

菟丝子总黄酮提取工艺 及其抗氧化活性

秦晶晶, 钱慧琴, 魏 婧, 高 利, 袁铁峰, 闫福林*

(新乡医学院三全学院, 河南新乡 453200)

摘 要:采用响应面法优化菟丝子中总黄酮的提取工艺。在单因素实验的基础上,以乙醇浓度、提取温度、料液比、提取时间为自变量,总黄酮得率为因变量,运用 Box-Behnken 设计-响应面优化菟丝子中总黄酮回流提取工艺。并通过菟丝子总黄酮对 DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基的清除作用来评价其抗氧化活性。结果表明:菟丝子总黄酮最佳提取工艺条件为乙醇浓度 90.0%、提取温度 70 ℃、料液比 1:15 g/mL、提取时间 100 min。在此条件下,菟丝子总黄酮得率为 (34.65 ± 0.02) mg/g,与模型预测值 (34.37 mg/g) 相对误差为 0.81%,说明回流提取菟丝子总黄酮的工艺稳定可靠。菟丝子总黄酮对 DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子的 IC_{50} 分别为 0.067、7.209、0.119 mg/mL,抗坏血酸对 DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子的 IC_{50} 分别为 0.082、1.731、0.054 mg/mL,体外抗氧化试验结果表明,菟丝子总黄酮对 DPPH 自由基具有较强的清除能力,明显高于抗坏血酸;而对羟自由基、超氧阴离子具有一定的清除能力,但清除能力低于同浓度的抗坏血酸。

关键词:菟丝子,总黄酮,提取工艺,响应面,抗氧化活性

Extraction Process of Total Flavonoids from *Cuscuta chinensis* and Its Antioxidant Activity

QIN Jing-jing, QIAN Hui-qin, WEI Jing, GAO Li, YUAN Tie-feng, YAN Fu-lin*

(Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453200, China)

Abstract: Response surface method was used to optimize the extraction technology of total flavonoids from *Cuscuta chinensis*. On the basis of single-factor test, ethanol concentration, extraction temperature and ratio of water to materials and extraction time were optimized by the Box-Behnken design and response surface method, and the yield of total flavonoids was used as the responsive values. Meanwhile, the antioxidant capacity was measured by scavenging of DPPH·, hydroxyl free radical and superoxide free radical. The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: Ethanol concentration was 90%, extraction temperature was 70 ℃, ratio of raw material to liquid was 1:15 g/mL and extracted for 100 min. Under the conditions, the yield of total flavonoids was (34.65 ± 0.002) mg/g, which had a relative error was 0.81% with the expected yield of 34.37 mg/g. This indicated the refluxing extraction process of total flavonoids from *Cuscuta chinensis* was stable and reliable. IC_{50} of total flavonoids from *Cuscuta chinensis* to DPPH free radical, hydroxyl radical and uperoxide free radical were 0.067, 7.209 and 0.119 mg/mL, respectively. IC_{50} of ascorbic acid to DPPH free radical and hydroxyl radical and uperoxide free radical were 0.082, 1.731 and 0.054 mg/mL, respectively. The antioxidant activity *in vitro* showed that total flavonoids from *Cuscuta chinensis* had a better scavenging effect on DPPH radical and the DPPH scavenging ability of was obviously higher than that of ascorbic acid. The scavenging ability of hydroxyl radical and superoxide free radical was lower than that of ascorbic acid.

Key words: *Cuscuta chinensis*; total flavonoids; extraction technology; response surface methodology; antioxidant activities

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2019)23-0151-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.23.025

引文格式: 秦晶晶, 钱慧琴, 魏婧, 等. 菟丝子总黄酮提取工艺及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(23): 151-157.

菟丝子为旋花科植物南方菟丝子 (*Cuscuta australis* R.Br.) 或菟丝子 (*Cuscuta chinensis* Lam.) 的干

燥成熟种子^[1]。中药菟丝子始载于《神农本草经》, 并列为上品, 其味甘性温, 归肝、肾、脾经, 具有补肾

收稿日期: 2019-01-15

作者简介: 秦晶晶 (1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物活性成分研究, E-mail: 18790562339@139.com。

* 通讯作者: 闫福林 (1957-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物活性成分研究, E-mail: 1191991780@qq.com。

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目计划 (18B350006); 校级教改重点课题 (200706); 新乡医学院科技创新团队基金 (STD201602)。

益精、止泻安胎、养肝明目之功效,是中医壮阳、补肾、固精之要药^[2-3]。研究发现,菟丝子的主要有效成分为黄酮类、多糖、木脂素等,其中黄酮类成分具有抗氧化、清除自由基、抗癌防癌、改善心脑血管循环和调节血压等作用^[4-7],具有很高的营养保健价值。

