

昆明实心竹叶黄酮的提取及对油脂的抗氧化研究

郭 磊, 徐润红, 袁润玲, 姚坤华, 郭 群

(西南林学院 资源学院, 云南 昆明 650224)

摘 要:以昆明实心竹叶为原料, 确定竹叶黄酮提取的最佳工艺条件及竹叶黄酮对菜籽油的抗氧化作用。结果表明: 时间 4.5 h, 温度 80℃, 固液比 1:20, 乙醇浓度 75%, 次数 1 次, 黄酮含量 34.58 mg/g, 纯化后纯度达 76.72%; 竹叶黄酮对油脂具有一定的抗氧化效果, 0.02% (质量分数) 的竹叶黄酮抗氧化效果低于柠檬酸、BHT、TBHQ, 而高于 VC, 但与 0.02% (质量分数) 柠檬酸协同使用可大大增强黄酮在油脂基质中的抗氧化作用, 抗氧化效果明显增强。

关键词: 昆明实心竹叶; 黄酮; 纯化; 抗氧化

中图分类号: S 646.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)13-0032-03

竹子中存在大量的酮类化合物, 是我国新开发的一种植物类黄酮制剂, 具有优良的抗自由基、抗氧化、抗衰老、抗菌、抗病毒及保护心脑血管、防治老年退行性疾病等生物学功效。其丰富的原料来源、明确的功能因子、良好的食用安全性、高稳定的制剂品质和清新甜香的竹子风味, 近年来在天然功能性食品添加剂和医药保健品领域崭露头角^[1]。

昆明实心竹 (*Fargesia yunnanensis* Hsueh et Yi) 是云南箭竹属中的一种, 产于四川西南部及云南海拔 2 500~4 000 m 的高山和中山地带, 但少数种类也见于滇中高原乃至南部热区, 多为人工栽培, 亦有少量见于云南松林或阔叶林下野生。秆小型, 少数为中型, 粗可达 5 cm; 秆挺直, 壁光滑, 故又称滑竹; 竿柄长 12~35 cm, 粗 2.5~7 cm, 节间长 5~16 mm; 笋味鲜美, 在昆明蔬菜市场上称甜笋, 系食用佳品; 竹材厚实, 竿可作抬扛和各种农具柄^[2], 因而开发利用昆明实心竹资源具有广阔的发展前景。该试验以昆明实心竹叶为原料, 对竹叶黄酮的提取工艺条件及竹叶黄酮的抗氧化作用进行研究, 旨在为开发利用昆明实心竹资源提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

昆明实心竹叶 (采自西南林学院竹园); 菜籽油 (市售); 食用酒精、芦丁标样、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 NaNO_2 、 NaOH 、氯仿、盐酸、30%过氧化氢、三氯甲烷、甲醇、还原铁粉、氯化

亚铁、硫氰酸钾、抗坏血酸 (VC)、柠檬酸, 均为国产分析纯; BHT (Sigma 公司); TBHQ (广东省东莞广益食品添加剂实业有限公司); AB-8 大孔树脂。

1.2 试验仪器

LXJ-II 型离心机 (上海医用分析仪器厂)、UV-1000 紫外-可见分光光度计 (北京莱伯泰科科技有限公司)、RE-52 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂)、BT224S 电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司)、DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司)、DZF-6090 真空干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司)、HH-2 型数显恒温水浴锅 (国华电器有限公司)、UV-1000 紫外-可见分光光度计 (北京莱伯泰科科技有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 工艺流程 新鲜昆明实心竹叶→预处理→浸提→抽滤→浓缩→离心分离→浓缩→氯仿萃取→树脂吸附→水洗→醇洗→浓缩→真空干燥→成品→测定过氧化值。

1.3.2 原料预处理 采集新鲜的昆明实心竹叶, 用水洗去灰尘等杂质, 在恒温干燥箱中以 65℃ 度干燥 48 h, 用粉碎机粉碎后保鲜膜密封保存。

1.3.3 芦丁标准溶液的配制、竹叶黄酮粗提含量及纯度测定 采用 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 比色法^[3-4]。

