

橄榄咀嚼片的制备及其清除 DPPH· 自由基能力考察

邓迪*, 翁梓聪, 黄裕茵, 谢丽瑜

(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:** 制备橄榄咀嚼片并考察其抗氧化能力。**方法:** 以风味、外观、口感、硬度为综合指标, 采用正交试验考察乳糖、硬脂酸镁、甘露醇、PVP-K30 用量对橄榄咀嚼片处方工艺的影响。通过 HPLC 测定橄榄咀嚼片中酚类物质含量, 色谱条件为 C_{18} 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), 流动相乙腈-0.085% 磷酸 (8:92), 检测波长 280 nm, 流速 1 mL \cdot min⁻¹。通过考察橄榄咀嚼片清除 DPPH· 自由基的能力评价其抗氧化能力。**结果:** 最优处方工艺为原料药 33%, 乳糖 10%, 甘露醇 35%, PVP-K30 10%, 硬脂酸镁 1%, 每片 (0.38 g) 含没食子酸质量 1.64 mg, 橄榄咀嚼片清除 DPPH· 自由基能力优于维生素 C。**结论:** 制备的橄榄咀嚼片具有抗氧化保健功能且口感良好, 对保护及开发华南道地药材提供思路。

[关键词] 橄榄; 咀嚼片; 没食子酸; 1, 1-二苯基苦基苯肼; 抗氧化活性

[中图分类号] R283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2013) 21-0024-04

[doi] 10.11653/syfy2013210024

Preparation of Olive Chewable Tablets and Investigation of Its Scavenging DPPH Free Radicals

DENG Di*, WENG Zi-cong, HUANG Yu-yin, XIE Li-yu

(School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare olive chewable tablets and investigate its antioxidant capacity. **Method:** With flavor, appearance, taste and hardness as composite index, orthogonal test was adopted to optimized formulation technology of olive chewable tablets by taking dosage of lactose, magnesium stearate, mannitol and PVP-k30 as factors. The content of polyphenols from olive chewable tablets was determined by HPLC, chromatographic conditions were: C_{18} column (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), mobile phase of acetonitrile-0.085% phosphoric acid (8:92), detection wavelength 280 nm, flow rate 1 mL \cdot min⁻¹. Antioxidant capacity of olive chewable tablets was evaluated by investigating its scavenging DPPH free radicals. **Result:** Optimal formulation technology was as following: 33% raw material medicine, 10% lactose, 35% mannitol, 10% PVP-K30, 1% magnesium stearate, each tablet (0.38 g) containing gallic acid of 1.64 mg, ability of olive chewable tablets to scavenging DDPH free radicals was better than Vitamin C. **Conclusion:** These prepared olive chewable tablets had antioxidant health function with good taste, it could provide some certain ideas on protection and development of geoh herbs in the South China.

[Key words] olive; chewable tablets; gallic acid; 1, 1-diphenyl picrylhydrazyl; antioxidant activity

橄榄主要产于广东、福建, 属道地药材, 味始涩后甘, 嚼后生津, 余味无穷, 主治咽喉肿痛、烦渴、咳

嗽吐血、菌痢、癫痫, 还可解河豚毒。现代研究证实橄榄中酚类成分 (没食子酸) 具有抗 HBsAg/HBeAg 功效, 其醇提物具有显著的抗氧化活性。目前市面上的国内种质橄榄加工产品主要有蜜饯类、橄榄汁, 但橄榄汁不方便携带, 蜜饯制品在炒制或熏制过程中, 许多有效成分因高温而损失, 会在一定程度上影响橄榄的功效^[1-4]。为更好地开发利用国内橄榄资

[收稿日期] 20130331 (006)

[基金项目] 广州中医药大学国家级大学生创新创业实践项目 (201210572053)

[通讯作者] * 邓迪, 在读学士, 从事中药药物制剂研究, Tel: 18825160806, E-mail: eyu19931@126.com

源、保护国内橄榄品种,本实验采用酶法提取橄榄汁,加以辅料制成口感较好的功能性咀嚼片,通过 HPLC 测定咀嚼片中没食子酸含量,并利用(DPPH·)法评价其抗氧化活性。

1 材料

2489 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), AU220 型 1/万电子分析天平(日本岛津公司), UV2100 型紫外-可见分光光度计(美国尤尼柯公司), ZPS-8 型旋转式压片机(中外合资上海天祥健台制药机械有限公司)。无水直压乳糖、甘露醇、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)-K30(药用辅料,深圳市优普惠药品有限公司),没食子酸对照品(广州市药品检验所,批号 110831-200803),橄榄(购自福建省福州市闽侯县橄榄种植基地,经广州中医药大学马燕副教授鉴定为橄榄科植物橄榄 *Canarium album* Raeusch. 的鲜果),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 橄榄咀嚼片的制备

