

超声波—大孔树脂联用提取富集追风七总黄酮 及其清除自由基活性研究

Study on technology of ultrasound-assisted extraction combined
macroporous resin purification enrichment for total flavonoids
from *Geum aleppicum* and its radical scavenging activity

陈程 罗国平 闫梦茹 文明 党莎

CHEN Cheng LUO Guo-ping YAN Meng-ru WEN Ming DANG Sha

(西安医学院, 陕西 西安 710021)

(Pharmaceutical Institute, Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi 710021, China)

摘要:采用超声波法提取、大孔树脂富集纯化追风七总黄酮,并测试其清除自由基活性能力。以液料比、乙醇浓度、超声功率、超声温度、超声时间为自变量,总黄酮提取量为因变量,采用单因素试验和响应面设计优化提取工艺;以总黄酮的吸附量和解析率为评价指标,考察纯化追风七总黄酮大孔树脂的吸附性和洗脱参数;采用清除 DPPH 自由基活性评价追风七总黄酮的抗氧化能力。结果表明:超声提取追风七总黄酮的最佳工艺为:超声功率 300 W、乙醇浓度 45%、液料比 16:1 (mL/g)、超声时间 102 min,超声温度 73 °C,在该条件下总黄酮提取量为 17.02 mg/g;AB-8 树脂富集纯化追风七总黄酮最佳工艺条件为:树脂柱径高比 1:6,上样质量浓度为 0.5 g/mL,上样量为 20 mL (2 BV),乙醇体积分数 40%,洗脱液用量 60 mL (6 BV)。纯化后总黄酮保留率达 83.3%,精制倍数达 4.5 倍,总黄酮含量达 61%。清除自由基试验结果表明:总黄酮纯化物的 IC_{50} 明显小于总黄酮提取物,略大于 V_C ,其 DPPH 自由基清除 IC_{50} 值为 57.4 μ g/mL,其 IC_{50} 大小顺序为 V_C < 总黄酮纯化物 < 总黄酮提取物。

关键词:追风七;总黄酮;超声波辅助提取;大孔树脂;清除自由基

Abstract: Taking the total flavonoids from *Geum aleppicum* by using ultrasound-assisted extraction and purification techniques, and test the scavenging ability to DPPH of total flavonoids. With extraction quantity of total flavonoids as dependent variable, the independent

variables including ratio of liquid to solid, ethanol concentration, ultrasonic power, ultrasonic temperature and ultrasonic time were studied on extraction by single experiment and response surface methodology; the adsorption and desorption of total flavonoids were used to investigate adsorption and elution conditions of macroporous resin; the scavenging ability to DPPH was used to investigate antioxidant activity. The optimal extraction conditions were: ultrasonic power 300 W, ethanol concentration 45%, the ratio of liquid to solid 16:1 (mL/g), extraction time 102 min, extraction temperature 73 °C. Under the conditions, the extraction amount of flavonoids was 17.02 mg/g. AB-8 macroporous resin purification techniques conditions were: concentration of feed 0.5 g/mL, the ratio of diameter-height 1:6, the volume of polyphenols sample 20 mL (2 BV), elute ethanol concentration 40%, elute volume 60 mL (6 BV). After eluted with AB-8 resin, the retention rate of total flavonoids was 83.3%, the refined multiples was 4.5 times, the content of total flavonoids was 61%. The result of experiment on scavenging ability to DPPH showed that IC_{50} value of purification was obviously less than that of extracts of total flavonoids, and a little higher than that of V_C , the scavenging order was V_C < purification of total flavonoids < extract of total flavonoids, and the IC_{50} values of DPPH free radical scavenging was 57.4 μ g/mL.

