

微波辅助提取陕产瞿麦挥发油工艺优化及其抗氧化活性

张爽¹, 问娟娟¹, 杨创勃², 高洁¹, 赖普辉¹

(1. 陕西国际商贸学院医药学院, 陕西西安 712046;

2. 陕西中医药大学附属医院, 陕西咸阳 712000)

摘要:以陕产瞿麦挥发油得率作评价指标,在单因素实验基础上,应用响应曲面法,优选出了微波辅助提取陕产瞿麦中挥发油的最佳工艺,并对其抗氧化性进行研究。结果表明,微波辅助提取挥发油的最佳工艺为:微波功率 500 W,液料比 20:1 mL/g,提取温度 46 ℃,在此条件下得到的挥发油得率达 3.19% ± 0.46%,与模型预测值 3.27% 基本相符,说明该模型合理可靠。体外抗氧化试验表明:微波法提取的挥发油和同等条件下超声法(功率 120 W)提取的挥发油对 DPPH· 和 O₂⁻· 清除能力呈较好的量效关系。微波法和超声法提取的挥发油在实验浓度范围内对 DPPH· 自由基清除的 IC₅₀ 值分别为 0.82、0.73 mg/mL,对超氧阴离子自由基清除的 IC₅₀ 值分别为 0.68、0.81 mg/mL,说明陕产瞿麦中挥发油具有一定的抗氧化活性,不同的提取方法得到的挥发油对不同自由基的清除能力略有不同。

关键词:陕产瞿麦,挥发油,微波提取,提取工艺,抗氧化活性

Optimization of Microwave-assisted Extraction Process of Volatile Oil from Shaanxi-fringed Pink and Its Antioxidant Activity

ZHANG Shuang¹, WEN Juan-juan¹, YANG Chuang-bo², GAO Jie¹, LAI Pu-hui¹

(1. College of Medicine of Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xi'an 712046, China;

2. Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China)

Abstract: Based on single factor experiments, the yield of volatile oil as an evaluation index, the best technology of microwave-assisted extraction of volatile oil from Shaanxi-fringed pink was determined with response surface method, and the antioxidant activity of the extracted volatile oil was studied. Results showed that, the optimal conditions of microwave-assisted extraction were: Microwave power was 500 W, liquid-solid ratio was 20:1 mL/g, extraction temperature was 46 ℃. Under these conditions, the yield of volatile oil was 3.19% ± 0.46%, which was in line with the model predicted value 3.27%. The model was reasonable and reliable. The antioxidant tests *in vitro* showed that the volatile oil extracted by microwave method and the volatile oil extracted by ultrasonic method (power 120 W) under the same conditions had a good dose-effect relationship for DPPH· and O₂⁻· scavenging capacity. Within the experimental concentration range, the IC₅₀ values of DPPH· free radical scavenging of volatile oil extracted by microwave and ultrasonic methods were 0.82 and 0.73 mg/mL respectively, and the IC₅₀ values of superoxide anion free radical scavenging were 0.68 and 0.81 mg/mL respectively. The results indicated that the volatile oil from Shaanxi-fringed pink had certain antioxidant activity, and the scavenging abilities of the volatile oil obtained by different extraction methods were slightly different for different free radicals.

Key words: Shaanxi-fringed pink; volatile oil; microwave extraction; extraction process; antioxidant activity

中图分类号: TS221

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2019)23-0130-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.23.022

引文格式: 张爽, 问娟娟, 杨创勃, 等. 微波辅助提取陕产瞿麦挥发油工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(23): 130-136.

瞿麦别名高山瞿麦,为石竹科石竹属植物瞿麦(*Dianthus superbus* L.)或石竹(*Dianthus chinensis* L.)

的干燥地上部分。瞿麦性味苦,寒;具有利尿通淋,破血通经之功效^[1],其主要成分有皂苷类、环肽类、黄

收稿日期: 2019-01-18

作者简介: 张爽(1979-),女,硕士,讲师,研究方向: 中药有效成分的提取及活性研究, E-mail: 13335410971@163.com。

基金项目: 陕西省教育厅 2017 年专项科学研究计划(17JK0944); 2018 年陕西省大学生创新创业训练计划项目(201849012); 中药绿色制造技术协同创新中心; 生物医药创新制药技术研究院院士专家工作站; 陕西国际商贸学院中药药效物质创新团队(SSY18TD01); 陕西省中药产业技术创新服务共享平台(2018PT-07)。

酮类、有机酸类、挥发油类、色素及多糖等,现代药理研究表明:瞿麦具有抗肿瘤、利尿、兴奋子宫、抗菌、免疫调节及抗氧化等作用^[2-3]。瞿麦是一种观赏植物,同时它又是一种常用的传统中药,主要用在一些复方制剂中。目前瞿麦被进一步开发成茶饮品—石竹茶(药材名瞿麦),广泛流行于北京、上海、青岛等城市。

