文章编号:1000-5773(2013)03-0431-08

动态高压微射流提取对红薯叶黄酮抗氧化性的影响*

涂宗财[1,2],张　露[1],王　辉[1],叶云花[2],李　志[1],黄小琴[1]

(1.南昌大学食品科学与技术国家重点实验室,江西南昌　330047;
2.江西师范大学,江西南昌　330022)

摘要:采用动态高压微射流(DHPM)辅助技术提取红薯叶黄酮,与传统乙醇提取法比较,研究DHPM对红薯叶黄酮抗氧化活性的影响,并通过高效液相色谱-质谱联用技术(HLPC-MS)技术对其机理进行了初步研究。实验结果显示,DHPM可以促进红薯叶细胞壁的破碎和展开,提高总黄酮的提取率,当处理压力为100 MPa时,总黄酮得率最高(5.440%±0.006%),与传统浸提相比,得率提高了21.7%。HLPC-MS分析表明,DHPM可以提高提取黄酮的纯度和低极性分子的浓度,对于同一质量浓度的总黄酮样液,80、100 MPa压力下提取的黄酮样液的抗氧化活性较低,120 MPa压力处理所得样品(SF120)抗氧化活性最强,清除DPPH和·OH的IC_{50}值分别为15.99 mg/L和0.093 g/L。SF0、SF80和SF100中的主要黄酮类化合物为槲皮素、4′,7-二甲氧基山奈酚、杨梅黄酮、商陆黄素和鼠李柠檬素,SF120的主要黄酮类化合物为槲皮素、杨梅黄酮和商陆黄素。

关键词:红薯叶;黄酮;抗氧化性;动态超高压微射流;高效液相色谱-质谱联用技术
中图分类号:O521.9;TS202.3　　**文献标识码**:A

1　引　言

黄酮类化合物是植物经光合作用产生的一类具有强抗氧化活性的次生代谢化合物,广泛分布于植物的叶、种子、花、果实和树皮中,目前已鉴定出4 000多种。据文献报道,黄酮类化合物具有有效的抗氧化活性,能够保护植物抵抗紫外辐射、病原菌和植食动物的伤害[1],食用富含黄酮的天然食品能有效保护机体免受内源性和外源性氧化因子的氧化损伤并对一些相关的慢性疾病具有预防作用[2]。黄酮类化合物的抗氧化机理主要为抑制活性氧的形成、清除活性氧和调节或保护抗氧化体系[3]。

我国是世界上红薯栽培面积最大的国家,每年有近亿吨的红薯茎叶,除部分作为饲料外,多数被抛弃掉,造成资源浪费和环境污染。研究发现,红薯叶中含多酚类、黄酮类和多糖等具有抗氧化性的化合物,能缓解氧化损伤、炎症、衰老和高血压[4]。药理作用研究结果表明,红薯叶提取物具有抗肿瘤、清除自由基、增强免疫等作用[2,5-6]。目前,从红薯叶中分离出来的黄酮类化合物主要有槲皮素-3-O-葡萄糖苷、鼠李柠檬素、商陆黄素、槲皮素、山奈酚、杨梅黄酮等[7-8]。

动态超高压微射流(DHPM)是一种特殊形式的高压均质技术,它利用高压使液体物料高速流过狭窄的缝隙时受到强大的剪切力、撞击力以及空穴爆炸力等综合作用,使细胞破碎、促进细胞内容物溢出,从而提高有效成分的提取率[9-10]的过程。目前已有学者研究了DHPM在提取[10]和大分子改性方面的

* **收稿日期**:2011-10-18;**修回日期**:2012-01-21
基金项目:国家自然科学基金(20976078,21276118);国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(2012CB126314)
作者简介:涂宗财(1965—),男,博士,教授,博士生导师,主要从事天然产物开发利用及废弃物高值化利用方面的研究. E-mail:tuzc_mail@yahoo.com.cn

应用，如对木瓜蛋白酶活性的影响[11]、脂肪酸脂质体的制备[12]、对胰蛋白酶的活性、稳定性和构象的影响[13]等，但尚无关于 DHPM 对黄酮类化合物活性影响的相关报道。本实验以红薯叶为原料，研究不同微射流压力对红薯叶黄酮抗氧化活性的影响，并用 HLPC-MS 技术对其机理初探，为 DHPM 在天然产物有效成分提取方面提供参考。

