

蒜头果皮果肉抗氧化成分提取及其 抗氧化性质研究

唐婷范, 刘雄民*, 凌敏, 李伟光
(广西大学化学化工学院, 广西南宁 530004)

摘要: 以脱油脂后蒜头果的果皮果肉渣为原料, 采用回流法提取其抗氧化成分, 并研究其抗氧化性质。结果表明: 以 pH4 的 HCl 溶液为溶剂、料液比 1:30(g/mL)、70℃水浴 1h 条件下提取 2 次, 蒜头果皮果肉多酚抗氧化成分得率为 3.29%。其多酚化合物对羟自由基($\cdot\text{OH}$)和二苯基苦基肼自由基(DPPH 自由基)均有较强的清除作用, 最大清除率分别为 74.00% 和 76.54%, 其中对 DPPH 自由基清除率强弱依次为蒜头果皮果肉水提取物>抗坏血酸>单宁酸。
关键词: 蒜头果; 提取; 多酚; 抗氧化性

Extraction and Antioxidant Properties of Phenolic Components from Peel and Flesh of *Malania oleifera* Chun

TANG Ting-fan, LIU Xiong-min*, LING Min, LI Wei-guang
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: Phenolic components from the peel and flesh of *Malania oleifera* Chun were extracted by reflux extraction and their antioxidant activities were studied. The extraction rate of polyphenols was 3.29% after twice-repeated extractions for 1 h each time with pH 4 HCl solution at a solid-to-liquid ratio of 1:30 (g/mL) in 70 °C water bath. The extract obtained under these conditions showed strong scavenging effect on hydroxyl and DPPH free radicals and the maximum scavenging rates were 74.00% and 76.54%, respectively. A ranking of the extraction, ascorbic acid and tannic acid in decreasing order of DPPH free radical scavenging activity was observed.

Key words: *Malania oleifera* Chun; extraction; polyphenols; antioxidation

中图分类号: TS201.2; R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)02-0016-04

目前, 蒜头果(*Malania oleifera* Chun, 又名山桐果)的研究主要集中在果仁脂肪酸组成与应用^[1-4]、蛋白质活性^[5-7]、果皮果肉中芳香精油的提取和分离^[8-9]等方面。果皮果肉中除含 1.3% 的精油外, 剩余大量成分尚未受到重视。许多研究资料表明, 当前一些高发的心血管疾病(如癌症、心脑血管病等)与人体内自由基的代谢异常有关, 清除人体内多余的自由基有利于人体健康, 因此, 有关自由基清除剂的研究, 已成为近年来人们关注的热点之一^[10]。植物体内次生代谢产物——多酚物质, 因能提供活泼的氢而中止自由基的连锁反应, 从而具有良好的自由基清除效果^[11]。近年来, 国内外在植物多酚方面的研究报道较多^[12-13], 但有关蒜头果多酚

的研究鲜见报道, 一般将其作为废渣丢弃, 造成了资源的浪费, 影响蒜头果的综合利用价值。

本实验从蒜头果的果皮果肉渣中提取抗氧化成分, 采用羟自由基($\cdot\text{OH}$)和二苯基苦基肼自由基(DPPH 自由基)两种不同体系对蒜头果皮果肉多酚进行自由基清除的抗氧化生物活性研究, 拓展蒜头果的应用领域。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

蒜头果产于广西巴马县。

单宁酸、抗坏血酸、钨酸钠、钼磷酸、水杨酸、磷酸二氢钠、双氧水均为国产分析纯; 二苯基苦基肼自

收稿日期: 2010-12-20

基金项目: 广西自然科学基金项目(桂科基 0832002); 广西教育厅科研项目(200807MS149)