挥发油是一类次生代谢物质,是多种中草药中的重要组成部分,它具有抗炎、抗过敏、抗微生物、抗氧化、抗病毒及抗肿瘤等多种生理活性^[4]。目前,对于挥发性物质提取的方法有许多,除传统的压榨法、有机溶剂浸提法、水蒸气蒸馏法外,还有一些新兴方法如:超临界萃取法^[5]、微波辐射法^[6]、超声辅助提取法^[7]、酶辅助法^[8]、离子液体辅助萃取法^[9]等。因提取方法不同,所得化学组分不同,对中药的药理药效也会产生影响。目前关于瞿麦中的挥发油的成分已有报道,余建清等^[10]采用水蒸气蒸馏法提取瞿麦中挥发油,对其成分进行了 GC-MS 联用技术进分析,证实瞿麦中含有三十多种挥发油成分,其主要组分为 6,10,14-三甲基-2-十五酮、植物醇、醋酸槐牛儿酯、正己醇和醋酸金合欢酯等。

微波能是一种由离子迁移和偶极子转动而引起分子运动的非离子化辐射能,它是一种能直接作用到细胞内部的加热方式,微波辅助萃取可以使溶质快速的进入溶剂,使溶出的效率更快,有效成分的得率更高^[4]。目前,文献中关于瞿麦中挥发油的提取方法及抗氧化活性方面的研究未见报道,本实验采用响应曲面法对微波辅助提取陕产瞿麦中的挥发油进行了工艺优化,同时对微波辅助提取得到的瞿麦中的挥发油和相同条件下以超声(功率 120 W)辅助提取得到的挥发油的抗氧化活性进行了研究,以期为瞿麦在医药、食品、工业等方面的开发和应用提供实验参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

瞿麦 陕西省眉县药材总公司,经鉴定为石竹科植物瞿麦(*Dianthus superbus* L.)的带花全草;正己烷、焦性没食子酸、无水硫酸钠、磷酸氢二钠、氯化钠、浓盐酸、磷酸二氢钠 均为国产分析纯;三羟甲基氨基甲烷(Tris) 北京华业寰宇化工有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 上海如吉生物公司;2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT) 上海佳伦生物科技有限公司。

筛子(40 目) 浙江上虞市道墟张兴纱筛厂;SHZ-DIII 真空泵 河南省予华仪器有限公司;TGL-15B 离心机 上海安亭科学仪器厂;电热鼓风干燥箱 上海琅玕实验设备有限公司;微波萃取仪 XH100B 北京详锐发展有限公司;FA2004 精密电子天平(万分之一) 上海越平科学仪器有限公司;UV2400 紫外可见分光光度计 天津精密科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 陕产瞿麦挥发油的提取 称取 5.0000 g 已处

理好的瞿麦粉末(过 40 目筛),将有机溶剂按一定比例和药材一起加入微波萃取仪中,根据实验的要求在一定液料比、功率、时间条件下,回流提取后冷却至室温。抽滤,将滤液用无水碳酸钠进行干燥,旋转蒸发仪适量回收溶剂(温度在溶剂沸点以下),水浴蒸干,即得陕产瞿麦挥发油。

1.2.2 不同溶剂对陕产瞿麦挥发油得率的影响 准确称取已处理好的瞿麦粉末(过 40 目筛)5.0000 g,分别采用不同提取溶剂(乙醚、正己烷、石油醚)对瞿麦进行挥发油微波辅助提取,微波温度为 25 ℃,时间为 6 min,功率为 300 W,液料比为 20:1 mL/g,根据瞿麦挥发油的得率确定最佳溶剂。

1.2.3 微波辅助提取陕产瞿麦中挥发油的单因素实验 以正己烷为提取溶剂,选定液料比、提取温度、提取功率、提取时间四个因素,以瞿麦中挥发油的得率为考察指标,进行单因素实验。

1.2.3.1 液料比对陕产瞿麦挥发油得率的影响 精密称取 5.0000 g 瞿麦粉末于三角瓶中,将微波功率调至 300 W,在 30 ℃的条件下,微波辅助提取 6 min,考察不同液料比(10:1、15:1、20:1、25:1、30:1 mL/g)对瞿麦样品中挥发油得率的影响。

1.2.3.2 提取温度对陕产瞿麦挥发油得率的影响 精密称取 5.0000 g 瞿麦粉末于三角瓶中,设定提取液料比 20:1 mL/g,在微波功率为 300 W 的条件下提取 6 min,考察不同提取温度(30、35、40、45、50 ℃)对瞿麦样品中挥发油得率的影响。

1.2.3.3 提取时间对陕产瞿麦挥发油得率的影响 精密称取 5.0000 g 瞿麦粉末于三角瓶中,设定提取液料比 20:1 mL/g,在微波功率为 300 W、提取温度为 45 ℃的条件下,考察不同提取时间(3、4、6、8、10、12 min)对瞿麦样品中挥发油得率的影响。

1.2.3.4 微波功率对陕产瞿麦挥发油得率的影响 精密称取 5.0000 g 瞿麦粉末于三角瓶中,设定液料比为 20:1 mL/g,温度 45 ℃,提取时间为 6 min,考察微波功率分别为(300、400、500、600、700 W)时对瞿麦样品中挥发油得率的影响。

