

红参红景天混合物提取工艺 及其抗疲劳作用

李 晶¹, 朱 娜², 郑 飞¹, 赵幻希¹, 王 楠¹, 孙红梅¹, 陆泽林¹, 越 皓^{1,*}

(1. 长春中医药大学, 吉林省人参科学研究院, 吉林长春 130117;

2. 青岛市中心医院药学部, 山东青岛 266042)

摘 要:目的:研究红参和红景天混合提取物(Red ginseng and *Rhodiola crenulata*, RR)的最佳提取工艺,并观察其抗疲劳功效。方法:采用加热回流提取法对红参、红景天进行混合提取,用正交试验法观察乙醇浓度、料液比、提取时间及提取次数对提取工艺的影响,并对提取物中的人参总皂苷及红景天苷的含量进行分析,从中优选出最佳提取工艺。雄性昆明小鼠,随机分成空白对照组及高、中、低剂量组,进行力竭游泳实验,记录小鼠力竭游泳时间,检测血清尿素氮、血乳酸及肝糖原水平。结果:RR 最佳提取工艺为乙醇浓度为 80%,料液比为 1:10 g/mL,提取时间为 120 min,提取次数为 3 次。以高剂量组为例,与空白对照组比较,RR 可使小鼠力竭游泳时间显著延长 3.17 倍;使小鼠血清尿素氮和乳酸水平分别降低 39.08% 和 31.20%,极显著升高肝糖原水平 40.90% ($p < 0.01$)。结论:本文得到了 RR 的最佳提取工艺,且确定了其具有抗疲劳作用,可为开发具有抗疲劳功能的保健食品提供依据。

关键词:红参,红景天,人参总皂苷,红景天苷,提取,抗疲劳作用

Extraction Process of Red Ginseng and *Rhodiola crenulata* Mixture and Its Anti-fatigue Effect

LI Jing¹, ZHU Na², ZHENG Fei¹, ZHAO Huan-xi¹, WANG Nan¹, SUN Hong-mei¹, LU Ze-lin¹, YUE Hao^{1,*}

(1. Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China;

2. Pharmacy Department of the Qingdao Center Hospital, Qingdao 266042, China)

Abstract: Objective: To study the optimal extraction process of red ginseng and *Rhodiola crenulata* (RR) and observe its anti-fatigue effect. Methods: Red ginseng and *Rhodiola crenulata* were extracted by heating and reflux extraction method. The effects of ethanol concentration, solid-liquid ratio, extraction time and extraction times on the extraction process were observed by orthogonal experiment, and the total ginseng in the extract was observed. The contents of saponin and salidroside was analyzed, from which the optimal extraction process was preferred. Male Kunming mice were randomly divided into the blank control group and the high, medium and low dose groups. The exhaustive swimming experiment was performed to record the exhaustive swimming time of the mice, and the serum urea nitrogen, blood lactate and hepatic glycogen levels were detected. Results: The optimal extraction process of RR was 80% ethanol, the ratio of material to liquid was 1:10 g/mL, the extraction time was 120 min, and the extraction times were 3 times. Taking the high-dose group as an example, compared with the blank control group, RR could significantly extend the exhaustive swimming time of mice by 3.17 times. And the serum urea nitrogen and lactate levels in mice decreased by 39.08% and 31.20%, respectively, and the liver glycogen was significantly increased. The level was 40.90% ($p < 0.01$). Conclusion: The optimal extraction process of RR was obtained, and its anti-fatigue effect was determined, which could provide a basis for the development of health food with anti-fatigue function.

Key words: red ginseng; *Rhodiola crenulata*; the total saponins; salidroside; extraction; anti-fatigue effect

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2019)16-0181-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.16.030

引文格式: 李晶, 朱娜, 郑飞, 等. 红参红景天混合物提取工艺及其抗疲劳作用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(16): 181-185, 191.

