



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108813617 B

(45) 授权公告日 2021.04.23

(21) 申请号 201810737439.0

CN 104147244 A, 2014.11.19

(22) 申请日 2018.07.06

CN 104147496 A, 2014.11.19

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 104602542 A, 2015.05.06

申请公布号 CN 108813617 A

CN 1074831 A, 1993.08.04

(43) 申请公布日 2018.11.16

CN 104694254 A, 2015.06.10

(73) 专利权人 中国农业科学院特产研究所

CN 106636278 A, 2017.05.10

地址 130112 吉林省长春市净月经济开发区聚业大街4899号

CN 106636278 A, 2017.05.10

(72) 发明人 赵伟刚 董万超 赵景辉 许保增

贺玉琢. 应激适应现象的研究(25): 红参等数种生药提取物配伍制剂的应激适应促进作用. 《国外医学(中医药分册)》. 1996,

常彤 孟庆江 杨镒峰 陈秀敏

贺玉琢. 应激适应现象的研究(25): 红参等数种生药提取物配伍制剂的应激适应促进作用. 《国外医学(中医药分册)》. 1996,

(74) 专利代理机构 哈尔滨市阳光惠远知识产权

代理有限公司 23211

范会评, 等. 超声辅助果胶酶法提取大枣中性多糖研究. 《江苏农业科学》. 2010, 第384-386页.

代理人 邓宇

王兰兰. 鲜鹿茸的酶解降解过程的研究. 《中国优秀硕士学位论文电子期刊网》. 2013,

(51) Int. Cl.

A23L 33/105 (2016.01)

审查员 陆晨

(56) 对比文件

CN 102784182 A, 2012.11.21

CN 106074973 A, 2016.11.09

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

一种茸参枸杞组合物及其制备方法

(57) 摘要

一种茸参枸杞组合物及其制备方法, 属于中医药保健食品领域。针对目前以中药材为主要原料的抗氧化保健品种类少的问题, 本发明以鹿茸为主要原料, 辅以红参、黄芪、枸杞、五味子、大枣, 经加工后制得茸参枸杞组合物, 所述组合物能够延缓衰老, 提高机体抗氧化能力, 可制备为茶饮料等保健品。

1. 一种茸参枸杞组合物,其特征在于,其主要原料为鹿茸、红参、黄芪、枸杞、五味子和大枣的提取物;所述茸参枸杞组合物由以下重量份原料的提取物组成:鹿茸16份、红参21份、黄芪14份、枸杞25份、大枣13份和五味子11份;所述的茸参枸杞组合物的制备方法,按重量份分别称取鹿茸、红参、黄芪、枸杞、五味子、大枣,制备各原料的提取物,各提取物混合后即成为茸参枸杞组合物,所述各原料提取物的制备方法如下:

1) 鹿茸经超声波提取法获得提取液,过滤取清液,清液经蛋白酶和胰酶酶解后获得的酶解液依次经浓缩、干燥后制得鹿茸提取物;所述蛋白酶和胰酶的质量比为1:1,所述酶解时间 6h,酶解温度60℃;所述超声波的功率为150W,提取时间为40min;

2) 红参、黄芪、枸杞和五味子分别经乙醇回流法提取获得各提取液,经过滤后合并滤液,滤液依次经浓缩、干燥获得红参、黄芪、枸杞和五味子的提取物混合物;所述乙醇回流2次,提取3h;

3) 大枣加水预煮,果肉经打浆后加水浸泡,然后经超声波提取,获得的提取液过滤后经酶解浸提后再次过滤,所得滤液依次经浓缩、干燥后制得红枣提取物;所述大枣加水预煮是指在100℃下,水煮30-40min;所述超声波提取的功率为150W,提取时间为3h;所述酶解为加入滤液体积0.2%的果胶酶,45℃保温酶解浸提6h;

步骤1)-3)所述浓缩均为真空浓缩,浓缩条件为60℃,0.06-0.08Mpa,浓缩至相对密度为1.10-1.15;步骤1)-3)所述干燥均为喷雾干燥,入口温度为160-180℃,出口温度60-80℃。