作者简介: 唐婷范(1988—), 女, 博士研究生, 研究方向为天然产物化工。E-mail: tangtingfan@163.com

* 通信作者: 刘雄民(1960—), 男, 教授, 博士, 研究方向为香料化学。E-mail: xmliu1@gxu.edu.cn

由基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl, DPPH) 日本 Wako 公司。

1.2 仪器与设备

UV-2550 型紫外 - 可见分光光度计、FTIR-8400S 型傅里叶变换红外光谱仪 日本岛津公司; LD5-10 型低速离心机 北京医用离心机厂; pHS-3C 型精密 pH 计 上海精密科学仪器有限公司; RE-52A 型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 蒜头果皮果肉抗氧化成分的提取

将脱油脂后蒜头果的果皮果肉渣粉碎, 过 60 目筛。准确称取一定量的原料, 加入一定料液比的提取溶剂, 于一定温度下回流提取一定时间, 提取液在 3000r/min 转速条件下离心 20min, 取上清液用紫外 - 可见分光光度计测定吸光度, 将提取液浓缩后真空干燥, 干燥物置于 4~6℃ 冰箱中保存, 待用。

1.3.2 蒜头果皮果肉抗氧化成分分析

采用特征显色反应(分别与明胶、三氯化铁、甲醛 - 盐酸和茴香醛 - 硫酸试剂反应)、紫外 - 可见吸收光谱和红外光谱对其抗氧化成分进行定性分析。

1.3.3 多酚含量的测定

参考文献[14]的方法, 以 A_{756nm} 对单宁酸质量浓度(C)进行线性回归分析, 求得线性方程为 $A = 0.0208C - 0.0301$, 相关系数 $r = 0.9994$, 相对标准偏差(RSD)=0.57%。取一定体积的提取液按上述方法测定吸光度, 用线性方程计算提取液中多酚含量。

1.3.4 蒜头果皮果肉中多酚化合物的抗氧化性质

将提取的蒜头果皮果肉多酚配成不同质量浓度的溶液, 按文献[15]的方法, 分别采用 Fenton 和 DPPH 法, 测定各试样不同质量浓度时的 A_{525nm} 和 A_{517nm} , 并计算其对 $\cdot OH$ 和 DPPH 自由基的清除率。

2 结果与分析

2.1 蒜头果皮果肉抗氧化成分表征

表 1 提取液的显色反应

Table 1 Results of color development reaction of water extract of *Malania oleifera* Chun peel and flesh

试剂	明胶	三氯化铁	甲醛 - 盐酸	茴香醛 - 硫酸
显色现象	有沉淀产生	暗绿色	有沉淀产生	橙色

2.1.1 特征显色反应

由表 1 可知, 水提取液具有单宁的显色特征, 初

步推断出蒜头果皮果肉中含有酚羟基类的抗氧化成分。

2.1.2 紫外 - 可见光及红外光谱分析

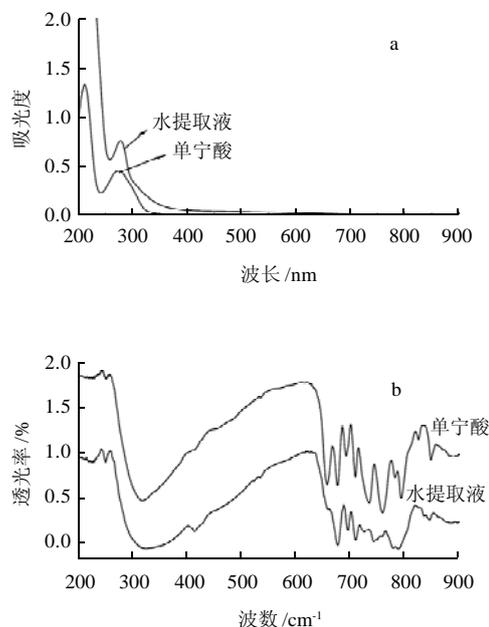


图 1 试样的紫外 - 可见光(a)和红外(b)光谱分析图

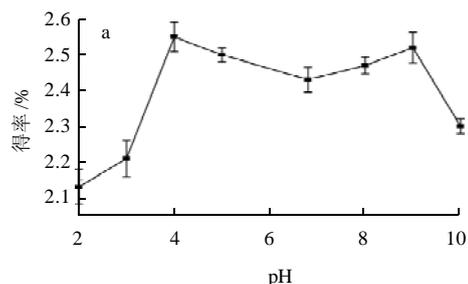
Fig.1 UV absorption (a) and FT-IR (b) spectra of water extract of *Malania oleifera* Chun peel and flesh and gallic acid

