

表面活性剂辅助提取鱼腥草黄酮 及其动力学研究

麦馨允^{1,2}, 刘彩华^{1,2}, 韦兰洁^{1,2}, 牛俊乐^{1*}, 赖桂珍¹

(1. 百色学院 农业与食品工程学院, 广西 百色 533000; 2. 百色学院 亚热带特色农业产业学院, 广西 百色 533000)

摘要:采用表面活性剂辅助提取鱼腥草黄酮,通过正交设计优化黄酮的提取工艺,并对黄酮提取过程的动力学进行研究。结果表明:最佳提取工艺为吐温 20 添加量 1 g/L、提取温度 80 ℃、乙醇浓度 50%、料液比 1:40 g/mL、提取时间 60 min,黄酮得率达到 2.59%。此外,50 ℃~80 ℃时,提高温度能促进黄酮的浸出,95 ℃时会发生黄酮热降解;吐温 20 能提高黄酮的浸出量,但这种提高在高温下会被削弱;对动力学试验数据拟合得到吐温 20 辅助提取鱼腥草黄酮动力学模型为 $\frac{-1.25 \times 10^{-4} \times T^2 + 2.07 \times 10^{-2} \times T - 3.80 \times 10^{-1} - C}{-1.25 \times 10^{-4} \times T^2 + 2.07 \times 10^{-2} \times T - 3.80 \times 10^{-1}} = \frac{6}{\pi^2} \times \left\{ \exp \left[-\pi^2 \times \frac{2.76 \times 10^{-9} \times T^2 + (-4.08 \times 10^{-7}) \times T + 1.92 \times 10^{-5}}{R^2} \right] \times t \right\}$,可用于鱼腥草黄酮提取的工艺优化。

关键词:鱼腥草;黄酮;提取;表面活性剂;动力学

Surfactant-assisted Extraction of Flavonoids from *Houttuynia cordata* Thunb. and Its Kinetic Analysis

MAI Xin-yun^{1,2}, LIU Cai-hua^{1,2}, WEI Lan-jie^{1,2}, NIU Jun-le^{1*}, LAI Gui-zhen¹

(1. College of Agriculture and Food Engineering, Baise University, Baise 533000, Guangxi, China; 2. Industrial College of Subtropical Characteristic Agriculture, Baise University, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: The process of surfactant-assisted extraction of flavonoids from *Houttuynia cordata* Thunb. was optimized by single factor test and orthogonal test, and the kinetics of the extraction process was studied. The optimum extraction process was determined as extraction with 1 g/L tween-20, 50% ethanol, and solid-liquid ratio of 1:40 g/mL at 80 ℃ for 60 min. Under the optimized conditions, the extraction rate of flavonoids reached 2.59%. Increasing temperature promoted the extraction of flavonoids at 50 ℃~80 ℃, and thermal degradation of flavonoids occurred at 95 ℃. Tween-20 improved the extraction of flavonoids, while such increase would be weakened at high temperature. The kinetic model of Tween-20-assisted extraction of flavonoids from *H. cordata* Thunb was established as $\frac{-1.25 \times 10^{-4} \times T^2 + 2.07 \times 10^{-2} \times T - 3.80 \times 10^{-1} - C}{-1.25 \times 10^{-4} \times T^2 + 2.07 \times 10^{-2} \times T - 3.80 \times 10^{-1}} = \frac{6}{\pi^2} \times \left\{ \exp \left[-\pi^2 \times \frac{2.76 \times 10^{-9} \times T^2 + (-4.08 \times 10^{-7}) \times T + 1.92 \times 10^{-5}}{R^2} \right] \times t \right\}$, which could be used for the process optimization of flavonoids extraction from *H. cordata*.

Key words: *Houttuynia cordata* Thunb.; flavonoids; extraction; surfactant; kinetics

引文格式:

麦馨允, 刘彩华, 韦兰洁, 等. 表面活性剂辅助提取鱼腥草黄酮及其动力学研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(6): 60-67.

MAI Xinyun, LIU Caihua, WEI Lanjie, et al. Surfactant-assisted Extraction of Flavonoids from *Houttuynia cordata* Thunb. and Its Kinetic Analysis[J]. Food Research and Development, 2022, 43(6): 60-67.

基金项目: 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2021KY0742, 2018KY0583)

作者简介: 麦馨允(1987—), 女(壮), 实验师, 硕士, 研究方向: 农产品贮藏与加工。

* 通信作者: 牛俊乐(1990—), 女(汉), 讲师, 硕士, 研究方向: 生物技术与农产品加工。

鱼腥草是中国药典收录的草药,为三白草科蕺菜属蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb.的全株;辛,微寒,归肺经;具有清热解毒、消痈排脓、利尿通淋等功效^[1]。鱼腥草的药理功效源自于其组织内所含的化学活性成分。现代研究表明,鱼腥草活性成分主要有挥发油、黄酮、生物碱、多糖、有机酸等^[2-4]。黄酮作为鱼腥草的主要活性成分之一,含量较为丰富,并具有很强的抗氧化能力,采用亚铁还原能力法测定鱼腥草抗氧化能力时发现,黄酮含量与抗氧化能力之间具有极显著($P < 0.01$)的正相关^[5];鱼腥草黄酮可通过阻断病毒膜融合而灭活单纯疱疹病毒1型(HSV-1)^[6],还可促进人乳腺癌细胞株 MCF-7 的凋亡^[7]。除以上功能外,鱼腥草黄酮还具有抗肿瘤、抗辐射、抗疲劳、抗过敏、抑菌等药理作用^[8]。因此,研究鱼腥草黄酮提取具有较大价值。

