

吴茱萸、甘草浸提液对亚硝化反应清除及阻断作用的对比研究

张成¹⁾ 董侯燕¹⁾ 李爽¹⁾ 曲悠扬¹⁾
唐梓意²⁾ 蔡曙杰¹⁾ 杨虹¹⁾ 颜亨梅¹⁾

(1)北京师范大学珠海分校工程技术学院生物工程系, 519087, 广东, 珠海;

2)珠海市出入境检验检疫局, 519087, 广东, 珠海)

摘要 为考查吴茱萸(*Tetradium ruticarpum*)和甘草(*Glycyrrhizae*)的浸提液对亚硝酸钠清除作用和对N-亚硝基化合物合成的阻断作用,及其两者作用效果比较。采用L₉(3³)正交试验法浸提活性成分,并测定对亚硝酸钠的清除率以及对N-亚硝基化合物合成的阻断率,确定最佳浸提工艺条件。以亚硝酸钠清除率为考察指标,吴茱萸最佳浸提工艺下对亚硝酸钠最大清除率为0.8365;而甘草最佳浸提工艺条件下最大清除率为0.5580。以对N-亚硝基化合物合成的阻断率为考察指标,吴茱萸最佳浸提工艺条件下对N-亚硝基化合物生成最大阻断率为0.9228;而甘草最佳浸提工艺条件下最大阻断率为0.6256。结果显示无论以对亚硝酸钠清除率为考察指标,还是以对N-亚硝基化合物合成的阻断率为考察指标,吴茱萸对亚硝化反应的抑制作用均强于甘草。

关键词 吴茱萸;甘草;浸提液;阻断;清除;亚硝酸钠;N-亚硝基化合物

0 引言

癌症是当前威胁人类生活的最大杀手,被称为“不治之症”。亚硝胺能引起人体和动物的肝脏等多种器官的恶性肿瘤,是最令人关注的一类化学致癌物。它不仅存在于食品、烟草和饮用水中,也可由前体仲胺和亚硝酸盐合成,尤其是在人和动物胃中更适合合成亚硝胺。亚硝胺在一系列酶的作用下,生产可使核酸烷化的亲电子的烷基自由基,从而引起细胞遗传突变显示致癌性,阻断或减少亚硝胺的生成是预防肿瘤发生的一个重要措施^[1]。

黄酮类化合物是一类小分子天然植物成分,广泛存在于蔬菜、水果和药用植物中,具有抗氧化、防癌抗癌以及抗糖尿病并发症等多种生理活性和药理作用^[2]。而中国有得天独厚的中草药资源,研究各种中草药在防癌抗癌方面的功能和药效,从而开发安全、高效的防癌抗癌天然药品和保健品是一项极有现实意义的工作。中草药防癌抗癌活性表现的一个方面是清除亚硝酸盐和阻断亚硝胺的合成即对亚硝化反应的抑制作用上,目前

有关这方面的研究报道较少^[3]。

甘草(*Glycyrrhizae*)在中草药中具有“众药之王”的美誉,其主要成分有甘草三萜皂甙类、甘草黄酮类、甘草多糖类化合物。随着现代医学对甘草的研究,发现甘草酸(又名甘草甜素)不仅有抗炎、抗HIV、提高人体免疫力等功效,还可以抗艾滋病毒,对SARS亦有抑制作用^[4]。

吴茱萸(*Tetradium ruticarpum*)又名淡茱萸、吴萸,是芸香科植物吴茱萸接近成熟的果实,有小毒,多炮制后入药。国外对吴茱萸的药理研究表明其具有扩张血管、增加血流量、降血压、改善微循环、溶栓、抗溃疡等广泛作用。与此同时,国内对吴茱萸成分研究表明其提取物中含有大量的皂苷类、黄酮类和酚酸类成分^[5-6]。

鉴于吴茱萸、甘草这两味中药中皆含有能防癌抗癌的黄酮类化合物,本试验进一步通过体外模拟人体胃液的条件,探讨天然吴茱萸、甘草浸提液抑制亚硝化反应活性物质的最佳浸提工艺条件,研究和对比吴茱萸、甘草浸提液清除亚硝酸盐以及阻断N-亚硝基化合物的合成的效果,为吴茱萸、甘草的合理利用提供一定的科学依据,同时为

研究开发亚硝化反应抑制剂提供参考。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂 吴茱萸、甘草: 珠海市北京师范大学珠海分校药店购买的中药吴茱萸、甘草, 放置实验室密封储藏备用。

无水乙醇; 柠檬酸钠-盐酸缓冲液(自制); 亚硝酸钠; 二甲胺溶液; 碳酸钠; α -萘胺; 对氨基苯磺酸; N-1-萘乙二胺盐酸盐; 聚酰胺粉 100~200 目等试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器 UV752 型紫外可见分光光度计(Phenix 凤凰); ZF-I 三用型紫外分析仪(上海顾村光电仪器厂); EPED-T/D 型实验室级超纯水器(南京易普易达科技发展有限公司); FA1004B 型电子天平(上海越平科学仪器有限公司); HWS24 型电热恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司); PB-10 型 pH 精密酸度计(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 浸提方法 将购买的吴茱萸、甘草取出称量, 随后按照一定的料液比, 以一定浓度的乙醇水溶液在特定温度下浸提特定时间, 冷却至室温后经聚酰胺粉过滤, 得浸提液, 保存于棕色瓶备用。

1.3.2 最佳浸提条件 为了系统考察吴茱萸、甘草浸提液分别对亚硝酸钠的清除作用以及对 N-亚硝基化合物合成的阻断作用的最佳浸提工艺条件, 选用了 $L_9(3^3)$ 正交表进行试验。分别以对亚硝酸钠清除率和 N-亚硝基化合物合成的阻断率作为考察指标, 共得到 36 个浸提液样品, 从而确定各自作为考察指标时的最佳浸提工艺条件。

1.3.3 亚硝酸盐清除率的测定 基本原理: 亚硝酸盐在弱酸性的条件下, 能与氨基苯磺酸重氮化后, 再与 N-1-萘乙二胺盐酸盐偶合生成红色化合物^[7-8]。

分别取吴茱萸、甘草浸提液 5.0 mL 于 25 mL 比色管中, 加入 12.5 mL pH=3.0 的柠檬酸钠盐酸缓冲液, 再加入 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ NaNO_2 溶液 2.5 mL, 用蒸馏水定容至刻度, 37 °C 恒温 1 h, 然后各吸取 1.0 mL 反应液于小试管中, 加入 $w=0.4\%$ 对氨基苯磺酸溶液 2.0 mL, $w=0.2\%$ N-1-萘乙二胺盐酸盐溶液 2.0 mL, 摇匀放置 15 min 后, 用紫外-可见分光光度计在波长为 540 nm 处测吸光度值, 分别用相应浓度相同用量的

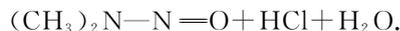
浸提剂作空白对照, 最后计算清除率 Y_c 。

$$Y_c = (A_0 - A_x) / A_0$$

式中 A_0 为加入相应浸提剂空白实验的吸光度值; A_x 为加入不同浓度浸提液时的吸光度值。

按上述方法, 另分别取最佳浸提工艺条件下获得的吴茱萸、甘草浸提液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 mL 进行亚硝酸盐清除率的浓度梯度测定, 计算每一浓度下的清除率。