1.2.4 响应面试验 在单因素实验结果的基础上,根据响应面 Box-Behnken 设计原理,以液料比、功率、温度为自变量,瞿麦挥发油得率为响应值,采用 3 因子 3 水平的响应面分析法,利用 Design Expert 10.0.7 统计分析软件建立回归模型,确定提取瞿麦中挥发油的最佳工艺参数。试验因素设计如表 1。

表 1 响应面试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平	因素		
	A 液料比 (mL/g)	B 微波功率 (W)	C 温度 (℃)
-1	15:1	400	40
0	20:1	500	45
1	25:1	600	50

1.2.5 陕产瞿麦挥发油得率的测定 按照 1.2.1 的提取方法,精密称定提取得到的挥发油质量,计算挥发油得率,其计算公式为:

陕产瞿麦挥发油得率(%) = $B/A \times 100$

式中:A:瞿麦粉末的质量;B:挥发油的质量。

1.2.6 瞿麦中挥发油体外抗氧化活性实验 在优选出最优工艺基础上,对微波辅助提取得到的瞿麦中的挥发油,和同等条件下超声(功率 120 W)辅助提取得到的瞿麦中挥发油的抗氧化活性与 BHT 的抗氧化活性进行对比实验。

1.2.6.1 DPPH·清除率的测定 采用比色法测定瞿麦中挥发油的清除 DPPH·的能力^[11-12]。分别将微波辅助提取和超声辅助提取的挥发油用少量的正己烷溶解,配成不同浓度梯度的瞿麦挥发油溶液,取不同浓度的瞿麦挥发油溶液 2.0 mL,置于 10 mL 具塞比色管中,加入 3.0 mL 预先配制好的 0.04 mg/mL DPPH·溶液,常温避光反应 30 min,在波长(517 nm)处测定瞿麦挥发油的吸光值 $A_{\text{实验}}$;将 3.0 mL 正己烷加到 2.0 mL 不同浓度的瞿麦挥发油样品中做样品对照,测其吸光值 $A_{\text{对照}}$;将 2.0 mL 正己烷加到 3.0 mL 的 DPPH·溶液中作空白对照,测其吸光度 $A_{\text{空白}}$,BHT 做阳性对照,每个样品进行三次平行实验,取平均值,计算清除率。

清除率(%) = $[A_{\text{空白}} - (A_{\text{实验}} - A_{\text{对照}})] / A_{\text{空白}} \times 100$

1.2.6.2 超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)清除能力 超氧阴离子清除能力实验采用的是邻苯三酚自氧化法^[13]。将 2.4 mL 0.05 mol/L 的 Tris-HCl 缓冲液(pH 为 8.2)、1 mL 0.2 mmol/L EDTA 溶液、2.4 mL 蒸馏水及 0.1 mL 配制不同浓度梯度的瞿麦挥发油的溶液放置于 10 mL 的比色管中,混合均匀,常温置于 10 min 后加入浓度 7 mmol/L 焦性没食子酸 0.3 mL,混匀,第 4 min 时加入 1 滴浓度为 10 mol/L 的浓盐酸用于终止反应,随后在事先设置的波长(325 nm)处测定混合溶液的吸光度 $A_{\text{实验}}$,以蒸馏水代替样品作为空白溶液,用上述同样的方法测其吸光度 $A_{\text{空白}}$ 。BHT 做阳性对照,每个样品进行三次平行实验,取平均值,计算清除率。

清除率(%) = $(A_{\text{空白}} - A_{\text{实验}}) / A_{\text{空白}} \times 100$

1.3 数据处理

每个实验结果均做三次平行实验,采用 SPSS Statistics 17.0 计算平均值、标准偏差及抗氧化实验的 IC_{50} 值,响应曲面的数据采用 Design Expert 10.0.7 分析处理。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂对陕产瞿麦挥发油得率的影响

由图 1 可以看出,乙醚作为溶剂提取瞿麦中的挥发油时得率最高,正己烷次之,挥发油得率最低的是石油醚。但是考虑到乙醚的沸点较低(沸点为 34.6 °C),易挥发,溶剂不容易回收,因此用沸点较高的正己烷(沸点 69 °C)作为提取溶剂。

2.2 单因素实验结果

2.2.1 液料比对陕产瞿麦挥发油得率的影响 由图 2 可知,挥发油的得率在液料比为 20:1 mL/g 之前,随着液料比的增加而逐渐上升,这可能是因为挥发油的浸出受溶剂用量的影响,导致药材内外部之间提取成分溶液产生浓度差,有利于挥发油发生传质过程,

