

一种蒲公英饮料的研制

张萍, 梁引库, 李云祥, 高飞雄

(陕西理工大学陕西省资源生物重点实验室, 生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000)

摘要:通过对提取工艺中的物料比, 浸提时间、浸提温度等因素进行考察, 确定蒲公英水取工艺的最佳条件为: 料液比 1:30, 浸提时间 30 min, 浸提温度 80 °C。通过单因素和响应面优化试验设计确定了蒲公英饮料的最佳配比为: 每 100 mL 精滤蒲公英汁含有蜂蜜 1.6 g、柠檬酸 0.03 g、甜菊糖苷 0.04 g。分析检测该蒲公英饮料成品的营养成分及其活性物质, 结果表明: 蒲公英饮料的 pH 值 4.4、还原糖含量 8.16 g/L、蛋白质含量 10.4 mg/L; 饮料中共含有 17 种游离氨基酸, 其中有 4 种人体必需氨基酸; 已知活性成分共有 10 种, 酚酸类 5 种, 类黄酮类 5 种。优化的蒲公英饮料提取工艺合理、可行, 营养丰富, 具有一定的保健功能。

关键词: 蒲公英; 饮料; 研制; 响应面

文章篇号: 1673-9078(2020)02-201-209

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.2.029

Development of A Dandelion Beverage

ZHANG Ping, LIANG Yin-ku, LI Yun-xiang, GAO Fei-xiong

(Shaanxi Key Laboratory of Resource Biology, College of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China)

Abstract: By comparing the material ratio, extraction time and extraction temperature in the extraction process, the optimum conditions for the dandelion water extraction process were as follows: the ratio of material to liquid was 1:30, the extraction time was 30 min, and the extraction temperature was 80 °C. The optimal composition of dandelion beverage was determined by single factor and response surface optimization test design: 1.6 g of honey, 0.03 g of citric acid and 0.04 g of stevioside per 100 mL of finely filtered dandelion juice. By analyzing and testing the nutrients and active substances of the finished dandelion beverage, the results show that the dandelion beverage has a pH of 4.4, a reducing sugar content of 8.16 g/L, and a protein content of 10.4 mg/L. The beverage contains 17 free amino acids, of which 4 essential amino acids; 10 known active ingredients, 5 phenolic acids, 5 flavonoids. The optimized dandelion beverage extraction process is reasonable, feasible, nutritious and has certain health care functions.

Key words: dandelion; beverage; development; response surface

蒲公英(*Taraxacum mongolicum* Hand.-Aazz)是一种菊科多年生的草本植物, 又名黄花苗、蒲公草、婆婆丁等。蒲公英为药食同源的品种^[1], 营养价值高, 鲜蒲公英中富含蛋白质、粗纤维、胡萝卜素、多种维生素及微量元素等, 其中铁含量是野菜中最高的品种之一^[2,3]。蒲公英化学成分复杂, 含有多种活性物质, 研究领域主要集中在抑菌抗炎^[2,4,5]、利胆保肝^[6]、抗肿瘤^[7-9]、抗氧化^[10]、降血脂^[11]等方面。蒲公英具有

收稿日期: 2019-09-02

基金项目: 陕西省科技厅陕西省资源生物重点实验室项目(AZA-15-03); 秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心项目(QBXT-Z(Y)-15-2); 陕西省教育厅陕西省资源生物重点实验室项目(18JS018); 陕西省科技厅陕西省资源生物重点实验室项目(SZS-15-03); 秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心项目(QBXT-Z(Y)-15-2); 陕西理工大学人才引进项目(SLGQD1814)

作者简介: 张萍(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 应用生物化学

通讯作者: 梁引库(1980-), 男, 副教授, 研究方向: 天然产物活性物质

开发与利用

抗氧化和抗菌抗炎作用的成分主要有黄酮类^[12]、绿原酸^[13]、糖蛋白^[14]、多糖、多酚^[15]、脂溶性成分^[16]等, 故蒲公英被广泛用于临床各科多种炎症的治疗; 具有抗肿瘤活性的成分有蒲公英萜醇^[17]、多糖^[18]、木犀草素、咖啡酸^[19]等, 可阻止人体肝癌细胞、乳腺癌细胞等其他肿瘤细胞的增殖。此外, 蒲公英全草提取物也具备一定的活性作用, 段红波等^[20]研究发现, 蒲公英叶脂溶性成分能够清除自由基, 具有一定的抗氧化活性, 延缓机体衰老。Seung 等^[21]研究发现, 蒲公英乙醇提取物能诱导雌激素相关基因的表达, 具有潜在的雌激素活性, 对预防更年期症状有一定的功效。Qian 等^[22]研究发现, 蒲公英低聚糖对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌均有高抗菌活性, 日常可用于抗病毒^[23]、预防感冒、提高免疫力^[24]等。蒲公英活性成分丰富, 对人体各方面都存在益处, 且为天然植被药物, 可广泛用于保健食品的研发。

随着生活水平的提高, 人们对营养丰富且具有保

健功能的食品越来越关注。目前，以中药为主要原料的功能性饮料研制已取得一系列成果，如许飞虎等^[25]提取山药、玉竹、红景天中的营养物质，并研制出具有抗疲劳功效的复合运动饮料。孙悦等^[26]以罗汉果、金银花等为主要原料研制出具有清热润喉、低糖等特点的天然复合饮料。本研究以蒲公英为主要原料，研究其生产工艺和最佳配方，并对本饮料的营养价值和功能活性物质进行检测，以期得到风味独特且具有一定功能的食品，为进一步开发利用蒲公英提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