2 材料与试验方法

2.1 材料与试剂

红薯叶于 11 月份红薯收获后从南昌市郊区采集，55 ℃干燥至恒重，粉碎过 200 目筛置于干燥器内备用。没食子酸、芦丁标准品（纯度大于或等于 97%）购于中药固体制剂制造技术与国家工程研究中心；Vc（分析标准品）、DPPH Sigma 公司；水杨酸、$K_3[Fe(CN)_6]$、$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 、二羟基丁基甲苯（BHT）等均为分析纯，甲醇、乙腈为色谱纯，天津永大化学试剂有限公司。

2.2 仪器与设备

微射流均质机 M-700 型，美国 Microfluidics 公司；T6 新世纪紫外-可见分光光度计，北京普析通用仪器有限公司；GYB60-6S 高压均质机，上海华东高压均质机厂；DBS-100E 恒流泵、BS-100A LCD 自动部分收集器，上海奇特分析仪器有限公司；Agilent G6430 三重四级杆液质联用系统，美国 Agilent 公司。

2.3 试验方法

2.3.1 黄酮样品的制备

参照李志、涂宗财等[10]的方法，将红薯叶粉末除脂、烘干，称取 4 份等质量的红薯叶粉末，按 1∶40(kg/L)的固液比加入 70%乙醇，30 MPa 压力均质后，分别于 0、80、100 和 120 MPa 压力下微射流处理 2 次，然后于75 ℃水浴 90 min，抽滤、浓缩、定容至 100 mL 后，测量总黄酮得率，每个压力平行测 3 次。最后配制成总黄酮质量浓度为 0.50 g/L 的溶液，标记为 SF0、SF80、SF100 和 SF120。

2.3.2 总黄酮含量的测定

参照 Yi 等[14]的方法，采用硝酸铝显色法，以芦丁质量浓度（mg/L）为横坐标，吸光值为纵坐标绘制标准曲线，得回归方程 $Y=8.9168X-0.0006$，$R_2=0.9998$（$n=4$）。取适量的样品溶液，按相同的操作步骤测吸光值，根据回归方程计算总黄酮含量（Total Flavonoids Content，TFC）。

2.3.3 总酚含量测定

采用 Folin-Ciocalteu 法，参照 Naidu 等[15]的操作步骤稍加修改，以没食子酸的质量浓度（mg/L）为横坐标，吸光值为纵坐标绘制标准曲线，得方程 $Y=0.0112X+0.0068$，$R_2=0.9994$（$n=4$）。取适量的样品溶液，按相同的操作方法测吸光值，根据回归方程计算总酚含量（Tatol Phenols Content，TPC）。

2.3.4 DPPH 清除能力试验[2]

取 2.0 mL 不同浓度（10～60 mg/L）的样品溶液于比色管中，加入 2.0 mL 浓度为 0.2 mmol/L 的 DPPH溶液，充分混合后避光反应 30 min，于 510 nm 处测吸光值 A_i，用无水乙醇作空白，2.0 mL 不同浓度的样品溶液和 2.0 mL 无水乙醇的吸光值为 A_j，2.0 mL 无水乙醇和 2.0 mL DPPH 溶液的吸光值为 A_{control}。以 Vc 和 BHA 为标准品，重复 3 次，每次平行 2 次，计算清除率（I_{DPPH}）

$$I_{DPPH} = [A_{\text{control}} - (A_i - A_j)]/A_{\text{control}} \times 100\%$$

2.3.5 还原能力试验[16]

向含有不同样品浓度（10～60 mg/L）的 1.5 mL PBS（0.2 mol/L、pH6.6）中加入 1.5 mL 的 $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液，摇匀，50 ℃反应 20 min 后加入 1.5 mL 三氯乙酸溶液终止反应，再加入 3.0 mL 去离子水和 0.6 mL $FeCl_3$，摇匀后于 700 nm 处测吸光值。以 Vc 和 BHA 为标准对照品，重复 3 次，每次平行 2 次。

2.3.6 羟自由基清除能力试验[17]