目前对菟丝子总黄酮提取的研究有一些报道,一般采用回流提取法、超声提取法、冷浸法、超声波协同复合酶等方法提取菟丝子中总黄酮^[8-11],秦晶晶等^[6]比较回流提取法、超声提取法、冷浸法、微波辅助提取法和索氏提取法提取菟丝子中总黄酮得率,发现得率由高到低依次为:回流提取法、微波辅助萃取法、索氏提取法、超声提取法、冷浸法。回流提取方法具有简便易行、溶剂可回收利用、经济节约、提取率高的优点。但响应面曲法优化菟丝子中总黄酮回流提取工艺及其体外抗氧化性研究未见文献报道。

因此,为充分开发和利用菟丝子中的生物活性成分,本研究以菟丝子为原料,采用回流提取法在单因素实验的基础上,考察了乙醇浓度、液料比、提取温度、提取时间对菟丝子中总黄酮提取量的影响,并通过 Box-Behnken 设计-响应面法优化菟丝子中总黄酮的提取工艺,并从其清除 DPPH 自由基、羟自由基、超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)自由基的能力初步研究菟丝子总黄酮抗氧化活性^[12-16],旨在为更好地开发利用菟丝子资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

菟丝子 安徽亳州市药材总公司提供,新乡医学院药学院中药学教研室鉴定为旋花科植物(*Cuscuta australis* R.Br.)的干燥成熟种子;芦丁对照品 购自中国食品药品检定研究院(批号:100080-201408);1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(DPPH) 购自东京化成工业株式会社(CAS:1898-66-4);95%乙醇、 $NaNO_2$ 、 $FeSO_4$ 、焦性没食子酸等试剂均为分析纯 购于天津市德恩化学试剂有限公司。

电子分析天平 上海象平仪器仪表有限公司;SG-4054 型数控精密恒温水浴锅 上海硕光电子科技有限公司;KQ5200DE 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;R206 型旋转蒸发仪 上海申生科技有限公司;SHZ-3 型循环水式真空泵 郑州杜甫仪器厂;101-8 型电热鼓风恒温干燥箱 江苏金坛市佳美仪器有限公司;T6 新世纪紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菟丝子总黄酮的提取 菟丝子在 60℃ 恒温干燥箱中干燥 6 h,烘至恒重,粉碎,过 40 目筛,得菟丝子粉;称取 0.1 g 菟丝子粉置于圆底烧瓶中,在一定的提取温度、乙醇液料比、乙醇浓度和提取时间的条件下进行总黄酮的回流提取,然后将得到的提取液抽滤,定容至 25 mL 容量瓶,备用。

1.2.2 总黄酮的测定

1.2.2.1 芦丁标准曲线的绘制 精密称取芦丁对照品 25 mg,置于 50 mL 容量瓶中,加入少量 95%乙醇

溶解并定容至刻度,摇匀即得芦丁对照品溶液(5 mg/mL)。精密吸取芦丁对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL,分别置于 10 mL 具塞试管中,各加水至 5.0 mL,分别加入 5% 亚硝酸钠 0.6 mL,摇匀,放 6 min,加入 10% 硝酸铝 0.6 mL,摇匀后放置 6 min,加入 4% NaOH 3.0 mL,加水至刻度,摇匀后放置 15 min。于 506 nm 波长处测定吸收度 $A^{[9]}$,以芦丁浓度 $C(\mu g/mL)$ 为横坐标,吸收度 A 为纵坐标,绘制标准曲线, $y = 0.0107x + 0.0254$, $R^2 = 0.9997$ 。

1.2.2.2 菟丝子总黄酮的测定 准确量取样品溶液 0.8 mL 于 10 mL 比色管中,按照“1.2.2.1”中所述方法进行的操作,按下式计算黄酮得率。

$$W(\text{mg/g}) = \frac{c \times D}{m}$$

式中:W 表示黄酮得率,mg/g;c 表示根据吸光度值计算出的溶液质量浓度,mg/mL;D 表示溶液稀释倍数;m 表示药材取样量,g。

1.2.3 单因素对黄酮提取量的影响 考察单因素乙醇浓度(50%、60%、70%、80%、90%),提取温度(50、60、70、80、90℃),料液比(1:5、1:10、1:20、1:30、1:40 g/mL),提取时间(30、60、90、120、150 min)对黄酮提取量的影响,乙醇浓度、提取温度、料液比和提取时间四个因素的固定水平分别为 70%、70℃、1:30 g/mL、60 min,在对各因素进行单因素实验探究时,其他因素均取固定水平。

1.2.4 响应面实验设计 在单因素实验结果基础上,按照 Box-Behnken 中心组合实验设计原理,采用 Design-Expert 8.0.6 软件设计响应面实验。本实验以总黄酮提取量为响应值,选取乙醇浓度(A)、提取温度(B)、料液比(C)、提取时间(D)四因素三水平进行试验设计,因素水平见表 1。

表 1 响应面实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 提取温度 (℃)	C 料液比 (g/mL)	D 提取时间 (min)
-1	70	70	1:5	80
0	80	80	1:10	90
1	90	90	1:15	100

