

均质剪切辅助响应面法提取扛板归总黄酮及其抗氧化性能研究

黄国霞^{1,3,4*}, 李桥换², 阎柳娟^{1,3,4}¹广西科技大学 生物与化学工程学院,柳州 545006;²柳州市妇幼保健院,柳州 545000;³广西科技大学 广西高校糖资源加工重点实验室;⁴广西糖资源绿色加工重点实验室(广西科技大学),柳州 545006

摘要:为了研究扛板归中总黄酮的最佳提取工艺及其体外抗氧化活性,在高剪切及回流提取单因素的基础上,采用响应面法考察了回流温度、回流时间、料液比、乙醇浓度对提取率的影响。结果显示,扛板归总黄酮最优提取工艺为:回流温度 79.86 °C,回流时间 2.03 h,乙醇浓度 51.64%,料液比 1:59(m:V),剪切次数 7 次,剪切温度 50 °C。最优工艺下总黄酮的提取率为 8.37%。提取的总黄酮抗氧化性能良好,浓度为 8 mg/mL 时,对 DPPH·、O₂⁻ 和 ·OH 三种自由基的清除率在 68%~90% 之间。

关键词:扛板归;黄酮;高剪切;抗氧化

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)1-0127-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.1.018

Optimization of extraction process of total flavonoids in *Polygonum perfoliatum* L. using response surface methodology and high-speed shearing technique and study on its antioxidant activity

HUANG Guo-xia^{1,3,4*}, LI Qian-huan², YAN Liu-juan^{1,3,4}¹Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, China;²Liuzhou Maternity and Child Healthcare Hospital, Liuzhou 545000, China; ³Guangxi University of Science and Technology Guangxi Key Laboratory of Green Processing of Sugar Resources;⁴Key Laboratory for Processing of Sugar Resources of Guangxi Higher Education Institutes, Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, China

Abstract: In this paper, the optimum extraction process and antioxidant activity *in vitro* of total flavonoids from *Polygonum perfoliatum* L. was researched. The effects of extraction temperature, extraction time, ratio of material to liquid and ethanol concentration on extraction rate were investigated by single factor and response surface methodology. According to the experimental results, the optimized extraction conditions were got, which were listed as following, extraction temperature was 79.86 °C, extraction time was 2.03 h, ethanol concentration was 51.64%, ratio of material to liquid was 1:59, shear times was 7 times, shear temperature was 50 °C, and the extraction rate of flavonoids under the above conditions was 8.37%. In addition, the *in vitro* antioxidant activities of the total flavonoids was investigated by measuring clearance abilities of O₂⁻, 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH·) and ·OH. The results showed that the total flavonoids had good antioxidant activity. When the concentration of total flavonoids was 8 mg/mL, the scavenging rates of DPPH·, O₂⁻ and ·OH were between 68% - 90%.

Key words: *Polygonum perfoliatum* L.; flavonoids; high shear; antioxidant

扛板归 (*Polygonum perfoliatum* L.) 为蓼科属贯

叶蓼植物,为多年生蔓性草本,主要分布在我国南方地区,是清热解毒、散瘀消肿、去湿利尿之良药,民间常用来治疗蛇毒、湿疹、黄疸、乳腺炎、百日咳等^[1,2]。Cai 等^[3]实验还表明扛板归醇提物对小鼠肝损伤有一定的修复作用。现代分离鉴定技术证明

收稿日期:2019-06-21 接受日期:2019-12-20

基金项目:广西科技大学科学基金(校科自 1419201)

* 通信作者 Tel:86-772-2687033;E-mail:guoxiahuang2007@aliyun.com

扛板归中含有糖类、酚羧基类、萜醌、黄酮类等多种化合物^[4,5],其中黄酮类有槲皮素、槲皮苷、异鼠李素、金丝桃苷等。研究表明,在酚羟基的作用下,黄酮能够有效清除自由基,从而起到抗氧化作用^[6-8],以此提高人体的自我保护能力,预防和减少炎症的产生及抑制正常细胞癌变^[9]。

定子、转子包埋于样品中,在机械的带动下,转子的高速转动能使两者之间受到强烈的气蚀作用、剪切效应和机械效应,从而使物料受到高速碰击、液层摩擦、湍流等作用实现高速剪切效果。随着工业制造领的创新和精密度的提高,使得高速剪切这项起初用于化妆品、食品、工业等方面粗放式乳化的技术得以有更广泛的应用。而且该技术具有破碎力度大、用料少、时间短、操作简便等优点,近年来,在中药材有效成分如多糖、黄酮等的提取中有较多的应用^[10-12]。冷凝回流技术是常用的中药有效成分提取技术,液体受热气化,遇冷转化为液体流回瓶中,在液态-气态-液态反复过程中,使得内含物充分溶出。

