

杀青工艺对杜仲叶抗氧化活性的影响

张 强, 苏印泉, 苑子夜, 朱铭强

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:杜仲叶有较强的抗氧化活性,为了充分利用杜仲叶资源,以 DPPH 自由基法评价抗氧化活性,硝酸铝-亚硝酸钠比色法测定总黄酮含量,Folin-Ciocalteu 法测定总酚含量,比较了微波、空气加热、蒸汽和炒制等 4 种杀青工艺对杜仲叶抗氧化活性以及黄酮和总酚含量的影响,并与自然阴干杜仲叶比较。结果表明:以短时间大功率微波处理,即 800 W 功率微波处理样品 2.5 min,时间短易操作,能较好保留杜仲叶中的黄酮和总酚,对抗氧化活性影响较小,对杜仲叶外观破坏小,是较好的杀青工艺。

关键词:杜仲;杀青;微波;抗氧化

中图分类号:TS 201.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)23-0157-04

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)是我国特有的传统名贵中药,对杜仲皮的利用至少已有二千多年历史。杜仲叶、皮同效,皮和叶中具有类似的化学成分^[1],2005 年杜仲叶被列入药典。杜仲叶抗氧化活性显著高于杜仲皮^[2]。杜仲中富含绿原酸、黄酮、酚类等多种具有抗氧化活性的物质,杜仲具有显著的抗氧化作用,对多种脂质过氧化模型均有一定抑制作用,其活性以叶提取物最高,炮制皮提取物次之,生皮较差^[3],对食用油脂、肉类均具有一定的抗氧化能力^[4]。杜仲皮的采后处理研究较多^[5-6],杜仲叶的采后处理尤其是杀青处理研究的较少。杀青处理是植物样品采后的处理工序,目的是使样品中酶失活,减少样品中活性成分的分解。研究发现以药用成分为指标,杜仲嫩叶制备绿茶的杀青工艺以复干机低温短时处理为佳^[7]。杜仲叶在夏天成熟,生物资源量和活性成分含量显著高于春天的嫩叶^[8]。除制备绿茶外,杜仲叶更多的作药用、保健食品等,为了阐明杀青工艺对杜仲叶抗氧化活性的影响,分别以微波、蒸汽、烘烤、炒制等方式处理夏天采收的新鲜杜仲叶,测定了杜仲叶水提取物抗氧化活性及总酚和总黄酮含量,并与自然阴干方式比较,以期对杜仲叶杀青工艺选择提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物材料与试剂 杜仲叶于 2010 年 7 月采自西北农林科技大学林学院苗圃平茬林萌条,选取 50 株

健壮植株,每株在东西南北方向各采集 20 片绿色完整成熟叶片。DPPH(1,1-二苯基苦基苯肼)和福林酚购自 Sigma 公司,芦丁购自国药集团化学试剂有限公司。其它试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器 格兰仕 G8023YSL-V1,佛山市顺德区格兰仕微波炉电器有限公司;DHG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱;上海精密实验设备有限公司;美的 SK2103 电磁炉。

1.2 试验方法

1.2.1 杀青方法 自来水冲洗当天采回的杜仲叶片 1 min,用纸擦干水分后,称取约 40 g,采用以下方法处理:A.自然阴干(对照):杜仲叶室温下放置 1 个月。B.微波处理:杜仲叶平铺于微波炉内玻璃托盘上,在不同功率下(160~800 W)分别加热 1、2.5、5 min,再自然阴干。C.蒸汽处理:直径 56 cm 铝锅内加 1.6 L 蒸馏水,开始沸腾后 5 min,平铺杜仲叶于铝制篦子上蒸 3、10、20 min,取出擦干后,再自然阴干。D.空气加热处理:平铺杜仲叶于瓷托盘上,放入电热鼓风干燥箱在 80、100、120℃加热 5、15、30 min,再自然阴干。E.炒制处理:以 56 cm 炒锅在电磁炉上于 100、130、160℃分别炒 3、4、5 min,再自然阴干。阴干后的样品粉碎后冷冻备用。每处理 3 次重复,结果取平均数。

