

苜蓿叶粉的体外抗氧化活性及其咀嚼片的制备工艺

来思彤, 崔清亮, 张燕青, 张玉蕾, 刘俊丽, 孙灯

(山西农业大学工学院, 山西太谷 030801)

摘要:为促进苜蓿功能食品的开发,本文比较了不同部位、不同粒度苜蓿粉的抗氧化活性,探究了苜蓿叶粉添加量、矫味剂添加量、压力对咀嚼片硬度和脆碎度的影响。结果表明,苜蓿叶片的抗氧化活性高于茎秆,且上部叶片的抗氧化活性最高。随着粉碎粒度由0.02~0.03 mm减小到0.06~0.08 mm,苜蓿叶的抗氧化活性逐渐提高。当粉碎粒度为0.06~0.08 mm时,苜蓿叶对DPPH自由基、ABTS自由基的清除率分别为50.85%、73.08%,对Fe³⁺的还原力为117.91 μmol/g。苜蓿咀嚼片的最佳工艺参数:苜蓿叶粉、燕麦粉、矫味剂、微晶纤维素、硬脂酸镁的添加量分别为30%、15%、10%、44%、1%,压力为20 kN。在此条件下,咀嚼片的硬度为45.50 N,脆碎度为0.37%,满足相关要求。综上所述,该研究为苜蓿功能食品的开发提供了理论指导。

关键词:苜蓿; 抗氧化活性; 咀嚼片; 工艺参数

文章编号: 1673-9078(2020)04-252-259

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.4.033

In vitro Antioxidant Activity of Alfalfa Leaf Powder and the Processing of Its Chewable Tablets

LAI Si-tong, CUI Qing-liang, ZHANG Yan-qing, ZHANG Yu-lei, LIU Jun-li, SUN Deng

(College of Engineering Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: In order to promote the development of alfalfa functional food, this paper compared the antioxidant activities of different parts and different particle sizes of alfalfa powder, and explored the effects of the addition amount of alfalfa leaves powder, the addition amount of flavoring agent and pressure on the hardness and crispness of chewing tablets. The results showed that the antioxidant activity of alfalfa leaves was higher than that of stem, and the antioxidant activity of upper leaves was the highest. The antioxidant activity of alfalfa leaves increased gradually with the decrease of grinding size from 0.02~0.03 mm to 0.06~0.08 mm. When the particle size was 0.06~0.08 mm, the scavenging rates of DPPH and ABTS were 50.85% and 73.08% respectively, and the reducing power of Fe³⁺ was 117.91 μmol/g. The best processing parameters of alfalfa chewing tablets were: 30%, 15%, 10%, 44%, 1% of alfalfa leaves powder, oatmeal powder, flavoring agent, microcrystalline cellulose and magnesium stearate respectively, and the pressure was 20 kN. Under these conditions, the hardness of chewable tablets was 45.50 N, and the brittleness was 0.37%, which met the relevant requirements. In conclusion, this study provided theoretical guidance for the development of alfalfa functional food.

Key words: alfalfa; antioxidant activity; chewing tablets; process parameters

引文格式:

来思彤,崔清亮,张燕青,等.苜蓿的抗氧化活性及其咀嚼片的制备工艺研究[J].现代食品科技,2020,36(4):252-259

LAI Si-tong, CUI Qing-liang, ZHANG Yan-qing, et al. Research on the antioxidant activity of alfalfa and the processing parameters of its chewable tablets [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 252-259

苜蓿(*Medicago*)是豆科草本植物,种植范围广、产量高、营养丰富,有“牧草之王”的称号^[1]。苜蓿富

收稿日期: 2019-10-27

基金项目: 山西省财政支持农业科技成果转化项目 (SGZZNCGZH201306);

国家重点研发计划项目 (2016YFD0701801)

作者简介: 来思彤 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工新技术与装备

通讯作者: 崔清亮 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工新技术与装备

含膳食纤维、活性蛋白、多酚、黄酮等活性成分,具有抗氧化、吸附有害物质等功能特性,是一种具有保健功能的食物^[2,3]。抗氧化活性物质能够清除人体内多余的自由基,有效预防心血管疾病、糖尿病、肝病、炎症、癌症等^[2-5]。Tao BAO^[6]等对黑苦荞米的抗氧化活性进行了研究,得出黑苦荞米具有良好的抗氧化活性,是一种抗糖尿病的功能食品。许英一、施伟梅^[7,8]等分别对苜蓿多酚、总黄酮的提取工艺及其抗氧化性进行了研究,说明苜蓿具有良好的抗氧化活性,是一

种天然抗氧化植物资源。但目前对苜蓿不同部位、不同粒度苜蓿粉抗氧化活性的研究却未见报道。因此,本试验对不同部位、不同粒度苜蓿粉抗氧化成分的溶出量及抗氧化活性进行比较。

苜蓿具有良好的抗氧化性,但苜蓿类功能食品在市场上却少见。咀嚼片体积小、食用方便、易吸收、便于携带,深受人们的喜爱。以苜蓿为原料,添加合适的辅料,采用全粉末直接压片工艺直接成型,实现连续化生产,将具有广阔的市场前景。目前,汤葆莎^[9]、赖谱富^[10]分别对麦麸膳食纤维、杏鲍菇秋葵咀嚼片的制备工艺进行了优化,但未见苜蓿咀嚼片工艺的相关报道。苜蓿纤维含量高、口感不好、不易成型,赖氨酸是第一限制性氨基酸,因此,选择谷物中赖氨酸含量丰富的燕麦为填充剂,木糖醇和柠檬酸钠为矫味剂,微晶纤维素为粘合剂进行压片^[11-13]。综上,本试验探究苜蓿叶粉添加量、矫味剂添加量、压力对苜蓿咀嚼片硬度和脆碎度的影响,优化苜蓿咀嚼片的制备工艺参数,为苜蓿功能食品的开发提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