人参(*Panax ginseng* C.A.Mey.)为五加科植物人参的干燥根和根茎,是一种名贵中药。红参为人参

经蒸制等加工后的干燥根和根茎,红参气味浓厚、甘而兼温、功偏温补。用于脾肾虚空、真阳衰弱之患^[1]。

收稿日期: 2018-11-21

作者简介: 李晶(1985-),女,硕士,助理研究员,研究方向: 中药药理学, E-mail: jingli2017@aliyun。

* 通讯作者: 越皓(1977-),男,博士,研究员,研究方向: 中药化学分析, E-mail: yuehao@sohu.com。

基金项目: 吉林省科技发展规划项目(20170307006YY)。

现代药理学研究表明,红参中特有的皂苷类成分 Rg3 和非皂苷成分等都有很好的抗疲劳作用^[2-5]。红景天为景天科植物大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook.f.et Thoms.) H. Ohba 的干燥根和根茎,具有扶正固本,补气养血,清热润肺的功效,主治气虚体弱、病后畏寒、气短乏力等症^[6]。红景天中的主要活性成分红景天苷可通过调节抗氧化系统^[7]、能量代谢系统^[8]及中枢系统^[9]三方面,从而发挥抗疲劳作用^[10-13]。红景天和红参均可用于气虚乏力之诸证,补气补血补神的功效与中医上所称的“虚则补之”相契合,且红景天性寒,红参性温,二药合用,寒温并用,使温补之中不致偏燥之性,相得益彰。现代研究显示,二药具有类似的“适应原样”作用^[14]。因此课题组推测二药配伍组方会具有更好的抗疲劳功效,然而目前,尚无将上述两种药物组方研究其抗疲劳功效的相关报道。

本研究根据我国中医对疲劳病因、病机的分析和治法治则的理论以及中医标本兼治的思想,并结合现代药理学研究,将红参和红景天进行配伍组方,以期获得具有抗疲劳作用的更有效组方。在前期工作中发现,将红参和红景天按比例混合后,进行乙醇回流提取,所得到的提取物具有较单独提取后合并的提取物更好的抗疲劳活性。为进一步验证其抗疲劳的作用,确定其最佳提取工艺,本研究采用正交试验考察了提取因素对工艺的影响,从中优选出红参红景天混合提取物提取的最佳工艺,并对红参和红景天混合提取物(Red ginseng and *Rhodiola crenulata*, RR)进行抗疲劳功效观察,以期为开发具有抗疲劳功能的保健食品提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红参 购于吉林省抚松县万良人参市场;红景天 由同仁堂提供;人参皂苷 Re、红景天苷对照品 上海源叶;香草醛 上海海曲化工有限公司;其余试剂 均为国产分析纯;80 只健康昆明小鼠 体重(20±2) g,雄性,合格证号 SCXK2013-0005,购于吉林大学白求恩医学院实验动物中心;小鼠血清尿素氮、乳酸及肝糖原检测试剂盒 南京建成生物工程研究所。

1200 型高效液相色谱仪 美国 Agilent 公司;Agilent Eclipse Plus-C18 色谱柱 美国 Agilent 公司;UV-9200 型紫外-可见分光光度计 北京瑞利分析仪器公司。

1.2 实验方法

1.2.1 总皂苷的含量测定

1.2.1.1 标准曲线的制备 精密称定人参皂苷 Re 对照品 1.1 mg,甲醇溶解,制成每 1 mL 含 1.1 mg 对照品的溶液。精密吸取对照品溶液 10、20、40、80、120、160、200 μL,分别置于具塞试管中,60℃ 恒温水浴挥干,加入 5% 香草醛-冰醋酸 0.2 mL,使残渣溶解,再加入高氯酸 0.8 mL,置 60℃ 恒温水浴上充分混匀后加热 15 min,取出后流水冷却 10 min,加入冰醋酸 5 mL,摇匀,以同法制得的不加对照品溶液的试剂作

空白,于 540 nm 波长测定吸光度值^[15]。以吸光度(Y)为纵坐标,对照品浓度(X)为横坐标绘制标准曲线为 $Y = 11.96X - 0.007$ ($R^2 = 0.9999$)。

1.2.1.2 供试品溶液的制备和皂苷含量测定 样品制备:分别取红参和红景天(1:1)研磨成粗粉,混合加入一定量的乙醇,在适当温度下进行有效成分的回流提取,减压浓缩回收乙醇,浓缩液在 10 Pa, -50℃ 的条件下,冷冻干燥 48 h,得到样品粉末。精密称取干燥粉末 30 mg,甲醇超声处理使溶解,得到 3 mg/mL 溶液,摇匀,滤过,取续滤液 50 μL,即得供试品溶液。取续滤液置磨口带塞试管中,根据回归方程计算样品皂苷含量。

$$\text{皂苷含量}(\text{mg/g}) = \frac{m/V_0 \times N \times V}{W}$$

式中:m 为根据标准曲线计算的皂苷的质量(mg); V_0 为供试品溶液的体积(mL);N 为供试品溶液稀释倍数;V 为供试品溶液总体积(mL);W 为所取样品的质量(g)。

