

基于信息熵赋权法的正交试验优化番石榴叶总黄酮提取工艺

涂正伟¹, 刘洪斌², 韩忠耀³, 阎 姝¹, 夏亚飞¹, 尤 园^{4*}

1. 天津市南开医院, 南开大学附属南开医院, 天津 300100

2. 天津市医药科学研究所, 天津 300020

3. 黔南民族医学高等专科学校, 贵州 都匀 558000

4. 武汉生物工程学院, 湖北 武汉 430415

摘要: 目的 优化番石榴叶总黄酮提取工艺。方法 以乙醇体积分数、料液比、提取时间、提取次数 4 个因素为考察对象, 进行 $L_9(3^4)$ 4 因素 3 水平正交设计, 以信息熵赋权法计算总黄酮得率及提取物中金丝桃苷、槲皮素-3-*O*- β -*D*-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-3-*O*- α -*L*-呋喃阿拉伯糖苷得率 4 个评价指标权重系数并进行加权处理得综合评分, 采用综合评分进行正交分析筛选最佳工艺。结果 番石榴叶总黄酮的最佳提取工艺为以 8 倍量的 70%乙醇提取 3 次, 每次 2 h。3 批验证实验综合评分均值为 0.142 1, RSD 为 2.37%。结论 优化的番石榴叶总黄酮的提取工艺稳定可行, 得率高。

关键词: 番石榴叶; 总黄酮; 正交试验; 信息熵赋权; 提取工艺; 金丝桃苷; 槲皮素-3-*O*- β -*D*-吡喃阿拉伯糖苷; 槲皮素-3-*O*- α -*L*-呋喃阿拉伯糖苷; 综合评分

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)21-5260-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.019

Optimization of extraction of total flavonoids from leaves of *Psidium guajava* by orthogonal test based on information entropy weighting

TU Zheng-wei¹, LIU Hong-bin², HAN Zhong-yao³, YAN Shu¹, XIA Ya-fei¹, YOU Yuan⁴

1. Tianjin Nankai Hospital, Affiliated Nankai Hospital of Nankai University, Tianjin 300100, China

2. Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China

3. Qiannan Medical College for Nationalities, Duyun 558000, China

4. Wuhan University of Bioengineering, Wuhan 430415, China

Abstract: **Objective** To optimize the extraction of total flavonoids from leaves of *Psidium guajava*. **Methods** $L_9(3^4)$ orthogonal test was used to screen the optimal extraction technology of total flavonoids from leaves of *P. guajava* with ethanol concentration, solid-liquid ratio, extraction time, and extraction times as factors. The weight coefficient of the four evaluation indicators, including the yield of total flavonoids, hyperoside, quercetin-3-*O*- β -*D*-pyranarabinoside, and quercetin-3-*O*- α -*L*-furanarabinoside was calculated by information entropy weighting so as to calculate comprehensive score. We obtained the optimal technology by orthogonal analysis based on the comprehensive score. **Results** The optimal extraction technology was that using 8-fold 70% ethanol water to extract 2 h for three times. The mean comprehensive score of the three batches was 0.142 1 and the RSD was 2.37%. **Conclusion** The optimal extraction technology of total flavonoids from leaves of *P. guajava* was stable and feasible with high yield.

Key words: leaves of *Psidium guajava* L.; total flavonoids; orthogonal test; information entropy weighting; extraction technology; hyperoside; quercetin-3-*O*- β -*D*-pyranarabinoside; quercetin-3-*O*- α -*L*-furanarabinoside; comprehensive score

番石榴叶为桃金娘科植物番石榴 *Psidium guajava* L. 的干燥叶及带叶嫩茎, 分布于广东、广西、四川等地, 具有生津止渴、除烦、收敛止泻、消炎止痒等功用。番石榴叶中含有多重化学成分,

收稿日期: 2019-06-04

基金项目: 国家科技重大专项重大新药创制项目 (2017ZX09301062); 天津市卫生局科技基金攻关课题 (14KG131); 天津市卫计委、天津市中医药管理局中医、中西医结合科研基金项目 (2019039); 天津市中医药管理局中医、中西医结合科研基金项目 (2015024)

