

# 油莎草总黄酮的动态高压微射流辅助提取及其在曲奇饼干中的应用

郭改<sup>1</sup>, 菅田田<sup>1</sup>, 齐蕊<sup>1</sup>, 屈磊<sup>1</sup>, 马学明<sup>1</sup>, 热迪力·阿布拉<sup>2</sup>, 敬思群<sup>1</sup>

(1. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆乌鲁木齐 830046)

(2. 新疆阿尔曼清真食品工业集团有限公司, 新疆乌鲁木齐 830046)

**摘要:** 以总黄酮得率及 DPPH 清除率为考察指标, 通过单因素及正交试验得到动态高压微射流辅助提取油莎草总黄酮的最优提取工艺, 采用紫外与红外光谱和高效液相色谱-质谱联用法 (LC-MS) 分析了动态高压微射流辅助提取对油莎草总黄酮结构和组成的影响, 同时以过氧化值、酸价为指标, 考察了油莎草总黄酮对曲奇饼干贮藏性的影响。结果表明, 最优提取工艺为: 微射流处理压力 120 MPa, 提取温度 80 °C, 乙醇浓度 80%, 提取时间 90 min, 总黄酮提取得率为 1.46%, 对 DPPH 自由基的清除能力 IC<sub>50</sub> 值为 0.17±0.02 mg/mL, 动态高压微射流辅助提取提高了总黄酮的得率和抗氧化性, LC-MS 分析表明动态高压微射流技术未改变总黄酮的组成, 但有些组分比例发生了变化。通过测定曲奇饼干的过氧化值和酸价值得出油莎草总黄酮可以作为天然抗氧化剂用于制作曲奇饼干。

**关键词:** 油莎草总黄酮; 动态超高压微射流; 最优工艺; 光谱分析; LC-MS

文章编号: 1673-9078(2017)3-184-190

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.3.028

## Dynamic High-pressure Microfluidization-assisted Method for Extraction of Total Flavonoids from *Cyperus esculentus* L. Leaves and Application in Cookies

GUO Gai<sup>1</sup>, JIAN Tian-tian<sup>1</sup>, QI Rui<sup>1</sup>, QU Lei<sup>1</sup>, MA Xue-ming<sup>1</sup>, REDILI·ABULA<sup>2</sup>, JING Si-qun<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

(2. Xinjiang ARMAN Halal Food Industry Group Co., Ltd, Urumqi 830046, China)

**Abstract:** The optimum conditions for extraction of flavonoids from *Cyperus esculentus* L. (CE L.) leaves by dynamic high-pressure microfluidization-assisted method (DHPM) was determined through single factor and orthogonal experiments. The yield of flavonoids and the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging rate were used as indices. The effect of DHPM on the structure and composition of total flavonoids from CE L. leaves was preliminarily analyzed by ultraviolet-visible and infrared spectral analyses and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). At the same time, peroxide value (POV) and acid value (AV) were used as indicators to investigate the effect of total flavonoids from CE L. leaves on the storability of cookies. The results showed the following conditions of DHPM as optimum: microfluidization pressure=120 MPa; extraction temperature=80 °C; ethanol concentration=80%; extraction time=90 min. Under these optimal extraction conditions, the yield of flavonoids was 1.46% and the half-maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) value for DPPH scavenging activity was 0.17±0.02 mg/mL. The DHPM-assisted extraction enhanced the yield and antioxidant activities of total flavonoids from CE L. leaves. The results of LC-MS analysis indicated that the treatment of DHPM did not change the composition of total flavonoids from CE L. leaves; however, the ratio of some constituents were altered. The results of POV and AV showed that total flavonoids from CE L. leaves could serve as natural antioxidants for cookie production.

**Key words:** flavonoids from *Cyperus esculentus* L. leaves; dynamic high-pressure microfluidization optimized process; spectral analysis; liquid chromatography-mass spectrometry

油莎草(*Cyperus esculentus* L.)又称油莎豆, 是莎草

收稿日期: 2016-03-18

基金项目: 国家自然科学基金-新疆联合基金项目 (U1303103)

通讯作者: 敬思群 (1966-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学

科单子叶草本植物, 可作油料和优良牧草用<sup>[1]</sup>。于 1952 年从苏联引进, 现有 20 多个省、市和自治区种植, 黑龙江、北京、河北、湖南、山东和四川等地均有引种。油莎草块茎含油量 27%左右, 是重要的油料作物, 而

