

Box-Behnken 响应面法优化葛花与枳椇子中总黄酮提取工艺的研究^①

洪金艳¹, 李洪军^{1,2}, 甘奕¹,
陈康¹, 夏启禹¹, 贺稚非^{1,2}

1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 重庆市农产品加工技术重点实验室, 重庆 400715

摘要: 利用响应面分析法对葛花与枳椇子中总黄酮的提取工艺进行优化, 通过单因素试验分别考察原料比、粉碎粒度、料液比和提取时间对总黄酮得率的影响, 选择适当的试验因素和水平, 利用 Design Expert 软件和 Box-Behnken 设计法设计响应面试验, 对各个因素的显著性以及交互作用进行分析. 结果表明: 葛花与枳椇子中总黄酮的提取工艺最佳条件为原料比(葛花与枳椇子)2.2:1, 不粉碎, 料液比1:21, 时间85 min, 在该条件下验证, 总黄酮得率可达到8.31 mg/g, 接近预测值8.37 mg/g. 最优提取条件下的提取次数试验表明, 提取2次效果最好.

关键词: 葛花; 枳椇子; 总黄酮; 响应面分析法; 提取

中图分类号: TS251.5+4

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2014)10-0186-07

葛花(*flos puerariae*)是豆科植物甘葛藤、野葛的花. 葛花是传统的解酒醒脾中药, 可以治伤酒发热烦渴、呕逆吐酸、不思饮食、吐血和肠风下血等, 是中医中具有代表性的解酒药物^[1]. 近代研究表明, 葛花具有解酒保肝^[2-5]、抗过敏^[6-7]、降血糖降血脂^[8-9]等作用, 黄酮为主要的解酒保肝活性物质^[10-11]. 枳椇又名拐枣、金钩子等, 为鼠李科拐枣属落叶乔木, 枳椇子为枳椇植物干燥成熟的果实或种子, 具有解酒毒、清热利尿的功效^[12]. 许多学者研究发现枳椇子的疗效与其含有成分的抗氧化作用密切相关, 尤其是黄酮类物质^[13-14]. 有研究^[15-18]发现葛花与枳椇子混合物的水提取液的解酒保肝效果优于其他方式. 但目前对于葛花与枳椇子混合物中黄酮的提取工艺尚未有系统研究. 响应面分析法结合 Box-Behnken 设计方法将各个因素与响应值之间的函数关系用多项式进行拟合, 通过对回归方程及响应面分析求得最佳工艺条件^[19-20]. 本工作拟通过单因素试验和响应面分析法将葛花与枳椇子混合物的水提工艺进行优化, 因为总黄酮类部位为解酒保肝的药理活性物质, 因此选择总黄酮的得率作为工艺优化的评价指标, 为以葛花与枳椇子为原料的解酒保肝类保健品的规模化生产提供参考.

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 材料与试剂

葛花, 广西玉林; 枳椇子, 湖北恩施; 芦丁(98%生化试剂), 上海源叶生物科技有限公司; 亚硝酸钠、

① 收稿日期: 2014-05-12

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31071566); 西南大学国际合作项目(20131220).

作者简介: 洪金艳(1990-), 女, 四川广元人, 硕士研究生, 主要从事食品微生物与发酵的研究.

通信作者: 贺稚非, 教授, 博士研究生导师.

硝酸铝、氢氧化钠均为分析纯,成都市科龙化工试剂厂。

1.1.2 仪器与设备

DL-1 万用电炉,北京市中兴伟业仪器有限公司;UV-2450 紫外分光光度计,日本岛津公司;FA1004A 型分析天平,上海精天电子仪器有限公司;YP2001N 型电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;DHG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱,上海齐欣科学仪器有限公司;103B 高速中药粉碎机,瑞安市永历制药机械有限公司;612/2 型土壤检验筛(20,40,60,80,100 目),浙江省诸暨南山纱筛厂。

