

学号 21303020202

陕西国际商贸学院本科毕业论文

丁香中黄酮的工艺优化及抗氧化活性研究

二 级 学 院：医药学院

专 业 名 称：药 学

学 生 姓 名：李 凯

指 导 教 师：翁 强 实验师

二〇二三年四月

郑 重 声 明

本人呈交的学位论文，是在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果，所有数据、图片资料真实可靠。尽我所知，除文中已经注明引用的内容外，本学位论文的研究成果不包含他人享有著作权的内容。对本论文所涉及的研究工作做出贡献的其他个人和集体，均已在文中以明确的方式标明。本学位论文的知识产权归属于培养单位。

本人签名：_____

日期：_____

摘 要

为优化丁香中的黄酮提取工艺以及抗氧化活性的研究，本次实验将选择超声辅助酶法，在单因素实验的基础上通过正交试验的方法来确定丁香黄酮最优提取工艺的参数，最后测定其抗氧化活性。采用了正交设计，得出了结论：丁香中黄酮提取的最佳条件是料液比为 1:25 mg/mL、超声温度为 50℃、超声功率为 300 W、乙醇体积分数为 65%。在以上几个条件下，最终检测出丁香中黄酮的提取率是 12.5%、丁香中黄酮对 DPPH 自由基清除率为 66.3%、对羟基自由基（ $\cdot\text{OH}$ ）清除率为 73.1%，通过对 DPPH 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基和还原力的测定，说明丁香中的黄酮具有一定的体外抗氧活性。

关键词：丁香；黄酮；超声辅助酶法；正交试验法；抗氧化活性

Abstract

In order to optimize the extraction process of flavonoids in cloves and study their antioxidant activity, the ultrasonic assisted enzyme method will be selected in this experiment. Based on a single factor experiment, the optimal extraction process parameters of clove flavonoids will be determined through orthogonal experiments, and their antioxidant activity will be measured. The orthogonal design was adopted and the conclusion was drawn that the optimal conditions for extracting flavonoids from cloves were a material liquid ratio of 1:25, ultrasonic temperature of 50 °C, ultrasonic power of 300W, and ethanol volume fraction of 65%. Under the above conditions, it was finally detected that the extraction rate of flavonoids in cloves was 12.5%, the scavenging rate of flavonoids in cloves to DPPH free radicals was 66.3%, and the scavenging rate of flavonoids in cloves to hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) was 73.1 %. The determination of DPPH and $\cdot\text{OH}$ free radicals and reducing power showed that xanthone in cloves had certain antioxidant activity in vitro.

Key words: Clove; Flavone; Ultrasound assisted enzymatic method; Orthogonal test method; Antioxidant activity

目 录

1 绪论	1
1.1 选题的目的和意义	1
1.2 论题的研究现状和发展趋势	1
1.3 丁香的化学成分	1
1.3.1 挥发油类成分	1
1.3.2 黄酮类成分	2
1.3.3 其它类成分	2
1.4 黄酮的作用	2
1.4.1 对心血管系统的作用	2
1.4.2 抗肿瘤的作用	2
1.4.3 抗氧化自由基的作用	3
1.4.4 抗菌、抗炎的作用	3
1.4.5 保肝的作用	3
2 材料与方法	4
2.1 主要材料	4
2.2 主要仪器	4
2.3 实验方法	4
2.3.1 超声辅助酶法提取黄酮化合物	4
2.3.2 超声波辅助酶解法的单因素实验	5
2.3.3 正交试验的设计	5
2.3.4 芦丁标准曲线的制作以及黄酮提取率的计算	6
3 结果与分析	8
3.1 芦丁标准曲线的绘制	8
3.2 单因素实验结果	8
3.2.1 超声温度对丁香中黄酮的提取率的影响	8
3.2.2 超声功率对丁香中黄酮的提取率的影响	9
3.2.3 料液比对丁香中黄酮的提取率的影响	10
3.2.4 乙醇体积分数对丁香中黄酮的提取率的影响	10
3.3 提取工艺的优化	11

3.3.1 正交实验结果	11
3.3.2 验证实验	12
3.4 丁香中黄酮的抗氧化活性	12
3.4.1 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力的测定	12
3.4.2 对还原能力的测定	13
3.4.3 对 DPPH $\cdot$ 自由基的测定	14
4 结论	15
参考文献	16
致 谢	19

1 绪论

1.1 选题的目的和意义

丁香为桃金娘科植物丁香的干燥花蕾，又名“公丁香”，为药食同源的一种常见中药。当丁香花的花蕾由绿转红时开始采摘，晒干，丁香的花大多呈淡紫红色，开放时散发出一定的香味，其枝条柔软嫩细，小枝多紧密，大多数呈灰褐色，叶的外表面可见密被柔毛。

现代研究表明丁香叶也具有广谱抗菌和抗病毒作用。黄酮是丁香里面主要生物的活性成分之一，是一种很强的生理活性物质^[1]。研究发现不同水解酶对雪莲果叶总黄酮提取率的影响^[2]，由强到弱依次为纤维素酶>果胶酶>蛋白酶。将酶和超声波法结合，研究丁香中黄酮的提取工艺的优化，并测定其抗氧化活性的试验对于丁香中的黄酮开发和利用有一定的意义。

1.2 论题的研究现状和发展趋势

目前，丁香中黄酮的提取大多选择溶剂法来提取，但是有机溶剂提取法在某些情况下无法实现有效的提取，有一定的弊端。本试验采用超声辅助酶法来进行提取具有降低能耗，值得深入研究。因此，该试验选取用超声辅助酶提取法来进行提取，设计正交试验来分析，探究丁香中黄酮提取液的抗氧化活性，为丁香的综合利用提供理论依据，具有深远的意义。