鱼腥草黄酮提取方法有溶剂提取法、酶辅助提取法、微波辅助提取法、超声辅助提取法及双水相萃取法等^[8]。鲜有关于表面活性剂辅助提取鱼腥草黄酮的研究。表面活性剂辅助提取是一种新型提取技术,表面活性剂可以降低溶剂与物料之间的界面张力,使得物料更易浸润,溶剂易于渗透植物细胞中,而一些微溶或不溶的物质可借助表面活性剂得到溶解,从而提高提取得率^[9-10]。因此,本研究采用表面活性剂辅助提取鱼腥草黄酮,通过单因素及正交试验优化鱼腥草黄酮的提取工艺,并对黄酮提取过程的动力学进行研究,建立鱼腥草黄酮提取动力学模型,为表面活性剂提取鱼腥草黄酮的工艺优化和工程放大提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鱼腥草鲜样:市售。

鱼腥草粉末的制备:从鱼腥草鲜样中挑选生长状态好、无机械损伤的鱼腥草地下茎,清洗干净,60℃烘干,粉碎过60目筛(粒径250 μm),密封放入干燥器中备用。

芦丁标准样品(HPLC≥98%):南宁云桦生物科技有限公司;蔗糖脂肪酸酯(纯度≥98%):合肥巴斯夫生物科技有限公司;吐温20、吐温60、吐温80(分析纯):无锡市亚泰联合化工有限公司;吐温40(分析纯):上海展云化工有限公司;硬脂酰乳酸钠(纯度≥99%):酷尔化学科技(北京)有限公司;亚硝酸钠(分析纯):天津博迪化工有限公司;硝酸铝、氢氧化钠(分析纯):天津市大茂化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

UV-1800型紫外可见分光光度计:上海美谱达仪器有限公司;GZX-9240MBE电热鼓风干燥箱:上海博

迅实业有限公司医疗设备厂;HH-4数显电子恒温水浴锅:常州国华电器有限公司;DK-98-II电热恒温水浴锅:天津市泰斯特仪器有限公司;FA1204B型电子天平:上海市安亭电子仪器厂;ZN-02L小型高速粉碎机:中科耐驰技术(北京)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 鱼腥草黄酮提取方法及黄酮得率的计算

称取一定质量的鱼腥草粉末置于锥形瓶中,然后加入一定浓度的表面活性剂、按照一定料液比加入一定浓度的乙醇溶液在一定水浴温度下提取一定时间,取上清液测算其黄酮得率。黄酮含量测定方法参考Jia等^[11],并做调整。取鱼腥草提取上清液1.0 mL置于10 mL的容量瓶中,加入0.3 mL 5%的NaNO₂溶液,摇匀,放置6 min后加入0.3 mL 10%的Al(NO₃)₃溶液,摇匀,放置6 min,加入4.0 mL 4%的NaOH溶液,最后用75%的乙醇定容至刻度,摇匀,静置12 min,在510 nm处测定吸光度。根据标准曲线计算提取液中黄酮的质量,并按式(1)计算黄酮得率。

$$\text{黄酮得率}/\% = \frac{\text{提取液中黄酮的质量}}{\text{鱼腥草粉末的质量}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.2 表面活性剂种类的筛选

称取1 g鱼腥草粉末,分别加入4 g/L的蔗糖脂肪酸酯、吐温20、吐温40、吐温60、吐温80及硬脂酰乳酸钠等表面活性剂,按料液比为1:30 g/mL加入60%乙醇溶液,在50℃下水浴提取1.5 h,以黄酮得率为指标,选出最佳的表面活性剂。每个水平设3次重复。

1.3.3 单因素试验

称取1 g鱼腥草粉末,按1.3.2的结果固定最佳表面活性剂种类为吐温20,选取吐温20添加量0、2、4、6、8 g/L[提取温度50℃、乙醇浓度60%、料液比1:30(g/mL)、提取时间1.5 h],提取温度30、55、80、100℃[吐温20添加量2 g/L、乙醇浓度60%、料液比1:30(g/mL)、提取时间1.5 h],乙醇浓度20%、40%、60%、80%、100%[吐温20添加量2 g/L、提取温度80℃、料液比1:30(g/mL)、提取时间1.5 h],料液比1:10、1:20、1:30、1:40、1:50(g/mL)(吐温20添加量2 g/L、提取温度80℃、乙醇浓度40%、提取时间1.5 h),提取时间0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h[吐温20添加量2 g/L、提取温度80℃、乙醇浓度40%、料液比1:40(g/mL)]分别进行单因素试验,考察各个因素不同水平对黄酮得率的影响。每个水平设3次重复。

