

高速剪切-超声联合提取鸡树条荚蒾果降血糖成分的工艺研究

符群, 王梦丽, 李卉, 吴桐

(东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要: 为了高效制备鸡树条荚蒾果实中的降血糖成分, 本研究以 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶抑制率为考察指标, 优化了高速剪切-超声联合法辅助乙醇提取荚蒾果中降血糖成分的工艺。采用响应面法对主要工艺参数进行优化, 方差分析结果表明: 回归模型较好地反映了酶抑制率与剪切转速、料液比、提取温度之间的关系。最佳工艺条件: 高速剪切乳化机转速为 18000 r/min, 料液比为 1:19 (g/mL), 提取温度为 60 °C, 超声时间为 40 min, 剪切时间为 120 s, 超声功率为 270 W, 此时提取物的双酶综合抑制率(65.89±1.03)%, 其中 α -葡萄糖苷酶抑制率为(72.11±0.86)%, α -淀粉酶抑制率为(56.57±1.05)%。此条件下测得 α -葡萄糖苷酶抑制率的 IC_{50} 为 0.844 mg/mL, α -淀粉酶抑制率的 IC_{50} 为 1.422 mg/mL。高速剪切-超声联合法提取物的综合抑制率较普通超声法提高了 11.39% ($p<0.01$), 较单一高速剪切法提高了 13.64% ($p<0.01$)。

关键词: 鸡树条荚蒾果; 高速剪切-超声联合; 工艺; α -葡萄糖苷酶抑制率; α -淀粉酶抑制率

文章编号: 1673-9078(2018)11-157-164

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.025

High-speed Shear-Ultrasonic Combination Extraction of Hypoglycemic Components from the Fruits of *Viburnum sargentii* Koehne

FU Qun, WANG Meng-LI, LI Hui, WU Tong

(School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: In this paper, α -glucosidase and α -amylase inhibition rate were used as indicators to optimize the process of high-speed shear-ultrasonic combination with ethanol assisted extraction of hypoglycemic components from the fruits of *Viburnum sargentii* Koehne. Regression coefficient and analysis showed that the regression model fitted the actual process well. Based on the results of response surface methodology, the best extraction process parameters were ascertained as follows: the high speed shear dispersing emulsifier' speed is 18000 r/min, the solid-liquid ratio is 1:19 (g/mL), the extraction temperature is 60 °C, the ultrasonic time is 40 min, shear cutting time is 120 s, ultrasonic power is 270 W. Under these conditions, the comprehensive inhibition rate was (65.89±1.03)%, the α -glucosidase inhibition rate was (72.11±0.86)%, and the α -amylase inhibition rate was (56.57±1.05)%. The IC_{50} were 0.844 mg/mL, and 1.422 mg/mL respectively. Comparing enzyme inhibition rate, high-speed shear-ultrasonic combination was 11.39% ($p<0.01$) higher than the ultrasound method and 13.64% ($p<0.01$) higher than the high-speed shear method.

Key words: fruits of *Viburnum sargentii* Koehne; high-speed shear-ultrasonic combination; technology; α -glucosidase inhibition; α -amylase inhibition

鸡树条荚蒾 (*Viburnum sargentii* Koehne) 为忍冬科 (Caprifoliaceae) 荚蒾属 (*Viburnum* Linn.) 落叶灌木, 天然资源颇为丰富, 主要分布于我国东北、西北、华北地区, 朝鲜、日本、欧洲等地也有分布^[1], 可入药治疗跌打损伤, 腰酸腿疼。果实含绿原酸、儿茶素等多酚化合物、黄酮化合物、多糖类等活性成分, 且

含量均高于叶和茎; 含 16 种氨基酸, 其中 6 种为人体必需氨基酸, 占总量的 24.81%; 多种微量元素: Fe、Cu、Zn、Mn 等^[1]; 丰富的维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 C; 此外还含有挥发油、熊果酸等萜类、生物碱类和甾体类成分^[2-4]。对于其功效的研究, 国内主要有抗氧化、抗炎、抑菌、止咳等, 国外还有抗肿瘤、降血糖等方面的研究报道^[5-7]。Kunihisa Iwai^[6]等研究发现, 用荚蒾果实的冻干粉喂食小鼠, 其血浆中葡萄糖含量显著降低; 且证实荚蒾果中含有抑制酶活性的成分为花青素 3-桑布糖苷以及 5-咖啡酰奎宁酸。

收稿日期: 2018-06-29

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目 (2016YFC0500307-07)

作者简介: 符群 (1974-), 博士, 高级工程师, 研究方向: 天然产物分离与制备工艺

天然活性物质的高效提取是对原料精深加工、获得高附加值产品、实现最大利用价值的关键技术。对于活性物质的提取目前多采用单一方式如：加热回流法、索氏提取法、超声提取法等，提取效率偏低，费时且能耗大。本研究采用高速剪切-超声联合法辅助乙醇提取，高速剪切分散乳化机由定子和配有多刀头的转子组成，转速在 10000~24000 r/min。机器运行时在底部形成负压，产生强烈的机械剪切效应及气蚀作用，使物料分子的运动速率骤增，在定子、转子和容器内壁之间高速往复运动^[8,9]；而超声波具有特有的空化作用^[13]、机械效应及热效应，可增大介质的分子穿透力^[10,11]。两种提取方法协同增强对原料细胞壁破坏，使提取物有效溶出，提高得率，缩短时间和能耗。