一种茸参枸杞组合物及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及到中医药保健食品领域,具体涉及到一种茸参枸杞组合物及其制备方法。

背景技术

[0002] 在生命活动的氧化代谢过程中不断产生各种自由基,其中超氧阴离子自由基($\cdot\text{O}_2^-$)、羟基自由基($\cdot\text{OH}$)和脂基自由基($\text{ROO}\cdot$)是三种具有代表性的自由基。 $\cdot\text{O}_2^-$ 产生最早, $\cdot\text{OH}$ 的作用最强。自由基的产生与机体的许多功能障碍和疾病的发生如吞噬、解毒、炎症、肿瘤、衰老、辐射等都密切相关。自由基引起生物膜的脂类过氧化,导致膜结构损伤和功能失活。生物体系内很多物质经自动氧化提供电子给分子氧,是产生氧自由基的来源之一。自由基反应蔓延引起生物大分子的损伤,造成对机体的损伤。机体也形成了防御自由基的酶系统,如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶等。尚有一种保护系统即抗氧化剂或自由基清除剂,如广泛存在细胞内外水相中的抗坏血酸、半胱氨酸、谷胱甘肽等。在生理状况下,自由基不断产生,也不断被清除,以此来维持有利无害的、生理性低水平的、稳定平衡的自由基浓度。在某些病理情况下,自由基的产生与清除失去了平衡。

[0003] 自由基可引发生物膜不饱和脂肪酸花生四烯酸过氧化,形成过氧化脂质 PG_5 、 LT_5 、MDA等代谢产物。MDA为脂质过氧化物的降解产物,可与含游离氨基的蛋白质及核酸结合,使生物分子之间发生交联,形成脂褐质或老年色素。此物质存在于脑、心、肝细胞及表皮等组织中,随老化显著增多,致使蛋白质变性,溶解度降低,造成膜结构和功能损伤。研究证明,自由基脂质过氧化损伤与动脉粥样硬化、脑血管疾病、心肌梗塞、肺动脉高压、糖尿病、白内障、自身免疫性疾病、肝损伤等常见老年病关系密切。大量文献报道,低密度脂蛋白经自由基氧化修饰后,导致动脉硬化形成。 PG_5 、 LT_5 是体内不饱和脂肪酸—花生四烯酸分别经环氧化酶和脂氧化酶途径代谢产物,与炎症、心肌梗塞、脑出血、脑水肿、脑血管痉挛、视网膜下腔出血和肺动脉高压的形成等有着密切的关系。综合上述自由基对机体的损伤,研制清除自由基的抗氧化保健品已是国内外的热点。

[0004] 目前市面上由中药材制备的抗氧化保健品种类较少。因此开发一种由中药材制备而成的保健品具有较高的市场价值。

发明内容

[0005] 针对目前以中药材为主要原料的抗氧化保健品种类少的问题,本发明提供一种茸参枸杞组合物及其制备方法。

[0006] 本发明所述的茸参枸杞组合物,其主要原料为鹿茸、红参、黄芪、枸杞、五味子和大枣的提取物。

[0007] 进一步地,所述茸参枸杞组合物是由以下重量份原料的提取物组成:鹿茸14-16份、红参19-21份、黄芪14-16份、枸杞23-25份、大枣13-15份和五味子11-13份。

[0008] 优选地,所述茸参枸杞组合物由以下重量份原料的提取物组成:鹿茸16份、红参21

份、黄芪14份、枸杞25份、大枣13份和五味子11份。

[0009] 本发明还提供了上述茸参枸杞组合物的制备方法,是按重量份分别称取鹿茸、红参、黄芪、枸杞、五味子、大枣,制备各原料的提取物,各提取物混合后即为茸参枸杞组合物,所述各原料提取物的制备方法如下:

[0010] 1) 鹿茸经超声波提取法获得提取液,过滤取清液,清液经蛋白酶和胰酶酶解后获得的酶解液依次经浓缩、干燥后制得鹿茸提取物;

[0011] 2) 红参、黄芪、枸杞和五味子分别经乙醇回流法提取获得各提取液,经过滤后合并滤液,滤液依次经浓缩、干燥获得红参、黄芪、枸杞和五味子的提取物混合物;