1.2 实验方法

1.2.1 总黄酮的提取方法

准确称取除杂干燥后的不同比例的葛花枳椇子共 2.0 g,分别加入一定比例的水浸泡 30 min,然后在电炉上煮沸一段时间,过滤并收集滤液,测定滤液中总黄酮含量,计算得率。

1.2.2 总黄酮含量的测定

1.2.2.1 芦丁标准溶液的配制及标准曲线

参考 DB13/T385-1998《食品中总黄酮(芦丁)的测定》^[21] 方法,根据实际情况略做修改。以吸光度为纵坐标,芦丁的质量为横坐标,绘制标准曲线,以最小二乘法计算出回归方程为 $y=0.4027x$,相关系数为 $R^2=0.9996$ 。

1.2.2.2 总黄酮含量的测定

取一定量的提取液,用 0.1 mol/L NaOH 调 pH 到中性,然后定容到 100 mL,吸取 2.00 mL 定容后的溶液两等份,分别置于 25 mL 具塞比色管中,补水至约 10 mL,以下步骤按 1.2.2.1 操作,其中一份不加 1.0 mL 100 g/L 硝酸铝溶液做样品空白。显色后用滤纸过滤,弃去初滤液,收集滤液备测。以试剂空白溶液调整零点,在波长 510 nm 处测样品和样品空白的吸光度。测得样品吸光度减去样品空白吸光度,参照芦丁标准曲线或用回归方程计算出样品溶液中总黄酮的含量。

1.2.2.3 黄酮得率的计算公式

$$W = \frac{m_2 \times 50 \times V_1}{V_2 \times m_1}$$

式中:W 为总黄酮得率(mg/g); m_1 为葛花与枳椇子样品总质量(g); m_2 为比色管(25 mL)中总黄酮质量(mg); V_1 为提取液总体积(mL); V_2 为用于总黄酮含量测定的提取液体积(mL)。

1.2.3 单因素实验对提取总黄酮的条件优化

1.2.3.1 原料比对葛花与枳椇子总黄酮得率的影响

按照 1.2.1 节的方法,选择不粉碎的原料,料液比为 1:20,提取时间为 60 min,分别考察原料比(葛花与枳椇子)为 4:1,3:1,2:1,1:1,1:2,1:3,1:4 时对总黄酮得率的影响。

1.2.3.2 粉碎粒度对葛花与枳椇子总黄酮得率的影响

按照 1.2.1 节的方法,选择原料比(葛花与枳椇子)为 2:1,料液比为 1:20,提取时间为 60 min,分别考察粉碎粒度为不粉碎,20,40,60,80,100 目时对总黄酮得率的影响。

1.2.3.3 料液比对葛花与枳椇子总黄酮得率的影响

按照 1.2.1 节的方法,选择选择原料比(葛花与枳椇子)为 2:1,不粉碎,提取时间为 60 min,分别考察料液比为 1:10,1:15,1:20,1:25,1:30,1:35 时对总黄酮得率的影响。

1.2.3.4 提取时间对葛花与枳椇子总黄酮得率的影响

按照 1.2.1 节的方法,选择选择原料比(葛花与枳椇子)为 2:1,不粉碎,料液比为 1:20,分别考察提取时间为 30,45,60,75,90,105,120 min 时对总黄酮得率的影响。

1.2.4 响应面法对提取总黄酮的条件优化

通过 spss16.0 软件对各个单因素进行分析,确定 Box-Behnken 中心组合实验设计的自变量,以总黄酮得率为响应值,通过响应面分析进行提取条件的优化。根据单因素试验的结果,以原料比 A、料液比 B 和提取时间 C 为自变量,以总黄酮得率 Y 为响应值,进行 3 因素 3 水平试验设计,因素水平及编码见表 1。

表 1 响应面分析因素水平及编码

因 素	编码水平		
	−1	0	1
原料比 A(葛花与枳椇子/g)	1 : 1	2 : 1	3 : 1
液料比 B/(mL · g ^{−1})	15 : 1	20 : 1	25 : 1
提取时间 C/min	75	90	105

1.3 数据统计分析

采用 Design-Expert. 8.0 软件进行一般线性方差分析, 显著水平为 $p<0.05$.