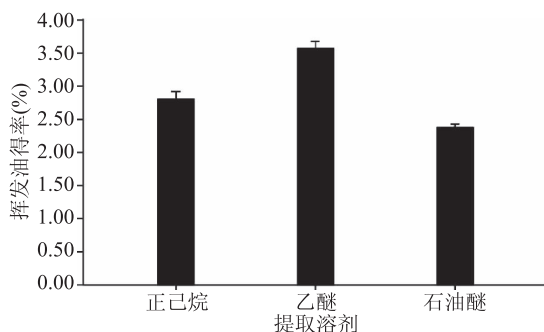


图 1 溶剂对挥发油得率的影响

Fig.1 Effect of solvents on yield of volatile oil

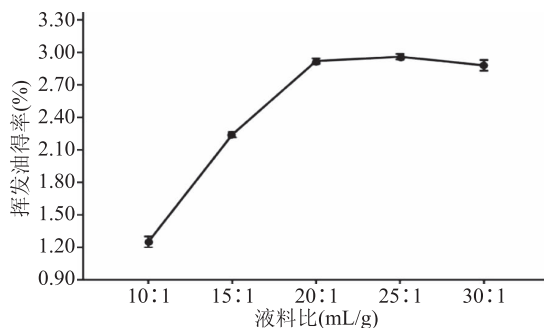


图 2 液料比对挥发油得率的影响

Fig.2 Effect of liquid-to-material ratios on yield of volatile oil

快速溶出。在液料比较低时,短时间内挥发油的溶出达到平衡,不利于挥发油的进一步溶出,但液料比太大时受溶解度的约束作用变小,且溶剂用量过多导致后续蒸发困难^[14]。因此,确定液料比为 20:1 mL/g。

2.2.2 提取温度对陕产瞿麦挥发油得率的影响 由图 3 可知,当温度升高时,提取的瞿麦中挥发油的得率逐渐上升,当提取温度达到 45 °C 时挥发油得率达到最高值,之后呈现下降的趋势,这可能是由于随着提取温度升高,细胞内部压力超过了细胞壁膨胀的能力,致使细胞破裂,导致挥发油自由流出,被周围溶剂溶解,使挥发油的提取得率逐渐升高,但随着温度继续上升,导致部分有效成分挥发或降解,得率反而下降。所以提取温度选择 45 °C 较为合适。

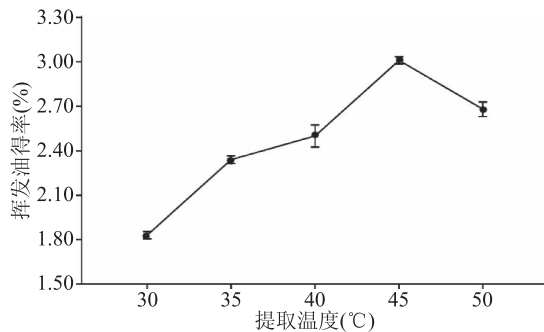


图 3 温度对挥发油得率的影响

Fig.3 Effect of temperatures on the yield of volatile oil

2.2.3 提取时间对陕产瞿麦挥发油得率的影响 由图 4 可知,随着提取时间的增加挥发油得率呈先增加后减小的变化趋势,但从图中挥发油得率的变化数值来看,挥发油的得率随时间的增加变化不大,当

提取时间为6 min 时挥发油得率最高。这可能是因为微波辐射作用加速了被萃取物有效成分向萃取溶剂界面扩散,因而在一定时间内挥发油的得率会呈现升高的趋势,但在其它条件不变的情况下,随着时间的延长,瞿麦中的挥发油可能逐渐被提取完全,因此挥发油的得率变化不大,将提取过程中提取时间确定为6 min,在后续响应曲面法优选最佳提取工艺时不再考察提取时间。

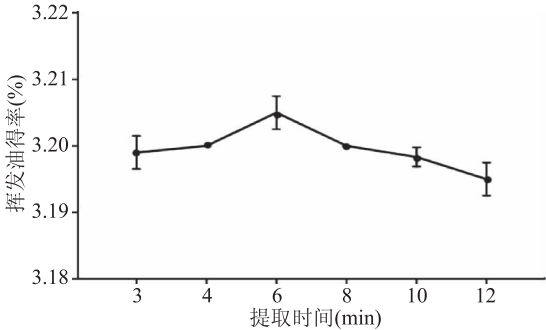


图4 微波时间对挥发油得率的影响

Fig.4 Effect of microwave time on the yield of volatile oil

2.2.4 微波功率对陕产瞿麦挥发油得率的影响 由图5可知,当微波功率增加时,瞿麦中挥发油的得率逐渐上升,当微波功率达到500 W 时挥发油的得率达到最高,之后随微波功率的增加挥发油的得率逐渐下降,其原因可能是,这可能是因为当微波辐射功率越大时,越有利于被萃取物有效成分向萃取溶剂界面扩散,因此,当功率增大时会使挥发油的得率增大,但微波功率增大的同时,溶剂的温度也随之升高,在高温下一部分挥发油被挥发,从而使其提取率下降^[6]。因此微波功率选择500 W。

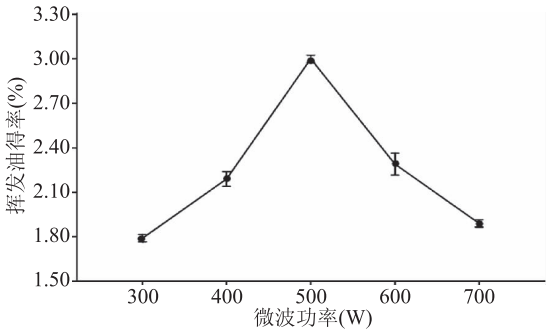


图5 微波功率对挥发油得率的影响

Fig.5 Effect of microwave power on the yield of volatile oil

2.3 响应曲面试验结果

2.3.1 响应曲面优化试验 在单因素实验基础上,以液料比(A)、微波功率(B)、提取温度(C)三个因素为自变量,瞿麦挥发油得率为响应值,利用 Design Expert 10.0.7 分析软件,采用三因素三水平的响应曲面法优化瞿麦中挥发油的提取工艺,实验设计及结果见表2。