1.3.4 N-亚硝基化合物合成阻断率的测定 在模拟人体胃液的环境下, 二甲胺与亚硝酸钠在 pH3.0, 37 °C 条件下, 可适宜地生成二甲基亚硝胺(NDMA)^[7,9], 反应式如下:



当分别往吴茱萸、甘草浸提液中依次加入二甲胺与亚硝酸钠时, 浸提液中的活性物质先于二甲胺同亚硝酸钠作用, 达到阻止 NDMA 生成的目的。据此可以比较相同条件下生成 NDMA 的多少来反映浸提液阻断能力的强弱, 生成 NDMA 量少, 浸提液的阻断能力就强, 反之则弱。

在紫外光照射下, NDMA 可分解成二甲基仲胺和亚硝酸根, 反应式如下:



亚硝酸根与对氨基苯磺酸重氮化后, 再与 α -萘胺偶合生成红色化合物。用分光光度计测出该化合物的吸光度值可计算上述反应液中 NDMA 含量的多少。

取浸提液 5.0 mL 于 25 mL 比色管中, 加入 pH3.0 的柠檬酸钠盐缓冲溶液 12.5 mL, $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaNO_2 溶液 1.25 mL, $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 二甲胺溶液 1.25 mL, 再用蒸馏水定容至刻度, 在 37 °C 下恒温 1 h。用移液管吸取 1.0 mL 上述含 NDMA 的反应液加到小试管中, 加入 $w=0.5\%$ Na_2CO_3 溶液 0.5 mL, 于遮光布遮盖的紫外分析仪上照 15 min, 紫外灯距液面 15 cm, 取出后加入 $w=0.1\%$ 对氨基苯磺酸溶液 1.5 mL, 再加 $w=0.1\%$ 的 α -萘胺 1.5 mL 和 0.5 mL 蒸馏水, 然后摇匀放置 15 min 后, 用分光光度计在 525 nm 处测 A。同时分别用相应浸提剂作空白试验, 并计算阻断率 Y_s :

$$Y_s = (A_0 - A_x) / A_0$$

式中 A_0 为加入相应浸提剂空白实验的吸光度值; A_x 为加入不同浓度浸提液时的吸光度值。

按上述方法,另分别取最佳条件的浸提液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 mL 进行阻断 NDMA 的浓度梯度的测定,计算每一浓度下的 Y_s 。

2 结果与分析

2.1 提取条件的单因素实验

2.1.1 提取时间对亚硝酸根 Y_c 的影响 分别准确称取吴茱萸、甘草 2.00 g 于 250 mL 锥形瓶中,按料液比 1:50 加入 $\varphi=50\%$ 乙醇作浸提剂,60 °C 水浴加热下冷凝回流 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h,然后冷却至室温后经聚酰胺粉过滤,得浸提液,每次取浸提液 5.0 mL,用 2.4.2 方法测定其 Y_c ,结果见表 1。

表 1 吴茱萸、甘草提取时间对亚硝酸根清除率 Y_c 的影响

序号	t/h	A_0	A_x		Y_c	
			吴茱萸	甘草	吴茱萸	甘草
1	0.5	0.832	0.207	0.402	0.751 2	0.516 8
2	1.0	0.827	0.154	0.362	0.813 8	0.562 3
3	1.5	0.829	0.146	0.334	0.823 9	0.597 1
4	2.0	0.830	0.105	0.409	0.873 5	0.507 2
5	2.5	0.829	0.092	0.415	0.889 0	0.499 4

由表 1 数据可知,随着提取时间的增加,吴茱萸浸提液对亚硝酸根 Y_c 逐渐增加,当提取时间达到 2.5 h 时, Y_c 达到最大。因此,初步确定吴茱萸提取时间为 2.5 h。随着提取时间的增加,甘草浸提液对亚硝酸根的 Y_c 逐渐增加,当提取时间达到 1.5 h 时, Y_c 达到最大,继续增加提取时间 Y_c 反而减小,因此,初步确定甘草提取时间为 1.5 h。

2.1.2 浸提剂体积分数 φ 对亚硝酸根 Y_c 的影响

分别准确称取吴茱萸、甘草 2.00 g 于 250 mL 锥形瓶中,按料液比 1:50 加入不同体积分数的乙醇作浸提剂,60 °C 水浴加热,冷凝回流 1.5 h,然后冷却至室温后经聚酰胺粉过滤,得浸提液,每次取浸提液 5.0 mL,用 2.4.2 方法测定其 Y_c ,结果见表 2。

由表 2 数据可知,随着 φ (乙醇)的增加,吴茱萸、甘草浸提液对亚硝酸根的 Y_c 逐渐减小,故本试验选择 $\varphi=50\%$ 的乙醇。

表 2 吴茱萸、甘草浸提剂体积分数 φ 对亚硝酸根 Y_c 的影响

序号	φ (乙醇) %	A_0	A_x		Y_c	
			吴茱萸	甘草	吴茱萸	甘草
1	50	0.829	0.146	0.402	0.823 9	0.515 1
2	60	0.837	0.298	0.556	0.644 0	0.335 7
3	70	0.843	0.527	0.597	0.374 9	0.291 8
4	80	0.849	0.653	0.597	0.230 8	0.296 8
5	90	0.850	0.688	0.595	0.190 5	0.300 0

2.1.3 提取温度对亚硝酸根 Y_c 的影响 分别准确称取吴茱萸、甘草 2.00 g 于 250 mL 锥形瓶中,按料液比 1:50 加入 $\varphi=50\%$ 乙醇,分别以 40、50、60、70、80 °C 水浴加热,冷凝回流 1.5 h,然后冷却至室温后经聚酰胺粉过滤,得浸提液,每次取浸提液 5.0 mL,用 2.4.2 方法测定其 Y_c ,结果如表 3 所示。

表 3 吴茱萸、甘草提取温度对亚硝酸根 Y_c 的影响

序号	$T/^\circ\text{C}$	A_0	A_x		Y_c	
			吴茱萸	甘草	吴茱萸	甘草
1	40	0.832	0.533	0.539	0.359 4	0.353 3
2	50	0.827	0.200	0.362	0.758 2	0.562 3
3	60	0.829	0.146	0.402	0.823 9	0.515 1
4	70	0.830	0.140	0.607	0.831 3	0.268 7
5	80	0.829	0.115	0.672	0.861 3	0.189 3

由表 3 数据可知,随着提取温度 T 的增加,吴茱萸浸提液对亚硝酸根的 Y_c 逐渐增加,当提取温度达到 80 °C 时, Y_c 达到最大。因此,初步确定吴茱萸提取温度为 80 °C;随着提取温度 T 的增加,甘草浸提液对亚硝酸根的 Y_c 先升后降,当提取温度达到 50 °C 时, Y_c 达到最大,继续增加提取温度 Y_c 反而减小。因此,初步确定甘草提取温度为 50 °C。

2.2 $L_9(3^3)$ 正交试验 为了对吴茱萸、甘草抑制亚硝化反应最佳浸提工艺条件进行系统考察,选取了 $L_9(3^3)$ 正交表进行试验,选取的因素及水平如表 4、5 所示。分别以对亚硝酸钠的 Y_c 以及对 NDMA 合成的 Y_s 作为考察指标,通过正交实验(如表 6~9 所示)所得的结果,通过极差分析从而确定理论上获得的最佳浸提工艺条件,随后通过实验进一步验证由理论计算所确定的最佳浸提工艺条件是否与实验结果相一致,从而最终确认吴茱萸、甘草活性物质最佳浸提条件。

表4 吴茱萸正交试验因素-水平

水平	因素		
	A: φ (乙醇)/%	B:提取温度 $T/^\circ\text{C}$	C:提取时间 t/h
1	50	40	0.5
2	60	60	1.5
3	70	80	2.5