扛板归作为民间的优秀药材,目前在现代化生产的中成药中却比较少见有应用,对扛板归中黄酮提取的报道也较鲜见,未见有使用高剪切处理提取总黄酮的报道。本实验采用高剪切-回流两步法对扛板归中总黄酮进行提取,在单因素的基础上用响应面法对扛板归中总黄酮提取工艺进行优化,研究了扛板归总黄酮对三种常见自由基的清除能力,旨在为这味药材的现代化生产提供依据,使我国传统优良药材得到更好的开发利用。

1 实验方法及步骤

1.1 仪器设备

BME 100L 高剪切混合乳化机(上海威宇机电有限公司);DXF-20C/D 中药粉碎机(广州大祥电子机械设备有限公司);Cary 60 紫外可见分光光度计(安捷伦科技);Alpha 1-4 LD plus 冷冻干燥机(德国CHRIST),鼓风干燥箱等。

1.2 材料与试剂

扛板归摘取地上部分,洗净,晾干,剪碎,于烘箱 80 ℃ 干燥后粉碎,过 80 目筛,收集备用。

芦丁标准品(国药集团化学试剂公司)干燥至恒重后用无水乙醇配制成 200 μg/mL 的储备液,用时稀释至所需浓度;无水乙醇,硝酸铝,亚硝酸钠,氢氧化钠等试剂均为分析纯;试验用水为超纯水。

1.3 实验方法

1.3.1 黄酮标准曲线绘制

参考文献^[13],量取 0.0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 芦丁储备液分别置于 10 mL 容量瓶,

用 50% 乙醇定容至 10 mL。取 10 mL 比色管若干支,加入 0.3 mL 5% 的亚硝酸钠溶液,摇匀,静置 6 min,加 0.3 mL 10% AlNO_3 ,摇匀,静置 6 min;加 4 mL 50% NaOH,用 50% 乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,静置 15 min,以不加芦丁的溶液作对照,在 510 nm 处测定吸光度 A,重复三次。以浓度为横坐标,A 值为纵坐标绘制曲线并进行线性拟合,根据实验结果,所绘方程为 $A = 10.75C + 0.00125$,相关系数 $R = 0.9982$,说明该模型线性关系较好,可用于分析。

1.3.2 黄酮的提取流程

如图 1 所示安装好仪器,取扛板归粉末适量,装入高剪切乳化专用瓶中,加入适量乙醇,在合适的温浴中进行多次间歇性剪切,加热回流,收集提取液,旋转蒸发至瓶内余少量液体,此为黄酮粗品,取出粗品,D101 树脂纯化后冷冻真空干燥,即为总黄酮。

总黄酮提取率的计算公式:

$$\text{总提取率 } X = \frac{a \times c \times * V}{m}$$

A: 为溶液稀释倍数;C: 为溶液的浓度;V: 为溶液的体积;M: 为提取原料的质量。

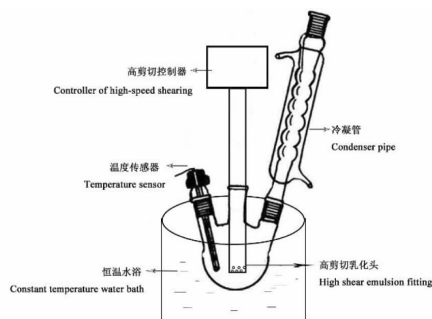


图 1 提取装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram for interaction

1.3.3 单因素实验

高剪切可以破坏细胞壁结构使细胞内物质更容易流出,有助于内容物的提取^[14]。所以在回流之前对材料进行高剪切处理。精密称取 1.00 g 扛板归粉末于高剪切专用三口圆底烧瓶中,用 60 mL 乙醇溶液分散,将圆底烧瓶浸入恒温水浴中,感温探头插入圆底烧瓶内,开启设备进行剪切。改变剪切处理次数和温度,考察它们对提取率的影响。

前期实验表明,提取温度、乙醇浓度、提取时间和料液比对提取率的影响较大,故选取这四个因素进行单因素实验。分别考察提取温度(50、60、70、80、90 ℃)、乙醇浓度(40%、50%、60%、70%、80%)、提取时间(0.5、1、1.5、2、2.5 h)、料液比(1:30、1:40、1:50、1:60、1:70)对总黄酮提取率的影响。

表 1 响应面试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface experiments

水平 Level	因素 Factor			
	A 乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	B 浸泡时间 Time (h)	C 提取温度 Temperature (℃)	D 料液比 Ratio of material to liquid
-1	50	1.5	70	1:40
0	60	2.0	80	1:50
1	70	2.5	90	1:60

