

金银花夏枯草鸡蛋花复合饮料研制及其 抗氧化活性研究

王冬雪^{1,2}, 陈凤真^{1*}, 李 阁¹, 赵贵红¹, 郑昀昊¹, 阮 帝¹, 何 盈¹, 韩新新¹

(1. 菏泽学院农业与生物工程学院, 菏泽 274000; 2. 云南农业大学食品科学技术学院, 昆明 650201)

摘 要: **目的** 以金银花、夏枯草和鸡蛋花作为材料, 研制一种复合饮料配方, 并考查其抗氧化活性。**方法** 对影响该复合饮料的金银花浸提液添加量、夏枯草浸提液添加量、鸡蛋花浸提液添加量 and 白砂糖与柠檬汁比例 4 个因素进行单因素实验, 而后经过正交实验法确定复合饮料的最佳配方; 分别采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3$ 显色法与福林酚比色法测定最佳工艺下复合饮料的总黄酮与总酚含量; 考查复合饮料经模拟胃肠消化后对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基(DPPH $\cdot$)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) ammonium salt, ABTS]阳离子自由基(ABTS $^{+\cdot}$)、羟基自由基的清除率。**结果** 复合饮料的最佳配方为金银花浸提液为 10%, 夏枯草浸提液为 5%, 鸡蛋花浸提液为 30%, 白砂糖与柠檬汁比例为 200:120 (g/mL); 采用最佳配方研制的复合饮料总黄酮和总酚含量分别为 0.52 和 0.90 mg/mL。在一定的浓度范围内, 复合饮料的抗氧化能力随质量浓度的增加而增强, 清除自由基能力与浓度存在量效关系; 复合饮料中多酚质量浓度为 0.5 mg/mL 时, 其自由基清除能力比同等浓度的维生素 C (vitamin C, VC)强或者相当。随着消化时间的延长, 模拟胃消化系统中复合饮料与 VC 溶液对 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+\cdot}$ 与羟基自由基的清除率均呈下降趋势; 模拟肠消化系统中复合饮料与 VC 溶液对 DPPH $\cdot$ 与羟基自由基的清除率均也呈下降趋势; 但复合饮料对 ABTS $^{+\cdot}$ 清除率先上升, 在消化 1 h 后, 清除率达到最大, 与消化前差异显著; 随着消化时间延长然后下降; 消化 2 h 时的清除率与消化前差异不显著。经过胃肠消化后, 复合饮料清除自由基的能力强于同等浓度下的 VC 溶液。**结论** 复合饮料色泽透明、风味佳、口感好, 能够很好地清除自由基, 具有较强的抗氧化活性。研究结果可为功能饮料的研制提供理论依据。

关键词: 金银花; 夏枯草; 鸡蛋花; 复合饮料; 抗氧化活性

Study on the development and antioxidant activity of *Lonicera japonica* Thunb., *Prunella vulgaris* L. and *Plumeria rubra* L. cv *Acutifolia* compound beverage

WANG Dong-Xue^{1,2}, CHEN Feng-Zhen^{1*}, LI Ge¹, ZHAO Gui-Hong¹, ZHENG Yun-Hao¹, RUAN Di¹, HE Ying¹, HAN Xin-Xin¹

(1. College of Agriculture and Bioengineering, Heze University, Heze 274000, China; 2. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

基金项目: 菏泽学院培育项目(RTI-16)、菏泽学院博士基金项目(XYJKJ-9)

Fund: Supported by the Cultivation Project of Heze University (RTI-16), and the Doctoral Fund of Heze University (XYJKJ-9)

***通信作者:** 陈凤真, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品功能物质研究。E-mail: duoduo12008@163.com

***Corresponding author:** CHEN Feng-Zhen, Ph.D, Associate Professor, College of Agriculture and Bioengineering, Heze University, Heze 274000, China. E-mail: duoduo12008@163.com

ABSTRACT: Objective To develop a compound beverage formula with *Lonicera japonica* Thunb., *Prunella vulgaris* L. and *Plumeria rubra* L. cv *Acutifolia* as materials, and investigate its antioxidant activity. **Methods** The addition amount of *Lonicera japonica* Thunb. extract, *Prunella vulgaris* L. extract, *Plumeria rubra* L. cv *Acutifolia* extract and the ratio of sugar to lemon juice were tested by single factor, and then best formula of composite beverage was determined by orthogonal experiment. The content of total flavonoids and total phenols in compound beverage under optimal process were determined by $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3$ colorimetric method and Folinol colorimetric method, respectively; the scavenging rates of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical ($\text{DPPH}\cdot$), 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) ammonium salt (ABTS) cationic free radical ($\text{ABTS}^{+\cdot}$) and hydroxyl radical of compound beverage after simulated gastrointestinal digestion were investigated. **Results** The best formula of compound beverage with *Lonicera japonica* extract 10%, *Prunella* extract 5%, *Pulmeria* extract 30%, the raito of sugar to lemon juice 200:120 (g/mL); the content of total flavonoids and total phenols in the beverage was 0.52 and 0.90 mg/mL, respectively. In a certain concentration range, the antioxidant capacity of compound beverage increased with the increase of mass concentration, and there was a dose effect relationship between free radical scavenging capacity and concentration. When the mass concentration of phenols was 0.50 mg/mL, the scavenging capacity of free radical was stronger or equal to that of vitamin C (VC) in the same concentration. The elimination rates of $\text{DPPH}\cdot$, $\text{ABTS}^{+\cdot}$ and hydroxyl radical of compound beverage and VC solution in simulated gastric digestion system decreased with the increase of digestion time; and the elimination rates of $\text{DPPH}\cdot$ and hydroxyl radical in simulated intestinal digestive system by compound beverage and VC solution also showed a decreasing trend. However, the elimination rate of $\text{ABTS}^{+\cdot}$ by compound beverage and VC solution increased first, and reached the maximum after digestion for 1 h, which was significantly different from that before digestion; and then it went down as digestion time extension, and there was no significant difference in the elimination rate between no digestion and digestion for 2 h; after gastrointestinal digestion, the antioxidant activity of compound beverage and VC solution decreased, but the antioxidant activity of compound beverage was stronger than VC solution at the same concentration. **Conclusions** The compound beverage has the advantages of transparent color, good flavor, good taste, good free radical scavenging ability and strong oxidation resistance. The results can provide theoretical basis for the development of energy drinks.