1.2.2 分析样品制备、活性物质含量和抗氧化活性测定方法 样品制备方法:精密称取 20 g 杜仲叶粉末,加 10 倍量蒸馏水,80℃水浴提取 2 次,每次 2 h,提取液过滤,滤液合并后 50℃下减压浓缩得浸膏,40℃真空干燥,研磨成粉状冷冻待测。以硝酸铝-亚硝酸钠比色法^[9]测定样品提取物中总黄酮含量。以 Folin-Ciocalteu 法^[10]测定总酚含量。以 DPPH 法测定 DPPH 自由基清除率代表样品抗氧化活性^[11]。

1.3 统计分析

不同处理间的显著性采用方差分析和 Duncan 多重比较($P<0.05$)。数据统计分析采用 SAS 软件(SAS 软件研究所,Cary NC)。

第一作者简介:张强(1975-),男,博士,讲师,研究方向为植物资源利用。E-mail:zhangjack2003@yahoo.com.cn。

责任作者:苏印泉(1954-),男,教授,研究方向为植物资源利用。E-mail:syq009@126.com。

基金项目:陕西省自然科学基金资助项目(2010JM3008)。

收稿日期:2011-09-02

2 结果与分析

2.1 微波对杜仲叶总黄酮与多酚含量及自由基清除率的影响

微波技术广泛用于食品的解冻、干燥、焙烤、灭酶以及杀菌^[12]。微波干燥不同于热风及其它干燥方式,由于其独特的加热特性,物料干燥速度快、时间短、外观质量好颜色佳^[13]。测定了不同微波功率处理 2.5 min 以及功率 800 W 微波不同处理时间对杜仲叶黄酮及多酚含量以及抗氧化活性的影响。

由图 1(左)可知,微波功率对黄酮含量影响显著。处理时间均为 2.5 min 时,微波功率 160 W 处理的样品,其黄酮含量低于对照即自然阴干样品。但是,微波功率增大后,黄酮含量显著增加,高于对照。最大功率 800 W 时样品黄酮含量也最高。微波功率对杜仲叶多酚含量有显著影响。微波功率较小时,杜仲叶总酚含

量相对对照显著减少。微波功率 320 W 时,总酚含量最低。微波功率超过 320 W 后,总酚含量也渐渐增加,与对照无显著差异。当微波功率为 640 W 时,总酚含量最大。微波功率对杜仲叶抗氧化活性影响显著。杜仲叶微波处理杀青后抗氧化活性与黄酮和总酚含量变化相似,在低功率时活性减弱,低于对照;微波功率增大,活性增强,显著高于对照。推测原因是功率达到 320 W 后,黄酮含量显著增加,虽然总酚含量减少,但是活性仍然明显提高。

在 2.5 min 处理时间下,微波处理对杜仲叶的外观破坏较小。微波功率低于 640 W 时,杜仲叶样品均呈绿色,质地柔软。微波功率达到 640 W 后,样品颜色稍变黄,干燥。因为该研究样品为成熟叶片,不是制茶原料,对外观要求低。由总酚、黄酮含量和抗氧化活性综合考虑,微波功率 800 W 处理较好。

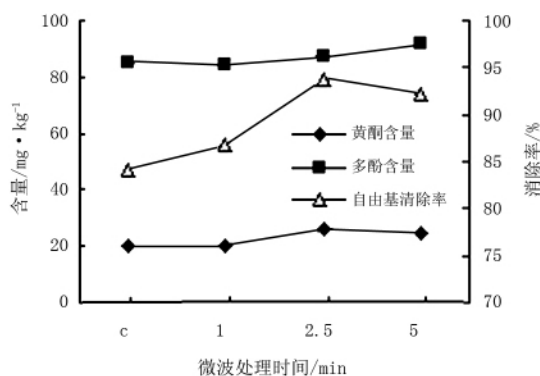
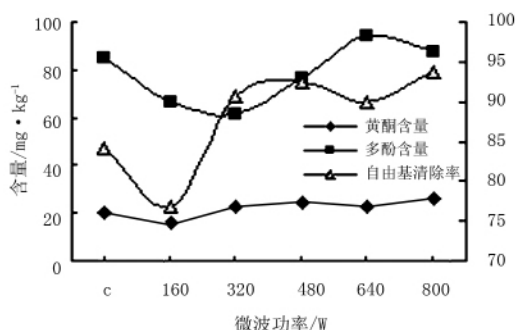