1.2.2 红景天苷的含量测定

1.2.2.1 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C18 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 3.5 μm);柱温 30℃;以 V(甲醇):V(水)=85:15 作为流动相;体积流量 0.4 mL/min;进样量 5 μL;检测波长 275 nm。

1.2.2.2 标准曲线的制备 精密称定红景天苷对照品约 2.02 mg,置 2 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 含 1.01 mg 对照品的溶液。精密吸取对照品溶液 5、10、20、40、80、160、240、320、400、500 μL,分别置于 1 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,以 0.22 μm 微孔滤膜滤过;以红景天苷对照品的质量(X)对峰面积(Y)进行线性回归,绘制标准曲线为 $Y = 71442x - 2.175$ ($R^2 = 0.999$)。

1.2.2.3 供试品溶液的制备和红景天苷含量测定 取 1.2.1.2 项下干燥粉末约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 10 mL,密塞,称定质量,在超声频率 40 Hz,超声功率 800 W,温度 60℃ 条件下,处理 30 min,冷却至室温,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,以 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得^[16]。根据回归方程计算样品红景天苷的含量。

$$\text{红景天苷含量}(\text{mg/g}) = \frac{x/V_0 \times N \times V}{W}$$

式中,x 为根据标准曲线计算的红景天苷的质量(mg); V_0 为供试品溶液的体积(mL);N 为供试品溶液稀释倍数;V 为供试品溶液总体积(mL);W 为所取样品的质量(g)。

1.2.3 工艺条件及参数的优选

1.2.3.1 单因素实验设计 按处方比例称取红参和红景天各 20 g,共取 4 或 3 份,分别加入料液比为 1:10 g/mL,浓度分别为 60%、70%、80%、90% 的乙醇溶液提取 3 次,每次 90 min,考察乙醇体积分数对人参总皂苷和红景天苷含量的影响;

分别加入料液比为 1:6、1:8、1:10、1:12 g/mL 的 80% 的乙醇,提取 3 次,每次 90 min,考察料液比对人参总皂苷和红景天苷含量的影响;

分别加入料液比为 1:10 g/mL,浓度为 80% 的乙

醇溶液提取3次,分别提取30、60、90、120 min,考察提取时间对人参总皂苷和红景天苷含量的影响;

分别加入料液比为1:10 g/mL,浓度为80%的乙醇溶液分别提取1、2、3次,每次90 min,考察提取次数对人参总皂苷和红景天苷含量的影响^[17-19]。

1.2.3.2 正交试验优选提取工艺 以单因素实验结果为基础,采用乙醇回流提取法,选择乙醇浓度(A)、料液比(B)、提取时间(C)、提取次数(D)为考察因素,采用L₉(3⁴)的正交设计进行试验,以人参总皂苷和红景天苷的含量为考察指标进行综合评价,其权重系数均为50%,综合评分(X)=(人参总皂苷含量/人参总皂苷含量最大值)×100×50%+(红景天苷含量/红景天苷含量最大值)×100×50%,其中含量最大值指按9种提取工艺提取两种药材所得样品中含人参总皂苷或红景天苷的最大值,以综合评分为评价指标,分别取9份处方比例的药材,按因素水平表(表1)设计条件进行回流提取。

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels used in orthogonal experiment				
水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 料液比 (g/mL)	C 提取时间 (min)	D 提取次数 (次)
1	60	1:8	60	1
2	70	1:9	90	2
3	80	1:10	120	3

1.2.4 抗疲劳功能评价

1.2.4.1 动物分组与给药 实验室温度(23±2)℃,12 h昼夜循环,自由饮食饮水,适应性喂养7 d。随机分成空白对照组,RR高、中、低剂量组(3.75、1.25、0.625 g/kg),每组20只。空白对照组小鼠给予同体积的生理盐水,各组小鼠灌胃30 d。

1.2.4.2 负重游泳时间的测定 末次给药30 min后,每组随机选取10只小鼠,将小鼠尾根部负荷5%体重铅皮,置于游泳箱内。水深不少于30 cm,水温(25±1.0)℃,记录小鼠自游泳开始至死亡的时间,即小鼠负重游泳时间^[20-21]。