1.2.5 菟丝子总黄酮体外抗氧化试验

1.2.5.1 菟丝子总黄酮对 DPPH 自由基清除活性的测定 将最佳工艺条件下得到菟丝子总黄酮浓缩液为原料液,并加无水乙醇配制成质量浓度分别为 0.03、0.06、0.08、0.10、0.14、0.20、0.24、0.26 mg/mL 的样品溶液。参考焦坤鹏等^[17]的方法进行 DPPH 清除活性的测定,并以抗坏血酸作为参照比较效果,按以下公式计算清除率及 IC_{50} 。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{对照}}}\right) \times 100$$

1.2.5.2 菟丝子总黄酮对羟自由基清除活性的测定 将最佳工艺条件下得到的菟丝子总黄酮浓缩液加无水乙醇配制成质量浓度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.5、4.5、5.0 mg/mL 的样品溶液。参考文献

[18-20]进行羟自由基清除活性测定,同时与抗坏血酸对比,按以下公式计算清除率及 IC_{50} 。

$$\text{羟自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{对照}}}\right) \times 100$$

1.2.5.3 菟丝子总黄酮对超氧自由基清除活性的测定 将最佳工艺条件下得到的菟丝子总黄酮浓缩液为原料液,并加无水乙醇配制质量浓度分别为 0.01、0.03、0.06、0.08、0.10、0.14、0.20、0.24、0.26 mg/mL 的样品溶液。采用邻苯三酚自氧化法,参考文献[21-23]进行超氧自由基清除活性测定并与抗坏血酸作比较,按以下公式计算清除率及 IC_{50} 。

$$\text{超氧自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{对照}}}\right) \times 100$$

1.3 数据统计分析

采用 Microsoft Excel 2007、Design Expert 8.0.6 软件进行实验数据处理、分析及绘图。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 不同乙醇浓度对菟丝子黄酮提取工艺的影响 由图 1 可知,当乙醇浓度为 50%~80% 时,所提取黄酮质量随着乙醇浓度增大而增加,当乙醇浓度达到 80% 时,黄酮得率最高,为 23.36 mg/g。而当乙醇浓度大于 80% 时,黄酮得率反而减小,这可能因为当乙醇浓度达到一定程度之后可能会影响黄酮类溶解性及其醇溶性杂质、色素增多,这些杂质会与黄酮竞争溶剂,导致黄酮类化合物的溶解度降低。因此,选择乙醇浓度 70%~90% 进行响应面优化试验。

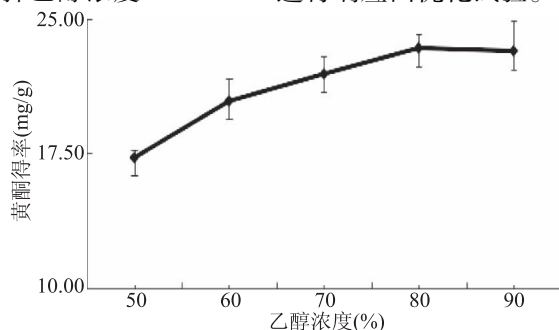


图 1 不同乙醇浓度对菟丝子黄酮提取工艺影响

Fig.1 The effects of different ethanol concentrations

on extraction process of total flavonoids from *Cuscuta chinensis*

2.1.2 不同提取温度对菟丝子黄酮提取工艺的影响 由图 2 可知,当提取温度为 50~80 ℃ 时,菟丝子黄酮得率随着提取温度的升高而升高,当温度达到 80 ℃ 时,总黄酮得率达到最大,为 26.82 mg/g。当提取温度高于 80 ℃,黄酮得率反而降低,这可能由于温度升高导致分子运动增加,使黄酮与溶剂接触增加,故黄酮得率增加,但温度太高的话,会导致部分黄酮氧化,使黄酮得率降低。因此,选择提取温度 70~90 ℃ 进行响应面优化试验。

2.1.3 不同料液比对菟丝子黄酮提取工艺的影响 由图 3 可知,随着提取料液比的增加,菟丝子中总黄酮得率也增加,当料液比为 1:10 (g/mL) 时,菟丝子总黄酮得率达到最大,为 26.82 mg/g。再继续加大提取料液比,菟丝子中总黄酮得率反而降低。其

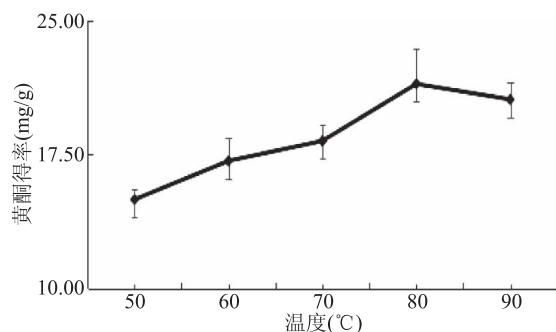


图 2 不同温度对菟丝子黄酮提取工艺影响

Fig.2 The effects of different extraction temperatures on extraction process of total flavonoids from *Cuscuta chinensis*