Keywords: *Geum aleppicum*; Total flavonoids; ultrasound-assisted extraction; macroporous resin; free radical scavenging activity

基金项目:西安医学院科研基金项目(编号:2015QN07);西安医学院本科教学改革研究项目(编号:2016JG-21);西安医学院学科建设经费资助(编号:1007)

作者简介:陈程,男,西安医学院讲师,硕士。

通信作者:罗国平(1979—),男,西安医学院副教授,硕士。

E-mail:36163297@qq.com

收稿日期:2016—09—08

追风七(*Geum aleppicum*)属蔷薇科水杨梅属植物,为“太白七药”之一,主要分布于太白山区海拔 2 700~2 900 m,资源丰富,民间以全草或根入药,具有清热解毒、利尿、消肿止痛功效^[1]。研究^[2]表明,合成抗氧化剂 BHA/BHT 具有致癌作用,而天然抗氧化剂具有抗氧化效率高、清除氧自由基效率高、作用时间长、毒副作用小等特点。黄酮类化合物作为

一类植物次生代谢产物越来越受关注,不仅具有抗肿瘤、降血糖等生理功能,还具有较强的抗氧化性^[2-4]。文献[5~6]报道的从追风七中分离到的化合物有鞣质、三萜、黄酮等。目前关于追风七总黄酮提取纯化工艺研究尚未见报道,本研究拟采用超声波提取法优化追风七总黄酮提取工艺,并对提取物进行富集纯化及其清除自由基试验,旨在为下一步研究提供试验基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

追风七:陕西太白产,购于当地药材市场,经西安医学院冯永辉教授鉴定为蔷薇科水杨梅属植物追风七的全草;

芦丁标准品:纯度≥98%,批号:20140919,上海士峰生物科技有限公司;

DPPH 试剂、V_C:纯度≥98%,美国 Sigma-Aldrich 公司;亚硝酸钠、氢氧化钠等:分析纯。

1.1.2 主要仪器设备

紫外-可见分光光度计:Cary-60 型,美国 Agilent 公司;
超声波清洗仪:KQ 型,昆山超声仪器有限公司;
电子天平:SQP 型,德国 Sartorius 公司;
电子天平:CP2102 型,奥豪斯仪器有限公司;
旋转蒸发仪:Re 型,上海亚荣生化仪器设备厂;
电热鼓风干燥箱:GZ9147 型,温州顶历医疗器械有限公司。

1.2 方法

1.2.1 总黄酮标准曲线的建立 精密称取 5.00 mg 芦丁对照品于 25 mL 容量瓶中,加 60%乙醇超声溶解并用其定容至刻度,即得对照品溶液。精密移取上述对照品溶液 2.0 mL 置于 25 mL 具塞试管中,加入 5%亚硝酸钠溶液 0.5 mL,摇匀,静置 5 min,再加入 10%硝酸铝溶液 0.5 mL,摇匀,静置 5 min,再加入 4%氢氧化钠溶液 10 mL,最后用 60%乙醇定容至刻度线,摇匀,放置 15 min^[7]。于 400~600 nm 范围内扫描,506 nm 处为最大吸收峰,故选择 506 nm 为测定波长。用移液管准确吸取芦丁标准溶液 2.00,3.00,4.00,5.00,6.00 mL 分别置于 25 mL 具塞试管中,按照上述方法显色,以试剂空白为参照,在 506 nm 波长处测定吸光度,进而建立总黄酮标准曲线。样品溶液按照上述显色方法制样,测定其吸光度并计算总黄酮含量,总黄酮提取量以每克药材中总黄酮量表示(mg/g)。

1.2.2 响应面法优化超声提取试验 参照文献[8~9]并结合单因素试验结果,选取液料比、超声时间、乙醇浓度和超声温度 4 个因素为自变量,采用 Box-Behnken 设计原理进行四因素三水平响应面试验安排,以总黄酮提取量为响应值,进行二次多项回归方程的拟合及提取工艺条件的优化。

1.2.3 追风七总黄酮的纯化试验

(1) 大孔树脂的预处理:将各种型号树脂分别用 95%乙醇浸泡 24 h,待其充分溶胀后,用水洗至无白色浑浊现象,再以蒸馏水洗至无醇味,然后用 4% HCl 溶液浸泡 4 h,然后用蒸馏水洗至中性,再用 4% NaOH 溶液浸泡 4 h,用蒸馏水洗至中性,储存于蒸馏水中备用。

(2) 大孔树脂型号的筛选:称取预处理好的 4 种型号树脂:AB-8、D-101、HPD-722、HPD-100 各 2.0 g(湿),置 100 mL 锥形瓶中,分别加入 50 mL 样品液,充分振荡,每 1 h 振摇 1 次,共 24 h,计算各种型号树脂的吸附率。将滤出的各树脂另置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 70%乙醇 50 mL,充分振荡,每 1 h 振摇 1 次,共 12 h,取上清液得解吸液,计算解吸率。综合吸附率和解吸率选择树脂类型。