[0012] 3) 大枣加水预煮,果肉经打浆后加水浸泡,然后经超声波提取,获得的提取液过滤后经酶解浸提后再次过滤,所得滤液依次经浓缩、干燥后制得红枣提取物。

[0013] 进一步地限定,步骤1)-3)所述浓缩均为真空浓缩,浓缩条件为60℃,0.06-0.08Mpa,浓缩至相对密度为1.10-1.15。

[0014] 进一步地限定,步骤1)-3)所述干燥均为喷雾干燥,入口温度为160-180℃,出口温度60-80℃。

[0015] 进一步地限定,步骤1)所述蛋白酶和胰酶的质量比为1:1;步骤2)乙醇回流2次,提取3h;步骤3)所述大枣加水预煮是指在100℃下,水煮30-40min;所述超声波提取的功率为150W,提取时间为3h,所述酶解为加入滤液体积0.2%的果胶酶,45℃保温酶解浸提6h。

[0016] 本发明所述的茸参枸杞组合物可以与其他添加剂或辅料加工成不同剂型的保健品,如片剂、饮料等。

[0017] 有益效果

[0018] “鹿茸甘温,主漏下恶血,寒热惊痛,益气强志,生齿不老。鹿角主恶创痈肿,逐邪恶气”。“鹿茸生精补髓,温肾虚冷,养骨益阳,强筋健骨,久服耐老”,“鹿骨补骨除风,久服耐老”。现代研究证明,鹿茸具有广泛的药理作用,其中加速创伤愈合,促进骨质修补等功能与上述文献记载相一致。鹿茸和鹿骨生物活性成分丰富,含有钙磷是生物钙磷的最好来源之一。

[0019] “人参味甘微寒,主补五脏,安精神,定魂魄,止惊悸,除邪气,开心益智,久服轻身延年”。红参是人参的加工品之一,将鲜人参蒸制2~3小时,经烘烤干燥后,变得内外色泽深红,于是得名红参。红参经过高温处理后,其人参皂苷、氨基酸等的含量降低,但精氨酸双糖苷含量增高,新产生了麦芽酚等成分,因此抗氧化、抗衰老、增强免疫力、扩张血管等作用更强。但同时,红参经蒸制后,药性偏温,更长于大补元气,益气摄血,适宜极度气虚、脉搏微弱,及出现心力衰竭、心源性休克的病人。

[0020] “黄芪味甘微温,主痈疽久败创,排脓,补虚”。“五味子酸温,主益气,劳伤羸瘦,补不足,强阴益男子精”。黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的根。气微,味微甜,有豆腥味。含黄酮类成分毛蕊异黄酮 (calycosin)、3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷,还含黄芪皂甙 I、V、III (astragaloside I、V、III)。性温,味甘。黄芪有补气升阳,固表止汗,利尿消肿,托疮生肌的功效。药理实验表明,黄芪具有①强心、利尿、降压、保肝、提高免疫功能的作用。②扩张血管、改善皮肤血液循环、抗血小板聚集及营养善。③对肾炎蛋白尿有一定的消除作用。适用于气虚衰弱、倦怠乏力,自汗易汗,容易感冒;中气虚陷,食少便溏、胃下垂、脱肛、便血、妇女子宫下垂、崩漏;疮痈肿毒,

