

# 基于响应面法优化沙棘普洱茶粉水提工艺及体外抗氧化能力评价研究

张靖鹏,翟宇晴,张得钧  
(青海大学 生态环境工程学院,青海 西宁 810016)

**摘要:**以沙棘普洱茶粉水提液中可溶性固形物为响应值,基于单因素及 Box-Behnken 响应面法优化实验研究不同料液比、时间、温度、pH 的影响.对不同原料配比下的沙棘普洱茶粉进行有效成分检测及体外抗氧化实验,分析、评价其体外抗氧化能力.得到沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=4:1)的最优水提工艺条件为料液比(原料:水)为 1:8(g/mL)、提取温度为 79℃、提取时间为 3 h、pH 为 8.3.沙棘普洱茶粉的活性成分含量较单一茶粉有所提高,对 DPPH(2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl)、ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)、CuPRAC(Cupric Reducing Antioxidant Power)及 FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power)均具有较强的清除能力,制备的沙棘普洱茶粉均具有较好的体外抗氧化作用,为沙棘、普洱茶资源利用及功能性茶粉的开发提供一定参考.

**关键词:**沙棘茶粉;普洱茶粉;水提工艺;响应面法;体外抗氧化

**中图分类号:**TS272.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-8513(2024)01-0031-10

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)是胡颓子科沙棘属植物,其果实中含有维生素 C、维生素 E、氨基酸、胡萝卜素、黄酮类、多酚类等多种生物活性物质,而其叶片中富含茶多酚、氨基酸、脂肪、咖啡碱等成分<sup>[1]</sup>.经对沙棘叶分别以甲醇、水、无水乙醇、丙酮、乙酸乙酯为提取剂进行提取,发现其提取物均具有一定的抗氧化活性<sup>[2]</sup>.此外,研究发现沙棘叶提取物<sup>[5]</sup>具有调节糖代谢及降糖功效.经验证,10%沙棘叶含药血清可降低高脂细胞模型的脂质累积和降低细胞内的 TG、TC 水平<sup>[3]</sup>.此外,沙棘叶可以通过抗氧化酶的水平进而减低黄曲霉毒素产生的氧化应激作用<sup>[4]</sup>.

普洱茶是由毛茶[*Camellia sinensis* (Linn.) var. *assamica* (Masters) Kitamura]的鲜叶制作而成的,期间经晒青、杀青、揉捻、日晒等工序,再采用特殊的“渥堆”工艺后发酵而成<sup>[5]</sup>.研究表明,普洱茶中富含茶多酚、咖啡碱、茶素、茶单宁、维生素等活性成分,具有降血脂<sup>[6]</sup>、缓解酒精性脂肪肝<sup>[7]</sup>及抗氧化<sup>[8]</sup>等功效,而其具有的降血脂的作用可能是通过影响鲨烯合成酶催化水平,抑制胆固醇合成,降低细胞内胆固醇浓度及参与肝细胞代谢过程实现的<sup>[6]</sup>.

茶粉又称茶精、速溶茶,是以成品茶为原料,经提取、浓缩、喷雾干燥等工艺制成的粉末或颗粒状产品<sup>[9]</sup>.目前,普洱茶粉制备工艺较为完善,产品稳定性较高<sup>[10]</sup>.茶粉的提取方法包括水浸提法<sup>[11]</sup>、乙醇浸提法<sup>[12]</sup>及酶解法<sup>[13]</sup>,其提取液中的可溶性固形物含量是评价茶粉提取率的重要指标之一<sup>[11]</sup>,而得到的茶粉具有较高的茶褐素含量<sup>[14]</sup>,具有较茶相比具有更好的降血脂功效<sup>[15]</sup>.而复配茶提取液具有更好的口感,如沙棘叶与罗汉果、金银花复配,经提取、加入甜味剂和酸味剂制得的复合茶饮料色泽清亮,茶香自然清新,口感清爽<sup>[16]</sup>.综上所述,将沙棘叶与普洱茶经复配、提取、干燥可能制备出具有更高饮用价值的茶粉.

DPPH、ABTS 因反应稳定、易操控等特点是体外自由基清除能力评价实验中常用的指示剂,而总还原能

收稿日期:2023-02-01.

基金项目:国家自然科学基金(2020ZJ922).

作者简介:张靖鹏(1985-),男,硕士,助理工程师.主要从事天然产物应用与开发研究.

通信作者:张得钧(1975-),男,博士,教授.主要从事天然产物应用与开发研究.

力(ferric reducing antioxidant power, FRAP)与铜离子还原能力(cupric reducing antioxidant power, CuPRAC)则是通过还原金属离子进行的评估的一种体外抗氧化方法<sup>[17]</sup>。

基于生产成本考虑,首先选择原料配比(沙棘叶:普洱茶末=4:1)为研究对象,通过采用单因素分析、Box-Behnken 响应面优化沙棘普洱茶水提工艺,后对不同原料配比的沙棘普洱茶粉进行体外抗氧化实验,进而对沙棘普洱茶粉的制备及功效进行初步研究,进而为沙棘、普洱综合加工、利用提供一定理论及实践参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂及设备

沙棘叶(青海西宁大通县);普洱茶末(云南茶东家茶叶有限公司,云南昆明);DPPH、ABTS;2,9-二甲基-1,10-菲啉(新亚铜灵);L-抗坏血酸标准品(Vc)(Scientific Phygene);FRAP(T-AOC)试剂盒(南京建成生物工程研究所);其余试剂均为国产分析纯;紫外可见分光光度计(754PC)(上海元析仪器有限公司);酶标仪(ST-360)(上海科华生物工程股份有限公司);数显恒温水浴锅(HH-4)(天津赛得利斯实验分析仪器制造厂);喷雾干燥机组(LPG-5)(江苏先锋干燥工程有限公司);旋转蒸发仪(R5002K)(上海夏丰实业有限公司);数字阿贝折光仪(WYA-3S)(上海仪电物理光学仪器有限公司);紫外可见分光光度计(754PC)(上海元析仪器有限公司);酶标仪(ST-360)(上海科华生物工程股份有限公司)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 沙棘普洱茶粉工艺

