

老山芹降血糖功能成分提取及活性研究

赵玉红¹, 李佳启¹, 马捷¹, 王路^{2,*}

(1.东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040;

2.哈尔滨工业大学化工学院, 黑龙江哈尔滨 150090)

摘要:为增加老山芹资源的开发利用价值,以老山芹为原料,采用不同溶剂(不同浓度乙醇溶液、甲醇、乙酸乙酯)超声波辅助提取老山芹活性成分,以 α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率为指标,确定适宜的提取溶剂,并通过单因素和响应面优化试验确定可保留老山芹降血糖功能成分的最佳提取条件。结果表明:适宜的提取溶剂为80%乙醇溶液,优化后的提取条件为超声温度49℃,超声时间114.5 min,料液比1:15.3(g/mL),在此条件下得到老山芹提取液对 α -葡萄糖苷酶抑制率为 $69.52\% \pm 1.13\%$, α -淀粉酶抑制率为 $56.38\% \pm 0.96\%$,二者的 IC_{50} 分别为0.169、0.339 mg/mL。老山芹可以作为具有降血糖功能的抑制 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的物质来源。

关键词:老山芹, α -葡萄糖苷酶抑制率, α -淀粉酶抑制率,提取

Extraction and Activity of Hypoglycemic Functional Components from *Heraclum dissectum*

ZHAO Yu-hong¹, LI Jia-qi¹, MA Jie¹, WANG Lu^{2,*}

(1.School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

2.School of Chemical Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract:To increase the value of *Heraclum dissectum* resource development and utilization, *Heraclum dissectum* was used as raw materia. The raw material was treated with different solvents (different concentrations of ethanol, methanol or ethyl acetate) to determine the proper extraction solution and the appropriate extraction solvent was determined by the inhibitory rate of α -glucosidase and α -amylase were chosen as indicator. And determined the optimal extraction conditions for the hypoglycemic functional component of *Heraclum dissectum* by single factor and response surface methods. The results showed that the optimum extraction solution was 80% ethanol, and the optimal extraction conditions were as follows: ultrasonic temperature was 49℃, ultrasonic time was 114.5 min and solid-liquid ratio was 1:15.3 g/mL. Under this condition, the inhibitory rate of α -glucosidase reached $69.52\% \pm 1.13\%$ and the inhibitory rate of α -amylase reached $56.38\% \pm 0.96\%$. The IC_{50} were 0.169 and 0.339 mg/mL respectively. *Heraclum dissectum* would be capable as source of α -glucosidase and α -amylase inhibitory for hypoglycemic function.

Key words: *Heraclum dissectum*; α -glucosidase inhibitory; α -amylase inhibition; extraction

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2018)16-0177-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.16.032

引文格式: 赵玉红, 李佳启, 马捷, 等. 老山芹降血糖功能成分提取及降血糖活性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(16): 177-182, 207.

糖尿病作为一种慢性综合代谢疾病发病率逐年升高,其特征是慢性高血糖和绝对或相对缺乏胰岛素^[1],长期患糖尿病易引起白内障^[2]、贫血^[3]、中风^[4]及心血管疾病^[5]等并发症,危及生命,严格的血糖控制可以降低此类风险的发生^[6]。为适应现代人的生活需求和拓展糖尿病治疗的新型方式,以食源性原料提取降血糖功能成分对糖尿病的治疗具有重要意义。现研究降血糖效果一般可通过 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率的体外检测^[7-8]和饲养、分析小

鼠的体内检测^[9-10]进行。周爱玉^[11]对藏药绿萝花进行研究,得出绿萝花提取物对 α -葡萄糖苷酶的半数抑制浓度为0.267 mg/mL。王会^[12]通过对香蕉花进行研究,得出香蕉花提取物对 α -葡萄糖苷酶的半数抑制浓度为0.788 mg/mL。尚禹东等^[13]通过研究银杏叶,得出银杏叶提取物对蔗糖酶的半数抑制浓度为0.758 mg/mL, α -淀粉酶的半数抑制浓度为0.910 mg/mL。本文通过对老山芹提取物的 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的半数抑制浓度的测定,研究老山

收稿日期:2017-11-27

作者简介:赵玉红(1968-),女,博士,副教授,研究方向:林特产品精深加工,E-mail:zhao@nefu.edu.cn。

*通讯作者:王路(1973-),女,博士,副教授,主要从事天然产物加工及生物活性应用方面的研究,E-mail:hitwanglu@hit.edu.cn。

基金项目:十三五国家重点研发计划项目(2016YFC0500307-07);黑龙江省自然科学基金(B2015003)。

芹的降血糖效果。

老山芹,学名东北牛防风,别名短毛白芷、土当归、山芹菜等,为分布于我国新疆、黑龙江和吉林等地的伞形科独活属多年生草本植物^[14],在朝鲜、俄罗斯等国山地混杂林缘、灌木丛中、山坡草地等处也有分布,是一种兼备食用和药用保健价值的春季山林野生蔬菜,被誉为山野菜中的“绿色黄金”。具有扶正固本、强健身体、抗疲劳等功能,尤其对风湿、类风湿、高血糖等疾病的痊愈具有显著的食疗效果。全株可入药,味甘辛,性凉,具备清热解毒,净化血液,降低血糖和血压的效用^[15]。国内外对老山芹的研究集中在对老山芹的培养方式以及化学成分的研究^[16-19],缺乏老山芹降血糖作用及成分的研究。