干燥蒲公英，购买于汉中市中药材市场；甜菊糖苷，曲阜香洲甜菊制品有限责任公司；无水柠檬酸，潍坊英轩实业有限公司；蜂蜜，扬州市金峰食品有限

公司；异硫氰酸苯酯，上海麦克林生化科技有限公司；氨基酸混合标准品，美国西格玛奥德里奇公司；三乙胺、醋酸钠、正己烷（优级纯），天津市科密欧化学试剂有限公司；无水乙醇、乙腈、甲醇、醋酸、甲酸（色谱纯），天津市富宇精细化工有限公司。

DK-98-II A 电热恒温水浴锅，天津市泰斯特仪器有限公司；RE-52A 旋转蒸发器，上海亚荣生化仪器厂；H2050R 台式高速大容量冷冻离心机，湖南湘仪实验室开发有限公司；TP-620A 电子天平，湘仪天平仪器设备有限公司；GJJ-0.01/60 微型实验室均质机，上海诺尼轻工机械有限公司；1100 高效液相色谱、6410 Triple Quad LC/MS 质谱仪，购自美国安捷伦公司。

1.2 蒲公英饮料制备方法

1.2.1 蒲公英饮料制备工艺流程

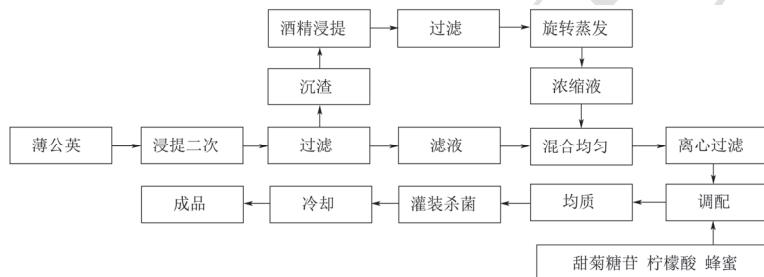


表1 感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation criteria

项目	评分标准	得分
色泽 (20分)	颜色均匀，呈棕黄色	16~20
	颜色较淡，呈浅黄色	11~15
	颜色偏深，成棕色	5~10
	颜色呈现异状	0~4
气味 (20分)	具有蒲公英特有的香味，味道浓郁，留香时间长	16~20
	具有蒲公英特有的香味，留香时间长	11~15
	具有蒲公英一定香味，留香时间短	5~10
	蒲公英香味不浓郁，有异味	0~4
滋味 (40)	具有蒲公英特有的滋味，无异味，酸甜适宜，后味微苦涩	31~40
	具有蒲公英特有的滋味，无异味，但苦涩感略重，微酸或微甜	21~30
	具有一定的蒲公英特有的滋味，有强烈苦涩感，滋味过酸或过甜	11~20
	无蒲公英特有的滋味，口感不适，有异味	0~10
澄清度 (20分)	透明，无沉淀	16~20
	透明，有少量沉淀	11~15
	不透明呈浑浊状，无沉淀	5~10
	不透明呈浑浊状，有沉淀	0~4

1.2.2 蒲公英饮料感官评价

随机选择 20 位有经验且无感官缺陷的人组成本评小组。试验中，每位品评员按照表 1 对样品的色泽、

气味、滋味、澄清度等进行评分。

1.2.3 精滤蒲公英汁的制备方法

1.2.3.1 水浸提条件的优化

干燥蒲公英叶片中加入纯净水, 恒温水浴浸提, 重复两次, 过滤, 合并滤液(见表2)。4000 r/min 离心 10 min, 以上清液的色泽、澄清度、苦涩度为主要标准, 通过感官评价确定最佳浸提条件。

表2 水浸提条件的优化方案

Table 2 Optimization scheme for water extraction conditions

料液比(W/V, g:mL)	浸提温度/℃	浸提时间/min
1:10	60	20
1:20	70	30
1:30	80	40
1:40	90	50

1.2.3.2 精滤蒲公英汁的制备

水浸提后的沉渣用 60% 的酒精浸提两次, 料液比为 1:10 (W/V, g:mL), 浸提温度 60 ℃, 浸提时间 30 min, 过滤, 收集滤液并浓缩至体积约为 20 mL (无酒精气味), 将所得浓缩液与上述水浸提滤液混合均匀, 4 ℃下 4000 r/min 离心 10 min, 得到的上清液即为精滤的蒲公英汁。

1.2.4 混合调配

在精滤蒲公英汁中, 分别添加蜂蜜、柠檬酸和甜菊糖苷并分析对蒲公英饮料感官品质的影响。

1.2.5 均质

将混合调配后的饮料用高压均质机均质处理, 进一步细化混合汁中的颗粒, 使饮料均匀, 防止出现沉淀。均质压力为 25 MPa, 温度为 60~70 ℃。

1.2.6 灌装、杀菌

均质后及时灌装封盖, 沸水浴中杀菌 30 min。

1.2.7 蒲公英饮料调配工艺研究

1.2.7.1 蜂蜜、柠檬酸、甜菊糖苷对蒲公英饮料感官品质的影响

以滋味和澄清度为主要指标, 通过感官评价分析不同用量的蜂蜜、柠檬酸、甜菊糖苷对蒲公英饮料的影响(见表3)。

表3 蒲公英饮料调配单因素试验

Table 3 Single factor test of dandelion beverage blending

蜂蜜/%	柠檬酸/%	甜菊糖苷/%
0.5	0.01	0.01
1.0	0.02	0.02
1.5	0.03	0.03
2.0	0.04	0.04
2.5	0.05	0.05

1.2.7.2 响应面优化试验设计

利用 Design-Expert 8.0 软件进行试验设计, 并对结果进行分析。在单因素试验基础上, 选取蜂蜜用量、柠檬酸用量、甜菊糖苷用量 3 个因素, 采用 3 因素 3