苜蓿:采自山西农业大学牧草实践教学基地,品种为金皇后,初花期时留茬约5 cm 采样;燕麦:购于山西省太谷县家家利超市;预糊化淀粉、羟甲基淀粉钠、微晶纤维素、柠檬酸钠、木糖醇,广州嘉业食品配料有限公司。

DPPH、ABTS,美国 sigma 公司;TPTZ,合肥巴斯夫生物科技有限公司;硫酸亚铁标准溶液,广州臻萃质检技术服务有限公司;芦丁标品、没食子酸标品、福林酚,合肥博美生物科技有限公司;抗坏血酸,天津市凯通化学试剂有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器与设备

6202 小型高速万能粉碎机,北京中科浩宇科技发展有限公司;分级筛(0.25、0.20、0.16、0.13、0.08、0.06 mm 的编织方孔筛),浙江上虞市华丰五金有限公司;数显立式油压千斤顶,海盐县光耀机械厂;浅弧圆形冲模(直径为5 mm),华祥制药机械配件厂;物性分析仪 TA.XT plus,英国 Stable Micro System;CJY-300D 片剂脆碎度检测仪,上海黄海药检仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 苜蓿粉、燕麦粉的制备

采样后,以苜蓿底端为起点,在30、60、90 cm 处进行分段,将植株分为下(0~30 cm)、中(30~60 cm)、上(大于60 cm)三段;分别对每段进行茎叶分离,分为上部叶片、上部茎秆、中部叶片、中部茎秆、下部叶片、下部茎秆6个部分;分别对6部分进行冲洗、干燥(55℃)、粉碎、过筛(80目)得6个样品,自封袋内避光保存,用于不同部位苜蓿粉抗氧化成分含量及其抗氧化活性的测定。

上部叶片经冲洗、干燥、粉碎后,依次过0.25、0.20、0.16、0.13、0.08、0.06 mm 方孔编织筛进行分级,分成粉碎粒度不同的苜蓿叶粉,分别记为G1(粒度为0.2~0.25 mm)、G2(粒度为0.16~0.20 mm)、G3(粒度为0.13~0.16 mm)、G4(粒度为0.08~0.13 mm)、G5(粒度为0.06~0.08 mm)共5个样品,自封袋内避光保存,用于不同粒度苜蓿叶粉抗氧化成分的溶出量及其抗氧化活性的测定。

燕麦片经冲洗、沥干水分后,用电磁炉在500 W 条件下炒至金黄色。冷却、粉碎、过筛,取粒度在0.06~0.08 mm 的燕麦粉于自封袋内避光保存,用作咀嚼片的辅料。

1.3.2 抗氧化成分溶出量的测定

多酚参照 Blagoj K^[14]的方法进行测定;总黄酮参照 DB 43/T476-2009 进行测定。

1.3.3 抗氧化活性的测定

苜蓿粉在70%乙醇为提取剂,料液比为1:50,温度为60℃,功率为180 W 的条件下,超声波提取30 min,提取液经离心、稀释后,用于苜蓿粉抗氧化活性的测定^[7]。

1.3.3.1 DPPH·清除率的测定

DPPH·清除率的测定参考文献^[15],略有改动。取稀释后的提取液0.2 mL 于离心管中,加入3.8 mL 0.02 mmol/L 的DPPH·溶液,常温避光反应30 min,波长517 nm 条件下测吸光值为A₁。以70%乙醇溶液代替提取液为空白组,无水乙醇代替DPPH·溶液为对照组,吸光值分别为A₀、A₂。清除率的计算公式如式(1):

$$\text{DPPH·清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

以不同浓度的Vc溶液(10~80 μg/mL)代替提取液,绘制以Vc溶液浓度为横坐标,清除率为纵坐标的标准曲线,计算Vc当量(AEAC)^[16]。

1.3.3.2 ABTS⁺清除率的测定

ABTS⁺清除率的测定参考文献^[17],略有改动。ABTS⁺工作液的制备:取7 mmol/L 的ABTS溶液5 mL 与等量的2.45 mmol/L 的过硫酸钾溶液混合均匀,

避光条件下反映 12~16 h 后, 稀释至波长为 734 nm 处的吸光值为 0.700 ± 0.03 。取稀释后的提取液 0.1 mL 于离心管中, 加入 3.9 mL ABTS⁺工作液, 常温避光反应 15 min, 波长 734 nm 条件下测吸光值为 A_1 。以 70% 乙醇溶液代替提取液为空白组, 水代替 ABTS 工作液为对照组吸光值分别为 A_0 、 A_2 。清除率的计算公式如式 (2):

$$\text{ABTS}^+ \text{清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (2)$$

以不同浓度的 Vc 溶液 (20~140 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 代替提取液, 绘制以 Vc 溶液浓度为横坐标, 清除率为纵坐标的标准曲线, 计算 AEAC^[16]。