1.3 丁香的化学成分

1.3.1 挥发油类成分

丁香中含有复杂的化学成分，挥发油主要由以下几种物质来组成：第一：萜类化合物，如单萜和倍半萜；第二：小分子脂肪族化合物，如醇、酮、醛；第三：芳香族化合物；第四：其它类化合物。例如液体生物碱。挥发油的成分和含量和季节以及月份也有很大的关系。有学者回瑞华等^[3]考虑了不同季节采收的紫丁香叶中的挥发油得含量，研究表明：在不同的月份下，丁香中挥发油的含量以及提取

率都是略微不同的。丁香中常见的挥发油主要有以下几种:苯甲醛、丁香油酚、胡椒酚、乙酰丁香油酚等。

1.3.2 黄酮类成分

黄酮类化合物的成分比较复杂^[4],依据结构特点可以分为很多种,依据黄酮类化合物 B 环连接的位置可以分为黄酮和异黄酮;依据母核 3 位上有无羟基取代可以分为黄酮醇和黄烷醇;依据母核 C 环氧化的程度可以分为查尔酮类化合物。目前从丁香中提取出来的黄酮类化合物含量是比较少的,大多数是黄酮醇如芦丁、山奈酚芦丁苷、紫云英苷、槲皮素、芒柄花素,槲皮黄素等。

1.3.3 其它类成分

随着医学的进步和发展,人们都陆续的意识到了很多微量元素与人们的生命活动有着十分紧密的联系。朱玲等^[5]对紫丁香叶中 Fe、Ca、Mg、Zn、Mn 等 18 种微量元素进行了定性分析和定量分析。通过研究发现了紫丁香叶的 Fe、Ca、Mg、Zn、Mn 等元素的含量特别高。研究还表明了紫丁香叶可能会对冠心病的治疗有很大程度的治愈作用。除此之外,挥发油中还具有生物碱类成分、蔗糖、淀粉等。

1.4 黄酮的作用

1.4.1 对心血管系统的作用

血液中含有一定的胆固醇,胆固醇含量过高时就会导致血管堵塞、血流不通畅,从而引起血管性疾病。然而中药材中所含有的黄酮物质可以降低胆固醇的含量,使血管疏松有利于血液的流畅,那么就会减少一些血管性疾病的发生和血管性疾病引发的其他疾病的发生。经常见的黄酮醇类物质如山奈酚、槲皮素、杨梅素;异黄酮类物质如葛根素、大豆素;二氢黄酮类物质如芦丁都对人们的血管具有一定的扩张作用^[6],当血管阻塞时使用该类物质就可以起到互补作用,减少一些疾病的发生。

1.4.2 抗肿瘤的作用

肿瘤可以生长在人体的任何部位,能够让人体产生疼痛感,导致肿瘤存在的原因有很多种比如基因的改变还有细胞的恶化。异黄酮类物质如大豆素、大豆苷、

葛根素能够抵抗肿瘤的产生，并且能够预防肿瘤^[7]。开发异黄酮类的新药物是非常有意义的。恶性肿瘤是人类死亡的一个重要原因。

1.4.3 抗氧化自由基的作用

大量的研究都表明了黄酮类的化合物具有相当好的还原能力和抗氧化能力，能够很好的减少人体内自由基的生成，也加快了清楚自由基的速度从而对自由基有很好的清楚效果。黄酮类化合物可高效的捕捉到一些氧化自由基从而达到抗氧化的效果。栗明月等学者研究表明黄甜竹叶中黄酮提取物能够有效的清楚羟基自由基，并且不同竹叶的黄酮表现出不同的抗氧化活性，不同的提取部位的抗氧化活性也有一定的差距^[8]。

1.4.4 抗菌、抗炎的作用

炎症反应是一种生理性反应，是机体对外界刺激产生的。由于人体的新陈代谢和生化反应失去了平衡，产生了过量的自由基就会导致 DNA、蛋白质等生物大分子和细胞的结构损坏，产生炎症、心血管疾病、内脏疾病等多种一系列的病症。所以通过调控基因来控制自由基过量的生成对细胞增殖凋亡、维持人体的健康有长远的意义。有研究表明^[9]丁香中黄酮能够调控促凋亡基因来保护细胞和生物大分子从而防止了炎症的发生，其作用机理为通过调控体内的主要炎症因子如 TNF、IL6、INS 等炎症因子，并且降低脂多糖诱导产生的 NO 的含量，抑制 iNOS 和 COX-2 的表达，作用于靶蛋白信号通路等进行蛋白表达，以抑制铅诱导、乙醇、高强度运动等因素导致的氧化反应，从而使黄酮具有一定程度的保护心脏、减少炎症和保护骨骼肌运动损伤等作用。

1.4.5 保肝的作用

当肝脏无法将肝内物质排出时，就会导致肝内物质的堆积，无法进行代谢的过程，就会导致疾病的产生。肝脏对人体起着至关重要的作用，肝脏可以合成和储存一些营养物质，肝脏一旦受损伤，这些营养物质就不能够及时有效的代谢；胆汁需要肝脏来分泌和排泄，一旦损伤就会导致胆结石疾病的产生；当人体在年幼时，肝脏起到一个造血的作用。黄酮类物质对肝脏具有很强的保护作用^[10]，主要是保护了肝细胞，可以恢复受损的肝细胞，促使了肝细胞的再生。