向 2.0 mL 不同浓度（0.05～0.25 g/L）的样品溶液中依次加入 1.0 mL 浓度为 3 mmol/L 的 $FeSO_4$、1.0 mL 浓度为3 mmol/L 的 H_2O_2，混匀，静置 10 min，再加入 1.0 mL 浓度为 3 mmol/L 的水杨酸，混匀，静置 30 min，用蒸馏水作空白，于 500 nm 处测吸光值 A_i。双蒸水代替黄酮溶液的吸光值为

$A_{control}$，双蒸水代替水杨酸溶液的吸光值为 A_j。以 Vc 和 BHA 为对照品，重复 3 次，每次平行 2 次，计算清除率($I_{\cdot OH}$)

$$I_{\cdot OH} = [A_{control} - (A_i - A_j)]/A_{control} \times 100\%$$

2.3.7 液相色谱-质谱联用技术(LC-MS/MS)分析

液相色谱条件：色谱柱，Agilent XDB-C18 (4.5×50 mm，1.8 μm)；流动相，A 为 0.1%甲酸、B 为乙腈；柱温 30 ℃；进样量 10 μL；流速 1.0 mL/min；洗脱梯度，A 由 90%至 0，B 由 10%至 100%。

质谱条件：电喷雾离子化源(ESI)，正离子检测，离子源温度 110 ℃，扫描范围 m/z(质荷比)为 100～700。

3 结果与分析

3.1 黄酮得率和稀释后提取液中总黄酮(TFC)、总酚含量(TPC)

表 1 为黄酮得率及稀释后总黄酮、总酚的浓度。由表 1 可知，DHPM 处理可以大大促进黄酮的得率。当处理压力为 100 MPa 时，红薯叶黄酮的得率最高，为 5.440%±0.027%，与传统乙醇提取相比，提高了 21.7%；当压力升至 120 MPa 时，黄酮得率反而下降了 3.3%($P<0.01$)，这可能是 DHPM 处理使原料破碎，压力越大破碎作用越强，使不宜浸出细胞壁的化学成分可以与溶剂充分接触而提高黄酮得率；但微射流压力的进一步升高，高频振荡、气穴等作用也增强，可能会促使黄酮类化合物氧化降解，从而降低总黄酮的得率。余海霞[18]研究发现，半纤维素 A 经 DHPM 处理后，颗粒的平均粒径在100 MPa 压力时达到最低，压力大于 100 MPa 时，随着压力的增加颗粒粒度增大。本实验的前期研究中采用扫描电子显微镜观察不同压力处理后红薯叶样品的微观结构，结果显示，100 MPa DHPM 处理的样品破碎效果最好，当压力达到 120 MPa 时，破碎的物料出现团聚现象，这可能是总黄酮得率先上升后下降的另一个原因。

表 1 黄酮得率及稀释后总黄酮、总酚的浓度

Table 1 Extraction rate and contents of total flavonoids and total polyphenols after dilution(mean±SD)

Parameter	Sample			
	SF0	80 MPa(SF80)	100 MPa(SF100)	120 MPa(SF120)
Yield of flavonoids/(%)	4.470±0.012	5.160±0.011	5.440±0.027	5.260±0.006
TFC(RT,g/L)	0.501±0.014	0.503±0.015	0.499±0.009	0.502±0.012
TPC(GAC,g/L)	0.184±0.003	0.185±0.005	0.187±0.007	0.211±0.001

3.2 DPPH 清除能力

DPPH 是一种在有机溶剂中呈紫色的稳定自由基清除剂，在 517 nm 处有最大吸收，当加入抗氧化剂时，一部分自由基被清除掉，使在该波长下的吸光值减弱[19]，常以清除率和半清除率来表示样品的抗氧化能力，清除率越高或半清除率(IC_{50})越小都说明提取物的抗氧化能力越强。由图 1 可知，不同提取方法所得黄酮提取液的 DPPH 清除能力均随浓度的增加而提高，且都表现出很好的正向线性关系。6 种样品的 IC_{50} 为：(7.30±0.39) mg/L(Vc)<(11.62±0.82) mg/L(BHA)<(15.99±1.19) mg/L (SF120)<(19.52±0.70) mg/L(SF0)<(20.05±1.04) mg/L (SF100)<(20.60±0.69) mg/L(SF80)，其中，SF100 与 SF80 样品的 IC_{50} 不存在显著性差异($P>0.1$)；在同一浓度下，SF120 样品对 DPPH 的清除率高于 SF0、SF100 和 SF80 样品，且总黄酮浓度为 5、10、

