

枸杞多酚纯化工艺优化及其成分组成、抗氧化活性研究

訛凤霞¹, 刘宗儒¹, 田晓菊^{1*}, 王应强^{2*}, 周婷³

(1. 宁夏大学食品科学与工程学院, 宁夏银川 750021; 2. 陇东学院农业与生物工程学院, 甘肃庆阳 745000; 3. 宁夏杞里香枸杞有限责任公司, 宁夏银川 750021)

摘要: 目的 优化枸杞多酚纯化工艺, 并考察其成分组成、抗氧化活性。方法 考察 HPD-100、D101、AB-8、NKA-9 型大孔树脂的静态吸附、解吸性能, 结合 Box-Behnken 响应面法优化纯化工艺。UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 法考察成分组成, 测定 DPPH、ABTS 自由基清除率。结果 最佳纯化工艺为 AB-8 型大孔树脂, 上样体积 30 mL, 上样体积流量 1.53 mL/min, 上样质量浓度 1.38 mg/mL, 洗脱体积 2.27 BV, 多酚回收率 51.47%, 纯度 19.78%。共鉴定出 14 个多酚类化合物, 包括酚酸类、糖苷类。在质量浓度为 350 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 纯化物 DPPH 自由基清除率达到维生素 C 的 80.4%, ABTS 自由基清除率达到维生素 C 的 94.3%。结论 AB-8 型大孔树脂在最优条件下纯化的枸杞多酚具有一定的体外抗氧化活性。

关键词: 枸杞多酚; 纯化工艺; 成分组成; 抗氧化活性; Box-Behnken 响应面法; UPLC-LTQ-Orbitrap-MS

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)09-3078-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.09.038

枸杞是茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实, 为传统的药食两用资源, 富含氨基酸、类胡萝卜素、维生素 C、枸杞多糖、多酚、黄酮等有效成分, 具有降血糖、抗癌、延缓细胞衰老、提高免疫力等药理作用^[1-3]。宁夏是枸杞的重要产地, 宁夏中宁枸杞质量好^[4-6]。多酚类物质是最重要的植物化学物质之一, 代表了最理想的抗氧化剂^[7]。在枸杞的诸多生物学功效中, 其抗氧化活性是最受重视的一个方面。抗氧化剂能够保护人体免受自由基的有害影响^[8], 而枸杞多酚类化合物具有较强的清除自由基能力^[9]。枸杞中含有多种酚类化合物, 是由莽草酸途径生成的植物次级代谢物, 包括花青素、酚酸、酚酰胺等^[10]。大孔树脂吸附法是一种常用的纯化多酚的方法, 具有选择性好、吸附量大、产量高、可再生、操作简便等优点^[11]。本实验考察 4 种大孔树脂的静态吸附和解吸性能, 结合 Box-Behnken 响应面法优化枸杞多酚纯化工艺, 并分析纯化物组成及其抗氧化活性, 以期对枸杞资源的开发利用提供参考。

1 材料

1.1 试剂与药物 枸杞 1 号枸杞子药材购自中宁县吉利宝枸杞制品有限公司, 由宁夏农林科学院钟铨元研究员鉴定为正品。没食子酸对照品 (分析纯, 成都市科龙化工试剂厂); Foline-phenol 试剂 (上海瑞永生物科技有限公司); 大孔树脂 (型号 HPD-100、D101、AB-8、NKA-9, 安徽三星树脂科技有限公司); 甲醇、甲酸、乙腈 (色谱纯, 上

海阿拉丁生化科技股份有限公司); 无水乙醇、碳酸钠、盐酸、氢氧化钠、过硫酸钾、ABTS、DPPH (分析纯, 天津市大茂化学试剂厂)。

1.2 仪器 T6 紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); HHS-21-6 数显恒温水浴锅 (上海博迅实业有限公司); RE-2000A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); Wh-861 涡旋振荡器 (太仓市华利达实验设备有限公司); KQ5200E 超声清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司); 超高效液相色谱-静电场轨道阱质谱联用仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 供试品溶液制备 将枸杞冷冻干燥, 粉碎, 过 60 目筛后密封, 在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻成冻干粉。精密称取 3 份, 每份 0.5 g, 70% 乙醇浸提 41 min (料液比 1:52, 提取温度 $61\text{ }^{\circ}\text{C}$), 即得, 多酚提取率为 17.471%。