原因可能是在料液比为一个合适范围时,随料液比的增加会促进黄酮物质的溶出,而料液比过高时,会加大其他杂质的溶出或者部分黄酮类化合物与溶剂长时间接触会导致结构破坏,使得黄酮得率降低。因此选择料液比为 1:5~1:15 (g/mL) 进行响应面优化试验。

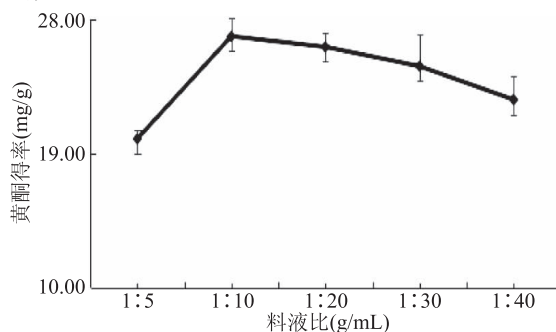


图 3 不同料液比对菟丝子黄酮提取工艺影响

Fig.3 The effects of different material-liquid ratios

on extraction process of total flavonoids from *Cuscuta chinensis*

2.1.4 不同提取时间对菟丝子黄酮提取工艺的影响 由图 4 可知:提取时间在 30~90 min 时,总黄酮得率随着提取时间延长而明显增加;提取时间为 90 min 时,总黄酮得率达到最大,为 26.89 mg/g;提取时间超过 90 min 时,黄酮得率随着时间的增加反而降低,这可能是由于乙醇具有挥发性,时间越久乙醇浓度越小,提取溶剂极性变大,导致一些极性小的黄酮类化合物析出来,从而使测得黄酮类化合物的含量偏低。因此选择提取时间 80~100 min 进行响应面

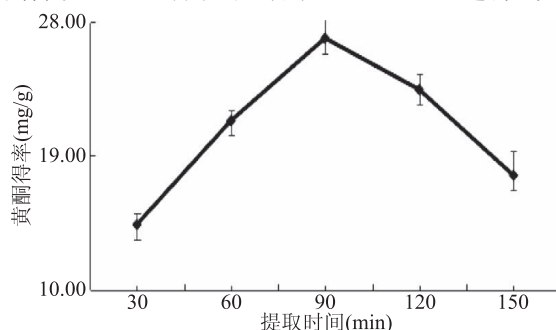


图 4 不同提取时间对菟丝子黄酮提取工艺影响

Fig.4 The effects of different extraction time on extraction process of total flavonoids from *Cuscuta chinensis*

优化试验。

2.2 Box-Behnken 响应面试验结果与分析

2.2.1 响应面回归模型建立与分析 采用 Box-Behnken 的中心组合原理为依据,以乙醇浓度(A)、料液比(B)、提取时间(C)、提取(D)为自变量,总黄酮得率为因变量,采用4因素3水平响应面优化提取工艺,利用统计学分析软件 Design Expert 8.0.6 软件建立数字回归模型,确定菟丝子总黄酮最佳提取工艺条件,结果见表2。利用软件对试验结果进行二次多项式回归模型方程拟合,获得的回归模型方程如下:

Y = 17.24 - 0.72 + 3.66B + 2.52C - 0.54D + 3.57AB - 2.78AC - 1.89AD - 1.33BC + 0.81BD - 1.39CD + 2.92A² + 1.06B² + 3.08C² + 2.68D²

表2 响应面实验结果及分析

Table 2 Results and analysis of response surface experiment					
编号	A	B	C	D	总黄酮得率 (mg/g)
1	0	0	0	0	17.25
2	0	1	-1	0	21.48
3	0	1	1	0	26.12
4	-1	0	1	0	22.42
5	0	-1	-1	0	13.67
6	0	0	1	1	23.98
7	-1	1	0	0	30.80
8	0	0	1	1	24.86
9	0	0	-1	1	17.72
10	1	0	0	-1	24.56
11	-1	0	-1	1	20.45
12	-1	0	0	-1	21.57
13	1	1	0	0	23.24
14	0	1	0	-1	26.65
15	1	0	1	0	28.06
16	1	-1	0	0	22.61
17	0	-1	0	1	21.07
18	0	0	0	0	17.75
19	-1	-1	0	1	19.04
20	0	0	0	0	17.21
21	0	0	0	0	16.37
22	0	-1	1	0	23.65
23	0	0	-1	-1	20.09
24	0	0	0	0	17.63
25	1	0	-1	0	11.81
26	0	1	0	1	22.07
27	1	0	0	1	20.04
28	-1	0	0	1	24.63
29	0	-1	0	-1	20.08

由表3可知,回归模型的 $P < 0.0001$,表明该回归模型极显著;失拟项 $P > 0.05$,不显著,说明该模型成立。模型的决定系数 $R^2 = 0.9634$,校正决定系数 $R^2_{Adj} = 0.9268$,模型的决定系数 R^2 和校正决定系数 R^2_{Adj} 均较高且接近,说明模型准确性和通用性较高;