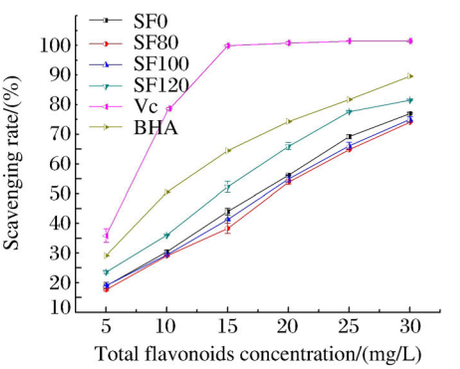


图 1 4 种提取液、Vc 和 BHA 的 DPPH 清除能力

Fig. 1 DPPH radical-scavenging activity of four extracts, Vc and BHA

20 mg/L 时，SF0、SF80 和 SF100 样品对 DPPH 的清除能力无显著性差异（$P>0.05$），这可能是 80、100 MPa处理并不会破坏黄酮结构，SF0、SF80 和 SF100 样品中黄酮类化合物的主要成分相同，从而导致当样品中总黄酮浓度相同时它们对 DPPH 清除能力相近，与后续试验的 HLPC-MS 分析结果一致。所以，120 MPa 处理可以提高红薯叶黄酮粗提物的 DPPH 清除能力，100、80 MPa 处理对其影响较小。

3.3 还原能力

吸光值越大样品的还原能力越强，表明样品的抗氧化活性越好[20]。由图 2 可知，样液的还原能力随黄酮浓度的提高而增加，且表现出很好的线性关系，SF0 样品的线性关系最好（0.999 5），SF80 样品最差（0.962 3）。黄酮浓度在 10～30 mg/L 时，SF120 样品的还原能力最强，SF100 样品最弱，吸光值分别为（0.162±0.006）～（0.466±0.005）和（0.130±0.005）～（0.378±0.014）；SF0 与 SF80 样品的还原能力间不存在显著性差异（$P>0.1$），但 4 种提取液的还原能力相差不大且均低于 Vc 和 BHA；黄酮浓度为 40 mg/L 时还原能力强弱关系为 SF120（0.586±0.001）＞SF0（0.536±0.001）＞SF100（0.484±0.005）＞SF80（0.441±0.006）（$P<0.01$），结果表明，120 MPa 处理提取的红薯叶黄酮溶液的还原能力最强。由表 1 可知，当各样液中总黄酮浓度相同时，SF120 样品中总酚浓度最高，而抗氧化能力与总酚浓度存在明显的正相关性，样品中多酚浓度越高，其抗氧化能力越强[4,15,21]，因此，SF120 的高还原力可能与其高浓度的多酚类化合物有关，也可能是由 SF120 中主要的黄酮类化合物组分决定。

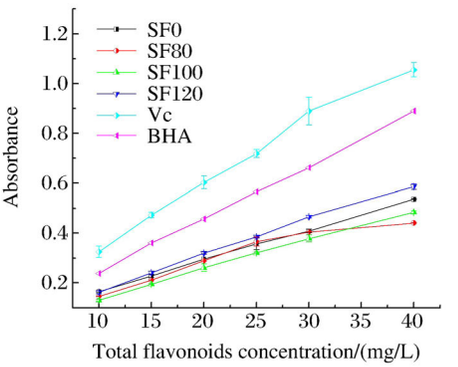


图 2 4 种提取液、Vc 和 BHA 的还原能力

Fig. 2 Reducing power of four extracts, Vc and BHA

3.4 羟自由基清除能力

黄酮类化合物大多具有数量不等的酚羟基，可作为供氢体使自由基还原，从而达到清除自由基的目的。由图 3 可知，红薯叶提取物对 · OH 的清除能力随浓度的升高而增加。总黄酮浓度为 0.05 g/L 时，SF0 样品活性最强（35.03%±0.17%），Vc 最弱（23.71%±0.21%）；浓度为 0.25 g/L 时，SF120 样品清除能力最高（99.06%±0.07%），BHA 最低（71.64%±0.10%）。SF0、SF80、SF100 和 SF120 样品的 IC_{50} 分别（0.114±0.029）、（0.094±0.018）、（0.118±0.025）和（0.093±0.012）g/L。提取液对 · OH 的清除能力与处理压力或多酚浓度之间没有明显的相关性，这可能是由于黄酮类物质的多样性以及每种黄酮化合物具有的抗氧化作用不同，使各样品的抗氧化活性存在一定差异[22]。