1.3.3.3 Fe³⁺还原能力的测定

Fe³⁺还原能力的测定参考文献^[18]的方法, 略有改动。TPTZ 工作液的制备: 20 mmol/L FeCl₃ 溶液、10 mmol/L TPTZ 溶液 (溶剂为 40 mmol/L 的 HCl) 和 300 mmol/L pH=3.6 的 CH₃COONa 的缓冲溶液按 1:1:10 混合, 现配现用。标准曲线的绘制: 分别取 0、25、50、100、150、200 μL 1 mmol/L 的 FeSO₄ 标准溶液分别于 6 个离心管, 加蒸馏水补齐 200 μL , 分别加入 4 mL TPTZ 工作液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 10 min, 593 nm 处测吸光值, 以 FeSO₄ 溶液的浓度为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制标准曲线。取稀释后的提取液 0.2 mL 于离心管中, 加 4 mL TPTZ 工作液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 10 min, 593 nm 处测吸光值。以不同浓度的 Vc 溶液 (30~90 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 代替提取液, 绘制以 Vc 溶液浓度为横坐标, 还原能力为纵坐标的标准曲线, 计算 AEAC^[16]。

1.3.4 咀嚼片制备的工艺流程

原料 (苜蓿叶粉)、辅料 (燕麦粉、矫味剂、微晶纤维素、硬脂酸镁) \rightarrow 混合 \rightarrow 定量填充 (0.30 g) \rightarrow 压片 \rightarrow 测定。

1.3.5 辅料的筛选

1.3.5.1 苜蓿叶粉与燕麦粉配比的确定

比较苜蓿叶粉与燕麦粉按不同配比混合时必需氨基酸的含量、限制性氨基酸的 AAS 以及必需氨基酸的 $\sum(\text{RC}-1)^2$, 确定苜蓿叶粉与燕麦粉的最佳配比^[19-21]。

1.3.5.2 木糖醇和柠檬酸钠配比的确定

按不同配比混合木糖醇和柠檬酸钠后, 添加 50 mL 水, 对其口感进行评价, 确定矫味剂的最佳配比。

1.3.5.3 粘合剂种类的筛选

在苜蓿叶粉、矫味剂、硬脂酸镁添加量为 30%、10%、1%, 压力为 20 kN 的条件下, 比较分别添加 44% 微晶纤维素、羟甲基淀粉钠、预糊化淀粉咀嚼片的硬度和脆碎度, 确定最佳的粘合剂种类。

1.3.6 咀嚼片力学特性指标的测定

1.3.6.1 硬度的测定

用圆柱型平底探头在物性分析仪的压缩程序中进行测定, 测试速度为 0.01 mm/s。

1.3.6.2 脆碎度的测定

按照《中国药典 2015 版》中片剂脆碎度检查法, 采用脆碎度检查仪测定咀嚼片的脆碎度。

1.3.6.3 综合评定值的计算

参考汤葆莎^[9]的方法, 计算综合评定值 Y 为正交试验优化的指标, 其中 Y=硬度数值的 0.1 倍+脆碎度数值倒数的 10 倍。

1.3.7 咀嚼片制备试验

1.3.7.1 单因素试验

在预实验及 1.3.8 试验结果基础上, 分别探究苜蓿叶粉添加量 (24%、27%、30%、33%、36%)、矫味剂添加量 (6%、8%、10%、12%、14%)、压力 (5、10、15、20、25、30 kN) 3 个因素对咀嚼片的硬度及脆碎度的影响。

1.3.7.2 正交试验

在单因素试验基础上, 以苜蓿叶粉、矫味剂、压力为变量, 硬度脆碎度为考察指标, 按照表 1 进行正交试验。

表 1 苜蓿咀嚼片工艺参数优化的正交试验设计

Table 1 Orthogonal test design for optimization of technological parameters of alfalfa chewing tablets

水平	苜蓿叶粉的 添加量/%	矫味剂的 添加量/%	压力/kN
1	27	8	15
2	30	10	20
3	33	12	25

1.3.8 数据处理方法

所有结果平行测定 3 次, Excel 2010 进行数据整理, SAS9.1 进行差异性分析 ($p < 0.05$), Origin 9.0 绘图, 正交设计助手 IIV3.1 对正交数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 苜蓿不同部位抗氧化成分溶出量及抗氧化活性测定结果

由图 1 可以看出, 不同部位苜蓿的总黄酮、多酚含量存在显著性差异, 叶片的总黄酮、多酚含量约是茎秆的 2~4 倍, 且上部叶片的含量最高, 分别为 6.47、12.45 mg/g。这是由于上部叶片光合作用强, 生命活动活跃^[22]。由图 2~4 可以看出, 苜蓿不同部位对 DPPH \cdot 、ABTS⁺的清除能力以及 Fe³⁺还原能力存在显著性差异,

叶片的抗氧化活性高于茎秆，且上部叶片的抗氧化活性最高，对 DPPH·、ABTS⁺ 的清除率分别为 42.17%、68.87%，对 Fe³⁺ 的还原力为 98.18 μmol/g，分别是下部茎秆的 2.80、1.41、2.79 倍。这与上部叶片的多酚、总黄酮含量高的结果相一致。因此，苜蓿上部叶片的抗氧化活性最高。