本文以老山芹为原料,以 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率为评价指标,采用超声波辅助提取法,以不同浓度的乙醇溶液、甲醇和乙酸乙酯进行提取,确定适宜的提取溶剂,运用响应面优化法对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶具有抑制效果的成分的提取条件进行优化。为提高老山芹深加工利用水平和将老山芹应用于降血糖方面提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

老山芹粉末(新鲜老山芹于50℃烘箱中烘干后,粉碎过80目筛) 吉林白山; α -葡萄糖苷酶(70万U/mL) 上海源叶生物科技有限公司; α -淀粉酶(4000U/g) 上海源叶生物科技有限公司;对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(生物技术级) 上海源叶生物科技有限公司;甲醇、乙醇、乙酸乙酯、氯化钠、氯化钾、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、可溶性淀粉、碳酸钠 国产分析纯,天津市天力化学试剂有限公司。

YP-2002型电子天平 上海佑科仪器仪表有限公司;DK-98-II A型电热恒温水浴锅 天津市泰斯特仪器有限公司;DHG-9240型电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒仪器有限责任公司;TDL-40B-W型台式低速大容量离心机 上海星科科学仪器有限公司;RE-2000A型旋转蒸发器 巩义市予华仪器有限责任公司;RT-6000型酶标仪 深圳雷杜生命科学有限公司;KQ-300DE型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;PHS-3E型pH计 上海仪电科学仪器股份有限公司;SHZ-D III型予华牌循环水真空泵 巩义市予华仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 提取溶剂的筛选 准确称取7份老山芹粉末各3g于烧瓶中,超声功率210W,超声温度50℃,超声时间120min,料液比1:15(g/mL),分别加入20%、40%、60%、80%的乙醇溶液以及无水乙醇、甲醇和乙酸乙酯进行提取,于4000r/min离心机中离心10min,取上清液过滤,在50℃旋转蒸发器中减压浓缩。平行3组实验,考察不同提取溶剂的老山芹提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制效果的影响。

1.2.2 提取条件单因素实验 提取溶剂为80%乙醇

溶液,超声功率210W,超声时间120min,料液比1:15(g/mL)。按以上超声波提取条件,考察超声温度为40、50、60、70、80℃条件下老山芹提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果的影响。

提取溶剂为80%乙醇溶液,超声功率210W,超声温度50℃,料液比1:15(g/mL)。按以上超声波提取条件,考察超声时间为60、90、120、150、180min条件下老山芹提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果的影响。

提取溶剂为80%乙醇溶液,超声功率210W,超声温度50℃,超声时间120min。按以上超声波提取条件,考察料液比为1:10、1:15、1:20、1:25、1:30(g/mL)条件下老山芹提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果的影响。

1.2.3 提取条件响应面优化试验 根据单因素试验结果,选出酶抑制效果适宜的因素和水平,根据Box-Behnken试验设计^[20-21],对超声温度,超声时间和料液比进行3因素3水平的响应面试验,优化超声波辅助提取条件^[22-23]。试验因子和水平如表1所示。

表1 试验因子和水平表

Table 1 Factors and levels in the experimental design

因子	水平		
	-1	0	1
A 超声温度(℃)	40	50	60
B 超声时间(min)	110	120	130
C 料液比(g/mL)	1:10	1:15	1:20

1.2.4 α -葡萄糖苷酶抑制率的测定 参照包美丽等^[24]的方法稍作修改,将96孔板加入0.5U/mL的 α -葡萄糖苷酶液50 μ L,0.5mg/mL老山芹提取液(按提取浓缩液以蒸馏水稀释)100 μ L,混合均匀,于37℃孵育10min后,加入10mmol/LPNPG50 μ L,于37℃水浴10min后,加入0.1mol/LNa₂CO₃100 μ L终止反应,高速振荡混合均匀后,在酶标仪上于405nm处测定吸光度A₁,另取100 μ LpH6.8磷酸盐缓冲液代替老山芹提取液,测定吸光度A₀,再测定只有老山芹提取液反应体系的吸光度A₂。利用经过响应面优化后的提取条件得到提取液,将2mg/mL的原液分别稀释1、3、5、7、9、11、13倍后测定 α -葡萄糖苷酶活性被抑制50%时的抑制剂浓度,即IC₅₀^[25-26]。每组试验3次平行,公式如下^[27]。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}(\%) = [(A_1 - A_0) / A_2] \times 100$$

1.2.5 α -淀粉酶抑制率的测定 96孔板加入0.5U/mL的 α -淀粉酶液50 μ L,0.5mg/mL老山芹提取液100 μ L,混合均匀,于37℃孵育10min后,加入0.2%淀粉溶液50 μ L,于37℃水浴10min后,加入显色剂(5mmol/LI₂和5mmol/LKI溶于1mol/LHCl)100 μ L终止反应,高速振荡混合均匀后,在酶标仪上于620nm处测定吸光度A₁,另取100 μ LpH6.8磷酸盐缓冲液代替老山芹提取液,测定吸光度A₀,再测定只有老山芹提取液反应体系的吸光度A₂。利用经过响应面优化后的提取条件得到提取液,将