图 1 微波处理对杜仲叶黄酮与总酚含量以及抗氧化活性影响

微波处理时间对活性成分含量和抗氧化活性以及外观均有显著影响。减少处理时间至 1 min 后,即使功率达到 800 W,杜仲叶仍可以保持绿色,柔软的外观。由图 1(右)可知,800 W 微波处理,1~5 min 处理时间内,杜仲叶黄酮含量、总酚含量和抗氧化活性均有所提高,但是随着处理时间到 5 min,样品抗氧化活性和黄酮含量开始降低,叶片颜色变为黄绿色。因此处理时间以 2.5 min 为宜。

微波处理简便快速,所得样品外观保持良好,抗氧化活性达到 93.62%,黄酮含量为 26.19 mg/g,多酚含量也较高,是一种较好的杀青方法。较好的处理条件是 800 W 处理 2.5 min。

2.2 蒸汽处理对杜仲叶总黄酮与多酚含量及自由基的清除率影响

由图 2 可知,蒸汽处理的样品其黄酮含量显著高于对照。黄酮含量随处理时间延长而增加,处理 20 min 时,样品中黄酮含量最高。蒸汽处理 3 或 10 min,样品中多酚含量显著高于对照,处理 20 min 时,多酚含量下降,与对照差异不显著。蒸汽处理 3 和 10 min 时样品抗氧化活性高于对照,处理时间 20 min,样品活性降低,低于对照。蒸汽处理对杜仲叶外观改变明显,3 min 时,叶片颜色加深,10 与 20 min 时,叶片呈墨绿色。对比图 2 和图 1 右,蒸汽处理与微波处理时间的

影响变化趋势相似,以蒸汽为处理媒介,在较短处理时间即达到一定杀青效果。处理时间延长,在水、汽、热共同作用影响下,叶片外观破坏明显,因此应控制蒸汽处理时间。蒸汽处理样品其活性和黄酮含量仅略低于微波处理样品,处理时间较短,实施方便,虽然对杜仲叶片颜色有一定破坏,仍不失为一种较好的杀青方法。综合考虑活性物质含量以及活性,蒸汽处理时间以 10 min 以内为宜。

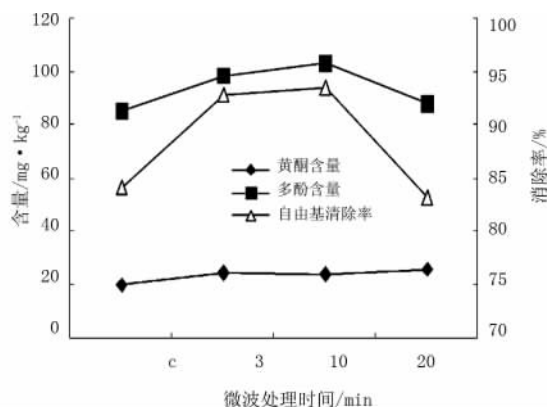


图 2 蒸汽处理对杜仲叶黄酮与总酚含量以及抗氧化活性影响

2.3 空气加热处理对杜仲叶总黄酮与多酚含量及自由基的清除率影响

烘制即空气加热处理是杀青常用技术。由图3(左)可知,加热温度对杜仲叶黄酮含量影响显著。加热温度为80和100℃时,样品中的黄酮含量显著低于对照,当温度为120℃时,样品中的黄酮含量略高于对照。说明在100℃以下,空气加热不能有效使酶灭活,而且在高温和热氧气的作用下,黄酮的酚羟基遭到氧化破坏。120℃以上,生物酶有效失活,超过了高温和氧气带来的黄酮含量损失,因此,黄酮含量有所提高。