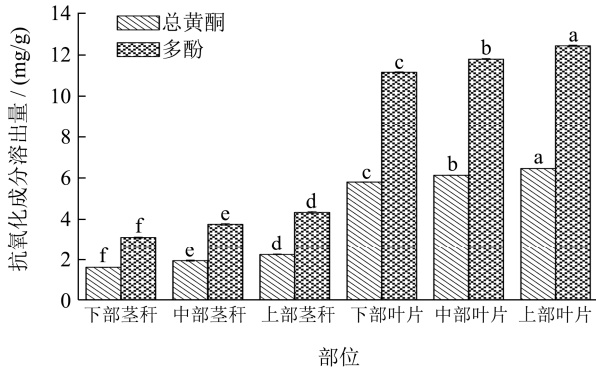


图1 苜蓿不同部位抗氧化成分的溶出量

Fig.1 Dissolution of antioxidant components from different parts of alfalfa

注：同小写字母不同表示不同样品的同一指标比较差异显著 ($p < 0.05$)，下同。

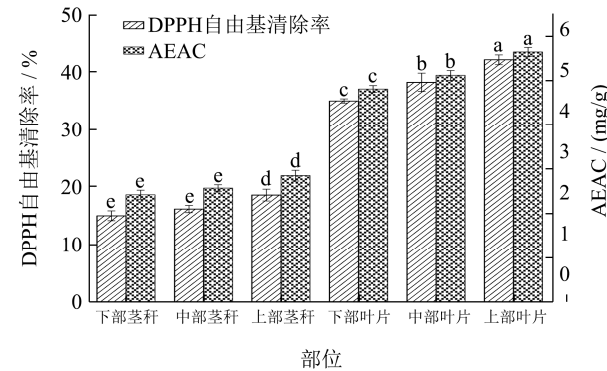


图2 苜蓿不同部位对 DPPH 自由基的清除率

Fig.2 Scavenging rate of DPPH free radical in different parts of alfalfa

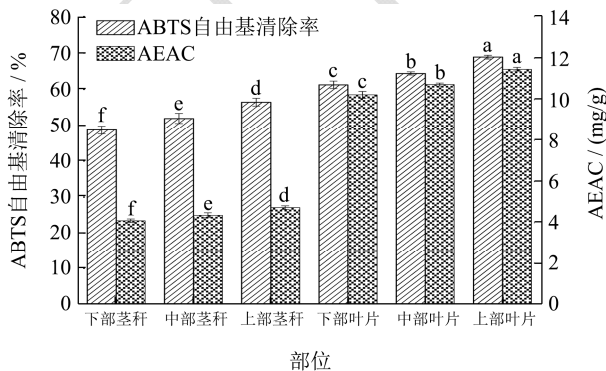


图3 苜蓿不同部位对 ABTS 自由基的清除率

Fig.3 Scavenging rate of ABTS free radical in different parts of alfalfa

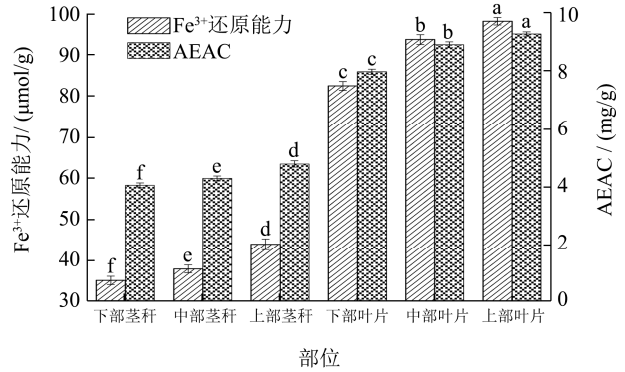


图4 苜蓿不同部位对 Fe³⁺ 的还原能力

Fig.4 Reduction ability of different parts of alfalfa to Fe³⁺

2.2 不同粒度苜蓿叶粉抗氧化成分的溶出量及抗氧化活性测定结果

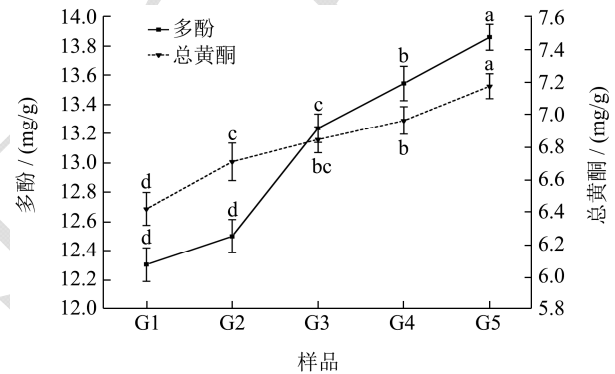


图5 不同粒度苜蓿叶粉抗氧化成分的溶出量

Fig.5 Dissolubility of antioxidant components from alfalfa leaves powder with different particle size

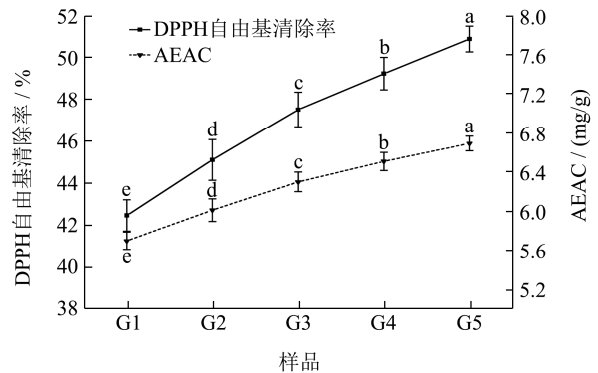


图6 不同粒度苜蓿叶粉对 DPPH 自由基的清除率

Fig.6 Scavenging rate of DPPH free radical by alfalfa leaves powder with different particle size

由图5可以看出，G₁、G₂、G₃、G₄、G₅的多酚、总黄酮溶出量存在显著性差异，且随着粉碎粒度的减小，多酚、总黄酮的溶出量依次增加。G₅的多酚、总黄酮的溶出量较G₁分别提高了12.59%、11.68%，这是由于随着粉碎粒度的减小，比表面积增大，表面破