2 mg/mL的原液分别稀释 1、3、5、7、9、11、13 倍后测定 α -淀粉酶活性被抑制 50% 时的抑制剂浓度^[28], 即 IC₅₀。每组试验 3 次平行, 公式如下。

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率}(\%) = [(A_1 - A_0) / A_2] \times 100$$

1.3 数据处理

采用 Microsoft office Excel 2013、Origin 8.5、Design-Expert 8.0.5、SPSS 20.0 进行数据处理、图表制作及数据分析。结果表示为平均值 \pm 标准差的形式。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择结果

不同提取溶剂提取出的降血糖功能成分对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果如图 1 所示。

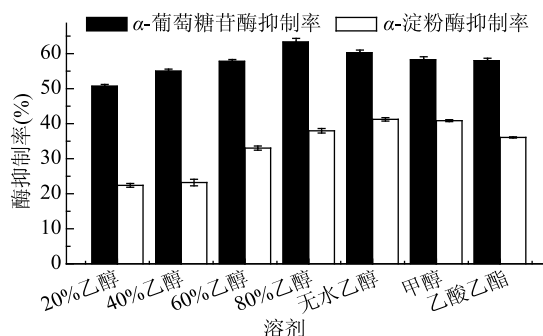


图 1 溶剂种类对酶抑制率的影响

Fig.1 Effect of solvent types on enzyme inhibition rate

由图 1 可见, 使用 80% 乙醇溶液作提取溶剂对于 α -葡萄糖苷酶的抑制效果高于其他溶剂 ($p < 0.05$), 抑制率为 63.62%。其他提取溶剂的抑制效果依次为无水乙醇 > 甲醇 > 乙酸乙酯 > 60% 乙醇溶液 > 40% 乙醇溶液 > 20% 乙醇溶液。而对于 α -淀粉酶抑制率, 使用无水乙醇作为提取溶剂效果最高为 41.79%, 其他提取溶剂的抑制效果依次为甲醇 > 80% 乙醇溶液 > 乙酸乙酯 > 60% 乙醇溶液 > 40% 乙醇溶液 > 20% 乙醇溶液。由于乙醇的溶解性能较好, 对植物细胞的穿透能力较强, 亲水性的成分除蛋白质、粘液质、果胶、淀粉和部分多糖外, 大都能在乙醇中溶解, 且乙醇毒性小, 价格便宜, 来源方便, 有一定设备即可回收反复使用, 而且乙醇的提取液不易发霉变质。甲醇性质与乙醇相似, 沸点较低, 但有剧毒性。综合以上分析, 80% 乙醇和无水乙醇为适宜提取溶剂, 从经济效益方面考虑, 选择 80% 乙醇溶液作为后续研究提取溶剂。

2.2 单因素实验

2.2.1 超声温度对老山芹提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果的影响 不同超声温度提取出的降血糖功能成分对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果如图 2 所示。

由图 2 可见, α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率均在 40~50 $^{\circ}\text{C}$ 呈上升趋势, 在 50 $^{\circ}\text{C}$ 时酶抑制率达到最高, 此时, α -葡萄糖苷酶抑制率为 68.25%, α -淀粉酶抑制率为 58.13%。此后, 随着温度不断上升, α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率均处于不断降低的状态。原因可能是一定范围内温度的升

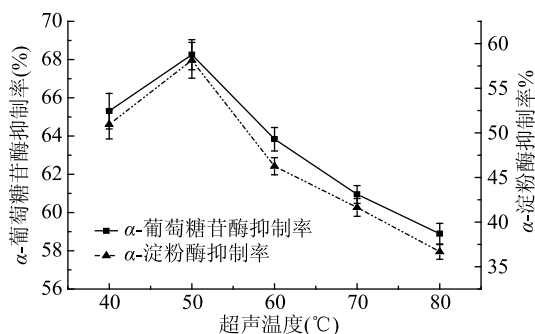


图 2 超声温度对酶抑制率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic temperature on enzyme inhibition rate

高使得分子运动速度加快, 溶质的传质系数与扩散速度均有所升高, 从而有助于降血糖活性物质的溶出; 然而, 温度超出一定范围, 会使部分活性成分分解, 致使酶抑制率降低。综合以上数据分析, α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率均在 50 $^{\circ}\text{C}$ 时效果最佳。因此, 可以确定老山芹提取物对酶抑制率效果最佳超声温度为 50 $^{\circ}\text{C}$, 以下实验将在 50 $^{\circ}\text{C}$ 下进行提取。

2.2.2 超声时间对老山芹提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果的影响 不同超声时间提取出的降血糖功能成分对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果如图 3 所示。

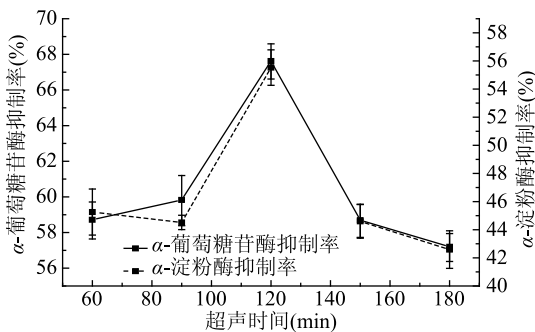


图 3 超声时间对酶抑制率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic time on enzyme inhibition rate