作者简介: 涂正伟 (1986—), 男, 助理研究员, 研究方向为中药药效物质基础研究。E-mail: tuzw_fsnkyy@nankai.edu.cn

*通信作者 尤 园 (1985—), 男, 讲师, 研究方向为中药、民族药的质量研究。E-mail: you2008yuan@163.com

迄今从中分离并获得的有黄酮类、多酚类、萜类等化学成分。番石榴叶总黄酮能明显降低血糖水平,促进胰岛 β 细胞增殖或再生,促进糖尿病大鼠糖原合成,增强葡萄糖代谢能力,改善胰岛素抵抗^[1-3]。因此有必要对番石榴叶总黄酮提取工艺进行优化,为进一步降糖药理和药学研究做准备。

中药作为一个多成分、多靶点复杂体系,关联药效的工艺优化采用单一指标考察具有一定的片面性,在已有番石榴叶总黄酮工艺研究中有很多是单以总黄酮含量或提取得率为工艺评价指标^[4-5]。在正交试验中对于多指标的工艺考察多采用加权评分的方法来得到一个综合评分,但是在综合评价时,权数的确定直接影响到评价结果的准确性和科学性。有研究以番石榴叶总黄酮和主要黄酮苷含量为指标采用主观赋权的权重系数进行加权考察总黄酮提取工艺,评价结果的准确性和科学性有待验证^[6]。

信息熵赋权法是应用较多的一种客观赋权法,根据原始数据矩阵之间的关系来确定权重,不依赖于人的主观判断,决策或评价结果具有较强的数学理论依据,具有处理复杂多量数据的分析优势^[7-9]。本实验将番石榴叶正交设计的 9 种不同提取工艺的 4 种指标数据用信息熵赋权法进行处理并计算出各指标的权重,然后再将赋权后的多项评价指标综合成为单一度量的指标即综合评分,从而可以较为客观地优化出番石榴叶总黄酮的提取工艺。实验过程中指标成分的权重系数完全来自于信息熵理论对实验数据的分析,这使得实验数据的综合评价结果更加客观、可靠,提升了研究的科学性和严谨性^[10-11]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

RE-52AA 旋转蒸发器,上海雅荣生化仪器设备有限公司;KQ-700GDV 超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;ZNHW-II 型智能恒温电热套,河南予华仪器有限公司;SHZ-D (III) 型循环水式真空泵,河南予华仪器有限公司;BT25S 分析天平,德国赛多利斯公司;Elix Essential 纯水/Simplicity Ultra pure 超纯水系统,美国 Merck Millipore 公司;Agilent 1100 高效液相色谱仪,配置脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱、DAD 检测器,美国安捷伦科技有限公司;U2800 紫外可见分光光度计,日本日立公司。

1.2 材料与试剂

对照品芦丁(批号 100080-201610,质量分数

为 91.9%)、金丝桃苷(批号 111521-201708,质量分数为 95.1%)均购自中国食品药品检定研究院;对照品槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷为本课题组自制,经 HPLC 峰面积归一化法测定质量分数均 >98%;番石榴叶药材(批号 201511)购自广西药材站,经天津中医药大学中药学院马琳教授鉴定为桃金娘科番石榴属植物番石榴 *Psidium Guajava* L. 的干燥叶;甲醇、乙腈均为色谱纯,天津市康科德公司生产;无水乙醇为分析纯,天津市康科德公司生产;亚硝酸钠为分析纯,天津市光复科技发展有限公司生产;硝酸铝为分析纯,天津市光复精细化工研究所生产;氢氧化钠为优级纯,天津市化学试剂供销公司第二分公司生产;纯水和超纯水均由 Elix Essential 纯水/Simplicity Ultra pure 超纯水系统制备。

2 方法与结果

2.1 总黄酮测定

2.1.1 对照品溶液制备 精密称取芦丁对照品 4.87 mg,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度为 194.80 μ g/mL 的芦丁对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液制备 精密称取“2.3”项正交试验所得提取物适量,置于 25 mL 量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成含提取物约 1 mg/mL 的供试品溶液。