1.3.4 正交设计

根据1.3.3单因素试验结果,选取吐温20添加量、提取温度、乙醇浓度、料液比进行正交设计,优化鱼腥草黄酮提取工艺,各因素水平见表1。

表1 正交设计因素水平

Table 1 The factors and levels of orthogonal design

水平	因素			
	A 吐温 20 添加量/(g/L)	B 提取 温度/℃	C 乙醇 浓度/%	D 料液比/ (g/mL)
1	1	65	30	1:35
2	2	80	40	1:40
3	3	95	50	1:45

1.4 提取动力学

1.4.1 提取动力学试验

在鱼腥草黄酮提取正交试验和验证试验的基础上选取最优组合条件下,分别在 50、65、80、95 ℃下提取,在提取 0、5、10、15、20、25、30、40、50、60 min 时吸取 1 mL 的提取液测定黄酮含量(以下简称最优组),探究鱼腥草黄酮提取的动力学。每个水平设 3 次重复。除此之外,需进行对照试验,对照试验不添加表面活性剂,其他条件与最优组条件一致,步骤同上(以下简称对照组)。

在提取的过程中,由于每次吸取 1 mL 提取液从而导致提取液体积的变化。因此,对于提取液中黄酮浓度需按照式(2)对浓度进行校正^[12]。

$$C_n = \frac{1}{V} \left\{ [V - (n-1)]C_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \right\} \quad (2)$$

式中: C_n 为第 n 次取样质量浓度修正值,mg/mL; C_n 为第 n 次取样质量浓度测定值,mg/mL; V 为溶剂体积,mL; n 为取样次数。

1.4.2 提取动力学模型

利用 Fick 第二定律对黄酮进行固液提取动力学过程的拟合,其提取动力学过程表达式如式(3)所示^[13],反映了鱼腥草颗粒半径、提取时间、温度和鱼腥草黄酮浓度之间的关系。

$$\frac{C_\infty - C}{C_\infty - C_0} = \frac{6}{\pi^2} \left[\exp\left(\frac{-\pi^2 D_s t}{R^2}\right) \right] \quad (3)$$

式中: C_∞ 为提取平衡时刻鱼腥草黄酮的质量浓度,mg/mL; C 为 t 时刻鱼腥草中黄酮的质量浓度,mg/mL; C_0 为鱼腥草中黄酮的初始质量浓度,mg/mL; D_s 为表面扩散系数,cm²/min; R 为假设鱼腥草粉末颗粒为球形的半径,cm。

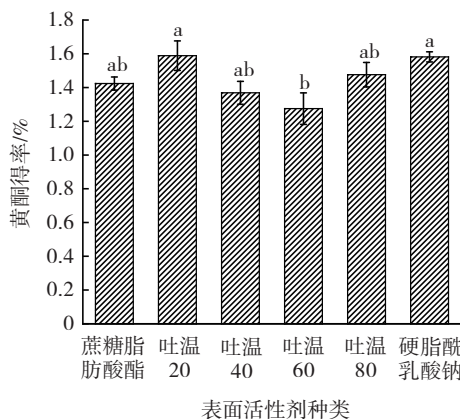
1.5 数据处理与分析

采用 PASW Statistics 18.0 进行方差分析,多重比较分析采用 Tukey 法。

2 结果与分析

2.1 表面活性剂的筛选

表面活性剂的种类对鱼腥草黄酮得率的影响如图 1 所示。



不同字母表示组间差异显著, $P < 0.05$ 。

图1 表面活性剂种类对鱼腥草黄酮得率的影响

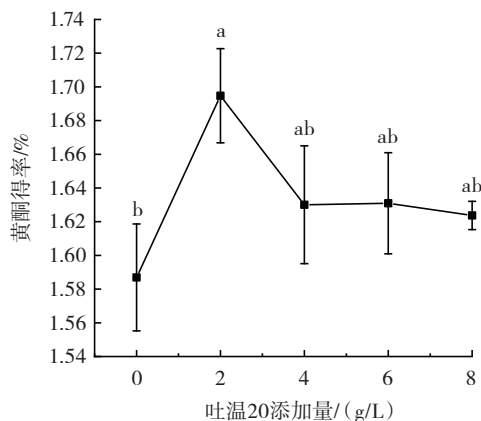
Fig.1 Effects of surfactant type on yield of flavonoid from *H. cordata* Thunb.

由图 1 可知,不同表面活性剂对鱼腥草黄酮得率有较大影响,其提取能力由大到小排列:吐温 20>硬脂酰乳酸钠>吐温 80>蔗糖脂肪酸酯>吐温 40>吐温 60。吐温系列表面活性剂中,吐温 20 提取能力最强,这是由于吐温 20 的亲水程度较其他大,且低分子量表面活性剂具有更高的表面活性^[14]。因此选择吐温 20 作为下一步研究的表面活性剂。

2.2 单因素试验结果

2.2.1 吐温 20 添加量对鱼腥草黄酮得率的影响

吐温 20 添加量对鱼腥草黄酮得率的影响如图 2 所示。



不同字母表示组间差异显著, $P < 0.05$ 。

图2 吐温 20 添加量对鱼腥草黄酮得率的影响

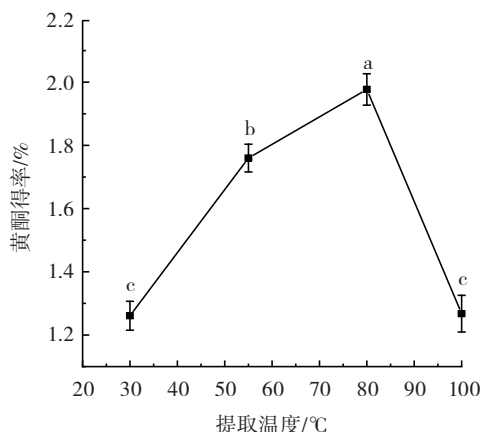
Fig.2 Effects of tween-20 addition on yield of flavonoid from *H. cordata* Thunb.