由图 3 可见, α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率均在 60~120 min 之间呈上升趋势, 并且在 120 min 时酶抑制率达到最高, 此时, α -葡萄糖苷酶抑制率为 67.60%, α -淀粉酶抑制率为 55.53%。此后, 随着时间增大, α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率均处于不断降低的状态。原因可能是饱和和溶液中, 超声时间过长可能会引起部分活性物质的分解。故综合以上数据分析, α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率均在 120 min 时效果最佳。因此, 可以确定老山芹提取物对酶抑制率效果最佳超声时间为 120 min, 以下实验将在 120 min 下进行提取。

2.2.3 料液比对老山芹提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果的影响 不同料液比提取出的降血糖功能成分对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制效果如图 4 所示。

由图 4 可见, α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率均在料液比 1:15 g/mL 时酶抑制率效果最好, 分别为 68.97% 和 51.53%。当料液比为 1:20、1:25 和 1:30 (g/mL) 时, α -葡萄糖苷酶抑制率和

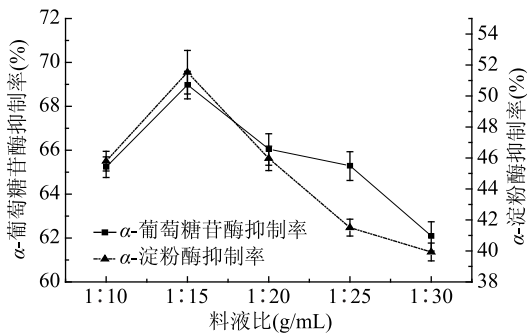


图4 料液比对酶抑制率的影响

Fig.4 Effect of solid-liquid ratio on enzyme inhibition rate

α -淀粉酶抑制率逐渐下降。随着提取溶剂的增加,有效成分扩散达到平衡时的浓度减小,残留在植物组织中的有效成分的量就越小,且在料液比为1:15 (g/mL)左右取得最大值;随着提取溶剂的进一步增加,可能导致其他成分的溶出而影响有效成分的提取。综合以上数据分析, α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率均在料液比1:15 (g/mL)时最佳。因此,可以确定老山芹提取物对酶抑制率效果最佳料液比为1:15 (g/mL),以下实验将在1:15 (g/mL)下进行提取。

2.3 响应面优化提取工艺

2.3.1 响应面试验结果 对提取老山芹中抑制 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶成分方法的响应面优化试验结果如表2所示。

表2 响应面优化试验结果

Table 2 Results of response surface optimization

实验号	A	B	C	α -葡萄糖苷酶抑制率(%)	α -淀粉酶抑制率(%)
1	-1	0	-1	64.42	38.04
2	0	0	0	69.39	53.96
3	0	1	1	64.02	38.04
4	1	0	1	63.31	38.81
5	0	0	0	68.49	54.13
6	1	1	0	64.24	42.16
7	0	0	0	68.78	54.39
8	-1	1	0	66.13	46.62
9	0	0	0	67.30	53.95
10	0	0	0	67.67	53.68
11	1	-1	0	66.52	49.10
12	0	-1	-1	66.95	40.92
13	0	1	-1	64.01	40.74
14	1	0	-1	63.58	40.45
15	0	-1	1	65.91	48.76
16	-1	-1	0	66.58	48.42
17	-1	0	1	64.73	45.00

2.3.2 方差分析结果 α -葡萄糖苷酶抑制率的方差分析结果如表3所示。

由表3可知,模型的 F 值为12.27, p 值 <0.05 ,说明此模型达到显著水平,而失拟项的 p 值 >0.05 ,说

表3 方差分析表(α -葡萄糖苷酶抑制率)

Table 3 Variance analysis table (the inhibitory rate of alpha glucosidase)

方差来源	平方和 SS	自由度 DF	均方 MS	F 值	$Pr > F$
模型	56.06	9	6.23	12.27	0.0016
A	2.22	1	2.22	4.36	0.0751
B	7.14	1	7.14	14.07	0.0072
C	0.12	1	0.12	0.24	0.6383
AB	0.84	1	1.84	1.65	0.2400
AC	0.084	1	0.084	0.17	0.6962
BC	0.28	1	0.28	0.54	0.4852
A^2	14.19	1	14.19	27.94	0.0011
B^2	1.63	1	1.63	3.22	0.1159
C^2	25.91	1	25.91	51.02	0.0002
残差	3.55	7	0.51		
失拟项	0.71	3	0.24	0.33	0.8049
纯误差	2.85	4	0.71		
总变异	59.61	16			
R^2	0.9409				
CV(%)	1.08				

明回归方程对于实际情况来说较吻合,试验误差比较小,故可用回归方程对试验结果进行分析和预测。 $B > A > C$,说明3个因子对于老山芹提取物对酶抑制率效果的影响顺序为:超声时间 $>$ 超声温度 $>$ 料液比。由 p 值可知,A、C因素对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用不显著,B因素对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用显著($p < 0.05$),而三个因素彼此的交互作用AB、AC、BC对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用均不显著。