KEY WORDS: *Lonicera japonica* Thunb.; *Prunella vulgaris* L.; *Plumeria rubra* L. cv *Acutifolia*; compound beverage; antioxidant activity

0 引言

金银花(*Lonicera japonica* Thunb.)又名忍冬花,是药食同源植物之一,金银花含有黄酮、绿原酸等活性物质^[1],具有抗菌消炎、抗病毒、抗氧化、免疫调节、降血脂、降血糖和保肝利胆等多种生物活性^[2-3]。金银花可用于治疗各种热性疾病,如体内有热毒、喉咙痛等症^[4]。夏枯草(*Prunella vulgaris* L.)是一种分布广泛且具有巨大药用价值的药食同源植物^[5-6],夏枯草富含黄酮类物质,具有抗病毒、抗菌、抗氧化、抗糖尿病、抗癌、抗过敏、免疫抑制、抗应激、保护心脏等生物活性^[7-8]和抗失眠^[9]作用;被用于治疗乳腺增生、甲状腺炎和抑郁症等各种疾病。鸡蛋花(*Plumeria rubra* L. cv *Acutifolia*)味甘、淡,性凉,主要含有挥发油、环烯醚萜及其苷类及黄酮类物质,具有抗菌、利尿、抗肿瘤作用、清热利湿止痢,润肺止咳等作用^[10-11]。茶饮料与其他饮料相比,具有低脂肪、低糖、低热量的优点^[12],深受广大消费者的青睐。近年来,纵观国内外茶饮料的开展趋

向,仅用单一传统原料的茶饮料难以满足人们对多种营养物质及生理活性物质的需求,因此富含天然成分的各种各样的复合饮料不断出现,逐渐成了健康饮料产业发展的趋势。

金银花常常被用来制备单一花茶等饮料,但较少被用来研制复合饮料,且未有报道对研制的复合饮料进行抗氧化活性检测^[1];对夏枯草与鸡蛋花的研究也主要集中在药效与功能性物质研究上,两者也较少用作茶饮料原料的研究。金银花与夏枯草单独使用时,味苦,而鸡蛋花清香、味甜。这3种原料中均含有生物活性物质黄酮,且符合食品相须原则。体外模拟胃肠消化法可以更好地反映功能因子在实际消化过程中的存在形式和抗氧化能力,具有操作简单、易行、实验条件易于控制、实验周期较短的优点,更加符合真实的生理变化情况^[13]。为改善饮料的口感、风味和增强饮料的功能性,本研究以金银花、夏枯草与鸡蛋花为原料,辅以白糖和柠檬汁调配制作复合饮料,并进行工艺优化,对复合饮料进行抗氧化和模拟胃肠消化研究,以期得到一种天然健康、风味独特,且具有抗氧化功能的复合饮

料, 丰富市场饮料品种, 为功能性复合饮料生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金银花、夏枯草、鸡蛋花均为市售的干燥样品; 柠檬、白砂糖均为市售。

芦丁标准品(纯度 98%)、没食子酸标准品(纯度 99.4%)、1,1- 二 苯 基 -2- 三 硝 基 苯 肼 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH, 纯度 97%)、2,2-联氮-二(3-乙基 - 苯 并 噻 唑 -6- 磺 酸) 二 铵 盐 [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) ammonium salt, ABTS, 纯度 98%](上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 胃蛋白酶(3000 U/g)、胰蛋白酶(3000 U/g)、猪丹盐(胆酸含量 60%)、福林酚(上海源叶生物科技有限公司); 维生素 C (vitamin C, VC)、FeSO₄、水杨酸、乙醇(分析纯, 上海麦克林生化科技有限公司); NaCl、浓盐酸、KH₂PO₄、NaOH、。

1.2 仪器与设备

TU-1810 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); TD6 型医用离心机(湖南平凡科技有限公司); AF-10A 高速组织破碎机(温岭市奥力中药机械有限公司); SH82 台式水浴恒温振荡器(上海能共实业有限公司); ZOLLO-13 均质机(常州市超力均质泵厂)。

1.3 方 法

1.3.1 工艺流程

金银花(夏枯草、鸡蛋花)→挑选→清洗→55℃干燥→磨粉、60 目过筛→浸提→冷却→过滤→金银花、夏枯草、鸡蛋花浸提液, 备用。

金银花浸提液、夏枯草浸提液、鸡蛋花浸提液混合→加入白砂糖、柠檬汁→用水(居民生活用水)补足体积、混合调配→均质→装瓶→灭菌→冷却→成品

1.3.2 操作要点

浸提液的制备: 金银花、夏枯草、鸡蛋花分别以 20:1 (mL/g) 的液料比于 80℃浸提 2.5 h, 8 层纱布过滤后待用。

柠檬汁的制备: 选取新鲜柠檬, 去皮→柠檬榨汁→过滤→柠檬汁。

将调配好的饮料在 21 MPa 压力下进行均质; 装瓶后, 沸水灭菌 25 min, 冷却后得到成品。

1.4 单因素实验

配制 2000 mL 的金银花夏枯草鸡蛋花复合饮料, 分别添加 5%、10%、15%、20%和 25%的金银花浸提液, 添加 30%的鸡蛋花浸提液、10%的夏枯草浸提液、白砂糖与柠檬汁比例为 200:100 (g/mL), 用水补足体积, 重复 3 次, 以感官评价总分为指标, 确定金银花浸提液的最佳添加体积。然后再依次改变夏枯草浸提液添加体积(3%、5%、10%、15%和 20%)、鸡蛋花浸提液添加体积(10%、20%、30%、40%和 50%)及白砂糖与柠檬汁比例[200:40、200:60、200:80、200:100 和 200:120 (g/mL)], 以确定的上一个因素最佳工艺条件为固定不变, 其他条件不变。