1.4 对自由基的清除能力

参考文献^[15,16],根据实际有所修改。对·OH清除能力的实验方法:精密称取扛板归总黄酮适量,用50%乙醇配制成一系列浓度的待测液,取10 mL比色管若干支,分别加入0.5 mL 7.5 mmol/L FeSO₄·0.5 mL 0.2% H₂O₂溶液(空白组换成同体积超纯水),置于37 ℃恒温水浴锅中,30分钟后取出,加入1.0 mL待测液(对照组和空白组换成同体积超纯水),然后加入0.9 mL 5 mmol/L邻二氮菲,定容至刻度,37 ℃水浴15分钟后测吸光度值A_{536nm}(以超纯水为参比),每个样测三次,取平均值。同时取Vc适量,配成一系列浓度,同上步骤测其对·OH的清除能力。用以下公式计算清除率。

$$\cdot\text{OH清除率} = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{空白}} - A_{\text{对照}}} \times 100\%$$

对DPPH·清除能力的实验方法:精密称取扛板归总黄酮适量,用70%乙醇配制成梯度浓度的待测液,取10 mL比色管若干支,分别依次加入1.0 mL待测液(空白组换成同体积70%乙醇),2 mL 0.01 mmol/L DPPH乙醇溶液(本底组换成同体积70%乙醇),摇匀,避光反应30 min后测吸光度值A_{517nm}(以超纯水为参比),重复三次,取平均值。同时取Vc适量,配成一系列浓度,同上步骤测其对DPPH·的清除能力。用以下公式计算清除率。

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率} = \frac{1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{本底}}) / A_{\text{空白}}}{1 - (A_{\text{对照}} - A_{\text{本底}}) / A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

对O₂⁻清除能力的实验方法:精密称取扛板归总黄酮适量,配制成梯度浓度的待测液,取10 mL比色管若干支,分别加入2.5 mL pH为8.2的Tris-HCl缓冲液(0.05 mmol/L),0.4 mL待测液(空白组

1.3.4 响应面实验

结合单因素的结果,采用响应面法进一步优化,以提取温度、提取时间、料液比、乙醇浓度为自变量,按照Box-Behnken中心组合设计响应面优化方案,选取4因素3水平的组合(表1)。

为0.4 mL超纯水),37 ℃水浴15分钟后加入0.5 mL 4.5 mmol/L邻苯三酚(本底组为0.5 mL超纯水),涡旋混匀后反应4 min,加入0.05 mL 10 mol/L HCl,测吸光度值A_{325nm}(以超纯水为参比)。重复三次,取平均值。同时取Vc适量,配成一系列浓度,同上步骤测其对O₂⁻的清除能力。用以下公式计算清除率。

$$\text{O}_2^-\text{清除率} = \frac{1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{本底}}) / A_{\text{空白}}}{1 - (A_{\text{对照}} - A_{\text{本底}}) / A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 剪切次数和剪切温度对黄酮提取率的影响

高速剪切能够使植物颗粒组织在定、转子狭窄的间隙中受到强烈的机械剪切、离心挤压、撞击撕裂和湍流等作用,在较短时间内实现破壁效果,是中药粉碎机的一个重要后续补充。高剪切优化提取结果如图2。为了防止电机过热受到损坏,只能采用间歇式处理,每次处理时间约为30秒,所以需要多次剪切才能使黄酮溶出更彻底,如图2所示,剪切7次效果最佳,此时扛板归中黄酮的提取达到最高值(8.37%)。剪切处理时的温度对黄酮提取率也有一定影响,当剪切处理温度为50 ℃时,黄酮提取率达到最大,说明该温度下最有利于黄酮的溶出。温度过低时,分子运动不够剧烈,溶液对植物组织的浸润作用也未能达到最大化;温度过高时,乙醇容易气化于液面之上甚至部分挥发至容器外,使得溶液内的浓度降低,另一方面,过高的温度会使黄酮化合物发生立体异构和缩合反应,不利于产物的提取,而且较高温度下蛋白、糖类、淀粉等杂质的溶解度会增

加,也会阻碍目标产物的提取。与未剪切处理的样品相比,经过剪切处理的实验组的提取率有所提高,

表明在回流之前加入剪切步骤是提高提取率的有效方法。

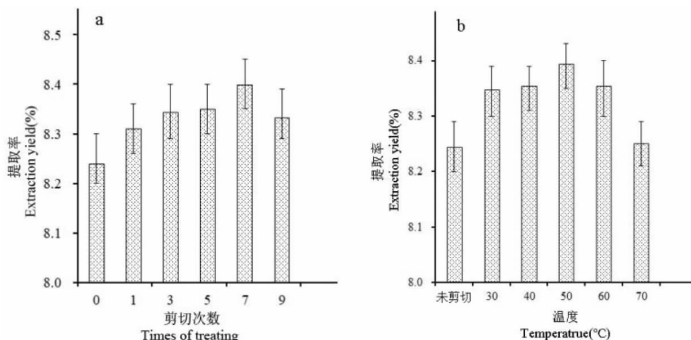


图2 高剪切处理对提取率的影响

Fig. 2 Effect of high shear treatment on extraction rate

注:a: $P=0.048$, 差异显著; b: $P=0.0053$, 差异极显著。Note: a: $P=0.048$, significant; b: $P=0.0053$, very significant.