紫外 - 可见光光谱如图 1a 所示。提取液与单宁在 276nm 处均有强吸收, 可推断含多酚类化合物。

红外光谱如图 1b 所示, 以单宁酸谱图为参照。提取物具有单宁类的部分特征吸收峰, 如 3400cm⁻¹ 处有很宽的 O-H 伸缩振动, 峰形宽大, 吸收峰强, 1400cm⁻¹ 为 O-H 面内弯曲振动, 668cm⁻¹ 为 O-H 面外弯曲振动, 1600cm⁻¹ 左右为苯环骨架吸收峰等, 证明有酚羟基或糖上的羟基存在, 蒜头果皮果肉的抗氧化成分含有多酚类化合物。

2.2 提取条件对多酚得率的影响

2.2.1 溶剂 pH 值的影响



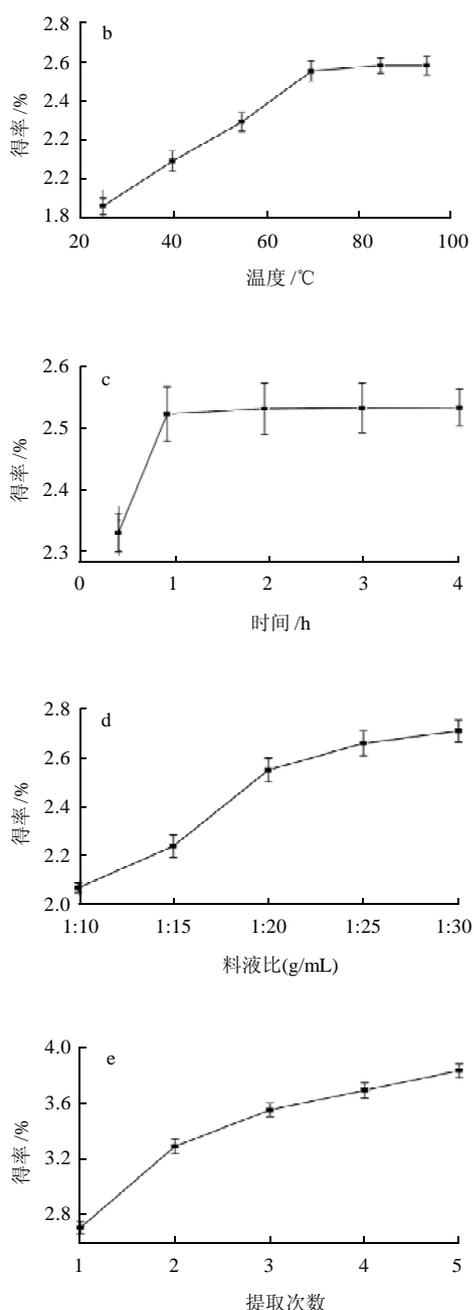


图2 溶剂pH值(a)、提取温度(b)、提取时间(c)、料液比(d)和提取次数(e)对蒜头果皮果肉多酚得率的影响

Fig.2 Effects of pH (a), temperature (b), time (c), solid-to-liquid ratio (d) and extraction number (e) on polyphenol yield

称取5g果皮果肉渣,加入料液比为1:20、不同pH值(2~10)的稀盐酸或NaOH溶液,于70℃条件下回流提取1次(2h),结果见图2a。多酚在适宜的酸性和碱性条件下得率均较高,可能的原因是多酚在植物中一般与碱结合成盐存在,加适量的酸液,易使单宁酸游离出来,对于高聚合度的缩合单宁,碱液较酸液更容易使其浸出,但碱性条件下单宁易氧化,故以pH4的蒸馏水进