表3 回归模型的方差分析

Table 3 Variance analysis of regression model

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	479.14	14	34.22	26.34	<0.0001**
A	6.15	1	6.15	4.73	0.0472*
B	160.38	1	160.38	123.43	<0.0001**
C	76.20	1	76.20	58.65	<0.0001**
D	3.56	1	3.56	2.74	0.1199
AB	50.98	1	50.98	39.23	<0.0001**
AC	30.97	1	30.97	23.83	0.0002**
AD	14.36	1	14.36	11.05	0.0050**
BC	7.13	1	7.13	5.49	0.0345*
BD	2.64	1	2.64	2.03	0.1759
CD	7.76	1	7.76	5.97	0.0284*
A ²	55.36	1	55.36	42.61	<0.0001**
B ²	7.24	1	7.24	5.57	0.0333**
C ²	61.44	1	61.44	47.29	<0.0001**
D ²	46.68	1	46.68	35.93	<0.0001**
残差	18.19	14	1.30		
失拟项	17.02	10	1.70	5.82	0.0522
误差	1.17	4	0.29		
总和	497.33	28			

注:**表示差异极显著($P < 0.01$);*表示差异显著($P < 0.05$)。

变异系数值 $CV = 5.36\% < 10.00\%$,说明实验稳定性良好;因此,可以用此模型来预测菟丝子总黄酮最佳提取工艺条件。

由4个影响因素的 F 值大小可以得出,各因素对菟丝子总黄酮得率的影响顺序为提取温度>料液比>乙醇浓度>提取时间,提取温度对菟丝子总黄酮得率有较大影响。模型一次项D与交互项BD差异不显著($P > 0.05$);一次项B、C,交互项AB、AC、AD以及二次项A²、C²、D²对菟丝子总黄酮得率均有极显著的影响($P < 0.01$);一次项A,交互项BC、CD,二次项B²具有显著的影响($P < 0.05$)。

2.2.2 响应面交互作用分析与优化 响应曲面坡度越陡峭,说明响应值对于该因素的改变越敏感,而曲面坡度越平滑,该因素的改变对响应值的影响也就越小,各因素交互作用对菟丝子中总黄酮得率影响的响应曲面以及等高线如图5所示。在有交互作用的影响下,乙醇浓度和料液比,乙醇浓度和提取时间,乙醇浓度和提取温度,料液比和提取温度,提取时间和提取温度其曲线比较陡,表明该因素对菟丝子总黄酮的提取的交互影响作用显著,而料液比和提取时间、交互影响作用不显著,这与表3中交互项值的分析一致。

2.3 最佳提取条件的确定及验证

通过软件对二次多项式回归方程进行分析预测,乙醇回流提取菟丝子总黄酮的最佳提取工艺条件:乙醇浓度为90.0%,提取温度为70.41℃,提取时间为99.83 min,料液比为1:14.99(g/mL)。综合考虑将其最佳工艺条件调整为乙醇浓度90%,提取温度为