2.2 总多酚含量、回收率测定 采用福林酚法^[12], 取 10 mg 没食子酸对照品, 蒸馏水溶解并定容至 100 mL, 得质量浓度为 0.1 mg/mL 的对照品溶液, 分别取 1、2、3、4、5、6 mL 至试管中, 蒸馏水补足至 10 mL。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (A) 进行回归, 得方程为 $A=8.9086X+0.0149$ ($R^2=0.9980$)。

取 1 mL 供试品溶液至试管中, 加入 1 mL 蒸馏水、0.4 mL 福林酚试剂, 振荡 10 s, 避光反应 6~8 min, 再加入 2 mL 15% 碳酸钠溶液, 加蒸馏水至 10 mL, 振荡混匀, 避光

收稿日期: 2023-09-24

基金项目: 国家自然科学基金 (32060544); 甘肃省高校教师创新基金项目 (2023B-202)

作者简介: 訛凤霞 (1999—), 女, 硕士, 研究方向为食品加工与安全。Tel: 19993446656, E-mail: 1351023751@qq.com

* 通信作者: 田晓菊 (1982—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为食品生物技术。Tel: 13895116484, E-mail: txj-552@163.com

王应强 (1979—), 男, 博士, 教授, 研究方向为食品工程与工艺。Tel: 15293408535, E-mail: sxds2008@163.com

放置 1 h, 使其充分反应, 在 760 nm 波长处测定吸光度, 平行 3 次, 取平均值, 计算回收率, 公式为回收率 = (纯化后枸杞多酚含量/纯化前枸杞多酚含量) × 100%。

2.3 大孔树脂筛选

2.3.1 预处理 分别称取适量 AB-8 (弱极性)、NKA-9 (极性)、D101 (非极性)、HPD-100 (非极性) 型大孔树脂, 经过除杂、浸泡、冲洗等程序后浸泡在蒸馏水中。

2.3.2 筛选 将 10 mL 粗提液加到激活后的大孔树脂中, 常温下在摇床上 150 r/min 振荡 8 h, 在 760 nm 波长处测定吸光度, 1 次/h, 计算多酚含量及树脂吸附率、吸附量。冲洗吸附后的树脂, 倒入锥形瓶中, 加入 25 mL 75% 乙醇, 常温下在摇床上振荡 8 h, 每隔 1 h 在 760 nm 波长处测定吸光度, 计算多酚质量浓度和树脂解吸率, 公式如下。

$$\text{吸附率} = [(C_0 - C_1)/C_0] \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{吸附量} = [(C_2 - C_1) \times V]/M \quad (2)$$

$$\text{解吸率} = [C_2/(C_0 - C_1)] \times 100\% \quad (3)$$

其中, C_0 为吸附前粗提液中多酚质量浓度, C_1 为吸附后粗提液中多酚质量浓度, C_2 为解吸后洗脱液中多酚质量浓度, V 为粗提液体积, M 为干树脂质量。

2.3.3 泄露曲线绘制 在王妍惠^[13]报道的基础上稍加改变。精密称取 5.0 g 预处理的 AB-8 型大孔树脂, 与水混合后转移至装有适量蒸馏水的柱中, 蒸馏水反复过柱, 压实树脂, 制备 100 mL 0.12 mg/mL 提取液, 设定上样体积流量为 1 mL/min, 收集 10 mL 流出液, 测定吸光度, 计算多酚质量浓度, 绘制泄露曲线。

2.4 单因素试验 称取 5.0 g AB-8 型大孔树脂, 预处理后装柱, 分别以上样质量浓度 (0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mg/mL)、上样体积流量 (0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL/min)、乙醇体积分数 (60%、65%、70%、75%、80%)、洗脱体积 (1、2、3、4、5 BV) 为影响因素, 测定流出液吸光度, 计算吸附率。

2.5 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上, 选择上样质量浓度 (A)、上样体积流量 (B)、洗脱体积 (C) 作为影响因素, 多酚回收率 (R_2) 作为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化纯化工艺, 因素水平见表 1。

表 1 Box-Behnken 响应面法因素水平

水平	因素		
	A 上样质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	B 上样体积流量/ (mL·min ⁻¹)	C 洗脱体积/ BV
-1	1.2	0.5	1
0	1.4	1.0	2
1	1.6	1.5	3