水平的响应面分析方法, 通过感官评价优化最佳蒲公英饮料的配方, 具体设计见表4。

表4 响应面试验因素水平表

Table 4 Response surface test factor level table

水平	因素		
	A 蜂蜜 用量/%	B 柠檬酸 用量/%	C 甜菊糖苷 用量/%
-1	1.0	0.02	0.03
0	1.5	0.03	0.04
+1	2.0	0.04	0.05

1.3 蒲公英饮料的测定方法

1.3.1 蒲公英饮料 pH 值、还原糖含量和蛋白质含量的测定

根据国家标准 GB 5009.237-2016、GB 5009.7-2016、GB 5009.5-2016 分别对蒲公英饮料成品的 pH 值^[27]、还原糖^[28]、蛋白质^[29]含量进行测定。

1.3.2 蒲公英饮料中氨基酸分析

参照赵东升等^[30]方法对蒲公英饮料成品中氨基酸种类进行测定。对混合氨基酸标准品及蒲公英饮料进行柱前衍生化反应, 通过高效液相色谱分析对比图谱。

1.3.3 蒲公英饮料中活性物质分析

表5 梯度洗脱程序

Table 5 Gradient elution procedure

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	92	8
10	92	8
24	86	14
35	77	23
44	76	24
56	76	24
60	68	32
66	63	37
68	92	8
78	92	8

采用液相色谱-二极管阵列检测器-电喷雾离子化串联质谱法 (LC-DAD-ESI-MS/MS) 对蒲公英饮料成品中活性物质进行检测。取 5 mL 左右的蒲公英饮料成品, 经 0.22 μL 水系针孔过滤膜过滤后备用。色谱条件: 色谱柱: Hypersil GOLD C18 柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm); 流动相 A 液: 0.1% 甲酸; 流动相 B 液: 乙腈; 流速: 1.00 mL/min; 进样量: 10 μL; 检测波长: 280 nm; 梯度洗脱见表 5^[31]。质谱方法: 离子源: 电喷雾离子源(ESI); 检测模式: 全扫描 (MS), 多反应

监测 (MRM); 扫描方式: 负离子扫描; 脱溶剂气流量: 800 L/hr; 锥孔气流量: 50 L/hr; 毛细管电压: 3000 V; 离子源温度: 110 °C; 脱溶剂气温度: 400 °C。

1.4 数据处理

每个实验做三组平行实验, 利用 Excel 2010, Design-Expert 软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 蒲公英水提条件优化

2.1.1 料液比的优化

以表 1 为标准考察料液比, 汤色由深至浅依次为 1:10>1:20>1:30>1:40, 澄清度依次增加; 苦涩味依次为 1:10>1:20>1:30>1:40, 1:30 苦涩味适中。料液比 1:30 的感官评分最高为 87。

2.1.2 提取时间的优化

以表 1 为标准考察提取时间, 色泽基本一致; 苦涩度依次为 50>40>30>20, 50 min 苦涩味最重, 20 min 苦涩味最浅, 30 和 40 min 基本一致。提取时间 30 min 时感官评分最高为 85。

2.1.3 提取温度的优化

以表 1 为标准考察提取温度, 色泽依次为: 60=90>70=80, 60、90 °C 颜色比 70、80 °C 颜色深; 苦涩度依次为: 90>80=70=60, 90 °C 最苦, 其他基本一致。提取温度 80 °C 时感官评分最高为 83。蒲公英水提条件优化最终结果为: 料液比 1:30, 提取时间 30 min, 提取温度 80 °C。

2.2 蒲公英饮料生产工艺优化

2.2.1 蜂蜜、柠檬酸、甜菊糖苷对蒲公英饮料感官品质的影响

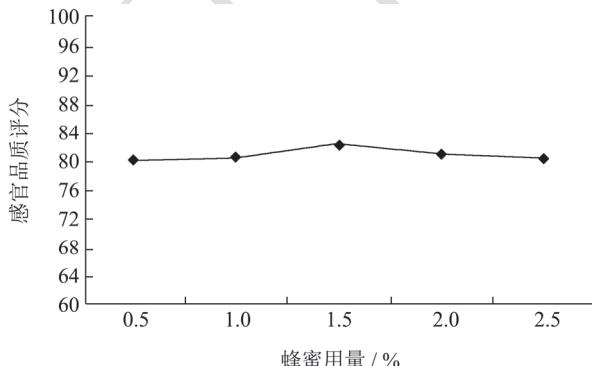


图 1 蜂蜜用量对蒲公英饮料感官品质的影响

Fig.1 Effect of honey consumption on sensory quality of dandelion drinks

品评小组根据表 1 感官评价的标准对不同编号的

样品进行随机品尝, 并对其感官品质进行综合性评分。整理评分表, 得到图 1~图 3。

蜂蜜可以使蒲公英饮料口感更加润滑, 不显得突兀。如图 1, 蜂蜜的用量对蒲公英饮料感官品质的影响并不明显, 甜酸度没有明显改变, 只是使饮料的口感更加温和, 后味更加丰富, 当蜂蜜用量为 1.5% 时, 蒲公英饮料的感官评价分数最高为 82.3; 蜂蜜用量为 0.5% 时, 分数最低为 80.0。

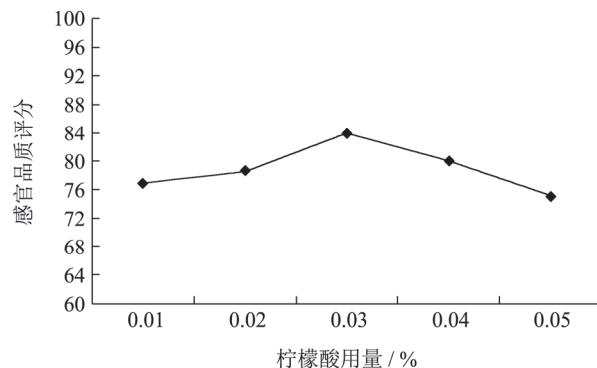


图 2 柠檬酸用量对蒲公英饮料感官品质的影响

Fig.2 Effect of citric acid dosage on sensory quality of dandelion beverage

在蜂蜜用量为 1.5% 的基础上, 通过柠檬酸调节饮料 pH 使饮料呈弱酸性易于保存, 同时中和蒲公英饮料中的苦涩味, 增强适口感。若柠檬酸浓度较小时, 蒲公英饮料的苦涩味较浓, 口感不佳; 若柠檬酸浓度过高, 则饮料过酸而不适口。如图 2, 当柠檬酸用量为 0.03% 时, 蒲公英饮料的感官品质评价分数最高为 83.8; 柠檬酸用量为 0.05% 时, 分数最低为 75.1。