2.1.1 橄榄粉末的制备^[5-7] 将样品破碎去核,加入适量 95% 乙醇溶液,用搅拌机捣碎,加入 8 U·L⁻¹ 果胶酶超声浸提 20 min,离心 10 min (3 000 r·min⁻¹),取上清液,重复提取 3 次,合并提取液,于 35 °C 减压旋转蒸发除去溶剂,干燥,即得。

2.1.2 辅料的选择 本处方暂定原料药(橄榄粉末)占处方量的 33.3%,辅料质量分数 66.7%。经前期预试验比较发现,加入过多的乳糖(矫味剂)在压片时易导致严重的黏冲现象,而乳糖和甘露醇混合使用并加入少量硬脂酸镁后,黏冲问题得以解决。

2.1.3 处方工艺优化 在预试验基础上,按 2010 年版《中国药典》要求的风味、外观、口感、硬度为考察指标,乳糖、硬脂酸镁、甘露醇、PVP-K30 的用量为考察因素,采用正交试验进行感官评价,评价标准见表 1,因素水平见表 2,试验安排及结果见表 3。

表 1 橄榄咀嚼片的感官评价标准

指标	满分	评分标准		
外观	10	双凸圆形,外形完整,光滑,厚薄均匀,边缘整齐(8~10分)	双凸圆形,外形较完整,光滑,厚薄均匀,边缘较整齐(4~7分)	不成双凸圆形,有黏冲、裂片现象,厚薄不均匀(1~3分)
口感	10	口感细滑,无粗糙感(8~10分)	口感比较细滑,略有粗糙感(4~7分)	口感粗糙(1~3分)
风味	20	有明显橄榄风味,酸甜适度,略有回甘(16~20分)	橄榄风味一般,酸甜适度,回甘不明显(8~15分)	橄榄风味不明显,过酸或过甜,物回甘(1~7分)
硬度	10	硬度 > 50 N(10分)	10 N < 硬度 < 50 N(按比例给分)	硬度 < 10 N(1分)

表 2 橄榄咀嚼片处方工艺正交试验因素水平

水平	A 乳糖 /%	B 硬脂酸镁 /%	C 甘露醇 /%	DPVP-K30 /%
1	10	0.1	15	5
2	15	0.5	25	8
3	20	1.0	35	10

由正交试验结果分析可知,各因素对方工艺的影响顺序为 D > C > A > B, 确定最佳处方 A₁B₃C₃D₃, 即乳糖、硬脂酸镁、甘露醇、PVP-K30 用量分别为 10%, 1%, 35%, 10%。分别按处方量称取原料药及各辅料混匀,过 80 目筛,加入 10% PVP-K30 制软材,过 30 目筛制粒,于 35 °C 干燥 1 h,过 30 目筛整粒,外加法加入 1% 硬脂酸镁,混匀,用直径 12 mm 圆形浅凹冲于旋转压片机压片,控制片重(0.38 ± 0.019) g,即得橄榄咀嚼片^[8-11]。

2.2 橄榄咀嚼片中没食子酸含量的测定

2.2.1 供试品溶液制备^[12] 取按最优处方制成的

表 3 橄榄咀嚼片处方工艺正交试验安排

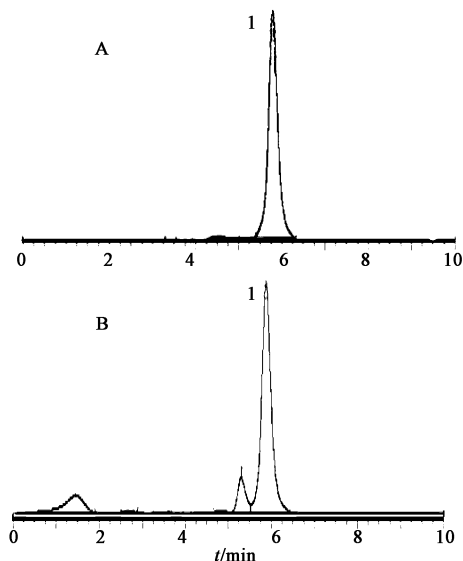
No.	A	B	C	D	感官评价/分
1	1	1	1	1	35.0
2	1	2	2	2	38.3
3	1	3	3	3	48.5
4	2	1	2	3	40.0
5	2	2	3	1	40.5
6	2	3	1	2	41.1
7	3	1	3	2	37.5
8	3	2	1	3	40.0
9	3	3	2	1	32.0
K ₁	121.8	112.5	116.1	109.5	
K ₂	121.6	120.8	110.3	116.9	
K ₃	109.5	121.6	128.5	128.5	
R	4.7	2.8	6.1	6.3	