表5 甘草正交试验因素-水平

水平	因素		
	A: φ (乙醇)/%	B:提取温度 $T/^\circ\text{C}$	C:提取时间 t/h
1	50	40	0.5
2	60	50	1.5
3	70	60	2.5

2.3 最佳浸提工艺条件 由表6可知,对亚硝酸钠的 Y_c 为考察指标时,吴茱萸活性物质浸提最佳因素组合为 $A_1B_3C_3$,即用 $\varphi=50\%$ 的乙醇水溶液,在 80°C 水浴回流条件下浸提 2.5 h 所得的吴茱萸浸提液对清除亚硝酸钠的效果最佳。通过极差 R 的数值可反映出各因素对结果影响大小的顺序为 B、A、C, B 因素影响最大, C 因素影响最小。

表6 吴茱萸正交试验设计及结果
(以亚硝酸钠 Y_c 作为考察指标)

序号	A	B	C	A_0	A_x	Y_c
1	1	1	1	0.829	0.319	0.615 2
2	1	2	2	0.829	0.175	0.788 9
3	1	3	3	0.829	0.140	0.831 1
4	2	1	2	0.837	0.497	0.406 2
5	2	2	1	0.837	0.395	0.528 1
6	2	3	3	0.837	0.142	0.830 3
7	3	1	3	0.843	0.439	0.479 2
8	3	2	1	0.843	0.294	0.651 2
9	3	3	2	0.843	0.195	0.768 7
K_1	2.235 2	1.500 6	1.794 5			
K_2	1.764 6	1.968 2	1.963 8			
K_3	1.899 4	2.430 1	2.140 6			
极差 R	0.470 6	0.929 5	0.346 1			

由表7可知,对亚硝酸钠的 Y_c 为考察指标时,甘草活性物质浸提最佳因素组合为 $A_3B_2C_2$,即用 $\varphi 70\%$ 的乙醇水溶液,在 50°C 水浴回流条件下浸提 1.5 h 所得的甘草浸提液对清除亚硝酸钠的效果最佳。通过极差 R 的数值可反映出各因素对结果影响大小的顺序为 A、B、C, A 因素影响

最大, C 因素影响最小。

表7 甘草正交试验设计及结果
(以亚硝酸钠 Y_c 作为考察指标)

序号	A	B	C	A_0	A_x	Y_c
1	1	1	1	0.829	0.502	0.394 5
2	1	2	2	0.829	0.433	0.477 7
3	1	3	3	0.829	0.570	0.312 4
4	2	1	2	0.837	0.510	0.390 7
5	2	2	1	0.837	0.447	0.465 9
6	2	3	3	0.837	0.587	0.298 7
7	3	1	3	0.843	0.375	0.555 2
8	3	2	1	0.843	0.456	0.459 1
9	3	3	2	0.843	0.413	0.510 1
K_1	1.1846	1.3404	1.319 5			
K_2	1.155 3	1.402 7	1.378 5			
K_3	1.524 4	1.121 2	1.166 3			
极差 R	0.369 1	0.281 5	0.212 2			

从表8可知以 NDMA 合成的阻断率 Y_s 为考察指标时,吴茱萸活性物质浸提最佳因素组合为 $A_2B_3C_3$,即用 $\varphi=60\%$ 的乙醇水溶液以 1:50 的料液比,在 80°C 回流条件下浸提 2.5 h 所得的吴茱萸浸提液对清除亚硝酸钠的效果最佳。通过极差 R 的数值可反映出各因素对结果影响大小的顺序为 B、A、C, B 因素影响最大, C 因素影响最小。

表8 吴茱萸正交试验设计及结果
(以 NDMA 合成的 Y_s 作为考察指标)

序号	A	B	C	A_0	A_x	Y_s
1	1	1	1	0.203	0.084	0.586 2
2	1	2	2	0.203	0.047	0.768 5
3	1	3	3	0.203	0.022	0.891 6
4	2	1	2	0.195	0.059	0.697 4
5	2	2	1	0.195	0.061	0.687 2
6	2	3	3	0.195	0.016	0.917 9
7	3	1	3	0.187	0.096	0.486 6
8	3	2	1	0.187	0.018	0.903 7
9	3	3	2	0.187	0.053	0.716 5
K_1	2.246 3	1.770 2	2.177 1			
K_2	2.302 5	2.359 4	2.182 4			
K_3	2.106 8	2.526 0	2.296 1			
极差 R	0.195 7	0.755 8	0.119 0			

从表9可知以 NDMA 合成的 Y_s 为考察指标时,甘草活性物质浸提最佳因素组合为 $A_2B_3C_3$,

即用 $\varphi = 60\%$ 的乙醇水溶液以 1:50 的料液比在 60 °C 回流条件下浸提 2.5 h 所得的甘草浸提液对清除亚硝酸钠的效果最佳。通过极差 R 的数值可反映出各因素对结果影响大小的顺序为 C、A、B、C 因素影响最大, B 因素影响最小。

表 9 甘草正交试验设计及结果
(以 NDMA 合成的 Y_s 作为考察指标)

序号	A	B	C	A_0	A_x	Y_s
1	1	1	1	0.203	0.152	0.251 2
2	1	2	2	0.203	0.163	0.197 0
3	1	3	3	0.203	0.161	0.206 9
4	2	1	2	0.195	0.173	0.112 8
5	2	2	1	0.195	0.149	0.235 9
6	2	3	3	0.195	0.074	0.620 5
7	3	1	3	0.187	0.148	0.208 6
8	3	2	1	0.187	0.167	0.107 0
9	3	3	2	0.187	0.175	0.064 2
K_1	0.655 1	0.572 6	0.594 1			
K_2	0.969 2	0.539 9	0.374 0			
K_3	0.379 8	0.891 6	1.036 0			
极差 R	0.589 4	0.351 7	0.662 0			

根据最优方案的确定方法^[10], 以不同考察指标理论计算所获得最佳提取条件进行浸提, 与已完成的实验组结果进行对比。

当以亚硝酸钠 Y_c 为考察指标时, 由表 6 通过极差分析确定吴茱萸的最佳浸提条件为 $A_1B_3C_3$, 通过具体实验如表 10 所示, 该浸提条件下获得的浸提液对亚硝酸钠 Y_c 为 0.840 7, 高于表 6 中已进行过的 9 组实验结果, 此时通过实验确定, 由极差分析推断的组合 $A_1B_3C_3$ 为亚硝酸钠清除效果最佳的吴茱萸浸提工艺条件组合。

表 10 吴茱萸对亚硝酸钠 Y_c 为考察指标最佳浸提条件验证结果

浸提条件: $A_1B_3C_3$			
	A_0	A_x	Y_c
平行组 1	0.832	0.137	0.836 5
平行组 2	0.832	0.135	

由表 7 通过极差分析确定甘草的最佳浸提条件为 $A_3B_2C_2$, 通过具体实验如表 11 所示, 该浸提条件下获得的浸提液对亚硝酸钠 Y_c 为 0.558 0, 高于表 7 中已进行过的 9 组实验结果, 此时通过实验确定, 由极差分析推断的组合 $A_3B_2C_2$ 为亚

硝酸钠清除效果最佳的甘草浸提工艺条件组合。

表 11 甘草对亚硝酸钠 Y_c 为考察指标最佳浸提条件验证结果

浸提条件: $A_3B_2C_2$			
	A_0	A_x	Y_c
平行组 1	0.845	0.375	0.558 0
平行组 2	0.845	0.372	

当以 NDMA 合成的 Y_s 为考察指标时, 由表 8 通过极差分析确定吴茱萸的最佳浸提条件为 $A_2B_3C_3$, 通过具体实验如表 12 所示, 该浸提条件下获得的浸提液对亚硝酸钠 Y_c 为 0.922 8, 高于表 8 中已进行过的 9 组实验结果, 此时通过实验确定, 由极差分析推断的组合 $A_2B_3C_3$ 为 NDMA 合成的阻断效果最佳的吴茱萸浸提工艺条件组合。