坏更严重,有利于内容物的溶出^[23]。由图 6~8 可以看出, G₁、G₂、G₃、G₄、G₅ 的抗氧化活性存在显著性差异,且随着粉碎粒度的减小,抗氧化活性依次提高,这与杨沫等^[23]的研究结果一致。当苜蓿叶的粉碎粒度为 0.06~0.08 mm 时,对 DPPH·、ABTS⁺ 的清除率分别为 50.85%、73.08%,对 Fe³⁺ 的还原力为 117.91 μmol/g。这是由于粉碎粒度减小,多酚及总黄酮等有效成分溶出量增加。因此,苜蓿叶的粉碎粒度为 0.06~0.08 mm 时,抗氧化活性更高。

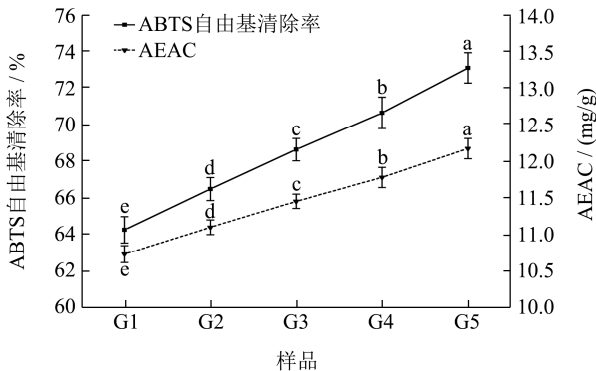


图 7 不同粒度苜蓿叶粉对 ABTS 自由基的清除率

Fig.7 Scavenging rate of ABTS free radical by alfalfa leaves powder with different particle size

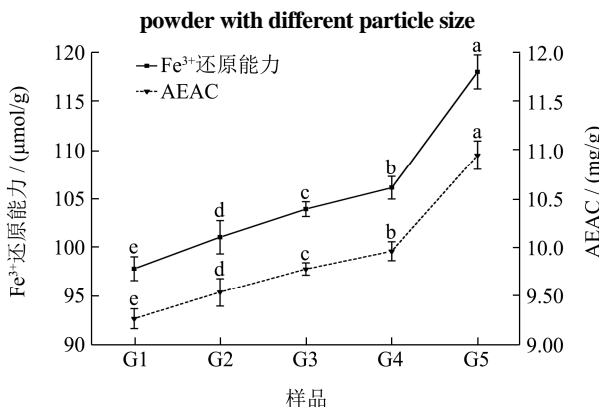


图 8 不同粒度苜蓿叶粉对 Fe³⁺ 的还原能力

Fig.8 Reduction ability of alfalfa leaves powder with different particle size

2.3 辅料的确定

2.3.1 苜蓿叶粉与燕麦粉配比的确定

必需氨基酸的含量在一定程度上反映食物的营养价值,限制性氨基酸是影响人体吸收蛋白质的关键,Σ(RC-1)² 反映氨基酸偏离理想模式的程度。由图 9 可以看出,随着苜蓿叶粉与燕麦粉比例的增加,必需氨基酸的总量、限制性氨基酸的 AAS 逐渐增加,但氨基酸的Σ(RC-1)² 逐渐增加。这说明随着苜蓿叶粉比例的增加,营养价值增加,但氨基酸偏离理想模式的程度增加。考虑到熟化燕麦粉有较好的粘性,有利于咀嚼片的成型,且苜蓿叶粉与燕麦粉的比例大于 2:1

时,各指标变化趋于平缓。因此,确定苜蓿叶粉与燕麦粉的最佳比例为 2:1。

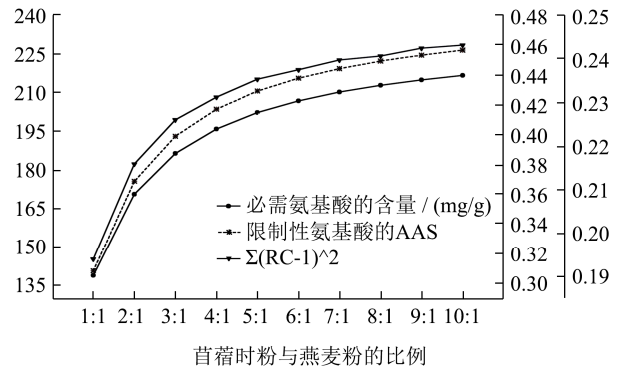


图 9 不同配比的苜蓿叶粉与燕麦粉的比较

Fig.9 Comparison of alfalfa leaves powder and oatmeal powder in different proportion

2.3.2 粘合剂种类的筛选

表 2 粘合剂对硬度及脆碎度的影响

Table 2 Effect of adhesive on hardness and brittleness

粘合剂的种类	硬度/N	脆碎度/%
预糊化淀粉	9.32±0.26 ^c	8.18±0.23 ^b
羟甲基淀粉钠	11.72±0.50 ^b	10.27±0.32 ^a
微晶纤维素	42.38±0.68 ^a	0.42±0.02 ^c

由表 2 可知,粘合剂对咀嚼片的硬度和脆碎度有显著性影响。根据相关文献可知,咀嚼片的适宜硬度为 40~60 N,脆碎度<1%^[24]。当粘合剂为预糊化淀粉或羟甲基淀粉钠时,咀嚼片的硬度分别为 9.32、11.72 N,脆碎度为 8.18%、10.27%,均不能满足相关要求。当粘合剂为微晶纤维素时,咀嚼片的硬度为 42.38 N,脆碎度为 0.42%,符合相关要求,这是由于微晶纤维素容易发生塑性形变,不会发生弹性复原^[11]。同时,由于粘合剂种类不同,颗粒间的作用力不同,使得咀嚼片的硬度及脆碎度表现出差异性^[25]。因此,确定微晶纤维素为的粘合剂。