2.1.3 线性关系考察 精密量取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 芦丁对照品溶液,分别置于 25 mL 量瓶中,加甲醇至 6 mL,加 5% NaNO₂ 溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 1 mol/L NaOH 溶液 10 mL,加蒸馏水至刻度,摇匀,放置 15 min,以相应溶剂作空白对照按上述方法处理,根据文献方法^[5]选择 500 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标 (Y),质量浓度为横坐标 (X),绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=5.133 X-0.004$, $r=0.999 5$,表明芦丁在质量浓度 3.90~46.77 μ g/mL 与吸光度线性相关。

2.1.4 精密度试验 精密量取 3.0 mL 质量浓度为 194.80 μ g/mL 的芦丁对照品溶液,按“2.1.3”项下方法处理后在 500 nm 波长处连续 6 次测定吸光度,计算其 RSD 值为 1.15%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 精密称取 6 份“2.3”项正交试验 1 制备的样品,每份约 25 mg,根据“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,精密量取各供试品溶液 3.0

mL 按“2.1.3”项下方法处理后测定在 500 nm 波长处吸光度, 计算总黄酮质量分数 RSD 值为 1.91%, 表明该方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 精密量取“2.1.5”项下 1 号供试品溶液 3.0 mL, 按“2.1.3”项下方法处理, 于室温放置 0、2、4、6、8、12 h 后在 500 nm 波长处测定吸光度, 计算其 RSD 值为 2.15%, 表明供试品溶液在此方法处理 12 h 内稳定。

2.1.7 总黄酮含量、得率测定 精密量取供试品溶液 3.0 mL, 按“2.1.3”项下方法处理后测定在 500 nm 波长处吸光度。根据回归方程计算供试品溶液中总黄酮含量 (C_T), 并以供试品溶液总黄酮含量乘以出膏率, 求得总黄酮得率 (Y_T)。

2.2 指标成分的 HPLC 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Kromasil C_{18} 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 梯度为 0~30 min, 10%~35%乙腈; 30~45 min, 35%~37%乙腈; 45~55 min, 37%~90%乙腈; 55~60 min, 90%乙腈; 体积流量为 1.0 mL/min, 进样量 10 μ L, 检测波长为 254 nm, 柱温为 30 $^{\circ}$ C。该条件下供试品中金丝桃苷、槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷分离度好, 各峰之间分离度 > 1.5, 色谱图见图 1。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取对照品金丝桃苷

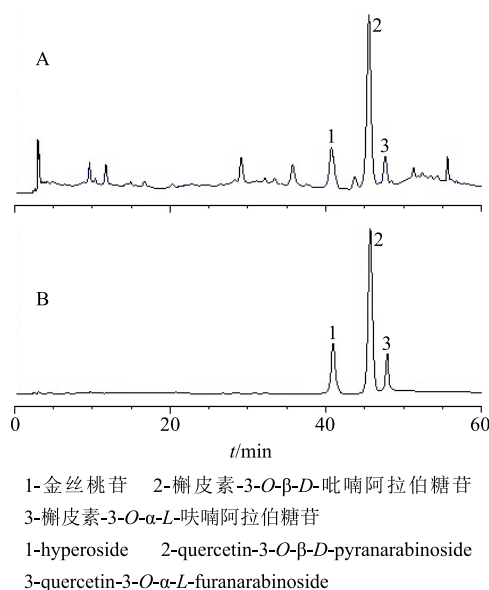


图 1 正交试验 1 供试品溶液 (A)、混合对照品溶液 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of orthogonal test 1 sample solutions (A) and mixed reference substances (B)

5.08 mg、槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷 9.87 mg、槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷 6.93 mg, 置于 50 mL 棕色量瓶中, 加入甲醇适量, 超声溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 101.6 μ g/mL 的金丝桃苷、197.4 μ g/mL 的槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷、138.6 μ g/mL 的槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷混合对照品储备溶液。

2.2.3 供试品溶液制备 精密量取“2.1.2”项配制的含提取物约 1 mg/mL 的供试品溶液 5.0 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察 精密量取混合对照品储备溶液 0.25、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释到刻度, 摇匀, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液按“2.2.1”项色谱条件进样分析。以峰面积为纵坐标 (Y), 对照品进样质量为横坐标 (X) 绘制标准曲线, 得金丝桃苷线性回归方程为 $Y=190\,579 X+357.16$, $r=0.999\,9$, 线性范围为 10.2~406.4 ng; 槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷线性回归方程为 $Y=236\,937 X+884.56$, $r=0.999\,9$, 线性范围为 19.7~789.6 ng; 槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷线性回归方程为 $Y=180\,052 X+666.05$, $r=0.999\,8$, 线性范围为 13.9~554.4 ng。