脓成不溃,或久溃不收口;气虚水肿及一切气虚证。

[0021] “枸杞味苦寒,主五内邪气,热中消渴,固涩,久服坚筋,轻身不老”。枸杞的功效为补肾益精,养肝明目,补血安神,生津止渴,润肺止咳。主治肝肾阴亏,腰膝酸软,头晕,目眩,目昏多泪,虚劳咳嗽,消渴,遗精等症。枸杞的功效备受历代医家的推崇,中医认为久服枸杞有延年益寿,延缓衰老之效果。枸杞有提高机体免疫力的作用,可以补气强精,滋补肝肾、抗衰老、止消渴、暖身体、抗肿瘤的功效。枸杞具有降低血压、血脂和血糖的作用,能防止动脉粥样硬化,保护肝脏,抵制脂肪肝、促进肝细胞再生。现代医学认为,枸杞具有以下十种保健功效:1. 枸杞对特异性、非特异性免疫功能均有增强作用,还有免疫调节作用。2. 枸杞有抗肿瘤作用。3. 枸杞有抗氧化、抗衰老作用。4. 枸杞有保肝及抗脂肪肝的作用。5. 枸杞能刺激机体的生长,对某些遗传毒物所诱发的遗传损伤具有明显的保护作用。6. 枸杞对造血功能有促进作用。7. 枸杞能影响下丘-垂体-性腺轴功能,并有较好降血糖作用。8. 枸杞可增强生殖系统功能,加强离体子宫的收缩频率、张力及强度。9. 枸杞可增加小鼠皮肤羟脯氨酸的含量,显著增强小鼠的耐缺氧能力,延长其游泳时间,抗疲劳。10. 枸杞有一定降压作用。枸杞含有丰富的胡萝卜素、维生素A1、B1、B2、C等钙、铁等健康眼睛的必需营养,故擅长明目,所以俗称“明眼子”。历代医家治疗肝血不足、肾阴亏虚引起的视物昏花和夜盲症,常常使用枸杞。著名方剂杞菊地黄丸,就以枸杞为主要药物。民间也习用枸杞治疗慢性眼病,枸杞蒸蛋就是简便有效的食疗方。中医认为,它能够滋补肝肾、益精明目和养血、增强人们的免疫力。对于现代人来说,枸杞最实用的功效就是抗疲劳和降低血压。此外,枸杞能够保肝、降血糖、软化血管、降低血液中的胆固醇、甘油三酯水平,对脂肪肝和糖尿病患者具有一定的疗效。据临床医学验证,枸杞还能治疗慢性肾衰竭。

[0022] 五味子收敛固涩,益气生津,补肾宁心”。因其果实有甘、酸、辛、苦、咸五种滋味而得名,有南北之分。李时珍谓“五味今有南北之分,南产者色红,北产者色黑,入滋补药必用北产者乃良。”北五味子别名山花椒,为木兰科多年生缠绕性藤本,性耐寒,喜凉爽阴湿、土壤为腐殖质的环境。五味子种子中含挥发油。油中以柠檬醛、 α -、 β -花柏烯、 β -花柏醛为主要成分。果实含柠檬酸、苹果酸、酒石酸、Vc。种子含有大量脂肪酸。具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心的功效。《本经》记载,五味子“主益气,补不足,强阴,益男子精”。五味子乙素、五味子酚均具有抗氧化作用,能清除自由基、抑制过氧化脂质形成。给老龄小鼠灌胃五味子水提液,可明显抑制脑和肝脏中MAO-B活性,增强SOD活性,降低MDA含量。五味子酚能直接对抗阿霉素所致的心脏线粒体毒性作用,抑制由维生素C-NADPH诱发的大鼠脑、肝、肾微粒体及线粒体的脂质过氧化,其作用比维生素E强。还能显著提高老年大鼠心肌细胞cAMP含量,使cAMP/cGMP比值升高,而使心脏活动增强。此外,五味子能降低血清胆固醇,增加脑和肝中蛋白质含量,均表明具有抗衰老作用。

[0023] 大枣,别名干枣、美枣,良枣(《别录》),红枣(《医学入门》)。为鼠李科植物枣的成熟果实。含大枣皂甙I、II、III(ziziphussaponinI, II, III)、酸枣仁皂甙B(jujuboside B)、光千金藤碱(stepharine)、葡萄糖、果糖、蔗糖、环磷腺苷(cAMP)、环磷鸟苷(cGMP)等。性味甘,温。①《本经》:味甘,平。②《千金·食治》:味甘辛,热,无毒。③孟诜:温。入脾、胃经。①《纲目》:脾经血分。②《本草经疏》:入足太阴,阳明经。补脾和胃,益气生津,调营卫,解药毒。治胃虚食少,脾弱便溏,气血津液不足,营卫不和,心悸怔忡。妇人脏躁。①《本经》:主心腹邪气,安中养脾,助十二经。平胃气,通九窍,补少气、少津液,身中不足,大惊,四肢重,和百药。