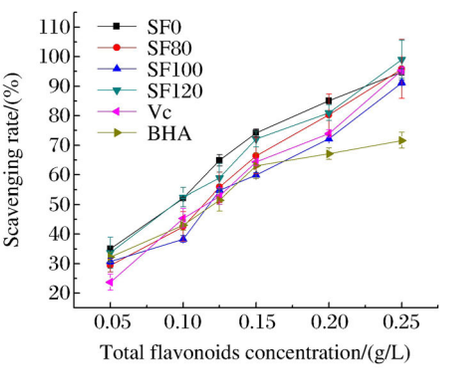


图 3 红薯叶黄酮和 Vc、BHA 对羟自由基的清除能力

Fig. 3 Hydroxyl radical-scavenging activity of flavonoids from sweet potato leaves, Vc and BHA

3.5 HLPC-MS 分析

由图 4 可以看出，SF0 样品在 16.907 和 18.772 min 处有明显的峰值，且总离子流图谱基线不稳，表明传统方法所得到的黄酮样品中杂质含量比微射流提取方法高，且提取液中强极性分子含量比经微射流处理提取的样品高；从 SF80 和 SF100 样品的总离子流图可以看出 80 MPa 处理和 100 MPa 处理提取所得溶液的组分及各组分的含量相近，说明较低压力的微射流处理可以提高黄酮提取率而不影响

提取液的成份;图 4 表明 120 MPa 处理提取的红薯叶黄酮溶液中主要为弱极性分子,这可能是由于在采用微射流处理时,高频振荡和空化作用等改变了提取液中溶解氧的存在状态,促进了黄酮化合物氧化作用降解,也可能是 120 MPa 微射流处理使高分子量组分破碎成低分子量组分,而使其组分发生改变[18,23],其原因有待进一步研究。

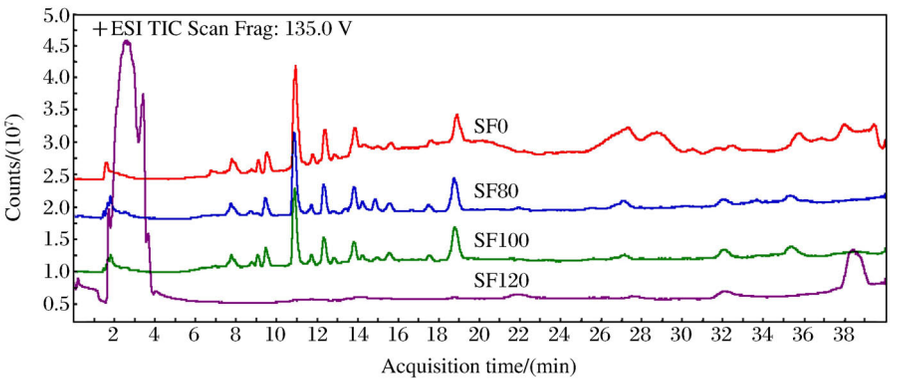


图 4　红薯叶黄酮正离子源总离子流谱图

Fig. 4　(+)TIC of mass spectrometer of flavonoids from sweet potato leaves

黄酮类化合物的抗氧化能力与其主链骨架上羟基取代的数目和位置有关,5 位单羟基取代对黄酮类化合物抗氧化活性无贡献;3,6,2′,3′和 4′位单羟基取代贡献较小;3′,4′二羟基取代的四羟基取代对其抗氧化能力起着重要作用;5′位有羟基的三羟基取代能增加黄酮类化合物的抗氧化活性,槲皮素和商陆黄素的自由基清除能力是生育酚类衍生物的 2～4 倍[1,24-25]。分析总离子流谱图和质谱图并结合相关文献得知:SF0、SF80 和 SF100 样品中主要黄酮类化合物为槲皮素、4′,7-二甲氧基山奈酚、杨梅黄酮、商陆黄素和鼠李柠檬素,保留时间及峰面积如表 2 所示,由表可知,SF80 和 SF100 样品的主要黄酮类化合物相同且它们的含量不存在显著性差异($P<0.05$),因此,总体上它们的抗氧化能力相似;SF0 中槲皮素、商陆黄素和杨梅黄酮含量高于 SF80 和 SF100 样品,SF120 样品中主要的黄酮类化合物为槲皮素和商陆黄素,槲皮素、杨梅黄酮和商陆黄素分别为 3,5,7,3′,4 五羟基取代、3,5,7,3′,4′,5′六羟基取代和 3,5,5′三羟基取代黄酮类化合物(图 5),它们具有相对较高的抗氧化能力,因而 4 种提取物中 SF0 样品的抗氧化能力较 SF80 和 SF100 样品好,SF120 样品的抗氧化能力最强。