2.2.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 (金丝桃苷质量浓度为 4.064 μ g/mL、槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷质量浓度为 7.896 μ g/mL、槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷质量浓度为 5.544 μ g/mL), 按“2.2.1”项色谱条件连续进样 6 次, 测峰面积, 计算 3 个色谱峰峰面积 RSD 值, 金丝桃苷为 1.87%, 槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷为 1.24%, 槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷为 1.59%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 精密称取 6 份“2.3”项正交试验 1 制备的样品, 每份约 25 mg, 配制成含提取物约 1 mg/mL 的溶液, 按“2.2.3”项方法制备供试品溶液, “2.2.1”项色谱条件下进样分析, 测峰面积, 计算 3 个色谱峰质量分数 RSD 值, 金丝桃苷为 1.79%, 槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷为 1.07%, 槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷为 1.38%, 表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 取“2.2.6”项重复性试验 1 号供试品溶液, 于室温放置 0、2、4、6、12、24 h 按“2.2.1”项色谱条件进样分析, 测峰面积, 计算 24 h

内 3 个色谱峰峰面积 RSD 值, 金丝桃苷为 1.71%, 槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷为 1.08%, 槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷为 1.52%, 表明方法稳定性良好, 供试品溶液 24 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取 6 份“2.3”项正交试验 1 制备的样品, 每份约 12.5 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 分别精密加入 5.0 mL 混合对照品溶液 (质量浓度为 70.5 μ g/mL 的金丝桃苷、193.9 μ g/mL 的槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷、92.6 μ g/mL 的槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷), 以甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密吸取 5.0 mL 上述溶液按“2.2.3”项下方法制成供试品溶液, 以“2.2.1”项色谱条件测定, 测得金丝桃苷平均加样回收率为 99.86%, RSD 值为 1.81%; 槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷平均加样回收率为 99.52%, RSD 值为 1.59%; 槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷平均加样回收率为

100.63%, RSD 值为 2.05%。表明该方法具有较好的回收率。

2.2.9 含量测定 按“2.2.3”项方法制备供试品溶液, “2.2.1”项色谱条件进样分析, 对金丝桃苷、槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷 3 个色谱峰积分, 根据回归方程计算正交试验所得样本 3 个黄酮成分的含量 (C_1 、 C_2 、 C_3), 并通过与出膏率相乘换算成各成分得率 (Y_1 、 Y_2 、 Y_3), 各样本 3 个成分含量、得率见表 1。

2.3 正交试验设计

以乙醇体积分数 (A)、料液比 (B)、提取时间 (C)、提取次数 (D) 4 个因素为考察对象, 以总黄酮得率及提取物中金丝桃苷、槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷得率 (Y_1 、 Y_2 、 Y_3) 为评价指标, 进行 $L_9(3^4)$ 4 因素 3 水平正交设计, 因素水平及试验安排见表 1。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果分析

Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A/%	B	C/h	D	出膏率/%	C_T /%	Y_T /%	C_1 /%	Y_1 /%	C_2 /%	Y_2 /%	C_3 /%	Y_3 /%	M
1	50 (1)	1 : 6 (1)	1 (1)	1 (1)	21.90	17.25	3.78	2.81	0.61	7.74	1.69	3.69	0.81	0.106 2
2	50 (1)	1 : 8 (2)	2 (2)	2 (2)	29.52	15.26	4.50	2.72	0.80	7.69	2.27	3.61	1.07	0.138 0
3	50 (1)	1 : 10 (3)	3 (3)	3 (3)	33.50	13.51	4.53	2.61	0.87	6.35	2.13	3.13	1.05	0.138 8
4	70 (2)	1 : 6 (1)	2 (2)	3 (3)	30.93	15.99	4.95	2.40	0.74	8.08	2.50	3.63	1.12	0.142 5
5	70 (2)	1 : 8 (2)	3 (3)	1 (1)	24.63	17.07	4.20	2.45	0.60	8.69	2.14	3.81	0.94	0.119 8
6	70 (2)	1 : 10 (3)	1 (1)	2 (2)	28.29	15.48	4.38	2.47	0.70	8.21	2.32	3.74	1.06	0.132 1
7	90 (3)	1 : 6 (1)	3 (3)	2 (2)	21.61	12.97	2.80	1.93	0.42	5.15	1.11	3.79	0.82	0.075 5
8	90 (3)	1 : 8 (2)	1 (1)	3 (3)	21.86	14.37	3.14	1.96	0.43	5.62	1.23	3.84	0.84	0.080 8
9	90 (3)	1 : 10 (3)	2 (2)	1 (1)	17.15	15.57	2.67	2.03	0.35	5.80	0.99	3.98	0.68	0.066 3
K_1	0.383 0	0.324 2	0.319 1	0.292 3										
K_2	0.394 4	0.338 6	0.346 8	0.345 6										
K_3	0.222 6	0.337 2	0.334 1	0.362 1										
R	0.171 8	0.014 4	0.027 7	0.069 8										