②《本草经集注》：煞乌头毒。③《别录》：补中益气，强力，除烦闷，疗心下悬，肠僻癖。④《药对》：杀附子、天雄毒。⑤孟诜：主补津液，洗心腹邪气，和百药毒，通九窍，补不足气，煮食补肠胃，肥中益气第一，小儿患秋痢，与虫枣食，良。⑥《日华子本草》：润心肺，止嗽。补五脏，治虚劳损，除肠胃癖气。⑦《珍珠囊》：温胃。⑧李杲：温以补脾经不足，甘以缓阴血，和阴阳，调营卫，生津液。⑨《药品化义》：养血补肝。⑩《本草再新》：补中益气，滋肾暖胃，治阴虚。(11)《中国药植图鉴》：治过敏性紫斑病、贫血及高血压。

[0024] 本发明以鹿茸为主要原料，辅以红参、黄芪、枸杞、五味子、大枣，遵循“君臣佐使”、“辩证施治”、“相生相忌”的法则，以鹿茸为君药，以红参、枸杞为臣药，以黄芪、五味子为佐药，以大枣为使药，应用中草药成分多样、功能复杂的特点，合理配伍，提取各原料提取物，制备获得茸参枸杞组合物，经试验证明，该组合物对Fenton反应产生的羟基自由基($\cdot\text{OH}$)具有明显的清除能力，对超氧阴离子自由基($\cdot\text{O}_2^-$)亦具有明显的清除作用，表明，本发明所述的茸参枸杞组合物具有很好的抗氧化作用和延缓衰老作用。

具体实施方式

[0025] 下述实施例中所所述的茸参枸杞组合物，是以梅花鹿茸为主要原料，辅以红参、黄芪、枸杞、五味子、大枣，均可通过商业化途径购买获得，上述各原料经加工后获得提取物，各提取物混合后即茸参枸杞组合物。

[0026] 所述果胶酶为粉末状，购买自：生工生物工程(上海)股份有限公司货号：A605099。

[0027] 所述蛋白酶为粉末状，购买自：北京索莱宝科技有限公司，货号为：B8361。

[0028] 所述胰酶为粉末状，购买自：生工生物工程(上海)股份有限公司；货号为：A606787。

[0029] 实施例1.茸参枸杞组合物。

[0030] 所述茸参枸杞组合物由以下重量份原料的提取物组成：鹿茸16份、红参21份、黄芪14份、枸杞25份、大枣13份和五味子11份。

[0031] 1)鹿茸提取物的制备方法：鹿茸干选择无腐臭变质者，用酒精燎去茸毛，洗净，加3倍质量的水，80℃水煮10~15min，去皮，再煮10min左右，切片或破碎。用40%(v/v)乙醇，所述乙醇用量为每g鹿茸需乙醇20mL，超声波(150W,40min)常温提取。过滤取清液，减压回收乙醇，然后向清液中加入清液体积1.5%(质量mg/体积100mL)的蛋白酶和胰酶混合物，所述蛋白酶和胰酶混合物中蛋白酶和胰酶的质量比为1:1；所述酶解时间6h，酶解温度60℃，降解清液中的大分子蛋白质至多肽，再经真空浓缩(60℃,0.06MPa)至相对密度1.10时，喷雾干燥(入口温度为160℃，出口温度60℃)，得喷雾干燥细粉I，即鹿茸提取物。

[0032] 2)红参、黄芪、枸杞和五味子提取物的制备方法：将红参、黄芪、枸杞和五味子中药材经去杂、切片或破碎、清洗、沥干，分别用10倍量70%乙醇回流提取2次，每次提取3小时；过滤，合并滤液，减压回收乙醇。滤液经真空浓缩(60℃,0.06MPa)至相对密度1.10时，喷雾干燥(入口温度为160℃，出口温度60℃)，得喷雾干燥细粉II，即红参、黄芪、枸杞和五味子提取物的混合物。

[0033] 3)大枣提取物的制备方法：充分成熟的红枣(干、鲜)均可，挑选除杂后清洗，加2倍质量的水，置夹层锅中，100℃预煮30min，手工或机械去核，果肉用打浆机打浆，加入浆液8倍体积的水，浸泡30min，超声提取(150W,3h)，过滤，按照滤液0.2%(即100mL滤液中加入果