2 材料与方法

2.1 主要材料

表 2.1 材料与试剂

材料与试剂	厂家
丁香(药材)	云南药业有限公司
芦丁标准品	上海源叶生物科技有限公司
纤维素酶	南京都南生物公司
OH、DPPH 溶液	上海麦克林生化科技公司
三氯化铁、三氯乙酸、亚硝酸钠	广东光华科技股份有限公司
VC	湖州展望药业有限公司

2.2 主要仪器

表 2.2 实验使用设备

实验仪器	生产单位
UV-1100 型紫外可见分光光度计	北京普析通用仪器公司
KQ2200DB 型超声波清洗器	昆山超声仪器公司
MH-500 可调式电热套	北京科伟永兴仪器有限公司
YP10002 电子天平	上海越平科学仪器有限公司
FW-100 高速万能粉碎机	北京科伟永兴仪器有限公司
MS2000 漩涡震荡仪	杭州瑞城有限公司

2.3 实验方法

2.3.1 超声辅助酶法提取黄酮化合物

将丁香清洗后,干燥粉碎,用电子天平精密称取约 2.00 g 的丁香粉,加入 20 mg 纤维素酶搅拌均匀后再加入 50 mL 60% 乙醇溶液后,然后用 1 mol/L 的氢氧化钠以及 10%的醋酸将 PH 值调节至 4.5,然后放置于 50 ℃水浴锅中酶解 30 分钟,将

其转移至超声波清洗机中于超声功率 300 W、超声温度 60 °C 的条件下超声提取 30 分钟，将滤饼用上述方法，再次进行提取之后，然后将这两次得到的滤液进行合并，最后将其定容到 1000 mL 的容量瓶里面。

2.3.2 超声波辅助酶解法的单因素实验

(1) 超声温度对丁香中黄酮的提取率的影响

控制不同的超声温度：30 °C、40 °C、50 °C、60 °C、70 °C，然后固定料液比为 1：20、超声功率为 300 W、乙醇体积分数为 60%，精密量取丁香粉 2.00 g，加入一定量的纤维素酶，继续用 2.3.1 中的方法来进行提取丁香中的黄酮，并考虑不同的温度对丁香中黄酮提取率带来的影响，根据提取率来选择一个合适的超声温度。

(2) 超声功率对丁香中黄酮的提取率的影响

控制不同的超声功率：150、200、250、300、350 W，然后固定超声温度为 60 °C、乙醇体积分数 60%、料液比为 1：20 mg/mL，在以上条件下然后再精密量取丁香粉 2.00g，加入一定量的纤维素酶，继续用 2.3.1 中的方法来进行提取丁香中的黄酮，并考虑不同的超声功率对丁香中黄酮提取率带来的影响，最后选择一个合适的超声功率。

(3) 料液比对丁香中黄酮的提取率的影响

控制不同的料液比：1：10、1：15、1：20、1：25、1：30，然后固定超声温度为 60 °C、超声功率为 300 W、乙醇体积分数为 60%，在以上条件下精密量取丁香粉 2.00g，加入相同克数的纤维素酶，然后继续用 2.3.1 的方法来进行提取丁香中的黄酮，并考虑不同的料液比对丁香中的黄酮提取率带来的影响，最后选择一个合适的料液比。

(4) 乙醇体积分数对丁香中黄酮的提取率的影响

控制不同的乙醇体积分数：55%、60%、65%、70%、75%，然后固定超声温度为 60 °C、料液比为 1：20、超声功率为 300 W，在以上条件下精密量取丁香粉 2.00g，加入相同克数的纤维素酶，继续用 2.3.1 的方法来进行提取丁香中的黄酮，并考虑不同的乙醇体积分数对丁香中黄酮的提取率带来的影响，最后选择一个合适的乙醇体积分数。

2.3.3 正交试验的设计

以超声温度、乙醇体积分数、料液比、超声功率这四个单因素。用正交法设计一个四因素、三水平的实验，来选取最佳提取指标。

表 2.3 正交试验设计的因素与水平

水平	乙醇体积 分数%	超声温度 (℃)	超声功率 (W)	料液比 (g/mL)
1	55	30	150	1:10
2	65	40	200	1:15
3	75	50	300	1:25

2.3.4 芦丁标准曲线的制作以及黄酮提取率的计算

参考丁建海等^[11] 的芦丁的标准曲线建立方法，将芦丁作为对照品，用 70%的乙醇配置芦丁标准品溶液浓度为 0.2mg/mL, 用移液管吸取芦丁标准品溶液放在 6 个 25 mL 的试管中容积分别为 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL。采用紫外分光光度法对样品进行前处理。将 10%硝酸铝 1 mL 和 5%亚硝酸钠溶液 1 mL 和 1 mol/L 氢氧化钠 10 mL 分别加入 5%乙醇到刻度线上，测定 510 nm 吸光度值并做出芦丁标准曲线，计算丁香黄酮提取率。

$$W = (C \times V_1 \times V_2) / m \times 100\% \quad (1)$$

上式以 W 为代表丁香黄酮得率 (%)；

C 代表的是丁香黄酮提取液的质量浓度 (mg/mL)；

V₁ 代表的是丁香中黄酮提取液的容量 (mL)；

V₂ 为黄酮提取液的稀释倍数的代表；m 为药材取样量 (mg)。

2.3.5 丁香中黄酮的抗氧化活性研究

(1) 对 OH· 的清除能力的测定

配制丁香中黄酮浓度分别为 0.05、0.1、0.15、0.25、0.35、0.45、0.85、1.2、1.6 mg/mL^[12]，于试管中依次加入 1.5mL 的样液、1.0 mL FeSO₄、1.0 mL H₂O₂，放置室温反应 20 min，加入 1.0 mL 的水杨酸乙醇溶液，室温静置反应 45 min，4500 r/min 于离心机中离心 6 min，离心后取上清液测定 510 nm 处吸光度值为 A₀。