$F_{0.05}(2, 2)=19.00$, $F_{0.01}(2, 2)=99.00$

将番石榴叶粉碎, 过 10 目筛, 精密称取番石榴叶粉末 10 g, 按 $L_9(3^4)$ 正交试验设计工艺参数回流提取, 提取液滤过, 合并不同次数提取液, 减压浓缩后冷冻干燥得提取物, 称质量, 求出膏率, 结果见表 1。

2.4 基于信息熵赋权的正交试验分析

2.4.1 信息熵赋权 依据文献报道^[12-15], 用测得的总黄酮得率, 提取物中金丝桃苷、槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-3-*O*- α -L-呋喃阿拉伯糖苷

得率等评价指标建立原始指标矩阵 (X)。

$$X = \begin{bmatrix} 3.78 & 4.50 & 4.53 & 4.95 & 4.20 & 4.38 & 2.80 & 3.14 & 2.67 \\ 0.61 & 0.80 & 0.87 & 0.74 & 0.60 & 0.70 & 0.42 & 0.43 & 0.35 \\ 1.69 & 2.27 & 2.13 & 2.50 & 2.14 & 2.32 & 1.11 & 1.23 & 0.99 \\ 0.81 & 1.07 & 1.05 & 1.12 & 0.94 & 1.06 & 0.82 & 0.84 & 0.68 \end{bmatrix}$$

将原始矩阵转换为概率矩阵 (P_{ij})_{mn}, 其中, P_{ij} 表示第 j 次实验在 i 指标下的概率。

$$P_{ij} = X_{ij} / \sum_{j=1}^n X_{ij}$$

$$P = \begin{bmatrix} 0.108\ 1 & 0.128\ 9 & 0.129\ 5 & 0.141\ 5 & 0.120\ 2 & 0.125\ 3 & 0.080\ 2 & 0.089\ 9 & 0.076\ 4 \\ 0.111\ 2 & 0.145\ 2 & 0.158\ 0 & 0.134\ 1 & 0.109\ 4 & 0.126\ 3 & 0.075\ 3 & 0.077\ 4 & 0.063\ 1 \\ 0.103\ 4 & 0.138\ 5 & 0.129\ 7 & 0.152\ 4 & 0.130\ 6 & 0.141\ 7 & 0.067\ 9 & 0.075\ 0 & 0.060\ 7 \\ 0.096\ 4 & 0.127\ 1 & 0.124\ 9 & 0.134\ 1 & 0.112\ 0 & 0.126\ 3 & 0.097\ 7 & 0.100\ 0 & 0.081\ 5 \end{bmatrix}$$

计算各项指标的信息熵 (H_i) 为 $H_i = [0.990\ 5, 0.981\ 2, 0.978\ 4, 0.994\ 6]$; 再计算第 i 项指标的权重系数 (W_i), 各项指标的 W_i 为 $W_i = [0.172\ 2, 0.339\ 6, 0.389\ 9, 0.098\ 3]$, 对概率矩阵 $(P_{ij})_{mn}$ 的数据进行加权处理, 计算综合评分 (M), 其中 $M_i = P_{1i}W_1 + P_{2i}W_2 + P_{3i}W_3 + P_{4i}W_4$, 结果见表 1。

$$H_i = -k \sum_{j=1}^n P_{ij} \ln P_{ij}, \quad k = 1/\ln n$$

$$W_i = (1 - H_i) / \sum_{j=1}^m (1 - H_j)$$

2.4.2 正交试验结果分析 根据综合评分 (M) 对正交试验进行极差分析和方差分析, 由极差分析结果 (表 1) 可知, 各因素对番石榴叶总黄酮提取综合指标影响程度的顺序为 $A > D > C > B$, 即乙醇体积分数 $>$ 提取次数 $>$ 提取时间 $>$ 料液比; 以极差最小的因素 B 作为误差项进行方差分析, 由方差分析结果 (表 2) 可知, 乙醇体积分数 (A) 为极显著性