表 2　SF0、SF80 和 SF100 样品中主要的黄酮类化合物的保留时间及峰面积

Table 2　Retention time and peak area of main flavonoids in SF0, SF80 and SF120 samples

Flavonoids	MS fragment	Retention time/(min)			Peak area/(10^7)		
		SF0	SF80	SF100	SF0	SF80	SF100
Rhamnocitrin	300.3$[M+H]^+$	1.62	1.69	1.68	2.17	4.42	4.48
Myricetin	318.3 $[M]^+$	10.93	10.86	10.88	2.18	1.53	1.69
4,7-dimethoxy kaempferola	314.1 $[M]^+$	8.67	8.67	8.62	4.20	3.07	3.44
Quercetin	301.1$[M+H]^+$	12.39	12.32	12.35	5.59	4.96	5.48
Ombuine	330.3 $[M]^+$	13.87	13.81	13.81	5.20	4.41	4.39

Note: The mass spectrometric data of a derived from ultraviolet detection map and the others from the total ion current spectrum diagram.

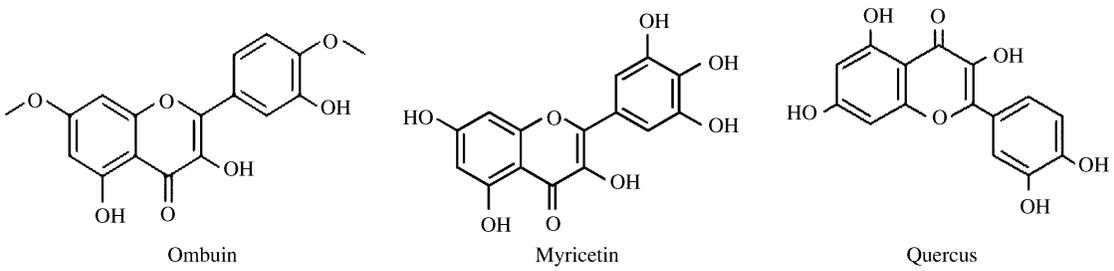


图 5 商陆黄素、杨梅黄酮和槲皮素的分子结构

Fig. 5 Structure of ombuin, myricetin and quercus

4 结 论

采用动态高压微射流技术对红薯叶黄酮进行提取，并与传统提取方法进行比较，分别对黄酮的得率、抗氧化活性、种类与结构进行分析，结果表明：

(1) 动态高压微射流处理可以促进红薯叶细胞的破碎，提高红薯叶与溶剂的接触面积，促使细胞中的黄酮溶出，提高总黄酮的得率，当处理压力为 100 MPa 时，黄酮得率达到(5.440%±0.027%)，比传统方法提高了 21.7%。

(2) 动态高压微射流提取压力对黄酮的抗氧化活性具有一定的影响，120 MPa 条件下提取的红薯叶黄酮的自由基清除能力和还原能力最强，80 和 100 MPa 处理使其抗氧化能力有轻微的下降，DPPH 清除能力和还原能力依次为：Vc>BHA>SF120>SF0>SF100>SF80，其影响机理有待进一步研究。

(3) 利用 HPLC-MS 研究微射流处理提取对红薯叶黄酮成份的影响。结果表明，微射流处理能够减少杂质的溶出、提高黄酮纯度，80 和 100 MPa 处理不会影响红薯叶黄酮的结构和活性。SF0、SF80 和 SF100 样品中主要的黄酮类化合物为槲皮素、4′,7-二甲氧基山奈酚、杨梅黄酮、商陆黄素和鼠李柠檬素，120 MPa 中主要的黄酮类化合物为槲皮素、杨梅黄酮和商陆黄素，但其变化机理还需进一步深入研究。

References:

[1] Heim K E, Taglaferro A R, Bobilya D J, et al. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships [J]. J Nutr Biochem, 2002, 13(10): 572-584.