$$\bullet \text{OH 的清除率}(\%) = [1 - (A_0 - A_1) / A_2] \times 100$$

上式中： A_1 代表蒸馏水取代 FeSO_4 吸光度；

A_2 是 55% 的乙醇取代样液吸光度。

(2) 对还原能力的测定

通过还原能力的强弱可以反映出药物潜在的抗氧化活性，所以是体外抗氧化性能的一个极其重要的指标。该试验采用的是铁氰化钾的方法。参照孟娜等^[13]的方法，稍作调整，利用铁氰化钾还原法如果吸光度的值大说明还原能力越强，如果吸光度的值小说明其还原能力弱。以相同浓度的 VC 作为对照品。

(3) 对 DPPH · 清除率测定

参照谭钦铎^[14]的方法，略作调整，在超声温度为 55 °C、超声功率 250 W、乙醇体积分数 65%、料液比 1:25 mg/mL 的条件下，提取丁香中的黄酮，所得提取液用 70% 的乙醇再次溶解后，分别配制黄酮浓度为 0.005、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.08、0.1 mg/mL，再取 2 mL 不同浓度的丁香中黄酮，加入 DPPH 溶液，室温中静置 30min，测定提取液在 510 nm 处样品的吸光度值(A_0)。将此提取物与甲醇混合均匀，再对提取液进行超声提取，然后滤除沉淀，得到滤液。用同样的方法测定无水乙醇的吸光度(A_1)、DPPH 溶液的吸光度(A_2)。

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}(\%) = [1 - (A_0 - A_1 / A_2)] \times 100$$

3 结果与分析

3.1 芦丁标准曲线的绘制

以芦丁的浓度作为横坐标，以吸光度作为纵坐标。丁香黄酮提取液的适宜检测波长为 510 nm，其线性方程为 $y=14.684x+0.0281$ ($R^2=0.9901$)，当 R^2 接近于 1 时，可得出在此区间之内芦丁的浓度与吸光度有较好的等比增长关系，此方程式适宜进行后续样品浓度的换算。

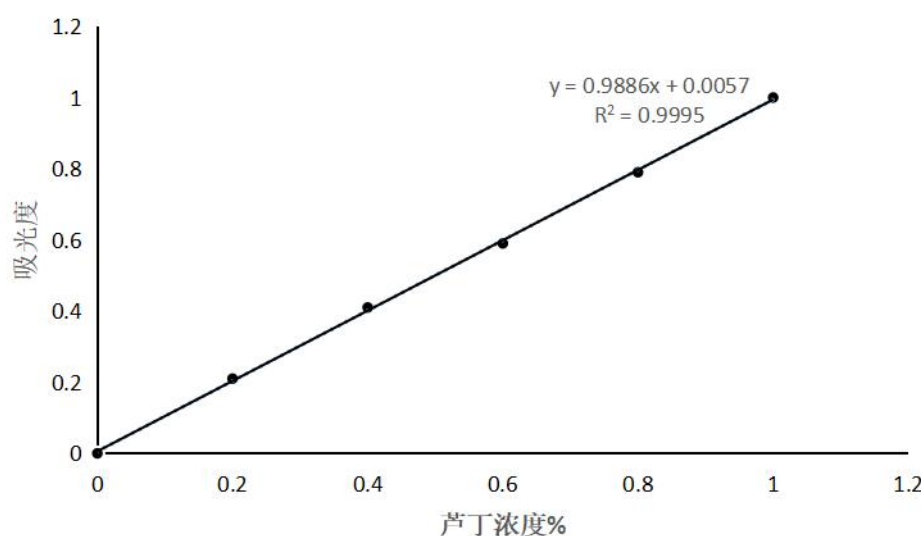


图 3.1 芦丁标准曲线

3.2 单因素实验结果

3.2.1 超声温度对丁香中黄酮的提取率的影响

在超声功率为 300 W、料液比为 1:25 mg/mL、乙醇体积分数为 65% 下做实验，超声温度为 50 °C 时，丁香中的黄酮提取率最大。温度的升高有利于化合物分子的扩散、溶解，增大了溶解度，但是温度也不能太高，温度过于高又会导致一系列的问题出现。比如，总黄酮中一些物质稳定性差，遇热化合物母核发生改变，导致了提取率的下降；然而温度过低时也存在一系列的问题。比如说酶的催化作用受阻不能充分发挥作用。因此，选择了 50 °C 作为黄酮的最佳超声温度。