2.1.2 回流温度对黄酮提取率的影响

由图3可知随着温度的升高,提取率逐渐升高,在70~80℃时提取率急剧升高,80℃时达到最高值。温度升高可加快分子运动,利于提取。但是过高的温度则会使黄酮趋于分解,并且使糖类、蛋白、淀粉等杂质溶出,导致产率降低。故80℃应为较适合的提取温度。

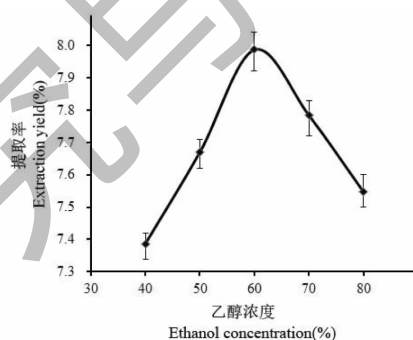


图4 乙醇浓度对黄酮提取率的影响

Fig. 4 Effect of ethanol concentration on extraction yield of total flavonoids

注: $P=0.00000062$, 差异极显著。Note: $P=0.00000062$, very significant.

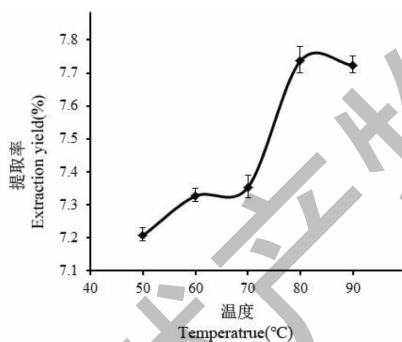


图3 提取温度对黄酮提取率的影响

Fig. 3 Effect of temperature on extraction yield of total flavonoids

注: $P=0.012$, 差异显著。Note: $P=0.012$, significant.

2.1.3 乙醇浓度对黄酮提取率的影响

扛板归中含有多种黄酮类物质,故提取出来的是多种黄酮的混合物,又因原生药材的独特性,每种药材适合的提取浓度不尽相同。在本实验中,由图4可知,乙醇浓度为60%时,黄酮提取率最大,根据相似相溶理论,说明此浓度下乙醇的极性可能和黄酮混合物的极性较为相近,故溶出率高。

2.1.4 回流时间对黄酮提取率的影响

充足的时间能使溶剂更充分的渗入到药材内

部,利于黄酮的溶出。图5的结果表明,在1小时内,随着提取时间的延长,提取率缓慢上升,1~2小时之间急剧上升,2小时后又趋于平缓,为了节约时

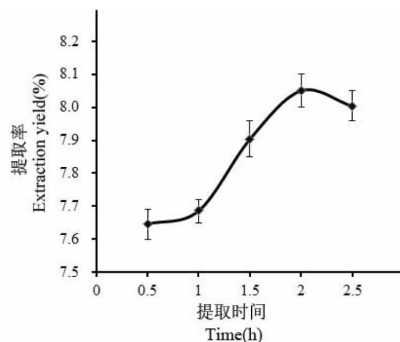


图5 提取时间对扛板归黄酮提取率的影响

Fig. 5 Effect of time on extraction yield of total flavonoids
注: $P=0.0048$, 差异极显著。Note: $P=0.0048$, very significant.

间成本,本实验采用 2 小时作为回流时间。

2.1.5 不同料液比对黄酮提取率的影响

如图 6 所示,加大提取液的量可以提高黄酮提取率,在 1:60 之前提高幅度较大,之后则上升趋于平缓。加大溶剂用量能使物料的可扩散空间增加,减少聚集体的产生,物料与溶剂的有效接触面积增大,对植物组织壁材的浸润破裂效果则更好,能使更多的黄酮溶出。但是使用大量的溶剂会提高成本,也使后续的浓缩时间增加,综合时间和经济成本,本实验选取 1:60 作为溶剂对扛板归中黄酮进行提取。

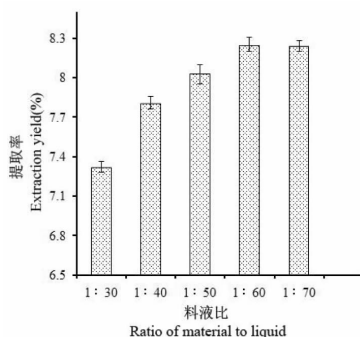


图 6 料液比对黄酮提取率的影响

Fig. 6 Effect of ratio of material to liquid on extraction yield of total flavonoids

注: $P=0.00029$, 差异极显著。Note: $P=0.00029$, very significant.