胶酶粉末0.2mg)比例,加入果胶酶粉末,45℃保温酶解浸提6h,加热至60℃灭酶,冷却至40~30℃过滤,真空浓缩(60℃,0.06MPa)至相对密度1.10时,喷雾干燥(入口温度为160℃,出口温度60℃),得喷雾干燥细粉III,即大枣提取物。

[0034] 将上述各步骤制备的干燥细粉混合后,即制得茸参枸杞组合物。

[0035] 实施例2.本实施例所述茸参枸杞组合物是由以下重量份的原料的提取物组成:鹿茸15份,红参20份,黄芪15份,枸杞24份,大枣14份和五味子12份。

[0036] 1)鹿茸提取物的制备方法:鹿茸干选择无腐臭变质者,用酒精燎去茸毛,洗净,加3倍质量的水,80℃水煮10~15min,去皮,再煮10min左右,切片或破碎。用40%(v/v)乙醇,所述乙醇用量为每g鹿茸需乙醇20mL,超声波(150W,40min)常温提取。过滤取清液,减压回收乙醇,然后向清液中加入清液体积1.5%(质量mg/体积100mL)的蛋白酶和胰酶混合物,所述蛋白酶和胰酶混合物中蛋白酶和胰酶的质量比为1:1;所述酶解时间6h,酶解温度60℃,降解清液中的大分子蛋白质至多肽,再经真空浓缩(60℃,0.06MPa)至相对密度1.10时,喷雾干燥(入口温度为160℃,出口温度60℃),得喷雾干燥细粉I,即鹿茸提取物。

[0037] 2)红参、黄芪、枸杞和五味子提取物的制备方法:将红参、黄芪、枸杞和五味子中药材经去杂、切片或破碎、清洗、沥干,分别用10倍量70%乙醇回流提取2次,每次提取3小时;过滤,合并滤液,减压回收乙醇。滤液经真空浓缩(60℃,0.06MPa)至相对密度1.10时,喷雾干燥(入口温度为160℃,出口温度60℃),得喷雾干燥细粉II,即红参、黄芪、枸杞和五味子提取物的混合物。

[0038] 3)大枣提取物的制备方法:充分成熟的红枣(干、鲜)均可,挑选除杂后清洗,加2倍质量的水,置夹层锅中,100℃预煮30~40min,手工或机械去核,果肉用打浆机打浆,加入浆液8倍体积的水,浸泡30min,超声提取(150W,3h),过滤,按照滤液0.2%(即100mL滤液中加入果胶酶粉末0.2mg)比例,加入果胶酶粉末,45℃保温酶解浸提6h,加热至60℃灭酶,冷却至40~30℃过滤,真空浓缩(60℃,0.06MPa)至相对密度1.10时,喷雾干燥(入口温度为160℃,出口温度60℃),得喷雾干燥细粉III,即大枣提取物。

[0039] 将上述各步骤制备的干燥细粉混合后,即制得茸参枸杞组合物。

[0040] 实施例3.本实施例与实施例1的不同在于,本实施例所述的茸参枸杞组合物,是由以下重量份的原料的提取物组成:鹿茸14份,红参21份,黄芪14份,枸杞25份,大枣13份和五味子13份。

[0041] 所述组合物的制备方法,同实施例1相同。

[0042] 茸参枸杞组合物清除自由基的研究:

[0043] 以实施例1制备的茸参枸杞组合物为例,考察本发明所述的茸参枸杞组合物清除自由基的功效。

[0044] 1提取液制备。

[0045] 取茸参枸杞组合物20g,加入质量12倍的蒸馏水,加热溶解成混悬液,置超声波提取器中以超声频率18KHZ提取3次,超声剂量为60min(1h),合并提取液,水浴浓缩,3000rpm离心15min,取上清液配制成固形物含量1000μg/mL的水溶液,再加水稀释成固形物含量分别为40μg/mL、60μg/mL、80μg/mL、100μg/mL、120μg/mL、140μg/mL溶液备用。