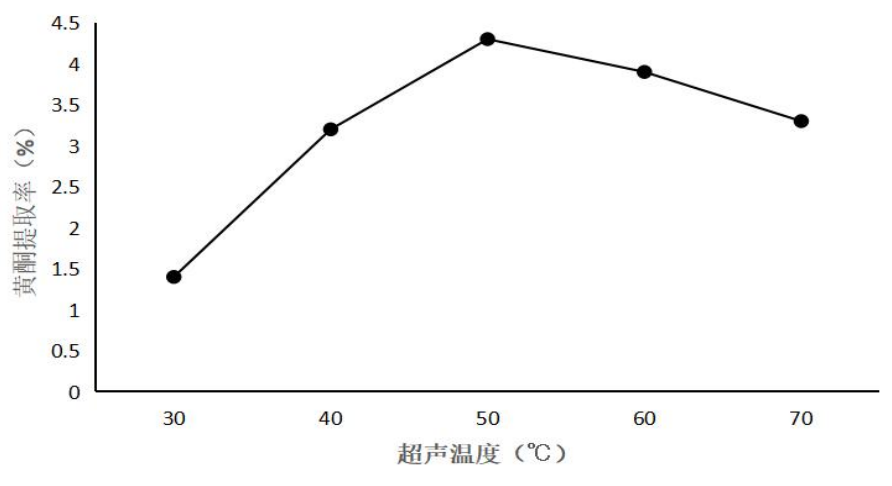


图 3.2 超声温度对提取率的影响

3.2.2 超声功率对丁香中黄酮的提取率的影响

在超声温度为 55°C、料液比为 1:25 mg/mL、乙醇体积分数为 65% 下做实验，从图表中可以得出，超声功率对丁香中的黄酮提取率也有一定的影响，但是影响较小。当功率小于 300W 时黄酮的提取率相对是稳定的，当超声功率大于 300 W 后，丁香中的黄酮的提取率开始有下降的趋势，其原因可能是由于超声功率较弱时产生的空化效应对细胞壁有一定的破坏，不能溶出完全，所以黄酮得率较低；但是相对较强的超声功率产生的空化效应对细胞壁有一定的破坏作用，导致溶出完全，因此提高了黄酮的得率；过大的功率产生了大量热量破坏了活性成分的结构，但也有学者认为高的超声功率会产生强大的机械振动作用，使溶剂流动加快从而导致了超声波的停留时间减小，得率降低^[15]，选用超声功率为 300 W 作为后续试验数据。

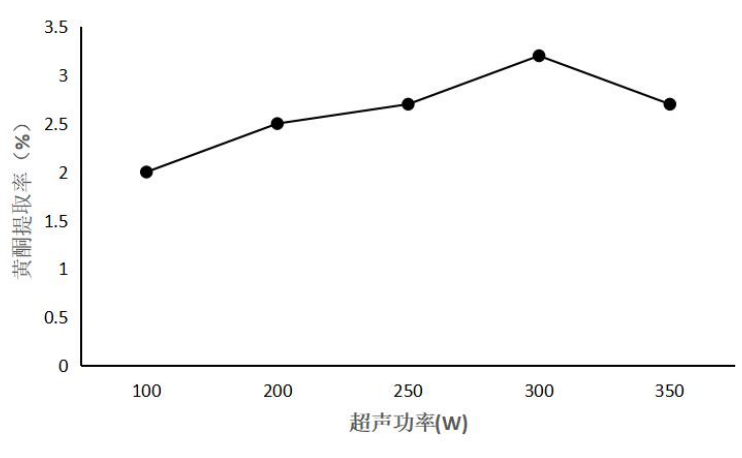


图 3.3 超声功率对提取率的影响

3.2.3 料液比对丁香中黄酮的提取率的影响

随着料液比的增加 ($\leq 1:25$) 黄酮的提取率从 2% 增加到了 3.6%。当料液比继续增加时, 并没有加快黄酮的溶出, 反而提取率开始下降。下降的原因可能是因为溶剂用量倍增导致丁香中黄酮类化合物溶出率达到了饱和, 从而影响了黄酮的分离。选择料液比为 1:25 进入后续试验。

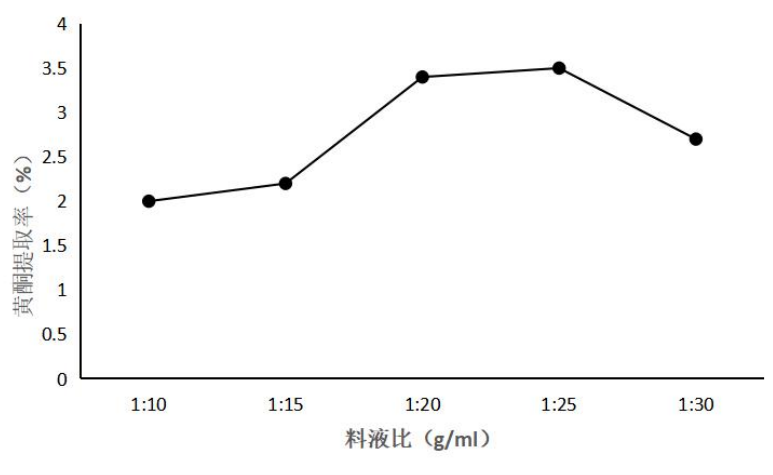


图 3.4 料液比对丁香中黄酮提取率的影响

3.2.4 乙醇体积分数对丁香中黄酮的提取率的影响

乙醇体积分数在 65% 时黄酮的提取率达到了 3.4% 为最高值, 原因可能是当乙醇浓度低时极性低有利于黄酮中含有低极性物质的溶解。从表中可明显看出当乙醇体积分数一旦超过了 65% 时, 随着乙醇体积分数的不断增大黄酮的溶出率呈现了一个反比的关系, 开始降低, 原因可能是黄酮的结构中含有亲水基团。因此选择乙醇体积分数 65% 作为后续试验。