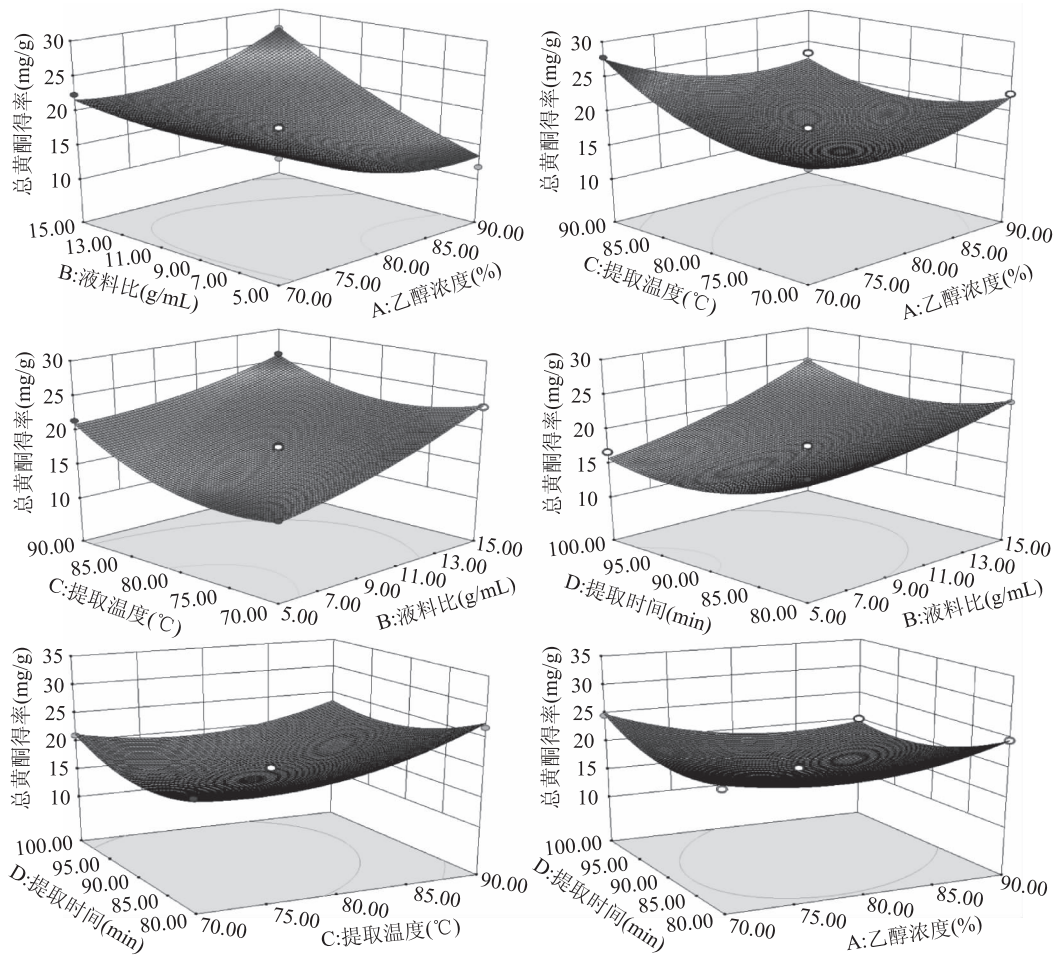


图5 各因素交互作用总黄酮得率的响应面与等高线图
Fig.5 Response surface plot showing the interactive effects of total flavonoids

表4 最优条件的预测值和实测值(n=3)

Table 4 The predicted value and measured value of the optimal conditions(n=3)

乙醇浓度 (%)	提取温度 (°C)	料液比 (g/mL)	提取时间 (min)	预测值 (mg/g)	实际值 (mg/g)	预测误差 (%)
90%	70.0	1: 15	100.0	34.37	34.65 ± 0.02	0.81

70 ℃,提取时间为 100 min,料液比为 1: 15 g/mL,以此条件下对建立的数学模型进行验证试验,结果见表 4。获得的菟丝子总黄酮得率的实际测得值为 (34.65 ± 0.02) mg/g,预测值为 34.37 mg/g,预测误差为 0.81%,小于 3%,因此,证实了预测值的准确可靠。

2.4 菟丝子总黄酮体外抗氧化活性

2.4.1 菟丝子总黄酮对 DPPH·清除作用 由图6可知,在选定浓度 0.03~0.20 mg/mL 范围内其清除能力随总黄酮浓度的提高而增强,当浓度增加为 0.24 mg/mL,清除率达到 98.68%,此后其清除率基本趋于平衡。根据 SPSS 20.0 软件数据分析,得到菟丝子总黄酮 IC₅₀ = 0.067 mg/mL 和抗坏血酸的 IC₅₀ = 0.082 mg/mL,这说明在相同浓度下,菟丝子总黄酮对 DPPH·清除率略高于抗坏血酸。

2.4.2 菟丝子总黄酮对·OH 的清除作用 由图7可知,在选定浓度 0.5~5.0 mg/mL 范围内其清除能力随总黄酮浓度的提高而增强,当浓度增加为 4.5 mg/mL,清除率达到 40.42%,此后其清除率增加不明显,基

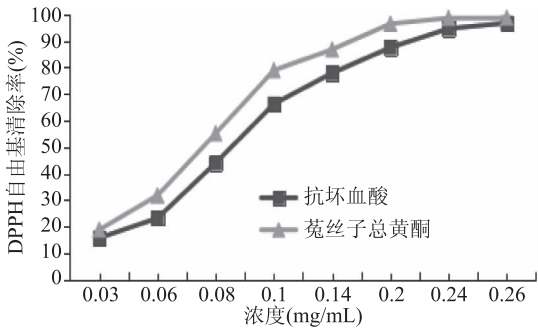


图6 不同浓度的菟丝子总黄酮和抗坏血酸对 DPPH 的清除率
Fig.6 DPPH· scavenging activities of different concentrations of ascorbic acid and total flavonoids

本趋于平衡。根据 SPSS 20.0 软件数据分析,得到菟丝子总黄酮 IC₅₀ = 7.209 mg/mL 和抗坏血酸的 IC₅₀ = 1.731 mg/mL,这说明在相同浓度下,菟丝子总黄酮对·OH 清除率比抗坏血酸弱。

2.4.3 菟丝子总黄酮对 O₂⁻·的清除作用 由图8可知,在选定浓度 0.01~0.26 mg/mL 范围内其清除能力

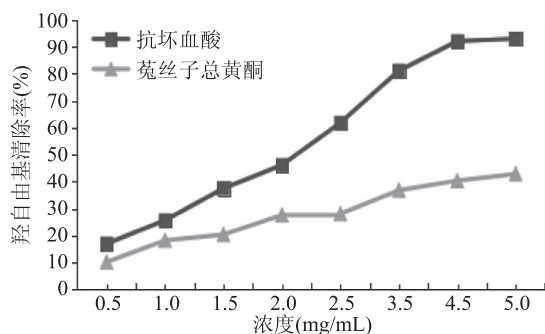


图7 不同浓度的菟丝子总黄酮
和抗坏血酸对·OH的清除率

Fig.7 ·OH scavenging activities of different
concentrations of ascorbic acid and total flavonoids