表 12 吴茱萸对 NDMA 合成的阻断率 Y_s 为考察指标最佳浸提条件验证结果

浸提条件: $A_2B_3C_3$			
	A_0	A_x	Y_s
平行组 1	0.195	0.015	0.922 8
平行组 2	0.195	0.013	

由表 9 通过极差分析确定甘草的最佳浸提条件为 $A_2B_3C_3$, 通过具体实验如表 13 所示, 该浸提条件下获得的浸提液对亚硝酸钠 Y_c 为 0.625 6, 高于表 9 中已进行过的 9 组实验结果, 此时通过实验确定, 由极差分析推断的组合 $A_2B_3C_3$ 为 NDMA 合成的阻断效果最佳的甘草浸提工艺条件组合。

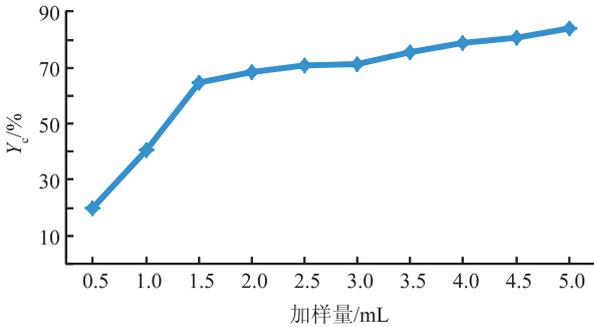
表 13 甘草对 NDMA 合成的阻断率 Y_s 为考察指标最佳浸提条件验证结果

浸提条件: $A_2B_3C_3$			
	A_0	A_x	Y_s
平行组 1	0.195	0.076	0.625 6
平行组 2	0.195	0.070	

2.4 不同用量的吴茱萸、甘草浸提液清除亚硝酸钠、阻断 NDMA 生成的测定结果

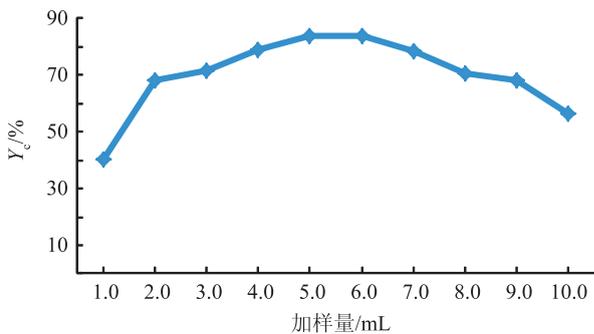
2.4.1 以对亚硝酸钠 Y_c 作为考察指标获得的最佳浸提条件作为实验对象 Y_c 作为考察指标而确定的吴茱萸最佳浸提条件 ($A_1B_3C_3$) 下获得的浸提液, 不同用量的该吴茱萸浸提液清除亚硝酸钠的测定结果如图 1 所示。由图可见, 当加样量范围在 0.5~5.0 mL 内时, 随着吴茱萸浸提液用

量的增多,对亚硝酸钠的 Y_c 呈上升趋势,并未显示峰值,因此,本组实验将加样量范围扩大到 10.0 mL 进行对比,测定结果如图 2 所示。由图 2 可见,随着吴茱萸浸提液用量的增多,对亚硝酸钠的 Y_c 先上升后下降,并在加样量为 5.0 mL 时达到峰值。该过程最大 Y_c 为 0.840 1。



($A_1B_3C_3$ 条件下浸提所得浸提液)

图 1 不同用量吴茱萸浸提液(0.5~5.0 mL)对亚硝酸钠的 Y_c 。

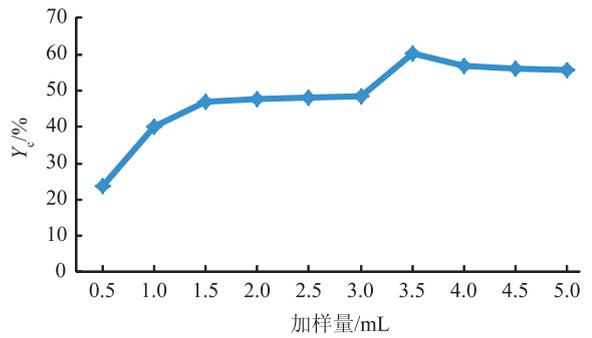


($A_1B_3C_3$ 条件下浸提所得浸提液)

图 2 不同用量吴茱萸浸提液(1.0~10.0 mL)对亚硝酸钠的 Y_c 。

对以亚硝酸钠 Y_c 作为考察指标而确定的甘草最佳浸提条件($A_3B_2C_2$)下获得的浸提液,不同用量的该甘草浸提液清除亚硝酸钠的测定结果如图 3 所示。由图可见,随着甘草浸提液用量的增加, Y_c 呈现上升趋势。当甘草浸提液用量在 0.5~1.0 mL、3.0~3.5 mL 时,对亚硝酸钠的 Y_c 分别由 0.235 6、0.482 7 迅速提升到 0.400 9、0.602 8,而浸提液用量在 1.0~3.0 mL、4.0~5.0 mL 时 Y_c 处于稳定状态。该过程最大 Y_c 为 0.602 8。

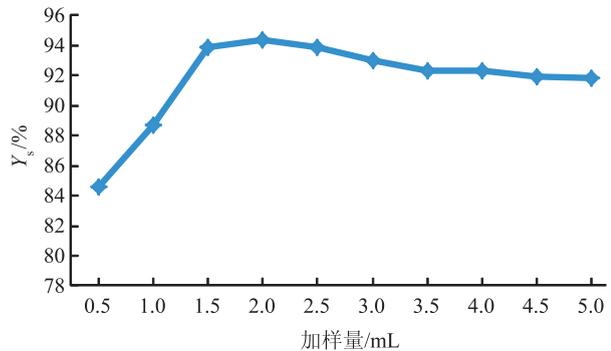
2.4.2 以对 NDMA 生成的阻断实验作为考察指标获得的最佳浸提条件作为实验对象。由图 4 可见,随着吴茱萸浸提液($A_2B_3C_3$ 条件下浸提所得)用量的增多,对 NDMA 合成的 Y_s 先快速上升后缓慢下降。当浸提液用量在 0.5~1.5 mL



($A_3B_2C_2$ 条件下浸提所得浸提液)

图 3 不同用量甘草浸提液对亚硝酸钠的 Y_c 。

时 Y_s 由 0.846 1 迅速升至 0.938 5;随后当浸提液用量由 1.5 增加到 2.0 mL 时, Y_s 由 0.938 5 缓缓升至峰值 0.943 6;后随着浸提液用量的增加, Y_s 呈现缓慢下降的趋势。先由 0.943 6 逐渐降至 0.917 9,此时浸提液用量为 5.0 mL。该过程中最大 Y_s 为 0.943 6。