2.6 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 分析条件

2.6.1 色谱 Accucore™ C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 2.1 mm, 2.6 μm); 流动相乙腈 (A) - 水 (含 0.1% 甲酸) (B), 梯度洗脱 (0~1 min, 5% A; 1~4 min, 5%~10% A; 4~10 min, 10%~14% A; 10~16 min, 14%~70% A; 16~16.5 min, 70%~95% A; 16.5~18 min, 95% A); 体积流量 0.3

mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 2 μL。

2.6.2 质谱 电喷雾离子源 (ESI); 负离子模式; 扫描范围 m/z 100~1 000; 离子源温度 350 °C; 毛细管电压 3.2 kV; 低碰撞能 15 eV; 高碰撞能 60 eV。

2.7 抗氧化活性研究

2.7.1 DPPH 自由基 根据 Chen 等^[14]报道并稍作修改。取 10.0 mg DPPH, 加入无水乙醇, 黑暗环境下超声溶解, 加无水乙醇至 200 mL, 制成 50 μg/mL 溶液, 取 1 mL 70% 乙醇至试管中, 加入 3 mL DPPH 溶液, 避光放置 40 min, 测定 517 nm 波长处吸光度 A_0 ; 70% 乙醇溶解纯化物, 制成 50、100、150、200、250、300、350、400 μg/mL 的溶液, 各取 1 mL 加入现配的 3.0 mL DPPH 溶液中, 阴暗处放置 40 min, 测定 517 nm 波长处吸光度 A_1 ; 取不同质量浓度多酚溶液各 1 mL, 加入 3.0 mL 无水乙醇, 阴凉处放置 40 min, 在 517 nm 波长处测定吸光度 A_2 。以维生素 C 为对照, 平行 3 次, 计算 DPPH 清除率, 公式为清除率 = $[(A_0 - A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$ 。

2.7.2 ABTS 自由基 根据 Chen 等^[14]报道并稍作修改。取 400 mg ABTS、68.8 mg 过硫酸钾, 加入 100 mL 蒸馏水溶解, 避光静置 18 h, 缓慢加入 95% 乙醇稀释至吸光度在 0.68~0.72 范围内, 取 0.4 mL 70% 乙醇, 置于试管中, 加入 3.6 mL 现配 ABTS 溶液, 避光放置 10 min, 在 734 nm 波长处测定吸光度 (A_3); 70% 乙醇溶解纯化物, 制成 50、100、150、200、250、300、350、400 μg/mL 溶液, 各取 0.4 mL, 加入 3.6 mL 现配 ABTS 溶液, 避光放置 40 min, 在 734 nm 波长处测定吸光度 A_4 , 以维生素 C 为对照, 平行 3 次, 计算 ABTS 清除率, 公式为清除率 = $[(A_3 - A_4) / A_3] \times 100\%$ 。

3 结果

3.1 大孔树脂筛选

3.1.1 静态吸附、解吸试验 由图 1 可知, 枸杞多酚吸附量大小依次为 AB-8 > D101 ≈ NKA-9 > HPD-100, AB-8 型树脂吸附量最高。由图 2 可知, 枸杞多酚的解吸率依次为 HPD-100 > AB-8 > D101 > NKA-9, 其中 HPD-100 的解吸率最高。最终, 选择 AB-8 型大孔树脂为纯化枸杞多酚的最佳树脂。

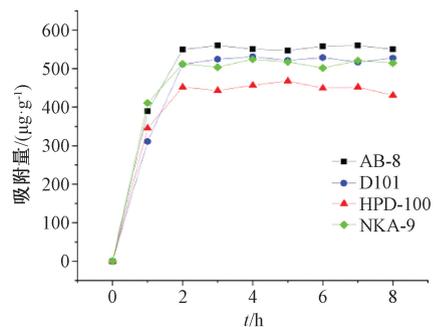


图 1 不同大孔树脂对枸杞多酚静态吸附量的影响

3.1.2 泄露曲线绘制 多酚质量浓度达到上样质量浓度的 10% 时, 即可认为其已经达到泄露点^[15-16]。由图 3 可知,

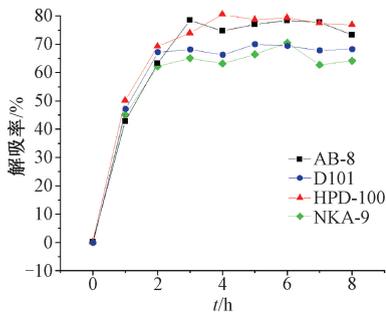


图2 不同大孔树脂对枸杞多酚静态解吸率的影响

从第2份流出液开始多酚出现泄漏,第3份流出液中多酚质量浓度为12.8 μg/mL,超过上样质量浓度(119.12 μg/mL)的1/10。最终,选择上样体积为30 mL。