由图 2 可知,不同吐温 20 添加量对鱼腥草黄酮得率有较大影响。随着吐温 20 添加量的增加,黄酮得率呈先上升后下降趋势,且添加量为 2 g/L 时黄酮得率最高。黄酮得率随吐温 20 添加量增加而上升,这可能是

因为吐温 20 在临界胶束浓度下开始从单体形成聚集体,胶束聚集体具有非均相环境,为溶质提供多个相互作用位点,从而提高疏水物质在水溶液中的溶解度^[15],形成胶束数量不断增加,从而增加黄酮的溶出度,总黄酮得率增加;但当吐温 20 的浓度达到临界胶束浓度后,形成胶束数量不再增加,并与黄酮处于动态平衡状态,表面活性剂体积分数增大的同时也会导致体系的黏度增大,阻碍溶质分子的热运动,使得黄酮得率不再增加或降低^[16-17]。因而选择表面活性剂最佳的添加量为 2 g/L。

2.2.2 提取温度对鱼腥草黄酮得率的影响

提取温度对鱼腥草黄酮得率的影响如图 3 所示。



不同字母表示组间差异显著, $P < 0.05$ 。

图 3 提取温度对鱼腥草黄酮得率的影响

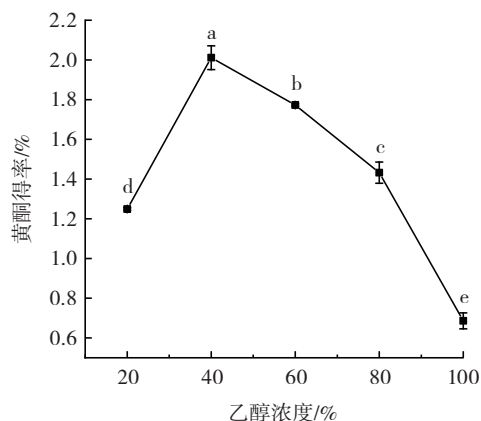
Fig.3 Effects of extraction temperature on yield of flavonoid from *H. cordata* Thunb.

由图 3 可知,不同的提取温度对鱼腥草黄酮得率的影响较大。随着温度的升高,黄酮得率先上升后下降,在 80 °C 的时候黄酮得率达到最高。黄酮得率先上升的原因是提取温度增大,热运动增强,从而促进黄酮的溶出。随后下降是因为高温使得黄酮降解从而得率下降,同时过高的提取温度会使乙醇挥发影响其溶解度^[18]。因而选择最佳的提取温度为 80 °C。

2.2.3 乙醇浓度对鱼腥草黄酮得率的影响

乙醇浓度对鱼腥草黄酮得率的影响如图 4 所示。

由图 4 可知,鱼腥草黄酮得率随着乙醇浓度的增加先上升后下降,乙醇浓度对鱼腥草黄酮提取有显著影响($P < 0.05$)。在乙醇浓度为 40% 时,鱼腥草黄酮得率最高,但随着乙醇浓度继续增大,鱼腥草黄酮逐步降低,说明 40% 的乙醇浓度可以将鱼腥草中水溶性和脂溶性的黄酮提取出来,当乙醇浓度继续增加,水溶性黄酮的溶解度变小,从而使得黄酮得率下降^[19]。因此选择乙醇浓度 40% 为最佳的乙醇浓度。



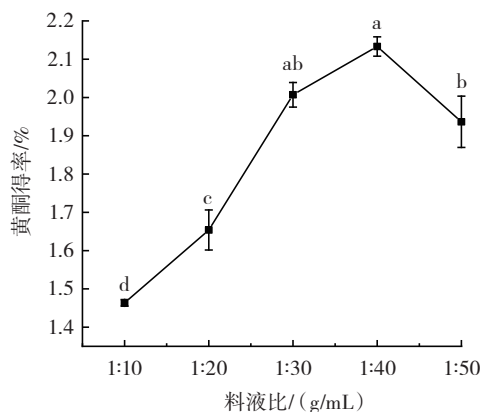
不同字母表示组间差异显著, $P < 0.05$ 。

图 4 乙醇浓度对鱼腥草黄酮得率的影响

Fig.4 Effects of ethanol concentration on yield of flavonoid from *H. cordata* Thunb.