行试验。

2.2.2 提取温度的影响

称取5g果皮果肉渣,加入料液比为1:20的水(pH4),于不同温度下回流提取1次(2h),结果见图2b。多酚化化合物的得率随着温度的升高逐渐增大,当温度达到70℃以后,多酚得率上升幅度明显趋缓,可能的原因是温度升高时,溶剂的渗透能力和溶解能力均有所增强,但温度过高会使部分多酚被氧化导致生物活性的丧失,故浸提温度以70℃为宜。

2.2.3 浸提时间对多酚得率的影响

称取5g果皮果肉渣,加入料液比为1:20的水(pH4),于70℃条件下分别以不同时间回流提取1次,结果见图2c。1h内随着提取时间的增加,多酚得率大幅度增大,之后明显趋缓,可能的原因是浸提初始阶段物料与溶剂间存在较大的多酚质量浓度差,扩散速度较快,多酚得率较高,1h后扩散趋于平衡,浸出速率减缓,考虑到部分多酚类物质长期处在高温环境下易被氧化,故浸提时间以1h为宜。

2.2.4 料液比对多酚得率的影响

称取5g果皮果肉渣,加入不同料液比(g/mL)的水(pH4),于70℃条件下回流提取1次(1h),结果见图2d。随料液比的增大,多酚的溶出率也在增大,可能的原因是液料比的提高会在较大程度上提高传质的速率和推动力,增加多酚的得率,但也增加了后续浓缩工艺处理的能耗,故以1:30为宜。

2.2.5 提取次数对多酚得率的影响

称取5g果皮果肉渣,加入料液比为1:30的水(pH4),于70℃条件下回流提取不同次数,每次提取1h,结果见图2e。提取次数为2次时,多酚得率为3.29%,得率提高了21.40%,但提取次数为3次时,多酚得率仅提高7.90%,故提取次数以2次为宜。

2.3 蒜头果皮果肉中多酚化合物的抗氧化性质研究

蒜头果皮果肉多酚对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用,结果如图3a所示。水提取蒜头果皮果肉多酚对 $\cdot\text{OH}$ 有一定的清除作用,且变化趋势与单宁酸相似,均先随质量浓度的增大而升高后趋于平缓,对 $\cdot\text{OH}$ 最大清除率为74.00%。

蒜头果皮果肉多酚对DPPH自由基的清除作用,结果如图3b所示,各试样对DPPH自由基的清除率均随质量浓度的增大而增大,当质量浓度小于2.52mg/mL时,蒜头果皮果肉多酚对DPPH自由基的清除能力强于单宁酸及抗坏血酸,但随质量浓度继续增大后,该多酚对DPPH自由基的清除率趋于平缓,以 IC_{50} 值作为评价试样清除DPPH自由基能力的指标, IC_{50} 值越小,表明样品清除自由基的能力越强。可知各试样对DPPH自

由基清除率强弱依次为水提取物>抗坏血酸>单宁酸,水提取物在试验质量浓度范围内对 DPPH 自由基最大清除率为 76.54%。

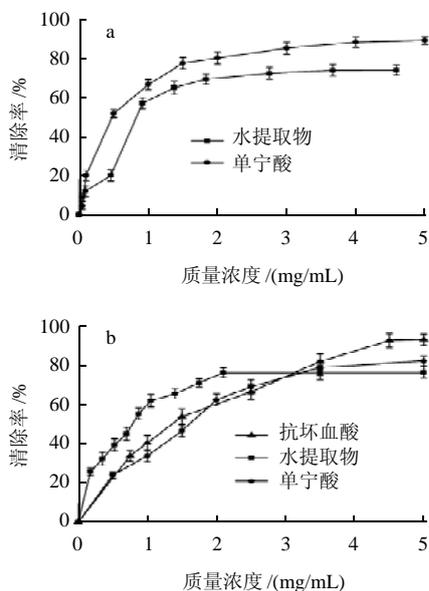


图3 不同质量浓度试样对 $\cdot\text{OH}$ (a)和DPPH自由基(b)的清除率曲线

Fig.3 Hydroxyl free radical (a) and DPPH free radical (b) scavenging rates of water extract of *Malania oleifera* Chun peel and flesh and gallic acid and reference compounds at different concentrations