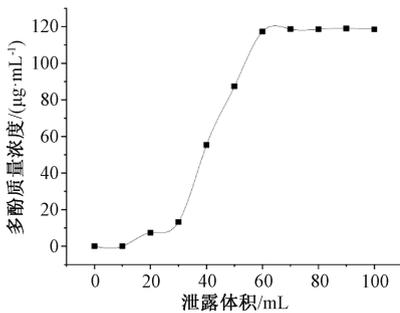


图3 枸杞多酚泄露曲线

3.2 纯化工艺优化

3.2.1 单因素试验 由图4可知,当上样质量浓度为1.4 mg/mL时,枸杞多酚的吸附率最高,这是因为在低质量浓度下,树脂表面与多酚类化合物的接触区域较少,导致部分树脂仍处于饱和状态^[17]。随着质量浓度的增加,多酚加速扩散,进入树脂表面孔隙中,吸附率上升;但质量浓度高于1.4 mg/mL时有可能出现沉淀,多酚分子扩散运动受阻^[18-19]。由图5可知,当体积流量为1 mL/min时,树脂对多酚的吸附率最高;当上样体积流量大于1 mL/min时,杞多酚无法与树脂充分接触,出现拖尾,故1 mL/min最适宜^[20]。由图6可知,当乙醇体积分数为60%~70%时,多酚解吸率稍有提高,在70%时最大。由于乙醇体积分数太低,洗脱不彻底,乙醇体积分数太高也会出现大量杂质,故以70%乙醇为洗脱剂^[21-22]。由图7可知,洗脱体积为2 BV时多酚解吸率最大,之后反而下降,可能是因为多酚洗脱结束后多余杂质进入洗脱液中,降低了多酚纯度,故选择洗脱体积为2 BV。

3.2.2 Box-Behnken 响应面法 上样质量浓度(A)和上样体积流量(B)对吸附率有极显著影响($P < 0.01$),洗脱体积(C)对解吸率有极显著影响($P < 0.01$)。因此,以上样质量浓度(A)、上样体积流量(B)、洗脱体积(C)为影响因素,多酚回收率(R_2)为评价指标,Box-Behnken 响应面法优化纯化工艺,结果见表2。

采用 Design expert 8.0.6 软件对表2数据进行拟合,得二次回归方程为 $R_2 = 50.54 + 0.86A - 1.17B + 6.14C + 1.47AB -$

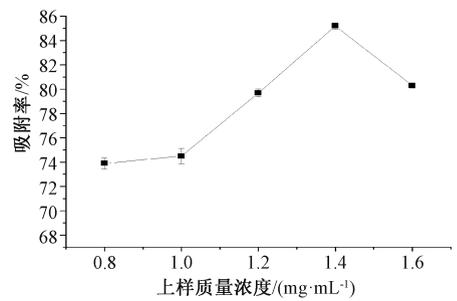


图4 上样质量浓度对枸杞多酚吸附率的影响

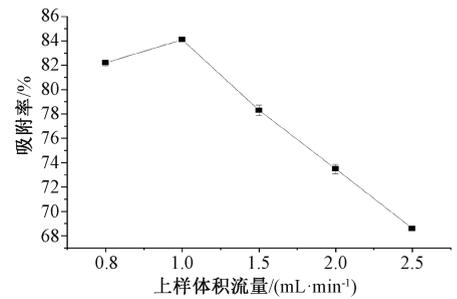


图5 上样体积流量对枸杞多酚吸附率的影响

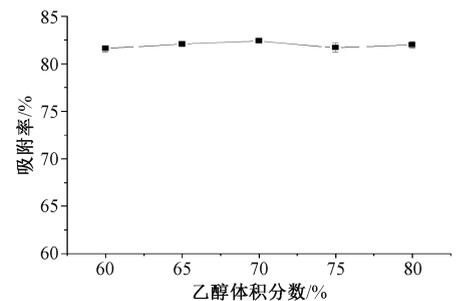


图6 乙醇体积分数对枸杞多酚解吸率的影响

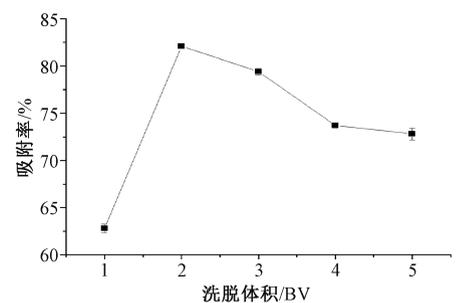


图7 洗脱体积对枸杞多酚解吸率的影响

$2.10AC + 3.23BC - 5.32A^2 - 7.60B^2 - 11.22C^2$, 方差分析见表3。由此可知,各因素影响程度依次为洗脱体积(C) > 上样体积流量(B) > 上样质量浓度(A); 模型 $P < 0.01$, 具有高度显著性; 失拟项 $P > 0.05$, 表明模型失拟性不显著, 拟合度良好; 因素 C、 A^2 、 B^2 、 C^2 、BC 有显著或极显著影响 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 其他因素无显著影响 ($P > 0.05$)。响应面分析见图8。