糖尿病是一类引起各项器官损伤和功能障碍的慢性疾病，已成为世界第三大严重威胁人类健康的非传染病^[12]。目前针对降血糖功效的研究主要采用体外酶抑制、细胞实验和动物实验等。

体外试验法主要利用 α -葡萄糖苷酶抑制剂和 α -淀粉酶抑制剂可有效抑制酶活，阻碍食物中碳水化合物以及糖类分解代谢，参照抑制率表征出抑制剂在体内的降血糖水平^[13]。选择天然食源性原料为研究对象，不仅实现原材料的高值化加工，提高天然产物的综合利用率，而且对高血糖的干预途径进行创新性探索，具有重要的研究意义。

目前国内关于鸡树条荚蒾的研究还是以园艺、观赏类为主，对于其活性成分及功能性的研究相对较少。本文采用高剪切-超声联合法辅助乙醇提取鸡树条荚蒾果中的活性物质并测定其对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制率，旨在为鸡树条荚蒾的进一步加工与应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与主要试剂

鸡树条荚蒾鲜果：黑龙江省萝北林业局林场提供。

α -葡萄糖苷酶：上海源叶生物科技有限公司； α -淀粉酶：上海源叶生物科技有限公司；4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷（PNPG）：上海源叶生物科技有限公司；3,5-二硝基水杨酸、酒石酸钾钠、氢氧化钠等均为国产分析纯。

1.2 主要仪器设备

酶标分析仪（EPOCH12）：BioTek Instruments, Inc.；数控超声波清洗器（KQ-300DE）：昆山市超声仪器有限公司；FA25 高速剪切分散乳化机：上海弗鲁

克流体机械制造有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原料预处理

原料去杂，45 °C 烘干，破碎为 60 目粉末，冷藏保存。

1.3.2 单因素试验

准确称取 2 g 原料粉，用 70%乙醇溶液进行提取。在前期预实验基础上，选取显著影响因素：剪切转速（12000、15000、18000、21000、24000 r/min），料液比（1:10、1:20、1:30、1:40、1:50（g/mL）），提取温度（40、50、60、70、80 °C），在 270 W 功率下超声 40 min，剪切处理 120 s。研究三组因素不同水平对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制率影响，每组实验做三组平行。

1.3.3 响应面优化试验

在单因素试验的基础上，采用中心组合 Box-Behnken Design 设计试验、建立回归模型，得到最佳提取条件。

1.3.4 α -葡萄糖苷酶抑制率的测定方法

参照 Kim J S 等的方法^[14-16]，略作修改。取 2.5 mg/mL 荚蒾果提取物 100 μ L 于 96 孔板中，再加入 1.5 U/mL 的 α -葡萄糖苷酶溶液 50 μ L，在 37 °C 条件下孵育使酶活化，15 min 后加入 10 mg/mL 的底物 PNPG 溶液 50 μ L，于 37 °C 水浴 10 min 后，加入 1 mol/L 的 Na_2CO_3 溶液 10 μ L 终止反应，高速震荡混合均匀，用酶标仪在波长 405 nm 处测定吸光度 A_1 为样品组；测定只有荚蒾果提取物反应体系的吸光度 A_2 为对照组，再取 100 μ L 的磷酸盐缓冲溶液代替荚蒾果提取物，测定其吸光度 A_0 为空白组。每组实验做 5 组平行，按照公式（1）计算抑制率。

$$\text{抑制率 (\%)} = \left[1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \right] \times 100\% \quad (1)$$

1.3.5 α -淀粉酶抑制率的测定方法

参照 Johnson M H 等的方法，略作修改^[17-19]。取 2.5 mg/mL 荚蒾果提取物 100 μ L 于 96 孔板中，再加入 1.5 U/mL 的 α -淀粉酶溶液 50 μ L，在 37 °C 条件下孵育使酶活化，15 min 后加入 1.0%的可溶性淀粉溶液 50 μ L，于 37 °C 水浴 10 min 后，加入 1 mol/L 的 DNS 溶液 5 μ L 终止反应，高速震荡混合均匀，用酶标仪在波长 540 nm 处测定吸光度 A_1 为样品组；测定只有荚蒾果提取物反应体系的吸光度 A_2 为对照组；再取 100 μ L 的磷酸盐缓冲溶液代替荚蒾果提取物，测定其吸光度 A_0 为空白组。每组实验做 5 组平行，按照公式（1）计算抑制率。

1.4 数据处理

本文采用 Excel 2016、Origin 8.6、Design-Expert 8.0.6 进行绘图及数据分析、SPSS 20.0 软件对数据处理及 Duncan's 差异显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 提取物对两种酶抑制率的单因素试验结果