油莎草地上茎叶部分常被用作饲料, 没有得到高效利用。《名医别录》里记载, 油莎草的茎叶有主治行气开郁、祛风止痒、宽胸利痰、主胸闷不舒、风疹瘙痒和痛伴随肿毒等功能。我们对油莎草地上茎叶进行了系统实验, 结果表明油莎草地上茎叶中含有黄酮类化合物。前人研究黄酮类化合物具有清除自由基、抗肿瘤、抗炎、降低血脂和降胆固醇等多种药理作用, 对人类疾病治疗具有很大辅助作用<sup>[2-5]</sup>。人工合成抗氧化剂虽然抗氧化效果显著, 但是具有较强毒副作用, 越来越多国家已经开始禁止使用合成抗氧化剂, 天然和无副作用的抗氧化剂的开发已成为研究热点。

动态高压微射流(DHPM)是一种特殊形式的高压均质技术, 它利用高压使液体物料高速流过狭窄的缝隙时受到强大的剪切力、撞击力以及空穴爆炸力等综合作用, 使细胞破碎, 促进细胞内容物溢出, 从而提高有效成分的提取率的过程<sup>[6]</sup>。目前DHPM主要被应用在灭菌<sup>[7]</sup>, 多糖<sup>[8]</sup>和黄酮<sup>[6]</sup>等生物活性分子提取优化以及大分子改性<sup>[9,10]</sup>等方面。实验以油莎草地上茎叶为原料, 采用DHPM辅助提取油莎草总黄酮, 同时研究了DHPM对油莎草总黄酮提取率及抗氧化活性的影响, 并与人工合成抗氧化剂特丁基对苯二酚(TBHQ)做参照, 评价了油莎草总黄酮对曲奇饼干贮藏性的影响。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与amp;仪器

油莎草, 本实验室自己种植; 芦丁标准品, 上海源叶生物技术有限公司; TBHQ为分析纯, 上海源叶生物技术有限公司; 无水乙醇、石油醚、亚硝酸钠、硝酸铝和氢氧化钠等均为分析纯; 去离子水(实验室自制); 面粉, 由新疆天山面粉有限责任公司提供; 泡打粉, 桂林兴安金星食品化工厂。

722S型分光光度计, 购自上海安亭科学仪器厂; M-700型微射流均质机, 美国Microfluidics公司; GYB50-6S高压均质机, 上海华东高压均质机厂; λ-17紫外-可见光谱仪, 美国PE公司; PARGON 1000型FT-IR傅立叶变换红外光谱仪, 上海力晶科技有限公司; AL104分析天平, 购自Mettler-Toledo Group; XYF-3E远红外线食品烤炉, 广州红菱电热设备有限公司; 高效液相色谱仪, 美国Waters公司; Waters四级杆飞行时间质谱仪, 上海基泰分析技术有限公司

### 1.2 芦丁标准曲线的绘制及回归方程

按朱笃等方法<sup>[11]</sup>, 得到线性回归方程为

$A=8.9062C+0.0351$ , 线性相关系数  $r=0.9997$ , 在  $0.0095\sim 0.0478$  mg/mL 范围内呈良好的线性关系。

### 1.3 油莎草总黄酮提取工艺流程

传统回流提取法: 将油莎草粉碎过40目筛, 油莎草粉经石油醚脱脂后50℃烘干, 将烘干后的油莎草粉加入乙醇浸泡过夜, 回流提取, 通过离心(3500 r/min, 15 min)分离得到滤液, 然后进行旋蒸, 定容, 测定吸光度值, 进而计算出得率。

动态高压微射流辅助提取法: 将油莎草粉碎过100目筛, 经石油醚脱脂后50℃烘干, 将烘干后的油莎草粉加入乙醇浸泡过夜, 30 MPa均质2次, 然后微射流处理2次, 乙醇回流提取2次, 通过离心(3500 r/min, 15 min)分离得到滤液, 然后进行旋蒸、定容和测定吸光度值, 进而计算出得率。

### 1.4 油莎草总黄酮得率的计算

取样液5.0 mL于25 mL具塞比色管中按照1.2测定吸光度, 计算出提取液中总黄酮得率E。计算公式如下:

$$E(\%) = \frac{C \times V_1 \times V_2}{m \times V_0} \times 100\%$$

式中, E为油莎草总黄酮得率(%); C为经回归方程计算得出的总黄酮浓度, mg/mL; m为样品质量(g);  $V_1$ 为提取液总体积(mL);  $V_2$ 为测定吸光度时样液定容后的体积(mL);  $V_0$ 为吸取样液的体积(mL)。