将沙棘叶粉碎并与普洱茶末按照配料比(沙棘叶:普洱茶末=4:1)混合,加入纯净水,浸泡0.5 h后,在一定温度、pH、时间下进行水提,后进行浓缩、喷雾干燥,最终得到沙棘普洱茶粉。

#### 1.2.2 单因素试验

以不同料液比、提取时间、提取温度与pH进行单因素试验,考察不同因素对沙棘普洱茶粉料液中可溶性固形物的影响。除变化量外,试验固定料液比为1:8(g/mL),提取温度为80℃,提取时间为3 h,pH为7,分别研究料液比(1:6、1:7、1:8、1:9、1:10 g/mL),提取温度(60、70、80和90℃、沸腾),提取时间(1、2、3、4和5 h),pH(5、6、7、8、9)对可溶性固形物的影响。

#### 1.2.3 响应面试验设计

根据单因素确定3个水平,以料液比、提取时间、提取温度与pH为试验因素,以可溶性固形物为响应值,采取Box-Behnken中心组合法进行4因素3水平试验设计,试验因素水平见表1。

表1 响应面试验因素水平设计

| 水平 | 因素    |          |          |         |
|----|-------|----------|----------|---------|
|    | A 料液比 | B 水提温度/℃ | C 水提时间/h | D 底物 pH |
| -1 | 1:6   | 70       | 2        | 7       |
| 0  | 1:7   | 80       | 3        | 8       |
| 1  | 1:8   | 90       | 4        | 9       |

#### 1.2.4 理化检测

检测料液中可溶性固形物使用《GB/T 12143 饮料通用分析方法》中可溶性固形物的检测方法。检测不同沙棘叶、普洱茶末原料配比下沙棘普洱茶粉产品中相关活性化合物含量(包括:沙棘总黄酮、儿茶素、茶多酚及茶褐素),检测方法:沙棘总黄酮参照《中国药典2020年第一部》沙棘项下,茶多酚、儿茶素参照《GB/T 8313—2018 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法》,茶褐素参照《NY/T 3675—2020 红茶中茶红素和茶褐素含量的测定分光光度法》。

#### 1.2.5 体外抗氧化能力评价

按照最优提取工艺参数,分别对沙棘叶、普洱茶末及不同沙棘叶、普洱茶末配比(1:1、1:4、4:1)的沙棘普洱茶粉进行提取,后经浓缩、干燥制备得到茶粉样品。

分别称取沙棘茶粉、普洱茶粉、沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:1)、沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶

末 = 1:4)、沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末 = 4:1)及 Vc 3.5 mg/mL 样本溶液,对上述样本溶液依次进行梯度稀释,得到 1.0、2.0、2.5、3.0、3.5 mg/mL 浓度梯度的样本及对照品溶液。

1) DPPH 抗氧化能力测定 称 2 mg DPPH,用乙醇溶解定容至 25 mL,得到 DPPH 储备液.吸取 DPPH 储备液 15 mL 并用乙醇定容至 25 mL,得到 DPPH 工作液.于 96 孔板中加入 200  $\mu$ L 的 DPPH 工作液,再各自加入 5  $\mu$ L 样本溶液和 5  $\mu$ L Vc 溶液,分别作为样品组和阳性对照组,每隔 5 min 于 517 nm 波长下测定 OD 值,直至测至 30 min,空白对照组以乙醇代替样本溶液. DPPH 自由基清除率计算公式为:

$$\text{清除率}(\%) = (\text{OD}_1 - \text{OD}_2) / \text{OD}_1 \times 100\% \quad (1)$$

式中,  $\text{OD}_1$  为空白对照组吸光度,  $\text{OD}_2$  为样本组吸光度。

2) ABTS 抗氧化能力测定 称 ABTS 57.6 mg,用 0.02 mol/L 醋酸缓冲液溶解,定容至 15 mL.称过硫酸钾 6.6 mg,用 0.02 mol/L 醋酸缓冲液溶解,定容至 10 mL.取 5 mL ABTS 溶液和 5 mL 过硫酸钾溶液,混匀后避光反应 12 h,得到 ABTS 母液.吸取 280  $\mu$ L ABTS 母液,用 0.02 mol/L 醋酸缓冲液稀释至 6.5 mL,避光反应 30 min 后,即得 ABTS 工作液。

于 96 孔板中加入 200  $\mu$ L 的 ABTS 工作液,再各自加入 10  $\mu$ L 样本溶液和 10  $\mu$ L Vc 溶液,分别作为样品组和阳性对照组.每隔 10 min 于 734 nm 波长下测定 OD 值,直至测至 60 min,空白对照组以乙醇代替样本溶液. ABTS 自由基清除率计算公式为:

$$\text{清除率}(\%) = (\text{OD}_1 - \text{OD}_2) / \text{OD}_1 \times 100\% \quad (2)$$

式中,  $\text{OD}_1$  为空白对照组吸光度,  $\text{OD}_2$  为样本组吸光度。

3) FRAP 抗氧化能力测定 以试剂盒提供的实验方法进行实验,于比色皿中加入 1 800  $\mu$ L FRAP 工作液,再分别加入 50  $\mu$ L 样本溶液,将其置于 25 ~ 37  $^{\circ}$ C 下孵育 10 min,于 520 nm 波长下检测吸光度,根据吸光度计算公式:

$$\text{总抗氧化能力}(\text{U/mL}) = (A_1 - A_2) / 0.01 \div T \times V_1 / V_2 \quad (3)$$

式中,  $A_1$  为测定组吸光度,  $A_2$  为空白组吸光度,  $T$  为反应时间(30 min),  $V_1$  为取样量(mL),  $V_2$  为反应液总体积(mL)。

4) CuPRAC 抗氧化能力测定 称取  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  4.28 mg 加水溶解,定容 25 mL,摇匀备用;称 19.27 g 醋酸铵加水溶解,定容至 250 mL,摇匀备用;称取 164.89 mg 新亚铜灵(2,9-二甲基-1,10-菲啰啉)加无水乙醇溶解,定容至 100 mL,摇匀,避光保存。