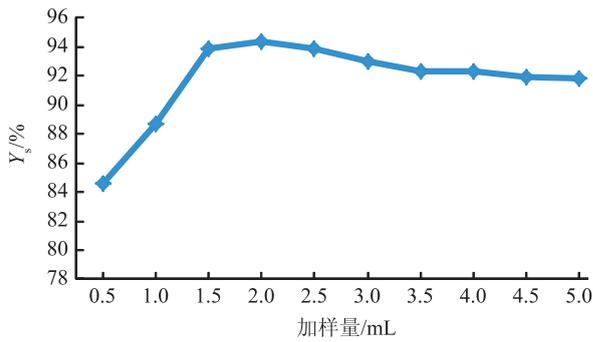
($A_2B_3C_3$ 条件下浸提所得浸提液)

图 4 不同用量吴茱萸浸提液对 NDMA 合成的阻断率 Y_s 。

由图 5 可见,随着甘草浸提液($A_2B_3C_3$ 条件下浸提所得)用量的增多,对 NDMA 合成的 Y_s 呈现持续上升趋势。当浸提液用量在 0.5~1.5 mL 时 Y_s 由 0.089 0 迅速升至 0.452 1;后随着浸提液用量的增加, Y_s 亦由 0.452 1 缓缓升至峰值 0.671 8,此时浸提液用量为 4.0 mL。此后 Y_s 又由 4.0 mL 时的 0.671 8 下降至 5.0 mL 时的 0.630 8。该过程中最大 Y_s 为 0.671 8。

3 结论

通过三因素三水平正交实验,经极差分析及实验验证,最终获得浸提吴茱萸中活性成分的最佳浸提工艺条件为:以对亚硝酸钠清除作用为考察指标时,浸提吴茱萸中的活性成分的最佳条



($A_2B_3C_3$ 条件下浸提所得浸提液)

图5 不同用量甘草浸提液对 NDMA 合成的 Y_s 。

件为料液比 1:50, 采用 $\varphi=50\%$ 的乙醇浸泡, 在 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 回流条件下浸提 2.5 h; 以对 N-亚硝基化合物合成的 Y_s 为考察指标时, 浸提吴茱萸中的活性成分的最佳条件为料液比 1:50, 采用 $\varphi=60\%$ 的乙醇浸泡, 在 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 下浸提 2.5 h。通过三因素三水平正交实验, 经极差分析及实验验证, 最终获得浸提甘草中活性成分的最佳浸提工艺条件为: 以对亚硝酸钠清除作用为考察指标时, 浸提甘草中的活性成分的最佳条件按料液比为 1:50, 采用 $\varphi=70\%$ 的乙醇浸泡, 在 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 回流条件下浸提 1.5 h; 以对 N-亚硝基化合物合成的 Y_s 为考察指标时, 浸提甘草中的活性成分的最佳条件为料液比 1:50, 采用 $\varphi=60\%$ 的乙醇浸泡, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 下浸提 2.5 h。

以亚硝酸钠 Y_c 作为考察指标的最佳提取条件下, 5.0 mL 吴茱萸浸提液对亚硝酸钠的最大 Y_c 为 0.836 5; 以 NDMA 合成的 Y_s 作为考察指标的最佳提取条件下, 5.0 mL 吴茱萸浸提液对 NDMA 合成的最大 Y_s 为 0.922 8。以亚硝酸钠 Y_c 作为考察指标的最佳提取条件下, 5.0 mL 甘草浸提液对亚硝酸钠的最大 Y_c 为 0.558 0; 以 NDMA 合成的 Y_s 作为考察指标的最佳提取条件下, 5.0 mL 甘草浸提液对 NDMA 合成的最大 Y_s 为 0.625 6。

进一步考察了最佳提取工艺条件下, 不同用量该吴茱萸浸提液对亚硝酸钠的清除作用及对 NDMA 合成的阻断作用。以亚硝酸钠的 Y_c 为考察指标时, 在加样量为 5.0 mL 时 Y_c 达到 0.840 1; 以 NDMA 合成的 Y_s 为考察指标时, 在加样量为 2.0 mL 时, Y_s 达到 0.943 6。进一步考察了最佳提取工艺条件下, 不同用量该甘草浸提液对亚硝酸钠的清除作用及对 NDMA 合成的阻断作

用。以亚硝酸钠 Y_c 为考察指标时, 在加样量为 3.5 mL 时达到 0.608 2; 以 NDMA 合成的 Y_s 为考察指标, 在加样量为 4.0 mL 时, 达到 0.671 8。

总之, 在体外模拟胃液, 即 pH 值为 3.0, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下, 吴茱萸、甘草浸提液均能有效地清除亚硝酸盐和阻断 NDMA 的生成。相比之下, 吴茱萸浸提液能更好地清除亚硝酸盐和阻断 NDMA 的生成。

4 讨论

中国有得天独厚的中草药资源, 研究各种中草药在防癌、抗癌方面的功能和药效, 从而开发安全、高效的防癌抗癌天然药品和保健品是一项极有现实意义的工作。实验利用吴茱萸、甘草 2 种中草药进行单独研究之后并进行了对比, 不仅能够对吴茱萸和甘草自身抗亚硝化作用有所了解, 而且能全面地比较二者之间的差别。实验表明吴茱萸、甘草浸提液能够有效地阻断 NDMA 的合成和清除亚硝酸盐, 作为防癌功能开发利用前景可观, 能够作为一种经济、高效具有防癌功效的天然生物资源, 为中草药的增值利用提供一种可行高效的途径。

5 参考文献

- [1] 朱蔽瑞. 榛叶浸提液对亚硝化反应的抑制作用[J]. 黑龙江医药, 2007, 20(2): 112
- [2] 张庆乐, 吴守林, 张丽青, 等. 植物黄酮在抑制亚硝化反应中的应用[J]. 医药报道, 2009, 28(6): 733
- [3] 郭春燕, 高婷, 赵二劳. 5 种中草药对亚硝化反应的抑制作用[J]. 中药材, 2008, 31(10): 1552
- [4] 闫向阳, 刘建平, 夏季红, 等. 甘草黄酮提取条件的优化及抑制亚硝化反应的研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2007, 28(2): 35
- [5] 张颖, 甄攀, 马媛媛, 等. 吴茱萸中总皂苷、总黄酮和总酚酸的含量测定[J]. 河北北方学院学报: 自然科学版, 2008, 24(3): 27
- [6] 周云波, 熊梅, 韩俊, 等. 吴茱萸的研究进展[J]. 文山师范高等专科学校学报, 2008, 21(1): 102
- [7] 郭艳华, 胡思前. 荸荠皮浸提液对亚硝化反应抑制作用研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(3): 64
- [8] 吴春, 张立惠, 孔琪, 等. 杜仲浸提液对亚硝化反应的抑制作用[J]. 化学与粘合, 2005, 27(3): 27
- [9] 林敏, 马志强, 吴冬青, 等. 鹅绒藤浸提液对亚硝化反应抑制作用研究[J]. 中兽医医药杂志, 2011(1): 36

[10] 陈坤杰, 张伟林. 大学生科研训练教程[M]. 合肥:

安徽江淮印务有限责任公司, 2010: 71

STUDY ON SCAVENGING AND DISCONNECTING EFFECT OF NITROSATION REACTION BY EXTRACTS OF *TETRADIUM RUTICARPUM* AND *GLYCYRRHIZAE*

ZHANG Cheng¹⁾ DONG Houyan¹⁾ LI Shuang¹⁾ QU Youyang¹⁾
TANG Ziyi²⁾ CAI Shujie¹⁾ YANG Hong¹⁾ YAN Hengmei¹⁾

(1) Department of Bioengineering, School of Engineering Technology,

Beijing Normal University Zhuhai, 519087, Zhuhai, Guangdong, China;

2) Zhuhai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, 519087, Zhuhai, Guangdong, China)

Abstract In order to investigate and compare the effect of scavenging sodium nitrite and inhibiting N-nitroso compounds formation which influenced by the extracts of *Tetradium ruticarpum* and *Glycyrrhizae*, the $L_9(3^3)$ orthogonal test was chosen to extract the active components. In addition, the capacities of scavenging sodium nitrite and of inhibiting the N-nitroso compounds formation were measured to confirm the optimum condition of extracting. When the scavenging rate was considered as the main index, the maximum capacities of scavenging sodium nitrite by the extracts of *Tetradium ruticarpum* and *Glycyrrhizae* were 0.836 5 and 0.558 0, respectively. Furthermore, when the disconnection rate was considered as the main index, the maximum capacities of inhibiting the N-nitroso compounds formation by the extracts of *Tetradium ruticarpum* and *Glycyrrhizae* were 0.922 8 and 0.625 6, respectively. As a result, the capacity of inhibiting nitrosation reaction by *Tetradium ruticarpum* was shown to be much stronger than *Glycyrrhizae*, no matter the scavenging rate or the disconnection rate as the main index to be considered.