### 1.5 清除DPPH·自由基活性的测定<sup>[12]</sup>

在比色管中加入样品溶液2 mL, 再加入2 mL浓度为 $2 \times 10^{-4}$  mol/L DPPH·乙醇溶液, 混匀后避光反应30 min作为样品组; 空白组以等体积无水乙醇代替DPPH·溶液, 对照组以等体积的蒸馏水代替黄酮溶液; 以等体积蒸馏水和无水乙醇混合液作空白调零, 在517 nm处分别测定 $A_1$ 、 $A_2$ 和 $A_0$ 。

$$\text{清除率}\% = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$$

式中 $A_0$ 为样品组吸光度值;  $A_1$ 为空白组吸光度值;  $A_2$ 为对照组吸光度值。

### 1.6 油莎草总黄酮的紫外光谱分析

取一定量的油莎草总黄酮配置成0.01 mg/mL溶液, 在紫外可见光谱仪中于200~900 nm进行扫描。

### 1.7 薄层层析分析

吸取样液各10 μL, 点于一硅胶G板上, 以乙酸乙酯:丙酮:水=6:4:1和2滴甲酸下层液为展开剂, 展

开,取出,晾干,喷洒 1% FeCl<sub>3</sub> 乙醇溶液,显色)。

## 1.8 油莎草总黄酮的高效液相色谱-质谱联用

### (LC-MS) 分析<sup>[13]</sup>

通过 LC-MS 分析动态高压微射流技术对总黄酮组分的影响。样品用色谱纯甲醇溶解待用。

液相色谱条件: 色谱柱: CSH C18 2.1×100 mm, 1.7 μm 粒径; 流动相, A: 乙腈、B: 0.1%甲酸; 柱温 45 °C; 进样量 1 μL; 流速 0.3 mL/min; 检测波长 320 nm; 进样量为 1 μL, 洗脱梯度如表 1。

质谱条件: 电喷雾离子化源 (ESI), 毛细管电压为 3.0 kV, 锥孔电压为 30 V, 正离子检测, 离子源温度 100 °C, 质量范围 *m/z* (质荷比) 为 50~1500。

表 1 梯度洗脱条件

Time/min	A/%	B/%	Flow/(mL/min)
0	5	95	0.3
20	60	40	0.3
25	100	0	0.3
26	5	95	0.3
30	5	95	0.3

## 1.9 曲奇饼干工艺加工流程

鸡蛋和白砂糖→打擦起泡→加入黄油、总黄酮/TBHQ、泡打粉和面粉搅拌→成型→烘烤。

操作要点: (1) 将鸡蛋和白砂糖按量加入搅拌机快速打搅成乳白色的泡沫体; 徐徐加入黄油和油莎草总黄酮或者 TBHQ, 同时快速搅拌; 加入面粉和泡打粉慢慢搅拌, 鸡蛋用裱花袋和裱花嘴成型; 烘焙的温度为 160~200 °C, 时间为 15 min; (2) 曲奇饼干配方<sup>[14]</sup>: 34.46%面粉、34.46%黄油、17.23%白砂糖、13.78%鸡蛋和 0.07%泡打粉, TBHQ 添加量最高为 0.2 g/kg(以黄油计); 油莎草总黄酮添加量为 0.6 g/kg(以黄油计)。TBHQ 添加量参照国标 GB 2760-2014 确定。

## 1.10 油莎草总黄酮对曲奇饼干贮藏性的影响

将 1.9 中制备的曲奇饼干存放在阴凉干燥室内, 先后在贮藏第 7、14、21 和 28 d 分析过氧化值和酸价, 观察油莎草总黄酮对曲奇饼干贮藏性的影响。过氧化值按照 GB/T 5538-2005 动植物油脂过氧化值测定。酸价按照 GB/T 5530-2005 动植物油脂酸值和酸度测定。

## 1.11 数据统计分析

实验数据采用 Graphpad Prism 5.0 统计软件进行

分析,并以  $\bar{x}\pm S$  表示。采用 SPSS 19.0 通过  $\chi^2$  检验对数据进行差异显著性分析,  $p<0.05$  具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 乙醇浓度对总黄酮得率及抗氧化性的影响

称 1.000 g 油莎草粉, 石油醚脱脂至无色并烘干, 脱脂后的油莎草粉以料液比 1:40, 配置 40%、50%、60%、70%、80%和 90%乙醇浓度放置于 4 °C 冰箱中静置过夜, 经 30 MPa, 均质 2 次后, 在微射流压力 100 MPa 下处理 2 次, 70 °C 水浴提取 90 min, 提取 2 次, 离心合并滤液后测吸光度值, 计算得率; 计算 DPPH·清除率。