空气加热处理在不同温度下均显著降低了杜仲叶总酚含量。温度在80~120℃之间时,样品中的多酚含量显著低于对照,随着温度的升高,多酚含量有所增加。但仍显著低于对照。在高温热氧气的作用下,酚

类极易氧化。一定的温度可使酶失活,利于保持酚类成分,同时,高温和氧气也会破坏酚类。

空气加热温度为80和100℃时,样品对DPPH·清除率低于对照,空气加热温度为120℃时,样品对DPPH·清除率与对照无显著差异。随着空气加热温度上升,杜仲叶颜色逐渐加深为墨绿色。考虑到活性成分含量以及活性强弱,空气加热的温度应为120℃。

加热时间对杜仲叶同样影响显著。在120℃烘制处理5、15及30 min时,样品中的黄酮和总酚含量以及对DPPH·清除率显著低于或者稍高于对照。三者均随处理时间有所提高。虽然30 min处理时间下活性成分含量和抗氧化活性和未处理样品无显著差异,但是长时间以高温空气处理杜仲叶对其外观破坏明显,叶片颜色变为墨绿色,部分发黑。

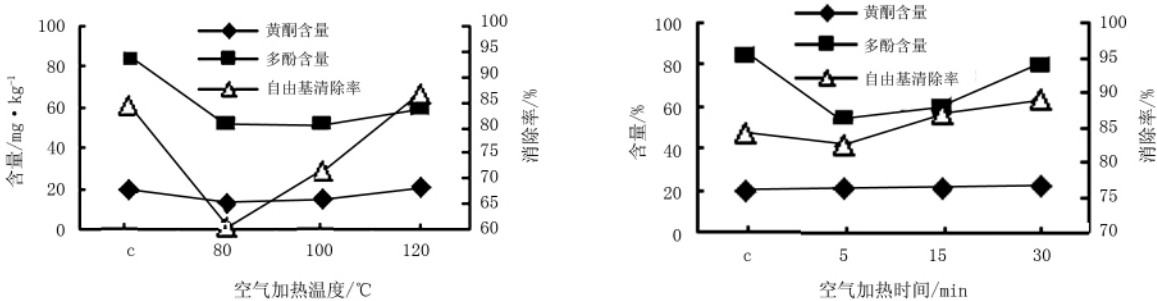


图3 空气加热处理对杜仲叶黄酮与总酚含量以及抗氧化活性影响

空气加热处理因氧气的作用,对黄酮和总酚等活性成分破坏较明显。黄酮和总酚含量随加热温度提高和加热时间延长有一定增长,但是不如微波处理明显。因为所需时间较长,空气加热处理对杜仲叶外观和活性成分破坏明显,因此不推荐作为杜仲叶的杀青方法。

2.4 炒制处理对杜仲叶总黄酮与多酚含量及自由基的清除率影响

炒制是制茶的传统工艺,由图4(左)可知,炒制温度对杜仲叶黄酮含量影响显著。炒制后,样品中的黄酮含量高于对照,且温度升高,含量提高。炒制温度为100℃时,样品中的多酚含量低于对照。升高温度,样品中的多酚含量与对照无显著差异。与黄酮含量变化

趋势相同,炒制后,样品的抗氧化活性均有所提高,且随炒制温度升高而增强。

在炒制温度为130℃,处理不同时间后,杜仲叶黄酮含量和抗氧化活性随着处理时间延长呈先增加后降低的趋势。在试验时间范围内,样品含量高于对照。与二者不同,样品多酚含量随着处理时间延长呈现增加趋势,在处理时间为5 min时,显著高于对照。炒制对杜仲叶的外观破坏明显,处理样品均呈现墨绿色,随炒制时间延长颜色加深。炒制是传统的制茶工序,对操作工人水平要求高,处理时间短,对叶片的外观破坏最大。但是样品的活性成分保持较好。如果有先进的设备,也是可选择的杀青工艺。综合考虑活性物质