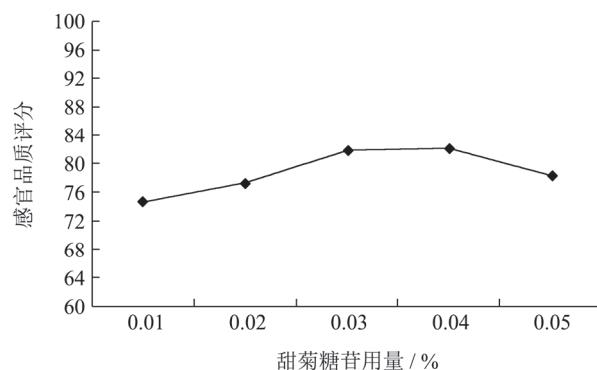


图 3 甜菊糖苷用量对蒲公英饮料感官品质的影响

Fig.3 Effect of steviol glycoside on sensory quality of dandelion beverages

在蜂蜜用量 1.5%、柠檬酸用量 0.03% 的基础上, 通过甜菊糖苷对饮料的甜度进行调节。当甜菊糖苷用量小于 0.04% 时, 饮料的苦涩感过重, 不适口; 当甜菊糖苷用量大于 0.04% 后, 饮料甜味过浓, 掩盖了蒲公英特有的香味, 且口感甜腻不佳, 后味略苦。如图 3, 当甜菊糖苷用量为 0.04% 时, 蒲公英饮料的感官品

质评价分数最高为 82.1; 当甜菊糖苷用量为 0.01% 时, 分数最低为 74.8。

2.2.2 响应面优化试验设计结果

使用 Design-Expert 8.0 软件, 以蜂蜜、柠檬酸和甜菊糖苷的添加量为响应变量, 感官品质的评分为响应值, 根据表 6 的数据进行分析处理, 得到方差分析表 7。利用该软件进行二次多项式拟合(非线性), 得到预测模型为: $Y=90.38+2.20A-2.33B-8.28C+0.37AB+1.52AC-0.48BC-5.63A^2-5.08B^2-9.43C^2$ 。

根据表 7, 回归模型的 F 值为 93.82, $p<0.0001$; 失拟项 $p=0.1740>0.05$, 无明显性差异, 说明该模型拟合度良好, 模型的残差可能是随机误差产生。模型校正决定系数 $R_{Adj}^2=0.9812$, 表示 98.12% 响应值的变化可以用该模型解释, 结论可靠性高。三个因素设计合理, 可以用该回归模型代替实验来确定蒲公英饮料的最佳配方。在所研究的三个因素水平范围内, 按照对感官品质的影响大小排序为: 甜菊糖苷>柠檬酸>蜂蜜。根据回归模型以及方差分析表, 做出 A(蜂蜜)、B(柠檬酸)以及 C(甜菊糖苷)对蒲公英饮料感官品质影响的等高线及 3D 图, 如图 4~图 6 当中所示。等高线的形状(圆形或者椭圆)反应交互效应强弱程度, 圆形表示交互作用不显著; 椭圆则表示交互作用显著^[32]。

图 4~图 6 表明, AB、AC 之间相互作用的等高线为椭圆形, 交互作用显著; BC 之间相互作用的等高线为圆形, 交互作用并不显著。由等高线疏密程度可以判断出各因素的影响程度。固定任意一个因素的添

加量, 感官品质评分均会随着另一个因素添加量的增大先增加后减小。因此, 在因素 A、B、C 中, C 对感官品质评分存在明显的相关性, 其次是 B, 最后是 A。AB 的交互效应是最显著的, AC 的交互效应较为显著, BC 的交互效应最不显著。这与方差分析的结果一致。

表 6 试验设计及结果

Table 6 Test design and results

试验号	A	B	C	感官品质评分
	蜂蜜/%	柠檬酸/%	甜菊糖苷/%	
1	-1	1	0	75.2
2	0	0	0	90.5
3	1	1	0	78.8
4	1	0	1	71.1
5	0	0	0	90.2
6	0	0	0	90.9
7	-1	-1	0	81.3
8	0	-1	1	70.5
9	0	1	1	65.6
10	0	0	0	88.9
11	1	-1	0	83.4
12	-1	0	1	62.1
13	0	-1	-1	85.2
14	0	1	-1	82.2
15	1	0	-1	85.5
16	-1	0	-1	82.6
17	0	0	0	91.4

表 7 回归方程方差分析表

Table 7 Analysis of variance equation for regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著水平 P	显著性
模型	1321.22	9	146.80	93.82	<0.0001	***
A	38.72	1	38.72	24.75	0.0016	**
B	43.25	1	43.25	27.64	0.0012	**
C	547.80	1	547.80	350.10	<0.0001	***
AB	0.56	1	0.56	0.36	0.5677	
AC	9.30	1	9.30	5.95	0.0449	*
BC	0.90	1	0.90	0.58	0.4724	
A^2	133.34	1	133.34	85.22	<0.0001	***
B^2	108.55	1	108.55	69.37	<0.0001	***
C^2	374.22	1	374.22	239.16	<0.0001	***
残差	10.95	7	1.56			
失拟误差	7.40	3	2.47	2.78	0.1740	
纯误差	3.55	4	0.89			
总和	1332.17	16				