吸取新亚铜灵溶液、 $\text{CuCl}_2$  溶液和醋酸铵溶液各 1 mL,分别加入 Vc(3.5 mg/mL)溶液 10、20、30、40、50、60  $\mu$ L 后用无水乙醇补足 4 mL,避光反应 30 min 后在 450 nm 波长下检测 OD 值.做标准曲线,得回归方程.样本溶液按上述操作加入,加入样品 2.5  $\mu$ L,反应 30 min 后于 450 nm 波长下检测 OD 值.根据样品 OD 值,带入回归方程得到对应的清除 Vc -  $\text{Cu}^{2+}$  还原能力值。

### 1.2.6 数据分析

试验数据使用 SPSS 17 软件对数据进行统计分析,每个实验重复 3 次.试验数据使用 SPSS 17 软件进行统计分析.数据采用单因素 ANOVA 分析,以评价两组差异的显著性.使用 Design Expert V8.0.5 软件对响应面模型进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果及分析

#### 2.1.1 料液比对沙棘普洱茶料液中可溶性固形物的影响

由图 1 可知,当料液比在 1:5 ~ 1:7 时,料液的可溶性固形物随着水添加量的增加而增加,说明增加水添加量促进原料中水溶性成分溶出<sup>[18]</sup>.当料液比增加至 1:8 以上时,料液中的可溶性固形物含量明显下降,这是由于过多水对料液起到稀释作用<sup>[19]</sup>。

#### 2.1.2 水提温度对沙棘普洱茶料液中可溶性固形物的影响

由图 2 可知,当温度在 60 ~ 80  $^{\circ}$ C 时,料液中的可溶性固形物不断增加,说明温度升高可以明显提高原料中水溶性成分溶出.当温度增加至 80  $^{\circ}$ C 以上时,料液中可溶性固形物出现轻微下降及逐步稳定现象,这

可能是达到一定温度后,使水溶性物质已基本完全溶出且温度过高会破坏部分活性成分,故而使得温度对其影响不再明显<sup>[19]</sup>.

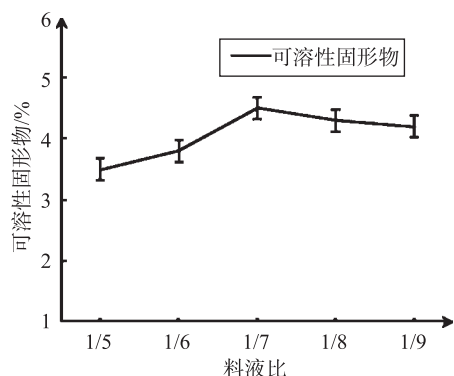


图 1 料液比对沙棘普洱茶粉料液中可溶性固形物的影响

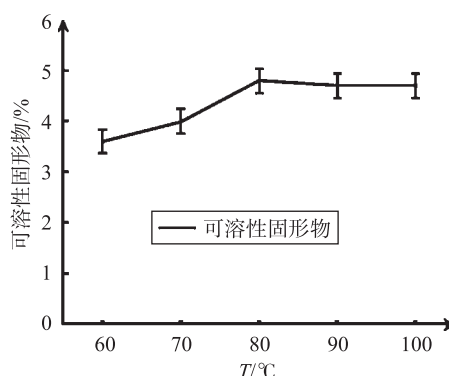


图 2 水提温度对沙棘普洱茶料液中可溶性固形物的影响

### 2.1.3 水提时间对沙棘普洱茶料液中可溶性固形物的影响

由图 3 可知,在提取时间在 3 h 以内时,料液中的可溶性固形物不断增加,说明随时间增加原料中水溶性成分会不断溶出.当将提取时间增加至 4 h 以上时,料液中可溶性固形物会逐步稳定,这可能是一段时间后,水溶性物质已基本溶出且部分活性成分有所损失,故而料液中的可溶性固形物含量不再增加<sup>[19]</sup>.

### 2.1.4 pH 对沙棘普洱茶料液中可溶性固形物的影响

由图 4 可知,料液中 pH 值在 8 以下时,料液中的可溶性固形物不断增加,当将 pH 值增加至 9 时,料液中可溶性固形物略有下降,这可能是由于过碱环境不利于茶多酚等物质溶出,故而导致料液中的可溶性固形物含量有所下降<sup>[19]</sup>.

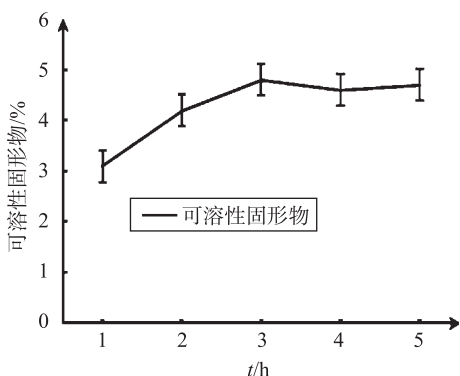


图 3 水提时间对沙棘普洱茶料液中可溶性固形物的影响

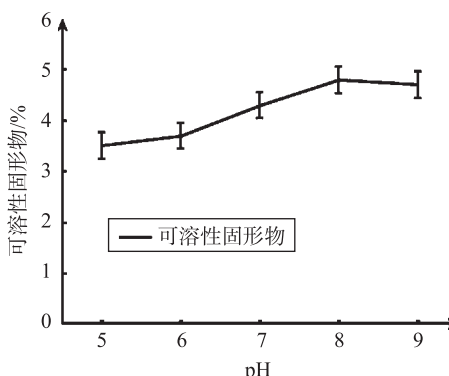


图 4 pH 对沙棘普洱茶料液中可溶性固形物的影响

## 2.2 响应面优化分析

### 2.2.1 响应面实验结果

在单因素的基础上,选取料液比(A)、水提温度(B)、水提时间(C)、pH(D) 4 个因素为变量,以沙棘普洱茶料液中可溶性固形物为响应值,采用 Design - Expert 8.0.6 统计软件进行 4 因素 3 水平试验.实验设计及结果如表 2 所示.