2.1.1 剪切转速对酶抑制率的影响

在料液比 1:30 g/mL, 超声时间 40 min, 剪切时间 120 s, 提取温度 60 °C, 超声功率 270 W 的条件下研究不同的剪切转速对鸡树条荚蒾果提取物的 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率的影响。结果如图 1 所示。

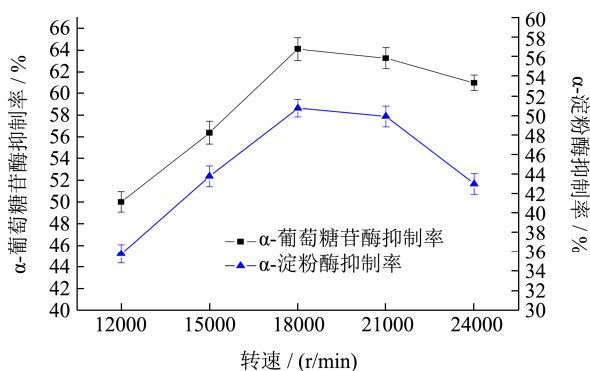


图 1 剪切转速对酶抑制率的影响

Fig.1 Effect of shearing speed on inhibition rate enzymes

由图 1 可知: 随着剪切转速的增加, 荚蒾果提取物对两种酶的抑制率持续上升, 当转速达到 18000 r/min 时均达到最大值, 高速剪切乳化机转速的增加使得机械剪切效应、气蚀作用增强, 使原料中降血糖活性物质逐渐溶出。此时 α -葡萄糖苷酶抑制率为 $(64.11 \pm 1.06)\%$, α -淀粉酶抑制率为 $(50.73 \pm 0.914)\%$ 。转速进一步增强易造成物料升温使提取物失活, 体系产生焦糊现象, 导致酶的抑制活性下降。选择转速 18000 r/min 为最优值。

2.1.2 料液比对酶抑制率的影响

剪切转速 18000 r/min, 超声时间 40 min, 剪切时间 120 s, 提取温度 60 °C, 超声功率 270 W 的条件下研究不同的料液比对荚蒾果提取物的 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率的影响, 如图 2 所示。由图 2 可得料液比为 1:20 (g/mL) 时荚蒾果提取物对两种酶产生最大抑制率: α -葡萄糖苷酶抑制率为 $(67.07 \pm 0.91)\%$ 、 α -淀粉酶抑制率为 $(54.36 \pm 1.19)\%$ 。随着料液比减小, 原

料相对于提取溶剂的量降低, 提取物在低浓度下稳定性差, 导致酶抑制率降低, 且试剂的大量使用带来成本的提高。因此选取料液比 1:20 为最佳条件。

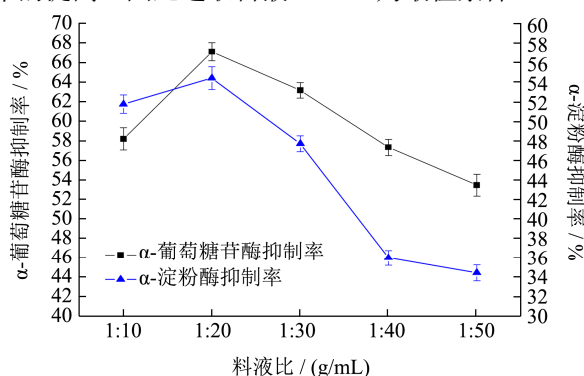


图 2 料液比对酶抑制率的影响

Fig.2 Effect of solid-liquid ratio on enzyme inhibition rate

2.1.3 提取温度对酶抑制率的影响

在料液比 1:30 (g/mL), 剪切转速 18000 r/min, 超声时间 40 min, 剪切时间 120 s, 超声功率 270 W 的条件下研究不同的温度对鸡树条荚蒾果提取物的 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率影响, 如图 3 所示。

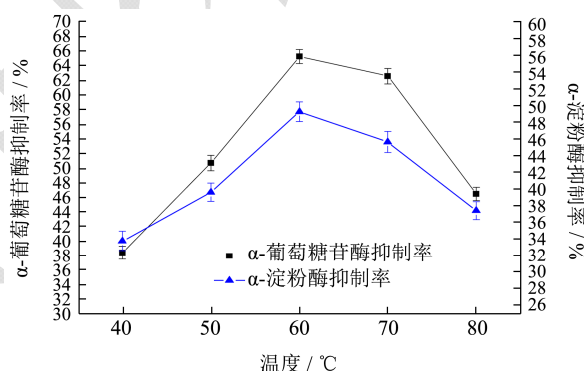


图 3 提取温度对酶抑制率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on enzyme inhibition rate