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 原料比对总黄酮得率的影响

由图 1 可知, 随着葛花比例的减小, 总黄酮含量成先增加后减小的趋势, 在原料比(葛花与枳椇子)为 2 : 1 时总黄酮的得率最高. 柳海艳^[15-18]研究发现的葛花枳椇子 2 : 1 的比例配伍对改善酒精性肝损伤大鼠肝脏功能的效果最佳, 而用于解酒保肝的活性物质为黄酮类物质, 因此本试验得出的原料比(葛花与枳椇子)为 2 : 1 配伍时的总黄酮得率最高是与之相符的. 不同比例葛花与枳椇子配伍的总黄酮得率不同, 可能是因为葛花与枳椇子两物质之间存在互相影响, 进而影响了两种物质所含黄酮的溶出. 本实验选择原料比(葛花与枳椇子)为 2 : 1.

2.1.2 不同粉碎粒度对总黄酮得率的影响

由图 2 可知, 除了未粉碎样品, 随着样品粒度的增加, 总黄酮得率逐渐增加, 但当粒度超过 60 目时, 总黄酮得率呈下降的趋势. 这说明, 在一定粒度范围内, 随着粒度的增加, 总黄酮的溶解性增强, 但粒度过细时, 黄酮在样品颗粒表面的吸附增加, 从而降低其在溶剂中的溶解性^[22]. 虽然 60 目时黄酮得率最高, 但未粉碎样品的总黄酮得率仅次于 60 目时的总黄酮得率, 这可能是因为葛花与枳椇子植物本身存在一些孔径, 使黄酮溶于溶剂而通过细胞孔径中游离出来^[23]. 从原料利用率考虑, 选择未粉碎的葛花与枳椇子为原料.