随总黄酮浓度的提高而增强,当浓度增加为0.24 mg/mL,清除率达到69.26%,此后其清除率基本趋于平衡。根据SPSS 20.0软件数据分析,得到菟丝子总黄酮 $IC_{50} = 0.119$ mg/mL和抗坏血酸的 $IC_{50} = 0.054$ mg/mL,这说明在相同浓度下,菟丝子总黄酮对 O_2^- ·清除率比抗坏血酸弱。

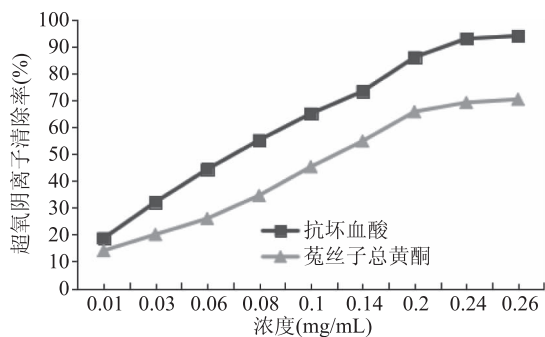


图8 不同浓度的菟丝子总黄酮
和抗坏血酸对 O_2^- ·的清除率

Fig.8 O_2^- · scavenging activities of different
concentrations of ascorbic acid and total flavonoids

3 结论

本文通过回流提取法提取菟丝子中总黄酮,在单因素实验的基础上,利用响应曲面法对菟丝子总黄酮提取工艺进行优化,实验获得的最佳提取工艺条件为:乙醇浓度为90%,提取温度为70℃,提取时间为100 min,料液比为1:15 (g/mL),获得的菟丝子总黄酮得率的实际测得值为 (34.65 ± 0.02) mg/g,预测值为34.65 mg/g,预测误差为0.81%,说明采用Box-Behnken方法优化提取总黄酮工艺行之有效,为以后菟丝子总黄酮的产业化提供指导。

体外抗氧化活性研究表明,菟丝子总黄酮对DPPH·、羟自由基和超氧阴离子自由基的 IC_{50} 值分别为:0.067、7.209、0.119 mg/mL,具有较强的体外抗氧化活性,为其在食品、药品等领域开发天然抗氧化剂提供一定的理论依据。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药出版社, 2015: 309.

[2] 杨颂, 蒯丹平, 李莎莎, 等. 菟丝子生品及3种炮制品中总黄酮含量的比较研究[J]. 世界科学技术, 2015, 17(1): 178-181.

[3] 孙艳玲, 李泽琦, 冯冠英, 等. 超声波协同复合酶提取菟丝子总黄酮工艺优化[J]. 中国现代中药, 2017, 19(9): 1296-1300.

[4] Donnapee S, Li J, Yang X, et al. Cuscuta chinensis Lam.: A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional herbal medicine[J]. Journal of Ethnopharmacol, 2014, 157: 292-308.

[5] Shekarchi M, Kondori B M, Hajimehdipoor H, et al. Finger printing and quantitative analysis of Cuscuta chinensis flavonoid contents from different hosts by RP-HPLC[J]. Food and Nutrition Science, 2014, 5(10): 914-921.

[6] 秦晶晶, 钱慧琴, 赵媛, 等. 菟丝子总黄酮不同提取方法比较[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(34): 114-116.

[7] 赖毅勤, 周宏兵. 近年来黄酮类化合物提取和分离方法研究进展[J]. 食品与药品, 2007, 9(4): 54-58.

[8] 李真, 韩丽丽, 管任伟, 等. 正交实验法优选菟丝子总黄酮的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(5): 1093-1094.

[9] 林晓, 练立婷, 罗丽丹, 等. 菟丝子总黄酮超声提取工艺的研究[J]. 广州化工, 2014, 42(2): 57-59.

[10] 李健英, 王连芝, 闫广利, 等. 菟丝子中总黄酮提取工艺研究[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2011, 27(1): 5-11.

[11] 王刚. 菟丝子总黄酮提取工艺研究[J]. 遵义医学院学报, 2009, 32(4): 181-183.

[12] 王全泽, 袁堂丰, 刘磊磊, 等. 响应面法优化闪式提取罗汉松总黄酮及其抗氧化活性[J]. 精细化工, 2018, 35(1): 65-71.

[13] 赛春梅, 崔琳琳, 杨梦, 等. 响应曲面法优化超声辅助提取诸葛菜总黄酮工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品与药品, 2018, 41(1): 53-58.

[14] 古丽巴哈尔·卡吾力, 高晓黎, 常占瑛, 等. 黑果枸杞总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(22): 213-217.