由图 3 可得, 随温度的提高荚蒾果提取物对两种酶的抑制率逐步增大, 在 60 °C 时达到最大值, α -葡萄糖苷酶抑制率为 $(65.25 \pm 0.96)\%$, α -淀粉酶抑制率为 $(49.23 \pm 1.18)\%$ 。较 α -淀粉酶抑制率而言荚蒾果提取物对 α -葡萄糖苷酶抑制率的影响受温度变化幅度较大。在超过 70 °C 时两种酶的抑制率均显著下降, 可见过高的温度不仅影响提取物活性, 同时导致竞争性杂质溶出, 降低荚蒾果提取物对酶的抑制率。选取 60 °C 为最佳提取温度。

2.2 响应面优化结果

(1) 以单因素试验为基础设计响应面试验, 结果如表 1 所示。

表 1 响应面试验设计结果

Table 1 The results of response surface optimization

试验号	A 转速/ (r/min)	B 料液比/ (g/mL)	C 温度/℃	α-葡萄糖苷酶抑制率/%	α-淀粉酶抑制率/%	综合抑制率/%
1	18000	1:30	50	51.67	43.33	48.33
2	18000	1:20	60	71.86	57.67	66.18
3	18000	1:20	60	71.67	59.14	66.65
4	21000	1:10	60	68.92	40.17	57.42
5	15000	1:10	60	55.34	35.97	47.59
6	18000	1:10	70	57.25	45.34	52.49
7	15000	1:20	50	56.29	36.05	48.19
8	21000	1:30	60	62.33	36.17	51.87
9	15000	1:20	70	45.98	32.16	40.45
10	21000	1:20	50	60.67	38.15	51.66
11	18000	1:30	70	58.33	49.69	54.86
12	18000	1:20	60	70.78	57.25	65.37
13	15000	1:30	60	54.34	41.67	49.27
14	18000	1:20	60	69.67	55.77	64.11
15	18000	1:20	60	68.26	59.14	64.61
16	18000	1:10	50	57.34	48.32	53.73
17	21000	1:20	70	65.34	41.36	55.75

注：综合抑制率=α-葡萄糖苷酶抑制率×60%+α-淀粉酶抑制率×40%。

利用 Design-Expert 软件进行优化,剪切转速(A)、料液比 (B)、提取温度 (C) 二次多项式回归拟合,得到综合抑制率对三个因素的回归方程为:

$$Y=65.38+3.9\times A-0.86\times B+0.21\times C-1.81\times A\times B+2.96\times A\times C+1.94\times B\times C-8.95\times A^2-5.25\times B^2-7.78\times C^2$$
 (2)

利用 Design-Expert 软件进行方差分析结果见表

2。由表 2 可得,模型的 F 值为 37.73, $p<0.01$, 说明该模型极显著,失拟项的 $p>0.05$, 不显著。 $R^2=0.9798$, 校正决定系数(R^2_{Adj}): 0.9538。说明拟合度好,多项式回归方程对于实际情况来说较吻合,试验误差小,方程的显著性、可靠性高,可以反应响应值的变化。故可用回归方程对试验结果进行分析和预测。

表 2 方差分析结果

Table 2 Analysis of variance for quadric regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	948.91	9	105.43	37.73	<0.0001	**
A	121.68	1	121.68	43.54	0.0003	**
B	5.95	1	5.95	2.13	0.1878	
C	0.34	1	0.34	0.12	0.7389	
AB	13.07	1	13.07	4.68	0.0674	
AC	34.99	1	34.99	12.52	0.0095	**
BC	15.09	1	15.09	5.4	0.0531	
A ²	310.92	1	310.92	111.26	<0.0001	**
B ²	116.2	1	116.2	41.58	0.0004	**
C ²	254.74	1	254.74	91.16	<0.0001	**
残差	19.56	7	2.79			
失拟项	15.1	3	5.03	4.52	0.0897	
纯误差	4.46	4	1.11			
总和	968.48	16				

注：*表示差异显著, $p<0.05$; **表示差异极其显著, $p<0.01$ 。

对回归模型显著性分析可得: A、AC、 A^2 、 B^2 、 C^2 对综合抑制率有极显著的影响 ($p<0.01$), B、C、AB、BC 影响不显著 ($p>0.05$)。由 F 值可得, 各因素对综合抑制率的影响顺序为: 转速 (A)>料液比 (B)>提取温度 (C)。

(3) 响应面图和等高线图分析

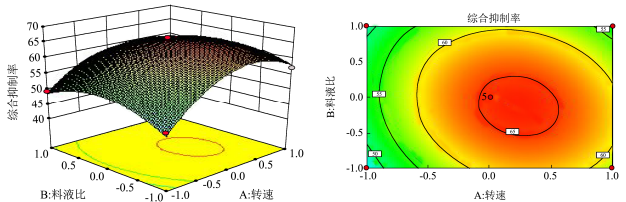


图 4 转速和料液比对综合抑制率交互影响的响应面图和等高线图

Fig.4 Response surface diagram and contour plots of interaction effects of speed and solid-liquid ratio on the overall inhibition rate