采用 Design - Expert 8.0.6 软件对试验结果进行二次多元回归分析,对自变量 A、B、C、D 和可溶性固形物进行多元二项式方程拟合.回归方程,如下:

$$Y = -64.80417 - 2.48333 \times A + 0.58 \times B + 2.50833 \times C + 9.27500 \times D + (5.00000E - 003) \times A \times B + 0.025 \times A \times C + 0.2A \times D - (5.00000E + 003) \times B \times C + 0.025000 \times B \times D + 0.12500 \times C \times D - 0.42083 \times A^2 - (5.08333E + 003) \times B^2 - 0.58333 \times C^2 - 0.62083 \times D^2$$

表2 响应面实验设计及结果

| 试验号 | 因素   |    |   |    | 溶性固形物含量/% |
|-----|------|----|---|----|-----------|
|     | A    | B  | C | D  |           |
| 1   | 1:9  | 70 | 3 | 9  | 3.70      |
| 2   | 1:8  | 80 | 2 | 8  | 3.40      |
| 3   | 1:8  | 70 | 4 | 9  | 3.70      |
| 4   | 1:8  | 90 | 3 | 8  | 2.60      |
| 5   | 1:7  | 80 | 3 | 10 | 4.20      |
| 6   | 1:7  | 80 | 4 | 9  | 3.50      |
| 7   | 1:8  | 80 | 4 | 8  | 2.70      |
| 8   | 1:7  | 70 | 3 | 9  | 4.30      |
| 9   | 1:9  | 90 | 3 | 9  | 3.30      |
| 10  | 1:9  | 80 | 3 | 10 | 4.20      |
| 11  | 1:8  | 80 | 4 | 10 | 3.80      |
| 12  | 1:7  | 90 | 3 | 9  | 3.70      |
| 13  | 1:8  | 90 | 2 | 9  | 3.70      |
| 14  | 1:9  | 80 | 2 | 9  | 3.80      |
| 15  | 1:9  | 80 | 4 | 9  | 3.20      |
| 16  | 1:8  | 70 | 3 | 10 | 4.00      |
| 17  | 1:9  | 80 | 3 | 8  | 2.80      |
| 18  | 1:8  | 80 | 3 | 9  | 4.90      |
| 19  | 1:8  | 90 | 3 | 10 | 4.10      |
| 20  | 1:7  | 80 | 3 | 8  | 3.60      |
| 21  | 1:7  | 80 | 2 | 9  | 4.20      |
| 22  | 1:8  | 70 | 2 | 9  | 4.10      |
| 23  | 1:8  | 80 | 2 | 10 | 4.00      |
| 24  | 01:8 | 80 | 3 | 9  | 4.70      |
| 25  | 1:8  | 80 | 3 | 9  | 4.60      |
| 26  | 1:8  | 80 | 3 | 9  | 4.70      |
| 27  | 1:8  | 70 | 3 | 8  | 3.50      |
| 28  | 1:8  | 80 | 3 | 9  | 4.60      |
| 29  | 1:8  | 90 | 4 | 9  | 3.10      |

### 2.2.2 响应面方差分析

对回归方程进行方差分析,结果见表3. 回归方程显著性检验  $P < 0.05$ ,表明模型具有显著性;失拟项  $P = 0.8260 > 0.05$ ,表明方程拟合程度较高,无明显失拟存在,此模型成立<sup>[20]</sup>.

可溶性固形物的响应面图见图5~10,响应面图可以直观地反映各因素间的交互作用及各因素与响应值间的关系. 响应面坡度越陡表示两因素交互作用越大,反之则表示两因素交互作用不显著. 等高线呈圆形表示两因素之间交互作用不显著,呈椭圆形或马鞍形则表示两因素之间交互作用显著<sup>[20]</sup>.

表3 方差分析结果

| 方差来源 | 平方和                    | 自由度 | 均方                     | F      | P        | 显著性 |
|------|------------------------|-----|------------------------|--------|----------|-----|
| 模型   | 10.13                  | 14  | 0.72                   | 74.54  | <0.000 1 | 显著  |
| A    | 0.52                   | 1   | 0.52                   | 53.68  | <0.000 1 | 显著  |
| B    | 0.65                   | 1   | 0.65                   | 67.34  | <0.000 1 | 显著  |
| C    | 0.85                   | 1   | 0.85                   | 87.95  | <0.000 1 | 显著  |
| D    | 2.71                   | 1   | 2.71                   | 279.06 | <0.000 1 | 显著  |
| AB   | $1.000 \times 10^{-2}$ | 1   | $1.000 \times 10^{-2}$ | 1.03   | 0.327 2  |     |
| AC   | $2.500 \times 10^{-3}$ | 1   | $2.500 \times 10^{-3}$ | 0.26   | 0.619 6  |     |
| AD   | 0.16                   | 1   | 0.16                   | 16.49  | 0.001 2  | 显著  |
| BC   | $1.000 \times 10^{-2}$ | 1   | $1.000 \times 10^{-2}$ | 1.03   | 0.327 2  |     |
| BD   | 0.25                   | 1   | 0.25                   | 25.77  | 0.000 2  | 显著  |
| CD   | 0.063                  | 1   | 0.063                  | 6.44   | 0.023 7  | 显著  |

续表 3

| 方差来源           | 平方和   | 自由度 | 均方                       | F      | P        | 显著性 |
|----------------|-------|-----|--------------------------|--------|----------|-----|
| A <sup>2</sup> | 1.15  | 1   | 1.15                     | 118.40 | <0.000 1 | 显著  |
| B <sup>2</sup> | 1.68  | 1   | 1.68                     | 172.75 | <0.000 1 | 显著  |
| C <sup>2</sup> | 2.21  | 1   | 2.21                     | 227.49 | <0.000 1 | 显著  |
| D <sup>2</sup> | 2.50  | 1   | 2.50                     | 257.68 | <0.000 1 | 显著  |
| 残差             | 0.14  | 14  | 9.702 × 10 <sup>-3</sup> |        |          |     |
| 失拟项            | 0.076 | 10  | 7.583 × 10 <sup>-3</sup> | 0.51   | 0.826 0  | 不显著 |
| 纯误差            | 0.060 | 4   | 0.015                    |        |          |     |
| 总和             | 10.26 | 28  |                          |        |          |     |