[15] 寇亮, 李璐, 陆丽娜, 等. 响应面法优化柠条锦鸡儿总黄酮超声提取工艺及其体外抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(17): 225-231.

[16] 钱慧琴, 秦晶晶, 赵媛, 等. 月季不同部位总黄酮含量分析及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(20): 19-22.

[17] 焦坤鹏, 马丽萍, 朱文学, 等. 响应面法优化花生茎叶黄酮的提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(2): 89-95.

[18] 闫蕊, 赵桦. 黄花油点草总黄酮超声提取工艺的响应面优化及抗氧化性分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(10): 190-196, 203.

[19] 李佳琪, 郑毅男, 王昆, 等. 姜产品乙醇提取物抗氧化及抑菌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(3): 480-484.

[20] 范艳丽, 张博, 李梓溢, 等. 红枣核总黄酮的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(3): 95-100.

[21] 郭雪峰, 岳永德, 汤锋, 等. 用清除超氧阴离子自由基法

牛磺酸薄荷复合运动饮料研制 及其体外抗氧化活性

郑 佳

(郑州工商学院, 河南郑州 451400)

摘 要:以牛磺酸和薄荷为主要原料,辅以白砂糖、黄原胶、羧甲基纤维素钠与结冷胶,研制牛磺酸薄荷复合运动饮料。以感官得分为评价指标,利用单因素与正交试验确定牛磺酸、薄荷液与白砂糖组成的原料液最佳配比;以离心沉淀率为评价指标,采用单因素实验与响应面法确定黄原胶、羧甲基纤维素钠与结冷胶组成的复合稳定剂最佳添加量;通过测定该饮料对羟自由基、超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基的清除率,评价其抗氧化活性。结果表明,牛磺酸 0.03%、薄荷液 6%、白砂糖 3%,此时感官评价达到(87.3±0.9)分;黄原胶 0.14%、羧甲基纤维素钠 0.40%、结冷胶 0.08%,离心沉淀率为 1.05%。该条件下的牛磺酸薄荷复合运动饮料的薄荷气味浓郁,色泽均匀、透亮,呈浅黄色,酸甜适中,具有清凉感,且无明显沉淀与分层。另外该饮料对羟自由基、超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基的清除率分别为 42.76%、62.25% 和 57.46%,具有较好的抗氧化活性。

关键词:牛磺酸,薄荷,运动饮料,抗氧化活性

Development of Taurine and Mint Mixed Sports Beverage and Its Antioxidant Activity *in Vitro*

ZHENG Jia

(Zhengzhou Technology and Business University, Zhengzhou 451400, China)

Abstract: Taurine and mint mixed sports beverage was developed with taurine and mint as raw materials and white sugar, xanthan gum, carboxymethyl cellulose sodium and gellan gum as supplements. The raw material liquid formula composed of taurine, mint and white sugar was optimized by single factor tests and orthogonal experiments with sensory evaluation as the index. The formula of mixed stabilizer composed of xanthan gum, carboxymethyl cellulose sodium and gellan gum was optimized by single factor tests and response surface methodology with centrifugation sedimentation rate as the index. The antioxidant activity of the beverage was evaluated by the determination of scavenging activity of the hydroxyl radical, superoxide anion free radical, and DPPH free radical. The results showed that the best sensory evaluation score of raw material liquid was 87.3±0.9 scores with taurine 0.03%, mint 6% and white sugar 3%. The centrifugal sedimentation rate of the beverage was 1.05% with addition of xanthan gum 0.14%, carboxymethyl cellulose sodium 0.40% and gellan gum 0.08%. The taurine and mint mixed sports beverage had a strong mint odor, uniform and transparent color, light yellow, moderate sweetness and sour, with a sense of refreshment, and no precipitation or stratification. The hydroxyl radical, superoxide anion free radical and DPPH free radical scavenging rates of the beverage were 42.76%, 62.25% and 57.46%, respectively. Therefore, it had preferable antioxidant activity.

Key words: taurine; mint; sports beverage; antioxidant activity

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2019)23-0157-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2019.23.026

引文格式: 郑佳. 牛磺酸薄荷复合运动饮料研制及其体外抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(23): 157-162.

人体在运动时,易产生疲劳状态,使得机体内氧化还原平衡被破坏,生成的过量自由基容易造成组

织损伤,进而引发一系列疾病。运动饮料因具有较好的抗氧化作用,可为疲劳机体快速补充水分、电解

收稿日期: 2019-03-04

作者简介: 郑佳(1983-),男,硕士,讲师,研究方向: 体育训练学, E-mail: jzhenghn@sohu.com sports。

评价竹叶提取物抗氧化能力[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(8): 1823-1826.

[22] 许远, 魏和平, 吴彦, 等. 响应面优化覆荷总黄酮提取抗

氧化研究[J]. 食品工业科技, 2015(5): 233-239.

[23] 陆晓婷, 张超, 张晖, 等. 黑籽瓜种子蛋白酶解工艺及抗氧化性研究[J]. 食品科技, 2015(5): 73-78.