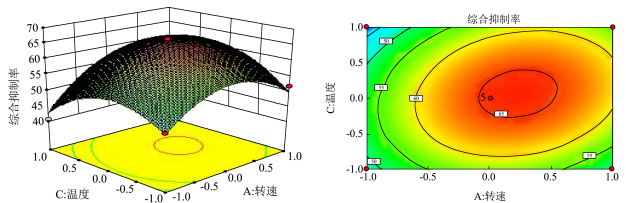


图 5 转速和温度对综合抑制率交互影响的响应面图和等高线图

Fig.5 Response surface diagram and contour plots of interaction effects of speed and temperature on the overall inhibition rate

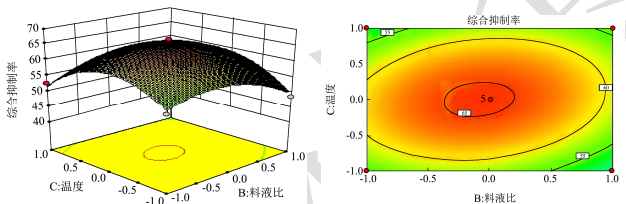


图 6 料液比和温度对综合抑制率交互影响的响应面图和等高线图

Fig.6 Response surface diagram and contour plots of interaction effects of solid-liquid ratio and temperature on comprehensive inhibition rate

分析图 4~6 可得出剪切转速 (A)、料液比 (B) 和提取温度 (C) 之间的交互作用对酶综合抑制率的影响。由图 4 可知, 转速的响应曲面比料液比的响应曲面陡峭, 说明转速对酶的综合抑制率较料液比更为显著。由图 6 可知, 料液比和温度的变化曲面均相对平缓, 可得料液比、温度对酶综合抑制率均不显著, 与方差分析相符。当等高线呈密集的椭圆形和马鞍形时, 说明两因素交互作用显著; 呈现圆形时说明因素间交互作用不显著^[11]。由图 5 可知, 等高线密集且偏椭圆形, 说明转速和温度对酶的综合抑制率的交互作用显著。由图 4 可知, 等高线呈现圆形, 说明转速和料液比之间的交互作用不显著, 与方差分析结果相符。

2.3 最佳条件确定和回归模型验证试验结果

通过响应面分析得到高速剪切-超声联合法辅助乙醇提取鸡树条荚蒾果提取物对酶抑制率的最佳工艺条件为: 高速剪切乳化机的转速为 18630 r/min, 料液比 1:19 (g/mL), 提取温度 60.4 °C, 超声时间 40 min, 剪切时间 120 s, 超声功率 270 W。此条件下, 对两种酶的综合抑制率(65.91 ± 0.74)%, 其中 α -葡萄糖苷酶抑制率为 (71.57 ± 0.91)%, α -淀粉酶抑制率为 (57.42 ± 0.93)%。

为实际操作中更便于产业化控制, 调整最佳工艺为: 高速剪切乳化机的转速 18000 r/min, 料液比 1:19 (g/mL), 提取温度 60 °C, 超声时间 40 min, 剪切时间 120 s, 超声功率 270 W。在此条件下进行最优工艺的验证, 得到 α -葡萄糖苷酶抑制率为(72.11 ± 0.86)%, α -淀粉酶抑制率为(56.57 ± 1.05)%, 计算得出综合抑制率为(65.89 ± 1.03)%, 与理论值接近。

2.4 对比不同提取方式的降血糖活性

根据优化结果, 分别使用单一超声法: 料液比 1:19 (g/mL), 提取温度 60 °C, 超声时间 40 min, 超声功率 270 W; 单一高速剪切法: 高速剪切乳化机的转速 18000 r/min, 料液比 1:19 (g/mL), 提取温度 60 °C, 剪切时间 120 s 分别用 70%乙醇进行提取, 并测定 2.5 mg/mL 提取物的酶抑制率。结果如表 3 所示。

表 3 3 种提取方式对酶抑制率的影响

Table 3 Effect of three extraction methods on enzyme inhibition rate

提取方式	高速剪切法	超声法	高速剪切-超声联合
α -葡萄糖苷酶抑制率/%	56.82 ± 1.66^d	60.52 ± 0.72^c	72.11 ± 0.86^a
α -淀粉酶抑制率/%	45.40 ± 1.25^c	45.48 ± 1.09^c	56.57 ± 1.05^a
综合抑制率/%	52.25 ± 0.96^d	54.50 ± 0.75^c	65.89 ± 1.13^a

注: 同行字母相同表示差异不显著 ($p>0.05$), 字母不相同表示差异显著 ($p<0.05$), 字母相间表示差异极显著 ($p<0.01$)。

由表 3 可知, 高速剪切-超声联合法提取的荚蒾果提取物对 α -葡萄糖苷酶抑制率、 α -淀粉酶抑制率、以及综合抑制率都有极显著的提升 ($p<0.01$)。不同提取方法提取的鸡树条荚蒾果提取物对综合抑制率的大小为: 高速剪切-超声联合法>单一超声法>单一高速剪切法。高速剪切-超声联合法比单一超声法提高 11.39%, 比单一高速剪切法提高 13.64%。