2.3.2 响应面回归模型建立与分析 用 Design Expert 10.0.7 统计分析软件对数据进行回归分析,分析结果见表3。经拟合得到的三元二次回归方程为:

挥发油得率 = - 56.20375 + 0.86095A + 0.062400B + 1.56095C - 6.05000E - 004AB + 2.60000E

表2 响应面优化试验结果

试验号	A	B	C	挥发油得率 (%)
1	25:1	400	45	2.72
2	15:1	600	45	2.52
3	25:1	600	45	1.72
4	20:1	500	45	3.32
5	20:1	500	45	3.23
6	20:1	600	50	2.29
7	20:1	500	45	3.32
8	15:1	500	50	2.55
9	20:1	600	40	2.09
10	20:1	500	45	3.15
11	15:1	500	40	2.33
12	15:1	400	45	2.31
13	25:1	500	40	2.08
14	20:1	400	40	2.29
15	20:1	500	45	3.20
16	25:1	500	50	2.56
17	20:1	400	50	2.60

-003AC- 5.50000E-005BC-0.017280A²-4.94500E-005B²-0.017280C²

根据表3中方差分析结果表明,该模型的F值为73.28, P < 0.0001,失拟项F值为1.01、P = 0.4742 > 0.05,失拟项不显著,说明该回归方程的拟合程度良好,可用于实际的预测。同时,模型的校正系数 R²_{Adj} = 0.9760,决定系数 R² = 0.9895,说明实验的测量值与模型的预测值之间有较高的相关性,因此,该模型模拟的实验方法可以很好表示出自变量和响应值之间的关系^[15],可用来优选陕产瞿麦中挥发油的提取工艺。该模型中微波功率(B)、提取温度(C)、液料比和微波功率的交互项(AB)、液料比的二次项(A²)、微波功率的二次项(B²)、提取温度的二次项(C²)的P值均小于0.01,说明这些因素对响应值的影响极显著,液料比(A)的P值均小于0.05,说明该因素的影响为显著。三因素对陕产瞿麦中的挥发油的提取影响的顺序是:微波功率(B) > 提取温度(C) > 液料比(A)。

2.3.3 响应面交互作用分析 根据 Design Expert 10.0.7 统计分析软件可得到响应曲面3D图与等高图曲线见图6~图8。图6~图8直观地反映出各因素之间交互作用对陕产瞿麦中挥发油提取率的影响。响应曲面3D图中曲线的弯曲度反应了因素对响应值的影响,弯曲度越大影响越显著。等高图的形状反应了两因素交互作用对响应值的影响,等高图为圆形表示不显著,椭圆形时表示显著^[16]。图6表示在最佳提取温度条件下,液料比和微波功率两因素的交互作用对陕产瞿麦中挥发油得率的影响。图中液料比的曲线较为平缓,表明液料比对提取率的影响较弱,微波功率较液料比对提取率的影响较强,等高线图呈椭圆形说明微波功率与液料比交互作用对挥

表3 方差分析表

Table 3 Variance analysis table

方差来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i>	<i>P</i>	显著性
模型	3.74	9	0.42	73.28	<0.0001	**
A	0.050	1	0.050	8.76	0.0211	*
B	0.21	1	0.21	37.30	0.0005	**
C	0.18	1	0.18	32.31	0.0007	**
AB	0.37	1	0.37	64.63	<0.0001	**
AC	0.017	1	0.017	2.98	0.1277	
BC	3.025E-003	1	3.025E-003	0.53	0.4886	
A ²	0.79	1	0.79	138.74	<0.0001	**
B ²	1.03	1	1.03	181.79	<0.0001	**
C ²	0.79	1	0.79	138.74	<0.0001	**
残差	0.040	7	5.664E-003			
失拟项	0.017	3	5.708E-003	1.01	0.4742	
纯误差	0.023	4	5.630E-003			
总和	3.77	16				

注: * 表示差异显著, $P < 0.05$, ** 表示差异极显著 $P < 0.01$ 。

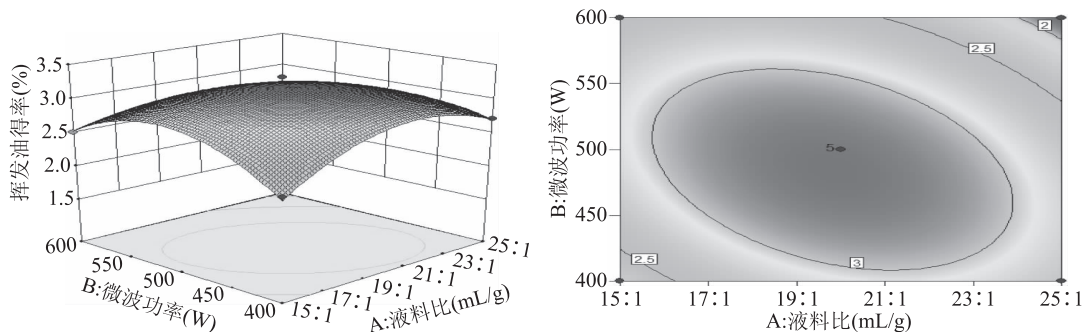


图6 液料比和微波功率交互作用对挥发油得率的影响

Fig.6 Effect of interaction of liquid-to-material ratio and microwave power on volatile oil yield