Key words *Tetradium ruticarpum*; *Glycyrrhizae*; extracts; scavenging; disconnecting; sodium nitrite; N-nitroso compounds

黄花酢浆草(*Oxalidis Corniculatae* L.)总黄酮提取工艺及体外抗氧化作用的研究

吴杰 覃铭 颜帅 罗健

(北京师范大学珠海分校工程技术学院, 519085, 广东, 珠海)

摘要 以黄花酢浆草叶片为原料采用微波提取法提取总黄酮,通过单因素试验和 $L_9(3^4)$ 正交试验,探索固液比、乙醇浓度、提取时间、微波功率 4 个因素对总黄酮提取的影响,确定最佳提取条件。结果表明,每 100 g 黄花酢浆草总黄酮提取量为 1 639.361 mg。最佳提取工艺:固液比为 1:80(g:mL)、乙醇质量分数为 90%、提取时间 40 s、微波功率为 136 W,并且提取所得总黄酮对超氧自由基有较好的清除效果。对黄花酢浆草的综合研究发现,此物种具有可观的经济价值。

关键词 黄花酢浆草;总黄酮;微波辅助提取;超氧自由基

黄花酢浆草(*Oxalis corniculata* L.)属被子植物门、双子叶植物纲、原始花被亚纲、酢浆草目、酢浆草科的植物^[1],且在珠海地区分布极广。目前关于酢浆草属的部分物种的化学成分、药物成分以及活性的研究被陆续报道^[2-9]。其中包括胡萝卜苷、草酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸等^[10]化学成分。酢浆草属植物中的有效成分对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、巴氏杆菌、肠炎沙门氏菌等 5 菌种抑菌程度高^[9]。黄酮类化合物能抗多种自由基,对人体健康具有很好的保护作用^[11]。目前还没有关于黄花酢浆草中总黄酮的提取与抗氧化研究的报道。因此,若能将黄花酢浆草的黄酮提取物用于食品添加剂方面,不仅安全可靠,而且可解决此物种外来入侵本地植物的危害。

1 材料与方法

1.1 黄花酢浆草叶处理 采自广东省北京师范大学珠海分校校区。黄花酢浆草叶用自来水先清洗,再用蒸馏水洗 2 或 3 遍,用滤纸吸干,于 90 °C 杀酶,60~65 °C 烘干至脆,粉碎,过筛,备用^[12]。

1.2 仪器 MM823EA6 系列美的微波炉;UV752 紫外可见分光光度计;HWS24 型电热恒温水浴锅;DHG-9030A 型电热恒温鼓风干燥箱;FA1004B 型分析天平;实验室级超纯水器。

1.3 芦丁标准曲线的绘制 芦丁标准液的配制:

准确称取芦丁试剂 0.020 g,用 $\varphi=30\%$ 乙醇溶液溶解并定容,制备 0.1 mg·mL⁻¹ 标准溶液。

标准曲线的绘制:分别取上述芦丁标准溶液 0、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL 于 7 只 50 mL 的容量瓶中,加入 $\omega=5\%$ NaNO₂ 溶液 1.4 mL,摇匀,5 min 后加入 $\omega=10\%$ 的 Al(NO₃)₃ 溶液 1.4 mL,摇匀。6 min 后加入 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液 10 mL,最后用 $\varphi=30\%$ 乙醇定容至刻度,摇匀,10 min 后在波长为 510 nm 处测定其吸光度,参比为空白试剂。以吸光度值为横坐标,质量浓度为纵坐标进行回归,得芦丁标准曲线。用最小二乘法作线性回归,得芦丁浓度与吸光度的回归方程: $y=74.521x-0.5219$,相关系数 $R^2=0.9941$ 。

1.4 黄花酢浆草总黄酮提取的单因素试验和正交试验 先拟定微波功率、提取时间、乙醇浓度和固液比进行单因素试验。在单因素试验的基础上确定正交试验工艺参数范围,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,并进行方差分析确定黄花酢浆草总黄酮提取的最佳工艺。

1.5 邻苯三酚自氧化速率的测定 取 4.5 mL 50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲溶液(pH 8.2)、4.2 mL 蒸馏水在 25 mL 的试管中混匀后在 37 °C 水浴中保温 20 min,取出后立即加人在 37 °C 预热过的 3 mmol·L⁻¹ 邻苯三酚 0.5 mL,迅速摇匀后倒入比色皿。325 nm 下每隔 30 s 测定吸光度,计

算线性范围内每分钟内吸光度的增加值,以 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶液配制空白管作为对照,记录结果。

按照上述步骤在加入邻苯三酚前先分别加入 0.5 mL 的黄花酢浆草总黄酮提取液、 $\varphi=90\%$ 乙醇和 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 维生素 C,蒸馏水相应减少。以蒸馏水对照,测定吸光度,重复 3 次,取其平均值。计算清除率 Y_c 为 $Y_c = (\Delta A_1 / \Delta t - \Delta A_2 / \Delta t) / (\Delta A_1 / \Delta t) \times 100\%$, 式中: $\Delta A_1 / \Delta t$ 为邻苯三酚自氧化时反应速率; $\Delta A_2 / \Delta t$ 为加入样品液后邻苯三酚自氧化时反应速率。

2 结果与分析

2.1 黄花酢浆草总黄酮提取的单因素试验结果分析

2.1.1 芦丁标准曲线的绘制 根据 1.3 方法,得出芦丁标准曲线,见图 1。

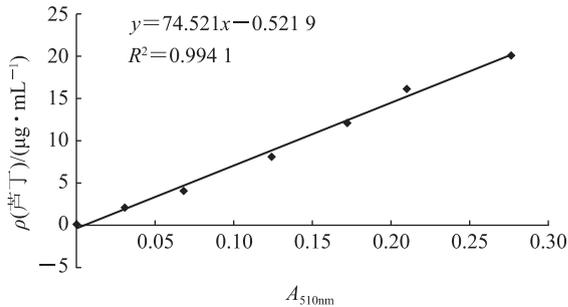
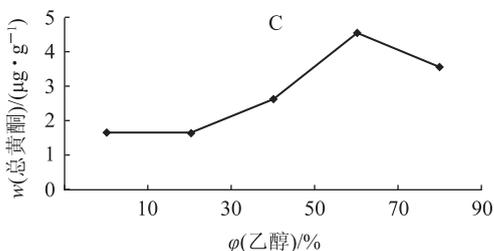
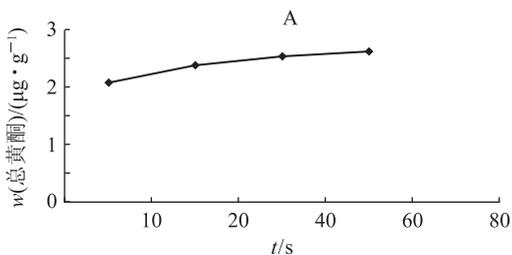