2.5 荚蒾果提取物 IC_{50} 的测定及主要活性成分分析

2.5.1 荚蒾果提取物 IC_{50} 的测定

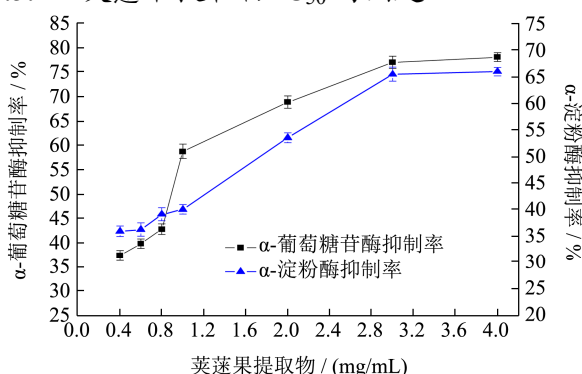


图 7 不同浓度的提取物对酶抑制率的影响

Fig.7 Effect of different concentrations of extract on inhibition rate enzymes

采用优化的工艺条件进行提取, 对荚蒾果提取物

表 4 提取物主要活性成分分析

Table 4 Analysis of main active components of extracts

活性物质	总黄酮	总多酚	可溶性多糖	花色苷	绿原酸
含量/(mg/g)	79.55±0.68	110.76±0.54	56.89±0.62	3.28±1.14	4.87±0.93

3 结论

3.1 通过单因素和响应面优化实验, 综合回归模型分析和验证试验得出 60 目的荚蒾果粉以高剪切-超声法辅助乙醇提取的最优工艺为: 高速剪切乳化机的转速 18000 r/min, 料液比 1:19 (g/mL), 提取温度 60 °C, 超声时间 40 min, 剪切时间 120 s, 超声功率 270 W。在此条件下进行最优工艺的验证, 得到 α -葡萄糖苷酶抑制率为 (72.11±0.86)%, α -淀粉酶抑制率为 (56.57±1.05)%, 综合抑制率为 (65.89±1.03)%。并测得 α -葡萄糖苷酶抑制作用的 IC_{50} 为 0.844 mg/mL, α -淀粉酶抑制作用的 IC_{50} 为 1.422 mg/mL。

3.2 超声法和高速剪切法均可进行活性物质的高效提取^[25,26]。超声法具有很强的分散力, 可利用空化作用产生局部的高温高压以及巨大的冲击力和微射流来打开团聚的颗粒、破碎细胞壁^[27]。高速剪切法是通过

梯度稀释, 测定不同浓度提取物的酶抑制率。结果如图 7 所示。

用 IBM SPSS 回归分析, 得出荚蒾果提取物对 α -葡萄糖苷酶抑制作用的 IC_{50} 为 0.844 mg/mL, 对 α -淀粉酶抑制作用的 IC_{50} 为 1.422 mg/mL。张晓英等^[20]对绿罗花用 70%乙醇浸泡过夜, 超声波处理 2 h 得提取物的蔗糖酶、麦芽糖酶、 α -淀粉酶抑制率的 IC_{50} 分别为 0.82 mg/mL、0.84 mg/mL、1.23 mg/mL。赵玉红^[21]等对老山芹在料液比 1:60、提取温度 80 °C、提取时间 3 h 条件下热水回流提取, 得到提取物的 α -葡萄糖苷酶抑制作用的 IC_{50} 为 1.37 mg/mL, α -淀粉酶抑制作用的 IC_{50} 为 2.45 mg/mL。与相似研究对比可知, 作为一种植物资源活性物质, 荚蒾果提取物具有一定的降血糖活性, 且高速剪切-超声联合提取是一种能有效地节约时间和成本的工艺方法。

2.5.2 荚蒾果提取物主要活性成分分析

采用最优的组合工艺提取荚蒾果中的活性物质, 并参考文献^[22-24]测定果实粉中可能存在的主要活性成分如: 黄酮、多酚、多糖、花色苷、绿原酸的含量, 进行分析。测定结果如表 4 所示。由表 4 可知, 用高剪切-超声联合辅助醇法提取的鸡树条荚蒾果实中以总多酚、总黄酮化合物的含量为主, 多糖的含量次之。初步判定荚蒾果实中酚类物质可能是降血糖的主要活性成分, 而提取物成分与酶抑制的相关性研究, 将在之后试验中展开。

机器产生强大的剪切力, 使得物料发生分裂、破碎并均匀分散于介质中^[28]。超声波具有较强的破碎细胞外壁作用, 而对于内部活性物质充分溶出不彻底^[29]; 高速剪切法易使成分溶出, 但破碎物料耗时较长, 长时间的剪切作用易造成成分氧化、糊化, 活性降低^[30]。基于两种方法各有利弊, 本研究采用超声-高剪切联合法提取活性物质并测定提取物对两种酶的抑制率。通过两种单一提取方法分别与高速剪切-超声联合法的结果对比, 得出高速剪切-超声联合法对葡萄糖苷酶抑制率、淀粉酶抑制率均有显著的提升, 且显著地缩短了提取时间和能耗。本试验为活性物质的提取提供了一条新思路, 为荚蒾果中有效成分的分离纯化、功能性质的研究奠定良好的基础。