1.5 正交实验

以金银花浸提液添加体积(A)、夏枯草浸提液添加体积(B)、鸡蛋花浸提液添加体积(C)及白砂糖与柠檬汁比例(D)为变量, 以感官评价为评价指标, 每个组合重复 3 次, 取平均值, 采用 L₉(3)⁴ 设计优化金银花夏枯草鸡蛋花复合饮料加工工艺, 设计正交实验水平表, 见表 1。

表 1 正交因素和水平表
Table 1 Orthogonal test factors and levels table

水平	A/%	B/%	C/%	D (g/mL)
1	5	5	20	200:80
2	10	10	30	200:100
3	15	15	40	200:120

1.6 感官评价

分别从外观、香气、味道与色泽 4 个方面来进行感官评价^[14], 稍有改动, 总分 100 分。所采纳的感观评分标准如表 2 所示。

表 2 复合饮料的感官评价表
Table 2 Sensory evaluation table of compound beverage

评定项目	标准	分值/分
色泽(15 分)	色泽暗淡呈现暗黄色, 有光泽。	11~15
	颜色呈现深黄色, 有一定的光泽。	6~10
	颜色呈现淡黄色, 没有光泽。	0~5
外观(20 分)	澄清透明, 不溶物较少或完全不溶物。	15~20
	半透明且澄清, 有少量不溶物, 易浑浊。	9~14
	静止后有大量的不溶物, 易浑浊。	0~8
味道(35 分)	酸, 甜, 苦味协调, 口感饱满。	21~35
	酸, 甜, 苦味适宜, 味道柔和。	11~20
	口感不佳。	0~10
香气(30 分)	夏枯草, 金银花, 鸡蛋花的味道都有, 味道适宜, 无不良气味。	21~30
	夏枯草, 金银花, 鸡蛋花的味道只有其中的一种, 或者味道比较浓郁, 无其他不良的味道。	11~20
	无金银花, 夏枯草, 鸡蛋花的味道, 并且有其他的异味。	0~10

1.7 多酚与黄酮的测定

以没食子酸为标准样品,采用福林酚比色法测定多酚含量,具体方法及公式计算参照曹雪文^[15]的方法进行。以吸光度为纵坐标(Y),以没食子酸标准溶液质量浓度(X, mg/L)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=8.8794X+0.1286$, $r^2=0.9875$ 。以芦丁为标准样品,采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3$ 显色法测定总黄酮^[16]含量,以吸光度为纵坐标(Y_1),以芦丁标准溶液质量浓度(X_1 , mg/L)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y_1=6.8249X_1-0.0267$, $r_1^2=0.9977$ 。

1.8 功能性的检测

将最佳工艺条件下研制的复合饮料稀释,以复合饮料中的多酚作为衡量指标,通过测定 $\text{DPPH}\cdot$ 、 ABTS^+ 与羟自由基清除率研究复合饮料的体外抗氧化活性。

$\text{DPPH}\cdot$ 清除率测定具体参考王思溥等^[17]和吴丽等^[18]的实验方法。按照公式(1)计算 $\text{DPPH}\cdot$ 清除率:

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}/\% = A_0 - (A_1 - A_2) / A_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_0 为 2 mL $\text{DPPH}\cdot$ 乙醇溶液+2 mL 无水乙醇吸光度; A_1 为 2 mL $\text{DPPH}\cdot$ 乙醇溶液+2 mL 复合饮料的吸光度; A_2 为 2 mL 无水乙醇+2 mL 复合饮料的吸光度。

ABTS^+ 清除率的测定:取 0.6 mL 不同浓度的复合饮料或 VC 溶液,加入 5.4 mL 上述 ABTS^+ 溶液,混匀后置于暗处 10 min,测定 734 nm 的吸光值。每个处理均重复 3 次。0.6 mL 70%乙醇作为对照其他操作^[17-18],按照公式(2)计算 ABTS^+ 清除率:

$$\text{ABTS}^+\cdot\text{清除率}/\% = (1 - A_{\text{样品}}) / A_{\text{对照}} \times 100\% \quad (2)$$

清除羟自由基能力的测定,参考王思溥等^[17]和吴丽等^[18]的实验方法。于 510 nm 处测定样品吸光度值 B_1 ;以去离子水为参比溶液,测定其吸光度值 B_0 ,再以蒸馏水替代水杨酸溶液,测定其吸光度值 B_2 ^[17]。按照公式(3)计算:

$$\text{羟自由基清除率}/\% = B_0 - (B_1 - B_2) / B_0 \times 100\% \quad (3)$$

1.9 体外模拟胃、肠消化

将复合饮料稀释至多酚质量浓度为 0.2 mg/mL,同等质量浓度的 VC 溶液为对照。

人工模拟胃、肠液的配制和消化处理及消化后样品的抗氧化活性测定参照封易成等^[19]与倪达美等^[20]的方法,略有修改。

模拟胃液的配制:取 2.5 g 胃蛋白酶、0.50 g NaCl,加入至 225 mL 去离子水和 1.75 mL 浓盐酸充分混合溶液中,调 pH 至 2.0,定容至 250 mL 后备用。