[0046] 2茸参枸杞组合物对羟基自由基的清除作用。

[0047] 取pH值为7.4的磷酸缓冲液1.0mL,潘红花红(500μg/mL)溶液0.2mL,EDTANa₂-Fe²⁺

溶液1.0mL,分别加入不同浓度的葎参枸杞组合物溶液7.0mL,最后加入质量分数为6%的H₂O₂ 0.8mL,混匀后,于40℃水浴保温30min,在520nm波长测定吸光度A值。空白组以等体积的蒸馏水代替样品溶液;对照组以等体积的蒸馏水代替样品溶液和EDTANa₂-Fe²⁺溶液。以下式计算清除率(E%)。以甘露醇和苯甲酸为对照,结果见表1。

$$[0048] \quad E\% = \frac{(\text{样品组吸光度}A\text{值} - \text{空白组吸光度值})}{(\text{对照组吸光度}A\text{值} - \text{空白组吸光度}A\text{值})} \times 100\% = \frac{(A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})} \times 100\%。$$

[0049] EC₅₀表示清除率达50%时的样品浓度。

[0050] 表1葎参枸杞组合物对·OH(羟基自由基)的清除效力

E (%)	甘露醇			苯甲酸			葎参枸杞组合物		
	浓度 (μg/mL)	EC ₅₀ (μg/mL)	E (%)	浓度 (μg/mL)	EC ₅₀ (μg/mL)	E (%)	浓度 (μg/mL)	EC ₅₀ (μg/mL)	
40.2±2.6	150	264.0	41.1±1.3	30.0	49.0	32.6±1.7	40.0	77.0	
43.7±2.1	200		56.2±2.0	50.0		39.2±2.0	60.0		
51.3±2.7	250		64.5±2.2	70.0		48.3±2.1	80.0		
62.4±3.3	300		69.9±2.8	90.0		57.7±2.5	100.0		
65.8±3.4	350		76.4±3.2	110.0		68.6±3.0	120.0		
78.1±4.0	400		84.2±3.7	130.0		79.0±3.4	140.0		

[0052] 3葎参枸杞组合物对超氧阴离子自由基的清除作用

[0053] 利用邻苯三酚自氧化反应测定葎参枸杞组合物对其产生的超氧阴离子自由基的清除作用。按表2所列配制各反应系统溶液,邻苯三酚最后加入。当邻苯三酚溶液加入后,将各反应系统溶液迅速混匀,在320nm波长测定吸光度最大值即反应速率(自氧化速率)。按下式计算清除率E%。 $E\% = (S_{\text{空白}} - S_{\text{样品}}) \times 100 / S_{\text{空白}}$,S为自氧化速率。

[0054] 表2各反应体系溶液的组成

反应体系	Tris-HCl (mL)	Aq (mL)	邻苯三酚 (mL)	葎参枸杞组合物液 (mL)	总体积 (mL)
邻苯三酚自氧化系统	4.5	4.2	0.3	0	9.0
加入葎参枸杞组合物反应系统	4.5	3.2	0.3	1.0	9.0

[0056] 首先测定邻苯三酚自氧化系统的吸收光谱,确定自氧化速率即最大吸光度值S_{空白}和最大吸收波长(即320nm),然后在320nm波长测定加入葎参枸杞组合物水溶液的后的最大吸光度值S_{样品}(自氧化速率),以Vc为对照。按上式求算E%。结果见表3。

[0057] 表3葎参枸杞组合物对超氧阴离子自由基的清除作用

	Vc			葶参枸杞组合物		
	E (%)	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	E (%)	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
[0058]	42.8 \pm 2.3	30	37.0	35.7 \pm 1.6	40	54.0
	51.2 \pm 2.0	40		48.1 \pm 2.0	60	
	62.9 \pm 4.1	50		56.1 \pm 2.3	80	
	67.3 \pm 3.5	60		67.3 \pm 4.2	100	
	75.4 \pm 4.4	70		72.8 \pm 4.7	120	
	81.7 \pm 6.2	80		83.0 \pm 4.7	140	

[0059] 实验证明,本品能明显清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)和超氧阴离子自由基($\cdot\text{O}_2^-$),具有较强的抗氧化作用,可作为抗氧化,延缓衰老的一种营养保健品服务于广大消费者。