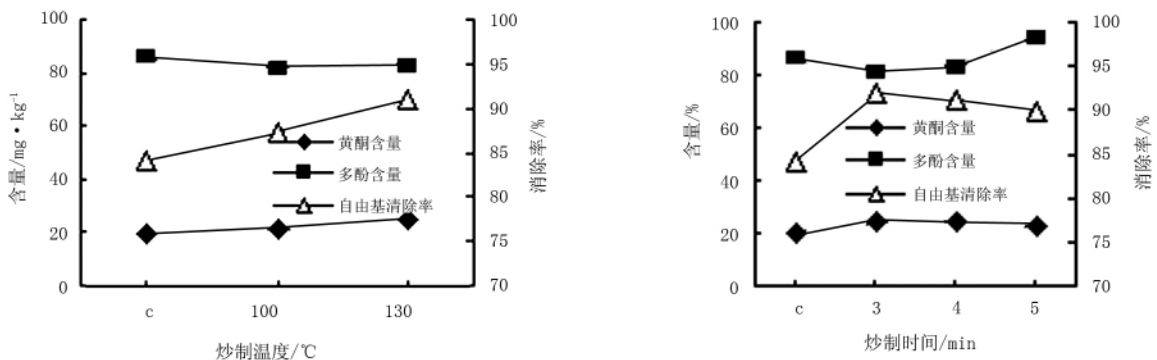


图4 炒制对杜仲叶黄酮与总酚含量以及抗氧化活性影响

含量和活性,炒制较佳条件为在 130℃下炒制 4 min。

2.5 黄酮和多酚含量与自由基清除率相关性分析

计算不同处理杜仲叶样品的多酚含量与 DPPH·清除率线性相关回归方程为: $Y_2=0.3751X_2+54.897$, $R^2=0.3714$ 。多酚含量与 DPPH·清除率的相关系数为 $R=0.6094$,表明多酚含量与杜仲叶抗氧化活性有一定相关性,但不是最重要物质基础。计算不同处理杜仲叶样品中的黄酮含量与 DPPH·清除率线性相关回归方程为: $Y_1=0.2125X_1+40.065$, $R^2=0.8975$ 。黄酮含量与 DPPH·清除率的相关系数为 $R=0.9474$,呈显著线性正相关关系,随着总黄酮含量的增加,DPPH·清除率增加,所以推断黄酮类物质是杜仲叶抗氧化活性的主要物质。

关于抗氧化活性强弱与黄酮类物质含量和多酚类物质的相关关系,以往的分析结果不尽一致。韩林等^[14]发现,槟榔籽中的酚类抗氧化活性很强。陈树俊等^[15]、吴洪新等^[16]也发现黄酮、多酚含量与抗氧化能力呈正相关。酚类和黄酮类化合物是二类存在于许多植物中的具有强抗氧化活性及其它活性的化合物^[17-18],都包含结构各异的化合物,这些化合物由于结构不同呈现出强弱不同的各种活性^[18-19]。植物中黄酮和酚类含量以及组成、提取物制备方法和抗氧化活性评价指标都会影响化合物的活性评价。因此,不能简单的认定黄酮或者总酚是主要抗氧化物质,结论应该密切联系样品及其处理方法,黄酮和总酚各自测定方法以及抗氧化活性的评价指标。

3 结论

微波功率和处理时间均影响杜仲叶中黄酮与总酚含量进而影响抗氧化活性。较大功率微波处理利于活性成分保留,处理时间不宜过短或过长。在该试验中,微波处理较佳条件是 800 W 处理 2.5 min。微波处理快速简便,有效保持杜仲叶抗氧化活性和颜色,是值得推荐的杜仲叶杀青方法。

蒸汽处理和炒制在较优条件下可以较好的保留杜仲叶活性成分,对杜仲叶外观破坏明显,是较好的前处理方法。空气加热处理对杜仲叶活性成分破坏明显,不推荐作为杜仲叶杀青方法。

不同处理的杜仲叶黄酮含量与 DPPH·清除率显著相关,多酚含量与 DPPH·清除率也有一定相关性。

各种前处理方式可对杜仲叶中的黄酮、多酚含量产生影响,但影响程度不同。较优条件下各种处理杜仲叶比自然阴干杜仲叶黄酮含量有所增加,多酚含量和 DPPH·清除率除空气加热处理比阴干杜仲叶低外,其它处理方式均比对照高。