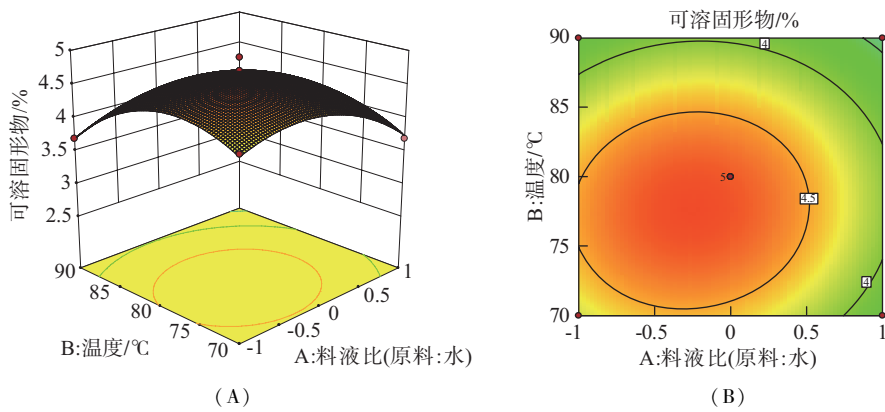


图 5 提取温度和料液比的响应面 (A) 和等高线图 (B)

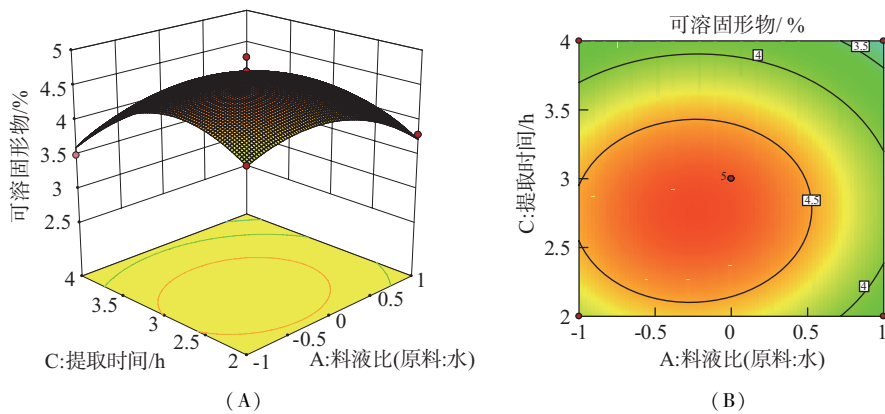


图 6 提取时间和料液比的响应面 (A) 和等高线图 (B)

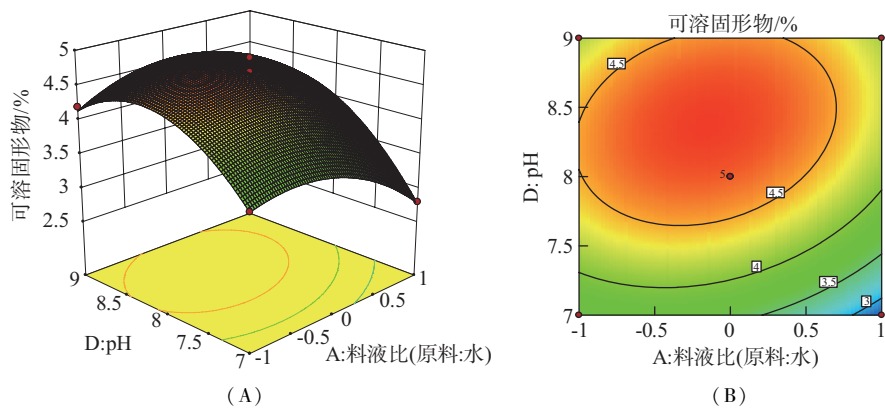


图 7 pH 和料液比的响应面 (A) 和等高线图 (B)

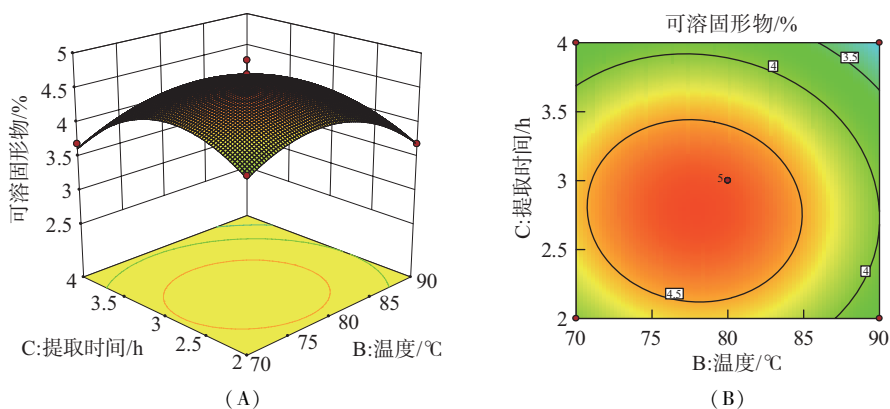


图 8 提取时间和提取温度的响应面 (A) 和等高线图 (B)

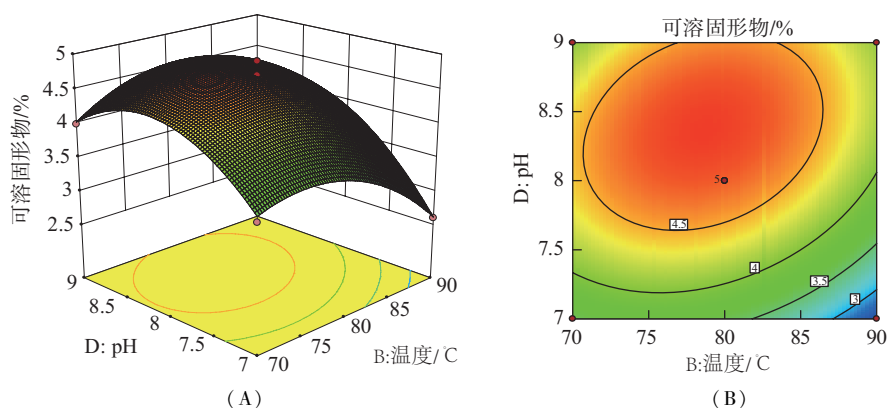


图 9 提取温度和 pH 的响应面 (A) 和等高线图 (B)