最终确定,最优条件上样体积流量 1.53 mL/min, 上样质量浓度 1.38 mg/mL, 洗脱体积 2.27 BV, 根据实际情

况,将其调整为上样体积流量 1.5 mL/min,上样质量浓度 1.4 mg/mL,洗脱体积 2.3 BV。再进行 3 批验证试验,测得回收率分别为 50.91%、51.13%、52.38%,平均值为 51.47%,与理论值 51.385 6% 相对误差为 0.17%,表明模型可靠;多酚纯度为 19.78%,较纯化前的 3.19% 提高 6.2 倍,表明 AB-8 型大孔树脂有较好的纯化能力。

表 2 Box-Behnken 响应面法设计与结果

试验号	A 上样质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	B 上样体积流 量/(mL·min ⁻¹)	C 洗脱 体积/BV	R ₂ 回收率/%
1	1.4	0.5	1	24.1
2	1.6	0.5	2	32.4
3	1.4	0.5	3	40.5
4	1.6	1.0	1	42.8
5	1.2	1.0	1	23.7
6	1.4	1.0	2	29.7
7	1.4	1.0	2	51.3
8	1.4	1.0	2	49.4
9	1.4	1.0	2	52.4
10	1.4	1.0	2	48.9
11	1.6	1.0	3	50.7
12	1.2	1.0	3	40.2
13	1.4	1.5	1	33.3
14	1.2	1.5	2	29.4
15	1.6	1.5	2	39.9
16	1.4	1.5	3	37.7
17	1.4	0.5	1	39.7

3.3 成分鉴定 总离子流图、二级质谱分别见图 9~10。再根据二级质谱高能碰撞碎片信息与自建库质谱数据比,确定了 14 种多酚,具体见表 4。

3.4 抗氧化活性测定

3.4.1 DPPH 自由基 由图 11 可知,随着质量浓度升高多酚清除 DPPH 自由基的能力增强,为 350 μg/mL 时清除率达到维生素 C 的 80.4%。

3.4.2 ABTS 自由基 由图 12 可知,多酚质量浓度为 350 μg/mL 时对 ABTS 自由基的清除率达到维生素 C 的 94.3%。

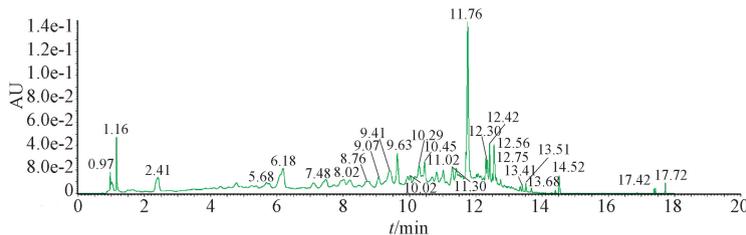


图 9 枸杞多酚 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 总离子流图

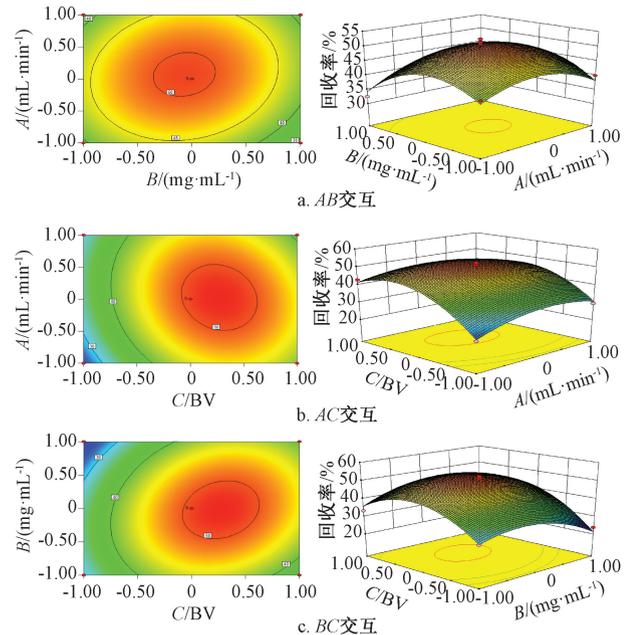
4 结论

本实验对 4 种大孔树脂进行了静态吸附、解吸试验,发现 AB-8 为最佳纯化树脂,得到最佳纯化条件为上样体积 30 mL、上样体积流量 1.53 mL/min、上样质量浓度 1.38 mg/mL、洗脱体积 2.27 BV,多酚回收率为 51.47%,纯度