2.2 响应面结果

2.2.1 响应面实验结果

根据单因素实验结果,选取乙醇浓度、料液比、提取温度、提取时间四个因素,利用 Box-Behnken 软件进行实验设计,研究各因素对扛板归中黄酮提取率的影响。实验设计分组及结果见表 2,模型的方差分析结果见表 3。

由表 2 可知,一次项中 C、D 项为显著;交互项中 BD、CD 项差异显著;二次项中 B^2 为显著,其余项均为极显著。各项的 F 值的大小反映出相对提取率的大小^[17],由此可以得出单因素中影响提取率主次为: C (温度) > D (料液比) > A (浓度) > B (时间)。失拟误差 = 0.0151 < 0.05, 差异显著。模型的回归系数 R^2 为 0.965。综合以上分析,该模型拟合程度较好,误差较小,可以用来分析和预测不同提取工艺条件下扛板归总黄酮提取率的最佳理论值。

由表 3 的方差分析可知,该实验数据所建立的模型的 F 值为 3.25, P 值为 0.0125 < 0.05, 该模型显著,此方程可以指导扛板归的黄酮提取。该模型拟合出的回归方程为:

$$Y = 8.20 + 0.039A - 0.034B + 0.11C - 0.069D + 0.015AB + 0.032AC - 0.0AD + 0.039BC + 0.091BD - 0.17CD - 0.53A^2 - 0.28B^2 - 0.29C^2 - 0.37D^2$$

方程式中 A、B、C、D 分别为浓度、时间、温度、料液比。

表 2 Box-behnken 实验的设计及结果

Table 2 Design and results of Box-behnken experiments

序号 No.	A 提取时间 Time (h)	B 试验温度 Temperature (°C)	C 乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	D 料液比 Ratio of material to liquid	提取率 Extraction yield (%)
1	2.00	90.00	60.00	60.00	8.210
2	2.50	90.00	50.00	60.00	7.401
3	2.00	80.00	40.00	70.00	7.621
4	2.00	80.00	50.00	60.00	7.842
5	2.50	80.00	50.00	70.00	7.332
6	1.50	80.00	60.00	60.00	7.231
7	2.00	90.00	40.00	60.00	7.506
8	2.00	80.00	40.00	50.00	7.333
9	1.50	70.00	50.00	60.00	7.322
10	2.00	80.00	50.00	60.00	8.354
11	2.00	70.00	50.00	50.0	7.857
12	2.50	80.00	40.00	60.00	7.314
13	2.00	70.00	40.00	60.00	7.314
14	2.00	90.00	50.00	50.00	7.212

续表 2 (Continued Tab. 2)

序号 No.	A 提取时间 Time (h)	B 试验温度 Temperature (°C)	C 乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	D 料液比 Ratio of material to liquid	提取率 Extraction yield (%)
15	2.50	70.00	50.00	60.00	7.311
16	2.00	80.00	50.00	60.00	8.245
17	2.5	80.00	60.00	60.00	7.354
18	2.00	90.00	50.00	70.00	7.211
19	2.00	80.00	50.00	60.00	8.304
20	2.50	70.00	50.00	50.00	7.643
21	2.00	70.00	60.00	60.00	7.863
22	2.00	80.00	60.00	50.00	7.740
23	1.50	80.00	50.00	50.00	7.331
24	2.00	70.00	50.00	70.00	7.563
25	1.50	90.00	50.00	60.00	7.351
26	2.00	80.00	50.00	60.00	8.122
27	1.50	80.00	50.00	70.00	7.325
28	1.50	80.00	40.00	60.00	7.190
29	2.00	80.00	60.00	70.00	7.322

