活性的研究[J]. 农业与技术, 2020, 40(11): 29-32.
- HUANG L H, CHEN S M, CHEN G. Study on the extraction and antioxidant activity of flavonoids from Tung tree leaves [J]. Agriculture and Technology, 2020, 40(11): 29-32.
- [22] 肖丽宏, 李子兰, 李建宾, 等. 云南墨红玫瑰花色素粗提物的体外抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2019, 44(7): 291-296.
- XIAO L H, LI Z L, LI J B, et al. Antioxidant activity of the crude extracts of rose crimson glory pigment of Yunnan *in vitro* [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(7): 291-296.
- [23] 李素红, 江明珠, 姜晓坤, 等. 玉竹黄酮提取纯化及体外抗氧化研究[J]. 中国果菜, 2020, 40(8): 45-51.
- LI S H, JIANG M Z, JIANG X K, et al. Study on extraction, purification and antioxidation of flavonoids from *Polygonatum odoratum* [J]. China Fruit & Vegetable, 2020, 40(8): 45-51.
- [24] SHIN S W, GHIMERAY A K, PARK C H. Investigation of total phenolic, total flavonoid, antioxidant and allyl isothiocyanate content in the different organs of *Wasabi japonica* grown in an organic system [J]. African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines; AJTCAM, 2014, 11(3): 38-45.
- [25] 康宏玲, 杨玉红, 康宗利. 昆仑雪菊总黄酮的提取及抑菌和抗氧化分析[J]. 食品科技, 2018, 43(6): 236-241.
- KANG H L, YANG Y H, KANG Z L. Extraction, antibacterial and antioxidant activities of total flavonoids from *Coreopsis tinctoria* Nutt [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(6): 236-241.
- [26] 潘振东, 李璐, 薛梦莹, 等. 太白韭对金黄色葡萄球菌的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(1): 318-326.
- PAN Z D, LI L, XUE M Y, et al. Antibacterial activity of *Allium prattii* against *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(1): 318-326.

Based on the BP Neural Network Combined with Response Surface Optimization Celery Leaf Flavonoids Extraction Technology and Its Application

Guo Shancai, Zhang Zhen, Lin Jianyuan*

(College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, Zhejiang)

Abstract The ultrasonic assisted ethanol ammonium sulfate aqueous two-phase extraction method was used to optimize the extraction process of flavonoids from celery leaves by response surface methodology (RSM) and BP neural network. The effects of four main factors on the extraction rate of total flavonoids were studied. The central composite design experiment was adopted. The data sample output from response surface was used as the input sample of BP neural network, and the characteristics of its interactive algorithm were used to optimize the fitting, so as to achieve the purpose of opti-

mizing the extraction process by combining BP neural network with response surface. The results showed that under the conditions of ultrasonic time of 52.25 min, ultrasonic temperature of 52.5 °C, solid-liquid ratio of 1:44 and ethanol content of 61.47%, the extraction rate of total flavonoids from celery leaves could reach 6.62%. Total flavonoids from celery leaves had scavenging effects on DPPH·, ·OH and ·O₂⁻, and the maximum scavenging rates were 88.2%, 86.1% and 84.3%, respectively. It could be used as a kind of bacterial inhibitor. The content of luteolin and apigenin in the sample extract was relatively high by LC-MS analysis.

Keywords celery leaves; flavonoids; aqueous two-phase; response surface; BP neural network