表 3 方差分析结果

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1 370.85	9	152.32	30.98	<0.000 1
A	5.95	1	5.95	1.21	0.307 6
B	11.05	1	11.05	2.25	1.776 0
C	301.35	1	301.35	61.30	0.000 1
AB	8.70	1	8.70	1.77	0.225 1
AC	17.64	1	17.64	3.59	0.100 1
BC	41.60	1	41.60	8.46	0.022 7
A ²	119.17	1	119.17	24.24	0.001 7
B ²	242.88	1	242.88	49.40	0.000 2
C ²	530.06	1	530.06	107.81	<0.000 1
残差	34.41	7	4.92	—	—
失拟性	26.36	3	8.79	4.37	0.094 2
纯误差	8.05	4	2.01	—	—
总差	1 405.26	16	—	—	—

注: R²=0.975 5, R_{adj}²=0.944 0, CV=5.66%。



注: A~C 分别为上样体积流量、上样质量浓度、洗脱体积。左图为等高线图,右图为三维曲面图。

图 8 各因素响应面图

由 3.19% 提高至 19.78%,表明 AB-8 型大孔树脂对枸杞多酚具有良好的纯化效果。采用 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 对多酚纯化物进行成分分析,发现 14 种多酚类化合物。结合纯化物对 DPPH、ABTS 自由基清除能力试验,发现枸杞多酚类化合物具有较强的抗氧化活性,是一种潜在的自然抗氧化

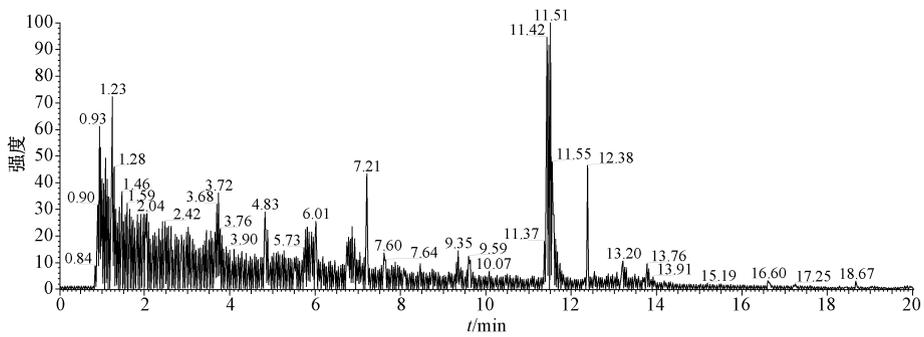


图 10 枸杞多酚二级质谱图

表 4 枸杞多酚组成

序号	保留时间/min	低能碰撞碎片 m/z	高能碰撞碎片 m/z	化学式	名称
1	3.25	163.040 3	119.050 6	$C_9H_8O_3$	对香豆酸
2	3.50	179.032 5	135.045 4	$C_9H_8O_4$	咖啡酸
3	5.19	487.145 2	323.098 2, 163.040 2	$C_{21}H_{27}O_{13}$	对香豆酸-4-O-二己糖苷
4	5.30	353.087 8	191.056 1	$C_{16}H_{18}O_9$	隐绿原酸
5	5.51	325.100 6	163.040 3, 145.029 7	$C_{15}H_{17}O_8$	对香豆酸-己糖
6	6.19	634.297 6	472.244 8, 308.198 2	$C_{31}H_{45}N_3O_{11}$	<i>N-N</i> -二(二羟基咖啡酸)亚精胺己糖苷
7	6.77	193.050 7	178.027 2, 149.061 0, 134.037 6	$C_{10}H_{10}O_4$	阿魏酸
8	7.05	472.252 8	350.209 6, 308.198 9	$C_{25}H_{35}N_3O_6$	<i>N-N</i> -二(二氢咖啡酰)亚精胺
9	7.23	470.229 4	334.176 8, 308.198 0, 291.171 4	$C_{25}H_{33}N_3O_6$	(二氢咖啡酰)咖啡酰亚精胺
10	8.16	515.143 0	515.138 4, 353.075 0, 191.054 7	$C_{25}H_{24}O_{12}$	二咖啡奎宁酸
11	8.71	468.213 7	332.161 3, 306.182 3, 289.155 9	$C_{25}H_{31}N_3O_6$	<i>N-N</i> -二咖啡酰亚精胺
12	21.47	609.145 7	301.034 5, 300.028 0, 462.081 2	$C_{27}H_{29}O_{16}$	槲皮素-3-O-芸香糖苷
13	13.20	593.149 8	285.040 0	$C_{27}H_{30}O_{15}$	山柰酚-3-O-芸香糖苷
14	13.31	623.160 4	315.050 5	$C_{28}H_{32}O_{16}$	异鼠李素-3-O-芸香糖苷