(3) 上样液质量浓度考察:取上样液 4 份,每份 15 mL,分别加水制成 1.0,0.5,0.25,0.15 g/mL,上柱,加入 50 mL 蒸馏水水洗,收集过柱液和水洗液,定容,按“1.2.1”项中方法测定总黄酮含量,计算吸附率进而选择最佳上样质量浓度。

(4) 树脂径高比:取上样液 3 份,每份 15 mL,分别通过 3 根树脂量相等且径高比分别为 1:6,1:8,1:10 大孔树脂柱,以 1 BV/h 动态吸附,水洗至无盐酸镁粉反应,收集洗脱液,定容,按“1.2.1”项中方法测定总黄酮含量,计算吸附率进而计算最佳树脂径高比。

(5) 渗漏曲线考察:称取经预处理的 AB-8 树脂 10 g(抽干),以湿法进行装柱,取经处理过的药液 60 mL,上柱,分段收集过柱液,每 5 mL 作为一流分,计算总黄酮含量,以累计流分总体积为横坐标,以各组分中总黄酮含量为纵坐标,绘制渗漏曲线。

(6) 乙醇体积分数考察:称取经预处理的 AB-8 树脂 10 g(抽干),以湿法进行装柱,取经处理过的药液 15 mL,按照上述优选工艺条件上柱,先用 50 mL 蒸馏水进行水洗,再用 30%,40%,50%,60%,70%,80%乙醇 5 BV 分别进行洗脱,收集各洗脱液,计算总黄酮含量。

(7) 洗脱液用量考察:称取经预处理的 AB-8 树脂 10 g(抽干)并进行湿法装柱,精密移取经处理过的药液 15 mL 上柱,先用 5 BV(50 mL)纯化水水洗,再用 40%乙醇 6 BV(60 mL)进行洗脱,分段收集洗脱液,每 5 mL 作为一流分。以累计流分总体积为横坐标,以各组分总黄酮含量为纵坐标,绘制洗脱曲线。

1.2.4 清除自由基活性试验 DPPH 在有机溶剂中呈现紫色,在 517 nm 波长处有较大吸收。当加入抗氧化剂时 DPPH 的单电子被配对使其在此波长下吸收减弱,根据颜色变浅的程度与配对电子数成化学计算关系进行定量分析,清除率越高表示抗氧化能力越强^[10-11]。称取 DPPH 试剂适量,加入无水乙醇溶解后配制成 1.5 mg/mL DPPH 溶液。将 1 mL 不同浓度的样品溶液(总黄酮提取物、总黄酮纯化物、V_C)加入 2 mL DPPH 溶液中,再加无水乙醇定容至 10 mL,暗光反应 30 min,于 517 nm 处测定吸光度。DPPH 清除率按式(1)计算:

$$S = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100\%, \tag{1}$$

式中:
S—DPPH 清除率,%;
A₁——加入 DPPH 后样品液测得吸光度;
A₂——未加入 DPPH 样品液测得吸光度;
A₃——空白对照吸光度。

并且计算 IC₅₀(半数抑制浓度),即 DPPH 自由基清除率为 50%时的总黄酮浓度。

2 结果与分析

2.1 总黄酮标准曲线的确定

以芦丁的质量浓度(C)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,得回归方程 $A=0.470\ 1C+0.021\ 7$, $r=0.999\ 5$,A 与 C 在 0.39~1.20 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.2 响应面法优化追风七总黄酮提取工艺

根据单因素试验结果,确定影响追风七总黄酮提取量的 4 个因素:料液比、超声时间、乙醇浓度、超声温度。因素水平见表 1,试验设计与结果见表 2。

表 1 试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of experiment designed

因素水平	A 液料比 (mL/g)	B 超声时 间/min	C 乙醇浓 度/%	D 超声温 度/℃
−1	16∶1	90	30	60
0	18∶1	120	40	70
1	20∶1	150	50	80

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results of response surface methdology