3 结论

蒜头果的果皮果肉中含多酚类抗氧化成分,且最佳提取工艺条件下多酚得率为3.29%。在试验质量浓度范围内,该多酚提取液对自由基OH和DPPH自由基的清除率分别达74.00%和76.54%,具有明显的清除自由基作用,其中对DPPH自由基清除率高于抗坏血酸和单宁

酸(以 IC_{50} 值作为评价指标)。

本实验采用的回流提取方法,其具有操作简单,方法稳定的特点,另外蒜头果果皮果肉多酚具有较强的抗氧化作用,这对于蒜头果的综合利用和进一步开发具有重要意义。

参考文献:

- [1] 周永红,李伟光,易封萍,等.气相色谱-质谱法测定蒜头果油中的脂肪酸[J].色谱,2001,19(2):147-148.
- [2] 刘雄民,李伟光,李飘英,等.用蒜头果油脂合成大环内酯的新方法[J].高等学校化学学报,2007,28(5):897-899.
- [3] 赖芳,刘雄民,李伟光,等.气相色谱外标法测定环十五内酯[J].食品科学,2009,30(10):159-161.
- [4] LAI Fang, LIU Xiongmin, LI Weiguang, et al. Macrolactonization of methyl 15-hydroxypentadecanoate to cyclopentadecanolide over Mo-Fe/HZSM-5 catalyst[J]. *Reac Kinet Mech Cat*, 2010, 100(2): 407-415.
- [5] 戴晓物,毛宇,黄晓麒,等.用于人类癌症治疗的蒜头果蛋白质:中国,200510010633.1[P].2006-08-09.
- [6] YUAN Yan, DAI Xiaochang, WANG Debin, et al. Purification, characterization and cytotoxicity of malanin, a novel plant toxin from the seeds of *Malania oleifera*[J]. *Toxicon*, 2009, 54(2): 121-127.
- [7] 袁燕.新的植物毒蛋白(Malanin)的分离纯化、结构鉴定、生物活性及作用机理研究[D].昆明:云南大学,2008.
- [8] 刘雄民,李伟光,李飘英,等.从蒜头果的果皮果肉提取精油和天然苯甲醛的方法:中国,02139271.4[P].2003-4-16.
- [9] 刘雄民,李伟光,李飘英,等.蒜头果挥发油提取及化学成分分析[J].应用化学,2007,24(8):968-970.
- [10] 凌关庭.抗氧化物质与健康[M].北京:化学工业出版社,2004:1-10.
- [11] KRINSKY N I. Possible biologic mechanisms for a protective role of xanthophylls[J]. *Nutrition*, 2002, 132(3): 540-542.
- [12] BOLLING B W, DOLNIKOWSKI G, BLUMBERG J B, et al. Polyphenol content and antioxidant activity of California almonds depend on cultivar and harvest year[J]. *Food Chemistry*, 2010, 122(3): 819-825.
- [13] 谭俊峰,林智,吕海鹏,等.超高压处理对茶多酚提取率和抗DPPH自由基活性的影响[J].食品科学,2009,30(18):92-95.
- [14] 杨秀平,尉芹,辛转霞,等.单宁提取与测定实验的改进[J].科教文汇,2007(2):100.
- [15] 赵艳红,李建科,李国秀.天然抗氧化物体外活性评价方法的优选与优化[J].食品科学,2008,29(6):64-69.