1.2.4.3 小鼠血清尿素氮、乳酸及肝糖原水平的测定 末次给药30 min后,每组中随机选取10只小鼠,在30℃水中不负重游泳90 min,休息60 min后眼球取血约0.5 mL,脱颈处死,迅速取肝脏,血液样品离心后收集血清,参照试剂盒说明书进行血清尿素氮、血乳酸及肝糖原水平检测^[22-24]。

1.3 数据处理

采用SPSS 16.0软件对所有数据进行处理,数据用平均值±标准差(x±s)表示,多组间比较采用方差分析,以p<0.05作为显著性差异,p<0.01作为极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

乙醇浓度对人参总皂苷和红景天苷含量的影响见图1A。随着乙醇浓度的增加,人参总皂苷的含量逐渐增加,分别为20.01、65.73、67.98和69.21 mg/g,乙醇浓度在70%后,人参总皂苷含量增幅减缓,红景天苷的含量在乙醇浓度为80%时达到最高,即0.01981 mg/g,比乙醇浓度为90%时略高。因此,选择乙醇浓度为80%。

料液比对人参总皂苷和红景天苷含量的影响见图1B。人参总皂苷和红景天苷的含量均在料液比为1:10 g/mL时最高,分别为67.98和0.01981 mg/g,故选择料液比为1:10 g/mL。

提取时间对人参总皂苷和红景天苷含量的影响见图1C。人参总皂苷和红景天苷的含量均在提取时间为120 min时达到最高,分别为70.69和0.02136 mg/g,故选

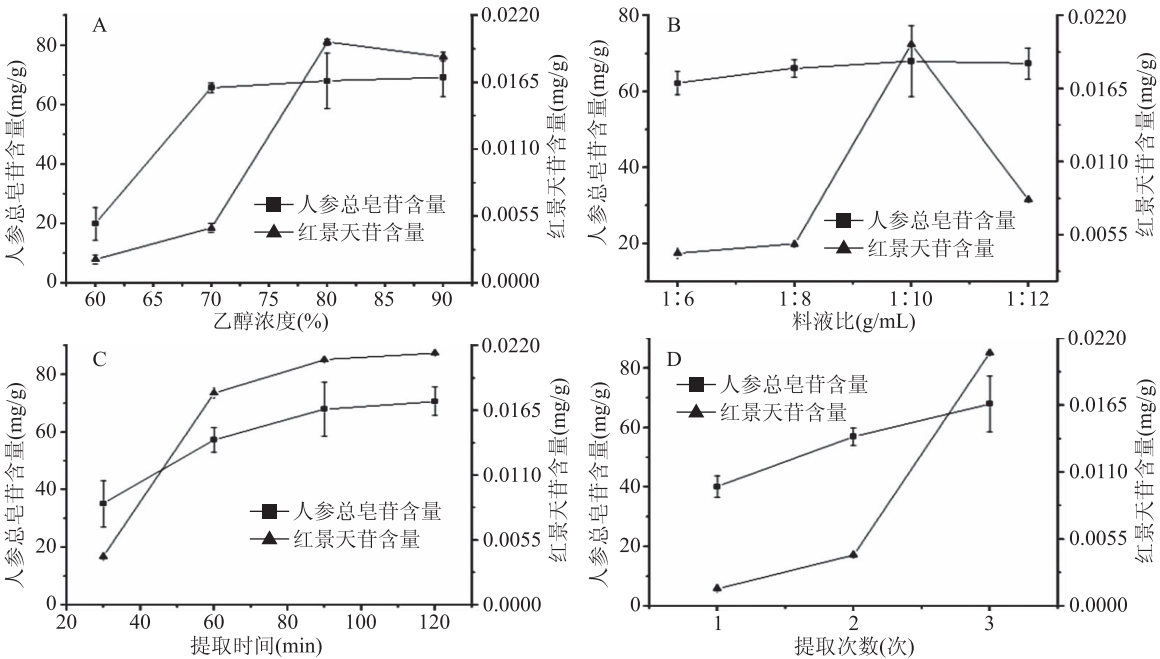


图1 单因素实验结果

Fig.1 Results of single factor experimental

表2 正交试验结果
Table 2 Results of orthogonal experimental

实验号	A	B	C	D	指标		
					总皂苷含量 (mg/g 生药)	红景天苷含量 (mg/g 生药)	综合评分 (分)
1	1	1	1	1	37.23	0.001338	24.52
2	1	2	2	2	39.25	0.001635	26.66
3	1	3	3	3	80.02	0.01381	92.28
4	2	1	2	3	86.34	0.004388	61.50
5	2	2	3	1	55.02	0.003156	40.50
6	2	3	1	2	46.42	0.001702	30.69
7	3	1	3	2	94.63	0.004325	65.66
8	3	2	1	3	64.39	0.003939	48.28
9	3	3	2	1	50.02	0.001858	34.21
K ₁	47.820	50.560	34.497	33.077			
K ₂	44.230	38.480	40.790	41.003			
K ₃	49.383	52.393	66.147	67.353			
R	5.153	13.913	31.650	34.276			