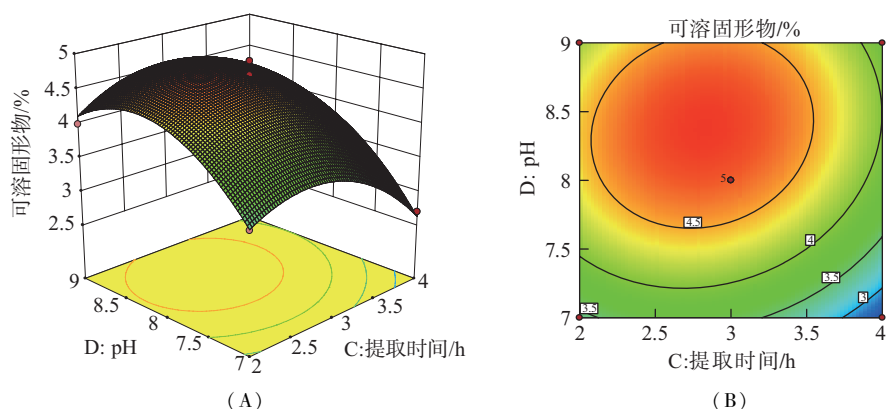


图 10 pH 和提取时间的响应面 (A) 和等高线图 (B)

经软件分析,沙棘普洱茶粉的最佳工艺是:料液比为 1:8 (g/mL),提取温度为 78.4 °C,提取时间为 2.8 h,pH 为 8.3,预测可溶性固形物为 4.9%。为了便于控制实验条件,将最佳工艺调整为料液比为 1:8 (g/mL)、提取温度为 79 °C,提取时间为 3 h,底物 pH 为 8.3。应此条件进行 3 次平行试验,平均可溶性固形物含量为 4.8% ± 0.1% (RSD < 2%),与预测值接近,说明该模型可用于拟合分析,结果稳定可靠,也与其他研究的相关提取参数一致<sup>[13,21]</sup>。

### 2.3 不原料配比下沙棘普洱茶粉活性成分检测及体外抗氧化实验结果

#### 2.3.1 不同原料配比下沙棘普洱茶粉活性成分检测

由表 4 所示,5 种配比的沙棘普洱茶粉均含有相关活性物质,其中普洱茶粉中各成分含量较高,沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末 = 4:1)为 3 种混合茶粉中活性成分含量最高的,此外沙棘茶粉中沙棘总黄酮含量相对较高。

表4 样品理化指标检测

(mg/100g)

| 检测项目  | 样品名称   |        |                          |                          |                          |
|-------|--------|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|       | 沙棘茶粉   | 普洱茶粉   | 沙棘普洱茶粉<br>(沙棘叶:普洱茶末=1:1) | 沙棘普洱茶粉<br>(沙棘叶:普洱茶末=1:4) | 沙棘普洱茶粉<br>(沙棘叶:普洱茶末=4:1) |
| 茶多酚   | 20 700 | 25 700 | 24 600                   | 16 700                   | 19 300                   |
| 儿茶素   | 100    | 162    | 280                      | 470                      | 830                      |
| 茶褐素   | 530    | 630    | 310                      | 630                      | 410                      |
| 沙棘总黄酮 | 61     | 29     | 16                       | 34                       | 44                       |

### 2.3.2 DPPH 自由基清除能力测定

由图 11 所示,在相同活性成分浓度含量、反应时间条件下,沙棘茶粉与沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=4:1)的 DPPH 自由基清除能力最强,普洱茶粉和沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:4)均有较强的清除能力,沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:1)最弱,且均有剂量依赖性.其中,沙棘茶粉及沙棘普洱茶粉的  $IC_{50}$ (半清除率浓度)均在 1.0 mg/mL 以下.45 min 时,3.5 mg/mL 的不同溶液对 DPPH 自由基清除能力为:Vc > 沙棘茶粉 > 普洱茶粉 > 沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=4:1) > 沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:4) > 沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:1).

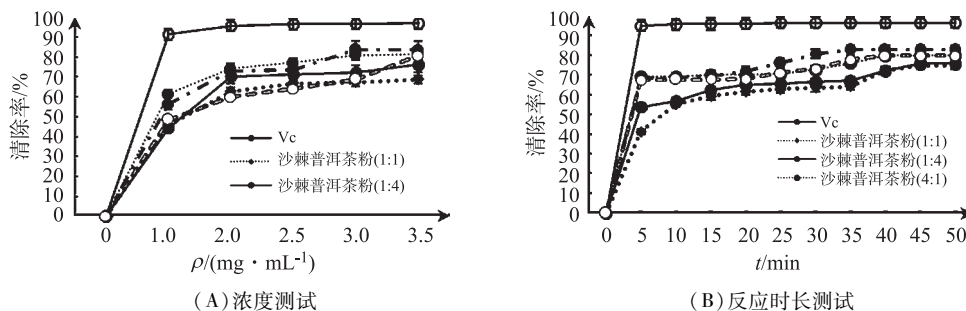


图 11 DPPH 抗氧化试验

### 2.3.3 ABTS 自由基清除能力测定

由图 12 所示,在测定范围内,沙棘茶粉与沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=4:1)的 ABTS 自由基清除能力最强,普洱茶粉与沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:4)对 ABTS 的清除能力基本一致,而沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:1)清除能力相对较弱,所有测试成分均具有剂量依赖性,而所有茶粉的  $IC_{50}$  均在 1.0 mg/mL 以下.40 min 时,3.5 mg/mL 的不同活性成分溶液对 ABTS 自由基清除能力为:Vc > 沙棘茶粉 > 沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=4:1) > 普洱茶粉 > 沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:4) > 沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:1).