参考文献

- [1] 李家实,阎玉凝.杜仲皮与叶化学成分初步研究[J].中国中药杂志,1986,11(8):41-42.
- [2] Zhang Q,Su Y Q,Yang F X,et al. Antioxidative activity of water extracts from leaf, male flower, raw cortex and fruit of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. Forest Products Journal, 2007, 57(12): 74-78.
- [3] Yen G C, Hsieh C L. Antioxidant activity of extracts from *Du-zhong* (*Eucommia ulmoides*) toward various lipid peroxidation models *in vitro* [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46(10): 3952-3957.
- [4] 尉芹,马希汉.杜仲叶和元宝枫叶提取物抗氧化性能的研究[J].食品科学,1998,19(8):3-5.
- [5] 刘艳红.杜仲不同炮制方法比较研究[J].国医论坛,2002,17(2):46.
- [6] 刘宁,栗克喜,刘春山.杜仲国内外研究进展[J].西南国防医药,2002,12(5):449-451.
- [7] 黄友谊,罗新飞,阳永学,等.杀青工艺对杜仲绿茶活性成分的影响[J].食品科学,2002,23(1):80-84.
- [8] 张康健,马希汉,马梅,等.杜仲叶次生代谢物生长积累动态的研究[J].林业科学,1999,35(2):15-20.
- [9] 翟梅枝,郭景丽,王磊,等.栎树花黄酮类化合物的提取工艺研究[J].西北林学院学报,2010,25(2):136-139.
- [10] 傅燕玲,吴晓琴.杨梅枝多酚的抗氧化活性研究[J].中国粮油学报,2009,24(11):78-82.
- [11] 严敏,李崎,顾国贤.一个评价啤酒老化程度的新指标—DPPH 清除率[J].食品科技,2006(3):91-93.
- [12] 杭锋,陈卫,陈帅,等.食品微波加热杀菌动力学描述模型的选择[J].农业工程学报,2008,24(6):49-52.
- [13] 段振华,汪菊兰.微波干燥技术在食品工业中的应用研究[J].食品研究与开发,2007,28(1):155-158.
- [14] 韩林,张海德,李国胜,等.槟榔籽总酚提取工艺优化与抗氧化活性试验[J].农业机械学报,2010,41(4):134-139.
- [15] 陈树俊,苏静,刘诚,等.老陈醋生产过程中总多酚、总黄酮含量及清除 DPPH·自由基能力的分析[J].食品科学,2009,30(17):158-162.
- [16] 吴洪新,单昌辉,阿拉木斯,等.尖叶胡枝子黄酮抗氧化活性的研究[J].西北林学院学报,2009,24(5):118-120.
- [17] Aruoma O I. Nutrition and health-aspects of free-radicals and antioxidants[J]. Food Chem. Toxicol, 1994, 32: 671-683.
- [18] Heim K E, Tagliaferro A R, Bobilya D J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships [J]. J. Nutri. Biochem, 2002, 13: 572-584.
- [19] Robards K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables [J]. J. Chromato. A, 2003, 1000: 657-691.

Effects of De-enzyme Process on the Antioxidant Activity of *Eucommia* Leaves

ZHANG Qiang, SU Yin-quan, YUAN Zi-ye, ZHU Ming-qiang

(College of Forestry, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: *Eucommia* leaves present strong antioxidant activity. To reserve more antioxidant components in *Eucommia* leaves during the de-enzyme process, *Eucommia* leaves were processed by microwave treatment, steam, air heating and frying. The antioxidant activity, flavonoids and phenol contents of the *Eucommia* samples were determined to estimate the four methods. The results showed that the sample treated by microwave with high power for short time, that was 800 W power for 2.5 min, contained more flavonoids and phenols, and the ample also showed a strong antioxidant activity. Microwave treatment was a good process way for *Eucommia* leaves because it costed short time and reserve more active compounds. At the same time, it did not change the appearance of *Eucommia* leaves significantly.

Key words: *Eucommia*; De-enzyme; microwave; antioxidant