模拟肠液的配制:称取 1.70 g KH_2PO_4 溶于 140 mL 双蒸水中,加入 19.0 mL 0.2 mol/L NaOH 溶液,混匀后加入 2.5 g 胰蛋白酶和 15.0 g 猪胆盐,5500 r/min 离心 10 min,取上清液调 pH 至 7.6 后,定容至 250 mL 备用。

模拟胃消化:取 30 mL 复合饮料和 VC 溶液,调 pH 至 2.0,加入模拟胃液 75 mL,分别在 37 °C、100 r/min 于恒温水浴振荡器上振荡 120 min 后,在沸水浴煮沸 5 min 灭酶,5600 r/min 离心 8 min 后取上清液作为胃消化样品,测定抗氧化活性。

模拟肠消化:胃消化结束后,调 pH 至 7.6,加入 75 mL 模拟肠液,分别在 37 °C、100 r/min 下振荡 120 min,沸水浴 5 min 灭酶,5600 r/min 离心 8 min 后取上清液作为肠消化样品,测定抗氧化活性。

每个处理均重复 3 次。计算公式同上。

1.10 数据处理

数据处理与作图采用 Excel 2019,单因素显著性与方差分析采用 SPSS 21 统计软件进行分析,实验结果采用平均值±标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 金银花浸提液的添加体积选择

复合饮料的感官评分随金银花添加体积增大呈先上升后下降,当金银花浸提液添加体积为 10%时,复合饮料口感协调、风味浓郁、有光泽,感官评分最高,为(83.6±3.56)分,与其他添加添加感官评分差异显著($P<0.05$)。当含量低于 10%的时候,味道较清淡、颜色较浅;金银花添加体积超过 10%后金银花添加体积越大,金银花味道越浓郁;在添加体积为 25%时,味道单一、苦味强烈,掩盖了夏枯草和鸡蛋花的味道,无光泽。因此选择 5%、10%、15%的金银花浸提液进行优化实验。

2.1.2 夏枯草浸提液的添加体积选择

复合饮料的感官评分随着夏枯草添加体积的增大呈先上升后降低,当添加体积为 10%时,感官评价达到最高值(85.5±2.36)分,色泽暗黄、溶液澄清透明、风味佳。当添加体积低于 10%的时候,颜色较浅、无光泽;当添加体积高于 10%的时候,颜色较深、夏枯草味道突出,但味道较差、味道单一,掩盖了其他两种花的味道。因此选择 5%、10%、15%的夏枯草浸提液进行优化实验。

2.1.3 鸡蛋花浸提液的添加体积选择

复合饮料的感官评分随着鸡蛋花添加体积的增大呈先上升后降低。当鸡蛋花添加体积为 30%时,感官评分达到最高值为(92.9±1.32)分,复合饮料澄清透明,风味极佳。体积低于 30%时,鸡蛋花风味不明显,光泽较差甚至无光泽;当体积高于 30%的时候,有少量不溶物、较浑浊,只有鸡蛋花的风味,无另外两种花的味道,味道较单一。因此选择 20%、30%、40%的鸡蛋花浸提液进行优化实验。

2.1.4 白砂糖与柠檬汁比例选择

复合饮料的感官评分随着柠檬汁添加比例的增大呈

先上升后下降;当比例 200:100 (g/mL)时,感官评价达到最高值,为(93.2±2.31)分;与其他配比差异显著($P<0.05$)。当白砂糖与柠檬汁配比大于 200:100 (g/mL)的时候,味道较清淡、甜味较大、风味较差;当白砂糖与柠檬汁配比小于 200:100 (g/mL)的时候,饮料的味道过于酸涩,柠檬风味较重,掩盖了花茶饮料本身茶的风味,整体品质较差。因此选择 200: 80、200:100、200: 120 (g/mL)的白砂糖与柠檬汁比例进行优化实验。

2.2 金银花夏枯草鸡蛋花茶饮料的正交实验

由表 3 中正交实验极差结果可以看出,各因素对饮料的感官评分影响大小分别是 $C>A>B>D$ 。由表 4 可知,因素 D 方差最小,作为误差项进行分析;鸡蛋花浸提液添加体积(C)与金银花浸提液添加体积(A)对复合饮料感官评价影响显著;夏枯草浸提液添加体积(B)影响不显著。由表 3 中 k 值得出各因素的最优水平组合为 $A_2B_1C_2D_3$;从感官评价结果分析,最佳配方也为 $A_2B_1C_2D_3$;两者结果一致,即金银花浸提液的添加体积为 10%,夏枯草浸提液的添加体积为 5%,鸡蛋花浸提液的添加体积为 30%,白砂糖与柠檬汁比例为 200:120 (g/mL)。以 $A_2B_1C_2D_3$ 重复 3 次进行验证实验,由评审小组再次按照感官评定标准从色泽、外观、味道、香气 4 个方面进行打分,取平均值,评分为 93.7±0.8;所研制的饮料澄清透明,有沁人心脾的花香,风味、口感俱佳。

2.3 抗氧化活性检测结果

经测定最佳组合 $A_2B_1C_2D_3$ 中总黄酮平均含量为 0.52 mg/mL,总酚平均含量为 0.90 mg/mL,将复合饮料稀释至一定倍数(以多酚浓度计),与同等质量浓度的 VC 溶液为对照,比较两者的抗氧化活性,结果见表 5。

由表 5 可见,复合饮料和 VC 溶液对 DPPH·、ABTS⁺·和羟自由基清除率变化一致,清除率均随着质量浓度的增加而上升。在复合饮料中多酚与 VC 质量浓度均为 0.50 mg/mL 时,复合饮料对 DPPH·清除率显著高于同等质量浓度 VC ($P<0.05$),说明复合饮料比 VC 对 DPPH·具有更强的清除能力;这可能与复合饮料中含有丰富的黄酮有关,多酚与黄酮产生协同作用,提高了复合饮料对 DPPH·