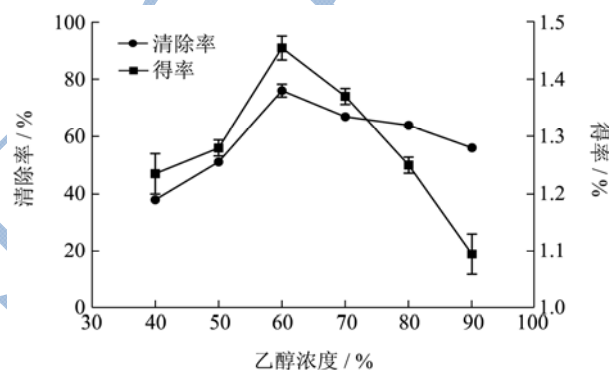


图 1 乙醇浓度对得率及 DPPH·清除率的影响

Fig.1 Effect of ethanol concentration on the yield and DPPH clearance

由图 1 可知, 油莎草总黄酮得率和 DPPH·清除率随着乙醇浓度的上升而增大, 并且在 60%时达到最大值, 此条件下得率为  $1.46\pm 0.02\%$ , 清除率为  $76.05\pm 2.26\%$ 随着浓度的继续上升, 部分脂溶性杂质溶出影响黄酮类物质的溶出, 出现吸光度和 DPPH·清除率下降。因此, 选择 60%的乙醇作为溶剂。

### 2.2 提取温度对总黄酮得率及抗氧化性的影响

称 1.000 g 油莎草粉, 石油醚脱脂至无色并烘干, 脱脂后油莎草粉以料液比 1:40, 配置 60%乙醇浓度放置 4 °C 冰箱中静置过夜, 经 30 MPa 均质 2 次后, 在微射流压力 100 MPa 下处理 2 次, 40 °C、50 °C、60 °C、70 °C、80 °C 和 90 °C 水浴提取 90 min, 其他同 2.1。

由图 2 可知, 在提取温度 40~70 °C 范围内, 得率及 DPPH·清除率均呈现增长趋势, 在 70 °C 时达到最大值, 此条件下的得率为  $1.31\pm 0.04\%$ , DPPH·的清除



率高达 93.00±2.73%，随着浓度进一步的增加，得率及 DPPH·清除率均呈下降趋势，其原因可能是油莎草总黄酮中的某些活性成分被氧化分解。因此，选择 70 °C 提取为最佳。

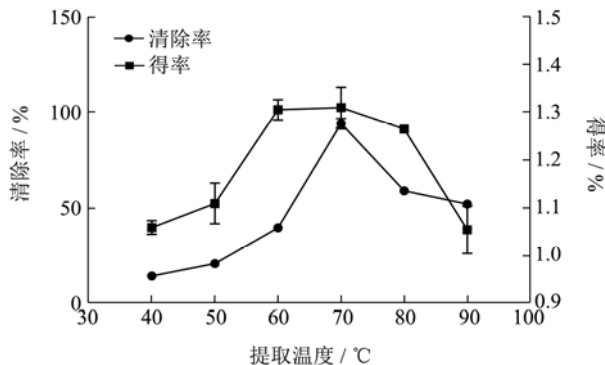


图 2 提取温度对得率及 DPPH·清除率的影响

Fig.2 Effect of extraction temperature on the yield and DPPH clearance

### 2.3 提取时间对总黄酮得率及抗氧化性的影响

称 1.00 g 油莎草粉，石油醚脱脂至无色并烘干，脱脂后的油莎草粉以料液比 1:40，配置 60%乙醇浓度放置于 4 °C 冰箱中静置过夜，经 30 MPa 均质 2 次后，在微射流压力 100 MPa 下处理 2 次，70 °C 水浴提取 30、60、90、120 和 150 min，其他同 2.1。

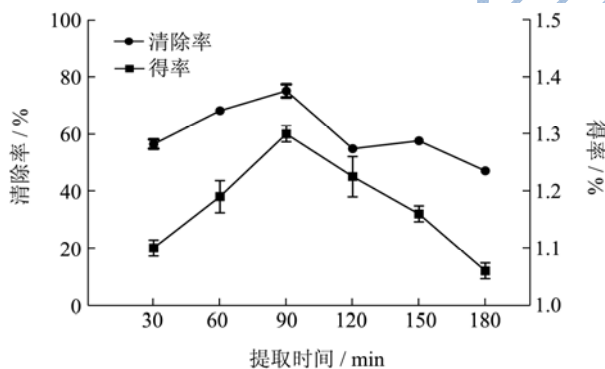


图 3 提取时间对得率及 DPPH·清除率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the yield and DPPH clearance

由图 3 可知，在提取时间 30~90min 内，得率及 DPPH·清除率均呈现增长趋势，在 90 min 时达到最大，此条件下的得率为 1.30±0.01%，其 DPPH·清除率达到 75.13±2.32%，随着进一步的增加，得率及 DPPH·清除率均呈下降趋势，因此选择 90 min 提取为最佳。

### 2.4 微射流压力对总黄酮得率及抗氧化性的影响

称 1.00 g 油莎草粉，石油醚脱脂至无色并烘干，脱脂后的油莎草粉以料液比 1:40，配置 60%乙醇浓度放置于 4 °C 冰箱中静置过夜，经 30 MPa，均质 2 次后，在微射流压力分别 60 MPa、80 MPa、100 MPa、120 MPa、140 MPa 和 160 MPa 下处理 2 次，70 °C 水浴提取 90 min，其他同 2.1。