三个因子经过拟合得到的回归方程为: $Y_1 = -95.43050 + 2.37538A + 1.55070B + 2.46685C - 4.57500 \times 10^{-3}AB - 2.90000 \times 10^{-3}AC + 5.25000 \times 10^{-3}BC - 0.018355A^2 - 6.23000 \times 10^{-3}B^2 - 0.099220C^2$ 。

α -淀粉酶抑制率方差分析结果如表4所示。

由表4可知,模型的 F 值为561.88, p 值 <0.001 ,说明此模型达到显著水平,而失拟项的 p 值 >0.05 ,说明回归方程对于实际情况来说较吻合,试验误差比较小,故可用回归方程对试验结果进行分析和预测。 $B > C > A$,说明3个因子对于老山芹提取物对酶抑制率效果的影响顺序为:超声时间 $>$ 料液比 $>$ 超声温度。由 p 值可知,A、B、C三因素以及三个因素彼此的交互作用AB、AC、BC均可极显著影响 α -淀粉酶的抑制率($p < 0.01$)。

三个因子经过拟合得到的回归方程为: $Y_2 = -738.14850 + 6.58600A + 8.27590B + 19.47970C - 0.012850AB - 0.043000AC - 0.052700BC - 0.044935A^2 - 0.029535B^2 - 0.35814C^2$ 。

2.3.3 响应面图和等高线图分析 α -葡萄糖苷酶抑制率响应面图和等高线图如图5~图7所示。

各因素交互作用对 α -葡萄糖苷酶抑制率影响的响应曲面以及等高线如图5、图6和图7所示。在单因素实验后所选择的范围内存在极值,是响应面

表4 方差分析表(α -淀粉酶抑制率)
Table 4 Variance analysis table
(the inhibition rate of alpha amylase)

方差来源	平方和 SS	自由度 DF	均方 MS	F 值	Pr > F
模型	621.51	9	69.06	561.88	<0.0001
A	7.14	1	7.14	58.13	0.0001
B	48.22	1	48.22	392.31	<0.0001
C	13.68	1	13.68	111.28	<0.0001
AB	6.60	1	6.60	53.74	0.0002
AC	18.49	1	18.49	150.44	<0.0001
BC	27.77	1	27.77	225.97	<0.0001
A ²	85.02	1	85.02	691.73	<0.0001
B ²	36.73	1	36.73	298.84	<0.0001
C ²	337.54	1	337.54	2746.34	<0.0001
残差	0.86	7	0.12		
失拟项	0.59	3	0.20	2.87	0.1675
纯误差	0.27	4	0.068		
总变异	622.37	16			
R ²	0.9986				
CV (%)	0.76				

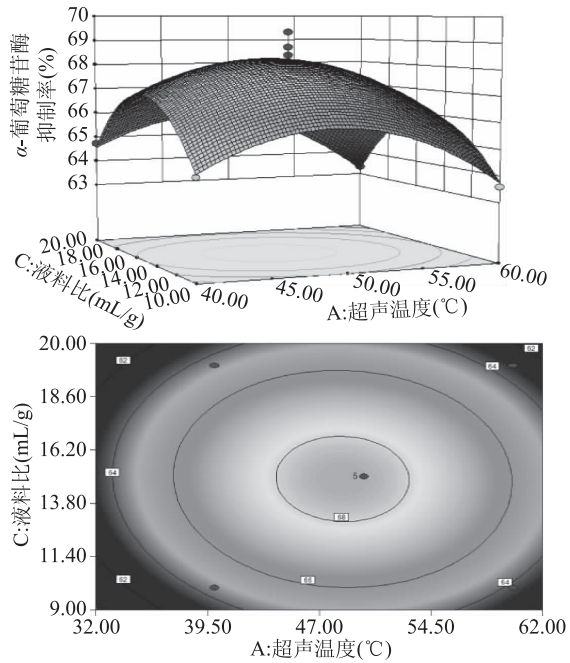


图6 $Y_1 = f(A, C)$ 的响应面图和等高线图

Fig.6 Response surface and contour drawing on $Y_1 = f(A, C)$

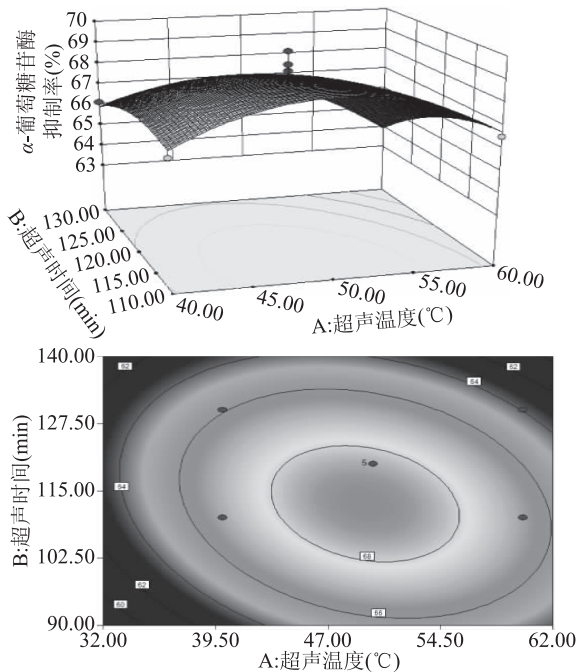


图5 $Y_1 = f(A, B)$ 的响应面图和等高线图

Fig.5 Response surface and contour drawing on $Y_1 = f(A, B)$

的最高点。响应面图坡度的陡峭程度直观反应了各因素对响应值的影响,两两因素间均有交互作用,交互效应的强弱由等高线的形状反映,椭圆形表示两因素之间的交互作用显著,圆形则正好相反。其中,超声温度和超声时间的交互作用最强,表现为所对应的等高线偏椭圆;提取温度和料液比的交互作用最弱,表现为等高线偏圆。