影响因素 ($P < 0.01$), 提取次数 (D) 为显著性影响因素 ($P < 0.05$)。因此, 选择 $A_2B_2C_2D_3$ 作为番石榴叶总黄酮提取最佳提取工艺, 即以 8 倍量的 70% 乙醇提取 3 次, 每次 2 h。

2.5 优选工艺的验证

根据优化的最佳提取工艺进行 3 批验证实验, 测定总黄酮含量、得率, 提取物中金丝桃苷、槲皮素-3- O - β - D -吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-3- O - α - L -呋喃阿拉伯糖苷得率、综合评分 RSD 值均在 5% 以内, 结果见表 3, 表明优化所得提取工艺稳定可行。

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	$6.152\ 6 \times 10^{-3}$	2	146.366 5	$P < 0.01$
B (误差)	$4.204\ 0 \times 10^{-5}$	2	1.000 0	
C	$1.281\ 8 \times 10^{-4}$	2	3.049 2	
D	$8.872\ 4 \times 10^{-4}$	2	21.106 9	$P < 0.05$

表 3 验证实验结果

Table 3 Test of verification

序号	出膏率/%	得率/%				M
		总黄酮	金丝桃苷	槲皮素-3- O - β - D -吡喃阿拉伯糖苷	槲皮素-3- O - α - L -呋喃阿拉伯糖苷	
1	30.03	4.76	0.79	2.37	1.05	0.140 7
2	30.45	4.81	0.83	2.46	1.08	0.145 9
3	29.75	4.73	0.78	2.39	0.98	0.139 6
RSD/%	1.17	0.85	3.31	1.96	4.95	2.37

3 讨论

中药作为一个多成分、多靶点复杂体系, 关联药效的质量采用单一指标考察具有一定的片面性, 因此, 目前很多工艺研究采用多个指标成分, 再采用主观或客观赋权法得到综合评价指标, 优化中药提取工艺。

主观赋权法是基于决策者对指标重视程度来确定权重系数的方法, 其原始数据由专家根据经验主观判断而得到, 主观性较强, 会因研究人员认识不同而得出不同结果, 应用中有很大的局限性, 常用的主观赋权法有层次分析法 (AHP)、最小平方法、TACTIC 法、专家调查法 (Delphi 法)、二项系数法、环比评分法等。客观赋权法主要根据原始数据之间

的关系来确定权重, 经过对实际发生的资料进行整理、计算和分析, 从而得出权重系数, 不依赖于主观判断, 决策或评价结果具有较强的数学理论依据。常用的客观赋权法主要有主成分分析法、信息熵赋权法、离差及均方差法、多目标规划法等, 其中信息熵赋权法用得较多, 这种赋权法使用的数据是决策矩阵, 确定的属性权重反映了属性值的离散程度^[16]。一般地, 如果某个指标的信息熵越小, 表明其指标值的离散程度越大, 提供的信息量越大, 在综合评价中所起的作用越大, 则其权重也越大, 反之, 某指标的信息熵越大, 表明其指标值的离散程度越小, 提供的信息量越小, 在综合评价中所起的作用越小, 则其权重也越小^[17]。