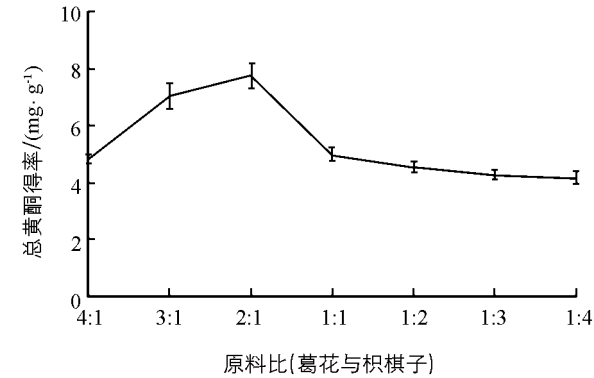


图 1 原料比对总黄酮提取得率的影响

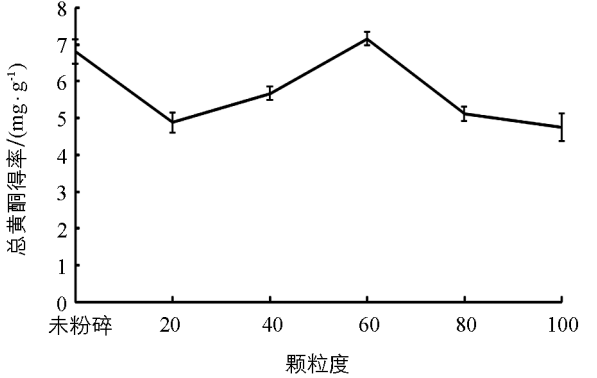


图 2 粉碎粒度对总黄酮提取得率的影响

2.1.3 料液比对总黄酮得率的影响

由图 3 可知, 葛花与枳椇子的总黄酮得率随着液体比例的增大呈先增加后减小的趋势, 在 1 : 20 时最大. 样品量一定时, 随着料液比的增加, 溶剂含量增大, 样品细胞壁内外的浓度差增大, 由于浓度差是提取过程的推动力, 使得总黄酮的提取速度也增大, 从而使更多的黄酮物质溶出^[22]. 而且在没有搅拌的情况下, 沸腾可使固液两相有较高的相对运动速度, 有利于加速提取速率. 但增加到一定程度, 可能使得其他一些非黄酮类可溶性杂质的溶解度也逐渐增大, 从而导致总黄酮得率降低^[24]. 所以选择 1 : 20 为提取葛花与枳椇子中总黄酮的最佳料液比.

2.1.4 提取时间对总黄酮得率的影响

由图 4 可知, 随着提取时间的延长, 总黄酮得率逐渐增加, 在 90 min 以后几乎不再增加. 在 30~

45 min总黄酮得率增加幅度较显著,可能是因为烘干后的葛花与枳椇子质地疏松,溶剂易于进入,较大的浓度差使得总黄酮的提取速度较快,在 45~75 min 阶段细胞内外的浓度差差别不大,提取速度缓慢,在 75~90 min,干燥的葛花与枳椇子吸水后细胞充分溶胀,使得细胞内的黄酮物质较快的扩散到细胞外^[25].

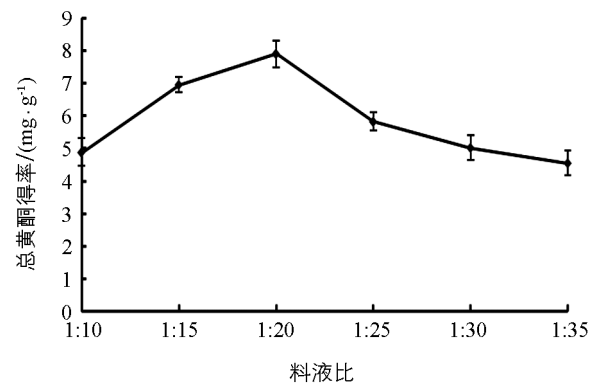


图 3 料液比对总黄酮提取得率的影响

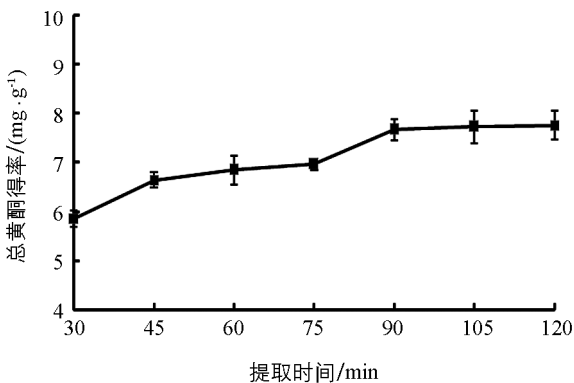


图 4 提取时间对总黄酮提取得率的影响

2.2 响应面优化葛花与枳椇子总黄酮提取工艺

2.2.1 响应面分析方案及结果

综合单因素试验结果,以原料比 A 、料液比 B 和提取时间 C 为主要影响因素,以总黄酮得率 Y 为响应值,利用 Designer-Expert 8.0 软件进行数据拟合,试验设计方案及结果见表 2.

表 2 响应面分析试验设计方案及结果

试验号	A	B	C	$Y/(mg \cdot g^{-1})$
1	0	1	1	5.03
2	0	0	0	7.84
3	-1	-1	0	4.91
4	1	0	-1	6.97
5	-1	0	-1	6.44
6	1	-1	0	6.09
7	0	0	0	8.35
8	0	1	-1	6.82
9	0	0	0	8.32
10	-1	0	1	5.29
11	0	-1	-1	5.98
12	1	0	1	5.18
13	0	0	0	7.94
14	-1	1	0	5.71
15	0	0	0	7.83
16	0	-1	1	5.23
17	1	1	0	6.72

通过 Designer-Expert 8.0 软件将表 2 所得的试验数据进行统计分析,得到总黄酮得率对原料比、料液比和提取时间的二次多项回归模型为

$$Y = 7.92 + 0.33A + 0.26B - 0.69C - 0.93A^2 - 1.13B^2 - 1.02C^2$$

式中: A 为原料比(葛花与枳椇子); B 为液料比; C 为提取时间.