2.2.4 料液比对鱼腥草黄酮得率的影响

料液比对鱼腥草黄酮得率的影响如图 5 所示。



不同字母表示组间差异显著, $P < 0.05$ 。

图 5 料液比对鱼腥草黄酮得率的影响

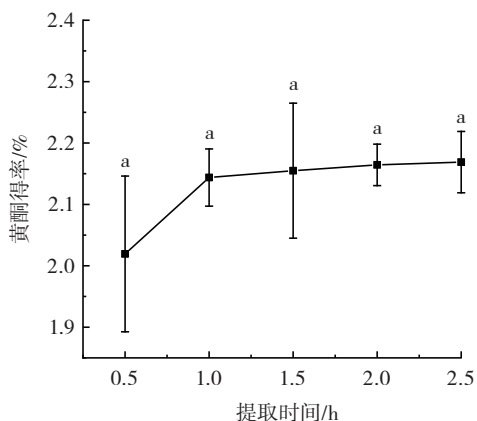
Fig.5 Effects of ratio of material to solvent on yield of flavonoid from *H. cordata* Thunb.

由图 5 可知,鱼腥草黄酮得率随料液比的不同而表现出较大的差异。随着溶剂添加量的增大,鱼腥草黄酮得率也逐步增大,料液比为 1:40 (g/mL) 时黄酮得率达到最大值,再增大溶剂添加量,得率反而下降。原因是溶剂量增大,可溶出的其他物质较多,在乙醇-水体系中,其他物质或者与黄酮形成竞争关系,相互争夺与乙醇-水分子相结合^[18],或者能影响黄酮含量的测定^[19],从而导致黄酮得率下降。因此选择最佳的料液比为 1:40 (g/mL)。

2.2.5 提取时间对鱼腥草黄酮得率的影响

提取时间对鱼腥草黄酮得率的影响如图 6 所示。

由图 6 可知,随着提取时间的延长,鱼腥草黄酮得率逐渐增加,但 1.0 h 后增加的趋势不明显,可能是因为提



不同字母表示组间差异显著, $P < 0.05$ 。

图6 提取时间对鱼腥草黄酮得率的影响

Fig.6 Effects of extraction time on yield of flavonoid from *H. cordata* Thunb.

取一定时间后,黄酮成分已基本溶出^[18],此时黄酮的扩散是一个动态平衡过程。结合试验结果以及提取时长,选择最佳提取时间为1.0 h。因为提取时间对鱼腥草黄酮得率影响差异不显著($P \geq 0.05$),所以提取时间未作为正交设计试验的因素之一。

2.3 鱼腥草黄酮得率的正交试验结果

鱼腥草黄酮得率正交试验的极差分析、方差分析、多重比较结果见表2~表4。

表2 鱼腥草黄酮得率的正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test on yield of flavonoid from *H. cordata* Thunb.

序号	A 吐温 20 添加量	B 提取 温度	C 乙醇 浓度	D 料液比	得率/%
1	1	1	1	1	1.77
2	1	2	2	2	2.31
3	1	3	3	3	1.99
4	2	1	2	3	1.94
5	2	2	3	1	2.14
6	2	3	1	2	1.33
7	3	1	3	2	2.38
8	3	2	1	3	1.98
9	3	3	2	1	1.65
K ₁	6.07	6.09	5.09	5.56	
K ₂	5.41	6.43	5.90	6.02	
K ₃	6.01	4.97	6.51	5.91	
k ₁	2.02	2.03	1.70	1.85	
k ₂	1.80	2.14	1.97	2.01	
k ₃	2.00	1.66	2.17	1.97	
R	0.22	0.48	0.48	0.15	
最优方案	A ₁	B ₂	C ₃	D ₂	
因素主次	B=C>A>D				

由表2的极差分析可知,影响鱼腥草黄酮得率的因素顺序为提取温度=乙醇浓度>吐温20添加量>料

液比。极差分析后得出的最佳试验组合为A₁B₂C₃D₂。

表3 正交试验结果方差分析

Table 3 Analysis of variance of orthogonal test results

因素	Ⅲ型平方和	自由度	均方	F值	P值
A(吐温20添加量)	0.264	2	0.132	9.918	0.001
B(提取温度)	1.159	2	0.580	43.544	0.000
C(乙醇浓度)	1.025	2	0.512	38.494	0.000
D(料液比)	0.114	2	0.057	4.296	0.030
误差	0.240	18	0.013		
总计	104.808	27			
校正的总计	2.802	26			

表4 多重比较结果

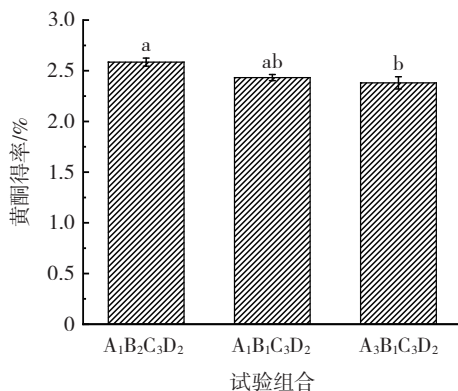
Table 4 Results of multiple comparison

水平	得率/%			
	A 吐温 20 添加量/(g/L)	B 提取 温度/℃	C 乙醇 浓度/%	D 料液比/(g/mL)
1	2.02 ^a	2.03 ^a	1.69 ^c	1.85 ^b
2	1.80 ^b	2.14 ^a	1.97 ^b	2.01 ^a
3	2.00 ^a	1.66 ^b	2.71 ^a	1.97 ^a