注: ***表示及其显著($p<0.001$), **表示非常显著($p<0.01$), *表示显著($0.01<p<0.05$); 其中 $R^2=0.9837$, $R_{Adj}^2=0.9628$ 。

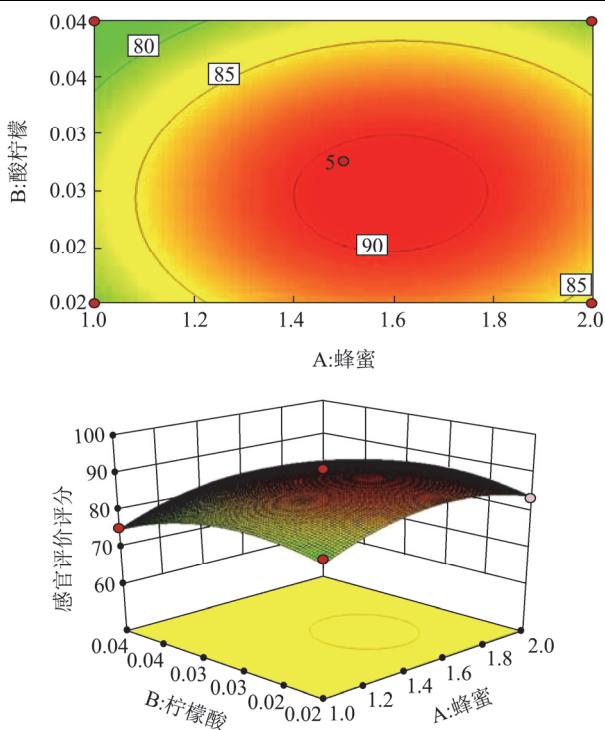


图4 蜂蜜和柠檬酸的添加量对蒲公英饮料感官品质影响的响应面图

Fig.4 Response surface diagram of the effect of honey and citric acid on the sensory quality of dandelion beverages

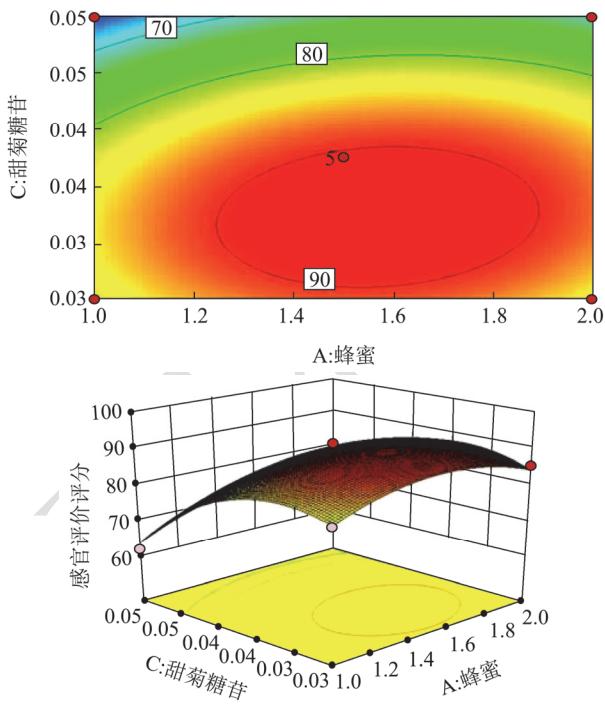


图5 蜂蜜和甜菊糖苷的添加量对蒲公英饮料感官品质影响的响应面图

Fig.5 Response surface diagram of the effect of the amount of honey and steviol glycoside on sensory quality of dandelion beverages

由响应面软件分析得到的蒲公英饮料中各因素的添加量为:每100 mL蒲公英饮料中蜂蜜添加量为1.57 g, 柠檬酸为0.03 g, 甜菊糖苷为0.04 g。在此条件下的感官评价结果为92.51分,根据实际情况,将以上最优条件调整为蜂蜜添加量为1.6%, 柠檬酸为0.03%, 甜菊糖苷为0.04%。该因素条件下的蒲公英饮料感官品质评分值为90,与预测值基本相同。因此该响应面法得到的优化条件准确可靠,具有实际应用价值。

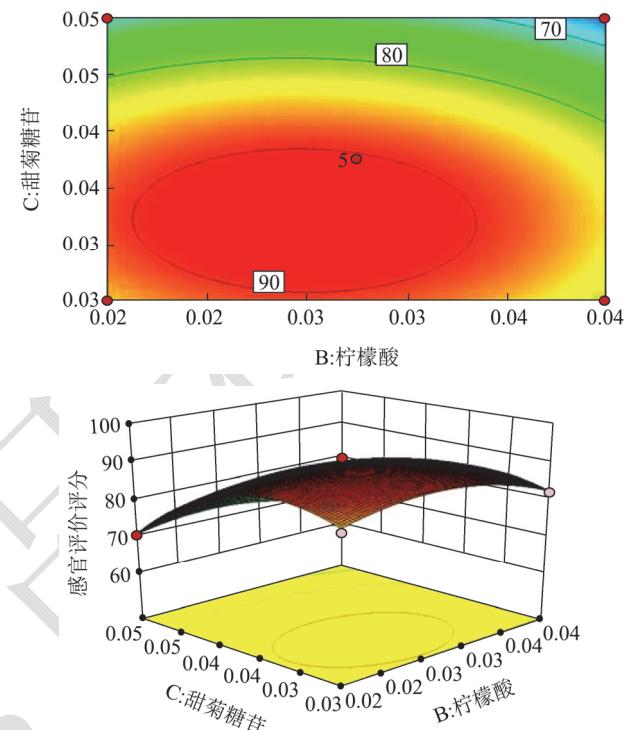


图6 柠檬酸和甜菊糖苷的添加量对蒲公英饮料感官品质影响的响应面图

Fig.6 Response surface diagram of the effect of citric acid and steviol glycoside on the sensory quality of dandelion beverages