2.2.2 响应面结果分析

为了检验回归模型的有效性,确定各因素对总黄酮得率的影响程度,对回归模型进行方差分析,结果见表 3.

由表 3 可知,模型的 $p < 0.000\ 1$,回归方程模型极显著,失拟项的 p 值为 0.473 2,不显著,且 R^2 为 0.935 6,拟合模型的修正相关系数平方(R^2)为 0.897 0,说明方程可靠,模型的拟合度较好,回归方程可

以很好地描述各因素与响应值之间的关系, 能通过此响应面模型来确定最佳提取工艺条件.

回归模型中一次项 C 的 $p < 0.001$, 表明其对总黄酮得率影响极显著, A 的 $p < 0.005$, 表明其对总黄酮得率影响显著, B 的 $p > 0.005$, 表明其对总黄酮得率影响不显著; 二次项 A^2, B^2, C^2 的 p 值均小于 0.001, 为极显著. 由此得出 3 个因素对总黄酮得率的影响程度由大到小为提取时间 > 原料比 > 料液比.

表 3 回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	20.084 14	6	3.347 355 98	24.232 15	<0.000 1	* *
A	0.851 513	1	0.851 512 5	6.164 261	0.032 4	*
B	0.535 613	1	0.535 612 5	3.877 401	0.077 3	
C	3.753 8	1	3.753 8	27.17447	0.000 4	* *
A^2	3.616 276	1	3.616 276 053	26.178 91	0.000 5	* *
B^2	5.393 087	1	5.393 086 579	39.041 58	<0.000 1	* *
C^2	4.374 192	1	4.374 191 842	31.665 61	0.000 2	* *
残差	1.381 37	10	0.138 137			
失拟项	0.869 65	6	0.144 941 667	1.132 976	0.473 2	not significant
纯误差	0.511 72	4	0.127 93			
总和	21.465 51	16				

注: * * 为差异极显著($p < 0.01$); * 为差异显著($p < 0.05$).

2.2.3 葛花与枳椇子中总黄酮提取工艺的响应面分析

各影响因素和响应值构成三维空间的曲面图和二维平面上的等高线图能够较为直观地反映出各因素的相互作用以及对总黄酮得率的影响.

通过 Design Expert 软件中的 Box-Behnken 模型, 将影响葛花枳椇子总黄酮得率的 1 个因素固定为零水平, 得到的另外 2 个因素对得率的交互影响结果, 其对应的响应面图及等高线图如图 5, 图 6 和图 7 所示.