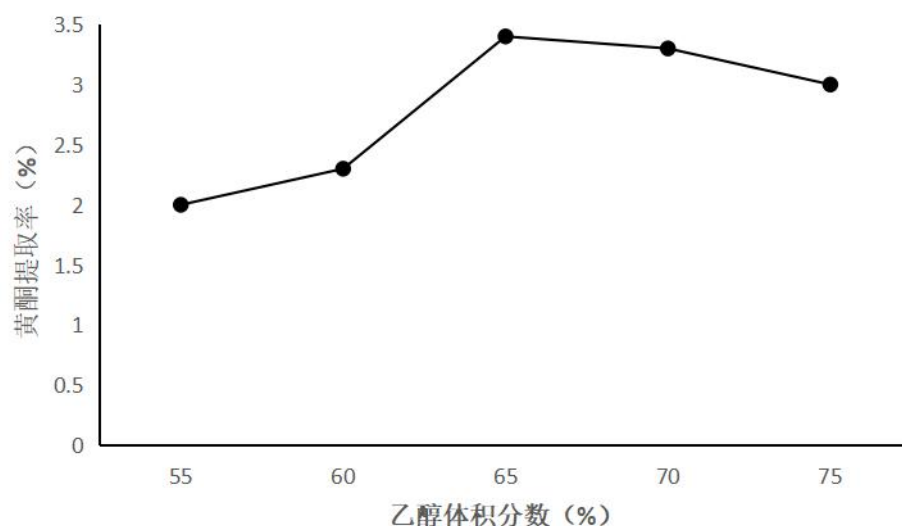


图 3.5 乙醇体积分数对提取率的影响

3.3 提取工艺的优化

3.3.1 正交实验结果

表 3.1 正交实验结果

因素	A 乙醇体 积分数 (%)	B 超声温度 (℃)	C 超声功率 (W)	D 料液比 (g/mL)	得率 (%)
1	1	1	1	1	6.54
2	1	2	2	2	6.91
3	1	3	3	3	7.59
4	2	1	2	3	8.38
5	2	2	3	1	7.84
6	2	3	1	2	8.15
7	3	1	3	2	7.63
8	3	2	1	3	6.89
9	3	3	2	1	7.97
均值 1	7.013	7.517	7.193	7.450	
均值 2	8.123	7.213	7.753	7.563	
均值 3	7.497	7.903	7.687	7.620	
极差	1.110	0.690	0.560	0.170	

选取超声功率（150W、250W、300W）、料液比（1：10、1：15、1：25）、超声温度（30℃、40℃、50℃）、乙醇体积分数（55%、65%、75%）作正交试验，设计了一个四因素三水平的方案，并得出了最合适的丁香中黄酮的提取工艺方案

为 $A_2B_3C_3D_3$ ，也就是料液比为 1: 25 mg/mL、超声温度为 50 °C、乙醇体积分数为 65%、超声功率为 300 W。

表 3.2 方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A 乙醇体积分数 (%)	1.858	2	41.289	19.000	*
B 超声温度 (°C)	0.718	2	15.956	19.000	
C 超声功率 (W)	0.561	2	12.467	19.000	
D 料液比 (g/mL)	0.045	2	1.000	19.000	
误差	0.04	2			

注：*代表显著 ($p < 0.05$)

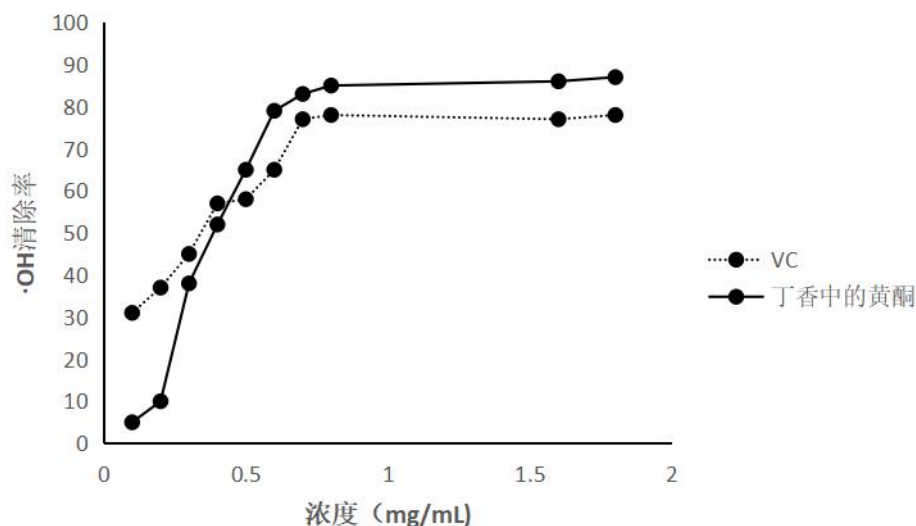
3.3.2 验证实验

为考虑到实际操作的可性，调整为超声功率为 300 W、乙醇体积分数为 65%、超声温度为 50 °C、料液比为 1:25 mg/mL 作为对照试验，重复三次实验，经过试验的验证，丁香中的总黄酮的实际提取率是 12.5%。研究表明正交法所提取的黄酮较高，具有误差小的特点。

3.4 丁香中黄酮的抗氧化活性

3.4.1 对 $\cdot OH$ 的清除能力的测定

有学者研究表明羟基自由基 ($\cdot OH$)，与衰老、肿瘤疾病和细胞吞噬等作用有紧密联系^[16]。下图为丁香中的黄酮和对照品 VC 对 $\cdot OH$ 清除率，从下图中可以得出，丁香中黄酮的粗提物和对照品 VC 对 $\cdot OH$ 清除都率随着浓度的增加而提高。