[2] Liao W C, Lai Y C, Yuan M C, et al. Antioxidative activity of water extract of sweet potato leaves in Taiwan [J]. Food Chem, 2011, 127(3): 1224-1228.

[3] Zhang J, Yue L, Hayat K, et al. Purification of flavonoid from Gingko biloba extract by zinc complexation method and its effect on antioxidant activity [J]. Sep Purif Technol, 2010, 71(3): 273-278.

[4] Rumbaoa R G O, Cornago D F, Geronimo I M. Phenolic content and antioxidant capacity of philippine sweet potato (*Ipompea batatas*) varieties [J]. Food Chem, 2009, 113(4): 1133-1138.

[5] Luo L P, Gao Y Y, Hong X E, et al. Study on anti-tumor effects of flavonoids extracted from sweet potato leaf, stalk and stem [J]. Food Science, 2006, 27(8): 248-250. (in Chinese)
罗丽萍，高荫榆，洪雪娥，等. 甘薯叶柄藤类黄酮的抗肿瘤作用研究 [J]. 食品科学，2006，27(8)：248-250.

[6] Huang D J, Chen H J, Hou W C, et al. Active recombinant thioredoxin *h* protein with antioxidant activities from sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam Tainong 57) storage roots [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(15): 4720-4724.

[7] Luo J G, Kong L Y. Study on flavonoids from leaf of *Ipomoea batatas* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2005, 30(7): 516-518. (in Chinese)

罗建光,孔令义. 巴西甘薯叶黄酮类成分的研究 [J]. 中国中药杂志,2005,30(7):516-518.

[8] Li W F, Tian C L, Huang M E, et al. Preliminary determination of flavonoids in sweet potato leaves and stems [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21(4): 119-121. (in Chinese)
李文芳,田春莲,黄美娥,等. 甘薯叶和茎中黄酮类化合物含量的初步测定 [J]. 中国农学通报,2005,21(4):119-121.

[9] Wan J, Liu C M, Lan H J, et al. Effects of dynamic instantaneous high pressure treatment on the enzymoysis rate of dietary fiber [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics, 2008, 22(4): 439-444. (in Chinese)
万　婕,刘成梅,蓝海军,等. 动态瞬时高压作用对膳食纤维酶解速度的影响 [J]. 高压物理学报,2008,22(4):439-444.

[10] Li Z, Tu Z C, Mao Y W, et al. Extraction of flavonoids from sweet potato leaves by dynamic high-pressure microfluidization technology [J]. Food Science, 2010, 31(24): 83-86. (in Chinese)
李　志,涂宗财,毛沅文,等. 动态超高压微射流技术提取甘薯叶黄酮 [J]. 食品科学,2010,31(24):83-86.

[11] Liu W, Zhong Y J, Liu C M, et al. The effect of dynamic high pressure microfluidization on the activity of papain [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics, 2010, 24(2): 129-135. (in Chinese)
刘　伟,钟业俊,刘成梅,等. 动态高压微射流技术对木瓜蛋白酶活性的影响 [J]. 高压物理学报,2010,24(2):129-135.

[12] Liu W, Liu W L, Liu C M, et al. Preparation of medium chain fatty acids (MCFA) nano-liposome by means of high pressure microfluidization (HPM) [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics, 2010, 24(4): 293-299. (in Chinese)
刘　伟,刘玮琳,刘成梅,等. 高压微射流制备纳米中链脂肪酸脂质体的研究 [J]. 高压物理学报,2010,24(4):293-299.

[13] Liu W, Zhang Z Q, Liu C M, et al. The effect of dynamic high-pressure microfluidization on the activity, stability and conformation of trypsin [J]. Food Chem, 2010, 123(3): 616-621

[14] Yi Z B, Yu Y, Liang Y Z, et al. In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids [J]. Food Sci Tech, 2008, 41(4): 597-603.

[15] Naidu M M, Shyamala B N, Naik J P, et al. Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds [J]. Food Sci Tech, 2011, 44(2): 451-456.