2.3 蒲公英饮料测定结果

2.3.1 蒲公英饮料理化指标分析

pH: 4.4 ± 0.1 ;

还原糖 (g/L): 8.16 ± 0.05 ;

蛋白质 (mg/L) 10.4 ± 0.38 。

2.3.2 蒲公英饮料中氨基酸种类的分析

液相色谱分析表明(图7),本研究所制蒲公英饮料中含有17种人体所需氨基酸,其中有4种是必须氨基酸,分别为缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸。与现今市面上销售的饮料相比,本研究所制的饮料氨基酸的种类繁多,并且含有4种人体必需氨基酸,营养价值高。

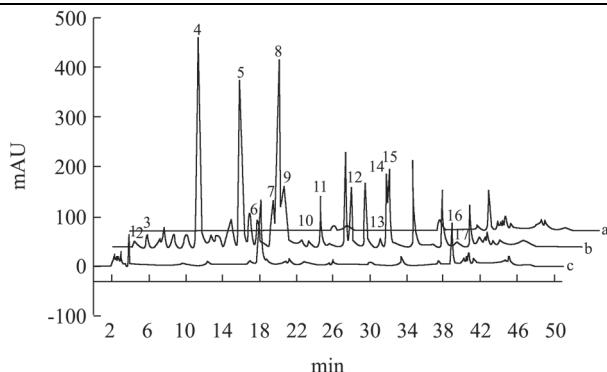


图7 空白衍生化溶液(a)、氨基酸标准品衍生化溶液(b)和蒲公英饮料供试品衍生化溶液(c)HPLC 色谱图

Fig.7 HPLC chromatograms from blank derivative solution(a), amino acid standard derivative solution(b), and the test derivative solution of dandelion beverage (c)

注: 1.磷酸丝氨酸; 2.牛磺酸; 3.羟脯氨酸; 4.天冬氨酸;
5.丙氨酸; 6. α -氨基丁酸; 7.缬氨酸; 8.胱氨酸; 9.甲硫氨酸;
10.异亮氨酸; 11.亮氨酸; 12. β -丙氨酸; 13. β -氨基异丁酸; 14.
高半胱氨酸; 15. γ -氨基丁酸; 16.鹅胱肽; 17.精氨酸。

2.3.3 蒲公英饮料中活性物质的测定

LC-DAD-ESI-MS/MS 对蒲公英饮料成品研究分析发现,有12种活性物质被分离出来。基于[M-H]⁻值和相应碎片离子对活性物质进一步鉴定,初步确定了10种化合物的结构分别为(表8)咖啡酸、羟基肉桂酸衍生物、槲皮素二糖苷、槲皮素-戊糖苷-己糖苷、咖啡酰二羟基苯基乳酸酒石酸、槲皮素糖苷、木犀草素-7-O-葡萄糖苷、槲皮素戊糖苷、3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸和咖啡酸衍生物。其中峰1、峰6、峰8、峰10

分别为咖啡酸、槲皮素糖苷、槲皮素戊糖苷和咖啡酸衍生物,其[M-H]⁻和碎片离子与Chen等^[31]所报道相同;峰2与Huang等^[34]所报道相比较具有相同的[M-H]⁻和相似的碎片离子,判定为羟基肉桂酸衍生物;峰3、峰4、峰5、峰7分别为槲皮素二糖苷、槲皮素-戊糖苷-己糖苷、咖啡酰二羟基苯基乳酸酒石酸和木犀草素-7-O-葡萄糖苷,其[M-H]⁻和碎片离子与Schütz等^[35]所报道相同;峰9与Dias等^[36]所报道的相比较具有相同的[M-H]⁻和相似的碎片离子,因此初步判定为3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸。大部分蒲公英的活性成分在饮料中可以检测得到,说明本研制方法合理有效,与现今市面上销售的饮料相比,本品具有较高的营养物质和活性因子,对调节机体生理活动具有一定效果。