试验号	A	B	C	D	Y 总黄酮提取量/ (mg·g ^{−1})
1	1	0	1	0	14.84
2	−1	0	−1	0	11.24
3	0	0	0	0	16.52
4	−1	0	0	−1	15.84
5	0	1	−1	0	11.57
6	−1	−1	0	0	12.87
7	0	−1	−1	0	12.67
8	0	−1	0	1	15.26
9	−1	0	0	1	15.88
10	1	0	0	1	15.61
11	1	0	−1	0	11.97
12	−1	0	1	0	16.23
13	−1	1	0	0	11.35
14	0	0	1	1	14.62
15	0	0	−1	1	13.91
16	0	1	1	0	10.22
17	1	−1	0	0	11.24
18	1	1	0	0	10.74
19	0	0	−1	−1	10.26
20	0	0	0	0	16.64
21	0	−1	1	0	15.57
22	0	0	0	0	16.55
23	0	−1	0	−1	13.53
24	1	0	0	−1	11.46
25	0	0	0	0	14.93
26	0	1	0	1	12.36
27	0	0	0	0	16.68
28	0	0	1	−1	14.76
29	0	1	0	−1	12.76

根据表 2 试验结果,利用 Design-Expert 8.0.5 软件进行多元回归方程拟合和方差分析,方差分析结果见表 3,回归方程为:

$$Y=16.26-0.53A-1.13B+1.24C+0.75D-0.04AB-0.53AC+1.03AD-1.13BC-0.52BD-0.95CD-1.33A^2-2.45B^2-1.63C^2-0.61D^2。$$

(2)

二次方程模型具有极显著性(P<0.01),失拟项不显著(P>0.05),相关系数 $R^2=0.905\ 1$,说明回归方程模型得出预测值与实测值具有高度相关性,拟合性较好,试验误差较小,可用于该试验结果的预测。

超声时间和乙醇浓度对提取量影响极显著(P<0.01),超声温度对提取量影响显著(P<0.05),各因素影响顺序为:乙醇浓度>超声时间>超声温度>料液比。将表 2 中数据进行响应面曲面分析,得到两个因素交互作用对响应值的影响,二者呈较好的二次抛物线关系。

利用 Design-Expert 8.0.5 软件分析得出,总黄酮提取量最大理论预测值为 16.89 mg/g,工艺条件为:超声功率 300 W,液比料 16.2∶1(mL/g),提取时间 102.5 min,乙醇浓度 44.5%,提取温度 72.8℃。考虑试验可操作性,将工艺优化为:超声功率 300 W,液料比 16∶1(mL/g),超声时间 102 min,乙醇浓度 45%,超声温度 73℃。在此条件下进行验证性实验,总黄酮提取量均值为 17.02 mg/g,RSD 为 0.29%,相对误差为 0.77%,试验结果表明预测值与实际值的偏差较小,所建立的模型预测较好。

表 3 回归模型方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance with regression model

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	110.120 0	14	7.865 7	6.414 4	0.000 7	* *
A	3.381 4	1	3.381 4	2.757 5	0.119 0	
B	15.232 5	1	15.232 5	12.422 0	0.003 4	* *
C	18.302 7	1	18.302 7	14.925 7	0.001 7	* *
D	6.795 1	1	6.795 1	5.541 3	0.033 7	*
AB	0.006 4	1	0.006 4	0.005 2	0.943 4	
AC	1.123 6	1	1.123 6	0.916 3	0.354 7	
AD	4.223 0	1	4.223 0	3.443 8	0.084 7	
BC	4.950 6	1	4.950 6	4.037 2	0.064 2	
BD	1.134 2	1	1.134 2	0.925 0	0.352 5	
CD	3.591 0	1	3.591 0	2.928 5	0.109 1	
A ²	11.501 3	1	11.501 3	9.379 2	0.008 4	* *
B ²	38.866 3	1	38.866 3	31.695 1	<0.000 1	* *
C ²	17.241 0	1	17.241 0	14.059 9	0.002 2	* *
D ²	2.386 7	1	2.386 7	1.946 3	0.184 7	
残差	17.167 6	14	1.226 3			
失拟项	14.926 2	10	1.492 6	2.663 8	0.178 8	
误差	2.241 3	4	0.560 3			
总和	127.287 5	28				