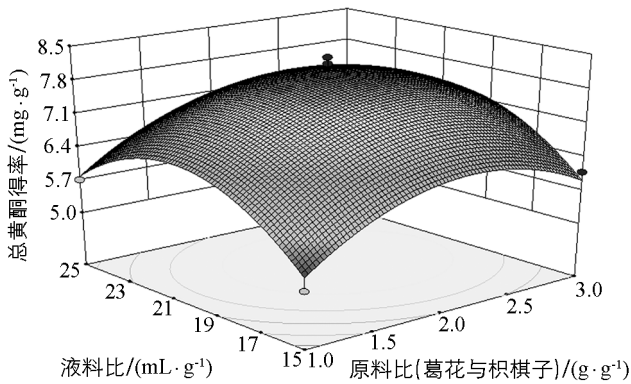


图 5 原料比和液料比对总黄酮得率的交互影响

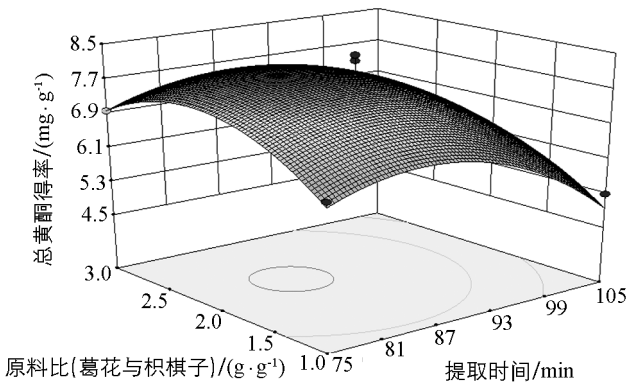


图 6 原料比和提取时间对总黄酮得率的交互影响

对图 5 至图 7 分析可知, 在椭圆形区域的中心点为总黄酮得率最高的点, 黄酮得率由中心向边缘逐渐减少. 原料比和液料比、原料比和提取时间及液料比和提取时间的平面图都呈椭圆形, 表明它们的交互作用都较强. 提取时间对提取葛花与枳椇子的总黄酮的得率影响最显著, 表现为曲面较陡, 其次为原料比, 液料比的影响较小, 表现为曲面较为平滑, 这与响应面回归分析的结果吻合. Design Expert 软件对试验参数进行优化, 得出最优的提取条件为原料比(葛花与枳椇子)为 2.18 : 1, 液料比为 20.57 : 1, 提取时间为 84.95 min, 可获得总黄

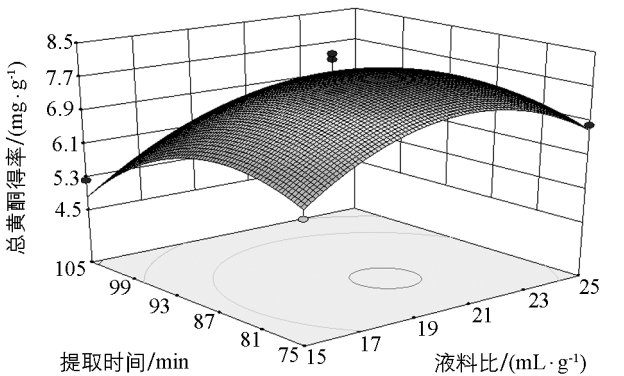


图 7 液料比和时间对总黄酮得率的交互影响

酮得率为 8.37 mg/g.

2.2.4 验证试验

采用此最佳工艺条件,即原料比(葛花与枳椇子)为 2.2 : 1,料液比为 1 : 21,提取时间为 85 min 进行验证试验.经 3 次平行试验,实际测得的总黄酮得率平均值为 8.31 mg/g,与预测值的相对误差为 0.71%.可见提取葛花与枳椇子总黄酮的得率与预测值基本吻合,说明预测模型与实际情况拟合较好.

2.2.5 提取次数对总黄酮得率的影响

根据单因素和响应面试验结果,取未粉碎的葛花与枳椇子,按原料比(葛花与枳椇子)为 2.2 : 1,料液比为 1 : 21,提取时间 85 min,过滤后重复提取 3 次,探讨提取次数对总黄酮得率的影响.由图 8 可知,葛花与枳椇子中总黄酮的得率在第 1 次提取时最高,2 次提取后总黄酮的得率明显减少,第 3 次提取后总黄酮的量很少,几乎不再检出.