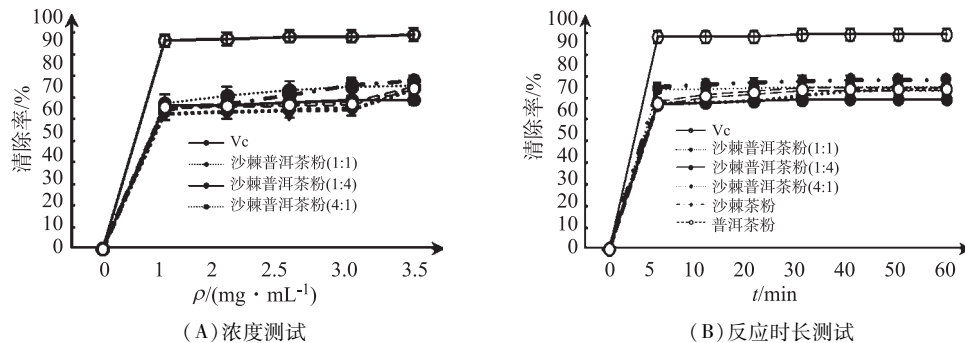


图 12 ABTS 抗氧化试验

### 2.3.4 FRAP 抗氧化能力测定

由图 13 可知,普洱茶粉、沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末=1:4)对 FRAP 铁离子均有较强的还原能力,而沙棘茶粉则相对较弱.

### 2.3.5 CuPRAC 抗氧化能力测定

由图 14 可知,从清除率来看,沙棘普洱茶粉(1:4)对  $\text{Cu}^{2+}$  离子的还原能力最强,普洱茶粉次之,沙棘普洱茶粉(4:1)也有较强还原能力,而沙棘茶粉及沙棘普洱茶粉(1:1)还原能力相对较弱,且均呈现剂量依赖性。

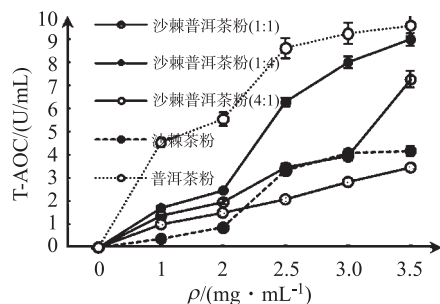


图 13 FRAP 抗氧化试验 (浓度测试)

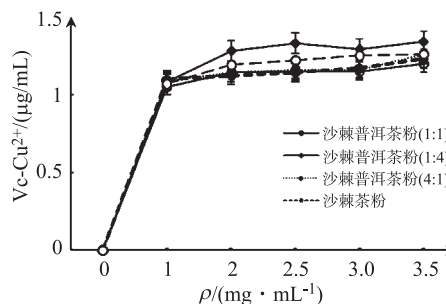


图 14 CuPRAC 抗氧化试验 (浓度测试)

## 3 讨论与结论

研究表明,沙棘叶中富含黄酮类、多酚等营养成分,是开发功能性食品、药品、保健食品等的潜在原材料,此外,通过充分利用沙棘叶,不但可以利用废弃资源,还可以提高人们健康水平,进而产生巨大的经济价值<sup>[22]</sup>。经研究表明,沙棘叶水溶提取物对羟基自由基及超氧阴离子自由基均有较强的清除能力,其清除率达到 80% 以上<sup>[2]</sup>,进一步验证了沙棘叶中存在抗氧化能力较强的生物活性物质。普洱茶因其在陈化过程中其品质型理化指标,如茶多酚、茶色素、多糖、氨基酸等均会发生变化<sup>[23]</sup>,而香气组分会发生富集,从而使其更具饮用价值<sup>[24]</sup>。利用其所制作的普洱茶粉能够显著提高高血脂症大鼠肝组织细胞中 GSH - Px 酶、SOD 酶活力及降低 MDA 含量,从而起到降低血脂的作用,其抗氧化性明显高于六堡茶和黑茶粉<sup>[15]</sup>。

本研究基于单因素实验、响应面优化实验,讨论沙棘普洱茶浸提过程中的关键工艺条件,得到了最优工艺参数。此外,通过使用体外抗氧化实验的方法对不同原料沙棘叶与普洱茶末配比下所制备的茶粉进行对比实验,实验发现沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末 = 4:1)、沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末 = 1:4)相对于普洱茶粉、沙棘茶粉均具有较强的综合体外抗氧化活性,而相关理化检测结果显示其所含活性成分也相对较高,说明通过沙棘叶与普洱茶的复配,其茶粉内活性成分富集,具有更强的抗氧化活性,更有益于人体健康<sup>[25]</sup>。

本研究通过单因素实验及响应面法设计优化了沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末 = 4:1)水提的最佳工艺条件,结果表明,沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末 = 4:1)的最佳工艺条件为:料液比为 1:8 (g/mL)、提取温度为 79 °C,提取时间为 3 h,底物 pH 为 8.3。应用此条件进行 3 次平行试验,平均可溶性固形物达到 4.8%。此外,通过对不同配料比的沙棘普洱茶粉进行体外抗氧化实验,发现沙棘茶粉及沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末 = 4:1)对 ABTS、DPPH 的清除能力最强,普洱茶粉的总抗氧化能力最强,沙棘普洱茶粉(沙棘叶:普洱茶末 = 1:4)对  $\text{Cu}^{2+}$  的还原能力最强。此外,理化指标检测显示沙棘普洱茶粉相对于单一茶粉所含相关活性成分(茶多酚、茶褐素及总黄酮)更均衡,进一步说明沙棘普洱茶粉可以富集相关活性成分,提高体外抗氧化能力。由此,经过对沙棘普洱茶粉水提工艺及抗氧化能力进行研究,可以为其进一步综合利用沙棘、普洱资源进而开发功能性茶粉提供了一定的科学依据。

### 参考文献:

- [1] 李娜,王佳乐,刘建国,等. 沙棘营养成分及药理活性研究现状[J]. 中国果菜,2020,40(5):20-25,31.
- [2] 辛燕花,赵三虎,王瑜,等. 沙棘叶不同溶剂提取物活性物质含量及抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发,2021,42(17):44-49.
- [3] 唐瑜,张依娜,邹远荣,等. 沙棘叶治疗高脂血症的药效物质基础[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(22):116-122.
- [4] GHABRU A, CHAUHAN, VARSHNEYA C. Effect of seabuckthorn leaves on antioxidant and microsomal enzymes in poultry birds [J]. BioMod Research Publishers, 440-445.
- [5] 苏静,李长文,梁慧珍,等. 普洱茶鲜叶固态发酵工艺研究[J]. 食品研究与开发,2017,38(20):114-118.
- [6] XU P, YING L, WU J, et al. Safety evaluation and antihyperlipidemia effect of aqueous extracts from fermented Pu'erh tea [J]. Royal Society of Chemistry (RSC), 2016:2667-2674.