2.3.3 木糖醇与柠檬酸钠配比的确定

表 3 木糖醇与柠檬酸钠配比对口感的影响

Table 3 Effect of xylitol and sodium citrate ratio on taste

木糖醇与柠檬酸钠的比例	感官评价
10:1	酸味重,无甜味
15:1	略酸,甜味不明显
20:1	酸,微甜
25:1	酸甜适中
30:1	微甜
35:1	过甜,酸味不明显

矫味剂是影响咀嚼片口感的重要因素,确定合适的糖酸比具有十分重要的意义。由表 3 可知,当木糖醇与柠檬酸钠的比例为 25:1 时,口感酸甜适中。因此,

确定木糖醇与柠檬酸钠最佳比例为 25:1。

2.4 咀嚼片最佳制备工艺参数的确定

2.4.1 单因素试验的结果与分析

2.4.1.1 苜蓿叶粉添加量对硬度及脆碎度的影响

由图 10 可以看出,苜蓿叶粉的添加量对咀嚼片的硬度和脆碎度存在显著性影响。随着苜蓿叶粉的添加量由 24%增加至 37%,咀嚼片的硬度逐渐减小,脆碎度逐渐增大,且脆碎度均满足要求。当苜蓿粉的添加量由 23%增加到 37%,咀嚼片的脆碎度大幅度增大。苜蓿叶粉添加量>30%时,咀嚼片的硬度<40 N,不在最佳硬度范围内。苜蓿叶粉添加量为 30%时,咀嚼片的硬度为 42.38 N,脆碎度为 0.42%,符合相关要求。因此,确定苜蓿叶粉的最佳添加量为 30%。

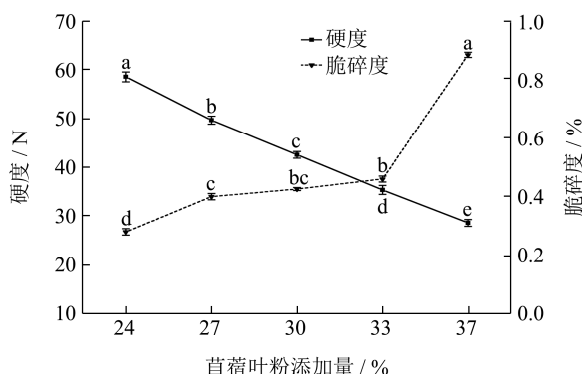


图 10 苜蓿叶粉的添加量对硬度及脆碎度的影响

Fig.10 Effect of alfalfa leaves powder addition on hardness and brittleness

2.4.1.2 矫味剂添加量对硬度及脆碎度的影响

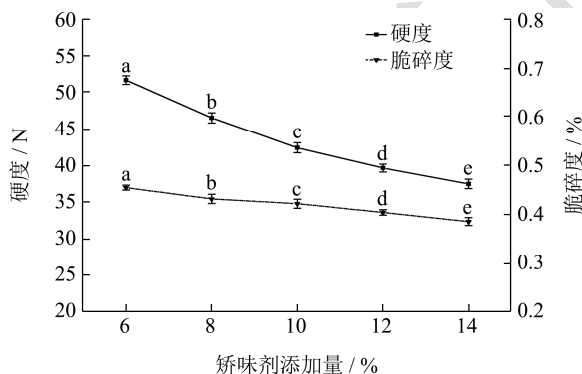


图 11 矫味剂添加量对咀嚼片硬度及脆碎度的影响

Fig.11 Effect of the amount of flavoring agent on the hardness and fragility of chewable tablets

由图 11 可以看出,矫味剂添加量对咀嚼片硬度和脆碎度存在显著性影响。随着矫味剂的添加量由 6%增加至 14%,咀嚼片的硬度和脆碎度逐渐减小。当矫味剂的添加量>10%时,咀嚼片的硬度<40 N,不在最佳硬度范围内。矫味剂添加量为 10%时,咀嚼片的硬度为 42.38 N,脆碎度为 0.42%,符合相关要求。因此,

确定矫味剂的最佳添加量为 10%。

2.4.1.3 压力对硬度及脆碎度的影响

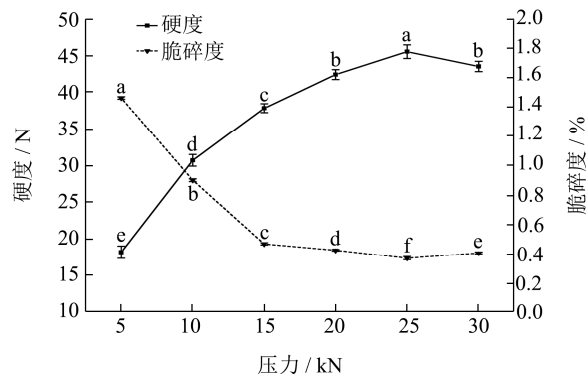


图 12 压力对咀嚼片硬度及脆碎度的影响

Fig.12 Effect of pressure on the hardness and brittleness of chewing tablets

由图 12 可以看出,压力对咀嚼片硬度和脆碎度存在显著性影响。随着压力由 5 kN 增加至 30 kN,咀嚼片的硬度先增加后减小,当 p 为 25 kN 时,硬度达到最大;咀嚼片的脆碎度先减小后增大,当 $p \geq 15$ kN 时,脆碎度变化趋势趋于平缓,当 p 为 25 kN 时,脆碎度达到最小。当 p 为 15 kN 时,咀嚼片的硬度<40 N,不在最佳硬度范围内。当 p 为 20 kN 时,咀嚼片的硬度为 42.38 N,脆碎度为 0.42%,符合相关要求。因此,为节省能耗,确定最佳压力为 20 kN。这是由于随着压力的增加,粉体被压实,粉体间作用力增大,抵抗外界作用力的能力增大,使得硬度增大、脆碎度减小;但压力超过一定限度会,咀嚼片的内部结构被破坏,使得硬度下降、脆碎度增加^[26]。