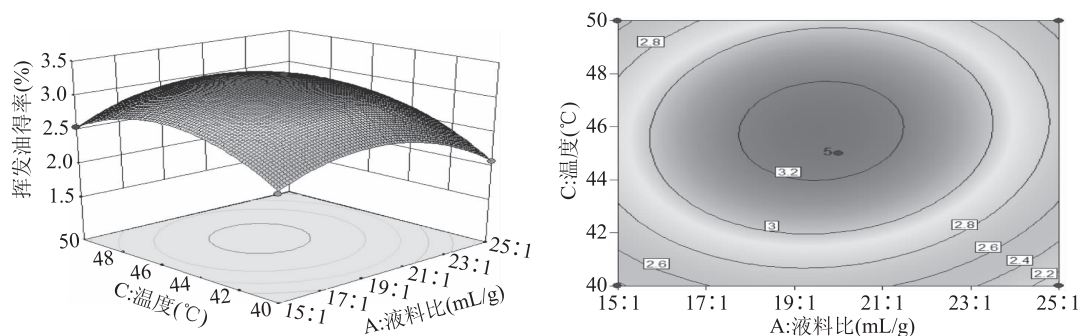


图7 液料比和提取温度交互作用对挥发油得率的影响

Fig.7 Effect of interaction of liquid-to-material ratio and microwave power on volatile oil yield

发油得率的影响较为极为显著,与方差分析结果一致。当液料比在 20:1 mL/g、微波功率为 500 W 附近时,挥发油的得率较大。图 7 表示在最佳微波功率条件下,液料比和提取温度两因素的交互作用对陕产瞿麦中挥发油得率的影响。图中液料比的曲线较提取温度平缓,表明提取温度对挥发油得率的影响较液料比更显著。当液料比在 20:1 mL/g、提取温度为 45 °C 附近时,挥发油的得率较大。图 8 表示在最佳液料比的条件下,微波功率和提取温度两因素的交互作用对陕产瞿麦中挥发油得率的影响。图中提取温度的曲线较提取微波功率平缓,表明微波功率

对挥发油得率的影响较提取温度更显著,随着微波功率的升高挥发油的得率呈现先上升后下降的趋势。当微波功率在 500 W、提取温度为 45 °C 附近时,挥发油的得率较大,与方差分析结果一致。

2.3.4 验证试验 求导回归方程,得到响应曲面法优化陕产瞿麦中挥发油提取工艺的条件为:微波功率 483.713 W,液料比 19.8954:1 mL/g,提取温度 45.8905 °C,理论预测挥发油得率为 3.27%。考虑到实际实验情况,工艺条件修正为:微波功率 500 W,液料比 20:1 mL/g,提取温度 46 °C,在此实验条件下进行三次平行实验,测定挥发油得率,三次结果的平均

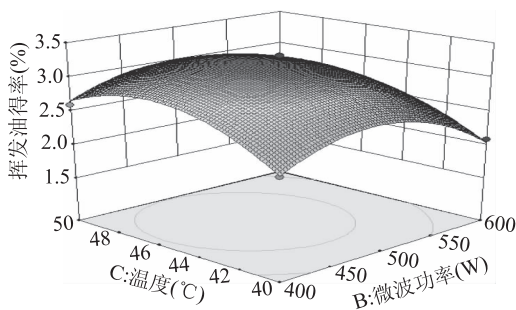


图8 微波功率和提取温度交互作用对挥发油得率的影响

Fig.8 Effect of Interaction between microwave power and extraction temperature on volatile oil yield