择提取时间为 120 min。

提取次数对人参总皂苷和红景天苷含量的影响见图 1D。人参总皂苷(40.14、56.98、67.98 mg/g)和红景天苷(0.001426、0.004196、0.02081 mg/g)的含量随着提取次数的增加而不断增加,综合考虑提取时间和提取效率,没有继续增加提取次数,故选择提取次数为 3 次。

2.2 正交试验优选提取工艺

每个试验条件平行 3 次,分别按“1.2.1”和“1.2.2”下方法计算人参总皂苷和红景天苷含量,结果见表 2 和表 3。由表 2 综合评分直观分析结果可知,4 个因素对人参总皂苷和红景天苷含量的影响顺序为 A < B < C < D,即乙醇浓度 < 料液比 < 提取时间 < 提取次数,最佳提取工艺为 A₃B₃C₃D₃。由表 3 方差分析结果可知,提取时间和提取次数对人参总皂苷和红景天苷含量具有显著影响,乙醇浓度和料液比无显著性影响。根据正交试验结果分析,确定提取工艺为乙醇浓度 80%,料液比 1:10 g/mL,提取时间 120 min,提取次数 3 次。3 次重复实验,结果人参总皂苷平均含量为(93.96 ± 4.03) mg/g,红景天苷平均百分含量为(0.01263 ± 0.00015) mg/g,此时综合评分为 95.38 分,说明优选的提取工艺稳定、可靠。

表3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	显著性
A	41.889	2	1.000	$p > 0.05$
B	342.868	2	8.185	$p > 0.05$
C	1684.289	2	40.208	$p < 0.05$
D	1932.044	2	46.123	$p < 0.05$
误差	41.89	2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

2.3 RR 对小鼠游泳力竭时间的影响

由表 4 可知,连续给药 30 d 后,各剂量组与空白

对照组比较,高($p < 0.001$)、中($p < 0.001$)和低($p < 0.01$)剂量组小鼠的力竭游泳时间均显著延长,结果表明,不同剂量 RR 均可延长小鼠负重游泳力竭时间,加强小鼠运动耐力。

2.4 RR 对小鼠血清尿素氮、乳酸及肝糖原水平的影响

末次给药 30 min 后,对各组小鼠血清尿素氮、血乳酸及肝糖原水平进行检测(表 4),结果显示,与空白对照组比较,高($p < 0.001$)、中($p < 0.05$)和低($p < 0.05$)剂量组小鼠血清尿素氮水平均显著降低。血尿素氮是蛋白质有氧代谢的产物,长时间剧烈运动后,机体不能通过分解糖和脂肪来提供足够的能量时,蛋白质、氨基酸和核苷酸分解代谢就会加强,脱氨基产生氨,因此尿素氮含量上升,机体对运动负荷的适应能力下降^[25-26]。研究显示,RR 能够降低游泳后小鼠血清尿素氮的含量,调节机体尿素氮含量异常,从而增强机体耐力。

由表 4 可知,小鼠力竭游泳后,与空白对照组比较,高($p < 0.001$)和中($p < 0.05$)剂量组小鼠肝糖原水平均显著升高。肝糖原是机体内重要能源物质储备的形式,能够提供运动所需的能量,可长时间维持运动的血糖水平,从而缓解疲劳^[27],实验表明,RR 能有效减少运动引起的肝糖原的消耗,增加体内能源物质肝糖原的含量,从而延长糖代谢的时间,延长小鼠负重游泳力竭时间,延缓疲劳的产生。

RR 能明显降低小鼠血清中乳酸含量,其中高剂量组($p < 0.001$)和中剂量组($p < 0.05$)乳酸水平与空白对照组比较具有显著性差异。当机体内氧供应相对不足时,糖原代谢增加,血清中乳酸等代谢产物增多,从而引起肌肉收缩效率下降导致体力衰竭^[28-30]。因而机体内乳酸含量与疲劳程度呈正相关。测定结果表明,RR 能够减少运动后血清中乳酸水平,减轻机体代谢产物的堆积,改善机体能量代谢,有利于机体对抗运动性疲劳。