图 1 芦丁标准曲线

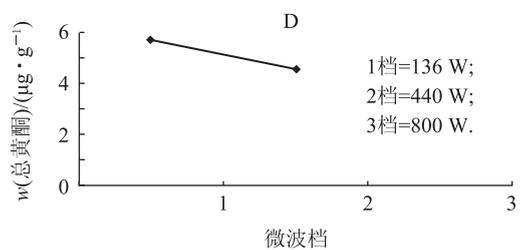
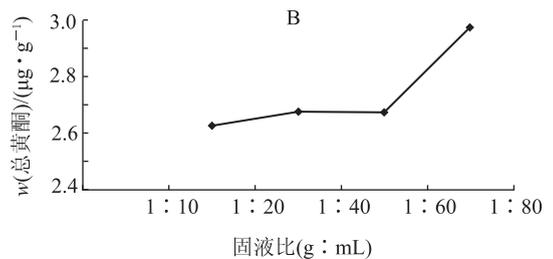
2.1.2 处理时间对总黄酮提取的影响 准确称



取 0.500 g 黄花酢浆草粉末,以 $\varphi=50\%$ 乙醇溶液为溶剂,固液比为 $1:20(\text{g}:\text{mL})$,微波功率为 440 W ,测定不同时间处理下总黄酮提取率。由图 2-A 可知,总黄酮提取效果随微波处理时间的延长而提高,当处理至 60 s 时,总黄酮提取率达到最高;继续延长处理时间,乙醇溶液被挥发,无法得到提取液。这可能是由于微波处理时,溶液分子加快震动,同时由于容器无法完全密封,导致在加热条件下乙醇挥发。因此,提取时间为 60 s 为宜。

2.1.3 固液比对总黄酮提取的影响 准确称取 0.500 g 黄花酢浆草粉末,以 $\varphi=50\%$ 乙醇溶液为溶剂,提取时间为 60 s ,微波功率为 440 W ,测定不同固液比处理下黄花酢浆草中总黄酮提取率。由图 2-B 可知,黄花酢浆草中总黄酮随固液比增大而提高,当固液比达到 $1:80(\text{g}:\text{mL})$ 时,提取所得的总黄酮含量最高,然而当固液比为 $1:10$ 时,提取液被完全蒸发。这可能由于固液比增大,使更多的总黄酮溶入溶剂中。因此,选择最适固液比为 $1:80(\text{g}:\text{mL})$ 。

2.1.4 乙醇体积分数 φ (乙醇)对总黄酮提取的影响 准确称取 0.500 g 黄花酢浆草粉末,以固液比为 $1:20(\text{g}:\text{mL})$,提取时间为 60 s ,微波功率为 440 W ,测定不同 φ (乙醇)处理下黄花酢浆草中总黄酮提取率。由图 2-C 可知,总黄酮的提取含量随 φ (乙醇)的增加而升高,当 φ (乙醇)达到 70% 时,总黄酮的提取量达到最高值,之后随着



A. 提取时间 t ; B. 固液比; C. 乙醇体积分数 φ (乙醇); D. 微波功率。

图 2 单因素对黄花酢浆草总黄酮提取效果的影响

φ (乙醇)的继续增加黄酮提取量反而下降。这可能是由于乙醇沸点随着浓度升高而降低,导致总黄酮化合物的挥发,同时引起另外一些杂质成分的溶出量增加,从而导致总黄酮含量降低。因此, φ (乙醇)为70%为最佳。

2.1.5 选择不同微波功率对总黄酮提取的影响

准确称取 0.500 g 黄花酢浆草粉末,以固液比为 1:20(g:mL),提取时间为 60 s,乙醇浓度为 50%,测定不同功率下,微波处理对黄花酢浆草中总黄酮提取率的影响。由图 2-D 可知,在其他条件不变时,黄花酢浆草总黄酮提取量随微波功率的增加而降低,136 W 时提取量最高,而当功率达到 800 W 后,由于提取液完全挥发,故检测不到总黄酮。因此,提取总黄酮时以 136 W 为最好。

2.2 总黄酮提取工艺的优化 单因素试验表明,固液比、 φ (乙醇)、提取时间和微波功率因素对黄花酢浆草中总黄酮的提取量均有影响,因此在单

因素试验的基础上,选用正交试验 $L_9(3^4)$ 进一步研究各种因素之间的影响,因素水平设计见表 1。

表 1 因素水平设计

水平	因素			
	A 固液比(g:mL)	B φ (乙醇)/%	C 提取时间/s	D 微波功率/W
1	1:40	50	20	136
2	1:60	70	40	440
3	1:80	90	60	800

由表 2 知,最佳提取工艺条件为 $A_3B_3C_2D_1$,即固液比为 1:80(g:mL)、 φ (乙醇)为 90%、提取时间为 40 s、微波功率为 136 W。通过极差分析可知,对总黄酮提取量的影响因素依次为 φ (乙醇)大于固液比大于提取时间大于微波功率,其中 φ (乙醇)和固液比的影响较大。

表 2 正交试验结果

试验号	因素				w (总黄酮)含量 (mg·g ⁻¹)
	A/(g:mL)	B/%	C/s	D/W	
1	1:40	50	20	136	0.594 00
2	1:40	70	40	440	3.077 23
3	1:40	90	60	800	0.544 28
4	1:60	50	40	800	0.892 07
5	1:60	70	60	136	3.117 90
6	1:60	90	20	440	11.877 90
7	1:80	50	60	440	1.685 10
8	1:80	70	20	800	4.760 71
9	1:80	90	40	136	13.705 37
K_1	4 21.551	317.083	1 722.981	1 741.727	
K_2	1 588.507	1 095.584	1 767.467	1 663.709	
K_3	2 012.084	2 612.475	534.694	619.706	
k_1	140.517	105.694	574.327	580.576	
k_2	529.502	365.195	589.156	554.570	
k_3	671.695	870.825	178.231	206.569	
R	531.178	765.131	410.925	374.007	

2.3 最优化工艺条件的验证 在最佳条件下,重复 3 次测定黄花酢浆草总黄酮的提取量,提取量平均为 16.393 61 mg·g⁻¹,与正交试验基本符合。

2.4 黄花酢浆草黄酮类化合物抗自由基试验

由于邻苯三酚在碱性条件下可发生自氧化,此过

程中产生超氧自由基,同时产生的色中间物质(其积累在反应开始后 30~45 s,与时间呈较好的线性关系)在 325 nm 有强烈的光吸收^[13]。利用黄花酢浆草提取所得的黄酮类化合物,清除邻苯三酚产生的超氧自由基。

根据玄红专等人^[7]的研究方法,对黄花酢浆

草进行抗超氧自由基的研究,结果见表 3,4。由表 3 可知,每隔 30 s 所测得的邻苯三酚自氧化速率为 8.61×10^{-4} 。

表 3 邻苯三酚自氧化速率

时间/s	0	30	60	90	120	150	180
吸光度 A	0.389	0.412	0.442	0.467	0.499	0.523	0.544

表 4 不同抑制剂对超氧自由基的清除率 Y_c

抑制剂	$Y_c/\%$					
	30	60	90	120	150	180
黄花酢浆草总黄酮	65.22	56.50	46.25	45.65	44.78	41.93
$\varphi=90\%$ 乙醇	5.41	5.66	5.00	4.76	4.48	4.52
$1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 维生素 C	26.08	9.43	7.50	0	-3.73	-5.16
纯蒸水	0	0	0	0	0	0