咀嚼片 20 片,研碎,精密称取 0.15 g,加入 5% 硫酸 5.0 mL 溶解,于 70 °C 水浴 30 min,用 5.0 mL 等量乙酸乙酯萃取 2 次,取上清液,挥干乙酸乙酯,加入甲醇 25.0 mL 使溶解,精密移取该溶液 1.0 mL 于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容、混匀,以 0.22 μm 有机微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.2 色谱条件及标准曲线^[13] 美国菲罗门公司 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.085% 磷酸 (8:92), 检测波长 280 nm, 流速 1 mL·min⁻¹。以质量浓度为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 得回归方程 $Y = 572\,452 + 122\,670X$ ($r = 0.999\,6$), 表明没食子酸在 2 ~ 20 gm·L⁻¹ 呈良好线性关系。以没食子酸的峰面积和保留时间为标准进行方法学考察, 结果显示该图谱稳定性 (13 h 内 RSD 1.41%)、重复性 (RSD 0.98%) 良好, 精密密度符合要求 (RSD 0.98%)。

2.2.3 加样回收试验 取研碎的橄榄咀嚼片粉末 0.3 g, 共 6 份, 分别精密加入没食子酸对照品贮备溶液 (5 mg·L⁻¹) 2.1 mL, 按 2.2.1 项下平行制备供试品溶液, 按上述色谱条件进样分析, 平行测定 3 次, 结果平均回收率 98.75% (RSD 1.21%)。

2.2.4 样品测定 供试品溶液和对照品溶液的色谱图见图 1。计算样品中没食子酸质量分数 4.33 mg·g⁻¹, 折算 3 号试验组咀嚼片 (0.38 g/片) 含没食子酸为 1.64 mg/片 (RSD 1.21%)。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 没食子酸

图 1 橄榄咀嚼片 HPLC

2.3 抗氧化性考察 取按最优处方制成的咀嚼片 20 片, 捣碎, 精密称取后配置等质量浓度梯度不同

质量分数的 95% 乙醇样品溶液。另配备 0.004% (DPPH·) 无水乙醇溶液 (现配现用)。量取不同质量分数的样品溶液 0.1 mL, 置于具塞试管中, 加入配制好的 DPPH· 溶液 3 mL, 摇匀后室温放置 30 min, 于 517 nm 处测定吸光度 (A_s), 平行测定 3 次。另以 95% 乙醇溶剂做空白对照, 测定 DPPH· 溶液 3 mL 与 95% 乙醇溶液 0.1 mL 混合后在 517 nm 处的 A_c , 计算抑制率 (I), 见图 2, 以维生素 C 作为阳性对照, 测定橄榄咀嚼片清除 DPPH· 自由基的能力, 表明咀嚼片具有良好的抗氧化活性, $IC_{50} = 0.374\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 远远小于维生素 C ($0.766\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)。

$$I = (A_c - A_s) / A_c \times 100\%$$

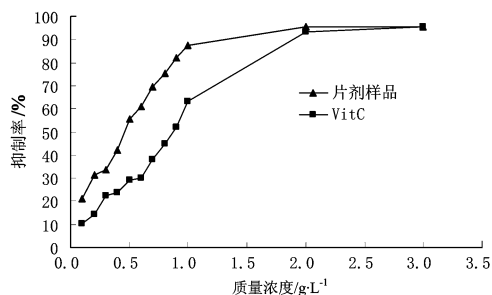


图 2 橄榄咀嚼片与维生素 C 的抑制率曲线

3 讨论

在目前国内市场上, 以橄榄为原料的加工产品主要以腌渍、糖渍类或压榨油类为主, 前者对有效成分破坏极大, 后者不利于本土含油量低的橄榄种质保护。咀嚼片采用酶解法除去橄榄果实中难以除去的纤维素、果胶, 同时闽侯檀香橄榄在古代是进贡佳品, 近来由于研究较少, 市场占有率较低, 但其口感较好、药用价值较高, 且本产品中多酚类物质 > 0.431%, 对 DPPH· 自由基具有良好的清除能力, 显示明确的抗氧化功能, 开发前景广阔。