表 4 RR 对小鼠负重游泳力竭时间、血清尿素氮、血乳酸及肝糖原水平的影响

Table 4 Effects of RR on weight loading swimming, serum urea nitrogen, lactic acid and hepatic glycogen in mice

组别	游泳时间(s)	血清尿素氮 (mmol/L)	血乳酸 (mmol/L)	肝糖原 (mmol/L)
空白对照组	156 ± 33.95	14.33 ± 2.79	6.57 ± 0.70	8.63 ± 1.03
高剂量组	493.75 ± 149.78 ***	8.73 ± 0.65 ***	4.52 ± 0.48 ***	12.16 ± 1.38 ***
中剂量组	427.63 ± 148.17 ***	11.74 ± 1.50 *	5.59 ± 0.99 *	10.34 ± 0.97 *
低剂量组	259.33 ± 64.26 **	12.49 ± 0.86 *	6.34 ± 1.34	8.94 ± 0.89

注:与空白对照组比较,*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ 。

3 结论

RR 最佳提取工艺参数为:乙醇浓度 80%,料液比 1:10 g/mL,提取时间 120 min,提取次数 3 次。在此最佳提取工艺条件下,测定了 RR 中人参总皂苷平均含量为(93.96 ± 4.03) mg/g,红景天苷平均含量为(0.01263 ± 0.00015) mg/g。通过动物实验对 RR 的抗疲劳活性进行了考察,结果表明 RR 能够显著延长小鼠力竭游泳时间、增加力竭运动过程中肝糖原的储备、降低血清尿素氮和乳酸水平($p < 0.001$ 或 $p < 0.05$),通过调节机体的代谢状态,从而提高小鼠的运动能力,起到抗疲劳作用。本研究为开发安全有效的抗疲劳保健食品提供了基础理论支撑。

参考文献

[1] 成准模.有关红参保健作用的公众认知研究[D].北京:中国中医科学院,2012.

[2] 黄宝亮,刘博宇,王佳奇,等.红参非皂苷类物质精氨酸双糖苷对小鼠疲劳及免疫功能的影响[J].中国药理学杂志,2016,51(15):1296-1301.

[3] 黄宝亮,丁传波,王佳奇,等.红参中精氨酸双糖苷对小鼠的抗疲劳作用[J].吉林大学学报:医学版,2017,43(5):897-902.

[4] 张艳.人参皂苷 Rg3 的抗疲劳作用研究[D].长春:吉林大学,2007.

[5] Kim S, Kim J, Lee Y, et al. Anti-Fatigue Effects of acute red ginseng intake in recovery from repetitive anaerobic exercise[J]. Iranian Journal of Public Health, 2016, 45(3):387-389.

[6] 孙晓军,赵慧,林杰.红景天的药理与制剂研究综述[J].中国药师,2005,8(5):415-416.

[7] Xu J, Li Y. Effects of salidroside on exhaustive exercise-induced oxidative stress in rats[J]. Molecular Medicine Reports, 2012, 6(5):1195-1198.

[8] 占海思,潘涛.红景天在心肌缺血再灌注损伤中保护机制的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(8):231-234.

[9] 盖磊煜,郑秀海.红景天对运动性疲劳小鼠中枢神经系统神经递质变化的影响[J].中国医学创新,2016,13(25):15-18.

[10] Kang D Z, Hong H D, Kim K I, et al. Anti-fatigue effects of fermented *Rhodiola rosea* extract in mice[J]. Preventive Nutrition & Food Science, 2015, 20(1):38-42.

[11] Punja S, Shamseer L, Olson K, et al. *Rhodiola rosea* for mental and physical fatigue in nursing students: A randomized controlled trial[J]. PLoS One, 2014, 9(9):e108416.

[12] Lekontseva Y, Zhukova I, Wacker A. *Rhodiola rosea* in subjects with prolonged or chronic fatigue symptoms: Results of an open-label clinical trial[J]. Complementary Medicine Research,

2017, 24(1):46-52.

[13] Chiang H M, Chen H C, Wu C S, et al. *Rhodiola* plants: Chemistry and biological activity[J]. Journal of Food & Drug Analysis, 2015, 23(3):359-369.