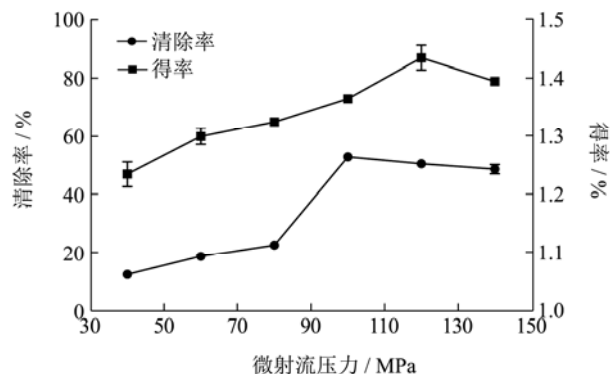


图 4 微射流压力对得率及 DPPH·清除率的影响

Fig.4 Effect of pressure on the yield and DPPH clearance

由图 4 可知，随着压力的增大，得率及 DPPH·清除率均呈现增长趋势，在 100~120 MPa 内，清除率有明显的上升，当压力为 120 MPa 时，此时的得率和 DPPH·清除率分别为 1.43±0.02% 和 50.58±0.72%。随着压力进一步的增大，得率及 DPPH·清除率都趋于平缓，其原因可能是微射流压力越大细胞破碎程度越高，从而导致黄酮类物质更完全的溶出。因此，考虑到仪器的承受负荷，选择 120 MPa 为最佳。

### 2.5 正交优化油莎草总黄酮提取工艺条件

以微射流压力、提取温度、乙醇浓度和提取时间为自变量设计四因素三水平  $L_9(3^4)$  正交实验优化油莎草总黄酮提取工艺条件。

由表 1 可知，对油莎草总黄酮得率影响的主次顺序为：B(提取温度)>A(微射流压力)>C(乙醇浓度)>D(提取时间)。提取条件的最优组合为  $A_2B_3C_3D_2$ ，即微射流压力为 120 MPa，乙醇体积分数 80%，提取温度 80 °C，提取时间 90 min。

由表 2 方差分析结果表明，提取温度对油莎草总黄酮得率的影响显著。验证试验得总黄酮得率为 1.46%，RSD 为 0.395%，表明此工艺条件具有较好的重复性。而传统回流提取提取率为 0.64%。抗氧化试验结果表明动态高压微射流辅助提取所得油莎草总黄酮对 DPPH·自由基清除能力的  $IC_{50}$  值为 0.17±0.02 mg/mL，而传统回流提取  $IC_{50}$  值为 0.48±0.05 mg/mL。因此，动态高压微射流辅助提取提高了总黄酮提取率，进而提高了提取液的抗氧化能力。

表1 正交试验结果

Table 1 Results from orthogonal experiments

序号	A微射流压力/MPa	B提取温度/°C	C乙醇浓度/%	D提取时间/min	得率/%
1	1 (100)	1 (60)	1 (60)	1 (60)	1.07
2	1	2 (70)	2 (70)	2 (90)	1.30
3	1	3 (80)	3 (80)	3 (120)	1.37
4	2 (120)	1	2	3	1.26
5	2	2	3	1	1.40
6	2	3	1	2	1.45
7	3 (140)	1	3	2	1.17
8	3	2	1	3	1.21
9	3	3	2	1	1.31
K <sub>1</sub>	1.247	1.167	1.243	1.260	
K <sub>2</sub>	1.370	1.303	1.290	1.307	
K <sub>3</sub>	1.230	1.377	1.313	1.280	
R	0.140	0.210	0.070	0.047	

表2 正交试验方差分析

Table 2 Variance analysis of orthogonal experiments

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A 微射流压力	0.035	2	11.667	19.000	
B 提取温度	0.068	2	22.667	19.000	*
C 乙醇浓度	0.008	2	2.667	19.000	
D 提取时间	0.003	2	1.000	19.000	