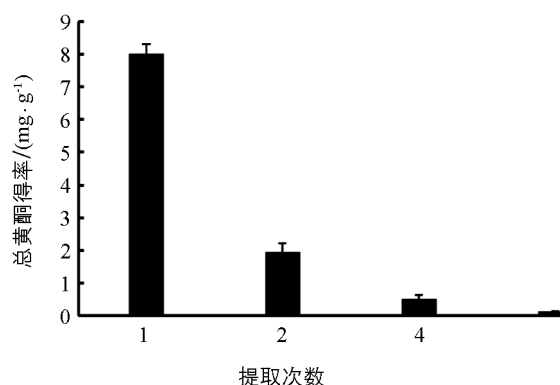


图 8 提取次数对总黄酮得率的影响

3 结 论

1) 本试验通过单因素分别考察了原料比、粉碎粒度、料液比、提取时间对葛花枳椇子提取的总黄酮得率的影响,确定了影响总黄酮得率的主要因素,然后利用 Design Expert 软件的 Box-Behnken 设计法设计响应面试验,建立了数学模型,并通过方差分析,得出原料比和料液比、原料比和提取时间及料液比和提取时间的交互作用都较强,同时表明影响葛花与枳椇子总黄酮得率的因素主次关系为提取时间,原料比,料液比.

2) 在此基础上考察了提取次数对总黄酮得率的影响,最终得出葛花枳椇子提取的总黄酮得率最佳工艺条件为原料比(葛花与枳椇子)2.2 : 1,料液比 1 : 21,时间 85 min,提取 2 次.

3) 此优化模型能较好地预测葛花枳椇子提取的总黄酮得率,对从葛花与枳椇子中提取总黄酮用于解酒保肝研究的产业化具有一定的理论指导意义.

参考文献:

- [1] 朱 华,刘蕊蕊,王孝勋,等. 葛花的研究进展 [J]. 中医药学刊, 2005, 23(12): 2273.
- [2] HAN Y O, HAN M J, PARK S H, et al. Protective Effects of Kakkalide From Flos Puerariae on Ethanol-Induced Lethality and Hepatic Injury are Dependent on its Biotransformation by Human intestinal Microflora [J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2003, 93(3): 331—336.
- [3] 雷红伟,杨伟峰. 葛花对酒精性肝损伤保护作用的研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2): 489—490.
- [4] XIONG Y, YANG Y, YANG J, et al. Tectoridin an Isoflavone Glycoside From the Flower of Pueraria Lobata, Prevents Acute Ethanol-Induced liver Steatosis in Mice [J]. Toxicology, 2010, 276(1): 64—72.
- [5] LEE H W, CHOO M K, BAE E A, et al. Beta-Glucuronidase Inhibitor Tectorigenin Isolated From the Flower of Pueraria Thunbergiana Protects Carbon Tetrachloride induced Liver Injury [J]. Liver International, 2003, 23(4): 221—226.
- [6] TAMURA S, YOSHIHIRA K, TOKUMARU M, et al. Inhibitors for Expression of IgE Receptor on Human Mast Cell From Puerariae Flos [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2010, 20(13): 3872—3875.
- [7] PARK E K, SHIN Y W, Lee H U, et al. Passive Cutaneous Anaphylaxis-Inhibitory Action of Tectorigenin, a Metabolite of Tectoridin by Intestinal Microflora [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2004, 27(7): 1099—1102.
- [8] MIN S W, KIM D H. Kakkalide and Irisolidone: HMG-CoA Reductase Inhibitors Isolated From the Flower of Pueraria Thunbergiana [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2007, 30(10): 1965—1968.
- [9] CHOI J, SHIN M H, PARK K Y, et al. Effect of Kaikasaponin III Obtained From Pueraria Thunbergiana Flowers on Serum and Hepatic Lipid peroxides and Tissue Factor Activity in the Streptozotocin-Induced Diabetic Rat [J]. Journal of Medicinal Food, 2004, 7(1): 31—37.
- [10] 尹俊亭,仲 英,刘 鲁. 葛花化学成分研究(Ⅱ) [J]. 中草药, 2007, 38(9): 1315—1316.
- [11] ZHANG R, HU Y, YUAN J, et al. Effects of Puerariae Radix Extract on the Increasing Intestinal Permeability in Rat

with Alcohol-Induced Liver Injury [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 126(2): 207—214.