的清除率^[21];还可能因为复合饮料中的成分能提供更多可利用的氢^[22],因此还原性更强,具有对 DPPH·更强的清除能力。而在 0.50 mg/mL 时,复合饮料对 ABTS⁺·和羟自由基的清除率与 VC 相当($P<0.05$),这可能是复合饮料能提供较多的活性氧,且含有较多的供氢体,从而能够有效清除 ABTS⁺·和羟基自由基^[22-24]。

表 3 正交实验结果
Table 3 Orthogonal experimental results

实验号	A/%	B/%	C/%	D (g/mL)	感官评定总分/分
1	1	1	1	1	80.3
2	1	2	2	2	90.1
3	1	3	3	3	84.3
4	2	1	2	3	92.3
5	2	2	3	1	88.1
6	2	3	1	2	78.3
7	3	1	3	2	83.2
8	3	2	1	3	77.2
9	3	3	2	1	82.1
k_1	84.90	85.27	78.60	83.50	
k_2	86.23	85.13	88.17	83.87	
k_3	80.83	81.57	85.20	84.60	
R	5.40	3.70	9.57	1.10	

2.4 体外模拟胃肠消化系统对抗氧化活性的影响

由表 6 所示,随着消化时间的延长,模拟胃消化系统中复合饮料与 VC 溶液对 DPPH·、ABTS⁺·与羟基自由基的清除率均呈下降趋势;但复合饮料强于 VC 溶液。消化 2.0 h 时,VC 溶液对 DPPH·、ABTS⁺·与羟基自由基的清除率分别为 52.17%、51.64%和 56.67%,比消化前分别下降了 40.36%、40.18%和 36.02%;消化 2.0 h 时,复合饮料对 DPPH·、ABTS⁺·与羟基自由基清除率分别为(0.15%、63.58%和 55.99%,比消化前分别下降了 32.79%、35.19%和 41.71%;与消化前抗氧化差异显著($P<0.05$);经胃液消化后多酚与黄酮结构被修饰或降解^[25],抗氧化活性下降;这与在南酸枣和蓝莓的结果一致^[26-27]。但有的研究表明,胃液是酸性环境,多酚在酸性环境中能稳定存在^[28],

表 4 正交实验方差分析表
Table 4 Analysis of variance of orthogonal test

变异来源	平方和	自由度	均方	F	显著性
校正模型	217.787a	6	36.298	38.569	0.025
截距	63487.201	1	63487.201	67459.836	0.000
A	47.476	2	23.738	25.223	0.038*
B	26.429	2	13.214	14.041	0.066
C	143.882	2	71.941	76.443	0.013*
D(误差)	1.882	2	0.941		
总计	63706.87	9			
校正的总计	299.669	8			

注: *表示差异显著, $P<0.05$ 。

表 5 复合饮料与 VC 溶液对 3 种自由基的清除能力比较(n=3)
Table 5 Comparison of 3 kinds of free radicals scavenging abilities between compound beverage and VC solution (n=3)

质量浓度/(mg/mL)	DPPH·清除率/%		ABTS ⁺ ·清除率/%		羟基自由基清除率/%	
	复合饮料	VC	复合饮料	VC	复合饮料	VC
0.1	56.22±2.23 ^a	55.41±2.67 ^b	80.32±1.78 ^b	90.12±2.66 ^a	55.40±3.86 ^b	78.82±2.35 ^a
0.2	78.89±1.05 ^a	77.62±1.23 ^b	87.56±2.85 ^b	93.56±1.55 ^a	77.56±1.81 ^b	82.23±3.27 ^a
0.3	87.63±1.28 ^a	86.37±1.05 ^b	96.52±1.08 ^b	98.17±2.62 ^a	86.13±2.82 ^a	87.61±3.16 ^b
0.4	92.63±1.68 ^a	90.03±2.52 ^b	97.82±1.27 ^a	98.27±1.14 ^a	90.32±1.10 ^b	91.63±1.23 ^a
0.5	94.66±0.53 ^a	93.77±0.68 ^b	98.21±1.32 ^a	98.73±1.19 ^a	91.46±1.03 ^a	91.97±3.26 ^a

注：不同小写字母表示在 0.05 水平上，复合饮料与相同质量浓度 VC 相比存在显著差异。

与其他物质结合的多酚被水解为游离的酚类物质，使其总量增加^[28-29]；但黄酮结构可能被改变；使总的还原性物质降低，导致还原性降低，自由基清除能力下降；也可能经胃液消化后，复合饮料中生成了一种抗氧化的物质，导致复合饮料对自由基清除能力下降；这需进一步验证。

从表 7 中可以看出，经肠液消化处理后复合饮料与 VC 溶液清除同种自由基的趋势基本一致；但复合饮料比 VC 溶液对 DPPH·、ABTS⁺·与羟基自由基清除能力强，这可能是由于经过肠液处理后，复合饮料中存在协同因子或者多酚与黄酮相互促进，使得复合饮料对自由基的清除能力强于 VC 溶液；随着消化时间的延长，复合饮料与 VC 溶液对 DPPH·与羟基自由基的清除率均呈下降趋势；消化 2.0 h 时，复合饮料对 DPPH·与羟基自由基的清除率分别为 44.33%和 11.48%，比消化前下降了 49.60%和 86.22%；VC 溶液对 DPPH·与羟基自由基的清除率分别为 37.73%和 21.31%，比消化前下降了 56.26%和 59.46%；复合饮料与 VC 溶液对 ABTS⁺·清除率分别为 88.02%和 86.26%，随着消化时间的延长，对 ABTS⁺·清除率先上升，在消化 1.0 h 后，清除率达到最大分别为 92.75%和 89.25%，与消化前差异显著；随着消化时间延长然后下降；消化 2.0 h 时，清除率分别为 87.55%和 84.88%。引起清除率显著下降的原因可能是因为肠液消化系统偏碱性，多酚物质在碱性条件下被降解或分子间发生聚合反应，多酚抗氧化活性降低，使