[†] * 表示差异显著,P<0.05;* * 表示差异极显著,P<0.01;
 $R^2=0.905\ 1$ 。

2.3 大孔吸附树脂试验

2.3.1 大孔树脂的筛选 由图 1 可知,大孔树脂对总黄酮类化合物具有较强的吸附能力,吸附能力顺序为 AB-8>HPD-722>HPD-100>D101,说明大孔树脂对追风七总黄酮有较强的选择性。AB-8 型树脂的吸附率和解吸率均优于其他类型的树脂。综合以上试验结果,采用 AB-8 型树脂对追风七总黄酮进行纯化。

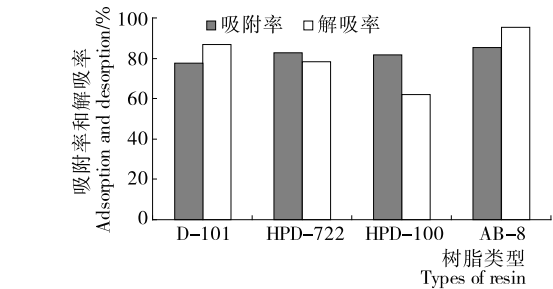


图 1 不同类型树脂对总黄酮的静态吸附和解吸的影响
Figure 1 Effect on static adsorption and desorption rate of different types of resin for total flavonoids

2.3.2 上样质量浓度的影响 由图 2 可知,吸附率随着上样浓度的变化呈抛物线的趋势,原因可能是浓度较低时总黄酮分子与树脂接触机会大,浓度过大时分子扩散受抑制,导致吸附量下降。当上样浓度达 0.5 g/mL 时吸附率达到最大值,故选择上样浓度为 0.5 g/mL。

2.3.3 树脂径高比的影响 由图 3 可知,径高比对大孔树脂吸附性能影响明显,当径高比达 1:6 时吸附率达最大值,故选择径高比为 1:6。

2.3.4 渗漏曲线考察 由图 4 可知,当上样量达 20 mL 时基

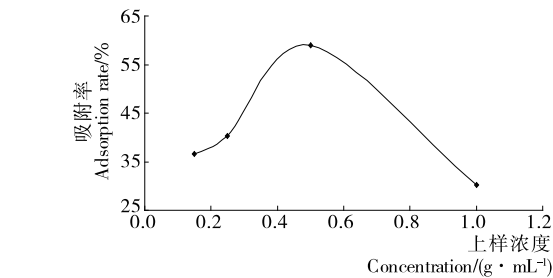


图 2 上样质量浓度对总黄酮吸附率的影响
Figure 2 Effects of polyphenols concentration on adsorption rate

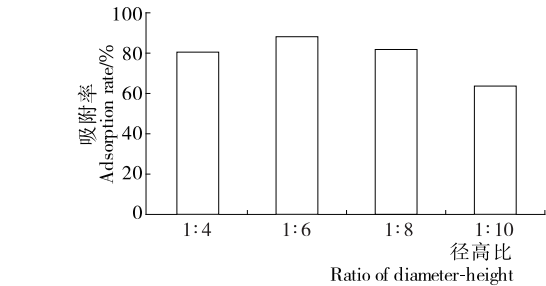


图 3 径高比对总黄酮吸附率的影响
Figure 3 Effects of ratio of diameter-height on adsorption rate

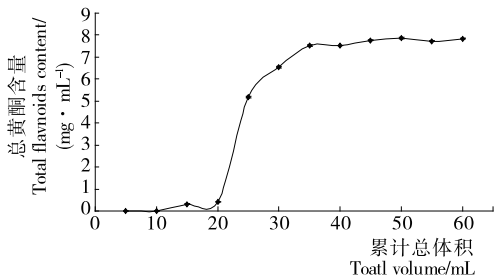


图 4 累计渗漏曲线
Figure 4 Cumulate seepage curve
本没有渗漏,超过 20 mL 时发生明显的渗漏,因此在最佳吸附条件下,大孔树脂的上样量为 20 mL(2 BV)。