α -淀粉酶抑制率的响应面图和等高线图分析如图8~图10所示。

各因素交互作用对 α -淀粉酶抑制率影响的响

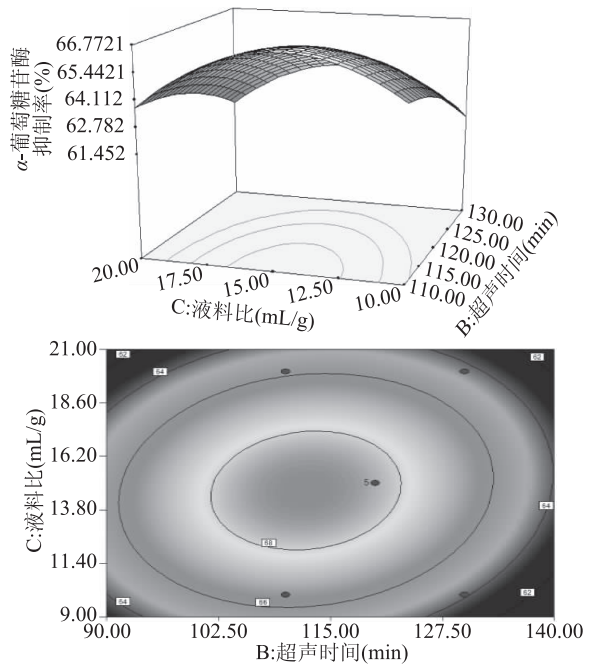
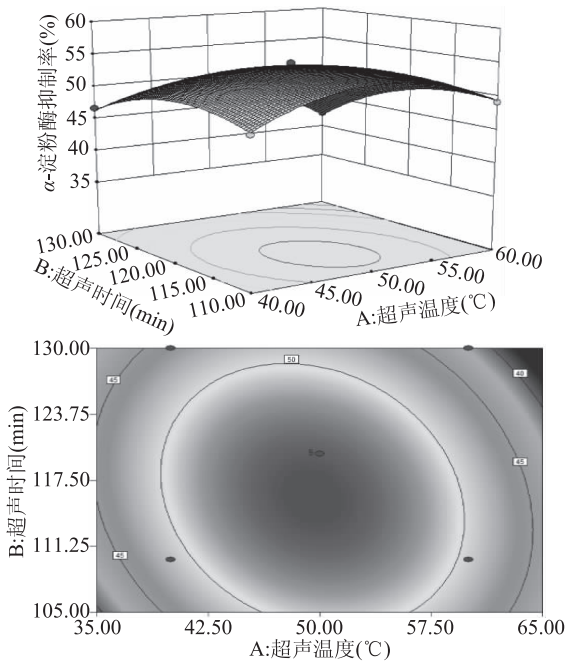
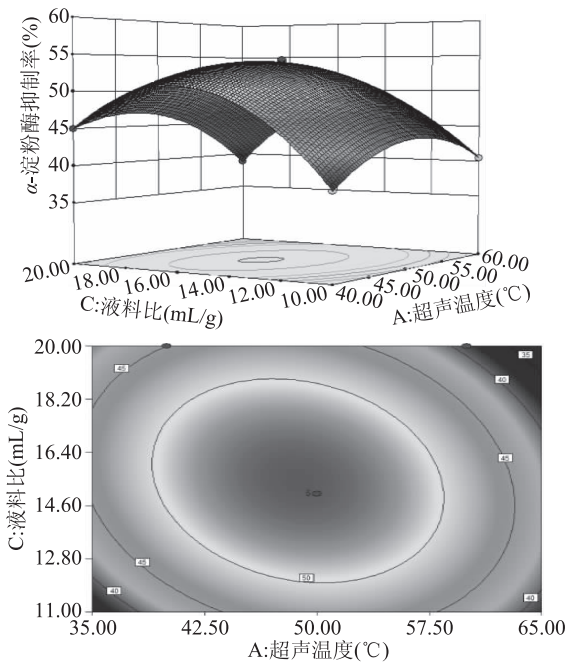