[16] Koncic M Z, Kremer D, Gruz J, et al. Antioxidant and antimicrobial properties of Moltkia petraea (Tratt.) Griseb. flower, leaf and stem infusions [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(6): 1537-1542.

[17] Zhan R, Kurban, Gou P, et al. Antioxidant activity of extracts from *Leontopodium leontopodioides* [J]. Food Science, 2010, 31(3): 153-159. (in Chinese)
展　锐,库尔班,苟　萍,等. 火绒草提取物抗氧化活性的研究 [J]. 食品科学,2010,31(3):153-159.

[18] Yu H X. Effect of dynamic high pressure microfluidization on the properties and structures of hemicellulose [D]. Nanchang: Nanchang University, 2008. (in Chinese)
余海霞. 动态高压微射流对半纤维素性质和结构的影响 [D]. 南昌:南昌大学,2008.

[19] Jung C H, Seog H M, Choi I W, et al. Antioxidant activities of cultivated and wild Korean ginseng leaves [J]. J Food Chem, 2005, 92(3): 535-540.

[20] Liu J, Wang C N, Wang Z Z, et al. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays L.*) and related flavone glycosides [J]. Food Chem, 2011, 126(1): 261-269.

[21] Xu J R, Zhang M W, Liu X H, et al. Correlation between antioxidation and the content of total phenolics and anthocyanin in black soybean accessions [J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(2): 150-158.

[22] Zielińska D, Zieliński H. Antioxidant activity of flavone *C*-glucosides determined by updated analytical strategies [J]. Food Chem, 2011, 124(2): 672-678.

[23] Zhang Z Q. Effects of dynamic high-pressure microfluidization (DHPM) on the properties and conformation of trypsin and bromelain [D]. Nanchang: Nanchang University, 2010. (in Chinese)
张兆琴. 动态高压微射流技术对胰蛋白酶和菠萝蛋白酶性质和构像变化的影响 [D]. 南昌:南昌大 学,2010.

[24] Rice-Evans C A, Miller N J, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids [J]. Free Radic Biol Med, 1996, 20(7): 933-956.

[25] Cao G H, Sofic E, Prior R L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships [J]. Free Radic Biol Med, 1997, 22(5): 749-760.

Effects of Dynamic High Pressure Microfluidization (DHPM) Extraction on the Antioxidation of Flavonoids from Sweet Potato Leaves and Mechanism Studying

TU Zong-Cai[1,2], ZHANG Lu[1], WANG Hui[1], YE Yun-Hua[2], LI Zhi[1], HUANG Xiao-Qin[1]

(1. *State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang* 330047, *China*;
2. *Jiangxi Normal University, Nanchang* 330022, *China*)

Abstract: Effects of dynamic high pressure micro-fluidization(DHPM) in the extraction processing on the antioxidative activities of flavonoid from sweet potato leaves by DHPM in contrast to the traditional ethanol extraction were performed to explore the possible mechnism in combination with the high performance liquid chromatography combined with mass spectrum (HPLC-MS). The results showed that pretreatment by DHPM could promote cell rupture and unfolding of cell membrane, which caused the increase in the extraction rate of total flavonoid. The best result was achieved at 100 MPa with the highest yield of 5.440%±0.006%, which was higher by 21.7%, relative to the enthanol extraction. HLPC-MS analysis revealed that pretreatment by DHPM could improve the purity and content of lower polar molecule in extract solvent. 80 MPa and 100 MPa pressurization treatment decreased the antioxidant activity of samples with identical flavonoid content, but had negligible effects on elements and structure of flavonoid. Pretreatment with 120 MPa (SF120 sample) pressurization had the strongest antioxidation with IC_{50} for DPPH and ·OH were (15.99±1.19)mg/L and (0.093±0.012)g/L, respectively. The main flavoniods of SF0, SF80 and SF100 are quercetin, 4′, 7- dimethoxykaempferol, myricetin, ombuin and rhamnocitrin, while, the main flavoniods of SF120 are quercetin, myricetin and ombuin.

Key words: sweet potato leaves; flavonoid; antioxidative activity; dynamic high pressure micro-fluidization (DHPM); high performance liquid chromatography combined with mass spectrum (HPLC-MS)