得对 DPPH·与羟基自由基清除率显著下降^[29]；也可能是复合饮料中存在抑制物或辅助因子^[30]导致对 DPPH·与羟基自由基清除率显著下降；黄酮类化合物在碱性环境中结构不易被破坏，含量无变化^[31]；甚至其他物质可以转化为黄酮，使得黄酮含量增加^[29-33]；抗氧化活性增强或存在协同因子能增强复合饮料的还原性，使得复合饮料对 ABTS⁺·清除率先上升，然后随着消化时间的延长，黄酮含量的增加量小于多酚的降解量或协同作用逐渐减弱，还原性降低^[34]，导致清除率又下降。

3 结 论

以金银花、夏枯草和鸡蛋花为主要材料，结合单因素和正交实验等对饮料进行研究，确定金银花夏枯草鸡蛋花茶饮料的最优配方为 10%金银花浸提液、5%夏枯草浸提液、30%鸡蛋花浸提液、白砂糖与白砂糖比例为 200:120 (g/mL)，在此条件下，成品饮料既有茶草香，又有其各自独有的风味，无其他异味，口感良好，溶液均匀透明。复合饮料中多酚质量浓度为 0.5 mg/mL 时，对 DPPH·、ABTS⁺·和羟自由基清除率分别为 (94.66±0.53)%、(98.21±1.32)% 和 (91.46±1.03)%；其他复合饮料如藏茶玫瑰乌梅无糖复合饮料^[12]、黑木耳黑枸杞复合饮料^[35]、苹果玫瑰醋复合饮料^[36]等对 DPPH·清除率均低于该复合饮料，除藏茶玫瑰乌梅无糖复

表 6 体外模拟胃消化系统复合饮料与 VC 溶液抗氧化活性比较(n=3)
Table 6 Comparison of antioxidant activity between compound tea beverage and VC solution simulating gastric digestive system *in vitro* (n=3)

消化时间/h	DPPH·清除率/%		ABTS ⁺ ·清除率/%		羟基自由基清除率/%	
	复合饮料	VC	复合饮料	VC	复合饮料	VC
0	89.49±3.72 ^a	87.47±4.13 ^a	98.10±3.94 ^a	86.32±4.19 ^a	96.05±2.77 ^a	88.57±3.56 ^a
0.5	74.32±3.89 ^b	73.99±4.21 ^b	86.21±1.39 ^b	77.66±1.19 ^b	88.78±3.68 ^b	78.34±2.64 ^b
1.0	64.53±3.34 ^c	67.81±1.37 ^c	84.79±1.27 ^c	70.05±4.56 ^c	84.94±5.22 ^c	63.70±3.28 ^c
1.5	60.58±2.92 ^d	54.32±2.06 ^d	66.23±2.38 ^d	61.63±3.87 ^d	61.53±4.03 ^d	59.17±1.63 ^d
2.0	60.15±3.43 ^d	52.17±1.86 ^e	63.58±2.53 ^e	51.64±1.44 ^e	55.99±1.69 ^e	56.67±2.01 ^e

注：同列不同小写字母表示不同处理之间在 0.05 水平存在显著差异，下同。

表 7 体外模拟肠消化系统复合饮料与 VC 溶液抗氧化活性比较(n=3)
Table 7 Comparison of antioxidant activity between compound tea beverage and VC solution simulating intestinal digestive system *in vitro* (n=3)

消化 时间/h	DPPH·清除率/%		ABTS ⁺ ·清除率/%		羟基自由基清除率/%	
	复合饮料	VC	复合饮料	VC	复合饮料	VC
0	87.96±4.13 ^a	86.26±3.53 ^a	88.02±1.39 ^c	86.26±1.83 ^b	83.33±2.27 ^a	52.56±1.35 ^a
0.5	78.56±4.36 ^b	73.45±3.75 ^b	89.89±1.72 ^b	88.67±1.52 ^a	82.16±1.32 ^a	48.93±2.96 ^b
1.0	65.66±2.38 ^c	61.27±2.22 ^c	92.75±3.68 ^a	89.25±1.16 ^a	80.74±1.27 ^b	45.01±2.34 ^c
1.5	52.11±4.69 ^d	49.79±3.81 ^d	89.56±1.25 ^b	88.32±1.87 ^a	56.28±2.35 ^c	32.26±2.84 ^d
2.0	44.33±1.62 ^e	37.73±2.96 ^e	87.55±1.86 ^c	84.88±1.22 ^c	11.48±5.63 ^d	21.31±3.55 ^e

合饮料对羟自由基清除率[(93.58±2.21)%]稍高于该复合饮料的清除率, 其他两种饮料对羟自由基清除率均低于该复合饮料的清除率; 说明本研究研制的金银花夏枯草鸡蛋花复合饮料具有很强的抗氧化活性, 能够很好地清除自由基。经胃肠液消化后, 复合饮料与 VC 溶液清除自由基能力均下降, 但复合饮料清除自由基能力强于 VC 溶液, 说明经过胃肠模拟消化系统后, 复合饮料仍具有较强的抗氧化活性, 可清除自由基, 使体内脂质过氧化的进程被阻断, 保护细胞不被氧化损伤, 从而维持细胞正常的生理功能^[37]。本研究研制的复合饮料工艺简单、设备要求低、抗氧化活性强, 作为很有前途的抗氧化保健功能饮品具有投入实际生产意义。

参考文献

[1] 陈康, JOO OY, 李洪军, 等. 响应面法优化金银花凉茶浸提工艺的研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2014, 36(12): 207–214.
CHEN K, JOO OY, LI HJ, *et al.* Optimization of water extraction of *Honeysuckle* herbal tea with the response surface methodology [J]. J Southwest Univ (Nat Sci Ed), 2014, 36(12): 207–214.