图7 $Y_1 = f(B, C)$ 的响应面图和等高线图

Fig.7 Response surface and contour drawing on $Y_1 = f(B, C)$

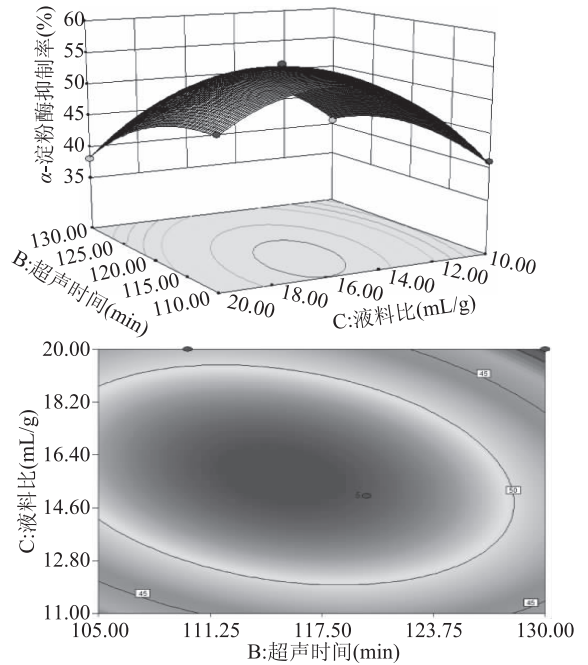
应曲面以及等高线如图8、图9和图10所示。在单因素实验后所选择的范围内存在极值,是响应面的最高点。响应面图坡度的陡峭程度直观反应了各因素对响应值的影响,两两因素间均有交互作用,交互效应的强弱由等高线的形状反映,椭圆形表示两因素之间的交互作用显著,圆形则正好相反。其中,超声时间与温度、液料比与超声温度、超声时间与液料比三者的交互作用对 α -淀粉酶抑制率影响较强,表现为所对应的等高线呈椭圆。

2.3.4 最佳提取工艺条件的确定及验证 利用 Design-Expert 中的 Box-Behnken 模型,在回归方程基础上

图8 $Y_2 = f(A, B)$ 的响应面图和等高线图Fig.8 Response surface and contour drawing on $Y_2 = f(A, B)$ 图9 $Y_2 = f(A, C)$ 的响应面图和等高线图Fig.9 Response surface and contour drawing on $Y_2 = f(A, C)$

计算得出理论上最佳提取工艺条件为: 超声温度 49.37 °C, 超声时间 114.54 min, 料液比 1: 15.31 g/mL。在此条件下, α -葡萄糖苷酶抑制率理论上为 70.6405%, α -淀粉酶抑制率为 56.6247%。

为了检验试验结果与理论情况是否一致, 在 80% 乙醇溶液、超声温度 49 °C、超声时间 114.5 min、料液比 1: 15.3 g/mL 的试验条件下重复 3 次试验, α -葡萄糖苷酶抑制率平均为 69.52% \pm 1.13%, α -淀粉酶抑制率平均为 56.38% \pm 0.96%, 与理论值均较为接近, 故说明回归模型得出的经过优化后的提取条件是正确可行的。经过 IBM SPSS Statistics 回归分

图10 $Y_2 = f(B, C)$ 的响应面图和等高线图Fig.10 Response surface and contour drawing on $Y_2 = f(B, C)$

析, 老山芹提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用的 IC_{50} 为 0.169 mg/mL, 对 α -淀粉酶的抑制作用的 IC_{50} 为 0.339 mg/mL。

3 结论

通过单因素和响应面优化试验, 综合回归模型分析和验证试验, 从老山芹中提取对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶有抑制作用的物质的最佳条件为: 80% 乙醇溶液、超声温度 49 °C、超声时间 114.5 min、料液比 1: 15.3 g/mL。在此条件下, α -葡萄糖苷酶抑制率为 69.52% \pm 1.13%, α -淀粉酶抑制率为 56.38% \pm 0.96%, 半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 0.169 和 0.339 mg/mL。说明老山芹提取物中含有抑制 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性的物质。

参考文献

- [1] Zhang Y, Hu T, Zhou H L, et al. Antidiabetic effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 83: 126-132.
- [2] N Auger, T Tang, J Healy-Profittós, et al. Gestational diabetes and the long-term risk of cataract surgery: A longitudinal cohort study [J]. *Journal of Diabetes and its Complications*, 2017, 31 (11): 1565-1570.
- [3] R Gauci, M Hunter, DG Bruce, et al. Anemia complicating type 2 diabetes: Prevalence, risk factors and prognosis [J]. *Journal of Diabetes and its Complications*, 2017, 31 (7): 1169.
- [4] TC Turin, T Okamura, N Rumana, et al. Diabetes and lifetime risk of stroke and subtypes in an urban middle-aged population [J]. *Journal of Diabetes and its Complications*, 2017, 31 (5): 831-835.
- [5] K Cem, S Schipf, T Itermann, et al. Comparison of traditional

(下转第 207 页)

180-185.

[15] 薛俊峰, 王忠孝, 赵玉兰, 等. 气相色谱-质谱法检测人血浆中的盐酸丙哌维林及其氮氧化物[J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(7): 479-481.

[16] Yu Z H, Wu Z P, Gong F J, et al. Simultaneous determination of six toxic alkaloids in human plasma and urine using capillary zone electrophoresis coupled to time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Separation Science, 2012, 35(20): 2773-2780.

[17] Ali A E, Parisa N E, Esmail H B, et al. Determination of atropine sulfate using a novel sensitive DNA-biosensor based on its interaction on a modified pencil graphite electrode [J]. Talanta, 2015, 31: 149-155.

[18] 胡兴娟, 吴宁鹏, 孟蕾, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉、猪肝及猪尿中的阿托品残留[J]. 中国兽药杂志,

2014, 48(7): 46-49.