由表 4 结果可知,黄花酢浆草的黄酮类化合物有较好的清除自由基效果,是抗氧化食品中理想的食品添加剂。 $\varphi=90\%$ 乙醇对超氧自由基的抑制作用较小,应用于抗氧化食品中的价值较低。而在此试验中,维生素 C 的抗氧化活性相对于黄酮类化合物偏低。可能是由于试验时间、环境、气温等多种原因,导致在进行抗氧化试验进行前,维生素 C 已经有部分损失。

3 小结与讨论

实验结果表明黄花酢浆草总黄酮的最佳提取工艺为固液比为 $1:80(\text{g}:\text{mL})$ 、 φ (乙醇)为 90% 、提取时间为 40 s、微波功率为 136 W,并且提取所得总黄酮对超氧自由基有较好的清除效果。

相比于传统索氏提取法,微波辅助提取总黄酮不仅可降低成本,还大大提高了黄酮的提取效率。一是微波提取可大大节省提取时间;再者微波有促使植物细胞破壁能力,功能成分可 1 次提净。对于在功能食品、中药制药、日用化妆品等行业的运用,微波提取法具有明显的经济效益。

目前国内外普遍的猪肉保鲜方法仍以化学保鲜为主,如苯甲酸盐、硝酸盐和亚硝酸盐等化学物质^[14]。黄花酢浆草提取得到的总黄酮属于天然植物次生代谢产物。此类物质经多人认证,都发现有抗氧化以及抑菌的作用^[15-17]。若天然黄酮类化合物可通过安全的方法提取获得,并且能运用于猪肉综合保鲜的一部分,能减缓一部分潜在的食品安全隐患。

4 参考文献

[1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图[M],北

京:科学出版社,1972:518

- [2] 杨红原,赵桂兰,王军宪. 红花酢浆草化学成分的研究[J]. 西北药学杂志,2006,21(4):156
- [3] 顾永芬,梁应林,邓蓉,等. 美国、加拿大牧草引种试验初报[J]. 贵州农业科学,2003,31(3):35
- [4] 钱玉梅,高贵珍,张兴桃,等. 3 种酢浆草过氧化物酶的研究[J]. 安徽农业科学,2006,34(23):6 102
- [5] 章玉平,彭燕燕. 红花酢浆草提取液对 3 种草花种子萌发的影响[J]. 中国农学通报,2011,27(28):192
- [6] 朱丽霞,章家恩,陈清森,等. 4 种植物提取物的杀螺效果研究[J]. 生态环境学报,2012,19(2):385
- [7] 刘世旺,徐艳霞,石宏武. 酢浆草乙醇提取物对细菌生长曲线的影响[J]. 北方园艺,2007(3):113
- [8] 李广京,林红英,梁肖霞,等. 酢浆草等 11 种中草药的体外抑菌试验[J]. 广西畜牧兽医. 2007,23(5):201
- [9] 丁良,李静,杨慧等. 酢浆草的研究概况[J]. 医学研究与教育,2010,27(3):77
- [10] 杨红原,赵桂兰,王军宪. 红花酢浆草化学成分的研究[J]. 西北药学杂志,2006,21(4):156
- [11] 王丽. 几种黄酮类化合物清除 DPPH 自由基微量模型的建立[D]. 河南大学,2009,4
- [12] 贾长虹,常丽新,杨亚男,等. 玫瑰叶黄酮提取及其对亚硝酸盐的清除作用[J]. 提取与活性,2009,25(5):78
- [13] 玄红专,桑青,麻建军. 邻苯三酚自氧化法测定不同蜂产抗氧化活性的研究[J]. 食品科技,2008(4):137
- [14] 王旭昭. 紫叶酢浆草栽培技术与推广应用[J]. 安徽农业科学,2007(35):11 905
- [15] 周小琦,方敏,宫智勇. 玫瑰花中总黄酮提取工艺及其抗氧化与抑菌作用的研究[J]. 工艺技术,

2010,31(20):102

- [16] 刘松艳,张沐新,吴月红,等. 藜中黄酮类化学成分及抑菌效果的研究[J]. 东北师大学报:自然科学版,2011,43(1):93

- [17] 彭长连,陈少薇,林植芳,等. 用清除有机自由基DPPH法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展,2000,27(6):658

STUDY ON RAPID PROPAGATION SYSTEM AND THE TECHNOLOGY OF EXTRACTING FLAVONOID OF *OXALIDIS CORNICULATAE* L.

WU Jie QIN Ming YAN Shuai LUO Jian

(School of Engineering Technology, Beijing Normal University Zhuhai, 519087, Zhuhai, Guangdong, China)

Abstract The research was the effect of extraction condition on the extraction rate of flavonoids in the *Oxalidis Corniculatae* L so as to determine the optimum extraction process condition. The results showed through the single-factor test and the $L_9(3^4)$ orthogonal test, the effect of 4 factors including solid-liquid ratio, ethanol concentration, extraction duration and microwave power on the extraction of flavonoid were researched by using microwave extraction and the optimum extraction process of flavonoid was confirmed. We found: the extracting yield of flavonoids from *Oxalidis Corniculatae* L reached up to $16.393\ 61\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ under the optimal extraction conditions. The optimum extraction process of flavonoid in *Oxalidis Corniculatae* L by microwave was as follows: solid-liquid ratio of 1:80(g:mL), ethanol concentration of 90%, extraction duration of 40 s and microwave power of 136 W. Meanwhile, flavonoid played an obviously role in scavenging reactive oxygen free radicals. Comprehensively, study of *Oxalidis Corniculatae* L found that this species has considerable economic value.

Key words *Oxalidis Corniculatae* L; flavonoids; microwave; reactive oxygen free radical

征 稿 启 事

为推进珠海分校的科研发展,逐步建立学校稳定的科研成果发布和交流平台,经新闻出版部门批准,《北京师范大学珠海分校学刊》正式出版。

《北京师范大学珠海分校学刊》将反映高教改革实践中的学科专业改造、跨学科专业发展以及教学模式、管理方式、运行机制、国际合作和产学研一体化方面的研究成果;发布培养具有宽厚人文、科学素养和学科专业知识的应用型专门人才的教改实践经验;促进与国内外高校的学术成果交流,为我国高等教育的改革和实践提供建设性参考依据。

本刊主要读者对象为国内外教育研究工作者、高等院校文、理、工科教学科研人员及学生;拟每半年出版一次,出版期分别安排在6月份和12月份。

本刊为非公开出版发行的“内部交流资料”,所刊发的优秀论文,经作者修改并达到公开发行人期刊征稿要求的,仍可向其他公开发行人期刊(包括核心期刊)再次投稿,不受影响。

学校希望,通过创办《北京师范大学珠海分校学刊》,为教职工踊跃投入教学科研活动,积极撰写、发表高水平科研论文营建一个科研成果发布和交流的平台,逐渐培育、提升教学科研队伍的学术竞争力并及早以校办学术刊物的方式与其他高校建立学术交流关系,逐渐扩大我校科研成果的社会影响。

分校学报编辑部长期接受投稿,投稿具体要求请登录“珠海分校网站—发展部—科研与研究生事务”查看。

编辑部网址:<http://kyc.bnuep.com/Articles/ShowClass.asp?ClassID=43>

联系电话:0756-6126537

联系人:钱家琪

投稿邮箱:qjqj525@126.com

分校学报编辑部

2012年12月