图 3.6 丁香中黄酮和 VC 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率

3.4.2 对还原能力的测定

丁香中的黄酮的还原能力和 VC 相比较相对较低,当浓度低于 0.3 mg/mL 时浓度的不断增高,丁香中的黄酮和对照品 VC 的还原力都是呈现出一个正比的关系,可明显看出增加浓度有利于提高还原力;然而当浓度一旦高于 0.3 mg/mL 时,随着浓度的不断增加 VC 的还原力不再是随着浓度的升高而增强,反而呈现一个下降的趋势,但是丁香中的黄酮随着浓度的升高还原力一直增强,但总体是低于 VC 的还原力的。

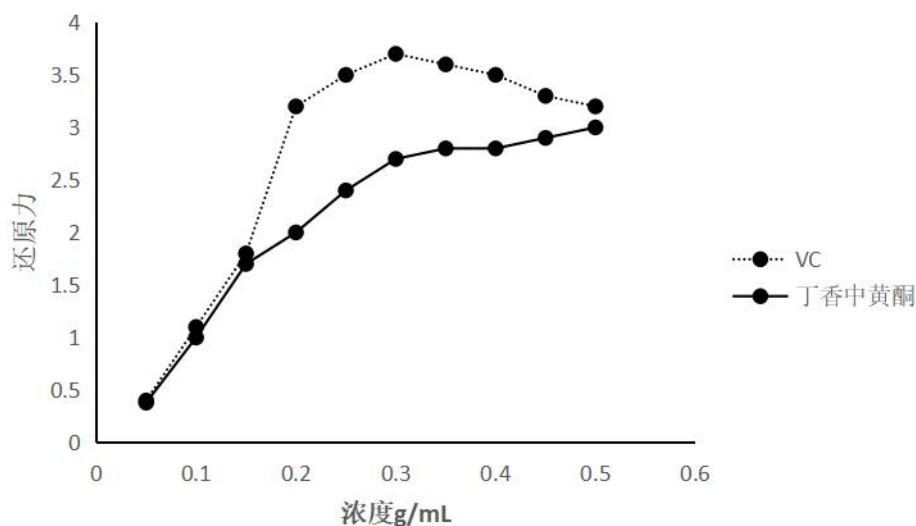


图 3.7 丁香中黄酮和 VC 对还原力的影响

3.4.3 对 DPPH · 自由基的测定

DPPH·是一种非常稳定的自由基，易溶于乙醇溶液显深紫色，通过紫外检测观察颜色的变化，如过颜色变浅，说明在体外有抗氧化的能力。下图是为丁香中黄酮和对照品 VC 分别对 DPPH · 的清除率，根据图可明显观察到：VC 对 DPPH·的清除率总体是弱于丁香中的黄酮对 DPPH · 的清除率的。在浓度为 0.03 mg/mL 之前 VC 对 DPPH · 清除率随着浓度的不断升高而增强为成正比关系。然而当 VC 的浓度一旦大于 0.03 mg/mL 后，浓度的改变对 DPPH · 的清除率没有显著的差异。当浓度在 0.005~0.05 mg/mL 之间，随着浓度的升高丁香中黄酮对 DPPH · 清除率有显著上升的趋势（35%~86%），当浓度一旦大于 0.05 mg/mL 时，随着浓度的增加清除率有略微的下降趋势，此阶段浓度间清除率也没有明显的差异，丁香中黄酮对 DPPH · 自由基的清除率为 66.3%，VC 对自由基的清除率为 65%，说明了丁香中的黄酮有较好的抗氧化活性。

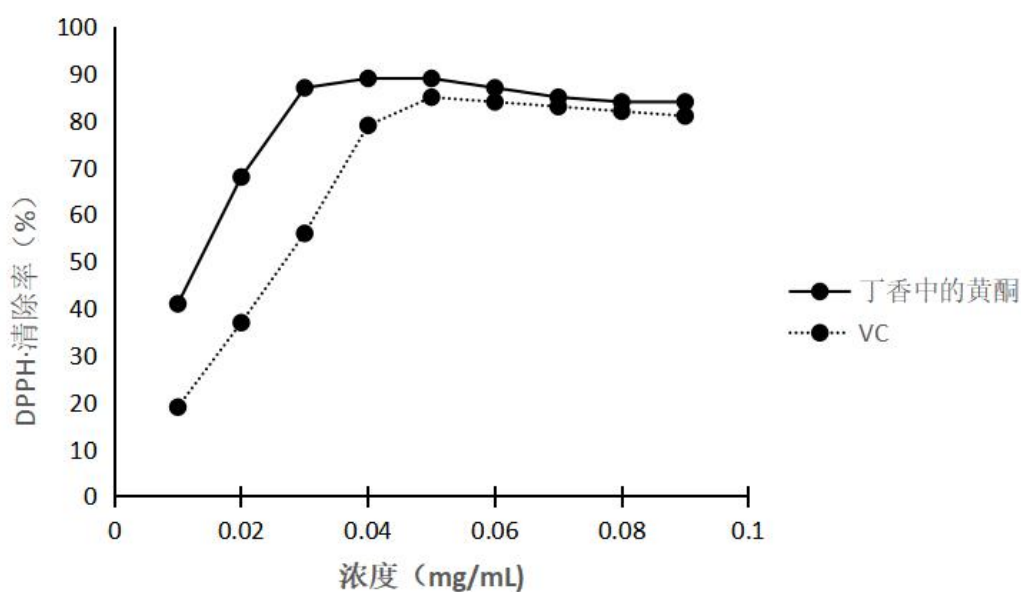


图 3.8 丁香中黄酮和 VC 对 DPPH · 清除率的影响

4 结论

酶具有高度的专一性，同时将超声波法和纤维素酶应用到中药化学成分的提取中，有利于促进胞内成分的溶解。现在酶解法在提取手段上有了突显的优势，极大的提高了化学成分的提取率。不同酶有不同的作用性质，产生的效果也是不同的。