值为 $3.19\% \pm 0.46\%$ 。与模型预测值总体吻合,说明此模型能较好地预测陕产瞿麦中挥发油的得率,用响应曲面法优化出的工艺是合理可靠的。

2.4 瞿麦挥发油抗氧化活性的研究

2.4.1 清除 DPPH· 的测定结果 DPPH· 是具有单电子的稳定自由基,当将具有氧化性的物质加到体系中时,该物质就会和 DPPH· 的单电子配对,使其吸光度值减小,计算清除率,进而判断抗氧化活性的大小^[11]。此方法被国内外广泛用于天然抗氧化剂的筛选,图9的变化趋势显示了通过微波辅助提取得到的瞿麦中挥发油和超声辅助提取得到的瞿麦中挥发油清除 DPPH· 的能力强弱,并以 BHT 作为对照。陕产瞿麦中的挥发油对 DPPH· 的清除能力在实验范围内与浓度呈较好的量效关系。浓度在 $0.4 \sim 0.9 \text{ mg/mL}$ 之间,超声辅助提取和微波辅助提取得到的挥发油对 DPPH· 的清除率迅速上升,清除率分别达到了 60.08% 和 51.12% 。但浓度在 0.9 mg/mL 之后,超声辅助提取得到的挥发油对 DPPH· 的清除率变化缓慢,而微波辅助提取得到挥发油对 DPPH· 的清除率继续上升,直到浓度到达 1.0 mg/mL ,清除率达到 61.02% 时,数据变化才趋于平缓,但最终两种不同提取方法得到挥发油对 DPPH· 的清除率相当。清除 DPPH· 能力的大小通常用半清除率 (IC_{50}) 表示, IC_{50} 是当清除率达到 50% 时所需要的抗氧化剂浓度^[13],超声辅助提取得到的挥发油的 IC_{50} 值为 0.73 mg/mL ,微波辅助提取得到的挥发油的 IC_{50} 值为 0.82 mg/mL 。说明超声辅助提取得到的挥发油比微波辅助提取得到的挥发油对 DPPH· 的清除能力强。另外,两种不同提取方式获得的挥发油对 DPPH· 的清除率均低于 BHT 对 DPPH· 的清除率。说明陕产瞿麦中的挥发油对 DPPH· 有一定的清除能力,但没有 BHT 的清除能力强。

2.4.2 清除超氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 的测定结果 超氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 几乎在所有的生物体内都会产生,它是一种有毒的活性氧。当超氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 受控产生时对机体有利,但如果它异常产生时,就会导致机体衰老、炎症、癌症等某些自由基疾病^[17-18]。图10显示了通过微波辅助提取得到的瞿麦中挥发油和超声辅助提取得到的瞿麦中挥发油清除超氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 的能力强弱,并以 BHT 作为对照。陕产瞿麦中的挥发油对超

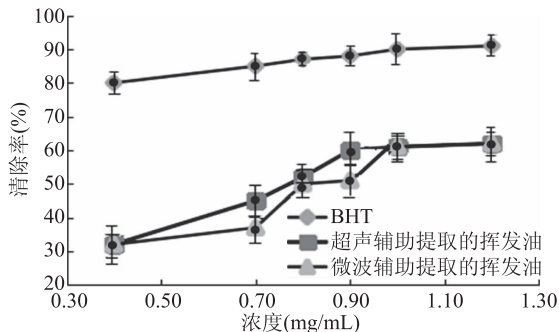
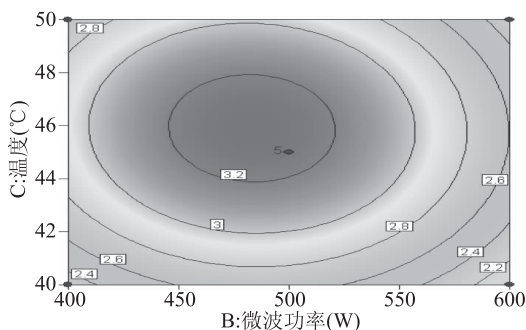


图9 不同提取方法挥发油对 DPPH· 的清除能力的影响

Fig.9 Effect of volatile oil extracted by different methods on DPPH· scavenging ability

氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 的清除能力在实验范围内与浓度呈较好的量效关系。两种不同的提取方法与 BHT 对超氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 的清除率基本相当。图中显示当浓度为 $0.7 \sim 1.0 \text{ mg/mL}$ 时, BHT 对超氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 的清除率比超声辅助提取得到的挥发油的清除率高。当浓度在 $0.4 \sim 0.8 \text{ mg/mL}$ 范围微波辅助提取得到的挥发油对超氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 的清除率迅速上升至 60.08% , 随后上升缓慢, BHT 对超氧阴离子自由基 ($O_2^- \cdot$) 的清除率在浓度为 $0.7 \sim 1.0 \text{ mg/mL}$ 范围迅速上升至 68.93% , 之后上升缓慢。从半抑制浓度 IC_{50} 值来看,微波辅助提取得到的挥发油的 IC_{50} 值为 0.68 mg/mL , 超声辅助提取得到的挥发油的 IC_{50} 值为 0.81 mg/mL , BHT 的 IC_{50} 值为 0.73 mg/mL , 说明陕产瞿麦中挥发油对超氧阴离

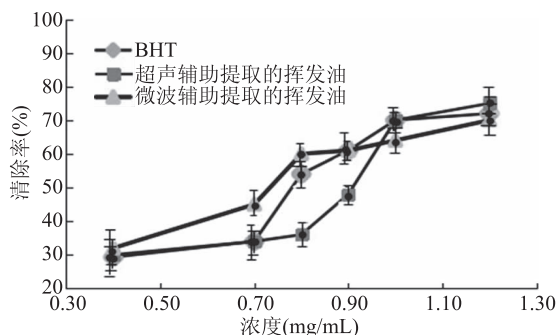


图10 不同提取方法挥发油对超氧阴离子自由基的清除能力

Fig.10 Effect of volatile oils extracted by different methods on superoxide anion radicals scavenging ability