1.3.4 实心竹叶黄酮对菜籽油的抗氧化研究 采用烘箱法, 取 30 g 油样, 放入 100 mL 烧杯, 敞口, 按一定量加入实心竹叶黄酮提取液或抗氧化剂或增效剂, 混合均匀, 将油样放入 61℃ 恒温箱中, 每隔 24 h 搅拌 1 次, 并交换它们在恒温箱的位置, 每隔 48 h 测定油样的过氧化值 (POV)^[5-6]。

1.3.5 铁标准曲线的绘制 根据 GB/T 5009.37-2003 采用比色法。

第一作者简介: 郭磊 (1981-), 男, 河南卢氏人, 硕士, 讲师, 研究方向为食品资源开发及利用。E-mail: guoleigift_student@sina.com。

基金项目: 西南山地森林资源保育与利用 省部共建教育部重点实验室资助项目。

收稿日期: 2010-03-31

1.3.6 油脂抗氧化值(POV)的测定 过氧化值按 GB/T5009.37-2003 测定。

2 结果与分析

2.1 昆明实心竹叶黄酮的提取

常压下,分别改变提取温度、固液比、乙醇浓度、提取次数、提取时间,比较在不同条件下昆明实心竹叶黄酮含量。在单因素试验的基础上,采用四因素三水平 $L_9(4^3)$ 正交表,作正交实验。醇提工艺结果见表 1,各因素的极差大小反映了因素变化时提取量的变化幅度,因素的极差越大,就表示该因素对提取率影响越大,各因素对提取量影响程度的主次排列为 B(提取时间)> A(提取温度)> D(固液比)> C(乙醇浓度)。方差分析结果见表 2,极差的直观分析见图 1,提取时间对黄酮的提取有极为显著性影响,提取温度有显著性影响,而固液比、乙醇浓度无显著影响。通过直观分析和方差分析,提取时间选择 B₃,提取温度选择 A₂,由于固液比、乙醇浓度对提取率并不显著,并从节省资源和减少能耗的角度考虑,分别选择 D₁ 和 C₁。即选择提取时间为 4.5 h,提取温度为 80℃,固液比为 1:20,乙醇浓度为 75%作为昆明实心竹叶黄酮提取的最佳工艺条件。在此条件下得到的提取液中黄酮含量为 34.58 mg/g,提取液经三氯甲烷萃取,AB-8 大孔树脂吸附、浓缩等纯化工序后纯度达 76.72%。

表 1 醇提工艺正交实验结果					
序号	A 温度 /℃	B 时间 /h	C 乙醇浓度 /%	D (固液比)	含量 /mg·g ⁻¹
1	1(75)	1(2.5)	1(75)	1(1:20)	28.00
2	1	2(3.5)	2(80)	2(1:25)	33.75
3	1	3(4.5)	3(85)	3(1:30)	35.25
4	2(80)	1	2	3	34.50
5	2	2	3	1	35.00
6	2	3	1	2	38.13
7	3(85)	1	3	2	31.88
8	3	2	1	3	37.50
9	3	3	2	1	39.00
极差 1	32.33	31.46	34.54	34.00	
极差 2	35.88	35.42	35.75	34.58	
极差 3	36.13	37.46	34.04	35.75	
R	3.79	6.00	1.71	1.75	

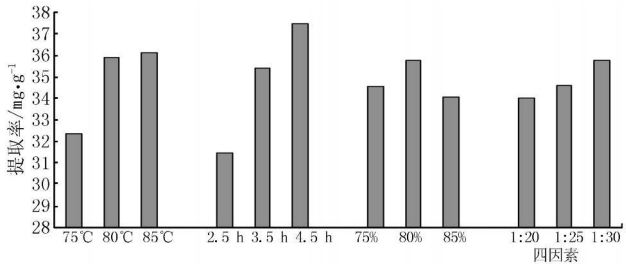


图 1 各因素对提取率的影响

注:图中从左到右的四因素分别为:温度,时间,乙醇浓度、固液比

表 2 方差分析					
方差来源	偏回归平方和	自由度	均方差	F 值	显著性
A	26.98	2	13.49	5.83	*
B	55.84	2	27.92	12.06	**
C	4.63	2	2.31	1.00	
D	4.76	2	2.38	1.03	
总和	92.2	8	11.53		