- [7] 王蕊,肖蓉,罗瑜,等. 普洱茶(熟茶)对酒精性脂肪肝大鼠血液学指标的影响[J]. 云南农业大学学报,2014,29(6):861-866.
- [8] CAO H. Polysaccharides from Chinese tea: recent advance on bioactivity and function[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2013,62:76-79.
- [9] ZHU Y B,ZHANG Z Z,YANG Y F,et al. Analysis of the aroma change of instant green tea induced by the treatment with enzymes from *Aspergillus niger*, prepared by using tea stalk and potato dextrose medium[J]. Flavour and Fragrance Journal,2017,40(2):90-92.
- [10] 林金科,吴亮宇,陈云海,等. 高稳定性的速溶普洱茶研制[J]. 中国农学通报,2013,29(6):208-212.
- [11] 邓志云,许艺铎. 亚临界水提取技术在沙棘叶加工中的应用研究[J]. 食品工业,2018,39(11):65-69.
- [12] 柳梅,任璇,姚玉军,等. 沙棘叶多酚提取物抗氧化及体外降血糖活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2017,9(6):1013-1019.
- [13] 耿丽晶,周围,郭雪,等. 速溶普洱茶制取工艺的研究[J]. 食品工业科技,2013,34(18):196-201,205.
- [14] 李桃,杜丽平,肖冬光,等. 普洱茶与液态发酵普洱茶粉中茶褐素的比较研究[J]. 现代食品科技,2014,30(11):93-97.
- [15] 赵宝权,邵宛芳,刘家奇,等. 六堡茶、黑茶茶粉和普洱(熟茶)茶粉对 Wistar 大鼠调节血脂及抗氧化功能的比较研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学),2013,28(2):236-241.
- [16] 欧鸥. 沙棘叶罗汉果复合饮料的研制[J]. 饮料工业,2017,20(4):20-23.
- [17] SETYANINGSIH W,SAPUTRO I E,CARRERA C A, et al. Optimisation of an ultrasound - assisted extraction method for the simultaneous determination of phenolics in rice grains[J]. Food Chemistry,2019,288(8):221-227.
- [18] 程丹丹,高德民,陈金金,等. 牡丹花蕊全营养速溶茶粉的研制[J]. 中国食品添加剂,2022,33(9):120-128.
- [19] 初众,郭莹,张彦军,等. 速溶鹧鸪茶的提取工艺优化及挥发性成分分析[J]. 热带作物学报,2018,39(3):588-594.
- [20] 刘征辉,崔施展,魏曼,等. 响应面法优化金银花茶精制备工艺研究[J]. 保鲜与加工,2021,21(7):59-63,70.
- [21] 李磊磊,周子维,陈寿松,等. 速溶沙棘叶茶粉加工工艺与品质研究[J]. 福建茶叶,2017,39(4):6-7.
- [22] 李月,刘青,王悦,俎元虎,等. 沙棘叶的应用及现代研究进展[J]. 中国中药杂志,2021,46(6):1326-1332.
- [23] 王梦倩,盛玉泊,范怡航,等. 不同仓储条件下普洱茶关键成分分析及品质评价[J]. 食品研究与开发,2022,43(16):35-43.
- [24] 孙嘉卿,冯涛,王凯,等. 普洱茶挥发性风味物质富集与分析技术研究进展[J]. 安徽农业科学,2022,50(18):17-21.
- [25] 刘仲华,黄建安,龚雨顺,等. 茶叶功能成分的健康作用研究新进展[J]. 中国茶叶,2021,43(9):1-11.

## Optimization of water extraction process of Seabuckthorn Pu'er tea powder and evaluation of its antioxidant capacity in vitro based on response surface methodology

ZHANG Jing-peng,ZHAI Yu-qing,ZHANG De-jun

(College of Eco - environmental Engineering, Qinghai University, Xinin 810016, China)

**Abstract:** Seabuckthorn Pu'er tea powder: (1) Taking the soluble solids in the water extract as the response value, based on the single factor and Box - Benhnken response surface method, the effects of different solid - liquid ratio, time, temperature and pH on the water extraction effect of Seabuckthorn Pu'er tea powder were studied. (2) In order to analyze and evaluate the antioxidant capacity in vitro, the effective components of Seabuckthorn Pu'er tea powder with different raw material ratios were tested and the antioxidant activity in vitro was tested. Results: (1) The optimum water extraction conditions for obtaining Seabuckthorn Pu'er tea powder (Seabuckthorn leaf: Pu'er tea powder = 4:1) were as follows: the ratio of material to liquid (raw material: water) was 1:8 (g/mL), the extraction temperature was 79 °C, the extraction time was 3 h, and the pH was 8.3. (2) The content of active components of Seabuckthorn Pu'er tea powder is higher than that of single tea powder, and it has strong scavenging ability to DPPH (2,2, - diphenyl - 1 - piperlylhydrazyl), ABTS (2,2' - azinobis(3 - ethylbenzthiazoline - 6 - sulfonic acid), CuPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Power) and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), which can provide some reference for the utilization of Seabuckthorn and Pu'er resources and the development of functional tea powder.

**Key words:** seabuckthorn tea powder; Pu'er tea powder; water extraction process; response surface method; in vitro antioxidant