注:不同小写字母代表同列数据差异显著($P < 0.05$)。

由表3正交试验方差分析可知,吐温20添加量、提取温度、乙醇浓度以及料液比对提取鱼腥草黄酮影响的显著性均小于0.05,表明这些因素对提取鱼腥草黄酮有显著性影响($P < 0.05$);均方越大,说明该因素对黄酮提取的影响就越大,因此,提取温度>乙醇浓度>吐温20添加量>料液比。由表4多重比较的结果可知,从成本方面考虑,得到试验组合为A₁B₁C₃D₂。

极差分析结果(A₁B₂C₃D₂)、多重比较结果(A₁B₁C₃D₂)的试验组合均未出现在正交设计组合中,而正交设计组合序号7(A₃B₁C₃D₂)得率为2.38%,为这9个处理中的最高值,因此需进行验证试验,验证试验结果见图7。



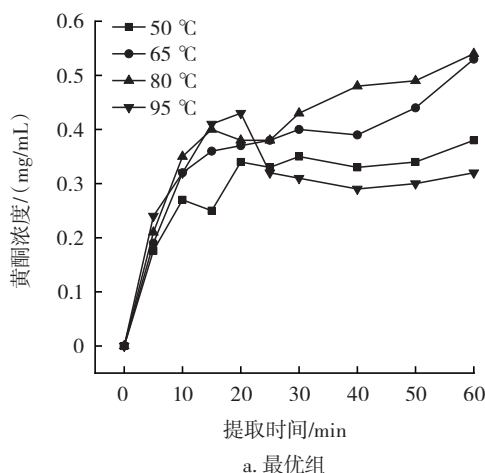
小写字母不同表示存在显著性差异。

图7 不同试验组合对鱼腥草黄酮得率的影响

Fig.7 Effects of different test combinations on yield of flavonoid from *H. cordata* Thunb.

由图7可知,当工艺条件为 $A_1B_2C_3D_2$ 时鱼腥草黄酮得率最高,为最优组合,即吐温 20 添加量为 1 g/L、提取温度为 80 ℃、乙醇浓度为 50%、料液比为 1:40 g/mL。

2.4 提取动力学分析



不同温度下,添加表面活性剂吐温 20(最优组)和未添加表面活性(对照组)对鱼腥草黄酮提取液浓度的影响结果分别如图 8-a、8-b 所示。

由图 8a、图 8b 可知,在 0~20 min 时,提取温度越

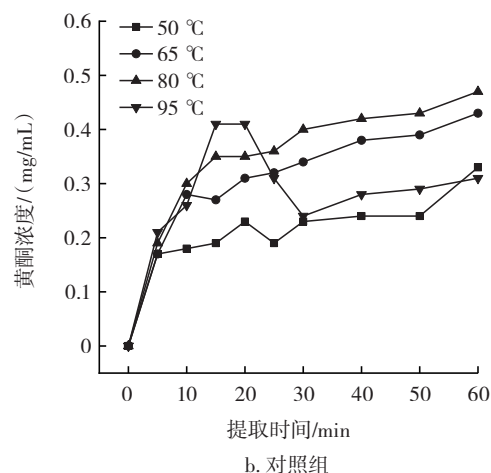


图8 不同温度对鱼腥草黄酮浓度的影响

Fig.8 Effects of different temperature on flavonoid concentration from *H. cordata* Thunb.

高,溶液中黄酮浓度就越大;在 20 min 后,提取温度为 50 ℃~80 ℃时,黄酮浓度整体上随着提取时间的增加而增加,95 ℃下提取一段时间后,黄酮浓度整体上随着时间的增加而减少,这是由于黄酮类化合物在温度过高时,会改变黄酮结构,从而发生热降解,如芦丁在 70 ℃下加热 2.0 h 后,芦丁的消耗量不到 10%,在 90 ℃下加热 2.0 h,芦丁含量损失达 50%,热降解程度会随加热温度和时间的增加而增加^[20]。鱼腥草中的黄酮类化合物主要物质是黄酮醇类化合物,主要有槲皮素及衍生物,含槲皮素、芦丁、金丝桃苷^[21],对热较为敏感。由此可知,在有效的温度范围内,提高温度能促进鱼腥草黄酮的浸出。最优组(添加吐温 20)和对照组相比,在相同提取温度时,最优组的黄酮浓度都普遍高于对照组的黄酮浓度,且提取温度低,差距明显,温度升高,差距逐渐缩小,说明吐温 20 可以提高黄酮的浸出,且在低温时对黄酮浸出的促进作用较大。吐温 20 可提高黄酮浸出率是由于其促溶作用,而高温下虽然可以降低吐温 20 的临界胶束浓度^[22],但由于高温增强了溶液中分子的碰撞,此时是热运动加速黄酮浸出为主导,从而相对地削弱了吐温 20 对黄酮浸出的促进作用。

2.5 提取动力学模型

采用式(3)对提取动力学试验数据进行拟合,拟合结果见表 5。

由表 5 可知,最优组中 R^2 在 50 ℃~80 ℃温度范围均大于 0.9,说明模型拟合效果好,可为鱼腥草黄酮提取过程的工程放大提供一定支持;而当温度为 95 ℃