[14] 易帆.适应原类药用植物作用机制和中药活血机理的化学信息学研究[D].北京:北京协和医学院,2017.

[15] 肖凤琴,弓佩含,杨洋,等.复方增氧分散片提取工艺的活性筛选及其正交优化试验研究[J].时珍国医药,2018,29(4):871-874.

[16] 肖凤艳,高磊,赵子健,等.短梗五加果多酚提取工艺优化及抗疲劳作用[J].食品科学,2018,39(22):242-247.

[17] 林佳萍,邵彪,唐梦茹,等.灵芝蛋白质的优化提取及其抗氧化性质研究[J].中国食品学报,2018,18(9):152-158.

[18] 黄健军,岑芳,邓刚.多指标综合评分结合正交试验法优选瑶药牛白藤的提取工艺[J].中药材,2018,41(8):1938-1941.

[19] 白雨鑫,郭斌,韩冠英,等.罗摩果壳多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2015,36(20):278-283.

[20] Miao X Y, Xiao B K, Shui S F, et al. Metabolomics analysis of serum reveals the effect of Danggui Buxue Tang on fatigued mice induced by exhausting physical exercise[J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2018, 151:301-309.

[21] 张卓睿,毛迪锐,高晗,等.蓝莓花青素对小鼠抗疲劳及体内抗氧化作用[J].食品科学,2017,38(21):207-211.

[22] Jiang X, Chu Q, Li L, et al. The anti-fatigue activities of *Tuber melanosporum* in a mouse model[J]. Experimental & Therapeutic Medicine, 2018, 15(3):3066-3073.

[23] Zheng Y, Zhang W C, Wu Z Y, et al. Two macamides extracts relieve physical fatigue by attenuating muscle damage in mice[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(3):1405-1412.

[24] Gao H, Zhang W C, Wang B S, et al. Purification, characterization and anti-fatigue activity of polysaccharide fractions from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)[J]. Food & Function, 2018, 9(2):1088-1101.

[25] Liu Y, Zhou Y, Nirasawa S, et al. *In vivo* anti-fatigue activity of sufu with fortification of isoflavones[J]. Pharmacognosy Magazine, 2014, 10(39):367-373.

[26] 周丹英,徐佳媛,余琪,等.黄秋葵胶囊对小鼠抗疲劳作用及机制研究[J].食品科技,2017(5):52-54.

[27] 葛稳博,梁文魁.力竭性运动疲劳对小鼠血乳酸和血尿素及肝糖原的影响[J].当代体育科技,2018,8(10):16-17.

[28] Nakagawasai O, Yamada K, Nemoto W, et al. Liver hydrolysate assists in the recovery from physical fatigue in a

(下转第 191 页)

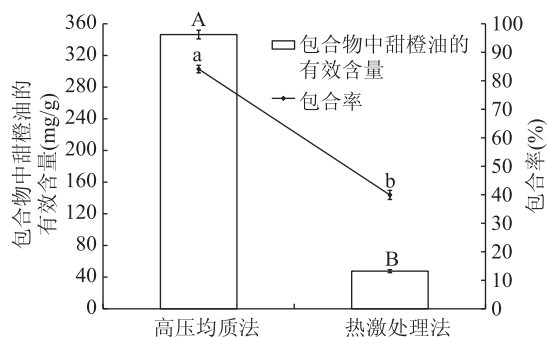


图8 不同制备方法的包合效果

Fig.8 Effect of different preparation methods of inclusion

注:图中同一指标的不同字母表示差异极显著($p < 0.01$)。

3 结论

通过正交试验优化出采用高压均质处理协助制备包合物的条件为:40 MPa 压力下均质 3 次,乳清蛋白:甜橙油 1:0.75 (g/mL),此条件下甜橙油的包合率可达 $84.11\% \pm 1.33\%$,包合物中甜橙油的有效含量为 (346.36 ± 5.47) mg/g。

通过正交试验优化出采用热激处理协助制备包合物的条件为:乳清蛋白:甜橙油 8:1 (g/mL)、热激温度 70 ℃、热激时间 20 min、反应时间 20 min,在此条件下甜橙油包合率为 $39.95\% \pm 1.60\%$,包合物中甜橙油的有效含量为 (47.56 ± 1.90) mg/g。