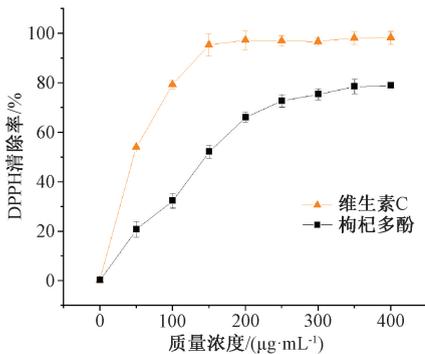


图 11 枸杞多酚对 DPPH 自由基清除率的影响

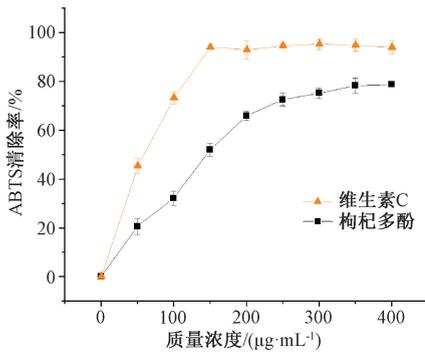


图 12 枸杞多酚对 ABTS 自由基清除率的影响

剂。本研究结果说明枸杞的附加价值较高，为枸杞多酚在食品、药品等方面的应用提供了理论依据。

参考文献:

[1] Amagase H, Sun B X, Borek C. *Lycium barbarum* juice improves *in vivo* antioxidant biomarkers in serum of healthy adults[J]. *Nutr Res*, 2009, 29(1): 19-25.

[2] Wang Y, Jin H Y, Dong X X, et al. Quality evaluation of *Lycium barbarum* (wolfberry) from different regions in China based on polysaccharide structure, yield and bioactivities [J]. *Chinese Med*, 2019, 14: 49.

[3] Wojdylo A, Nowicka P, Babelewski P. Phenolic and carotenoid profile of new goji cultivars and their anti-hyperglycemic, anti-aging and antioxidant properties[J]. *J Funct Foods*, 2018, 48: 632-642.

[4] 李少鹏, 夏 婷, 张竹君, 等. 枸杞果酒发酵工艺优化及营养成分成分分析[J]. *中国酿造*, 2021, 40(7): 94-100.

[5] 杨建宇, 刘冠军, 刘白云, 等. 中华中医药道地药材系列汇讲 (10) 道地药材枸杞的研究近况[J]. *现代医学与健康研究电子杂志*, 2020, 4(10): 116-118.

[6] 岳 苑, 徐 娟, 赵 飞, 等. 宁夏地区枸杞所携带真菌的分子鉴定[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(10): 102-109; 302.

[7] 陶 莎, 黄 英, 康玉凡, 等. 大孔吸附树脂分离纯化红小豆多酚工艺及效果[J]. *农业工程学报*, 2013, 29(23): 276-285.

[8] 熊 磊. 枸杞多酚提取物抗衰老活性及其作用机制研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2021.