注: \* $p < 0.05$ , 差异显著; \*\* $p < 0.01$ , 差异极显著。

## 2.6 动态高压微射流辅助提取对油莎草总黄酮

### 酮结构特征的影响

#### 2.6.1 紫外光谱分析

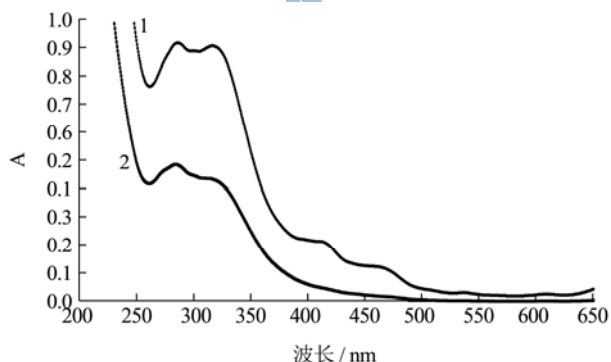


图5 油莎草总黄酮紫外光谱图

Fig.5 Ultraviolet spectra of total flavonoids from CE L. leaves

注: 1 表示动态超高压微射流辅助提取法; 2 表示传统回流提取法。

黄酮类化合物具有 C6-C3-C6 基本结构, 这一结构特点使大多数黄酮类化合物紫外光谱有两个主要吸

收峰, 其中之一出现在 240~280 nm 范围内(带 II), 另一个在 300~350 nm 范围内(带 I)。一般说来带 II 吸收可以认为由 A-环苯酰系统引起, 而带 I 则是由 B-环肉桂酰系统引起<sup>[15]</sup>。从图 5 看出, 传统回流提取法和动态超高压微射流辅助提取法提取的油莎草总黄酮有相似的紫外光谱图, 这一图谱特征说明了动态超高压微射流技术对油莎草总黄酮特征结构无显著影响。

#### 2.6.2 薄层色谱分析



图6 油莎草总黄酮薄层色谱图

Fig.6 Thin-layer chromatographic patterns of the total flavonoids from CE L. Leaves

注: A 为传统回流法提取; B 为动态高压微射流辅助提取。

由图 6 可知, A 和 B 样品都有 2 个清晰的斑点, A 点对应的  $Rf_1=0.49$ ,  $Rf_2=0.24$ ; B 点对应的  $Rf_1=0.47$ ,  $Rf_2=0.23$ , 相应  $Rf$  值差别很小, 由此可判断, 两种方法提取得到的油莎草地上茎叶黄酮成分基本一致, 至少含有 2 种黄酮类成分。

## 2.7 动态高压微射流辅助提取对油莎草总黄

酮组分的影响

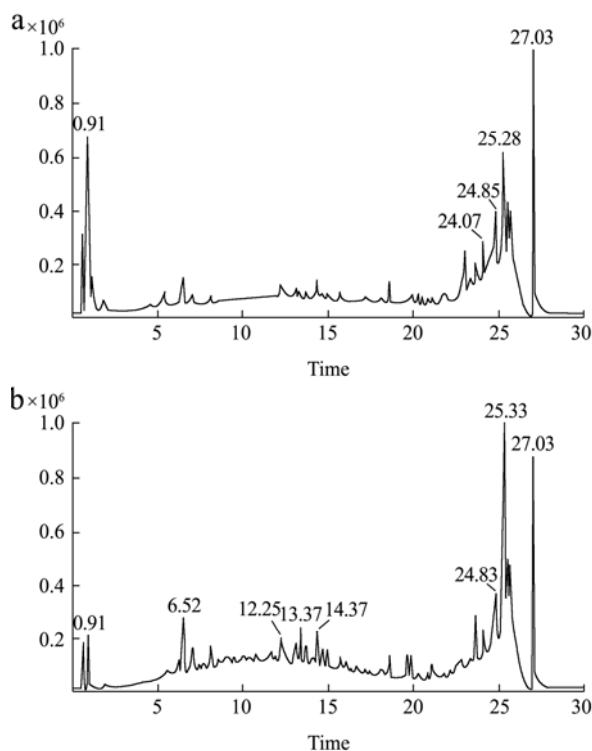


图7 油莎草叶子总黄酮正离子源总离子流谱图

Fig.7 (+)TIC in positive ion mode of the flavonoids from CE L. leaves

注: a 代表动态超高压微射流辅助提取; b 代表传统回流提取。

由图 7a 和 7b 可知, 动态超高压微射流辅助提取与传统回流提取得到的提取液在黄酮主要峰的位置均出现明显峰, 24.85 min、25.28 min 和 27.03 min 对应的峰是黄酮的主要峰, 得出动态超高压微射流辅助提取和传统回流提取两种方法制得的油莎草总黄酮的组成相似, 但是采用动态高压微射流技术后使得总黄酮组分的比例发生了变化, 这就是动态高压微射流辅助提取会导致总黄酮抗氧化活性的变化的原因。对于油莎草总黄酮成分组成有待于进一步的研究。

2.8 油莎草总黄酮对曲奇饼干贮藏性的影响

2.8.1 油莎草总黄酮对曲奇饼干过氧化值 (POV) 的影响

油脂的氧化最先形成过氧化物, 所以 POV 常用于衡量油脂的氧化程度<sup>[16]</sup>。

实验结果显示 (图 8), 不同处理组的 POV 值存在较大差异, 添加 TBHQ 和油莎草总黄酮的样品氧化速率较缓慢。处理 21 d 后, 不同添加量 (从高剂量到低剂量) 的油莎草总黄酮和添加 TBHQ 的实验组的 POV 值分别是对照组的 92.54%、78.31%、76.53%、