2.2 不同添加量的实心竹叶黄酮提取液对菜籽油的抗氧化作用

取 30 g 菜籽油,加入不同量的实心竹叶黄酮提取液于 100 mL 的烧杯中,置于 61℃的烘箱中。每隔 48 h 进行取样测定。测得各个处理的菜籽油的 POV 值如图 2 所示,随着时间的延长,实心竹叶黄酮提取液(质量分数)在菜籽油中所表现出的抗氧化作用随着黄酮提取液的添加量越高,抗氧化作用越强,即实心竹叶黄酮提取液对油脂的抗氧化能力有剂量效应关系。

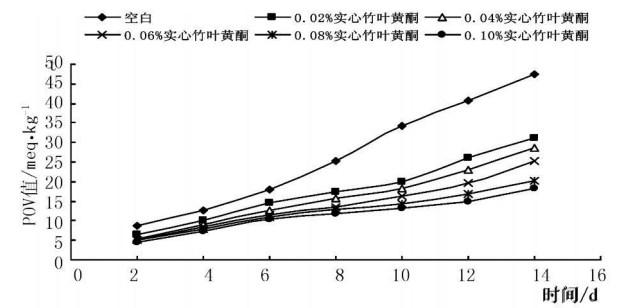


图 2 不同量竹叶黄酮对菜籽油的抗氧化效果

2.3 黄酮提取液与其它合成抗氧化剂对菜籽油抗氧化作用的比较

取 30 g 菜籽油,分别加入量为 0.02%(质量分数,以下相同)的实心竹叶黄酮提取液、BHT、TBHQ、抗坏血酸、柠檬酸于 100 mL 的烧杯中,置于 61℃的烘箱中。每隔 48 h 进行取样测定。测得各个处理的菜籽油的 POV 值如图 3 所示,刚开始经 0.02%抗坏血酸和柠檬酸处理菜籽油样品的 POV 值变化相差不大;而经 BHT 和 TBHQ 处理的 POV 值变化相对与其它的较小。经竹叶黄酮处理菜籽油样品的 POV 值的增长略高于合成抗氧化剂处理,其抗氧化效果由强到弱的顺序为:柠檬酸> TBHQ> BHT> 实心竹叶黄酮提取液> 抗坏血酸。初期抗坏血酸对油脂的抗氧化作用明显,随着时间的延长,抗氧化作用降低,可能是本身容易发生氧化,而在较高温度下较长时间被氧化而失去抗氧化能力;BHT 和 TBHQ 抗氧化效果明显,而且持续作用,但它们是化学合成剂,有一定的毒性,国外现在已经停止使用;实心竹叶黄酮提取液为天然产物,无毒副作用,比合成抗氧化剂有明显的优越性,有良好的应用前景。