通过对比分析,采用高压均质协助制备包合物,甜橙油的包合率和包合物中甜橙油的有效含量均极显著高于采用热激处理法($p < 0.01$),采用高压均质协助制备包合物效果更佳。

参考文献

- [1] Xiao Jun-xia, Yu Hai-yan, Yang Jian. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic[J]. Food Chemistry, 2011, 125: 1267-1272.
- [2] Liu Ke - hai, Xu Yan - qin, Wang Xi - chang. Microencapsulation of sweet orange oil terpeneless using the orifice method[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 110(3): 390-394.
- [3] Xiao Zuo-bing, Zhou Ru-jun, Zhu Ya-lun, et al. Study of production and pyrolysis characteristics of sweet orange flavor- β -cyclodextrin inclusion complex[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 105: 75-80.
- [4] 李柱. 不同方法制备耐高温型微胶囊化甜橙油的研究[D]. 无锡:江南大学, 2005: 6-7.
- [5] 王春杰, 徐仲伟, 宁正祥. 喷雾干燥法制备微胶囊化甜橙油的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(9): 56-60.
- [6] 阚建全. 食品化学[M]. 北京, 中国农业大学出版社, 2008:

59-63.

- [7] 吴克刚. 食品微胶囊技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006: 41-47.
- [8] Bengu O, Sanem A, Mustafa O, et al. Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin E delivery systems using natural biopolymers: Whey protein isolate and gum arabic[J]. Food Chemistry, 2015, 188: 256-263.
- [9] Rikke, Marianne H, Uif A, et al. Protein denaturation of whey protein isolates (WPIs) induced by high intensity ultrasound during heat gelation[J]. Food Chemistry, 2016, 192: 415-423.
- [10] Guichard E. Flavour retention and release from protein solutions[J]. Biotechnology Advances, 2006, 24(2): 226-229.
- [11] 蒋姘婷, 曹锦轩, 张玉林, 等. 蛋白质与挥发性风味成分相互作用研究进展[J]. 核农学报, 2014, 28(2): 285-291.
- [12] Kühn J, Considine T, Singh H. Interactions of milk proteins and volatile flavor compounds: Implications in the development of protein foods[J]. Journal of Food Science, 2006, 71(5): 72-82.
- [13] Wang Jing, Cao Yan - ping, Sun Bao - guo, et al. Physicochemical and release characterisation of garlic oil - β -cyclodextrin inclusion complexes[J]. Food Chemistry, 2011, 127: 1680-1685.
- [14] 朱艳巧, 田耀旗, 徐学明, 等. 超声波协助处理制备淀粉-肉桂醛包合物研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(2): 232-235.
- [15] 刘艳玲. V_E 的 β -乳球蛋白包被物制备及其抗氧化性和转运吸收研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2015: 9-10.
- [16] Zhang Wen - wen, Li Xin - ying, Yu Tao - cheng, et al. Preparation, physicochemical characterization and release behavior of the inclusion complex of trans - anethole and β -cyclodextrin[J]. Food Research International, 2015, 74: 55-62.
- [17] 吴琼英, 马海乐. 维生素 E 微胶囊化技术的研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(8): 50-52.
- [18] 姚翀, 陶宁萍, 王锡昌. 宝石鱼油的微胶囊化研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 254-259.
- [19] 崔健, 邴金龙, 王盼, 等. 温度、pH 对乳清蛋白乳状液稳定性的影响[J]. 食品工业科技, 2010, 31(11): 84-87.
- [20] Burova T V, Grinberg N V, Golubeva I A, et al. Binding of odorants to individual proteins and their mixtures. Effects of protein denaturation and association[J]. Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects, 2003, 213(3): 235-244.
- [21] Mcneill V L, Schmidt K A. Vanillin interaction with milk protein isolates in sweetend drinks[J]. Journal of food science, 2004, 58(5): 1142-1144.
- [22] O'neill T E, Kinsella J E. Effect of heat treatment and modification on conformation and flavor binding by β -lactoglobulin[J]. Journal of Food Science, 1988, 53(3): 906-909.

(上接第 185 页)

- mouse model[J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2013, 123(4): 328-335.
- [29] Huang W C, Hsu Y J, Li H, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* TWK10 on improving endurance performance in humans[J]. Chinese Journal of Physiology, 2018, 61(3):

163-170.

- [30] Ni W, Gao T, Wang H, et al. Anti - fatigue activity of polysaccharides from the fruits of four Tibetan plateau indigenous medicinal plants[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 150(2): 529-535.