3.3 综上所述, 高速剪切乳化机的机械剪切效应以及气蚀作用和超声波的空化作用相互协同, 能较好的提高提取效率, 节约时间、降低生产成本, 采用高速剪

切-超声联合法辅助乙醇提取茛菪果提取物能良好保留其降血糖活性,且显著优于单一的提取方法。在茛菪类果的活性成分提取工艺中,通过组合设计超声及高速剪切型非标设备,可高效获得优良活性的提取物,对茛菪属植物产业链延长、高值化产品的产业化推广应用具有指导意义。

参考文献

- [1] 李攀登,李金玲,王宏伟,等.鸡树条茛菪化学成分测定分析[J].人参研究,2009,21(2):16-19
LI Pan-deng, LI Jin-ling, WANG Hong-wei, et al. Analysis of chemical compositions in *Viburnum sargentii* Koehne [J]. Ginseng Research, 2009, 21(2): 16-19
- [2] 杜凤国,刁绍起.天目琼花果实的营养成分[J].东北林业大学学报,2007,1:84-85
DU Feng-guo, RAN Shao-qi. Nutritional components of the *Viburnum sargentii* Koehne [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2007, 1: 84-85
- [3] 宋扬.鸡树条茛菪果实中酚类成分的研究[D].吉林大学,2015
Song Yang. Study on the phenolic components in the fruits of *Viburnum sargentii* Koehne [D]. Jilin University, 2015
- [4] Ranilla, LG, Kwon, YI, Apostolidis, E, Shetty, K. Phenolic compounds, antioxidant activity and *in vitro* inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(12): 4676-4689
- [5] Iwai K, Kim M Y, Onodera A, et al. Alpha-glucosidase inhibitory and antihyperglycemic effects of polyphenols in the fruit of *Viburnum dilatatum* Thunb [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(13): 4588-92
- [6] Iwai K, Onodera A H. Inhibitory effects of *Viburnum dilatatum* Thunb. (gamazumi) on oxidation and hyperglycemia in rats with streptozotocin-induced diabetes
- [7] Bae K E, Chong H S, Kim D S, et al. Compounds from *Viburnum sargentii* Koehne and evaluation of their cytotoxic effects on human cancer cell lines [J]. Molecules, 2010, 15(7): 4599
- [8] Hua J N, Feng Z F, Liu Y F, et al. Extraction kinetics research of flavonoids from radix astragali based on high shear dispersing emulsifier [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2012, 40(5): 752-756
- [9] 赵玉红,林洋,张立钢,等.黑木耳多糖高剪切分散乳化法与酶法提取的比较研究[J].食品与机械,2016,4:181-186
Zhao Yu-hong, Lin Yang, Zhang Li-gang, et al. Comparison of extraction process of polysaccharide of *Auricularia auricular* [J]. Food and Machine, 2016, 4: 181-186
- [10] Wang K, Li M, Wen X, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) polysaccharides based on response surface methodology and antioxidant activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 114: 1056
- [11] 符群,李卉,王振宇,等.减压-超声辅助醇法提取薇菜黄酮及其对抗氧化活性的影响[J].现代食品科技,2018,34(3):113-120
FU Qun, LI Hui, Wang ZHEN-yu, et al. Effect of decompression-ultrasonic-assisted alcohol extraction on *Osmanthus* flavonoids and their antioxidant activity [J]. Modern Food Science & Technology, 2018, 34(3): 113-120
- [12] 马梦梅.孜然膳食纤维改性及降血糖活性研究[D].中国农业科学院,2016
MA Meng-mei. Study on modified dietary fiber and hypoglycemic activity [D]. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016
- [13] 程佳.玉米须提取物降血糖活性研究[D].吉林大学,2014
CHENG Jia. Study on hypoglycemic activity of corn silk extract [D]. Jilin University, 2014
- [14] Kim J S, Hyun T K, Kim M J. The inhibitory effects of ethanol extracts from sorghum, foxtail millet and proso millet on α -glucosidase and α -amylase activities [J]. Food Chemistry, 2011, 124(4): 1647-1651
- [15] Jdir H, Khemakhem B, Chakroun M, et al. Diplotaxis simplex, suppresses postprandial hyperglycemia in mice by inhibiting key-enzymes linked to type 2 diabetes [J]. Revista Brasileira De Farmacognosia, 2015, 25(2): 152-157
- [16] Hodehinde S A, Oyeleye S I, Olasehinde T A, et al. Lasianthera Africana, leaves inhibits α -amylase α -glucosidase, angiotensin-I converting enzyme activities and Fe^{2+} -induced oxidative damage in pancreas and kidney homogenates [J]. Oriental Pharmacy & Experimental Medicine, 2017, 17(1): 1-9
- [17] 符群,李卉,王路,等.球磨法和均质法改善薇菜粉物化及功能性质[J].农业工程学报,2018,34(9):285-291
FU Qun, LI Hui, WANG Lu, et al. Ball milling and homogenization improving physicochemical and functional properties of *Osmunda Japonica* Thunb [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2018, 34(9): 285-291