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis of regression equation

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 <i>df</i>	均方差 Mean square	F 值 <i>F</i> value	P 值 <i>P</i> value	显著性 Significance
Model	2.99	14	0.21	3.52	0.012 5	*
A	0.018	1	0.018	0.30	0.059 3	
B	0.014	1	0.014	0.23	0.064 0	
C	0.15	1	0.15	2.41	0.014 3	
D	0.057	1	0.057	0.95	0.034 7	
AB	9.302E-004	1	9.302E-004	0.015	0.903 2	
AC	4.160E-003	1	4.160E-003	0.69	0.079 7	
AD	0.025	1	0.025	0.41	0.053 1	
BC	6.006E-003	1	6.006E-003	0.099	0.075 7	
BD	0.033	1	0.033	0.54	0.047 4	
CD	0.12	1	0.12	2.02	0.017 7	
A ²	1.82	1	1.82	30.05	0.000 1	**
B ²	0.53	1	0.53	8.67	0.010 7	*
C ²	0.56	1	0.56	9.25	0.008 8	*
D ²	0.87	1	0.87	14.35	0.002 0	*
残差 Residual	0.85	14	0.061			
失拟误差 Lack of fit	0.75	10	0.075	2.99	0.015 1	*
纯差 Pure error	0.10	4	0.025			
合误差 Cor total	3.38	28			<i>R</i> ² = 0.965	

注: ** $P < 0.01$ 极显著; * $P < 0.05$ 显著。Note: ** $P < 0.01$ very significant; * $P < 0.05$ significant.

2.2.2 响应面交互作用分析结果

三维响应面图是由各因素两两所构成的图,其他实验因素不变时,交互因素对提取率的影响,三维图及等高线图可用于分析各因素对黄酮提取率的影响。如图7所示,两两因素的交互中均存在极值,极值对应的点接近椭圆的中心。时间与温度,时间与

浓度,物料比与浓度这三组交互作用形成的等高线均为椭圆形,椭圆率较大,说明它们两两之间的交互作用较为明显。而时间与料液比、温度与浓度、温度与料液比这三组交互作用对应的等高线椭圆度较小,说明这三组交互作用相对较弱。

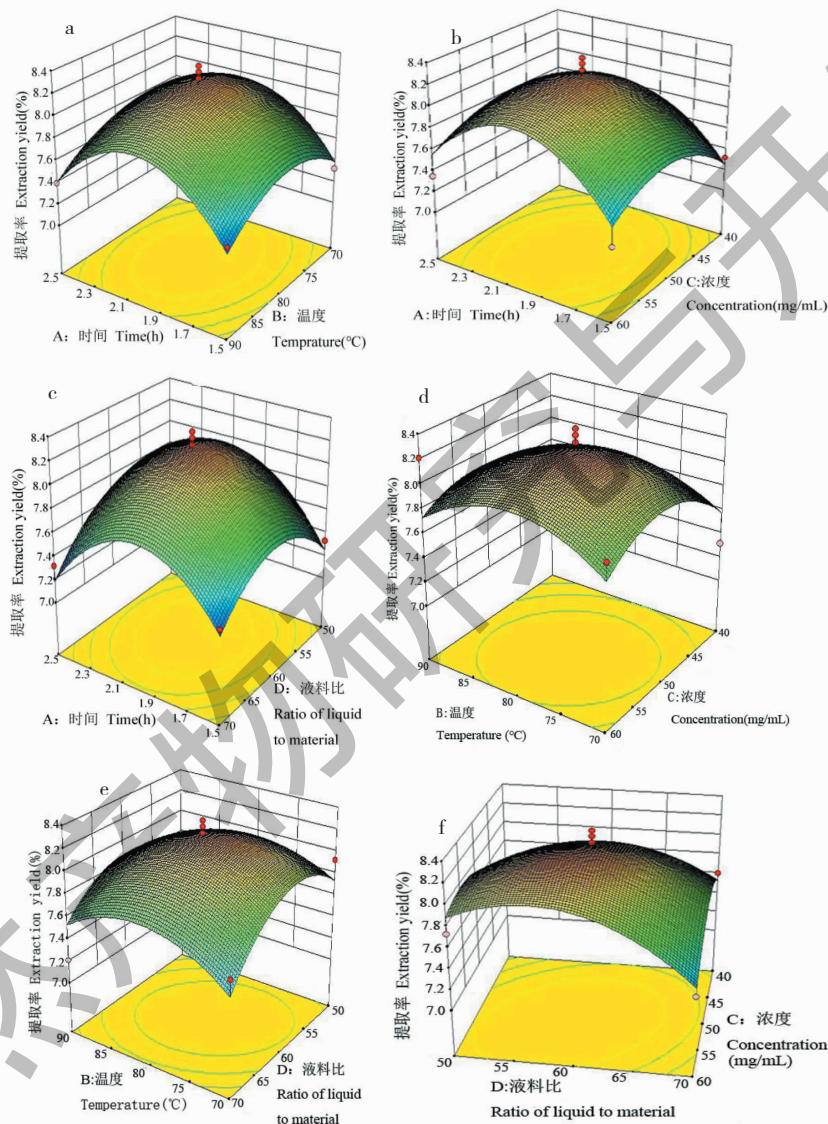


图7 不同因素交互作用对黄酮提取率影响的响应面曲线和等高线

Fig.7 Reponse surface plots and contour line of effect of interaction between different factors on the extraction yield of total flavonoids