丁香黄酮最优提取工艺参数是超声功率为 300 W、乙醇体积分数为 65%、超声温度为 50 °C、料液比为 1:25 mg/mL，丁香中的黄酮得率为 12.5%。由抗氧化数据得出，丁香中黄酮对 DPPH 和 $\cdot\text{OH}$ 都有一定得清除力。还原力实验结果表明了丁香中黄酮的还原力不如 VC 的还原力。

参考文献

- [1] 张玲玲, 孙芬芳, 张蓉希, 等. 响应面法优化提取丁香中的总黄酮及抗氧化性研究[J]. 中国调味品, 2019, 44(11): 40-43+50.
- [2] 戢得蓉. 雪莲果叶总黄酮超声波辅助酶法提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(02): 179-185. DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2021.02.031.
- [3] 回瑞华, 侯冬岩. 紫丁香叶挥发性化学成分季节性变化的GC/MS研究[J]. 质谱学报, 2008(01): 18-20.
- [4] 赵二劳, 赵三虎. 丁香黄酮提取工艺及其生物活性研究进展[J]. 中国调味品, 2021, 46(03): 195-197.
- [5] 朱玲, 安哲, 杨白玉, 等. 几种丁香叶的多元素分析[J]. 哈尔滨医科大学学报, 1996(06): 63-64.
- [6] 叶巧旦, 薛亚倩, 谢蔚鹏, 等. 黄酮类物质对心血管系统的作用研究综述[J]. 中国乡村医药, 2014, 21(21): 81-82. DOI: 10.19542/j.cnki.1006-5180.2014.21.047.
- [7] 王雪振, 张小雨. 毛蕊异黄酮抗肿瘤作用及机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(23): 210-217. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20212321.
- [8] 栗明月, 焦梦荷, 方洛云, 等. 竹叶黄酮的生理功能及其应用前景[J]. 中国农学通报, 2018, 34(32): 144-149.
- [9] 常丽新, 贾长红, 王倩, 等. 丁香叶黄酮的抑菌作用研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(10): 126-128. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2010.10.105.
- [10] 赵常伟. 丁香叶黄酮的提取及其对小鼠药物性肝损伤的保护作用[D]. 东北农业大学, 2016.
- [11] 丁建海, 牛浩军, 张方娟, 等. 分光光度法测定葫芦巴中总黄酮含量[J]. 广州化工, 2017, 45(09): 125-127.
- [12] 张倩茹. 玉米芯多糖的菌酶协同发酵工艺及其体外活性研究[D]. 内蒙古农业大学, 2018.
- [13] 孟娜, 魏胜华, 项驷文, 等. 超声波-酶法联合提取绞股蓝总黄酮及其抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(03): 138-141. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.03.011.
- [14] 谭钦铎. 葛根异黄酮的提取及微胶囊制备的研究[D]. 吉林大学, 2018.

- [15]邱相坡, 梁璇, 王文斌, 等. 基于响应面法的连翘果实总黄酮闪式提取工艺优化[J].山西农业科学, 2020,48(03):452-457.
- [16]王艳, 刘景顺, 陈勇, 等. 玉竹糖蛋白分离纯化及其体外抗氧化能力[J]. 食品科学, 2015,36(02):52-56.

致 谢

本文论文是在导师豆佳媛老师悉心指导和帮助下完成的，从论文的选题、试验的设计与操作和最后论文的撰写、修改以及定稿，每一步规划都是老师的精心指导下所完成。首先我非常感谢我的导师以及遇到的每一位老师，豆老师学术上严谨求实，工作认真负责，严格的要求学生，始终做到最好，并且勇于创新，是我的良师。生活上待人诚恳，为人幽默更像家人一样。无论是在生活中还是在学习中老师都给了我极大的帮助，生活中豆老师给予了我无微不至的关怀，学习中老师会不断的指导我，锻炼了我独立思考的能力和动手操作的能力，使我的学术水平和个人能力得到了极大的提高，让我终身受益。借此机会向辛勤培育我的老师表示感谢！

度三年如一日，很快就迎来了毕业，此时的心情错综复杂，脑海里有很多美好的回忆。校园的欢笑声和美丽的风景历历在目，感谢学校提供的平台让我不断的提高了自己，提高了自己的实验操作能力，提升了自己的思维训练。还有学校浓厚的学术氛围，让我更加的自律。并且遇到了一群有趣又积极向上的好朋友。在学校所经历的事情让我学习到了很多东西，为人方面、社交方面，我都有了很大的提高。我也非常感谢我的朋友和同学，在我有困难的时候总是帮住我给我提建议，在学习上有不懂的地方总是能够教导我。感谢大学生活中有你们的陪伴，让大学生活更加的充满了意义。

特别感谢我的父母，感谢给了我生命，辛勤劳动抚育我长大，教我做人，教会了我生活和一些道理还有经济上的支持。在我伤心失落时总会想尽一切办法来鼓励我不断的前行。感谢你们 22 年的养育之恩，付出的宝贵时间和精力来关怀我、照顾我，我会以优异的成绩来回报你们！祝愿父母身体健康，平安快乐！

行文至此，思绪繁杂，时光飞逝，落笔为终！我还要感谢在百忙之中参加论文答辩的所有老师，我的不足之处希望老师能够提出宝贵的意见。最后我非常感谢所有爱我的家人和同学，使我顺利完成毕业。祝愿大家永远快乐，我也会不断的突破自己，不会辜负大家对我的期望！