2.3.5 洗脱条件考察

(1) 乙醇浓度对总黄酮解吸率的影响:由图 5 可知,乙醇浓度对总黄酮解吸率影响比较明显,总体呈减小趋势,当乙醇浓度达 40%时收集液中总黄酮的含量最高,故选择 40%乙醇为最佳洗脱溶剂。

(2) 洗脱液用量对总黄酮解吸率的影响:由图 6 可知,随着洗脱液量的增加收集液中总黄酮的含量呈先增加后减小的趋势,当洗脱液量达 60 mL(6 BV)时收集液中无总黄酮,故选择洗脱液用量为 60 mL(6 BV)。

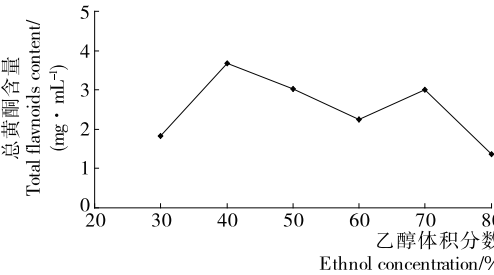


图 5 乙醇浓度对总黄酮解吸率的影响
Figure 5 Effects of ethanol concentration on desorption rate

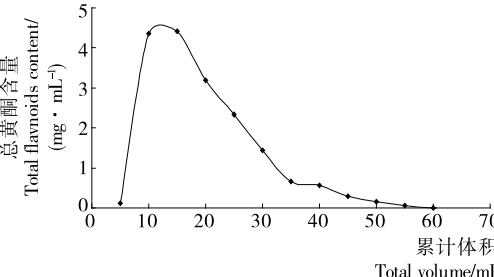


图 6 洗脱液用量对总黄酮解吸率的影响
Figure 6 Effects elute volume on desorption rate

2.3.6 验证实验 为了考察上述工艺条件的稳定性,平行进行 3 次验证性实验,并计算精制倍数和保留率,经测定保留率分别为 83.42%,83.53%,82.95%;精致倍数达 4.5 倍,工艺稳定性良好。将解吸液真空干燥至恒重,经计算总黄酮纯度达 61%。

2.4 清除自由基活性测定

由图 7 可知,追风七总黄酮提取物、总黄酮纯化物对

DPPH 自由基具有一定的清除作用,并随着浓度的增加,清除率呈先增加后平缓的趋势,并且在一定的浓度范围内呈量效关系。总黄酮纯化物对 DPPH 自由基的清除能力明显强于追风七总黄酮提取物,但略弱于 V_c 。由表 4 可知,总黄酮纯化物的 IC_{50} 明显小于总黄酮提取物,略大于 V_c ,其 DPPH 自由基清除 IC_{50} 值为 $57.4\text{ }\mu\text{g/mL}$,其 IC_{50} 大小顺序为 $V_c<$ 总黄酮纯化物 $<$ 总黄酮提取物。

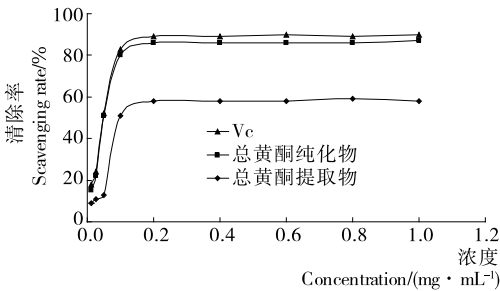


图 7 DPPH 自由基清除能力

Figure 7 DPPH free radical scavenging abilities

表 4 DPPH 自由基清除活性的 IC_{50}

Table 4 IC_{50} of DPPH free radical scavenging

样品	$IC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
V_c	54.4
总黄酮纯化物	57.4
总黄酮提取物	106.1

3 结论

本试验采用超声波联用大孔树脂技术针对追风七中总黄酮提取纯化工艺进行较为系统的研究,并在此基础上进行清除自由基试验。响应面法优化得到超声提取工艺条件简便可行,总黄酮含量达 17.02 mg/g ;AB-8 型大孔树脂富集总黄酮工艺条件可靠,总黄酮保留率较高,其含量 61%;对 DPPH 自由基清除作用 IC_{50} 大小顺序为 $V_c<$ 总黄酮纯化

物 $<$ 总黄酮提取物,其 DPPH 自由基清除 IC_{50} 值为 $57.4\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。上述研究结果为追风七药效物质基础和制剂研究提供理论依据。本文研究不足之处:① 追风七总黄酮抗氧化活性评价指标选择较单一,下一步体外活性试验将增加 ABTS 法和 FRAP 法,体内抗氧化活性选取小鼠血清 SOD 活性和 MDA 含量作为评价指标,进而综合评价体内外抗氧化活性;② 对追风七总黄酮应分离和鉴定,围绕构效关系进一步明确药效物质基础。

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 37 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 221-223.