[19] 张珂盛, 忻兰文. HPLC 法测定硫酸阿托品滴眼液中硫酸阿托品的含量[J]. 中国药师, 2015, 18(7): 1243-1245.

[20] 王立琦, 贺利民, 曾振灵, 等. 液相色谱-串联质谱检测兽药残留中的基质效应研究进展[J]. 质谱学报, 2011, 32(6): 322-332.

[21] 向平, 沈敏, 卓先义. 液相色谱-质谱分析中的基质效应[J]. 分析测试学报, 2009, 28(6): 753-756.

[22] Matuszewski B K, Constanzer M L, Chavez-Eng C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. Analytical Chemistry, 2003, 75: 3019-3030.

[23] GB/T 27404-2008. 实验室质量控制规范食品理化检测国家标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

(上接第 182 页)

diabetes risk scores and HbA1c to predict type 2 diabetes mellitus in a population based cohort study [J]. Journal of Diabetes and its Complications, 2017, 31(11): 1602-1607.

[6] Lin K K, Park C, Li M Z, et al. Effects of depression, diabetes distress, diabetes self-efficacy, and diabetes self-management on glycemic control among Chinese population with type 2 diabetes mellitus [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2017, 131: 179-186.

[7] Megh R B, Nilubon J A, GAO H, et al. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata* Haw.) [J]. Food Chemistry, 2008, 106(1): 247-252.

[8] 周涵黎, 吴悠, 李婷, 等. 洋葱多肽的凝胶色谱分离及体外降糖活性研究[J]. 食品科技, 2016, 41(9): 235-238.

[9] D Shahwar, S Ullaha, M Ahmad, et al. Hypoglycemic activity of *Ruellia tuberosa* Linn (Acanthaceae) in normal and alloxan-induced diabetic rabbits [J]. Journal - Chemical Society of Pakistan, 2011, 7(2): 107-115.

[10] 宁月宝, 陈丽娟. 发酵固态黑蒜大蒜素提取及小鼠降血糖研究[J]. 食品科技, 2016, 41(1): 185-189.

[11] 周爱玉. 藏药绿萝花化学成分及降糖生物活性的研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2016.

[12] 王会. 香蕉花提取物抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分研究[D]. 海口: 海南大学, 2013.

[13] 尚禹东, 张郑瑶, 丁云录, 等. 银杏叶提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用及其降血糖作用机制[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2011, 37(3): 427-432.

[14] 李富恒, 刘增兵, 崔巍金琦, 等. 老山芹生长发育规律及主要性状相关性分析[J]. 东北农业大学学报, 2017, 48(1): 15-22, 32.

[15] 刁绍起, 朱楠楠, 孙广仁. 山芹菜营养成分分析与加工特性[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(10): 48-50.

[16] 信小娟, 刘成学, 李玉成. 大兴安岭山野菜老山芹栽培技

术[J]. 防护林科技, 2016(8): 120-121.

[17] 高阳, 杨敏飞, 苏娅萍, 等. 老山芹根中亲脂性化学成分的 GC-MS 分析[J]. 西北药学杂志, 2014, 29(4): 344-347.

[18] Gao Y, Liu Y, Wang Z G, et al. Chemical constituents of *Heracleum dissectum* and their cytotoxic activity [J]. Phytochemistry Letters, 2014, 10: 276-280.

[19] Zhang H L, Su Y P, Wang X R, et al. Antidiabetic activity and chemical constituents of the aerial parts of *Heracleum dissectum* Ledeb [J]. Food Chemistry, 2017, 214: 572-579.

[20] 代燕丽, 沈维治, 廖森泰, 等. 响应面法优化超声波辅助提取桑叶多酚工艺[J]. 热带作物学报, 2016, 37(8): 1588-1594.

[21] 刘韞滔. 梭柄松苞菇提取物中降血糖活性成分的分离纯化和结构鉴定[D]. 无锡: 江南大学, 2014.

[22] 吴伟, 张云, 向福. 响应面法优化龙葵皂苷类成分的提取工艺[J]. 河南农业科学, 2016, 45(9): 153-157, 162.

[23] 江磊, 梅丽娟, 刘增根, 等. 响应面法优化枸杞叶粗多糖提取纯化工艺及其降血糖活性[J]. 食品科学, 2013, 34(4): 42-46.

[24] 包美丽, 杨添植, 张立钢, 等. 双酶法制备马鹿茸降血糖肽工艺优化及其对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果[J]. 食品科学, 2017, 38(6): 88-95.

[25] Lin Y H. Determination of IC50 for nine medicinal plants against α -Glucosidase activity [J]. Medicinal Plant, 2012(12): 116-118.

[26] 李波, 包怡红, 高峰, 等. 红松球鳞片多酚对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 食品工业科技, 2015, 36(1): 63-65, 69.

[27] Gao H, Huang Y N, Gao B, et al. α -Glucosidase inhibitory effect by the flower buds of *Tussilago farfara* L [J]. Food Chemistry, 2008, 106(3): 1195-1201.

[28] 柳余莉, 杨文康, 刘合生, 等. 杨梅多酚粗提物对 α -葡萄糖苷酶体外抑制作用的研究[J]. 果树学报, 2016, 33(1): 59-65.

欢迎订阅 《食品工业科技》