[参考文献]

- [1] 钟明, 甘廉生, 彭艺, 等. 广东橄榄品种资源的现状 [J]. 中国南方果树, 2008, 37(6): 29.
- [2] 张亮亮, 杨志伟, 林益明. 橄榄多酚抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2008, 29(4): 57.
- [3] 项昭保, 徐一新, 陈海生, 等. 橄榄中酚类化学成分研究 [J]. 中成药, 2009, 31(6): 917.
- [4] 徐苏丽. 中药橄榄化学成分及药理作用研究进展 [J]. 海峡药学, 2011, 23(10): 16.
- [5] 杨艳, 陈润, 苏红卫, 等. 果胶酶对橄榄出汁率影响的研究 [J]. 泸州医学院学报, 2009, 32(5): 482.
- [6] 林清强, 薛彩娟, 黄政. 橄榄汁饮料的生产工艺研究 [J]. 赤峰学院学报: 自然科学版, 2010, 26(5): 108.

正交试验优选黔产铁苋菜中没食子酸的提取工艺

魏学军^{1*}, 陈明¹, 余跃生¹, 林先燕¹, 冯光维¹, 李江²

(1. 黔南民族医学高等专科学校, 贵州 都匀 558003; 2. 贵阳中医学院, 贵阳 550001)

[摘要] 目的: 优选黔产铁苋菜中没食子酸的提取工艺。方法: 采用 HPLC 测定铁苋菜中没食子酸含量, Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.05% 磷酸 (4:96), 检测波长 270 nm, 柱温室温, 流速 1 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL。以没食子酸转移率为指标, 通过单因素试验筛选提取溶媒和提取方法, 采用正交试验考察液固比、乙醇体积分数、提取温度、提取时间对提取工艺的影响。结果: 选择乙醇为提取溶媒, 采用回流法提取。最佳提取工艺条件为加 30 倍量 70% 乙醇于 90 °C 提取 2 次, 每次 4 h, 没食子酸平均转移率 7.888 mg·g⁻¹ (RSD 1.60%)。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 为黔产铁苋菜的开发利用提供实验依据。

[关键词] 铁苋菜; 高效液相色谱法; 没食子酸; 正交试验; 提取工艺; 单因素试验

[中图分类号] R284.2; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0027-03

[doi] 10.11653/syjf2013210027

Optimization of Extraction Process for Gallic Acid in *Acalypha australis* from Guizhou by Orthogonal Test

WEI Xue-jun^{1*}, CHEN Ming¹, YU Yue-sheng¹, LIN Xian-yan¹, FENG Guang-wei¹, LI Jiang²

(1. Qiannan Medical College for Nationalities, Duyun 558003, China;

2. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of gallic acid in *Acalypha australis* from Guizhou.

Method: The content of gallic acid from *A. australis* was determined by HPLC, Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (4:96), detection wavelength 270 nm, column temperature at room temperature, flow rate 1 mL·min⁻¹, injection volume 10 μL. With transfer rate of gallic acid as index, single factor tests were adopted to screen extraction methods and solvents, effects of

[收稿日期] 20130403(003)

[基金项目] 贵州省教育厅自然科学研究项目(20090119号); 黔南民族医学高等专科学校项目(QNYZ200902)

[通讯作者] * 魏学军, 副教授, 从事中药质量控制研究, Tel: 0854-8308038, E-mail: qndywxj@163.com

[7] 夏昌林. 中药浓缩方式的应用[J]. 机电信息, 2011, 18(14):4.

[8] 张华, 裴桂珍, 李桂华, 等. 鞣花酸片剂的制备及其含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13):39.

[9] 高明燕, 余梦瑶, 郑林用, 等. 具有免疫调节功能的平菇咀嚼片的研制[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(3):184.

[10] 李海刚, 袁中文, 关世侠, 等. 酮洛芬微丸缓释片的制备及体外释放度考察[J]. 中国医院药学杂志, 2011,

31(20):1710.

[11] 王若兰, 侣丽莎, 李成文, 等. 山药咀嚼片的研制[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(5):101.

[12] 赖志勇, 夏有杰, 肖维强, 等. RP-HPLC 法测定青果鲜果肉中的没食子酸含量[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2009, 22(1):17.

[13] 谢晓艳, 刘洪涛, 张吉, 等. 没食子酸体外抗氧化作用研究[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(3):319.

[责任编辑 全燕]