本实验选择总黄酮得率及提取物中金丝桃苷、槲皮素-3-*O*- β -*D*-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-3-*O*- α -*L*-呋喃阿拉伯糖苷得率 4 个指标作为衡量提取工艺优劣的评价指标, 主要是因为总黄酮是番石榴叶降糖的主要物质基础, 所测的 3 个黄酮成分在番石榴叶总黄酮中占据较大的比例且在 DPPH 法抗氧化活性测试中均表现出中到强度的自由基清除活性^[18-19], 而氧化损伤在糖尿病及其并发症的发生、发展过程中起重要作用; 有研究显示^[20]槲皮素-3-*O*- α -*L*-呋喃阿拉伯糖苷(广寄生苷)能显著促进大鼠脂肪细胞膜上 GLUT4 蛋白的表达, 抑制游离脂肪酸的释放, 可剂量依赖性地促进大鼠脂肪细胞摄取葡萄糖。以信息熵赋权法计算正交试验 4 个评价指标权重系数, 科学地处理了 4 个指标对工艺影响的权重, 使得获得的番石榴叶总黄酮提取工艺既有较高的得率, 又稳定可靠。

参考文献

- [1] 李杰, 李东华, 涂正伟, 等. 番石榴叶总黄酮促进糖尿病模型小鼠胰岛再生机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(10): 116-121.
- [2] 郭胜男, 刘洪斌, 李东华, 等. 番石榴叶总黄酮对糖尿病小鼠肝脏葡萄糖代谢及胰岛素信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(4): 166-170.
- [3] 蔡丹昭, 刘华钢, 陈洪涛, 等. 番石榴叶总黄酮对实验性糖尿病小鼠血糖水平的影响 [J]. 生命科学研究, 2009, 13(1): 34-37.
- [4] 钟方丽, 祝波, 王慧竹. 番石榴叶总黄酮提取工艺的优选 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(7): 567-570.
- [5] 蔡丹昭, 刘华钢, 韦琦. 番石榴叶总黄酮提取工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 44-45.
- [6] 傅予, 张岩, 陶遵威. Box-Behnken 效应面法优选番石榴叶总黄酮酶辅助提取工艺研究 [J]. 中药材, 2017, 40(9): 2145-2149.
- [7] 权亮, 赵永峰, 陈志敏, 等. 基于信息熵赋值法的正交联用 Box-Behnken 设计-响应面法优化黄丝郁金醋炙工艺研究 [J]. 中草药, 2018, 49(8): 1823-1828.
- [8] 张东, 张宁. 物理学中的熵理论及其应用研究 [J]. 北京联合大学学报, 2007, 21(1): 4-8.
- [9] 陈丽津, 汤浩, 石磊, 等. 基于信息熵理论的正交设计优化消乳增胶囊的提取工艺 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3345-3350.
- [10] 邢增智, 李帅, 张爱军, 等. 基于信息熵赋权法的正交试验优化七味蟾参方提取工艺研究 [J]. 中国药房, 2019, 30(3): 376-380.
- [11] 韩忠耀, 余跃生, 袁开伦, 等. 基于信息熵赋权法优化苗药水冬瓜根皮药材提取工艺 [J]. 中药材, 2019, 42(2): 390-392.
- [12] 吴璐, 杨华生. 基于信息熵理论的中药提取工艺优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 29-31.
- [13] 李淼, 王星星, 康小东, 等. 基于信息熵理论的哮喘方水提取工艺优选研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2113-2117.
- [14] 王仁杰, 李淼, 闫明, 等. 信息熵理论在热毒宁口服制剂中金银花与栀子提取工艺优选中的应用 [J]. 中草药, 2015, 46(5): 683-687.
- [15] 谢凡, 施崇精, 杨秀清, 等. 基于信息熵理论的正交设计结合指纹图谱优选加味四妙颗粒的提取工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(6): 1331-1337.
- [16] 宋光兴, 杨德礼. 基于决策者偏好及赋权法一致性的组合赋权法 [J]. 系统工程与电子技术, 2004, 26(9): 1226-1230.
- [17] 王昆, 宋海洲. 三种客观权重赋权法的比较分析 [J]. 技术经济与管理研究, 2003(6): 48-49.
- [18] 吴慧星, 李晓帆, 李荣, 等. 番石榴叶中抗氧化活性成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1593-1597.
- [19] Wang L, Wu Y A, Bei Q, et al. Fingerprint profiles of flavonoid compounds from different *Psidium guajava* leaves and their antioxidant activities [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(19): 3817-3829.
- [20] 欧阳文, 朱晓艾, 苏磊, 等. 番石榴叶中广寄生苷和番石榴苷的降糖作用 [J]. 食品科学, 2016, 37(7): 168-174.