2.4 添加增效剂对竹叶黄酮抗氧化作用的影响

该试验研究了抗坏血酸、柠檬酸和实心竹叶黄酮的

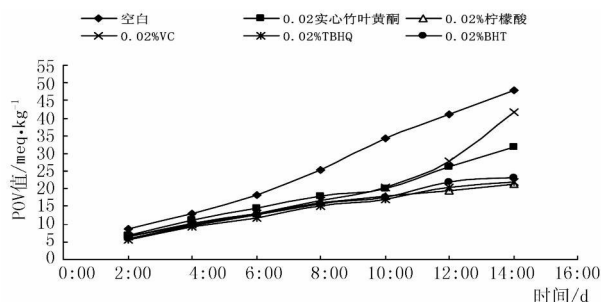


图3 不同抗氧化剂对菜籽油的抗氧化效果

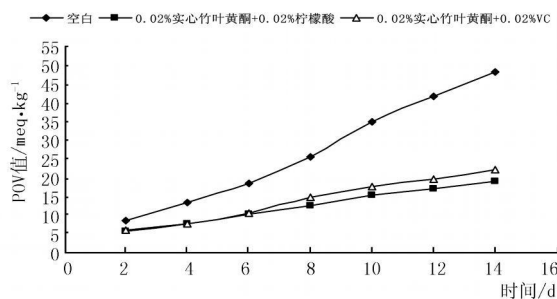


图4 不同增效剂对竹叶黄酮抗氧化效果的影响

协同抗氧化效果,取30 g菜籽油,分别加入0.02%实心竹叶黄酮提取液+0.02%柠檬酸、0.02%的实心竹叶黄酮提取液+0.02%抗坏血酸于100 mL的烧杯中,置于61℃的烘箱中,每隔48 h进行取样测定,测得各个处理后菜籽油的POV值如图4所示。加入增效剂后,实心竹叶黄酮对菜籽油的抗氧化作用明显增强,均优于单独使用竹叶黄酮时的抗氧化效果。实心竹叶黄酮+VC组在初期有较好的抗氧化作用,但随着作

用时间的延长抗氧化作用减弱,可能是这些增效剂和油脂中的某些金属离子如 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 等发生螯合作用形成金属盐,使能促进氧化的微量金属离子钝化,不再具有催化油脂氧化的能力,从而增加实心竹叶黄酮的抗氧化效果。实心竹叶黄酮与合成抗氧化剂混合时具有较强的抗氧化作用,对于减少合成抗氧化剂的使用量有重要的实际意义。

3 讨论

实心竹叶黄酮与合成抗氧化剂混合使用时,其抗氧化能力均好于只添加单一抗氧化剂的效果。其安全性高,成本低,对于开发一种新型油脂抗氧化剂是切实可行的;昆明实心竹叶黄酮能够减少自由基的产生和清除自由基,从而阻断氧化反应的发生,试验采用纯化后的实心竹叶黄酮为抗氧化剂,如能提高其纯度则抗氧化效果将更好,故纯化工艺值得进一步研究;该试验以昆明实心竹叶为原料,对开发云南省的竹叶资源具有广阔的发展前景,同时以竹叶黄酮为原料开发的竹叶抗氧化物已经被列入国标,成为国家认可的天然抗氧化剂,为开发利用昆明实心竹资源提供了理论依据。

参考文献

- [1] 卢艳花,周铜水.黄甜竹黄酮类化合物的提取与分离[J].竹类研究,1994(1):50-54.
- [2] 张英,唐莉莉,丁霄霖.竹叶功能因子生物抗氧化活性的研究[J].营养学报,1998,20(3):367-371.
- [3] 冯涛,曹东旭.竹叶总黄酮含量的测定[J].中国食品添加剂,2002(6):85-87.
- [4] 武蔚萍,孙文基,阎宏诗,等.分光光度测定甘草中总黄酮含量[J].药物分析杂志,2005,25(4):469-472.
- [5] 张蕾,乔旭光.荷叶黄酮提取及对油脂抗氧化作用的研究[J].粮食与油脂,2009(5):105-112.
- [6] 崔永明,余龙江,敖明章,等.甘草黄酮对油脂抗氧化作用研究[J].食品科学,2007(11):95-103.

Extraction and Antioxidant Property of Flavonoids in Kunming Solid Bamboo Leaves

GUO Lei, XU Run-hong, YUAN Run-ling, YAO Kun-hua, GUO Qun

(Resources College of Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224)

Abstract: Talmg Kunming solid bamboo leaves as raw material, bamboo leaves flavonoids extracted to determine the optimum conditions and bamboo leaves flavonoids on the antioxidant role of rapeseed oil. The results showed that extraction time was 4.5 hours, extraction temperature was 80℃, solid-liquid ratio was 1:20, 75% ethanol concentration, the times of extraction was once, extraction content was 34.58 mg/g. Studied antioxidant properties of flavonoids on colza oil. We found that flavonoids of bamboo leaves had definite antioxidation, and the antioxidation of 0.02% (mass fraction) of bamboo leaves flavonoids was less than citric acid, BHT, TBHQ, but higher than VC, the antioxidation was increased in evidence when swing in with 0.02% citric acid at the same time.

Key words: Kunming solid bamboo leaves; flavonoids; purified; antioxidants