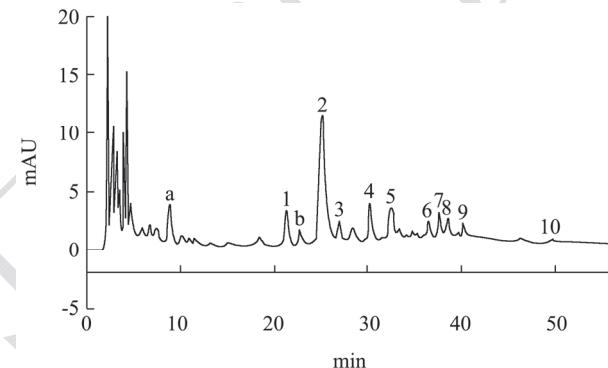


图8 蒲公英饮料活性成分的HPLC色谱图

Fig.8 HPLC chromatogram of the active ingredients of dandelion beverage

注: a, b 为未知化合物。

表8 蒲公英饮料活性成分的LC-DAD-ESI-MS/MS分析

Table 8 LC-DAD-ESI-MS/MS analysis of active components in dandelion beverage

序号	化合物	保留时间/min	相对百分比/%	[M-H] ⁻ (在线) (母离子)	碎片离子 (在线, MRM模式) (子离子)	[M-H] ⁻ (已报道) (母离子)	碎片离子 (已报道) (子离子)
1	咖啡酸	21.326	4.72	179 ^a	135	179 ^a	135 ^a
2	羟基肉桂酸衍生物	25.049	27.0	389 ^b	353,191	389 ^b	371,353,209,191 ^b
3	槲皮素二糖苷	26.912	1.79	625 ^c	343, 301	635 ^c	343,301 ^c
4	槲皮素-戊糖苷-己糖苷	30.206	4.11	595 ^c	433	535 ^c	433 ^c
5	咖啡酰二羟基苯基乳酸酒石酸	32.415	5.08	491 ^c	329,293	491 ^c	329,293 ^c
6	槲皮素糖苷	36.391	1.24	433 ^a	301	433 ^a	301 ^a
7	木犀草素-7-O-葡萄糖苷	37.530	2.14	447 ^c	285	447 ^c	285 ^c
8	槲皮素戊糖苷	38.477	1.14	433 ^a	-	433 ^a	-
9	3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸	40.043	0.79	515 ^d	353,191,173	515 ^d	353,191,173,135 ^d
10	咖啡酸衍生物	49.641	0.41	357 ^a	179	357 ^a	179 ^a

注: “-”表示未见报道; a参考Chen等^[31]; b参考Huang等^[33]; c参考Schütz等^[34]; d参考Dias等^[35]。

3 结论

本研究以感官评价为标准,确定最佳的提取工艺为:料液比1:30,浸提温度80℃,浸提时间30 min;

通过响应面确定了蒲公英饮料的最佳配比为：每 100 mL 精滤蒲公英汁含有蜂蜜 1.6 g, 柠檬酸 0.03 g, 甜菊糖苷 0.04 g, 感官品质评分为 92.51, 在此工艺条件下研制的饮料感官品质最佳。以该工艺制备的蒲公英饮料的 pH 值为 4.4, 还原糖为 8.16 g/L, 蛋白质为 10.4 mg/L。氨基酸分析表明蒲公英饮料中共含有 17 种游离氨基酸, 其中有 4 种必需氨基酸, 分别为缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸。蒲公英饮料中已知的活性成分共有 10 种, 包含酚酸、类黄酮两大类, 其中酚酸有 5 种分别为咖啡酸、羟基肉桂酸衍生物、咖啡酰二羟基苯基乳酸酒石酸、3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸和咖啡酸衍生物; 类黄酮有 5 种分别为槲皮素二糖苷、槲皮素-戊糖苷-己糖苷、槲皮素糖苷、木犀草素-7-O-葡萄糖苷和槲皮素戊糖苷。从检测结果来看, 本研究所制蒲公英饮料营养丰富, 活性物质种类多, 具有一定的保健功能。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知[M]. 北京: 卫法监发[2002]51号
Ministry of Health of the People's Republic of China. Notice of the Ministry of Health on Further Regulating the Management of Raw Materials for Health Foods [M]. Beijing: Weifa Jianfa [2002] No. 51
- [2] Demin G. Analysis of nutritional components of *Taraxacum mongolicum* and its antibacterial activity [J]. Pharmacognosy Journal, 2010, 2(12): 502-505
- [3] 王长文, 马洪波, 谢思澜. 4 种山野菜中粗纤维和矿物质的含量测定[J]. 吉林医药学院学报, 2011, 32(6): 336-338
WANG Chang-wen, MA Hong-bo, XIE Si-lan. The determination of crude fiber and mineral content in four kinds of wild vegetables [J]. Journal of Jilin Medical College, 2011, 32(6): 336-338
- [4] Kenny O, Brunton N P, Walsh D, et al. Characterisation of antimicrobial extracts from dandelion root (*Taraxacum officinale*) using LC-SPE-NMR [J]. Phytotherapy Research, 2015, 29(4): 526-532
- [5] Wang S S, Wang Y, Liu X Y, et al. Anti-inflammatory and anti-arthritis effects of taraxasterol on adjuvant-induced arthritis in rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2016, 187(13): 42-48
- [6] Moon S J, Shin S S, Son C H, et al. Protective effects of dandelion extract against liver damage by repeated administration of thioacetamide in rats [J]. Korean Journal of Veterinary Service, 2017, 20(2): 107-117
- [7] Hu G, Wang J J, Hong D, et al. Effects of aqueous extracts of *Taraxacum officinale* on expression of tumor necrosis factor-alpha and intracellular adhesion molecule 1 in LPS-stimulated RMMVECs [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2017, 17(1): 38
- [8] Lee S H, Lillehoj H S, Chun H K, et al. In vitro treatment of chicken peripheral blood lymphocytes, macrophages, and tumor cells with extracts of Korean medicinal plants [J]. Nutrition Research, 2007, 27(6): 362-366
- [9] 谭婉燕, 肖蒙. 蒲公英抗肿瘤作用研究进展[J]. 医药导报, 2017, 36(9): 1021-1023
TAN Wan-yan, XIAO Meng. Research progress on anti-tumor effect of dandelion [J]. Herald of Medicine, 2017, 36(9): 1021-1023
- [10] Seo B Y, Song Y S. Anti-oxidative and anti-inflammatory effect of ethanol precipitate of dandelion (*Taraxacum officinale*) in LPS stimulated SD rats [J]. The FASEB Journal, 2013, 27: 862
- [11] Kim J J, Park C M, Kim M J, et al. Hypolipidemic effect of dandelion (*Taraxacum officinale*) extracts via fecal lipid excretion in C57BL/6 mice fed an atherogenic diet [J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(3): 841-847
- [12] 隋洪玉, 王毅, 栗海艳, 等. 蒲公英总黄酮提取液对衰老模型小鼠脑组织的抗氧化作用[J]. 中成药, 2009, 31(8): 1289-1290
SUI Hong-yu, WANG Yi, LI Hai-yan, et al. Antioxidant effect of total flavonoid extract of dandelion on brain tissue of aging model mice [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2009, 31(8): 1289-1290
- [13] 梁引库. 巨大型蒲公英绿原酸的分离纯化及其抑菌实验研究[J]. 食品科技, 2013, 38(6): 227-230
LIANG Yin-ku. Purifying and bacteriostatic action of the chlorogenic acid of huge dandelion [J]. Food Science and Technology, 2013, 38(6): 227-230
- [14] 贾琳斐, 杨颖, 李清宇, 等. 蒲公英糖蛋白体内外抗氧化作用研究[J]. 西北植物学报, 2012, 32(12): 2486-2491
JIA Lin-fei, YANG Ying, LI Qing-yu, et al. Antioxidant effect of glycoprotein from *Taraxacum mongolicum* in vitro and in vivo [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica, 2012, 32(12): 2486-2491
- [15] 段红波, 梁引库. 蒲公英多酚的提取及其活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2017, 27(3): 80-86
DUANG Hong-bo, LIANG Yin-ku. Extraction and antioxidant and antibacterial activity of dandelion polyphenols [J]. China Food Additives, 2017, 27(3): 80-86
- [16] 梁引库. 巨大型蒲公英根脂溶性成分的抗氧化活性及抑菌