表 5 动力学试验数据拟合结果

Table 5 Fitting results of kinetic experimental data

组别	温度/℃	$C_{\infty}/(\text{mg/mL})$	$D_s/(\text{cm}^2/\text{min})$	相关系数之平方(R^2)
最优组	50	0.342 463	$0.563\ 945 \times 10^{-5}$	0.942 688
	65	0.437 403	$0.427\ 335 \times 10^{-5}$	0.916 235
	80	0.476 065	$0.414\ 175 \times 10^{-5}$	0.928 068
	95	0.330 408	$1.587\ 485 \times 10^{-5}$	0.835 055
对照组	50	0.260 962	$0.388\ 107 \times 10^{-5}$	0.793 192
	65	0.381 668	$0.382\ 502 \times 10^{-5}$	0.941 623
	80	0.420 553	$0.443\ 529 \times 10^{-5}$	0.956 221
	95	0.308 348	$1.365\ 773 \times 10^{-5}$	0.759 590

时, R^2 低于 0.9,说明模型拟合效果不好,这是由于高温导致黄酮得率降低,而 Fick 模型只适用于未考虑到物质降解的非稳态扩散过程。 C_{∞} 为提取平衡时刻时鱼腥草黄酮的质量浓度。不管是最优组还是对照组,在温度为 50 ℃~80 ℃范围内, C_{∞} 随着温度的升高而升高;在相同温度下,最优组的 C_{∞} 都要比对照组的高;再次验证了吐温 20 在同样的提取温度下,可以提高黄酮得率。而当温度为 95 ℃时, C_{∞} 降低,这是因为高温导致黄酮热降解。

由于最优组 C_{∞} 、 D_s 随温度变化而变化,是温度的函数,因此采用二项式对 50 ℃~80 ℃的数据进行拟合,分别得到试验条件下最优组的 C_{∞} 、 D_s 随温度的变化规律,见式(4)、式(5)。

$$C_{\infty} = (-1.25 \times 10^{-4}) \times T^2 + (2.07 \times 10^{-2}) \times T - 3.80 \times 10^{-1} \quad (4)$$

$$D_s = (2.76 \times 10^{-9}) \times T^2 + (-4.08 \times 10^{-7}) \times T + 1.92 \times 10^{-5} \quad (5)$$

将式(4)、式(5)带入到式(3),取 $C_0=0$,最终得到

吐温 20 辅助提取鱼腥草黄酮的动力学模型, 见式(6)。

$$\frac{-1.25 \times 10^{-4} \times T^2 + 2.07 \times 10^{-2} \times T - 3.80 \times 10^{-1} - C}{-1.25 \times 10^{-4} \times T^2 + 2.07 \times 10^{-2} \times T - 3.80 \times 10^{-1}} = \frac{6}{\pi^2} \times \left[\exp \left[-\pi^2 \times \frac{2.76 \times 10^{-9} \times T^2 + (-4.08 \times 10^{-7}) \times T + 1.92 \times 10^{-5}}{R^2} \times t \right] \right] \quad (6)$$

3 结论

本法采用表面活性剂辅助提取鱼腥草中的黄酮, 通过单因素及正交试验确定最佳的提取工艺, 结果表明: 吐温 20 添加量为 1 g/L、提取温度为 80 ℃、乙醇浓度为 50%、料液比为 1:40 g/mL 的条件下提取 60 min, 黄酮提取率达到 2.59%, 该法操作简便, 节约成本, 得率较高。