[2] YANG L, AGUILAR ZP, QU F. Enhanced antimicrobial activity of silver nanoparticles-*Lonicera japonica* Thunb combo [J]. IET Nanobiotechnol, 2016, 10(1): 28–32.

[3] GE LL, XIAO LY, WAN HQ, *et al.* Chemical constituents from *Lonicera japonica* flower buds and their antihepatoma and anti-HBV activities [J]. Bioorg Chem, 2019. DOI: 10.1016/j.bioorg. 2019. 103198

[4] 朱文卿, 任汉书, 郑媛媛, 等. 金银花的功能性成分及其生物活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(13): 412–426.
ZHU WQ, REN HS, ZHENG YY, *et al.* Research progress in functional components and bioactivity of honeysuckle [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(13): 412–426.

[5] REYAZ HM, MOHAMMAD FB, GIFTY S, *et al.* *Prunella vulgaris* L.: Critical pharmacological, expository traditional uses and extensive phytochemistry: A Review [J]. Curr Drug Discov Technol, 2021, 18: 1–13.

[6] 李超. 药食同源夏枯草多糖的分离纯化、结构鉴定及生物活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
LI C. Isolation, purification and structural identification of polysaccharides from *Prunella vulgaris* Linn and their biological activities [D]. Guangzhou: South China University of Technol, 2015.

[7] WU XH, SONG HL, SUI AX. To explore the mechanism of *Prunella vulgaris* on lymphoma based on network pharmacology and molecular

docking [J]. World Cancer Res J, 2021. DOI: 10.11648/J.CR.J. 20210903.14

[8] WANG SJ, WANG XH, DAI YY, *et al.* *Prunella vulgaris*: A comprehensive review of chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications [J]. Curr Pharm Design, 2019, 25(3): 359–369.

[9] LIN TF, QIU JN, ZHANG S, *et al.* Screening out the anti-insomnia components from *Prunella vulgaris* L. based on plasma pharmaco chemistry combined with pharmacodynamic experiments and UPLC-MS/MS analysis [J]. J Ethnopharmacol, 2021. DOI: org/10.1016/j.jep.2021. 114373

[10] EGWAIKHIDE PA, OKENIYI SO, GIMBA CE. Screening for anti-microbial activity and phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants [J]. J Med Plants Res, 2009, 3(12): 1088–1091.

[11] SITI SPMI, ABDULWALI A, JAMALUDIN M. The antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activity of *Plumeria rubra* flowers [J]. Molecules, 2018. DOI: 10.3390/molecules23020400

[12] 张恒, 郑俏然, 何靖柳, 等. 藏茶玫瑰乌梅无糖复合饮料研制及功能性成分分析与抗氧化研究[J]. 食品科技, 2021, 46(1): 46–51.
ZHANG H, ZHENG QR, HE JL, *et al.* Development, functional components and antioxidant activity of sugar-free compound beverage of tibetan tea, rose and mume fructus [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(1): 46–51.

[13] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, *et al.* A standardized static *in vitro* digestion method suitable for food-An international consensus [J]. Food Funct, 2014, 5(6): 1113–1124.

[14] 孙军涛, 肖付刚, 王思琦. 决明子枸杞金银花复合饮料的研制[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(9): 108–111.
SUN JT, XIAO FG, WANG SQ. Development of a composite beverage of cassia seed, wolfberry and honeysuckle [J]. Food Res Dev, 2017, 38(9): 108–111.

[15] 曹雪文. 大孔树脂对茶多酚提取纯化及茶多酚抗氧化性能的研究[D]. 赣州: 江西理工大学, 2020.
CAO XW. Study on extraction and purification of tea polyphenols by microporous resin and antioxidant properties of tea polyphenols [D]. Ganzhou: Jiangxi University of Science and Technology, 2020.

[16] 张锦华, 徐蔓, 白宝清, 等. 响应面法优化提取无花果干果中多酚和总黄酮物质及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2018, 39(16): 183–191.
ZHANG JH, XU M, BAI BQ, *et al.* Optimization of extraction of polyphenols and total flavonoids from dried figs by response surface methodology and antioxidant activity analysis [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(16): 183–191.

[17] 王思溥, 朱丹, 宁志雪, 等. 黑果腺肋花楸果汁饮料研制及其品质与抗氧化性评价[J]. 食品工业科技, 2021, 42(20): 86–93.
WANG SP, ZHU D, NING ZX, *et al.* Preparation of black chokeberry