2.2.3 扛板归中黄酮提取的最佳条件验证性试验

经响应面优化,最佳提取工艺为:提取温度 79.3°C ,乙醇浓度 52.3% ,料液比 $1:58.3$,提取时间 2.0 小时。根据所拟合的最佳条件进行验证试验,平行三次,取平均值,结果为 8.2% ,与预测值(8.3%)很接近,说明该响应面法优化的条件可信,

此模型准确可信,重现性良好。

2.3 总黄酮体外抗氧化能力试验结果

自由基是一类活性非常高的基团,对生物体来说它们是一种有害的存在,因为体内蛋白质、核酸、脂肪酸等大分子很容易受到自由基的攻击,从而产生病变,引发疾病,加速衰老等。黄酮类物质通过清

除自由基功能实现抗氧化作用,如图8所示,扛板归总黄酮对 $O_2^{\cdot-}$ 、DPPH \cdot 、和 $\cdot OH$ 三种自由基都有比较好的清除效果,尤其对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除最明显。当总黄酮浓度达到 8 mg/mL 以上时,对以上三种自由基的清除能力分别为 90.1%、85.0% 和 68.5% 以上。由图9可以看出,低浓度时,黄酮对自由基的清除效果远不如 Vc,但是当浓度达到 4 mg/mL 以上时,总黄酮对 $O_2^{\cdot-}$ 和 DPPH \cdot 的清除率已能达到同浓度 Vc 的 90% 左右;对 $\cdot OH$ 的清除效果比 $O_2^{\cdot-}$ 、DPPH \cdot 稍差,这是因为 $\cdot OH$ 极易得电子从而形成极强的氧化能力,所以需要更高浓度的抗氧化剂才能阻止它的氧化作用。当总黄酮浓度达到 8 mg/mL 时,对 $\cdot OH$ 的清除率也能达到 Vc 的 70% 以上。

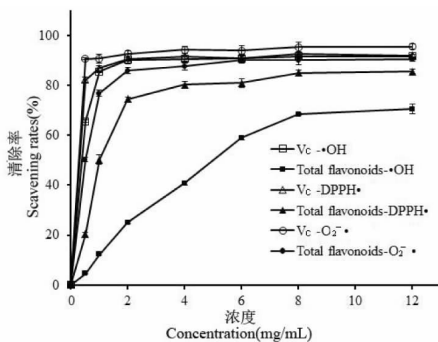


图8 总黄酮和 Vc 对自由基的清除能力

Fig. 8 Scavenging Ability of Total Flavonoids and Vc to Free Radicals

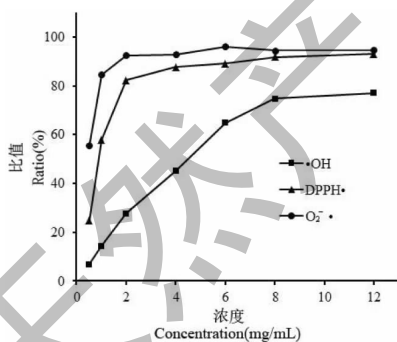


图9 总黄酮对自由基清除率与 Vc 对自由基清除率的比值

Fig. 9 Ratio of scavenging to free radicals of total flavonoids and scavenging to free radicals of Vc

3 结论与展望

在单因素的基础上,采用 Box-Behnken 中心组合设计响应面优化方案,考察提取温度、时间、料液比、乙醇浓度对扛板归中总黄酮提取率的影响。结果表明对提取率影响从强到弱的顺序为:乙醇浓度

> 提取时间 > 料液比 > 提取温度,响应面优化的最佳条件为:温度 79.86 °C、时间 2.03 h、料液比 1:59、乙醇浓度:51.64%。在上述最佳方案条件下,考察了高速剪切对于提高黄酮提取率的作用,结果显示经过高剪切处理后,总黄酮提取率有所提高。提取的总黄酮对 DPPH \cdot 、 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 三种自由基的清除效果都比较好,当总黄酮浓度为 8 mg/mL 时,对 DPPH \cdot 、 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 三种自由基的清除率在 68%~90% 之间。高速剪切操作简单,成本低廉,可以结合粉碎机作为物料的前处理手段进行应用,在后续的实验中,我们将尝试更多的方法如微波、超声波等对扛板归中黄酮进行提取,最大限度地将这味药材进行开发利用,发扬我国传统优秀药材。