2.4.2 正交试验的结果与分析

由表 4 可知,影响咀嚼片硬度因素的顺序为 $A > B > C$,即苜蓿叶粉的添加量对咀嚼片的硬度影响最大,其次是矫味剂的添加量,压力影响最小;影响脆碎度的因素的顺序为 $C > A > B$,即压力对咀嚼片的脆碎度影响最大,其次是苜蓿叶粉的添加量,矫味剂的添加量影响最小;影响综合指标的顺序为 $C > A > B$,即压力对咀嚼片的综合指标影响最大,其次是苜蓿叶粉的添加量,矫味剂的添加量影响最小。比较综合指标的 K 值可知,苜蓿咀嚼片的最优工艺组合为 $A_1B_2C_3$,此时苜蓿叶粉的添加量为 27%、矫味剂的添加量为 10%,压力为 25 kN。此最佳组合不在正交试验中,按此最佳组合进行试验,咀嚼片的硬度为 49.23 N,脆碎度为 0.35%,综合指标为 33.23。比较咀嚼片的综合指标可知, $A_1B_2C_3$ 的综合指标最高,其次是 $A_1B_3C_3$ 和 $A_2B_2C_3$,且均符合相关要求。 $A_2B_2C_3$ 较 $A_1B_2C_3$ 、 $A_1B_3C_3$ 苜蓿叶粉添加量高,具有更高的营养价值。 $A_2B_2C_3$ 较 $A_1B_3C_3$ 矫味剂含量低,生产成本较低。因此,苜蓿咀

嚼片的最佳工艺组合为 A₂B₂C₃, 即苜蓿叶粉的添加量为 30%、矫味剂的添加量为 10%, 压力为 20 kN。此

时苜蓿咀嚼片的直径为 10 mm, 硬度为 45.50 N, 脆碎度为 0.37%, 综合指标为 31.93。

表 4 咀嚼片工艺参数优化正交试验的结果

Table 4 The results of orthogonal test for optimization of chewing tablet process parameters

实验号	A 苜蓿叶粉添加量/%	B 矫味剂添加量/%	C 压力/kN	Y ₁ 硬度/N	Y ₂ 脆碎度/%	Y 综合指标
1	1	1	1	52.93	0.47	26.48
2	1	2	2	49.52	0.40	30.02
3	1	3	3	48.56	0.35	33.19
4	2	1	2	46.48	0.43	27.79
5	2	2	3	45.50	0.37	31.93
6	2	3	1	41.46	0.43	27.21
7	3	1	3	39.57	0.39	29.76
8	3	2	1	33.87	0.47	24.52
9	3	3	2	34.21	0.44	25.91

K ₁ (Y ₁)	50.34	46.33	42.75			
K ₂ (Y ₁)	44.48	42.96	43.41			
K ₃ (Y ₁)	35.89	41.41	44.55			
R(Y ₁)	14.45	4.92	1.80			

K ₁ (Y ₂)	0.41	0.43	0.46			
K ₂ (Y ₂)	0.41	0.41	0.43			
K ₃ (Y ₂)	0.44	0.41	0.37			
R(Y ₂)	0.03	0.02	0.09			

K ₁ (Y)	29.90	28.01	26.07			
K ₂ (Y)	28.98	28.82	27.91			
K ₃ (Y)	26.73	28.78	31.63			
R(Y)	3.17	0.81	5.056			

3 结论

3.1 通过比较苜蓿不同部位的多酚、总黄酮的含量, 对 DPPH·、ABTS⁺的清除能力以及对 Fe³⁺的还原能力, 可知苜蓿叶片的抗氧化能力高于茎秆, 且上部叶片的抗氧化能力最强, 对 DPPH·、ABTS⁺清除率分别为 42.17%、68.87%, 对 Fe³⁺的还原力为 98.18 μmol/g。

3.2 通过比较不同粒度苜蓿叶粉多酚、总黄酮的溶出量, 对 DPPH·、ABTS⁺的清除能力以及对 Fe³⁺的还原能力, 可知粉碎粒度为 0.06~0.08 mm 的苜蓿叶的抗氧化能力最强, 对 DPPH·、ABTS⁺清除率分别为 50.85%、73.08%, 对 Fe³⁺的还原力为 117.91 μmol/g。

3.3 通过分析单因素和正交试验结果得出, 苜蓿咀嚼片的工艺参数为: 苜蓿叶粉添加量为 30%、燕麦粉添加量为 15%、矫味剂添加量为 10%、硬脂酸镁添加量为 1%、微晶纤维素添加量为 44%、压力为 20 kN。此时苜蓿咀嚼片硬度为 45.50 N, 脆碎度为 0.37%, 综合指标为 31.93。

参考文献

- [1] 杨青川, 康俊梅, 张铁军, 等. 苜蓿种质资源的分布、育种与利用[J]. 科学通报, 2016, 61(2): 261-270
YANG Qing-chuan, KANG Jun-mei, ZHANG Tie-jun, et al. Distribution, breeding and utilization of alfalfa germplasm resources [J]. Science Bulletin, 2016, 61(2): 261-270
- [2] 丁武蓉, 杨富裕, 郭旭生. 高水分苜蓿干草捆防霉复合添加剂配方筛选[J]. 农业工程学报, 2013, 29(4): 285-292
DING Wu-rong, YANG Fu-yu, GUO Xu-sheng. Formula selection of high moisture alfalfa hay bale mildew resistant composite additives [J]. Journal of Agricultural Engineering, 2013, 29(4): 285-292
- [3] Xiao J, Muzashvili T S, Georgiev M I. Advances in the biotechnological glycosylation of valuable flavonoids [J]. Biotechnology Advances, 2014, 32(6): 1145-1156
- [4] Fási Laura, Di Meo F, Kuo C Y, et al. Antioxidant-inspired drug discovery: antitumor metabolite is formed in situ from a