[12] 谢宗万, 余友岑. 全国中草药名鉴: 上册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 464—472.

[13] WANG M, JIANG C, MA L, et al. Preparation, Preliminary Characterization and Immunostimulatory Activity of Polysaccharide Fractions From the Peduncles of *Hovenia Dulcis* [J]. Food Chemistry, 2013, 138(1): 41—47.

[14] WANG M, ZHU P, JIANG C, et al. Preliminary Characterization, Antioxidant Activity in Vitro and Hepatoprotective Effect on Acute Alcohol-Induced Liver Injury in Mice of Polysaccharides From the Peduncles of *Hovenia Dulcis* [J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(9): 2964—2970.

[15] 柳海艳, 王 茜, 钟赣生, 等. 葛花枳椇子不同比例配伍对酒精性肝损伤大鼠肝组织超微结构影响的实验研究 [J]. 中药与临床, 2011, 2(2): 38.

[16] 柳海艳, 王 茜, 钟赣生, 等. 葛花枳椇子不同比例配伍对酒精性肝损伤大鼠肝组织病理形态影响的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(10): 2224—2227.

[17] 柳海艳, 钟赣生, 王 茜, 等. 葛花枳椇子及其配伍采用水提和醇提对酒精性肝损伤大鼠肝脏功能的影响 [J]. 科技导报, 2012, 30(28/29): 65—70.

[18] 柳海艳. 葛花枳椇子配伍对酒精性肝损伤的防治作用及机理探讨 [D]. 北京: 中医药大学, 2011.

[19] 王永菲, 王成国. 响应面法的理论与应用 [J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2005, 14(3): 236—240.

[20] 杨文雄, 高彦祥. 响应面法及其在食品工业中的应用 [J]. 中国食品添加剂, 2005, 2(2): 68—71.

[21] 河北省技术监督局. DB13/T385-1998 食品中总黄酮(芦丁)的测定 [S]. 石家庄: 河北省技术监督局, 1998.

[22] 王 倩, 常丽新, 贾长虹, 等. 狗枣猕猴桃叶黄酮提取工艺的研究 [J]. 食品工业科技, 2011, 32(5): 235—237.

[23] 黄 昆. 黄芩煎煮工艺及最佳粉碎粒度的研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2005.

[24] 刘艳清, 王洪武, 蔡 璇, 等. 响应面法优化栀子总黄酮提取工艺研究 [J]. 中药材, 2014, 37(2): 339—343.

[25] 田 龙. 苦荞黄酮的水浸提工艺优化 [J]. 粮食与饲料工业, 2008, 9(9): 29—30.

Optimization of Extraction Technology for Total Flavonoids from *Flos puerariae* and *Hovenia dulcis* by RSM of Box-Behnken

HONG Jin-yan¹, LI Hong-jun^{1,2}, GAN Yi¹,
CHEN Kang¹, XIA Qi-yu¹, HE Zhi-fei^{1,2}

1. School of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. Chongqing Key Laboratory of Agricultural Products Processing Technology, Chongqing 400716, China

Abstract: Response surface analysis methodology (RSM) was used for optimizing the extraction technology for total flavonoids from *Flos puerariae* and *Hovenia dulcis*. In single-factor tests, raw material ratio, fineness of pulverization, liquid-material ratio and extraction time on extraction rate were explored. A regression model describing extraction rate for total flavonoids as a function of three variables was established with the Design-Expert software according to the Box-Behnken design principle and experimental data. The optimal extraction conditions for total flavonoids from *F. puerariae* and *H. dulcis* were raw material ratio of 2.2 : 1, non-grinding, material-liquid ratio of 1 : 21, extraction time of 85 min and extraction twice. Under the optimal extraction conditions, the maximum extraction yield of total flavonoids was 8.31 mg/g, which was close to the predicted value (8.37 mg/g).

Key words: *Flos puerariae*; *Hovenia dulcis*; total flavonoids ; response surface analysis methodology (RSM); extraction