参考文献

- Liu YM, Fan WC. Advances in pharmacological action and clinical application of *Polygonum perfoliatum* L. [J]. Asia Pac Tradit Med(亚太传统医药), 2011, 7:161-162.
- Wan DR. Polygonaceae medicines commonly used by Tujia people in Hubei Province[J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族民间医药), 1995, 15:38.
- Cai XL, Zhang XL, Zhang KF. Protective effect of *Polygonum perfoliatum* L. on CCl₄-induced acute liver injury in rats[J]. China Pharm(中国药房), 2010, 21:4059-4060.
- Wang Q, Chen L, Tian Y, et al. Chemical constituents of *Polygonum perfoliatum* L. [J]. Mil Med Sci(军事医学), 2009, 33(3):254-256.
- Zou DF, Ye K, Xie AZ, et al. Extraction and determination of emodin in *Polygonum perfoliatum* L. [J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学), 2011, 39:14590-14592.
- Wei CL, Yu DH, An LJ. Flavonoids and the mechanism of scavenging free radicals[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2005, 27:239-241.
- Fatma SA, Mohammad AH. Comparison of total phenols, flavonoids and antioxidant potential of local and imported ripe bananas[J]. Egy J Basic Appl Sci, 2018, 5:245-251.
- Robert JW, Jeremyp ES, Catherine RE. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules[J]. Free Radical Bio Med, 2004, 36:838-849.
- Li HF, Zhao YX, Liu YQ, et al. Advances in chemical constituents and pharmacological activities of *Polygonum perfoliatum* L. [J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学), 2008, 36:11793-11794.
- Zhang ZX, Liu YF, Liu Y, et al. A novel high-speed shear dispersing emulsification pretreatment method for the extraction of active ingredients of *Olea europae* L. [J]. Nat Prod

- Res Dev(天然产物研究与开发),2013,25:1555-1561.
- 11 Zhao YY, Yang XY, Wang SM, et al. Efficient extraction of flavonoids from rubus idaeus residue by ultrasonic wave combined with high shear method and its inhibition of α -glucosidase[J]. Mod Food Sci Tech(现代食品科技),2019,35:220-227.
 - 12 Hua JN, Feng ZF, Liu YF, et al. Extraction kinetics research of flavonoids from Radix Astragali base on high shear dispersing emulsifier[J]. Chin J Anal Chem(分析化学),2012,40:752-756.
 - 13 Huang GX, Huang ZM, Wang Q, et al. Application of high-speed shearing technique in extraction process of total flavonoids from pomelo peel[J]. China Food Add(中国食品添加剂),2017,10:124-129.
 - 14 Xu JH. Study on extraction method and kinetics of flavonoids from *Astragalus membranaceus* based on high Shear dispersion Emulsification technology [J]. Hebei Med J(河北医药),2013,7:1090-1092.
 - 15 Zhuang YH, Liu JN, Fei P, et al. Antibacterial and antioxidant effects of flavonoids extracts from pomelo dropped fruits [J]. J Henan Univ Tech; Nat Sci(河南工业大学学报:自然科学版),2019,40(2):69-74.
 - 16 Miao YX, Liao MX, Sun AH, et al. Extraction of total flavonoids from *Dendrobium officinale* flowers by ultrasonic-ethanol synergistic and its antioxidant activity[J]. China Brew(中国酿造),2019,38:155-159.
 - 17 Chen HM, Xie L. Optimization of extraction process for flavonoid from *Soutellaria barbata* by response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity[J]. Food Sci, 2016,2:45-50.
-
- (上接第 109 页)
- 15 Tan L, Dong Q, Cao JY, et al. Extraction and identification of anthocyanins in *Lycium ruthenicum* Murr. [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2014,26:1797-1802.
 - 16 Fuleki T, Francis F J. Quantitative methods for anthocyanins. 4. determination of individual anthocyanins in cranberry and cranberry products[J]. J Food Sci,1968,33(5):8.
 - 17 Zhang XS, Qi MN, An SM, et al. Optimization extraction of total anthocyanidins from purple potatoes by pressure solvent method[J]. Sci Tech Food Ind(食品工业科技),2015,36:278-282.
 - 18 Yu YJ, Shan HY, Kong L, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction process for anthocyanins from *Rosa rugosa* by response surface methodology[J]. Sci Tech Food Ind(食品工业科技),2018,39:173-179.
 - 19 Yao SMQ, Shan HY, Yu YJ, et al. Effect of food additives on color stability of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr [J]. China Condiment(中国调味品),2017,42:133-137.
 - 20 Li XX. Application of spectrophotometer in color analysis of blending wine [J]. Liquor-Making Sci Tech(酿酒科技),2014,3:65-67.