64.51% 和 71.19% 倍, 可以看出, 油莎草总黄酮添加量越高, POV 值越低, 具有剂量依赖性。当油莎草总黄酮添加量为 0.8 g/kg 时, 其抗氧化效果与 0.2 g/kg 的 TBHQ (参照 GB 2760-2011) 无显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

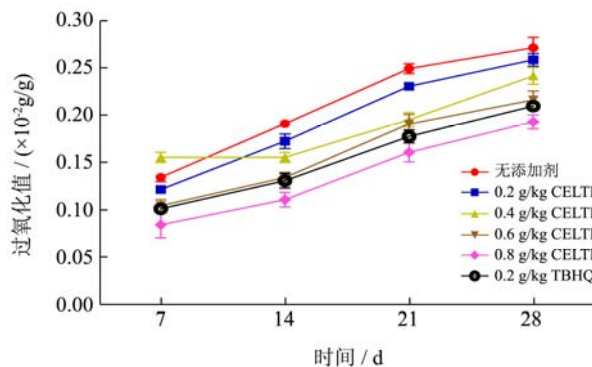


图8 不同浓度黄酮和 TBHQ 对过氧化值的影响

Fig.8 Effects of CELTF and TBHQ concentrations on the peroxide value

注: CELTF 表示油莎草总黄酮; TBHQ 表示特丁基对苯二酚。

2.8.2 油莎草总黄酮对曲奇饼干酸价 (AV) 的影响

油脂形成的过氧化物进一步分解会产生小分子的醛、酮和酸等, 进而使油脂酸价 (AV) 升高, 所以酸价在一定程度上也反应了油脂的氧化程度<sup>[16]</sup>。

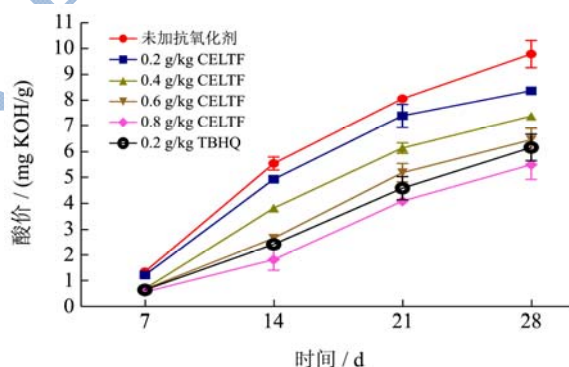


图9 不同浓度的油莎草总黄酮和 TBHQ 对酸价的影响

Fig.9 Effects of CELTF and TBHQ concentrations on the acid value

注: CELTF 表示油莎草总黄酮; TBHQ 表示特丁基对苯二酚。

从图 9 可以看出, 在曲奇饼干存储过程中, 6 种样品的酸价都呈不断上升的趋势, 但不同处理间存在较大差异。处理 21 d 后, 不同添加量的油莎草总黄酮和 TBHQ 分别是对照组的 91.69%、76.16%、64.38%、50.72% 和 56.93%, 可以看出, 油莎草总黄酮添加量越高, AV 值越低。当油莎草总黄酮添加量为 0.6 g/kg 时, 其抗氧化效果与 0.2 g/kg (GB 2760-2011) 的 TBHQ 无显著性差异 ( $p < 0.05$ )。可见, 油莎草总黄酮可作为天然抗



氧化剂应用在曲奇饼干中。综合考虑过氧化值和酸价,油莎草黄酮在曲奇饼干中最低添加量为 0.8 g/kg。

### 3 结论

动态高压微射流辅助油莎草总黄酮的最佳工艺条件为:微射流处理压力 120 MPa,提取温度 80 °C,乙醇浓度 80%,提取时间 90 min,提取得率为 1.46%。对 DPPH·自由基的清除能力 IC<sub>50</sub> 值为 0.17±0.02 mg/mL,而传统回流提取得率为 0.64%,IC<sub>50</sub> 值为 0.48±0.05 mg/mL。动态高压微射流辅助提取提高了总黄酮的得率进而提高了提取液的抗氧化能力。紫外光谱分析结果说明了动态超高压微射流处理对油莎草总黄酮的结构无显著影响,薄层色谱分析结果说明了两种方法提取得到的油莎草地上茎叶黄酮成分基本一致,LC-MS 分析表明动态高压微射流技术未改变总黄酮的组成,但使组分的比例发生了变化。通过分别测定添加油莎草总黄酮和 TBHQ 曲奇饼干的 POV 和 AV 值得出添加 0.8 g/kg 的油莎草总黄酮和添加 0.2 g/kg 的 TBHQ 的抗氧化能力相当,所以油莎草总黄酮可作为天然抗氧化剂应用在曲奇饼干中。