- [9] 文雨欣, 李冰, 郑青松, 等. 莲蓬多酚的提取工艺优化、鉴定及抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2021, 46(11): 179-187; 194.
- [10] 王琪, 唐惠儒. 黑果枸杞和宁夏枸杞果实中多酚类物质组成的差异研究[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2019, 39(1): 39-46.
- [11] 黄丽, 於洪建, 吴巍, 等. 枸杞多酚提取物中总多酚的测定[J]. 药物评价研究, 2012, 35(4): 273-275.
- [12] 李珍, 哈益明, 李安, 等. 响应面优化苹果皮渣多酚超声提取工艺研究[J]. 中国农业科学, 2013, 46(21): 4569-4577.
- [13] 王妍惠. 红树莓叶多酚提取纯化及其抗氧化活性研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2021.
- [14] Chen J C, Zhang X, Huo D, *et al.* Preliminary characterization, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of polysaccharides from *Mallotus furetianus*[J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 215(12): 307-315.
- [15] 田富林, 黄文晶, 张驰, 等. HPD600型大孔树脂纯化麦麸多酚及其抗氧化活性和定性分析[J]. 食品与机械, 2022, 38(5): 173-178; 242.
- [16] 梁寒峭, 赵宇焱, 朱子冬, 等. 大孔树脂纯化脱油油樟叶渣中总黄酮工艺研究[J]. 离子交换与吸附, 2021, 37(3): 272-280.
- [17] 马景蕃, 谢晓倩, 杨吴坤, 等. 大孔树脂纯化白背天葵多酚及其体外抗氧化研究[J]. 热带作物学报, 2021, 42(2): 575-582.
- [18] 马升, 高青莹, 李莉, 等. 发酵金针菇多酚的提取、纯化及抗油脂氧化能力研究[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(2): 121-126.
- [19] 张洋洋, 张作法, 宋婷婷, 等. 杨树桑黄多酚类化合物纯化及抗氧化活性[J/OL]. 菌物学报: 1-13 [2023-4-19]. <https://doi.org/10.13346/j.mycosystema.220467>.
- [20] Guo Y Z, Wang J J, Lu L L, *et al.* Application of mid-infrared spectroscopy in analyzing different segmented production of *Angelica* by AB-8 macroporous resin[J]. *J Mol Struct*, 2016, 1103: 61-69.
- [21] 林宝妹, 邱珊莲, 张帅, 等. 大孔树脂纯化嘉宝果叶片多酚及其生物活性和组成分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2021, 29(5): 563-572.
- [22] 李晓洁, 刘金鑫, 李建华, 等. 大孔吸附树脂纯化茶多酚的工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 214-223.

生姜总黄酮提取工艺优化及其抗氧化性研究

马波, 乔友志, 朱建国*

(连云港师范高等专科学校医药与生物材料研究所, 江苏连云港 222006)

摘要: 目的 优化生姜总黄酮的酶辅助碱法提取工艺, 并评价其抗氧化性。方法 在单因素试验基础上, 以酶解温度、料液比、pH值、酶解时间为影响因素, 总黄酮得率为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。·OH、DPPH·法检测所得生姜总黄酮的抗氧化性。结果 最佳条件为酶解温度 40℃、料液比 1:35、pH 9.0、酶解时间 60 min, 总黄酮得率为 2.713%。总黄酮对·OH、DPPH·清除率的 IC₅₀值分别为 0.024、0.039 mg/mL。结论 该方法切实可行, 可用于酶辅助碱法提取具有较强抗氧化活性的生姜总黄酮。

关键词: 生姜; 总黄酮; 提取工艺; 酶辅助碱法; Box-Behnken 响应面法; 抗氧化活性

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)09-3083-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.09.039

生姜味辛, 性微温, 在全国各地广为种植^[1]。作为药食同源的植物, 生姜既可作调味品用于改善食物风味, 又可用作中药, 具有散寒祛风、抑菌解毒、化痰止咳等功效。生姜富含多酚、黄酮、氨基酸、可溶性多糖等活性成分, 其中黄酮类为生姜主要活性成分, 具有抗氧化、抗衰老、促进血液循环、降低心肌耗氧量、改善心肌收缩等作用^[2-4]。近年来, 生姜的综合开发利用已成为国内外的研究

热点。

目前, 生姜总黄酮的提取大多为有机溶剂提取^[5-7]。碱法是利用黄酮中含有的酚羟基具有酸性, 易溶于碱水的性质进行提取^[8]。果胶酶能够催化植物细胞壁中果胶类物质的分解, 加速活性物质的释放, 已用于山楂^[9]、白术^[10]等药材中黄酮的提取, 并取得较好的效果。本研究将发酵多粘类芽孢杆菌产生的碱性果胶粗酶液用于酶解生姜, 碱法

收稿日期: 2023-12-06

基金项目: 江苏省高等学校大学生创新创业训练计划项目(202011585019Y)

作者简介: 马波(1975—), 男, 博士, 副教授, 从事生物学及天然产物研究。E-mail: mabo7512@163.com

*通信作者: 朱建国(1971—), 男, 硕士, 副教授, 从事植物活性物质的研究。E-mail: zjgz117@sohu.com