在正交试验结果的基础上对鱼腥草黄酮进行动力学研究, 提取温度为 50 ℃~80 ℃时, 提高温度能促进黄酮的浸出, 95 ℃时由于热降解, 黄酮浓度随着时间的增加而减少。吐温 20 的添加, 能提高黄酮的浸出, 但这种提高在高温下会被削弱。利用 Fick 第二定律和二项式拟合, 最终得到在 50 ℃~80 ℃条件下, 吐温 20 辅助提取鱼腥草黄酮的动力学模型, 该模型 R^2 大于 0.9, 拟合效果较好。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 2020 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 234.
Chinese Pharmacopoeia Commission. The Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Volumes I)[M]. 2020 Edition. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 234.
- [2] 孙谦, 胡中海, 孙志高, 等. 鱼腥草的生物活性及其机理研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(23): 354-358.
SUN Qian, HU Zhonghai, SUN Zhigao, et al. Advances in biological activities and mechanisms of *Houttuynia cordata*[J]. Food Science, 2014, 35(23): 354-358.
- [3] 冯堃, 秦昭, 王文蜀, 等. 鱼腥草保健功能及开发利用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(7): 189-193.
FENG Kun, QIN Zhao, WANG Wenshu, et al. Research progress on nutritional and healthy functions of *Houttuynia cordata* thunb[J]. Food Research and Development, 2019, 40(7): 189-193.
- [4] 王利勤, 赵友兴, 周露, 等. 鱼腥草的化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(12): 1788-1790.
WANG Liqin, ZHAO Youxing, ZHOU Lu, et al. Chemical constituents of *Houttuynia cordata*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2007, 38(12): 1788-1790.
- [5] 刘泽静, 薛生玲, 夏雪, 等. 鱼腥草不同部位生物活性物质和抗氧化能力分析[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(6): 992-998.
LIU Zejing, XUE Shengling, XIA Xue, et al. Analysis of bioactive compounds and antioxidant capacities in *Houttuynia cordata*[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2016, 28(6): 992-998.
- [6] LI T, LIU L B, WU H L, et al. Anti-Herpes simplex virus type 1 activity of Houttuynoid A, a flavonoid from *Houttuynia cordata* Thunb. [J]. Antiviral Research, 2017, 144: 273-280.
- [7] 陈光华, 魏莹, 舒波. 鱼腥草总黄酮调控 PI3K/Akt 信号通路诱导人乳腺癌细胞株 MCF-7 凋亡的实验研究[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(4): 391-396.
CHEN Guanghua, WEI Ying, SHU Bo. Effect of total flavonoids of *Houttuynia* on apoptosis of human breast cancer cells MCF-7 induced by PI3K/Akt signaling pathway[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2020, 40(4): 391-396.
- [8] 赵强, 杨洁, 赵三虎, 等. 鱼腥草总黄酮提取及其药理作用研究进展[J]. 分子植物育种, 2019, 17(23): 7918-7923.
ZHAO Qiang, YANG Jie, ZHAO Sanhu, et al. Research progress on extraction of total flavonoids from *Houttuynia cordata* thunb and its pharmacological effect[J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(23): 7918-7923.
- [9] 李慧婷, 伍振峰, 万娜, 等. 浸提辅助剂在中药提取中的应用及研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 212-219.
LI Huiting, WU Zhenfeng, WAN Na, et al. Application and research progress of extraction auxiliary agents in extraction of traditional Chinese medicine[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2017, 23(23): 212-219.
- [10] 张世仙, 刘焱, 王正武, 等. 表面活性剂及其在食品工业中的应用[J]. 食品与机械, 2012, 28(6): 268-271.
ZHANG Shixian, LIU Yan, WANG Zhengwu, et al. Surfactant applications in the food industry[J]. Food & Machinery, 2012, 28(6): 268-271.
- [11] JIA Z S, TANG M C, WU J M. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals [J]. Food Chemistry, 1999, 64(4): 555-559.
- [12] 李薇, 吴士筠. 热浸法提取箬竹叶总黄酮的动力学试验[J]. 林业科技开发, 2015, 29(4): 106-109.
YUE Wei, WU Shijun. Kinetic research on extraction of total flavonoids from leaves of *Indocalamus tessellatus* by hot dipping[J]. China Forestry Science and Technology, 2015, 29(4): 106-109.
- [13] 刘存菊, 赵立党, 李稳宏, 等. 飞天蜈蚣七中黄酮提取的动力学[J]. 化工进展, 2012, 31(6): 1302-1305, 1313.
LIU Cunju, ZHAO Lidang, LI Wenhong, et al. Kinetic model on the extraction of flavonoids from *Aralia chinensis* L[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2012, 31(6): 1302-1305, 1313.
- [14] ZHANG S B, WANG T. Destabilization of emulsion formed during aqueous extraction of peanut oil: Synergistic effect of tween 20 and pH[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2016, 93(11): 1551-1561.
- [15] YAZDI A S. Surfactant-based extraction methods[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2011, 30(6): 918-929.
- [16] 俞浩, 毛斌斌, 刘汉珍. 表面活性剂协同超声波优化牯岭勾儿茶总黄酮提取工艺[J]. 食品工业科技, 2015, 36(20): 244-247.
YU Hao, MAO Binbin, LIU Hanzhen. Optimization of surfactant as-

- sisted with ultrasonic extraction technology of total flavonoids from *Berchemia kulingensis* Schneid[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(20): 244–247.
- [17] 季晓晖. 表面活性剂强化微波提取玉米须总黄酮及其稳定性研究[J]. 中国饲料, 2016(11): 14–18.
- JI Xiaohui. Study on microwave extraction of total flavonoids from corn silk enhanced by the surfactant and its stability[J]. China Feed, 2016(11): 14–18.
- [18] 阮尚全, 周玉萍, 罗雪, 等. 榴莲皮中总黄酮的提取及其抗氧化活性[J]. 内江师范学院学报, 2017, 32(4): 57–62.
- RUAN Shangquan, ZHOU Yuping, LUO Xue, et al. On extraction of flavonoids in durian peel and its anti-oxidative activity[J]. Journal of Neijiang Normal University, 2017, 32(4): 57–62.
- [19] 王晓林, 王文姣, 钟方丽, 等. 表面活性剂辅助提取黄芪茎总黄酮及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(1): 28–33.
- WANG Xiaolin, WANG Wenjiao, ZHONG Fangli, et al. Surface active agent assisted extraction of total flavonoids and its antioxidant activity from astragalus stems[J]. Food Research and Development, 2017, 38(1): 28–33.
- [20] CHAABAN H, IOANNOU I, CHEBIL L, et al. Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(5): e13203.
- [21] 郭艳华, 许江扬. 鱼腥草总黄酮的提取纯化及黄酮类型的初步鉴定[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 287–291.
- GUO Yanhua, XU Jiangyang. Extraction and purification of houttuyniae cordata flavonoids and identification of flavonoids type[J]. Food Science, 2007, 28(9): 287–291.
- [22] MAHMOOD, M E, AL-KOOFEE D A F. Effect of temperature changes on critical micelle concentration for tween series surfactant[J/OL]. Global Journal of Science Frontier Research Chemistry, 2013, 13(4): 1–7.

加工编辑: 孟琬星

收稿日期: 2021–03–24