### 参考文献

- [1] Song J, Bang J K, Park H W, et al. Evaluation for quality characteristics of chufa [J]. Korean J. Int. Agric., 2002, 14: 267-274
- [2] 吴志双,王瑞新,周建于,等.水提紫甘薯色素废渣中花色苷及总黄酮生物活性的研究[J].现代食品科技,2015,31(7): 123-182  
WU Zhi-shuang, WANG Rui-xin, ZHOU Jian-yu, et al. Biological activity of anthocyanins and total flavonoids in pigment extraction residue from *Ipomoea batatas* L [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(7): 123-182
- [3] 陈素,吴水才,曾毅,等.龙血竭总黄酮抗炎镇痛作用及其镇痛机制探讨[J].时珍国医国药,2013,5:1030-1032  
CHEN Su, WU Shui-cai, ZENG Yi, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of total flavone extracted from dragon's blood and its analgesic mechanism exploration [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2013, 5: 1030-1032
- [4] 阿依姑丽·艾合麦提,戴小华,张华,等.野山杏总黄酮对高血脂大鼠降血脂及抗氧化作用的研究[J].西北药学杂志,2014,3:258-261  
AYGUL AHMAT, DAI Xiao-hua, ZHANG Hua, et al. Study on the antiatherosclerosis and antioxidant activities of total flavonoids from wild apricot in hyperlipidemic model rats [J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2014, 3: 258-261
- [5] 王先科.苜蓿皂苷调节大鼠胆固醇代谢的机制研究[D].郑州:河南农业大学,2011  
WANG Xian-ke. Studies of alfalfa saponins on cholesterol metabolism of rats [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2011
- [6] 涂宗财,张露,王辉,等.动态高压微射流提取对红薯叶黄酮抗氧化性的影响[J].高压物理学报,2013,27(3):431-438  
TU Zong-cai, ZHANG Lu, WANG Hui, et al. Effects of dynamic high pressure microfluidization (DHPM) extraction on the antioxidation of flavonoids from sweet potato leaves and mechanism studying [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics, 2013, 27(3): 431-438
- [7] 刘成梅,钟业俊,刘伟,等.瞬时高压作用对谷草杆菌的杀灭模型[J].食品科学,2006,27(6):96-99  
LIU Cheng-mei, ZHONG Ye-jun, LIU Wei, et al. Effects of instantaneous high pressure on rsm model of subtilis reductions [J]. Food Science, 2006, 27(6): 96-99
- [8] Xiao-qin Huang, Zong-cai Tu, Ying Jiang, et al. Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and antioxidant activities of lentinan [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(5): 926-932
- [9] Cheng-mei Liu, Rui-hong Liang, Tao-tao Dai, et al. Effect of dynamic high pressure microfluidization modified insoluble dietary fiber on gelatinization and rheology of rice starch [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 57: 55-61
- [10] Xiao-qin Huang, Zong-cai Tu, Hui Xiao, et al. Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and antioxidant activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves flavonoid [J]. Food and Bioproducts Processing, 2013, 91(1): 1-6
- [11] 朱笃,陈飞彪,夏剑辉,等.金鸡菊总黄酮的提取及含量测定[J].食品科学,2005,26(9):314-317  
ZHU Du, CHEN Fei-biao, XIA Jian-hui, et al. Extraction and determination of flavonoids in flowers of *coropsisbasalis* [J]. Food Science, 2005, 26(9): 314-317
- [12] Yi Z B, Yu Y, Liang Y Z, et al. *In vitro* antioxidant and activities of pericarpium citri reticulatae of a new citrus cultivar and its main flavonoids [J]. Food Sci. Tech., 2008, 41(4): 597-603
- [13] Si-qun Jing, Sai-sai wang, Qian Li, et al. Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and bioactivities of *Cyperus esculentus* (*C. esculentus* L.) leaves flavonoids [J]. Food Chemistry, 2016, 192: 319-327
- [14] 敬思群.食品科学实验技术[M].西安:西安交通大学出版社,2012

- JING Si-qun. Food science and technology experiment [M]. Xi'an: Xi'an Jiaotong University Press, 2012
- [15] 胡华平,韩雅莉,张峰,等.木瓜黄酮的提取及其紫外光谱特征[J].现代食品科技,2008,24(3):250-252  
HU Hua-ping, HAN Ya-li, ZHANG Feng, et al. Extraction of pawpaw flavonoids and its ultraviolet spectrum characteristics [J]. Modern Food Science and Technology, 2008, 24(3): 250-252
- [16] 王璋,许时婴,汤坚.食品化学[M].北京:中国轻工业出版社,2006  
WANG Zhang, XU Shi-ying, TANG Jian. Food chemistry [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2006

现代食品科技