- juice beverage and evaluation of its quality and antioxidant activity [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, 42(20): 86–93.
- [18] 吴丽, 谢小青, 唐春红, 等. 复合菌种发酵条件对猕猴桃饮料抗氧化活性的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(24): 9514–9520.
- WU L, XIE XQ, TANG CH, *et al*. Effects of fermentation conditions of compound strains on antioxidant activity of fermented kiwifruit beverage [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(24): 9514–9520.
- [19] 封易成, 牟德华. 体外模拟胃肠消化过程中山楂的活性成分及抗氧化性规律[J]. *食品科学*, 2018, 39(7): 139–145.
- FENG YC, MOU DH. Changes in active components and antioxidant activity of hawthorn during simulated gastrointestinal digestion *in vitro* [J]. *Food Sci*, 2018, 39(7): 139–145.
- [20] 倪达美, 夏道宗, 许蕾婷. 安吉白茶、桑叶复合功能性饮料的研制及其抗氧化性研究[J]. *中国食物与营养*, 2010, (10): 58–61.
- NI DM, XIA DZ, XU LT. The development and antioxidant properties of compound functional beverage with Anji Baicha (*Camellia sinensis*) and *Morus alba* leaves [J]. *Food Nutr China*, 2010, (10): 58–61.
- [21] 尹世磊, 赵谋明, 滕建文, 等. 六堡茶在体外模拟胃肠道消化过程中的成分变化与抗氧化活性变化[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(8): 88–94.
- YIN SL, ZHAO MM, TENG JW, *et al*. Changes in the components and antioxidant activity of Liu bao tea during gastrointestinal digestion [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2017, 33(8): 88–94.
- [22] 胡迎芬, 丁皓玥, 魏玉西, 等. 花生粕黄酮类物质的提取及抗氧化活性研究[J]. *中国油脂*, 2017, 42(9): 141–144.
- HU YF, DING HY, WEI YX, *et al*. Extraction of flavonoids from peanut meal and its antioxidant activity [J]. *China Oils Fats*, 2017, 42(9): 141–144.
- [23] 徐文洪, 唐小兰, 余婧, 等. 杜仲叶茶与蓝锭果提取物的体外抗氧化性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(7): 2540–2545.
- XU WY, TANG XL, YU J, *et al*. Study on *in vitro* antioxidant activity of *Eucommia ulmoides* leaves tea and honeysuckle extracts [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(7): 2540–2545.
- [24] 万佳佳, 许巧, 张磊. 桂花固体饮料的研制及其体外抗氧化性评价[J]. *重庆师范大学学报(自然科学版)*, 2017, 34(6): 110–116.
- WAN JJ, XU Q, ZHANG L. Development of *Osmanthus fragrans* solid beverage and evaluation of its antioxidant activities [J]. *J Chongqing Norm Univ (Nat Sci)*, 2017, 34(6): 110–116.
- [25] BAO T, LI Y, XIE J, *et al*. Systematic evaluation of bioactive components and antioxidant capacity of some new and common bayberry cultivars using an *in vitro* gastrointestinal digestion method [J]. *Food Res Int*, 2018, 103: 326–334.
- [26] 王谢祎, 翟宇鑫, 李倩, 等. 南酸枣在模拟消化过程中抗氧化活性及多酚含量分析[J]. *食品科学*, 2016, 37(11): 7–11.
- WANG XY, ZHAI YX, LI Q, *et al*. Changes in antioxidant activity and phenol content in *Choerospondias axillaris* fruits during simulated gastrointestinal digestion [J]. *Food Sci*, 2016, 37(11): 7–11.
- [27] 刘翼翔, 吴永沛, 籍保平. 蓝莓多酚在胃肠消化过程中的成分变化与抗氧化活性[J]. *中国食品学报*, 2016, (10): 197–203.
- LIU YX, WU YP, JI BP. Changes of component and antioxidative activity of blueberry polyphenols subjected to a simulated digestion process [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2016, (10): 197–203.
- [28] FRIDMAN M, JÜRGENS HS. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(6): 2101–2110.
- [29] 翟宇鑫. 体外模拟消化条件下南酸枣中酚类化合物抗氧化性的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
- ZHAI YX. Phenolic compounds and antioxidant properties of *Choerospondias axillaris* affected by *in vitro* diaestion [D]. Nanchang: Nanchang university, 2015.
- [30] 刘静敏, 史静兰, 鲁江, 等. 体外模拟胃肠消化过程中四种茶叶活性成分及抗氧化性变化规律[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(1): 301–305, 306.
- LIU JJ, SHI JL, LU J, *et al*. Changes of active constituents and antioxidant properties of four kinds of tea during gastrointestinal digestion *in vitro* [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, 41(1): 301–305, 306.
- [31] PAVAN V, SANCHEZ RAS, PASTORE GM. The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Craica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravi*) [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2014, 59(2): 1247–1251.
- [32] KAMILOGLU S, PASLI AA, OZCELIK B, *et al*. Influence of different processing and storage conditions on *in vitro*, bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades [J]. *Food Chem*, 2015, 186: 74.
- [33] KAMILOGLU S, PASLI AA, OZCELIK B, *et al*. Influence of different processing and storage conditions on *in vitro*, bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades [J]. *Food Chem*, 2015, 186: 74.
- [34] TUBA AK, ILHAMI G. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin [J]. *Chem Biol Interact*, 2008, 174(1): 27–37.
- [35] 秦丹丹, 曹慧馨, 白洋, 等. 黑木耳黑枸杞复合饮料研制及其体外抗氧化性[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(3): 108–116.
- QIN DD, CAO HX, BAI Y, *et al*. Study on preparation of *Auricularia auricular* and *Lycium ruthenicum* Murr. compound beverage and its antioxidant activity [J]. *Food Res Dev*, 2020, 41(3): 108–116.
- [36] 张霁红, 康三江, 曾朝珍, 等. 苹果玫瑰醋复合饮料营养成分及抗氧化性分析[J]. *中国酿造*, 2020, 39(1): 198–202.
- ZHANG JH, KANG SJ, ZENG CZ, *et al*. Analysis of nutritional composition and antioxidant activity of apple rose vinegar compound beverage [J]. *China Brew*, 2020, 39(1): 198–202.
- [37] 孙丽萍, 王大仟, 张智武. 11种天然植物提取物对DPPH自由基的清除作用[J]. *食品科学*, 2009, 30(1): 45–47.
- SUN LP, WANG DQ, ZHANG ZW. 2,2-diphenyl-picrylhydrazyl radical scavenging activities of eleven species of natural plant extracts [J]. *Food Sci*, 2009, 30(1): 45–47.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



王冬雪, 硕士生, 主要研究方向为营养代谢免疫学。
E-mail: 450990633@qq.com



陈凤真, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品功能物质研究。
E-mail: duoduo12008@163.com