- 实验研究[J].食品工业科技,2013,34(12):153-156
- LIANG Yin-ku. Analysis, antioxidant activity and bacteriostasis research of dandelion liposoluble constituents [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(12): 153-156
- [17] 蒙旭.乙酰蒲公英萜醇影响 HepG2 细胞增殖、凋亡及迁移的实验研究[D].昆明:昆明医科大学,2016:22-29
- MENG Xu. Experimental study on the effect of Taraxeryl acetate on proliferation, apoptosis and migration of HepG2 cell [D]. Kunming: Kunmin Medical University, 2016: 22-29
- [18] Niu H, Fan J W, Wang G P, et al. Anti-tumor effect of polysaccharides isolated from *Ttaraxacum mongolicum* hand-mazz on MCF-7 human breast cancer cells [J]. Trop J Pharm Res, 2017,16(1):83-89
- [19] 史栋栋.蒲公英代谢物的抗乳腺癌细胞 MCF-7 活性成分及其作用机理研究[D].上海:上海交通大学,2013:23-47
- SHI Dong-dong. The discovery of bioactive ingredients of dandelion and the exploring of their mechanism treated on breast cancer cells MCF-7 [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2013: 23-27
- [20] 段红波,宦臣臣,梁引库,等.蒲公英叶脂溶性成分的 GC-MS 分析及其活性探讨[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(1):60-66
- DUAN Hong-bo, HUAN Chen-chen, LIANG Yin-ku, et al. GC-MS analysis and activity research of liposoluble constituents from *Taraxacum mongolicum* leaves [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2018, 24(1): 60-66
- [21] Seung M O, Ha R K, Yong J P, et al. Ethanolic extract of dandelion (*Taraxacum mongolicum*) induces estrogenic activity in MCF-7 cells and immature rats [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2015, 13(11): 808-814
- [22] Qian L, Zhou Y, Teng Z L, et al. Preparation and antibacterial activity of oligosaccharides derived from dandelion [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 64(3): 392-394
- [23] He W, Han H M, Wang W, et al. Anti-influenza virus effect of aqueous extracts from dandelion [J]. Virology Journal, 2011, 8(1): 1-11
- [24] 田维毅,张智伟,蔡琨,等.蒲公英含药血清对巨噬细胞功能干预作用的初步研究[J].中华中医药杂志,2014,29(5):1604-1607
- TIAN Wei-yi, ZHANG Zhi-wei, CAI Kun, et al. Preliminary study on the effects of dandelion-containing serum on macrophages [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2014, 29(5): 1604-1607
- [25] 许飞虎,王经健.山药-玉竹-红景天复合运动饮料研制及其抗疲劳功能研究[J].粮食与油脂,2018,31(11):67-72
- XU Fei-hu, WANG Jing-jian. Study on production of yam-polygonatum odoratum-rhodiola composite sports drinks and its anti-fatigue function [J]. Cereals & Oils, 2018, 31(11): 67-72
- [26] 孙悦,张晨,林冰,等.罗汉果、金银花、菊花复合饮料的研制[J].食品工业,2018,39(8):48-51
- SUN Yue, ZHANG Chen, LIN Bing, et al. Development of *Siraitia grosvenorii*, *Lonicera japonica* and *Chrysanthemum morifolium* compound beverage [J]. The Food Industry, 2018, 39(8): 48-51
- [27] GB 5009.237-2016 食品安全国家标准食品 pH 值的测定[S]
- GB 5009.237-2016 National Food Safety Standards Determination of Food pH [S]
- [28] GB 5009.7-2016 食品安全国家标准食品中还原糖的测定[S]
- GB 5009.7-2016 National Food Safety Standard Determination of Reducing Sugar in Foods [S]
- [29] GB 5009.5-2016 食品安全国家标准食品中蛋白质的测定[S]
- GB 5009.5-2016 National Food Safety Standards for the Determination of Proteins in Foods [S]
- [30] 赵东升,马晓丽,李新霞,等.柱前衍生-高效液相色谱法同时测定可食用葱属植物中 18 种游离氨基酸含量[J].药物分析杂志,2013,33(6):963-968
- ZHAO Dong-sheng, MA Xiao-li, LI Xin-xia, et al. Determination of 18 kinds of free amino acids in edible and medicinal allium using pre-column derivatization HPLC [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2013, 33(6): 963-968
- [31] Chen H J, Inbaraj B S, Chen B H. Determination of phenolic acids and flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with a post-column derivatization technique [J]. International Journal Molecular Sciences, 2012, 13(1): 260-285
- [32] Muralidhar R V, Chirumamila R R, Marchant R, et al. A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindracea* using two different carbon sources [J]. Biochemical Engineering Journal, 2001, 9(1): 17-23

(下转第 276 页)