子自由基($O_2^{\cdot-}$)有较好的清除作用,其清除能力为微波辅助提取得到的挥发油 > BHT > 超声辅助提取得到的挥发油。

3 结论

通过响应曲面法对微波辅助提取陕产瞿麦中的挥发油进行了条件的优选,建立了合理可靠的回归模型,其模型优选出的微波提取陕产瞿麦中挥发油的最优工艺:微波功率 500 W,液料比 20:1 mL/g,提取温度 46 $^{\circ}\text{C}$,在此实验条件下得到的挥发油得率可达 $3.19\% \pm 0.46\%$,与模型预测的基本相符。

陕产瞿麦中的挥发油对 DPPH $\cdot$ 具有一定的清除能力,从半抑制浓度 IC_{50} 值来看,超声辅助提取得到的挥发油的 IC_{50} 值为 0.73 mg/mL,微波辅助提取得到的挥发油的 IC_{50} 值为 0.82 mg/mL。说明超声辅助提取得到的挥发油对 DPPH $\cdot$ 自由基的清除能力略大于微波辅助提取得到的挥发油。

陕产瞿麦中的挥发油对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)具有一定的清除能力,从半抑制浓度 IC_{50} 值来看,微波辅助提取得到的挥发油的 IC_{50} 值为 0.68 mg/mL,超声辅助提取得到的挥发油的 IC_{50} 值为 0.81 mg/mL,说明陕产瞿麦中挥发油对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)有清除的作用,其清除能力为微波辅助提取得到的挥发油大于超声辅助提取得到的挥发油。

对于以上抗氧化实验的结果,究其原因可能与两种不同的提取方法的机制有关。超声辅助提取法是利用超声波穿透强的优势,利用击碎、扩散、机械振动等简单物理方法,达到提取分离目的的物理破碎过程。微波辅助提取法是利用微波能的离子迁移和偶极子转动而引起分子运动,同时,微波能能直接作用到细胞内部,极性不同的分子吸收微波能力的不同,可使基体物质的某些组分被选择性加热,使被萃取物质从基体或体系中分离,从而导致两种方式提取得到的挥发油的结构或极性略有不同,对不同自由基的清除能力不同。因此,在评价中草药的抗氧化活性时,应采用多种提取方法及多种抗氧化活性评价方法进行综合评判。

参考文献

- [1] 徐国钧,何红贤,徐璐珊,等.中国药材学[M].北京:中国医药科技出版社,1996.
- [2] 张鸾澜.瞿麦化学成分研究及其单体皂苷体内代谢动力学探究[D].杭州:浙江大学,2014.

- [3] 傅旭阳,田均勉.瞿麦的化学成分研究[J].中草药,2015,46(5):645-648.
- [4] 宋晓凯,吴立军.天然药物化学[M].北京:化学工业出版社,2004:1-6.
- [5] 姜红宇,刘郁峰,谢国飞,等.陆英挥发油超临界 CO_2 萃取工艺优化及其成分分析[J].食品与机械,2017,33(10):154-157.
- [6] 李小红,吴地尧,李安,等.缙草挥发油的微波辅助提取工艺及其抗氧化活性[J].江苏农业科学,2018,46(8):206-209.
- [7] 佚名.藟头挥发油提取工艺优化及其 GC-MS 分析[J].食品研究与开发,2018,39(22):37-41.
- [8] 何凤平,雷朝云,范建新,等.植物精油提取方法、组成成分及功能特性研究进展[J].食品工业科技,2019,39(3):307-312,320.
- [9] 唐一梅,张博,房海娜,等.离子液体辅助提取石菖蒲挥发油的工艺研究[J].西北大学学报:自然科学版,2018,48(3):393-398.
- [10] 余建清,廖志雄,蔡小强,等.瞿麦挥发油化学成分的气相色谱-质谱分析[J].中国医院药学杂志,2008,28(2):157-158.
- [11] 白雨鑫,郭斌,韩冠英,等.萝藦果壳多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2015,36(20):278-283.
- [12] 陈飞,何先元,周卯勤,等.超声辅助提取四齿四棱草中总黄酮及其抗氧化活性[J].天然产物研究与开发,2016(1):96-101.
- [13] 熊茜,王春幸,孙朦,等.响应面法优化苋红素提取工艺及其抗氧化性[J].食品工业科技,2017(12):227-232,238.
- [14] 杨申明,王振吉,陈文,等.藤三七多糖超声波辅助提取工艺及抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2017,38(11):41-47.
- [15] 王燕,张志琪,徐红颖,等.贯叶连翘花中挥发油的提取工艺优选及抑菌活性研究[J].食品工业科技,2017(2):236-239,244.
- [16] 石恩慧,李红,贾昌喜,等.板栗总苞多酚提取工艺优化及其抗氧化性研究[C].中国畜牧兽医学动物营养学会第十一次全国动物营养学术研讨会论文集,2012:406-414.
- [17] 郭莹.山楂提取物抗氧化活性的研究[D].天津:天津科技大学,2009.
- [18] 靳洁,王一峰.超声波辅助提取中国槐木茎皮多糖的工艺优化及抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2016,37(9):218-223.

中国科技核心期刊,
轻工行业优秀期刊