- [18] Johnson M H, Lucius A, Meyer T, et al. Cultivar evaluation and effect of fermentation on antioxidant capacity and in vitro inhibition of α -amylase and α -glucosidase by highbush blueberry (*Vaccinium corombosum*) [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2011, 59(16): 8923-30
- [19] Jimoh T O. Enzymes inhibitory and radical scavenging potentials of two selected tropical vegetable (*Moringa oleifera*, and *Telfairia occidentalis*) leaves relevant to type 2 diabetes mellitus [J]. Revista Brasileira De Farmacognosia, 2017, 28(1): 73-79
- [20] 张晓英,张致英,王鹏翔,等.绿萝花提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制及降血糖作用[J].中药药理与临床,2014,30(3):107-111
ZHANG Xiao-ying, ZHANG Zhi-ying, WANG Peng-xiang, et al. Inhibition of alpha-glucosidase and hypoglycemic effect of extract of radix diosgenin [J]. Pharmacology and clinical pharmacology of traditional Chinese medicine, 2014, 30(3): 107-111
- [21] 赵玉红,马捷,李佳启,等.老山芹不同溶剂提取物活性成分及活性功能研究[J].现代食品科技,2018,6:1-6
ZHAO Yu-hong, MA Jie, LI Jia-qi, et al. Study on active ingredients and activity of different solvent extracts of Laoshanqin [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 6: 1-6
- [22] 郑悦,王萍.黑果花楸花色苷提取、纯化工艺研究[J].北京林业大学学报,2016,38(11):118-124
ZHENG Yue, WANG Ping. Study on extraction and purification of anthocyanins from black fruit buds [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2016, 38(11): 118-124
- [23] 肖卓炳,郭瑞珂,郭满满,等.金银花中绿原酸超声微波双辅助提取工艺优化[J].食品科学,2012,33(22):111-114
XIAO Zhuo-bing, GUO Rui-qi, GUO Man-man, et al. Optimization of ultrasonic microwave assisted extraction of chlorogenic acid in honeysuckle [J]. Food Science, 2012, 33(22): 111-114
- [24] 陈湘宁,李宇华,丁轲,等.响应面法优化超声波辅助提取柿子多糖工艺的研究[J].中国食品学报,2012,12(7):105-111
CHEN Xiang-ning, LI Yu-hua, DING Wei, et al. Optimization of ultrasonic assisted extraction of polysaccharides from persimmon by response surface methodology [J]. Chinese Journal of Food Science, 2012, 12(7): 105-111
- [25] 陈冬,张晓阳,刘尧政,等.姜油纳米乳液超声波乳化制备工艺及其稳定性研究[J].农业机械学报,2016,47(6):250-258
CHEN Dong, ZHANG Xiao-yang, LIU Yi-zheng, et al. Preparation and stability of ultrasonic emulsification of ginger oil nanoemulsion [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Machinery, 2016, 47(6): 250-258
- [26] 李婷婷,赵彩红,王嘉熙,等.超声波-酶法联合改性提高酸性条件下大豆分离蛋白的乳化性能[J].现代食品科技,2016, 32(10):190-197
LI Ting-ting, ZHAO Cai-hong, WANG Jia-xi, et al. Ultrasonic-enzymatic combined modification to improve the emulsifying properties of soy protein isolate under acidic conditions [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(10): 190-197
- [27] 孙冰玉,石彦国,马永强,等.超声波技术对醇浸出法大豆浓缩蛋白乳化性的影响[J].沈阳农业大学学报,2007,2:145-148
SUN Bing-yu, SHI Yan-guo, MA Yong-qiang, et al. Effect of ultrasonic technology on emulsification of soy protein concentrate by alcohol leaching [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2007, 2: 145-148
- [28] 徐国旺.用高速剪切乳化机制备纳米氧化锌及其形状控制[D].华中师范大学,2006
XU Guo-wang. Preparation of nanometer zinc oxide and its shape control by high speed shear emulsifier [D]. Huazhong Normal University, 2006
- [29] 杨文虎,潘永,刘响亮,等.纳米 ZnO 颗粒的高速剪切、超声法与研磨法分散效果对比[J].工程塑料应用,2015,43(9): 125-129
YANG Wen-hu, PAN Yong, LIU Xiang-liang, et al. Comparison of high-speed shearing, ultrasonic and grinding dispersion of nano-ZnO particles [J]. Engineering Plastics Application, 2015, 43(9): 125-129
- [30] 王凯.五种蜂花粉超声—高剪切联用破壁效果及营养成分变化研究[D].哈尔滨商业大学,2016
WANG Kai. Study on the effect of ultrasonic-high shear combined with the wall breaking effect and nutrient composition of five bee pollen [D]. Harbin University of Commerce, 2016