- hydroxycinnamic acid derivative upon free radical scavenging [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 62(3): 1657-1668
- [5] 夏春燕,郭晓晖,李富华,等.细胞抗氧化活性方法在食物抗氧化活性评价中的研究进展[J]. *食品科学*,2012,33(15): 297-302
- XIA Chun-yan, GUO Xiao-hui, LI Fu-hua, et al. Research progress of cell antioxidant activity method in food antioxidant activity evaluation [J]. *Food Science*, 2012, 33(15): 297-302
- [6] Tao BAO, Ye WANG, Yu-ting LI, et al. Antioxidant and antidiabetic properties of Tartary buckwheat rice flavonoids after *in vitro* digestion [J]. *Journal of Zhejiang University-Science B(Biomedicine & Biotechnology)*, 2016, 17(12): 941-951
- [7] 许英一,王宇,杨伟光.紫花苜蓿叶总黄酮提取及抗氧化性[J].*草地学报*,2018,26(3):757-763
- XU Ying-yi, WANG Yu, YANG Wei-guang. Extraction and antioxidation of total flavonoids from alfalfa leaves [J]. *Acta Grassland*, 2018, 26(3): 757-763
- [8] 施伟梅,吴龙火,杨翔,等.超声协同酶法提取紫花苜蓿多酚及其抗氧化性质[J].*草业科学*,2016,33(3):519-526
- SHI Wei-mei, WU Long-huo, YANG Xiang, et al. Ultrasonic assisted enzymatic extraction of alfalfa polyphenols and their antioxidant properties [J]. *Grassland Science*, 2016, 33(3): 519-526
- [9] 汤葆莎,赖谱富,吴俐,等.麦麸膳食纤维咀嚼片配方优化及其体外抗氧化能力[J].*食品科学*,2017,38(24):171-176
- TANG Bao-sha, LAI Pu-fu, WU Li, et al. Formula optimization and *in vitro* antioxidant capacity of wheat bran dietary fiber chewable tablets [J]. *Food Science*, 2017, 38(24): 171-176
- [10] 赖谱富,李怡彬,陈君琛,等.杏鲍菇秋葵咀嚼片直接压片工艺的优化[J].*核农学报*,2018,32(11):2208-2215
- LAI Pu-fu, LI Yi-bin, CHEN Jun-chen, et al. Optimization of the direct tablet pressing process of abalone mushroom and okra chewing tablets [J]. *Journal of Nuclear Agriculture*, 2018, 32(11): 2208-2215
- [11] 张艳荣,李敏,吴丽娟,等.玉米膳食纤维直接压片工艺研究[J].*食品科学*,2011,32(24):141-144,146
- ZHANG Yan-rong, LI Min, WU Li-juan, et al. Study on the technology of direct compression of corn dietary fiber [J]. *Food Science*, 2011, 32(24): 141-144, 146
- [12] 刘青广,曾凡枝,田丽萍.苜蓿叶蛋白的营养及其功能特性研究[J].*石河子大学学报(自然科学版)*,2007,6:753-756
- LIU Qing-guang, ZENG Fan-zhi, TIAN Li-ping. Study on nutrition and functional characteristics of alfalfa leaf protein [J]. *Journal of Shihezi University (Natural Science Edition)*, 2007, 6: 753-756
- [13] 王婧,李小平,刘柳,等.燕麦等五种谷物的氨基酸含量综合评价[J].*麦类作物学报*,2019,39(4):438-445
- WANG Jing, LI Xiao-ping, LIU Liu, et al. Comprehensive evaluation of amino acid content of five cereal grains [J]. *Journal of Wheat Crops*, 2019, 39(4): 438-445
- [14] Blagoj K, Spyros G, Sofia L, et al. Optimisation of polyphenol extraction from *Hypericum perforatum* (St. John's Wort) using aqueous glycerol and response surface methodology [J]. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2015, 2(1): 1-8
- [15] Kairupan C F, Mantiri F R, Rumende R R H. Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanol extract of leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) as an antihyperlipidemic and antiatherosclerotic agent [J]. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 2019, 217: 012016
- [16] 黄睿.柑橘类黄酮分光测定法比较及其抗氧化与胰脂肪酶抑制功效评价[D].杭州:浙江大学,2019
- HUANG Rui. Comparison of citrus flavonoids spectrophotometry and evaluation of their antioxidant and pancreatic lipase inhibitory effects [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019
- [17] Aprotosoiaie A C, Miron A, Ciocârlan N, et al. Essential oils of *Moldavian Thymus* species: Chemical composition, antioxidant, anti-*Aspergillus* and antigenotoxic activities [J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2019, 34(3): 175-186
- [18] Li C Q, Yao C, Zhu R Y, et al. Spectrum-effect relationship in antioxidant activity of *Ligustri Lucidi* fructus based on DPPH, ABTS and FRAP assays [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, 41(9): 1670-1677
- [19] 车甜甜.皮燕麦片和裸燕麦片的营养、糊化以及风味特性比较研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2015
- CHE Tian-tian. Comparative study on nutrition, gelatinization and flavor characteristics of oatmeal and oatmeal [D]. Yangling: Northwest University of Agriculture and Forestry Science and Technology, 2015