[2] 杜玉, 娄红祥. 天然植物抗氧化剂的作用机制研究概况[J]. 中药材, 2006, 29(7): 739-743.

[3] 陈洪彬, 郑金水, 蔡英卿, 等. 紫苏叶中总黄酮的超声波辅助提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 232-236.

[4] 周达, 罗成, 鲁晓翔. 黄酮作为酶抑制剂的的研究进展[J]. 食品科技, 2009, 34(6): 174-178.

[5] 丁利君, 冼建毅. 黄芪中黄酮类化合物提取及其对羟基自由基清除作用[J]. 食品与机械, 2002, 18(7): 20-21.

[6] 刘安, 杨晓虹, 董雷, 等. 草本水杨梅的研究进展[J]. 特产研究, 2012(3): 67-71.

[7] 乔孟, 屈晓清, 丁之恩. 响应面法优化超声波辅助提取湖北海棠叶中总黄酮工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 143-147.

[8] 马艺丹, 刘红, 廖小伟, 等. 神秘果种子多酚超声双水相复合提取工艺及其抗氧化活性进展[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 173-178.

[9] 徐燕燕, 孙杰, 陈雅卉, 等. 莲藕多酚浸提工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(2): 128-132.

[10] 王海敏, 虞海霞, 董蕊, 等. 苕子蜜总酚酸和总黄酮含量测定及抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 54-57.

[11] 金寒冰, 方丽, 赖蓓蕾, 等. 苦苣多酚超声辅助提取及抗氧化研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 211-215.

(上接第 155 页)

[14] 李静, 冉旭. 大鲈皮胶原蛋白肽理化性质和功能特性研究[J]. 食品工业, 2016, 37(1): 217-222.

[15] BENELHADJ S, GHARSALLAOUI A, DEGRAEVE P, et al. Effect of pH on the functional properties of Arthrospira (Spirulina) platensis protein isolate[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 1 056-1 063.

[16] 朱恩俊, 华从伶, 安莉. 大米多肽功能性质及制备方法的研究进展[J]. 食品与机械, 2010, 26(4): 142-145.

[17] 赵新淮, 侯瑶. 大豆蛋白限制性酶解对乳化性质和吸油性的影响[J]. 农业机械学报, 2009, 40(12): 159-163.

[18] KIM S G, YOO W, YOO B. Relationship between apparent viscosity and line-spread test measurement of thickened fruit juices prepared with a xanthan gum-based thickener[J]. Preventive Nutrition and Food Science, 2014, 19(3): 242-245.

[19] CATTANEO F, SAYAGO J E, ALBERTO M R, et al. Anti-

inflammatory and antioxidant activities, functional properties and mutagenicity studies of protein and protein hydrolysate obtained from *Prosopis alba* seed flour[J]. Food Chemistry, 2014, 161: 391-399.

[20] CHEN Chen, CHI Yu-jie, ZHAO Ming-yang, et al. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant and ACE inhibitory activities of egg white protein hydrolysate[J]. Food Science and Biotechnology, 2012, 21(1): 27-34.

[21] BURGOS-DIAZ C, PIORNOS J A, WANDERSLEBEN T, et al. Emulsifying and foaming properties of different protein fractions obtained from a novel Lupin Variety AluProt-CGNA® (*Lupinus luteus*) [J]. Journal of Food Science, 2016, 81(7): C1 699-1 706.

[22] WANG Zheng-shan, ZHANG Sha, VARDHANABHUTI B. Foaming properties of whey protein isolate and lambda-carrageenan mixed systems[J]. Journal of Food Science, 2015, 80(8): N1 893-1 902.